



# Análisis transcripcional no invasivo de las células de la cúmula combinado con análisis genético preimplantación: mejores resultados en fertilización in vitro

## Transcriptional analysis of cumulus cells combined with preimplantation genetic analysis: better IVF outcomes.

Tania G Rojas Pérez,<sup>1</sup> Ginna Ortiz Olivera,<sup>2</sup> Esther López Bayghen<sup>3</sup>

### Resumen

**OBJETIVO:** Conocer la repercusión de aplicar el análisis transcripcional no invasivo, usando células de la cúmula, para la determinación del potencial de implantación del embrión, junto con el análisis cromosómico embrionario preimplantación (PGTA) en los procesos de fertilización in vitro para seleccionar los embriones con mejor pronóstico.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio de cohorte, observacional, retrospectivo y descriptivo efectuado en casos de pacientes infértiles atendidas en el Instituto Ingenuos entre enero de 2016 y diciembre de 2023. Se compararon los resultados de embarazo positivo (en curso entre recién nacido vivo) con dos grupos más cuyos embriones solo se diagnosticaron por uno de los dos métodos.

**RESULTADOS:** Se evaluó la información de 110 casos de pacientes infértiles con embriones con diagnóstico PVL, PVL+PGTA o solo PGTA. Las edades promedio fueron similares entre los grupos lo mismo que las causas de infertilidad, excepto de la mayor representación de baja reserva ovárica en el grupo de doble diagnóstico. De 56 casos con doble diagnóstico y transferencia de embriones euploides, 27 predicciones PVL fueron positivas con embarazo en curso o recién nacido vivo; la asertividad/tasa fue de 85.18%; 29 PVL mostraron predicción negativa con resultado negativo (100% concordancia). Al comparar la especificidad (z-test para las proporciones) no hubo diferencia ( $p = 0.473$ ) en comparación con los casos positivos de ambos grupos. En el grupo de PVL más PGTA hubo mejores tasas de embarazo (85.18%) y éstas son aún mejores al compararlas con grupos con solo diagnóstico por PGTA, lo que indica que sí hay una diferencia en la previsibilidad de los métodos ( $p = 0.021$ ; PGTA 60.0%).

**CONCLUSIONES:** La tasa de embarazo resultante es mejor cuando PVL se combina con PGTA para la selección de embriones. El poder predictivo de PVL, particularmente para los casos negativos, debe ser tomado en consideración, lo que amerita continuar analizándolo.

**PALABRAS CLAVE:** Cúmula; euploide; FIV; PGTA; selección embrionaria.

### Abstract

**OBJECTIVE:** To determine the impact of using non-invasive transcriptional analysis of cumulus cells to predict embryo implantation potential, alongside preimplantation genetic testing (PGT-A), in the selection of embryos with the best prognosis in in vitro fertilisation processes.

<sup>1</sup> Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Molecular.

<sup>2</sup> Investigación Clínica, Instituto Ingenuos, Ciudad de México.

<sup>3</sup> Departamento de Toxicología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México.

**Recibido:**

**Aceptado:** noviembre 2025

### Correspondencia

Esther López Bayghen  
ebayghen@cinvestav.mx

### Este artículo debe citarse como:

Rojas-Pérez TG, Ortiz-Olivera G, López-Bayghen E. Análisis transcripcional no invasivo de las células de la cúmula combinado con análisis genético preimplantación: mejores resultados en fertilización in vitro. Reproducción (México) 2025; 16: 1-7.

**MATERIALS AND METHODS:** A retrospective, descriptive, observational cohort study was conducted on infertile patients treated at the Ingenes Institute between January 2016 and December 2023. Positive pregnancy outcomes (from live births onwards) were compared with two other groups whose embryos were diagnosed using only one of the two methods.

**RESULTS:** Information from 110 infertile patients with embryos diagnosed with PVL, PVL+PGTA or PGTA alone was evaluated. The average ages and causes of infertility were similar between the groups, except for a higher representation of low ovarian reserve in the double diagnosis group. Of the 56 cases involving a double diagnosis and euploid embryo transfer, 27 PVL predictions were positive, resulting in an ongoing pregnancy or live birth. The accuracy rate was 85.18%. Of the 29 PVLs showing a negative prediction, the result was also negative (100% concordance). When comparing specificity (z-test for proportions), no difference was observed compared to positive cases in both groups ( $p = 0.473$ ). There were better pregnancy rates in the PVL plus PGT-A group (85.18%), which were even better than those in groups with only a PGT-A diagnosis. This indicates a difference in the predictability of the methods ( $p = 0.021$ ; PGT-A 60.0%).

**CONCLUSIONS:** The resulting pregnancy rate is higher when PVL is combined with PGT-A for embryo selection. The predictive power of PVL, particularly for negative cases, should be taken into consideration and warrants further analysis.

**KEYWORDS:** Cumulus; Euploid; IVF; PGT-A; Embryo selection.

## ANTECEDENTES

La competencia ovular se puede definir como la capacidad de un ovocito de finalizar su maduración, mediante la reanudación meiótica, dando lugar a un gameto con el potencial de ser fertilizado, desarrollar un embrión, y un embarazo exitoso.<sup>1</sup> Las células de la cúmula rodean al ovocito, y se diferencian en células de la granulosa durante la foliologénesis jugando un papel crítico en la regulación de la ovogénesis y la fecundación, gracias a la comunicación que establecen con el ovocito.<sup>2</sup> Las células de la cúmula responden constantemente al entorno intrafolicular para garantizar el desarrollo óptimo de los ovocitos y para regular y minimizar el daño causado por factores extrínsecos. Las células de la cúmula provenientes de ovocitos cromosómicamente anormales muestran desvia-

