



MADURACIÓN OVOCITARIA IN VITRO PARA LA PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD EN PACIENTES ONCOLÓGICAS

Ciclo de Metodología Científica II - 2023

Grupo 41

Investigadores: Alfie Maia¹, Bianco Bruno¹, Brajú Luciano¹, Kryger Manouane¹, López Valentina¹,
Rodríguez Maria Eugenia¹.

Orientadores: Anesetti Gabriel², Kimelman Dana³.

¹ Ciclo Metodología Científica II 2023-Facultad de Medicina-Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

² Unidad Académica de Histología y Embriología-Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

³ Unidad Académica de la Clínica Ginecitológica "B"-Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela"-Facultad de Medicina-Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Índice:

Resumen/Abstract	pág. 2
Palabras claves	pág. 3
Introducción	pág. 4
Preservación de la fertilidad	pág. 5
Maduración Ovocitaria In Vitro	pág. 6
Ley de Reproducción Asistida en Uruguay	pág. 7
Fundamentos Teóricos de la MIV	pág. 8
FIV y MIV	pág. 12
Eficacia y Seguridad	pág. 12
Objetivos	pág. 13
Metodología	pág. 13
Discusión	pág. 13
Conclusiones	pág. 18
Abreviaturas	pág. 20
Referencias bibliográficas	pág. 21
Agradecimientos	pág. 24

Resumen

Los avances en los tratamientos oncológicos han determinado incrementos en la supervivencia global de los pacientes. Las enfermedades oncológicas y/o sus tratamientos pueden determinar; desde una depleción del capital folicular ovárico, a una insuficiencia ovárica prematura. Para estas pacientes existen técnicas para proteger la fertilidad, catalogadas como estandarizadas o experimentales. La maduración ovocitaria in vitro (MIV) consiste en la recolección de ovocitos inmaduros para su cultivo en un medio que permite su maduración para luego fertilizarse. Resulta beneficiosa en pacientes con riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) y pacientes oncológicas donde un ciclo de estimulación ovárica controlada no es posible.

El objetivo de esta monografía es realizar una revisión narrativa sobre la bibliografía vinculada a esta técnica a nivel internacional y discutir su aplicación clínica en el área de la oncofertilidad. Como objetivos específicos se plantearon conocer los diferentes métodos utilizados en las técnicas de MIV e identificar la población que podría beneficiarse de este tratamiento.

Se utilizaron las siguientes bases de datos: PubMed, Cochrane, ScienceDirect, Portal Timbó, Scielo y Google Académico. Como criterios de inclusión, se seleccionaron las publicaciones con menos de diez años de antigüedad, siendo las mismas: ensayos clínicos aleatorizados, metaanálisis, revisiones narrativas y sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados.

Según los datos analizados podemos concluir que: la administración de hormona folículo-estimulante (FSH), la aspiración folicular transvaginal y un cultivo previo a la MIV (Pre-MIV) mejoran los resultados de esta técnica. Por otra parte, la menor tasa de llegada a blastocistos tiene un impacto negativo. Respecto al perfil de seguridad, no hubo diferencias significativas entre el desarrollo de niños concebidos por MIV y otras técnicas de reproducción asistida. Los estudios revisados resaltan la escasez de investigaciones sobre MIV en pacientes oncológicas, dejando en evidencia la necesidad de ampliar el conocimiento científico en esta área.

Abstract

Currently, cancer patients have a greater survival rate because of treatment developments. Some cancer treatments may determine premature ovarian insufficiency in girls and young women. There are a variety of fertility preservation strategies for these patients, and they can

be categorized as standardized or experimental. In vitro maturation (IVM) is a technique that consists of retrieving immature oocytes and culturing them in a medium that allows their maturation in order to fertilize them afterwards. This strategy may be particularly beneficial in patients with risk of developing ovarian hyperstimulation syndrome (OHS) and in cancer patients when there is no time for controlled ovarian stimulation. The objective of this manuscript is to make a narrative review of the bibliography regarding this technique internationally, and to discuss its clinical application in the area of oncofertility. As specific objectives, it was posed to explore the different methods used in IVM techniques and to identify the best approach.

The following databases were used to write this bibliographic review: PubMed, Cochrane, ScienceDirect, Portal Timbó, Scielo y Google Scholar. As inclusion criteria publications dated 10 years old or less were selected, these being: randomized controlled trials, meta-analysis, narrative review and systematic review of randomized controlled trials.

The articles reviewed highlight the scarcity of published research regarding IVM in cancer patients, prompting a greater exploration of the area. Follicle stimulating hormone (FSH), transvaginal aspiration and a previous culture to IVM (Pre-MIV) seem to yield better results. Conversely, a limitation in the development of blastocysts has a negative impact. Regarding the safety profile, there were no significant differences between the development of children conceived through IVM and other assisted reproductive techniques, however, vast generalizations still cannot be made.

Palabras clave

Neoplasms; Neoplasias; Oocyte In Vitro Maturation; Técnicas de Maduración In Vitro de los Oocitos; Fertility Preservation; Preservación de la Fertilidad; Pregnancy; Embarazo.

Introducción

El capital folicular de la mujer comienza a declinar desde la vida intrauterina. Al nacimiento, el número de células germinales de la corteza ovárica ya disminuyó en un 80%. En la pubertad, este número se reduce aún más, y durante los siguientes años, solo unos cientos de ovocitos serán seleccionados para la ovulación.

Esta reserva ovárica se puede ver especialmente comprometida de forma iatrogénica frente a algunos tratamientos oncológicos que han demostrado ser gónadotóxicos (especialmente los agentes alquilantes y/o la radioterapia pélvica). Estos tratamientos también comprometen la función hormonal de los ovarios y generan cambios anatómicos o funcionales en ovarios, cuerpo y cuello uterino y/o vagina, resultando en infertilidad o insuficiencia ovárica prematura. La infertilidad es definida como la imposibilidad de lograr un embarazo después de 12 meses de relaciones sexuales frecuentes sin protección (OPS, 2023).⁽¹⁾

La insuficiencia ovárica prematura (IOP), consiste en una amenorrea secundaria de más de seis meses, antes de los 40 años, con aumento de las hormonas estimulante folicular (FSH; más de 20 UI/L) y luteinizante (LH), además de la disminución de estrógenos''.⁽²⁾

En la siguiente tabla se resumen los diferentes tratamientos oncológicos y su respectivo riesgo gonadotóxico. (tabla adaptada de Lambertini M y cols)⁽³⁾

RIESGO	TRATAMIENTO
Alto (>80%)	• Transplante de células madre hematopoyéticas (ciclofosfamida, busulfán y melfalan, o Radioterapia corporal total) • EBRT > 6 Gy incluyendo ovarios en el campo • 6 ciclos de CMF, CEF, CAF o TAC en mujeres ≥ 40 años • 6 a 8 ciclos de BEACOPP escalonada en mujeres ≥ 30 años
Intermedio (20-80%)	• 6 ciclos de CMF, CEF, CAF o TAC en mujeres de 30 a 39 años • 4 ciclos de AC en mujeres ≥ 40 años • 4 ciclos de AC/EC / taxane • 4 ciclos de dd (F)EC / dd taxane • 6 a 8 ciclos de BEACOPP escalonado en mujeres menores <30 años • 6 ciclos de CHOP en mujeres ≥ 35 años • 6 ciclos de DA-EPOCH en mujeres ≥ 35 años • FOLFOX en mujeres ≥ 40 años
Bajo (<20%)	• 6 ciclos de CMF, CEF, CAF o TAC en mujeres menores <30 años • 4 ciclos de AC en mujeres < 40 años • 2 ciclos de BEACOPP escalonado • ABVD • 6 ciclos de CHOP en mujeres < 35 años • 6 ciclos de DA-EPOCH en mujeres < 35 años

