

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA



REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS SOBRE EL EFECTO DEL  
TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE EL DESCONGELAMIENTO Y LA  
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PREVIAMENTE CONGELADOS SOBRE  
LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN PACIENTES TRATADAS CON  
FERTILIZACIÓN IN VITRO

Por

Dr. Eduardo Gutiérrez Orozco

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
SUBESPECIALIDAD EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

DICIEMBRE 2019

**“REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS SOBRE EL EFECTO DEL  
TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE EL DESCONGELAMIENTO Y LA  
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PREVIAMENTE CONGELADOS SOBRE  
LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN PACIENTES TRATADAS CON  
FERTILIZACION IN VITRO”**

**Acta de Aprobación:**

---

**Dr. med. Luis Humberto Sordia Hernández**

**Director de tesis y Profesor del Departamento de Ginecología y  
Obstetricia**

---

**Dr. med. Donato Saldívar Rodríguez**

**Jefe del Departamento de Ginecología y Obstetricia**

---

**Dra. Sci. Geraldina Guerrero González Coordinadora de  
Investigación del Departamento de Ginecología y Obstetricia**

---

**Dr. med. Felipe Arturo Morales  
Subdirector de Estudios de Posgrado**

## DEDICATORIA

A mi madre, por demostrarme que todo es posible a pesar de las dificultades, por tanto amor y paciencia durante estos años. A mi padre, que siempre ha estado en todo momento, apoyando cada decisión que he tomado. A Cintly, mi esposa que tanto amo, que sin su amor, ayuda, apoyo, paciencia y comprensión no podría haber culminado este paso más en mi carrera profesional. A Samantha, que me ha permitido madurar como persona y es la razón de todo el esfuerzo y trabajo realizado. A mi suegra que nos ha ayudado cada vez que se nos presentó alguna dificultad y que permitió que continuara mis estudios.

A mis maestros Dr Felipe Arturo Morales, Dr Otto Valdés, Dr Manuel García, Dr González Báez, Dra Juanita Vazquez, Dr Absalon Leal, Dra Sara Peña y Maestra Martha Merino que gracias a sus amplios conocimientos en el tema, la paciencia durante todo el ciclo y las habilidades que cada uno posee no fuera posible toda mi formación. Al Dr Luis Humberto Sordia, que gracias a su confianza, paciencia y enseñanzas fue posible la realización de este trabajo, a pesar de todas las inquietudes y adversidades que se presentaron. A todos ellos, gracias por permitirme formar parte de esta institución.

A las embriólogas, Lilith y Nora, que con su ayuda pudimos ver todos los procesos realizados en laboratorio. A Ofelia, Margarita, Toñita y Flor, que gracias a su experiencia hicieron más amena la estancia y me pudieron brindar consejos que me ayudaron en mi enseñanza. Y a mis compañeros, Lorna y César, que al final terminaron siendo mis hermanos. Muchas gracias de verdad!

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VII
INDICE DE ABREVIATURAS	VIII
CAPÍTULO I	1
RESUMEN	1
CAPÍTULO II	4
INTRODUCCIÓN	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
JUSTIFICACIÓN	10
CAPÍTULO III	11
OBJETIVOS	11
OBJETIVO PRIMARIO	11
OBJETIVOS SECUNDARIOS	11
CAPÍTULO IV	12
MATERIAL Y MÉTODOS	12
TIPOS DE ESTUDIOS	12
ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA Y BASES DE DATOS	13
PROCESO DE SELECCIÓN	14
EXTRACCIÓN DE DATOS	14
SÍNTESIS DE DATOS	15

RIESGO DE SESGO	16
PACIENTES Y RESULTADOS	17
CAPÍTULO V	18
RESULTADOS	18
EMBARAZOS BIOQUÍMICOS	20
TASAS DE IMPLANTACIÓN	21
TASAS DE EMBARAZO CLÍNICO	21
TASAS DE NACIMIENTOS VIVOS	21
TASAS DE ABORTO	22
TASAS DE EMBARAZO ECTÓPICO	22
META-ANÁLISIS ACUMULATIVO	23
CAPÍTULO VI	26
DISCUSIÓN	26
CAPÍTULO VII	30
CONCLUSIONES	30
CAPÍTULO VIII	31
ANEXOS	31
CAPÍTULO IX	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
CAPÍTULO XI	35
RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	35
ABSTRACT	36
BACKGROUND	36
RESEARCH QUESTION	36

<b>DESIGN</b>	<b>36</b>
<b>RESULTS</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSIONS</b>	<b>37</b>
<b>KEY-WORDS</b>	<b>38</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

**FIGURA 1.**

**FLUJOGRAMA DE SELECCIÓN DE ESTUDIOS**

**19**

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b>	
<b>CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS Y LAS PARTICIPANTES INCLUIDAS.</b>	<b>20</b>
<b>TABLA 2.</b>	
<b>RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE LOS ESTUDIOS ANALIZADOS.</b>	<b>23</b>
<b>TABLA 3.</b>	
<b>TASA DE EMBARAZO CON CULTIVOS DE &gt;16 HRS VS &lt;2 HRS.</b>	<b>24</b>
<b>TABLA 4.</b>	
<b>ANÁLISIS DE RIESGO DE SESGO DE LOS ECA.</b>	<b>24</b>
<b>TABLA 5.</b>	
<b>ANÁLISIS DE RIESGO DE SESGO DE ESTUDIOS DE COHORTE</b>	<b>25</b>



## INDICE DE ABREVIATURAS

FIV – Fertilización in Vitro

TRA – Técnicas de Reproducción Asistida

TEC – Transferencia de embriones congelados

PRISMA – Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses

PROSPERO – The International Prospective **Register** of Systematic Reviews

TE – Tasa de embarazo

TI – Tasa de implantación

TE – Tasa de embarazo

TA – Tasa de aborto

TEE – Tasa de embarazo ectopico

TNV – Tasa de nacido vivo

ECA – Ensayo clínico aleatorizado

GRADE - Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation

# **CAPÍTULO I**

## **RESUMEN**

### **ANTECEDENTES**

La criopreservación embrionaria es una piedra angular en las técnicas de reproducción asistida y su uso ha sido relacionado ha mejores resultados reproductivos. Actualmente no hay un consenso claro sobre el momento óptimo para el descongelamiento en protocolos de embriones congelados, a pesar de que la identificación de un tiempo de cultivo adecuado mejoraría los entornos del medio embrionario, permitiendo optimizar los resultados reproductivos.

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

Esta revisión sistemática tuvo como objetivo explorar si el tiempo de cultivo corto o largo, entre el descongelamiento y la transferencia de embriones criopreservados, tuvo un impacto en los resultados reproductivos posterior a una fertilización in vitro (FIV).

### **DISEÑO DE ESTUDIO**

Se eligieron estudios que evaluaron las asociaciones de dos tiempos de cultivo diferentes posterior al descongelamiento, y antes de la transferencia de embriones criopreservados con la incidencia de tasa de embarazo, tasa de

implantación, tasa de aborto, tasa de nacido vivo o de embarazo en curso, tasa de embarazo ectópico en pacientes posterior a FIV. Se realizó una búsqueda en PubMed, Embase y la biblioteca Cochrane (desde enero 2000 hasta agosto 2019). Se obtuvo un meta-análisis acumulativo y evaluación de heterogeneidad para la tasa de embarazo. La calidad de los estudios fue evaluada utilizando la herramienta de riesgo de sesgo de Cochrane y la ROBINS-1 para estudios observacionales.

## RESULTADOS

Se localizaron inicialmente un total de 5338 estudios en las bases de datos electrónicas, de los cuales cinco estudios fueron incluidos; 2 ensayos clínicos aleatorizados y 3 con diseño retrospectivo. Los estudios incluidos en esta revisión fueron publicados entre 2010 y 2019. Uno de ellos incluyó solamente transferencias con embriones de día 5; cuatro estudios incluyeron transferencias con embriones de día 3. La mayoría de los estudios tuvieron alto riesgo de sesgo, encontrando como moderado riesgo el de mejor calidad. La tasa de embarazo mostró un Odds Ratio combinado de 0.91 (IC 95% 0.80-1.05) con bajo grado de heterogeneidad ( $p$  0.32,  $I^2$  11%); sin embargo no se encontró diferencia entre el cultivo de embriones corto y largo.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio indican que no hay diferencias entre los resultados reproductivos de los embriones criopreservados que fueron transferidos posterior a una noche de cultivo o con 2 horas de cultivo después del descongelamiento.

Estos hallazgos no son concluyentes e invitan a la comunidad médica a continuar con la investigación en ésta área. Las limitaciones de este estudio fueron que existe poca evidencia sobre el tema y la calidad de los estudios incluidos, donde oscilaron entre calidad media a baja.

#### PALABRAS CLAVE

Blastocisto, vitrificación, duración de cultivo posterior al descongelamiento, técnicas de reproducción asistida, transferencia embrionaria, congelamiento-descongelamiento, resultados clínicos, embrión de excelente calidad, transferencia de embriones congelados-descongelados, embarazo, transferencia de embrión único, transferencia de embrión criopreservado, cultivo extendido, cultivo de blastocisto, congelamiento, fertilización in vitro, cultivo posterior al descongelamiento, cultivo extendido, tasa de embarazo clínico, tasa de implantación.

## **CAPÍTULO II**

### **INTRODUCCIÓN**

Con la aparición de los métodos anticonceptivos ha sido posible planificar y de esta forma aplazar en gran medida la maternidad. Esto ha permitido que las mujeres puedan tener grandes logros a nivel académico y laboral. Aunado a esto, los avances en la biología de la reproducción han permitido que pacientes con deseo de embarazo e infertilidad logren la concepción. Actualmente el conocimiento sobre los distintos métodos de reproducción asistida por parte de las pacientes es amplio, incluso llegando a aceptar procedimientos como donación de óvulos o útero subrogado. (1).

Desde la aparición de la FIV en 1978, se han utilizado diversos medios de cultivo embrionario y distintas técnicas de almacenamiento. La criopreservación de gametos y embriones es un aspecto esencial en las TRA para pacientes que desean embarazos posteriores al ciclo de estimulación o que por el riesgo de hiperestimulación ovárica se decide congelar e intentar una transferencia de embriones congelados en un ciclo posterior (2,3) (4). Se ha reportado que las tasas de embriones criopreservados pueden llegar hasta el 50% actualmente.

Diversos estudios y meta-análisis han encontrado que la vitrificación es superior a la técnica por congelamiento lento para conservar embriones (5) (6). Asimismo,

se sabe que el proceso de descongelamiento no es inocuo, se ha descrito que solamente un 30-48% de los embriones sobreviven el proceso de criopreservación. Por lo tanto, la buena morfología embrionaria, la carencia de daño al descongelamiento y el continuar con la multiplicación posterior al cultivo nocturno se consideran esenciales para lograr tasas de embarazo elevadas (7) (8).

El proceso de descongelamiento incluye realizar cultivo posterior para verificar la viabilidad de los embriones y finalmente realizar la transferencia embrionaria. Múltiples estudios se han realizado sin poder concluir sobre cuál es el momento ideal de cultivo posterior al descongelamiento embrionario.

Desde 2003, Fabrice Guerif et al., realizaron estudios sobre la importancia que tiene el intervalo entre el descongelamiento y la transferencia embrionaria. En su estudio analizó 338 blastocistos cultivándolos 4 y 20 hrs previas a la transferencia. No encontró diferencia en la supervivencia, sin embargo las tasas de reexpansión y eclosión fueron mayores en el grupo de 20 hrs entre descongelamiento y transferencia. Concluye que el mayor tiempo de cultivo permite una mejor selección embrionaria. (9)

Posteriormente, Joshi et al, comparó el cultivo previo de 2 hrs con el cultivo durante toda la noche previa a la transferencia. En su estudio, concluye que no existe diferencia significativa entre los 2 tiempos de cultivo comparados respecto a las tasas de embarazo (24.3% vs 20.3% en cultivo nocturno vs cultivo de 2 hrs

respectivamente); solamente realiza la observación que el transferir más de 2 embriones en etapa de escisión permite mejores tasas de embarazo (42.2% vs 16.9%) (3).

Otros estudios indican que aparentemente los menores tiempos de cultivo posterior al descongelamiento presentan mejores tasas de embarazo. El estudio retrospectivo de Rato et al., incluyó 631 embriones que se colocaron en 2 grupos: uno de cultivo largo (18-24 hrs) y corto (2-5 hrs), con análisis de variables confundidoras como edad de la paciente durante aspiración ovocitaria, desarrollo embrionario al momento de la congelación y supervivencia de blastómeras al descongelamiento. Se encontraron mayores tasas de implantación (OR 2.3) y tasas de embarazo (OR 2.9) en cultivos cortos vs largos (10).

Rentao et al., en 2013, realizó un estudio con embriones en etapa de escisión que se someten a descongelamiento y cultivo 16 hrs y 2 hrs posterior al mismo, concluyendo que no hay diferencias significativas en tasas de embarazo por embrión transferido (42.48 vs 40.95%), tasas de implantación (21.79 vs 20.82%) o tasa de nacido vivo (37.6 vs 34.05%). Solamente se observó una menor tasa de reducción en sacos gestacionales durante el 1er trimestre entre el grupo de cultivo largo vs corto (10.9 vs 20.8%) (11).