	• Terapia AML (antraciclina/citarabina) • Terapia para ALL (multi-agente) • ChT multiagente para osteosarcoma (doxorubicina, cisplatino, metotrexato, ifosfamida) en mujeres <35 años • ChT multiagente para sarcoma de Ewing (doxorubicina, vincristina, dactinomicina, ciclofosfamida, ifosfamida, etopósido) en mujeres <35 años • FOLFOX en mujeres de 40 años • Antimetabolitos y Alcaloides Vinca • BEP o EP en mujeres menores de 30 años • Yodo radioactivo (I-131) • Bevacizumab
Desconocido	• ChT a base de platino y taxanos • Terapias más dirigidas (incluidos anticuerpos monoclonales y moléculas pequeñas) • Inmunoterapia

(Ver lista de abreviaturas al final del documento)

Es de relevancia considerar que al momento del diagnóstico, muchas pacientes no han completado su proyecto reproductivo, causando un incremento en la búsqueda de opciones para preservar la fertilidad. ⁽¹⁾

Dado que el número de pacientes jóvenes cuyo futuro reproductivo puede verse afectado por el tratamiento oncológico no es pequeño, la oncofertilidad surge como una alternativa para proteger la fertilidad de los efectos negativos de los mismos. En los EE. UU., en 2014, más de 1,6 millones de pacientes recibieron un diagnóstico de cáncer (Instituto Nacional del Cáncer y Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales 2014) y 14 millones fueron diagnosticados en todo el mundo (Organización Mundial de la Salud 2015). Son estos pacientes para quienes se debe considerar una consulta reproductiva en el momento del diagnóstico y así poder abordar las opciones para preservar la fertilidad, previo al inicio del tratamiento. ⁽⁴⁾

Preservación de la fertilidad

A lo largo de los años se han desarrollado distintas técnicas de protección y preservación de la fertilidad para buscar soluciones a este problema. Las estrategias de preservación que actualmente están estandarizadas en el caso de personas con ovarios son: la criopreservación de embriones y ovocitos ⁽⁵⁾.

La aspiración folicular de ovocitos maduros (MII) requiere de una estimulación ovárica previa y se suelen preservar mediante la técnica de vitrificación (congelación ultra rápida). Frecuentemente la estimulación ovárica comienza en la fase folicular temprana, sin embargo,

en casos seleccionados, se puede comenzar en un momento aleatorio del ciclo, conocido este protocolo como *Random start*. Esta última opción se utiliza para las pacientes que no pueden retrasar el inicio de su tratamiento oncológico. Esta técnica representa una alternativa para las mujeres que desean preservar su fertilidad con la posibilidad de realizar la fertilización de sus óvulos en el futuro. Sin embargo, esta estrategia habitualmente no es planteable en niñas que aún no han atravesado la pubertad debido a que presentan bajo número de receptores de FSH, por lo que no responden adecuadamente a la estimulación hormonal.

En cuanto a la criopreservación de embriones, inicia con estimulación ovárica, posterior a la cual los ovocitos maduros son fertilizados. La técnica de elección para la criopreservación de los embriones resultantes es la vitrificación. La vitrificación de embriones consiste en la adición de agentes crioprotectores a altas concentraciones, los cuales protegen estructuras celulares internas del embrión, para su posterior congelamiento ultrarrápido con nitrógeno líquido. Los embriones se pueden vitrificar en sus diferentes etapas de desarrollo, siendo de elección la etapa de blastocisto, debido a que resulta en mejores tasas de supervivencia de los mismos. Los embriones criopreservados pueden ser descongelados posteriormente para ser transferidos en forma diferida, sin necesidad de que la mujer deba someterse nuevamente a estimulación ovárica.^(6, 7)

Maduración ovocitaria in vitro

La Maduración In Vitro (MIV), es una técnica de reproducción asistida que implica el cultivo de ovocitos inmaduros, en etapa de vesícula germinal o metafase I, en un laboratorio, permitiendo su maduración in vitro hasta la metafase II. Esta técnica se lleva a cabo en centros de reproducción asistida y busca madurar ovocitos in vitro que puedan ser utilizados para la fecundación in vitro o criopreservados para su uso futuro.

Los inicios de esta técnica se remontan a la década de 1930. Pincus y Enzmann informaron por primera vez que los ovocitos de coneja en etapa de vesícula germinal aislados de los folículos antrales podían madurar espontáneamente in vitro y posteriormente ser fertilizados. Estos hallazgos fueron el punto de partida para las investigaciones primarias sobre el desarrollo de técnicas de MIV tres décadas después. Los resultados desalentadores, combinados con el desarrollo de la estimulación ovárica en la década de 1970, explican la dramática pérdida de interés en la MIV aplicada a la preservación de la fertilidad en humanos ⁽⁸⁾ .

La aplicación exitosa de la MIV como técnica de reproducción asistida (TAR) se describió por primera vez en 1991, pero su desarrollo y aplicación en Estados Unidos y Europa sigue siendo baja. Aunque su uso en China y el sudeste asiático está aumentando, sólo se realiza de forma regular en un número limitado de centros de reproducción asistida en todo el mundo ⁽⁹⁾. Está indicado en pacientes con SOP, pacientes donde la Fecundación in vitro (FIV) ha fallado, historia de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO), recolección de ovocitos de emergencia debido a neoplasias, recolección de ovocitos de tejido ovárico previo a la vitrificación, MIV de rescate a ciclos de FIV, pacientes que no han alcanzado la edad reproductiva deseada, pacientes con alto riesgo trombótico, entre otras ^{(10);(11)}. Se entiende por SOP al trastorno endocrino-metabólico que se manifiesta mediante diversos síntomas tales como ciclos oligomenorreicos, hiperandrogenismo, así como el aspecto poliquístico de los ovarios en la ultrasonografía.⁽¹²⁾ En algunos casos el SOP puede determinar infertilidad, especialmente en las pacientes que presentan ciclos anovulatorios.

La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) dejó de considerar esta técnica como experimental en el año 2021 ⁽¹⁰⁾. Podría tratarse de una buena alternativa para pacientes oncológicas dado que requiere menor estimulación ovárica y es menos invasiva ⁽¹³⁾, por lo que no retrasa el inicio del tratamiento de la patología de base, tiene un menor costo y tasa de complicaciones ⁽¹⁴⁾. Sin embargo, su menor tasa acumulada de nacidos vivos comparada especialmente con la FIV convencional, limita su aplicación clínica ⁽¹⁰⁾. Por todo lo expuesto; se trata de una técnica que requiere mayor estudio y evaluación.

Ley de Reproducción Asistida en Uruguay

La ley 19.167 fue promulgada en el año 2013 con "el objetivo de regular las técnicas de reproducción humana asistida a, así como los requisitos que deben cumplir las instituciones públicas y privadas que las realicen". Uno de los aspectos más valiosos de la Ley de Reproducción Asistida es que la misma reconoce la infertilidad como una enfermedad "Los decretos 311/014 y 84/015 reglamentaron la misma para técnicas de reproducción humana asistida de baja y alta complejidad respectivamente" entendidas las de baja complejidad como aquellas en las que la fertilización se da dentro del aparato genital femenino (relaciones sexuales programadas, inseminación intra uterina), y las de alta complejidad son aquellas en que la fertilización del ovocito se da fuera del cuerpo de la mujer, en un laboratorio de reproducción asistida (FIV, inyección intra citoplasmática del ovocito ICSI). Ambos grupos se

encuentran incluidos en el Plan Integral de Atención a la Salud (PIAS), aunque la cobertura de las técnicas de alta complejidad es a través del Fondo Nacional de Recursos (FNR).

En 2015, la Comisión Honoraria Administradora del Fondo Nacional de Recursos publicó la normativa del *Tratamiento de Infertilidad Humana mediante técnicas de Reproducción Asistida de alta complejidad*. La misma establece los criterios de inclusión y exclusión para que los pacientes puedan acceder a los tratamientos de alta complejidad: fecundación in vitro, la transferencia embrionaria, donación y criopreservación de embriones, la donación de gametos, y la gestación subrogada. Actualmente hay tres centros habilitados por el MSP en nuestro país para realizar tratamientos de reproducción asistida.

En 2022, se promulgó la ley 20.062 se trata de una ley de artículo único que modifica la ley 19.167 por lo que la misma incorpora el siguiente inciso: "La técnica de criopreservación de gametos también podrá aplicarse a todo paciente oncológico que, encontrándose en edad reproductiva (post púber hasta los cuarenta años), y de acuerdo a lo informado por su médico tratante y contando con el aval de la Dirección Técnica del prestador en el que se llevará a cabo el procedimiento, pudiera ver mermada o afectada drásticamente su fertilidad como consecuencia del tratamiento oncológico".

En nuestro medio la normativa actual no considera la maduración in vitro como un tratamiento para la infertilidad humana; por lo que consideramos que poner a punto esta técnica en nuestro país brindaría aún más posibilidades de acceso a técnicas de reproducción asistida y dejaría a Uruguay una vez más com pionero en derechos reproductivos . De todas formas la incorporación del inciso mencionado anteriormente supone un avance en materia legal facilitando la aplicación de la MIV a futuro. ⁽¹⁵⁾

Fundamentos teóricos de la MIV

La MIV puede llevarse a cabo a partir de la extracción de complejos cúmulo-ovocito (CCO) directamente de la paciente mediante aspiración⁽¹¹⁾, o a partir de una muestra de corteza ovárica criopreservada con previa activación de los folículos pre-antrales ⁽¹³⁾.

La maduración ovocitaria es un proceso complejo que normalmente ocurre en los folículos antrales de forma secuencial y sincrónica, e involucra la maduración nuclear y citoplasmática. Los ovocitos están detenidos en la primera fase de la división meiótica (meiosis I), inducida por factores inhibidores dada por la interacción con las células del cúmulo. La maduración nuclear se reanuda por el aumento preovulatorio de la hormona luteinizante (LH) e implica las

modificaciones de los componentes nucleares del ovocito que llevan al reinicio de la meiosis hasta la expulsión del primer cuerpo polar y la formación del huso meiótico metafásico, momento en que vuelve a detenerse la meiosis. La progresión de la meiosis no garantiza por sí misma el desarrollo embrionario, siendo necesarias modificaciones posteriores en el citoplasma del ovocito. La maduración citoplasmática implica la reorganización de los organelos citoplasmáticos, la transcripción del ARNm y el almacenamiento de proteínas, siendo esenciales para alcanzar una fertilización exitosa. *In vivo*, estos dos fenómenos ocurren en sincronía, pero *in vitro*, la maduración citoplasmática ocurre de forma asincrónica con la maduración nuclear, debido a que el ovocito es extraído de su entorno habitual, lo que conduce a la maduración nuclear previa a la madurez citoplasmática ^(16, 17, 18).

Actualmente se está valorando la realización de un cultivo previo a la maduración ovocitaria, con el objetivo de alcanzar el mayor desarrollo citoplasmático posible. La realización de este procedimiento se conoce como *Pre-MIV*. La combinación de este procedimiento, seguido de la MIV, se conoce como sistema de cultivo de MIV bifásico ⁽¹⁹⁾. Luego de la maduración se realiza la fertilización de los ovocitos maduros y por último la transferencia embrionaria en la paciente, o la criopreservación de los mismos.

No hay un consenso en cuanto a la inclusión de protocolos de estimulación ovárica en MIV. Hay autores que proponen que el término MIV debe reservarse estrictamente para los ciclos que no incluyan ninguna clase de estimulación, otros proponen que sólo se debería excluir a aquellos donde se estimule con hCG ⁽¹⁴⁾, y otro grupo ofrece un criterio más laxo permitiendo que se coloque a los protocolos que incluyen el uso de gonadotropinas dentro del término MIV, ya que han mostrado mejores resultados ⁽¹¹⁾. En este trabajo, se seguirá la línea de los últimos autores referenciados.

Los ovocitos presentes en folículos antrales pequeños, aunque hayan alcanzado un tamaño aceptable, continúan en proceso de desarrollo. La realización de MIV con los ovocitos extraídos de este tipo de folículo, presenta tasas de éxito inferiores en relación a la FIV convencional. Esto puede sortearse si se estimula hormonalmente a la paciente, logrando un mayor desarrollo y consecuentemente un mayor tamaño folicular ⁽¹⁰⁾. Los esquemas posibles son los siguientes: MIV sin estimulación, priming con FSH, priming con hCG, FSH y hCG, inicio aleatorio en pacientes con patología oncológica utilizando letrozole, procedimientos de rescate de fertilización in vitro mediante conversión a MIV, el uso de inhibidores de la aromatasa o MIV mediante supresión de estrógeno utilizando valerato de estradiol empezando el día 3 del ciclo. Dentro de estos esquemas los que tienen una mayor tasa de éxito son el priming con FSH o

hCG, entendiendo que el priming se utiliza para favorecer el desprendimiento del ovocito de la granulosa, simulando el pico de LH. Sin embargo hay autores que plantean que el uso de hCG reactiva la meiosis y da como resultado ovocitos en distinto estadio de desarrollo nuclear, lo cual limita su aplicabilidad ^(14, 18).

Aspiración: Mediante aspiración folicular se intentarán obtener los complejos cúmulo-ovocito en estadio de vesícula germinal desde los folículos antrales, el cual está conformado por el ovocito, la zona pelúcida y la corona radiada ⁽¹⁴⁾. La integridad del complejo es esencial para la MIV, las células del cúmulo asisten en el crecimiento y se comunican con el ovocito a través de una red de proyecciones transzonales que permiten el correcto desarrollo del mismo ⁽¹⁰⁾. La aspiración es más compleja en la MIV que en los folículos de pacientes sometidas a estimulación ovárica controlada (EOC), a expensas del tamaño reducido de los mismos⁽¹⁴⁾.

Cultivo: El comienzo de la realización de la técnica pre-MIV es reciente y continúa siendo estudiada. Quienes proponen su implementación, lo hacen en los casos de extracción de ovocitos con un desarrollo citoplasmático escaso, siendo su necesidad inversamente proporcional al tamaño de los mismos y al uso del priming con FSH. En esencia, lo que logra este procedimiento es mantener en cultivo al ovocito en el estadio de vesícula germinal, junto a la comunicación cúmulo-ovocitaria, durante aproximadamente 24 hs ⁽¹⁹⁾, para permitir que se complete su desarrollo. El componente clave utilizado en el medio de cultivo utilizado es el péptido natriurético tipo C (PNC), el cual es un inhibidor de la maduración ovocitaria, producido por las células de la granulosa. Este genera una inhibición de los factores promotores de maduración y mantiene detenida la meiosis en el estadio de vesícula germinal. El nombre del protocolo que aplica este medio de cultivo en particular es el “Capacitation IVM” (CAPA-IVM).