Resultados similares se obtuvieron en el estudio retrospectivo de Guo et al. Se analizaron 3,398 embriones descongelados, los cuales se dividieron en 2 grupos: grupo de cultivo corto (2-4 hr) y cultivo largo (20-24 hrs). Al transferir al menos 1

embrión grado I, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a tasa de embarazo (44.3 vs 46.8%), tasa de implantación (24.2 vs 26.1%), tasa de embarazo múltiple (33.8 vs 34.3%), tasa de aborto (18.6 vs 15.1%), tasa de embarazo ectópico (6.8 vs 5.7%), tasa de nacido vivo (17 vs 18.9%) y peso al nacer (2,861.9 vs 2,868.8 gr) entre grupos (12).

Posteriormente, al mejorar los cultivos embrionarios y las técnicas para el desarrollo de los mismos, se elaboraron estudios en blastocistos comparando el tiempo de cultivo entre descongelamiento y transferencia embrionaria. Fang et al., en 2016, realizaron un estudio retrospectivo en el cual incluyó blastocistos transferidos el mismo día de descongelamiento y 24 hrs posterior al mismo; no encontrando diferencias en tasas de embarazo clínico, tasa de implantación y tasa de aborto o tasa de embarazo múltiple entre grupos. (13)

Un estudio prospectivo randomizado realizado por Herbemont et al., incluyó a 162 blastocistos de buena calidad, dividiéndolos en 2 grupos: grupo de descongelamiento 24 hrs antes de la transferencia y grupo de descongelamiento el mismo día de la transferencia. El porcentaje de blastocistos eclosionados fue mayor en el grupo de cultivo largo (38.5 vs 12.7%), tasas de implantación fueron similares (38 vs 36%), así como las tasas de nacido vivo (35.8 vs 34.6%). Se concluyó que los 2 métodos pueden realizarse sin afectar las tasas de implantación ni embarazo en pacientes sometidas a TEC. (14)



El trabajo más reciente que estudia las diferencias en los tiempos de descongelamiento y transferencia es el de Wang et al. En éste se analizan 1654 embriones congelados que se dividen en grupo de cultivo corto (2 hrs) vs largo (24 hrs). Como resultado se encontró que no existen diferencias significativas en cuanto a tasa de embarazo, implantación, nacido vivo, aborto y embarazo ectópico entre grupos. Sin embargo, la tasa de implantación aumentó en el grupo de 2 hr (41.1%) comparado con el de 24 hr (36%) al transferir al menos 1 embrión óptimo de día 3. Se concluye que la tasa de implantación pudiera verse beneficiada con el cultivo de 2 hrs en embriones de buena calidad de día 3. (15).

A pesar de que múltiples estudios se han realizado, aún existe controversia sobre los resultados obtenidos y la calidad de los mismos. Por lo tanto, es de suma importancia realizar un análisis exhaustivo sobre los resultados reproductivos.

El objetivo de esta revisión sistemática es el evaluar si los tiempos de cultivo, tanto corto como largo entre el descongelamiento y la transferencia embrionaria, tiene un impacto en los resultados reproductivos de pacientes que son sometidas a fertilización in vitro.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infertilidad es un problema a nivel mundial que ha ido en aumento los últimos años. Actualmente existen diversos tratamientos para disminuir la prevalencia de esta patología.

La fertilización in vitro ha permitido que parejas con infertilidad puedan lograr el embarazo. El desarrollo de nuevas técnicas de criopreservación de embriones ha permitido que se puedan conservar para su posterior transferencia aumentando las tasas de embarazo en la población.

El cultivo posterior al descongelamiento de embriones es crucial para permitir el desarrollo del mismo y con esto evaluar las posibilidades de embarazo. Existen cultivos de largos como de cortos períodos de tiempo.

Existe controversia sobre el tiempo de cultivo ideal posterior al descongelamiento embrionario.

Derivado de lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto del tiempo transcurrido entre el descongelamiento y la transferencia de embriones previamente congelados sobre los resultados reproductivos en pacientes tratadas con fertilización in vitro?

## JUSTIFICACIÓN

Debido a que las técnicas de reproducción asistida se han convertido en uno de los procedimientos más utilizados los últimos tiempos, es importante conocer los métodos que permiten mejorar las tasas de embarazo en pacientes que se someten a éstas.

La criopreservación de embriones es una técnica útil en la cual se permite conservar los embriones para su posterior transferencia, ya sea porque la paciente se someterá a procedimientos que pueden llegar a ser gonadotóxicos (radioterapia o quimioterapia en pacientes con cáncer) o pacientes que tuvieron una hiperestimulación ovárica durante el tratamiento con gonadotropinas.

La literatura mundial disponible no ha logrado definir con exactitud cuál es el tiempo recomendado entre el descongelamiento y transferencia de embriones criopreservados. Existe controversia al presentar resultados opuestos, algunos favoreciendo el cultivo menor de 2 hrs y otros con cultivo de 16 hrs. El conocer el tiempo ideal nos ayudará a aumentar las tasas de embarazo en pacientes que se sometan a transferencias de embriones congelados/descongelados.

Es por ello, la importancia de realizar esta revisión sistemática y meta-análisis, para poder establecer el tiempo mas adecuado entre el descongelamiento – transferencia de embriones congelados y de esta forma ofrecer mejores resultados a pacientes con problemas de infertilidad.

## **CAPÍTULO III**

### **OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO PRIMARIO**

Determinar el impacto en el tiempo transcurrido entre el descongelamiento y la transferencia embrionaria en tasas de embarazo en pacientes sometidas a transferencias de embriones congelados.

#### **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

Evaluar si existe impacto en el tiempo transcurrido entre el descongelamiento y la transferencia embrionaria en:

- Tasas de implantación
- Tasas de nacido vivo
- Tasas de aborto
- Tasas de embarazo ectópico

## **CAPÍTULO IV**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los métodos utilizados para esta revisión sistemática se apegaron a los elementos de informes preferidos para revisiones sistemáticas y meta-análisis (PRISMA) (16) y las recomendaciones de la colaboración Cochrane (17). La metodología se describe completamente en el protocolo, que se registró en el Registro prospectivo de revisiones sistemáticas (PROSPERO) con el número de registro: CRD42019137136 y está completamente disponible en el Registro Prospectivo Internacional de Revisiones Sistemáticas del Instituto Nacional de Investigación en Salud.

[https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display\\_record.php?ID=CRD42019137136](https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42019137136)).