El medio de cultivo para la MIV es un punto de discusión, ya que aún no está estandarizado ⁽¹¹⁾. Sin embargo, una práctica constante es el agregado de hormonas al mismo, siendo la FSH la más común y su rol es asistir en la expansión del CCO y la maduración del ovocito. Si solo se utiliza este agregado el ovocito reiniciará meiosis por su cuenta, sin embargo el desarrollo citoplasmático y nuclear serán asincrónicos, lo cual lleva a un mal desarrollo embrionario ⁽¹⁴⁾ y mayores tasas de aneuploidía ⁽¹¹⁾. Para evitar que esto ocurra, se agrega LH o hCG en el medio de cultivo, de manera de reiniciar la meiosis de forma controlada y sincronizar dichos procesos madurativos ⁽¹⁴⁾. Cabe destacar que en el caso de niñas prepúberes el crecimiento in vitro es

diferente en comparación con adultas, por lo que los sistemas de cultivos desarrollados pueden no ser adecuados para esta población. ⁽¹³⁾

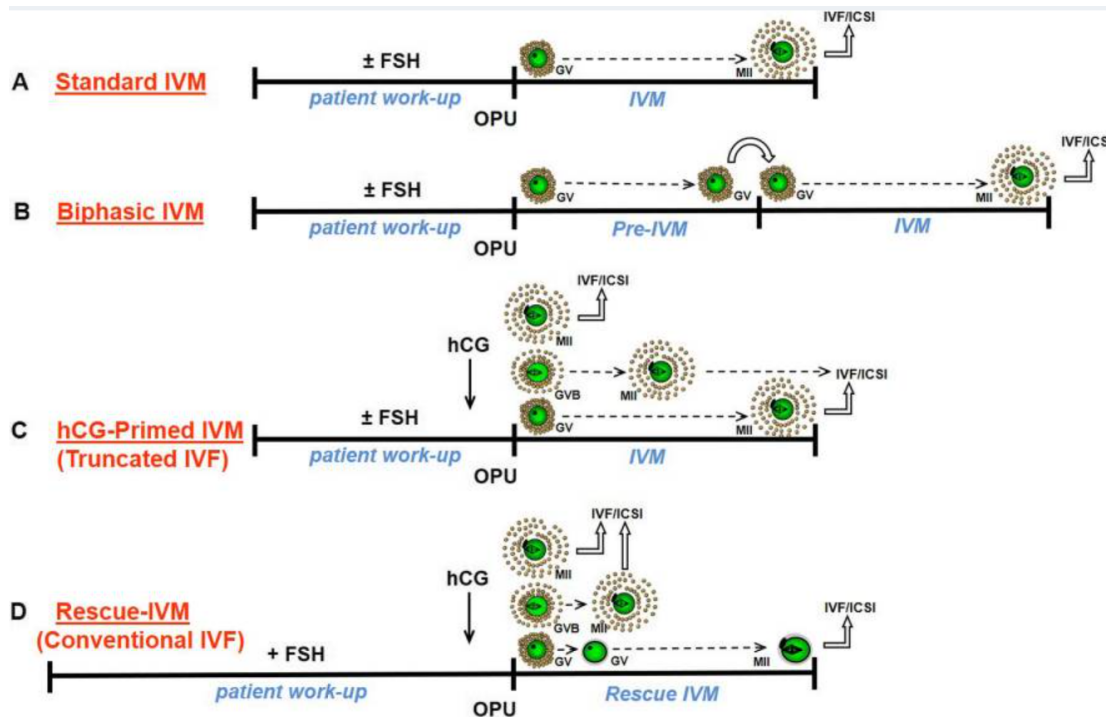


Figura adaptada de Gilchrist RB, Smitz J. ⁽¹⁰⁾

Principales protocolos IVM

- A) Protocolo IVM original: los CUC inmaduros en etapa GV se maduran in vitro en un solo paso hasta MII.
- B) Protocolo de MIV bifásico es una pequeña variación del MIV estándar; la diferencia notable es el paso adicional de cultivo previo a la MIV.
- C) Los pacientes reciben un bolo de hCG antes de la OPU, +/- preparación previa con FSH.
- D) Esta es la maduración in vitro de ovocitos inmaduros en etapa GV recolectados de ciclos de FIV convencionales después de la OS y el desencadenamiento de la ovulación, principalmente con hCG

FIV y MIV

La FIV convencional con EOC es un tratamiento de reproducción asistida de alta complejidad, opción comúnmente utilizada para tratar la infertilidad. Esta técnica implica la estimulación hormonal para la obtención de ovocitos maduros, que posteriormente serán fertilizados *in vitro* y transferidos al útero. La EOC tiene limitaciones y riesgos asociados. Sin embargo, hasta la fecha no hay bibliografía que compruebe que la MIV sin estimulación hormonal pueda ofrecer una tasa de nacidos vivos similar a la de la FIV convencional. ⁽²⁰⁾

Transferencia embrionaria: La técnica de transferencia embrionaria no difiere de la realizada en la FIV convencional. Lo que hay que tener en cuenta es que podría haber una asincronía con el endometrio, pudiendo determinar menores tasas de embarazo en los casos de MIV. Es debido a esto que estudios recientes recomiendan la transferencia en diferido de los embriones que deben ser entonces criopreservados, con el fin de controlar el momento del ciclo endometrial en que es mejor realizar la transferencia. ⁽¹⁴⁾

Eficacia y seguridad

Cuando hablamos de la eficacia de la técnica, esta depende de diferentes variables que dificultan su comparación: la diversidad de la población estudiada, características de los medios de cultivo, esquemas de priming, la criopreservación de ovocitos o fertilización de los mismos, entre otros. En 2013, Cadenas J et al.⁽²¹⁾ estimaron que había aproximadamente 5000 nacimientos post MIV reportados en la literatura científica internacional.

La evidencia disponible ha demostrado una conformación del huso, ultraestructura, recurrencia de aneuploidías y mutaciones similares en ovocitos madurados *in vivo* como *in vitro*.⁽²¹⁾ Muchos estudios analizados han mostrado que tanto la edad gestacional como el peso al nacer en recién nacidos post MIV son comparables a los de la población general. Por otra parte, un estudio publicado por Buckett et al.⁽²²⁾ mostró menor peso al nacer en recién nacidos post MIV; esto resalta la necesidad de estudios más amplios en cuanto a las diferencias de estos.

En cuanto a la tasa de complicaciones perinatales, no se han encontrado diferencias significativas entre pacientes que realizaron MIV vs. FIV ⁽²³⁾.

Objetivos

El objetivo de esta monografía es revisar la bibliografía disponible sobre la técnica MIV aplicada a la oncofertilidad a nivel internacional, para discutir su posible aplicación clínica en nuestro medio. Como objetivos específicos se plantearon conocer los diferentes métodos utilizados en las técnicas de MIV e identificar la población que más se beneficiaría de este tratamiento.

Metodología

Para realizar esta revisión narrativa se llevó a cabo una revisión bibliográfica de artículos científicos obtenidos de las siguientes bases de datos: PubMed, Cochrane, ScienceDirect, Portal Timbó, Scielo y Google Académico. Como criterios de inclusión, se seleccionaron las publicaciones con menos de diez años de antigüedad, siendo las mismas: ensayos clínicos aleatorizados, metaanálisis, revisiones narrativas y sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados.

Debido a la baja cantidad de estudios publicados sobre MIV en pacientes de pacientes oncológicos, se incluyeron además estudios realizados en pacientes que no pertenecen a la población objetivo.

Discusión

La aplicabilidad clínica de la MIV sigue siendo tema de discusión dado que los protocolos aún no están estandarizados. A continuación se discutirá la evidencia científica recabada hasta el momento sobre la técnica.

En cuanto al Priming, Mikkelsen et al. ⁽²⁴⁾ llevaron a cabo un ensayo clínico aleatorizado (ECA) donde se aleatorizaron 28 mujeres con SOP en dos grupos; el grupo 1 no recibió estimulación hormonal previa, mientras que el grupo 2 recibió 150 IU/día de FSH recombinante, por 3 días, iniciando en el día tres del ciclo menstrual. El mismo concluyó que el priming con FSH determina un mayor potencial de maduración, así como mayores tasas de embarazo. El porcentaje de ovocitos que alcanzó metafase II en el grupo 2 (59%) fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en comparación con el grupo 1 (44%); y se observó una

diferencia significativa en las tasa de embarazo a favor del grupo 2 ($p < 0,05$). A su vez, Chian et al. ⁽²⁵⁾ realizaron un ECA con una muestra de 17 pacientes con SOP que se dividió en dos grupos. El primer grupo recibió priming con 10.000 UI de hCG, mientras que el segundo grupo no, para posteriormente someterse a un ciclo de MIV. El estudio reportó un porcentaje de maduración ovocitaria exitosa en 84,3% (grupo 1) y 69,1% (grupo 2), tras 48hs de cultivo ($p < 0,05$), y $78.2 \pm 7.1\%$ (grupo 1), y $4.9 \pm 2.5\%$ (grupo 2) tras 24 hs de cultivo ($p < 0,001$). Por lo tanto; los resultados de este trabajo sugieren que el priming con hCG podría tener ser beneficioso para los resultados de la técnica de MIV.

Posteriormente se realizó un ECA ⁽²⁶⁾ diseñado con el objetivo de determinar la eficacia de la MIV en mujeres sanas estimuladas utilizando diferentes protocolos. Se aleatorizaron 400 mujeres en 4 grupos de 100 mujeres cada uno (grupo A: no estimuladas; grupo B: hCG; grupo C: FSH; grupo D: hCG + FSH). Los grupos en los que se utilizó hCG (B y D) mostraron tasas de maduración ovocitaria exitosa significativamente mayores ($p < 0,05$): 57,9% y 77,4% respectivamente. Sin embargo, en el grupo B se reportaron las tasas de implantación y embarazo más bajas. Se informó que el protocolo de estimulación basado de FSH y hCG combinados mostró los mejores resultados clínicos. Sin embargo, otros estudios han mostrado que el uso de hCG lleva al reinicio de la meiosis, dando como resultado ovocitos con estatus meiótico dispar, dificultando el manejo por parte del laboratorio, interrumpe la relación cúmulo-ovocito y limita el desarrollo citoplasmático, siendo éstas las razones por lo que su uso es controvertido ^(14,19).

Respecto a la aspiración folicular, un estudio retrospectivo llevado a cabo entre 2007 y 2015 revisó los registros de 119 pacientes oncológicas a quienes se les brindó la posibilidad de preservar su fertilidad a partir de diferentes técnicas de recolección de ovocitos: aspiración transvaginal o criopreservación de tejido ovárico y posterior aspiración folicular. Se obtuvieron 715 ovocitos de 90 pacientes (75% de la población), 45 maduros y 447 que maduraron in vitro hasta metafase II (rendimiento de 62%). Del total de pacientes, solo se descongelaron los ovocitos o embriones de ocho de ellas. En cuanto a los ovocitos, solo 6 se descongelaron, 2 sobrevivieron y ninguno fue fertilizado. En cuanto a los embriones, 35 fueron descongelados (30 embriones del grupo de aspiración transvaginal y 5 embriones del grupo de criopreservación ovárica), 29 sobrevivieron y fueron transferidos, sólo uno resultando en embarazo. Los resultados de este trabajo muestran que la recuperación de ovocitos inmaduros para la realización de MIV mediante aspiración transvaginal es segura y permite lograr mayor

número de ovocitos maduros que la criopreservación de ovocitos a partir de tejido ovárico. Se necesitan más investigaciones con un mayor número de pacientes para confirmar estos resultados.⁽²⁷⁾

Además, De Roo y Tilleman⁽²⁸⁾, en el año 2021 publicaron una revisión bibliográfica, donde se desprende que las diferencias en los métodos de recolección llevan a que el tamaño de los CCO sean diferentes. Mientras que los CCO recolectados mediante aspiración transvaginal se obtienen de folículos más grandes y, por lo tanto, más maduros, los recuperados de la corteza ovárica provienen de folículos más pequeños y, por lo tanto, más inmaduros. Esto da como resultado que la maduración ovocitaria sea mayor en el primer caso.

Continuando con el análisis de las diferentes etapas, en relación a la Pre-MIV, en un estudio llevado a cabo en 2021 por Kirillova et al.⁽²⁹⁾ se estudiaron 10 pacientes oncológicas ooforectomizadas. De cada ovario resecado, se obtuvieron CCO, que posteriormente se dividieron en dos grupos. El primer grupo de CCO se sometió a un ciclo de MIV, y el segundo fue cultivado en un protocolo bifásico (CAPA-MIV). Se obtuvo como resultado una tasa de maduración ovocitaria exitosa mayor en el grupo en el que se realizó el Pre-MIV (56% vs 35%, $p=0.0045$). Resultados similares se obtuvieron en 2020, en un ECA en con un $n=80$. Aleatoriamente se asignaron a 40 de las mujeres en el grupo 1, y las otras 40 en el grupo 2. En el primer grupo se realizó un ciclo de CAPA-MIV, y en el segundo un protocolo de MIV estándar. Este estudio también demostró una proporción de ovocitos maduros mayor en el grupo sometido a CAPA-MIV (63.6% vs. 49.0%; $p < 0.001$). Adicionalmente, aunque la diferencia no demostró ser significativa, se observó una tendencia clara a mejores tasas de nacido vivo en las pacientes del grupo en el que se llevó a cabo CAPA-MIV (50.0% vs 33.3% [$p = 0.17$]).⁽³⁰⁾

En cuanto al perfil de seguridad hay estudios que compararon características genéticas y morfológicas de los embriones generados luego de realizar MIV comparándolas con controles, y estudios que investigaron sobre resultados obstétricos, perinatales y hasta los dos años de edad. J. Kuhtz et al.⁽³¹⁾ evaluaron la presencia de mutaciones genéticas en pacientes mínimamente estimuladas con protocolos que no incluían hCG. Para esto se extrajeron complejos cúmulo-ovocitarios de folículos de 2-9 mm en pacientes con SOP, y ovocitos de pacientes estimuladas para Fertilización in vitro (FIV)/Inyección de espermatozoides intracitoplasmática (ICSI) o luego de inducción de ovulación. La comparación se hizo entre 71 ovocitos madurados in vitro y 38 obtenidos de pacientes estimuladas, sin encontrarse

diferencias estadísticamente significativas. G. Coticchio et al. ⁽³²⁾ compararon las características celulares de los ovocitos madurados in vitro e in vivo. Para esto se recolectaron 10 ovocitos madurados in vitro y otros 10 madurados in vivo para luego ser estudiados mediante microscopía electrónica. Los resultados fueron que la ultraestructura en ambos grupos es mayoritariamente similar, pero la limitante de este trabajo es el tamaño de la muestra.