### **TIPOS DE ESTUDIOS**

Los criterios de inclusión son los siguientes: ensayos clínicos aleatorios, estudios observacionales retrospectivos o prospectivos informados en idioma inglés, mujeres infértiles sometidas a FIV / TE con transferencias de embriones congelados, ensayos que evalúan las tasas de implantación (TI), las tasas de embarazo (TE), definidas como la visualización de un saco gestacional por ecografía transvaginal, la tasa de aborto espontáneo (TA), definido como pérdida fetal antes de la vigésima semana de gestación, tasa de embarazo ectópico

(TEE), definida como un embarazo que se implanta fuera del útero, o tasa de nacidos vivos (TNV) definidas como el parto de uno o más bebés vivos en pacientes sometidas a transferencias de embriones congelados / descongelados. Estudios que incluyeron un mínimo de 16 horas de cultivo posterior a la descongelación, definido como cultivo de tiempo prolongado, y 2 horas como máximo para cultivo de tiempo corto. Los estudios deben haber incluido pacientes con al menos una transferencia de embriones de buena calidad, los protocolos de estimulación ovárica entre los grupos deben haber sido los mismos, estudios que incluyen transferencias de embriones en etapa de escisión o blastocistos.

## **ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA Y BASES DE DATOS**

Se realizó una búsqueda exhaustiva para encontrar artículos elegibles en varias bases de datos desde enero 2000 hasta agosto 2019. Se incluyeron las bases de datos Ovid MEDLINE, EMBASE, Web of Science y Scopus. El vocabulario controlado complementado con palabras clave se utilizó para buscar estudios que evaluaron el efecto del tiempo transcurrido entre el descongelamiento y la transferencia de embriones previamente congelados sobre los resultados reproductivos en pacientes tratadas con fertilización in vitro.

## **PROCESO DE SELECCIÓN**

Los revisores trabajaron de forma independiente y por duplicado analizando todos los resúmenes y seleccionaron los manuscritos de texto completo para su elegibilidad. Antes de la selección formal de resúmenes, se realizó un piloto, entre los revisores, para aclarar cualquier malentendido y asegurar una comprensión adecuada. Dos revisores que trabajaron independientemente y por duplicado examinaron todos los títulos y resúmenes de los artículos seleccionados para evaluar la elegibilidad. En esta fase, ante el desacuerdo entre los revisores, se incluyó el artículo en la fase de texto completo. Los desacuerdos en la selección de texto completo se resolvieron por consenso. Los revisores documentaron las razones de la no elegibilidad. El acuerdo entre evaluadores ajustado por probabilidad para la selección del título / resumen y el texto completo se calculó utilizando la estadística Kappa. Antes y después de ambas fases de detección, se documentó el número total de artículos incluidos y excluidos, agregando los motivos de exclusión.

## **EXTRACCIÓN DE DATOS**

Dos revisores que trabajaron de forma independiente recopilaron datos de todos los artículos elegibles. Para estandarizar la extracción de datos, se diseñó un formulario de extracción de datos basado en la web que incluía información sobre el diseño del estudio, las características basales de la paciente, el tiempo de

cultivo de los embriones transferidos y la efectividad con respecto a las tasas de embarazo. Dos revisores que trabajaron independientemente y por duplicado realizaron una fase piloto para evaluar cualquier desacuerdo; Los desacuerdos fueron discutidos y resueltos por consenso. Si algún desacuerdo no se pudo resolver por consenso, un tercer revisor tomó la decisión final. Cuando fue necesario, las modificaciones en el formulario se realizó en función de los comentarios de los revisores para obtener una calibración óptima.

Por duplicado, dos revisores utilizaron un formulario estandarizado e instructivo para extraer información sobre el título, los autores, el diseño, el país de origen, el número de pacientes, las características basales del paciente, el tiempo de cultivo de los embriones transferidos y los resultados reproductivos, incluidas las tasas de implantación, las tasas de embarazo , tasa de aborto espontáneo, tasa de embarazo ectópico y tasas de nacimientos vivos.

## **SÍNTESIS DE DATOS**

Se proporcionó una síntesis narrativa de los hallazgos de los estudios incluidos, considerando el tipo de intervención, las características de la población objetivo, el tipo de resultado y el contenido de la intervención. Se proporcionaron resúmenes de los efectos de intervención para cada estudio mediante el cálculo de las razones de riesgo (para los resultados dicotómicos) o las diferencias de medias estandarizadas (para los resultados continuos). Cuando más de un estudio proporcionó datos sobre la misma medida de resultado, utilizando el



mismo tipo de intervención y comparador, se realizó un meta-análisis acumulativo. Los análisis estadísticos se realizaron con Review Manager v 5.3., y los resultados se agruparon siguiendo modelos de efectos aleatorios para abordar mejor la heterogeneidad en las características de la población en todos los estudios. La prueba de Chi-cuadrado y la estadística de I-cuadrado se utilizó para evaluar la heterogeneidad entre los estudios. Un valor de corte de Chi-cuadrado de  $P < 0,10$  y un valor de I-cuadrado  $> 50\%$  se consideraron indicativos de una considerable heterogeneidad no explicada por casualidad. Para explorar las causas de la inconsistencia y las interacciones entre subgrupos y tratamientos, desarrollamos análisis de subgrupos preespecificados por protocolo (mencionados anteriormente).

## **RIESGO DE SESGO**

Dos autores que trabajaron de forma independiente y por duplicado utilizaron la herramienta Cochrane de riesgo de sesgo para evaluar la calidad de los ECA en función de los siguientes dominios: generación de secuencia aleatoria (sesgo de selección), ocultamiento de la asignación (sesgo de selección), cegamiento (sesgo de rendimiento y sesgo de detección), datos de resultado incompletos (sesgo de deserción) e informes selectivos (sesgo de informe). Para los estudios no aleatorios, utilizamos la herramienta Robins I para evaluar el riesgo de sesgo. Para cualquier seguimiento, subanálisis o análisis post-hoc, evaluamos el sesgo del estudio original. También evaluamos la calidad general de la evidencia para

cada resultado mediante la evaluación, desarrollo y evaluación de calificación de recomendaciones (GRADE). El desacuerdo se resolvió nuevamente por consenso o, si no fue posible, por arbitraje de un tercer revisor.