Söderström-Anttila et al. ⁽³³⁾ recolectaron información de los embarazos y período perinatal de todos los nacidos por MIV entre 1999 y 2004 en Finlandia. Se incluyeron 40 nacidos de embarazos únicos y 3 embarazos múltiples dobles en 43 embarazadas, y también información sobre su desarrollo a los 6, 12 y 24 meses mediante la escala de Muenchener Funktionelle Entwicklungs Diagnostik (MFED) a los 6 y 12 meses, y Bayley para infantes a los 24 meses para luego compararlo con estándares nacionales. La escala MFED considera un desarrollo normal a aquel que alcanzan la mayoría de los niños en Finlandia, lugar de la investigación. La escala Bayley para infantes mide el desarrollo cognitivo a los 24 meses, y los datos recolectados fueron comparados con la población general finlandesa. La investigación concluyó que los resultados obstétricos y perinatales fueron buenos y el desarrollo también, salvo por un retraso menor del desarrollo a los 12 meses que se normalizó a los 24 meses .

En 2017 un estudio ⁽³⁴⁾ publicó una comparación sobre el nivel de desarrollo a los 2 años de edad de niños concebidos por MIV con el de niños concebidos por FIV e ICSI, y además compararon la ponderación de los resultados de estas tres técnicas con el desarrollo de niños no concebidos por TRA. Para esto se incluyeron 21 embarazos por cada técnica, donde se hizo screening a 62 embriones el primer trimestre, a 57 fetos la semana 21 del embarazo, a 60 neonatos y a 37 niños en su segundo cumpleaños. Respecto a los niños examinados a los 2 años de edad, el score Bayley para infantes se utilizó como parámetro. De los resultados de esta investigación se concluyó que no hubo diferencias en el desarrollo entre los grupos mencionados, con un score de Bayley de 91.3 ± 21.0 para el grupo MIV, 96.8 ± 13.2 para el grupo FIV y 103 ± 13.3 para el grupo ICSI.

Shu-Chi et al. ⁽³⁵⁾ en el año 2006 compararon un grupo de 21 niños concebidos por MIV y 21 concebidos espontáneamente (CE). No se registraron diferencias significativas entre los grupos respecto a la edad gestacional, con una media de 38,1 semanas, ni con el peso al nacer, con una media de 3100 gr. Por otro lado, las medias del índice de desarrollo cognitivo fueron más bajas en el grupo MIV ($92,7 \pm 10,5$) que en el grupo CE ($97,2 \pm 8,9$) ($p = 0,07$).

Posteriormente, en 2007 un estudio comparó tres grupos de niños nacidos por técnicas de reproducción asistida (TRA) (55 MIV, 217 FIV, 160 ICSI) con un grupo control de 350 niños

concebidos espontáneamente. Se encontró que el peso medio al nacer de todos los recién nacidos (únicos y múltiples) fue similar entre los tres grupos nacidos por TRA (MIV = 2,81 kg, FIV = 2,83 kg, ICSI = 2,81 kg), pero significativamente menor que en los controles (3,23 kg). Por otra parte, las tasas de malformaciones fueron similares en niños concebidos espontáneamente y en aquellos concebidos por MIV (OR 1.42, 95% IC 0.52; 3.91).⁽²²⁾

En cuanto a la criopreservación existen varias interrogantes, en primer lugar determinar cuál es la mejor técnica de criopreservación, siendo la vitrificación la más utilizada en forma universal. Por otro lado, determinar en qué etapa de la maduración ovocitaria es conveniente realizar la criopreservación.

Rienzi et al.⁽³⁶⁾ En 2017 realizaron un metaanálisis en el cual observaron una eficacia superior de la vitrificación sobre la congelación lenta, comparando las tasas de supervivencia en ovocitos en MII, con resultados de 82,3% y 66,1% respectivamente $p=0,031$, lo que ha llevado a que muchos laboratorios opten por moverse hacia la vitrificación.

Chung et al.⁽³⁷⁾ compararon las tasas de supervivencia y el desarrollo embrionario posterior al uso de ovocitos vitrificados en estadio inmaduro (VG, MI) o maduro (MII), encontrando mejores tasas de supervivencia, fertilización y desarrollo de blastocistos en el grupo de ovocitos maduros.

La tasa de maduración ovocitaria exitosa se ha visto afectada en el caso de criopreservar los ovocitos en etapa de vesícula germinal en lugar de en MII, con una diferencia significativa de 51% vs 82,9%⁽³⁸⁾

Con respecto a la fertilización, el método más utilizado en los casos de MIV es el de ICSI⁽¹⁴⁾, aunque también se ha usado la FIV convencional con resultados efectivos.⁽³⁹⁾ Una de las ventajas que ofrece la ICSI es que permite al personal del laboratorio valorar mejor la madurez del núcleo al remover las células de la corona radiada e identificar el cuerpo polar.⁽¹⁴⁾ Si se logró una maduración exitosa, las tasas de fertilización son de 62.9-90.7%.⁽²⁵⁾

Un ensayo clínico publicado en 2012, estudió a 8 pacientes con SOP de las cuales se extrajeron 150 ovocitos. Luego se dividieron en dos grupos de 75 ovocitos de características comparables cada uno. El primer grupo fue fertilizado por ICSI y el segundo por FIV convencional. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a tasas de fertilización y desarrollo de blastocistos entre ambos grupos.⁽⁴⁰⁾

Un ECA realizado en 2020⁽⁴¹⁾, llevó a cabo un estudio en 38 pacientes con SOP que se sometieron a un tratamiento de MIV, en total se recolectaron 828 ovocitos inmaduros y se

asignaron aleatoriamente para inseminación mediante FIV (416 ovocitos) o ICSI (412 ovocitos). Posteriormente los embriones se cultivaron hasta la etapa de blastocisto y se transfirieron. Se encontraron resultados comparables entre ambas técnicas en términos de fertilización, desarrollo embrionario y tasas de embarazo, por lo que este trabajo permite interpretar que la utilización de una técnica de fertilización u otra podría no determinar la eficacia de la MIV.

Si bien existe bibliografía que describe a la MIV como conveniente, accesible y segura, los resultados continúan favoreciendo a otras técnicas.⁽²⁰⁾ En la actualidad la llegada a blastocistos continúa siendo la gran limitante del desarrollo de la MIV, ya que las tasas de implantación y embarazo viable post transferencia embrionaria, resultaron comparables con los resultados de un protocolo de FIV convencional. Esto mismo se puede apreciar en un ECA llevado a cabo en el 2022, en el cual se estudiaron a 351 pacientes con SOP. Las pacientes se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos. En uno de los grupos (n=175) se realizó MIV, y en el otro (n=176) se realizó un protocolo de FIV convencional. Durante el estudio el 35% del grupo de MIV no contó con blastocitos para transferir, mientras que solo el 3% del grupo FIV se encontró en esta situación.⁽³⁸⁾

Conclusiones

Destacamos el escaso número de publicaciones vinculadas a la MIV que dificultan la posibilidad de evaluar la efectividad de esta técnica. Si bien no hay mucha evidencia e investigaciones en el grupo de pacientes oncológicas, vale la pena estudiar la aplicabilidad de MIV en dicha población ya que se trata de uno de los grupos de pacientes que más se beneficiaría de esta estrategia.

En cuanto al protocolo de estimulación hormonal previa a la recolección ovocitaria, en las investigaciones incluidas, se observó que la administración de FSH a las pacientes, parece tener mejores resultados. Así mismo, el uso de hCG como estimulación hormonal podría mejorar los resultados cuando es asociada al FSH, sin embargo, otros autores plantean que podría dificultar el procedimiento y aumentar los costos.

En lo referente a la aspiración ovocitaria la escasa evidencia se muestra a favor del uso de la aspiración transvaginal sobre la aspiración a partir de tejido ovárico criopreservado.