## **PACIENTES Y RESULTADOS**

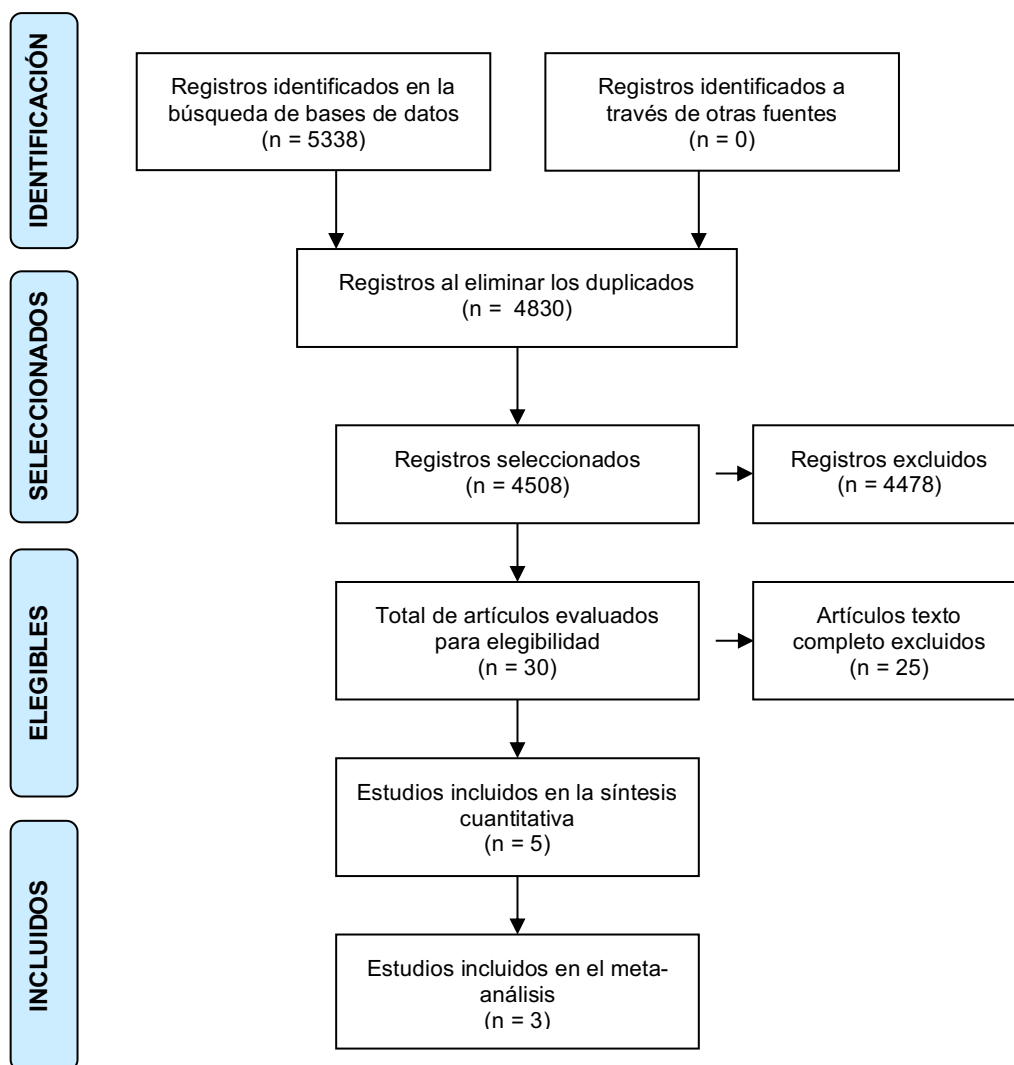
Los estudios incluyeron mujeres infértiles sometidas a FIV / ET con transferencias de embriones congelados, con un mínimo de 16 horas de cultivo posterior a la descongelación, para cultivos a largo plazo, y 2 horas como máximo para cultivos a corto plazo. Pacientes con al menos una transferencia de embriones de buena calidad. Los protocolos de estimulación ovárica entre los grupos deben ser los mismos, los ensayos que incluyeron la escisión o las transferencias de embriones de blastocisto fueron elegibles. Los resultados informados deben incluir tasas de implantación (TI), tasas de embarazo (TE), tasa de aborto espontáneo (TA), tasa de embarazo ectópico (TEE) o tasas de nacimientos vivos (TNV).

## **CAPÍTULO V**

### **RESULTADOS**

De los 5338 estudios potencialmente relevantes seleccionados por bases de datos electrónicas, 830 fueron excluidos debido a temas irrelevantes y duplicados. Se revisaron un total de 4508 estudios en la primera fase, se excluyeron 4478 debido al informe de nuevas transferencias, no en humanos o se compararon diferentes épocas de cultivo. Se evaluaron los artículos de texto completo para los 30 estudios restantes, y 5 estudios cumplieron los criterios de inclusión y se incluyeron en este estudio. El flujograma se muestra en la figura 1. (Charlene Herbemont 2018, Hui Wang 2019, Agha-Rahimi A. 2019, Jim R. 2013 y Bharat V. Joshi 2010).

**FIGURA 1. FLUJOGRAMA DE SELECCIÓN DE ESTUDIOS**



Las características de los estudios y los participantes se enumeran en la Tabla 1. De los 5 estudios incluidos, 2 estudios se diseñaron como ECA y 3 se diseñaron como retrospectivos. Los estudios incluidos en este estudio se publicaron entre 2010 y 2019. Un estudio incluyó exclusivamente transferencias de embriones del día 5; cuatro estudios incluyeron solo transferencias de embriones del día 3. La edad media de los participantes osciló entre 30 y 34 años.

**TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS Y LAS PARTICIPANTES INCLUIDAS.**

<i>ESTUDIO</i>	<i>AÑO DE PUBLICACIÓN</i>	<i>PAÍS</i>	<i>DISEÑO DE ESTUDIO</i>	<i># TOTAL DE PACIENTES</i>	<i>GRUPO INTERVENCIÓN</i>	<i>GRUPO CONTROL</i>
Charlene Herbemont	2018	Francia	RCT	162	81	81
Hui Wang	2019	China	Cohorte Retrospectiva	1654	517	1127
Agha-Rahimi A.	2019	Iran	Cohorte Retrospectiva	366	195	166
Rentao Jin	2013	China	RCT	479	242	237
Bharat V. Joshi	2010	India	Cohorte Retrospectiva	504	415	89

### **EMBARAZOS BIOQUÍMICOS**

Los embarazos bioquímicos se informaron solo en dos estudios. Uno en transferencias de blastocisto y otro en embriones en estado de escisión. Ninguno de los dos demuestra diferencias significativas.

## **TASAS DE IMPLANTACIÓN**

Las tasas de implantación fueron informadas por tres estudios. Los resultados no mostraron diferencias estadísticas en las tasas de implantación, independientemente del día en que fueron transferidos (día 3 o día 5).

## **TASAS DE EMBARAZO CLÍNICO**

Las tasas de embarazo clínico se informaron en todos los estudios incluidos en esta revisión. Los resultados fueron contradictorios. Los embarazos después de las transferencias de blastocistos fueron mejores después del cultivo nocturno; sin embargo, esto no fue estadísticamente significativo. Dos estudios informan mejores resultados de embarazos en embriones en estado de escisión en grupos de cultivo cortos, y dos estudios informan resultados opuestos que favorecen el cultivo nocturno. Ninguno de los estudios mostró diferencias clínicas significativas.