En los últimos años se ha estudiado el papel de Pre-MIV en los resultados de la MIV, observándose una tendencia a la mejora de las tasas de maduración ovocitaria exitosa.

Los resultados más favorables para la criopreservación de ovocitos se han observado mediante la vitrificación de ovocitos maduros MII. Sin embargo, una limitación es la falta de estudios con una muestra de mayor tamaño, que comparen los resultados luego de vitrificar ovocitos en diferentes estadios del desarrollo (VG, MI, MII). De todas formas, la eficiencia de la criopreservación de ovocitos aún es baja, siendo necesario mejorar en los protocolos y resultados.

En cuanto a la técnica de elección para la fertilización de los ovocitos obtenidos tras MIV, se observó que la FIV es una técnica tan válida como la ICSI.

El desarrollo embrionario al estadio de blastocisto es una de las principales determinantes de la eficacia de la técnica, por lo tanto sería beneficioso que se invierta en la realización de futuros trabajos de investigación para determinar protocolos que brinden mayor información sobre este aspecto.

Hasta el momento no se han reportado diferencias significativas en el desarrollo de los niños concebidos por MIV y los concebidos por FIV, ICSI e incluso entre aquellos concebidos sin TRA, sin embargo se necesitará mayor evidencia científica para sacar conclusiones respecto a este tema.

En el caso de pacientes oncológicas, la opción de recurrir a una MIV y posterior transferencia embrionaria una vez superada la enfermedad impresiona ser segura. Es por esto que la MIV podría tratarse de una técnica muy prometedora para el futuro de la oncofertilidad, siendo necesario mayor estudio.

Abreviaturas

- **ABVD:** doxorrubicina, bleomicina, vinblastina, dacarbazina
- **AC:** doxorrubicina, ciclofosfamida
- **ALL:** leucemia linfocítica aguda
- **AMH:** hormona anti mülleriana
- **AML:** leucemia mieloide aguda
- **BEACOPP:** bleomicina, etopósido, doxorrubicina, ciclofosfamida, vincristina, prednisona, procarbazona
- **BEP:** bleomicina, etopósido, cisplatino
- **CAF:** ciclofosfamida, doxorrubicina, 5-fluorouracilo
- **CEF:** ciclofosfamida, epirrubicina, 5-fluorouracilo;
- **CHOP,** ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisona
- **ChT:** quimioterapia
- **CMF:** ciclofosfamida, metotrexato, 5-fluorouracilo
- **DA-ÉPOCA:** etopósido, prednisona, vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina en dosis ajustadas
- **dd:** dosis densa
- **EBRT:** radioterapia de haz externo
- **EC:** epirrubicina, ciclofosfamida;
- **EP:** etopósido, cisplatino;
- **F:** fluorouracilo;
- **FOLFOX:** ácido folínico, 5-fluorouracilo, oxaliplatino
- **Gy:** gray, unidad de medida RT
- **RT:** radioterapia;
- **TAC:** docetaxel, doxorrubicina, ciclofosfamida

Referencias bibliográficas

- 1) McClam M, Xiao S. Preserving Oocytes in Oncofertility†. *Biology of reproduction* [Internet]. 2022 Feb 22;106(2):328–37. DOI:10.1093/biolre/ioac008
- 2) Janse F, Knauff EA, Niermeijer ME, Eijkemans MJ, Laven JS, Lambalk CB, et al. Similar phenotype characteristics comparing familial and sporadic premature ovarian failure. *Menopause* (10723714) [Internet]. Julio de 2010 ;17(4):758–65. DOI: 10.1097/gme.0b013e3181cf8521
- 3) Lambertini M, Peccatori FA, Demeestere I, Amant F, Wyns C, Stukenborg J-B, et al. Fertility preservation and post-treatment pregnancies in post-pubertal cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines†. *Annals of Oncology* [Internet]. 1 de diciembre de 2020;31(12):1664–78. DOI:10.1016/j.annonc.2020.09.006
- 4) Woodruff TK. Oncofertility: a grand collaboration between reproductive medicine and oncology. *Reproduction* (Cambridge, England) [Internet]. Septiembre de 2015;150(3):S1–10. DOI:10.1530/REP-15-0163
- 5) Cópola Francisco, Domínguez Álvaro, Oliveras Macarena, Ibarra Teresa. Banco de tejido ovárico para jóvenes con cáncer de mama: informe preliminar de los primeros casos. *Rev. Méd. Urug.* [Internet]. Diciembre 2010 ; 26(4): 238-245. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902010000400006&lng=es.
- 6) University Hospitals Coventry & Warwickshire [Internet]. [cited 2023 Nov 15]. Disponible en: <https://www.uhcw.nhs.uk/ivf/treatments/cryopreservation/>
- 7) Embryo Freezing (Cryopreservation): Purpose & Results [Internet]. Disponible en: <https://my.clevelandclinic.org/health/treatments/15464-embryo-freezing-cryopreservation>
- 8) Grynberg M, Sermondade N, Sellami I, Benoit A, Mayeur A, Sonigo C. In vitro maturation of oocytes for fertility preservation: a comprehensive review [Internet]. 1 de enero de 2022 ; DOI:10.1016/j.xfnr.2022.07.002
- 9) Vuong LN, Pham TD, Ho TM, De Vos M. Outcomes of clinical IVM programs for treating infertility in hyperresponders: a systematic review [Internet]. 1 de enero de 2023; DOI:10.1016/j.fertnstert.2023.01.046
- 10) Gilchrist RB, Smits J. Oocyte in vitro maturation: physiological basis and application to clinical practice [Internet]. 1 de abril de 2023;119(4):524–39. DOI:10.1016/j.fertnstert.2023.02.010
- 11) Hatirnaz Ş, Ata B, Hatirnaz ES, Dahan MH, Tannus S, Tan J, et al. Oocyte in vitro maturation: A systematic review. *Turkish Journal of Obstetrics & Gynecology* [Internet]. Junio de 2018;15(2):112–25. DOI:10.4274/tjod.23911
- 12) Teresa Sir DP, Jessica Preisler R, Amiram Magendzo N. Síndrome de ovario poliquístico. diagnóstico y manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes* [Internet]. 1 de septiembre de 2013 ;24(5):818–26. DOI:10.1016/S0716-8640(13)70229-3
- 13) Telfer EE, Andersen CY. In vitro growth and maturation of primordial follicles and immature oocytes. *Fertility and Sterility* [Internet]. 1 de enero de 2021;DOI:10.1016/j.fertnstert.2021.03.004
- 14) Walls ML, Hart RJ. In vitro maturation. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* [Internet]. 1 de noviembre de 2018 ;53:60–72. DOI:10.1016/j.bpobgyn.2018.06.004
- 15) Fondo Nacional de Recursos. TRATAMIENTO DE LA INFERTILIDAD HUMANA Y ONCOFERTILIDAD MEDIANTE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA DE ALTA COMPLEJIDAD Normativa de Cobertura. 2015 Actualizado 2023.

- 16) Yamada M, Isaji Y. Structural and functional changes linked to, and factors promoting, cytoplasmic maturation in mammalian oocytes. *Reproductive Medicine & Biology* [Internet]. Junio de 2011;10(2):69–79. DOI:10.1007/s12522-011-0079-4
- 17) Smith JES Gary D. Mechanism of oocyte maturation. In: *In Vitro Maturation of Human Oocytes*. CRC Press; 2006.
- 18) Periodikos [Internet]. [cited 2023 Nov 15]. Control of oocyte maturation. Disponible en: <http://www.animal-reproduction.org/article/5b5a603ef7783717068b4651>
- 19) Gilchrist RB, Ho TM, De Vos M, Sanchez F, Romero S, Ledger WL, et al. A fresh start for IVM: capacitating the oocyte for development using pre-IVM. *Human reproduction update* [Internet]. 28 de agosto de 2023 ; DOI: 10.1093/humupd/dmad02
- 20) Zheng X, Guo W, Zeng L, Zheng D, Yang S, Xu Y, et al. In vitro maturation without gonadotropins versus in vitro fertilization with hyperstimulation in women with polycystic ovary syndrome: a non-inferiority randomized controlled trial. *Human reproduction (Oxford, England)* [Internet]. 28 de enero de 2022 ;37(2):242–53. DOI:10.1093/humrep/deab243
- 21) Cadenas J, la Cour Poulsen L, Mamsen LS, Andersen CY. Future potential of in vitro maturation including fertility preservation. *Fertility and Sterility* [Internet]. 1 de abril de 2023 ;119(4):550–9. DOI:10.1016/j.fertnstert.2023.01.027
- 22) Buckett WM, Chian RC, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstetrics & Gynecology* [Internet]. Octubre de 2007;110(4):885–91. DOI:10.1097/01.aog.0000284627.38540.80
- 23) Basatemur E, Sutcliffe A. Health of IVM children. *Journal of assisted reproduction and genetics* [Internet]. Junio de 2011;28(6):489–93. DOI:10.1007/s10815-011-9561-5
- 24) Mikkelsen AL, Lindenberg S. Benefit of FSH priming of women with PCOS to the in vitro maturation procedure and the outcome: a randomized prospective study. *Reproduction (Cambridge, England)* [Internet]. Octubre 2001;122(4):587–92. DOI:10.1530/rep.0.1220587
- 25) Chian RC, Buckett WM, Tulandi T, Tan SL. Prospective randomized study of human chorionic gonadotrophin priming before immature oocyte retrieval from unstimulated women with polycystic ovarian syndrome. *Human Reproduction* [Internet]. Junio del 2000;15(1):165–70. DOI:10.1093/humrep/15.1.165
- 26) Fadini R, Dal Canto M, Renzini MM, Brambillasca F, Comi R, Fumagalli D, et al. Effect of different gonadotrophin priming on IVM of oocytes from women with normal ovaries: a prospective randomized study. *Reproductive BioMedicine Online* [Internet]. 1 de Junio de 2009;19(3):343–51. DOI:10.1016/S1472-6483(10)60168-X
- 27) Kedem A, Yerushalmi GM, Brengauz M, Raanani H, Orvieto R, Hourvitz A, et al. Outcome of immature oocytes collection of 119 cancer patients during ovarian tissue harvesting for fertility preservation. *Journal of assisted reproduction and genetics* [Internet]. Mayo de 2018 ;35(5):851–6. DOI:10.1007/s10815-018-1153-1
- 28) De Roo C, Tilleman K. In Vitro Maturation of Oocytes Retrieved from Ovarian Tissue: Outcomes from Current Approaches and Future Perspectives. *Journal of Clinical Medicine* [Internet]. 15 de octubre de 2021;10(20):4680. DOI:10.3390/jcm10204680
- 29) Kirillova A, Bunyaeva E, Van Ranst H, Khabas G, Farmakovskaya M, Kamaletdinov N, et al. Improved maturation competence of ovarian tissue oocytes using a biphasic in vitro maturation system for patients with gynecological malignancy: a study on sibling oocytes. *Journal of assisted reproduction and genetics* [Internet]. Junio de 2021 ;38(6):1331–40. DOI:10.1007/s10815-021-02118-z
- 30) Vuong LN, Le AH, Ho VNA, Pham TD, Sanchez F, Romero S, et al. Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary

- syndrome. *Journal of assisted reproduction and genetics* [Internet]. Febrero de 2020 ;37(2):347–57. DOI:10.1007/s10815-019-01677-6
- 31) Kuhtz J, Romero S, De Vos M, Smitz J, Haaf T, Anckaert E. Human in vitro oocyte maturation is not associated with increased imprinting error rates at LIT1, SNRPN, PEG3 and GTL2. *Human Reproduction* [Internet]. Septiembre de 2014;29(9):1995–2005. DOI:10.1093/humrep/deu155
 - 32) Coticchio G, Dal Canto M, Fadini R, Renzini MM, Guglielmo MC, Miglietta S, et al. Ultrastructure of human oocytes after in vitro maturation. *Molecular Human Reproduction* [Internet]. Febrero de 2016 ;22(2):110–8. DOI:10.1093/molehr/gav071
 - 33) Söderström-Anttila V, Salokorpi T, Pihlaja M, Serenius-Sirve S, Suikkari A-M. Obstetric and perinatal outcome and preliminary results of development of children born after in vitro maturation of oocytes. *Human reproduction* (Oxford, England) [Internet]. Junio de 2006 ;21(6):1508–13. DOI:10.1093/humrep/dei503
 - 34) Roesner S, von Wolff M, Elsaesser M, Roesner K, Reuner G, Pietz J, et al. Two-year development of children conceived by IVM: a prospective controlled single-blinded study. *Human Reproduction* [Internet]. Junio de 2017 ;32(6):1341–50. DOI:10.1093/humrep/dex068
 - 35) Shu-Chi M, Jiann-Loung H, Yu-Hung L, Tseng-Chen S, Ming-I L, Tsu-Fuh Y. Growth and development of children conceived by in-vitro maturation of human oocytes. *Early Human Development* [Internet]. 1 de enero de 2006 ;82(10):677–82. DOI:10.1016/j.earlhumdev.2006.01.012
 - 36) Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Human reproduction update* [Internet]. 1 de marzo de 2017 ;23(2):139–55. DOI:10.1093/humupd/dmw038
 - 37) Chung HM, Hong SW, Lim JM, Lee SH, Cha WT, Ko JJ, et al. In vitro blastocyst formation of human oocytes obtained from unstimulated and stimulated cycles after vitrification at various maturational stages. *Fertility and Sterility* [Internet]. 1 de enero de 2000;73(3):545–51. DOI:10.1016/S0015-0282(99)00546-4
 - 38) Cao Y, Xing Q, Zhang Z-G, Wei Z-L, Zhou P, Cong L. Cryopreservation of immature and in-vitro matured human oocytes by vitrification. *Reproductive BioMedicine Online* [Internet]. 1 de enero de 2009;19(3):369–73. DOI:10.1016/S1472-6483(10)60170-8
 - 39) Roesner S, Dietrich JE, Weigert J, Montag M, Toth B, Strowitzki T. Time-lapse imaging reveals differences in growth dynamics of embryos after in vitro maturation compared with conventional stimulation. *Fertility and Sterility* [Internet]. 1 de marzo de 2017;107(3):606–12. DOI:10.1016/j.fertnstert.2016.12.026
 - 40) Walls M, Junk S, Ryan JP, Hart R. IVF versus ICSI for the fertilization of in-vitro matured human oocytes. *Reproductive BioMedicine Online* [Internet]. 1 de diciembre de 2012;25(6):603–7. DOI: 10.1016/j.rbmo.2012.08.001
 - 41) Pongsuthirak P. The effect of insemination methods on in vitro maturation outcomes. *Clinical & Experimental Reproductive Medicine* [Internet]. Junio de 2020 ;47(2):130–4. DOI:10.5653/term.2019.03300

Agradecimientos

Queremos agradecer a nuestros orientadores Dr. Gabriel Anesetti y Dra. Dana Kimelman por el acompañamiento continuo y la ayuda prestada, la realización de este trabajo no habría sido posible si no fuera por ellos.