## **TASAS DE NACIMIENTOS VIVOS**

Cuatro estudios informaron las tasas de nacimientos vivos. El cultivo nocturno informó mejores resultados si se transfiriera el blastocisto. En las transferencias de embriones del día 3, dos estudios informaron tasas de nacidos vivos más altas

después del cultivo nocturno, y uno informó este resultado en el cultivo a corto plazo. Ninguno de los estudios informó diferencias significativas.

## **TASAS DE ABORTO**

Las tasas de aborto se informaron en tres estudios. Los resultados mostraron bajas tasas de aborto en embarazos alcanzados después de un corto tiempo de cultivo. Esto fue cierto independientemente de la etapa en que se transfirieron los embriones. Estadísticamente no se encontraron diferencias.

## **TASAS DE EMBARAZO ECTÓPICO**

Las tasas de embarazo ectópico se informaron solo en dos estudios. Los resultados fueron contradictorios. Un estudio informó tasas más altas de embarazo en cultivos cortos y uno en cultivos nocturnos. Ninguno de los estudios informa una diferencia significativa. Los resultados reproductivos se muestran en la tabla 2.

**TABLA 2. RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE LOS ESTUDIOS  
ANALIZADOS.**

<i>ESTUDIO</i>	<i>EMBARAZO BIOQUÍMICO</i>	<i>TASA DE IMPLANTACIÓN</i>	<i>TASA EMBARAZO</i>	<i>ABORTO</i>	<i>NACIDOS VIVOS</i>	<i>GEMELAR</i>	<i>ECTÓPICO</i>
Herbement C.	50.6 / 55.6	36 / 38	42.0 / 44.4	14.6 / 11.1	34.6/35.8	2.5 / 2.5	-
Jin R.	-	20.8 / 21.7	40.9 / 42.8	14.7 / 10.4	34.0/37.6	-	2.11/1.0
Wang H.	-	41.1 / 36.0	58.9 / 53.7	12.2 / 10.5	48.3/44.6	-	5.8/6.3
Agha R. A.	37.9 / 28.9	-	30.8 / 24.1	-	19.4/22.2	-	-
Bharat V. J.	-	-	20.3 / 24.3	-	-	-	-

Los resultados se muestran en porcentajes

Cultivo corto / Cultivo largo

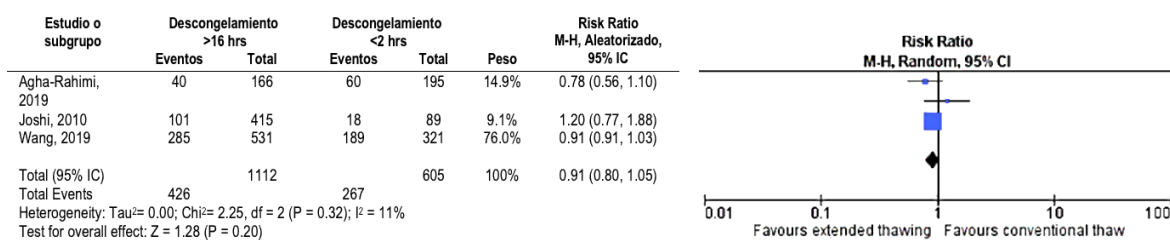
Herbement C. reporta transferencias con blastocistos

### **META-ANÁLISIS ACUMULATIVO**

La Tabla 3 muestra un meta-análisis acumulativo de efecto aleatorio del resultado clínico del embarazo en los tres estudios observacionales. La estimación puntual acumulada resultó en una razón de riesgo de 0.91 con un intervalo de confianza del 95% de 0.81 a 1.03. La prueba de Chi-cuadrado para heterogeneidad mostró un valor de p 2.25 y un I-cuadrado de 11%.



**TABLA 3. TASA DE EMBARAZO CON CULTIVOS DE >16 HRS VS <2 HRS.**



Se realizó un modelo analítico de efectos aleatorios debido a la heterogeneidad de los estudios.

Las tablas 4 y 5 muestran el riesgo de sesgo de los estudios incluidos en esta revisión.

**TABLA 4. ANÁLISIS DE RIESGO DE SESGO DE LOS ECA.**

Estudios	Proceso aleatorización	Desviaciones en las intervenciones	Resultados faltantes	Mediciones de los resultados	Selección del reporte de resultados	General	Riesgo
Herbemont (2018)	+	+	+	?	-	-	Riesgo bajo +
Rentao (2012)	?	-	+	?	-	-	Riesgo moderado ?
							Riesgo alto -

**TABLA 5. ANÁLISIS DE RIESGO DE SESGO DE ESTUDIOS DE COHORTE**

Estudios analizados	Confusión	Selección	Clasificación	Desviaciones de las intervenciones realizadas	Datos faltantes	Medición de los resultados	Reporte de resultados	General	Riesgo
Wang et al. (2019)	+	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	Bajo +++
Agha-Rahimi et al. (2019)	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	Moderado ++
Bharat et al. (2010)	+	+++	+	++	+++	+++	-	-	Serio +
									Crítico -

## CAPÍTULO VI

### DISCUSIÓN

Los resultados de esta revisión no muestran diferencias relevantes si los embriones criopreservados se transfirieron después de 2 horas de calentamiento o después del cultivo nocturno. Esto sugiere que no hay un impacto perjudicial en los resultados reproductivos de los embriones de cultivo durante toda la noche si se transfiere un embrión de buena calidad.

Wang et al., (15) analizaron los resultados retrospectivos de 1654 transferencias de embriones congelados. Lo dividieron en dos grupos dependiendo del tiempo transcurrido entre la descongelación y la transferencia: un grupo de cultivo corto (2 horas) y un grupo de cultivo largo (24 horas). Los resultados de este estudio no mostraron diferencias significativas en la tasa de embarazo, la tasa de nacimientos vivos, el aborto y el embarazo ectópico. Sin embargo, la tasa de implantación aumentó en el grupo de 2 hrs. (41,1%) en comparación con 24 h. (36%) al transferir al menos 1 embrión en estado de escisión óptimo. Llegaron a la conclusión de que el éxito en las tasas de implantación podría depender más de la calidad de los embriones que del tiempo de cultivo posterior al calentamiento. También plantearon la hipótesis de que los embriones de buena calidad podrían tolerar mejor el impacto del daño en los blastómeros durante el proceso de congelación y descongelación que los embriones de baja calidad. Sin

embargo, la tasa de implantación ha sido criticada como parámetro confiable en las investigaciones de fertilidad (18).

El número de blastómeros en el día 3 parece ser un problema importante para el potencial de implantación en embriones en etapa de escisión. Jin et al., (11) informaron en un ECA piloto sobre tasas de implantación más bajas cuando se transfirieron embriones con <8 células. También encontraron diferentes tasas de implantación dependiendo de la etapa embrionaria durante la transferencia. Los embriones entre 8 y 16 células, además del estado de mórula mostraron mejores resultados, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas.

La capacidad de escisión del embrión ha sido enfatizada como un posible indicador de buenos resultados reproductivos después de descongelar embriones criopreservados para transferencias. Joshi et al., (3) no informan diferencias en las tasas de embarazo (24,3% frente a 20,3%) después de analizar 504 transferencias de embriones. Dividieron las transferencias en dos grupos: grupo de cultivo nocturno 415 transferencias, y cultivo de 2 hr con 89 transferencias. Señalaron la importancia de un buen proceso de selección no solo en el momento de la criopreservación, sino también para la correcta selección de embriones después del proceso de descongelación. Se hace especial hincapié en la capacidad de escisión como un buen indicador de la viabilidad del embrión.

El cultivo nocturno nos brinda la oportunidad de evaluar la reanudación de la mitosis de los blastómeros y la capacidad de supervivencia de los embriones.

Puede ayudarnos a seleccionar mejores embriones al realizar transferencias, en nuestra búsqueda de óptimos resultados reproductivos. Esto parece ser importante porque los embriones detenidos después de un cultivo prolongado después de la descongelación se han relacionado con un aumento en las anomalías cromosómicas y presumiblemente en la tasa de abortos (19). Sin embargo, los resultados de nuestra revisión sistemática no muestran diferencias en las tasas de embarazo clínico, las tasas de aborto o las tasas de nacidos vivos al comparar el cultivo nocturno después de la descongelación de embriones versus el corto tiempo de cultivo.

Agha Rahimi et al., (20) incluyeron 366 transferencias de embriones congelados después de la vitrificación, en un estudio de cohorte retrospectivo. Informaron una alta tasa de embarazo bioquímico en pacientes incluidas en el grupo de cultivo nocturno comparadas con el grupo de tiempo de cultivo corto. Las diferencias no fueron significativas. Además, no se encontraron diferencias en el embarazo clínico y las tasas de nacimientos vivos. Concluyen que el cultivo nocturno y el control de la reanudación de la mitosis no son esenciales en los embriones vitrificados. Esto contrasta con los informes actuales (21) de los resultados obtenidos después del cultivo nocturno durante la congelación lenta de embriones, una técnica de criopreservación que está casi en desuso.

Herbemont et al., (14) informaron los resultados de un ensayo clínico aleatorizado que comparó los resultados clínicos reproductivos de las transferencias de blastocistos después de un período de cultivo corto y largo después del

calentamiento. No encontraron diferencias en las tasas de embarazo, incluso cuando la reexpansión del blastocele fue estadísticamente diferente entre los grupos. Los resultados de esta revisión muestran que no hay diferencia en las tasas de embarazo al comparar el tiempo de cultivo de embriones antes de la transferencia, independientemente de si los embriones se transfieren en diferentes etapas, ya sea en escisión o blastocistos.

El meta-análisis acumulativo muestra ligeramente más embarazos clínicos si los embriones se cultivaron durante la noche antes de la transferencia; sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Desafortunadamente, no todos los estudios informaron tasas de implantación, tasas de aborto, embarazos ectópicos ni tasas de nacidos vivos, limitando la posibilidad de realizar un meta-análisis sobre estos importantes temas.

Las limitaciones de esta revisión incluyen la calidad de los estudios reportados e incluidos. En su mayoría fueron estudios retrospectivos, solo dos fueron ECA. El riesgo de sesgo en los estudios incluidos fue deficiente, siendo moderado la mejor calidad. Algo muy importante es la pequeña cantidad de estudios informados sobre este tema.

## **CAPÍTULO VII**

### **CONCLUSIONES**

Los resultados de este estudio indican que no existen diferencias si los embriones criopreservados se transfirieron después de un cultivo nocturno o posterior a dos horas de cultivo después del descongelamiento. Se deben realizar más ensayos clínicos aleatorios a gran escala para aclarar definitivamente si existe una diferencia en los resultados reproductivos después de diferentes tiempos de cultivo, entre los embriones que son criopreservados y posteriormente descongelados y transferidos.

# CAPÍTULO VIII

## ANEXOS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

**DR. MED. LUIS HUMBERTO SORDIA HERNANDEZ**

Investigador principal  
Departamento de Ginecología y Obstetricia  
Presente.-

Estimado Dr. Sordia:

En respuesta a su solicitud con fecha del 28 de Mayo del 2019, recibida en las oficinas de la Subdirección de Investigación, se informa que estamos enterados de la realización del estudio de investigación **“Revisión Sistemática y Meta-Análisis sobre el efecto en el tiempo transcurrido entre el descongelamiento y la transferencia embrionaria con las tasas de embarazo de pacientes sometidas a transferencias de embriones congelados”** como Revisión Sistemática y ha quedado registrado con la clave **RVS19-009**.

Sin más por el momento, me despido de Usted.

Atentamente  
“Alere Flammam Veritatis”

Monterrey, Nuevo León 10 de Junio del 2019

DR. MED. JOSE GERARDO GARZA LEAL  
Secretario de Investigación Clínica

### SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

Edificio de la Biblioteca Central de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. planta baja  
Av. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño, Col. Mitras Centro, 64460 Monterrey, N.L. México  
Teléfonos: (+52) 818329 4050 Ext. 2871 al 2874. Correo Electrónico: [sinvestigacion@meduanl.com](mailto:sinvestigacion@meduanl.com)



## CAPÍTULO IX

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wennberg AL, Rodriguez-Wallberg KA, Milsom I, Mats B. Attitudes towards new assisted reproductive technologies in Sweden: a survey in women 30–39 years of age. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2016; 95(1): p. 38–44.
2. Roque M, Valle M, Guimara F, Sampaio M, Geber S. Freeze-all policy: fresh vs. frozen-thawed embryo transfer. *Fertility and Sterility*. 2015; 103(5): p. 1-4.
3. Joshi BV, Manish R Banker MR, Patel PM, Preeti B, Shah PB. Transfer of human frozen-thawed embryos with further cleavage during culture increases pregnancy rates. *J Hum Reprod Sci*. 2010; 3 (2): 76 – 79.
4. Shin JJ, Yeonseong J, Eunjee N, Jee B. Clinical outcomes of frozen embryo transfer cycles after freeze-all policy to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Obstetrics & Gynecology Science*. 2018; 61(4): p. 497-504.
5. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LeBarbera A, Kaser D, Ubaldi F. 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*. 2017; 23(2): p. 1-17.
6. Qingquan S, Yidong X, Wang Y, Shangwei L. Vitrification versus slow freezing for human ovarian tissue cryopreservation: a systematic review and meta-anlaysis. *Scientific Reports, Nature*. 2017; 7(1): p. 1.9.

7. ZV, Veleva Z, Orava M, Nuojua-Huttunen S, Tapanainen J, Martikainen H. Factors affecting the outcome of frozen–thawed embryo transfer. *Human Reproduction*. 2013; 28(9): p. 2425–2431.
8. Kai Mee W, Mastenbroek S, Reppi S. Cryopreservation of human embryos and its contribution to in vitro fertilization success rates. *Fertility and Sterility*. 2014; 102(1): p. 19-26.
9. Guerif F, Cadoret V, Poindron J, Lansac J, Royere D. Overnight incubation improves selection of frozen–thawed blastocysts for transfer: preliminary study using supernumerary embryos. *Theriogenology*. 2003; 60(8): p. 1457–1466.
10. Rato M, Gouveia-Oliveira A, Plancha C. Influence of post-thaw culture on the developmental potential of human frozen embryos. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2012; 29(8): p. 789–795.
11. Jin R, Tong X, Wu L, Luan H, Zhou G, Johansson L, Liu Y. Extended culture of vitrified–warmed embryos in day-3 embryo transfer cycles: a randomized controlled pilot study. *Reprod biomed online*. 2013;26(4) 384-392
12. Guo L, Luo C, Quan S, Chen L, Li H, Guo Y, et al. The outcome of different post-thawed culture period in frozen-thawed embryo transfer cycle. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2013; 30(12): p. 1589–1594.
13. Fang C, Yue CM, Huang R, Wei LN, Jia L. Pregnancy outcomes of blastocysts cultured overnight after thawing. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2016; 293(6): p. 1347–1356.
14. Herbemont C, Chekroune S, Bonan S, Cedrin-Durnerin I, Vivot A, Sonigo C, Boujenah J, Grynberg M, Sifer C. Impact of post-warming culture duration on clinical outcomes of vitrified good-quality blastocyst transfers: a prospective randomized study. *Fertil Steril*. 2018;110(7):1290-1297. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.07.1153.

15. Wang H, Ou Z, Chen Z, Yang L. Influence of different post-thaw culture time on the clinical outcomes of different quality embryos. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2019; 28
16. PLoS Medicine (OPEN ACCESS) Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Plos Medicine* 6(7):e100097. Doi:10.1371/journal.pmed1000097.
17. Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 6.0 (updated July 2019). Cochrane, 2019. Available from [www.training.cochrane.org/handbook](http://www.training.cochrane.org/handbook).
18. Griesinger G. Beware of the 'implantation rate'! Why the outcome parameter 'implantation rate' should be abandoned from infertility research. *Hum Reprod* 2016; 31(2):249-251.
19. Munne S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosomal abnormalities. *Fertil Steril*. 1995;64(2):382-391.
20. Agha-Rahimi A, Omidi M, Akyash F, Faramarzi A, Farshchi FA. Does overnight culture of cleaved embryos improve pregnancy rate in vitrified-warmed embryo transfer programme? *Malays J Med Sci*. 2019;26(2):52-58. <https://doi.org/10.21315/mjms2019.26.2.6>.
21. Tang R, Catt J, Howlett D. Towards defining parameters for a successful single embryo transfer in frozen cycles. *Hum Reprod*. 2006;21(5):1179-1183. <https://doi.org/10.1093/humrep/dei490>

# **CAPÍTULO XI**

## **RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO**

Eduardo Gutiérrez Orozco

Candidato para el Grado de

Subespecialista en Biología de la Reproducción Humana

Tesis: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS SOBRE EL EFECTO DEL TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE EL DESCONGELAMIENTO Y LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PREVIAMENTE CONGELADOS SOBRE LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN PACIENTES TRATADAS CON FERTILIZACION IN VITRO

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Biografía:

Datos Personales: Nacido en Torreón, Coahuila, el 25 de abril de 1989, hijo de Joel Gutiérrez Martínez y Luz Patricia Orozco Díaz.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Coahuila (UAC) obteniendo el grado de Médico Cirujano y Partero en el año 2013 y egresado por la Universidad Autónoma de San Luis Potosí obteniendo el grado de Ginecología y Obstetricia en el año 2018.

# ABSTRACT

## Background

Embryo cryopreservation is a cornerstone in assisted reproductive technology and its use has been linked to better reproductive results. There is currently no clear consensus on the optimal time for the thawing of embryos in freezing protocols, despite the fact that the identification of an adequate culture time would improve embryo culture environments allowing for better reproductive results.

## Research question

This systematic review aimed to explore if short or long culture time, between thawing and transfer cryopreserved embryos, had an impact on reproductive outcomes after in vitro fertilization (IVF).

## Design

Studies evaluating the associations of two different culture times after thawing, and before transfer, of cryopreserved embryos with the incidence of pregnancy rate, implantation rate, abortion rate, live birth or ongoing pregnancy rate, ectopic pregnancy rate in individuals after IVF were eligible. Search was made in PubMed, EmBase, and the Cochrane library (from January 2000 up to august 2019). A cumulative meta-analysis and evaluation of heterogeneity was

performed for the clinical pregnancy rate outcome. The quality of included studies was assessed using Cochrane's Risk of Bias tool and ROBINS I for observational studies.

## Results

A total of 5338 studies were initially located in the electronic databases, of which five studies were included; 2 randomized clinical trials and 3 with retrospective design. The studies included in this review were published between 2010 and 2019. One of them included only transfers with embryos on day 5; four studies included transfers with day 3 embryos. Most studies had a high risk of bias, finding the best quality as moderate risk. The pregnancy rate showed a combined Odds Ratio of 0.91 (95% CI 0.80-1.05) with low degree of heterogeneity ( $p$  0.32, 11% I<sup>2</sup>); however no difference was found between short and long embryo culture.

## Conclusions

The results of this study indicate no differences in reproductive outcomes if cryopreserved embryos were transferred after overnight culture or after two hours of culture after thawing. These findings leave unanswered the question and invite other scientists to continue research in this field. The limitations of this study are the clear lack of current evidence and the quality of included studies, which ranged from moderate to low quality.

## Key-words

Blastocyst, vitrification, post-warming culture duration, assisted reproductive technology, embryo transfer, frozen–thawed, clinical out-comes, top quality embryo, frozen–thawed embryo transfer, pregnancy, single embryo transfer, cryopreserved, embryo transfer, extended culture, blastocyst culture, embryo transfer, freezing, In vitro fertilization, post-thawed culture, clinical pregnancy rate, implantation rate, live birth rate, cleavage, embryo cryopreservation, pregnancy rate.