ciones en sus patrones de expresión génica en vías relacionadas con el estrés celular, sugiriendo una asociación entre aneuploidía y un entorno subóptimo.<sup>3</sup> Algunos genes en las células de la cúmula implicados en la respuesta hormonal también mostraron una expresión anormal, vinculando el aumento de la frecuencia de la aneuploidía y los niveles alterados de hormonas observados con el avance de la edad.<sup>4</sup> La identificación y caracterización del transcriptoma de las células de la cúmula, ha logrado poner de manifiesto la función de diferentes genes involucrados en procesos importantes para el óvulo y su relación con la implantación, generando modelos de selección embrionaria que se han propuesto como herramientas de análisis no invasivo que se sumen a los procesos de evaluación y selección embrionaria en el proceso de Fertilización in vitro (FIV). Hay paneles de



marcadores de cúmula que correlacionan con el logro del embarazo, pero los modelos tienen una sensibilidad promedio por debajo del 85% y una especificidad del 80% en diferentes estudios.<sup>5-8</sup> En 2018 se generó un sistema de selección embrionaria basado en el perfil transcripcional de los genes *prostaglandina-endoperóxido 2 (PTGS2)* y *Versican (VCAN)* usando al gen ribosomal *L19* como control, llamado PVL (*Preliminary Viable Embryo*), con nivel de sensibilidad del 88% y especificidad del 80% porque luego de generar el índice de expresión PVL, a partir del análisis transcripcional de los genes *PTGS2* y *VCAN*, se calcula la probabilidad de la cohorte embrionaria de generar un embarazo según el valor del índice de los embriones a transferir; se ha utilizado para guiar la transferencia de embrión único.<sup>9</sup> El análisis de los datos incorpora algunos de los factores etiológicos con particular referencia a la edad, endometriosis, ovario poliquístico y baja respuesta a la estimulación ovárica.<sup>9</sup> Entre las bondades del sistema está el no requerir la toma de biopsia del embrión. Las células de la cúmula, obtenidas por dispersión mecánica, constituyen un material biológico mínimo (20,000 células). No se afecta la integridad del ovocito y se establece el diagnóstico de cada ovocito individual cuando éste ha generado un embrión saludable de día dos de desarrollo.

El diagnóstico genético preimplantación (PGTA) permite evaluar la euploidia de embriones humanos para seleccionar los libres de anomalías cromosómicas para la fertilización in vitro, o bien eliminar los que portan algún tipo de aneuploidia; sin embargo, no da cuenta de la competencia biológica del embrión. Aquí se explora la posibilidad de combinar el análisis transcripcional PVL con el análisis genómico PGTA para un mejor proceso de selección del embrión.

Por lo anterior, el objetivo del estudio fue: conocer la repercusión de aplicar el análisis transcripcional no invasivo, usando células de

la cúmula, para la determinación del potencial de implantación del embrión, junto con el análisis cromosómico embrionario preimplantación (PGTA) en los procesos de fertilización in vitro para seleccionar los embriones con mejor pronóstico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de cohorte, observacional, retrospectivo y descriptivo efectuado en casos de pacientes infértiles atendidas en el Instituto Ingenu entre enero de 2016 y diciembre de 2023. *Criterios de inclusión:* pacientes con infertilidad primaria debidamente identificada, con embriones diagnosticados con viabilidad preliminar (PVL) o diagnóstico genético preimplantacional (PGTA) y transferencia embrionaria, con reporte de desenlace reproductivo de embarazo en curso luego de la verificación del embarazo clínico (saco con latido, a las 6 a 8 semanas) o recién nacido vivo aparentemente sano. *Criterios de exclusión:* pacientes sin expediente completo o que hubieran decidido no continuar a la transferencia embrionaria. Se revisaron los expedientes del periodo y los datos se resguardaron para el debido anonimato. Para usarlos en el estudio se obtuvo el consentimiento informado por escrito en la primera cita, cuando se recopiló la historia clínica se hizo la explicación expresa de que los datos se utilizarían para fines de investigación. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Ingenu (I/13/2013-2016-2023 y ISF190625) con apego estricto a la Declaración de Helsinki y reportado de acuerdo con las directrices del *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*.<sup>10,11</sup>

Brevemente, para embrión viable preliminar, una vez que se obtuvieron los óvulos, y antes de la fecundación, se aislaron las células de la cúmula que rodean al óvulo mediante corte y dispersión mecánica. Las células de la cúmula de cada óvulo se transfieren a un microtubo de 1.5 mL para la extracción del ARN (Ambion, Life

Technologies) y cuantificación del ARN total; se determinaron por RT-qPCR, la expresión de los genes PTGS2 y VCAN usando al gen ribosomal L19 como control (One-step NZYSeedy RT-qPCR Green, ROX) que generó el índice PVL (buen pronóstico índice  $\geq 58.2$ ).<sup>9</sup> Después de la toma de la biopsia embrionaria (día 5), amplificación del genoma completo (WGA) y secuenciación masiva en paralelo, usando VerySeq (PGS-MiSeq Illumina) se detectaron las posibles anomalías cromosómicas (PGTA) con la metodología previamente reportada.<sup>12</sup>

La asertividad (**Figura 1A**) se calculó como la comparación de los resultados de embarazo con respecto a los esperados por la predicción del índice PVL cuando éste se acompaña o no con PGTA, que se calcula como: pronóstico de embarazo dividido entre el resultado de embarazo reportado, multiplicado por 100. Se hizo un análisis descriptivo con medidas de tendencia central, dispersión y proporciones y  $\chi^2$ . Para las variables cuantitativas se presentan la media y desviación estándar; para las variables categóricas  $\chi^2$ . Todos los análisis se procesaron en el programa Statistical Package for the Social Sciences v26.0 (SPSS, IBM Corp., Armonk, NY, USA).

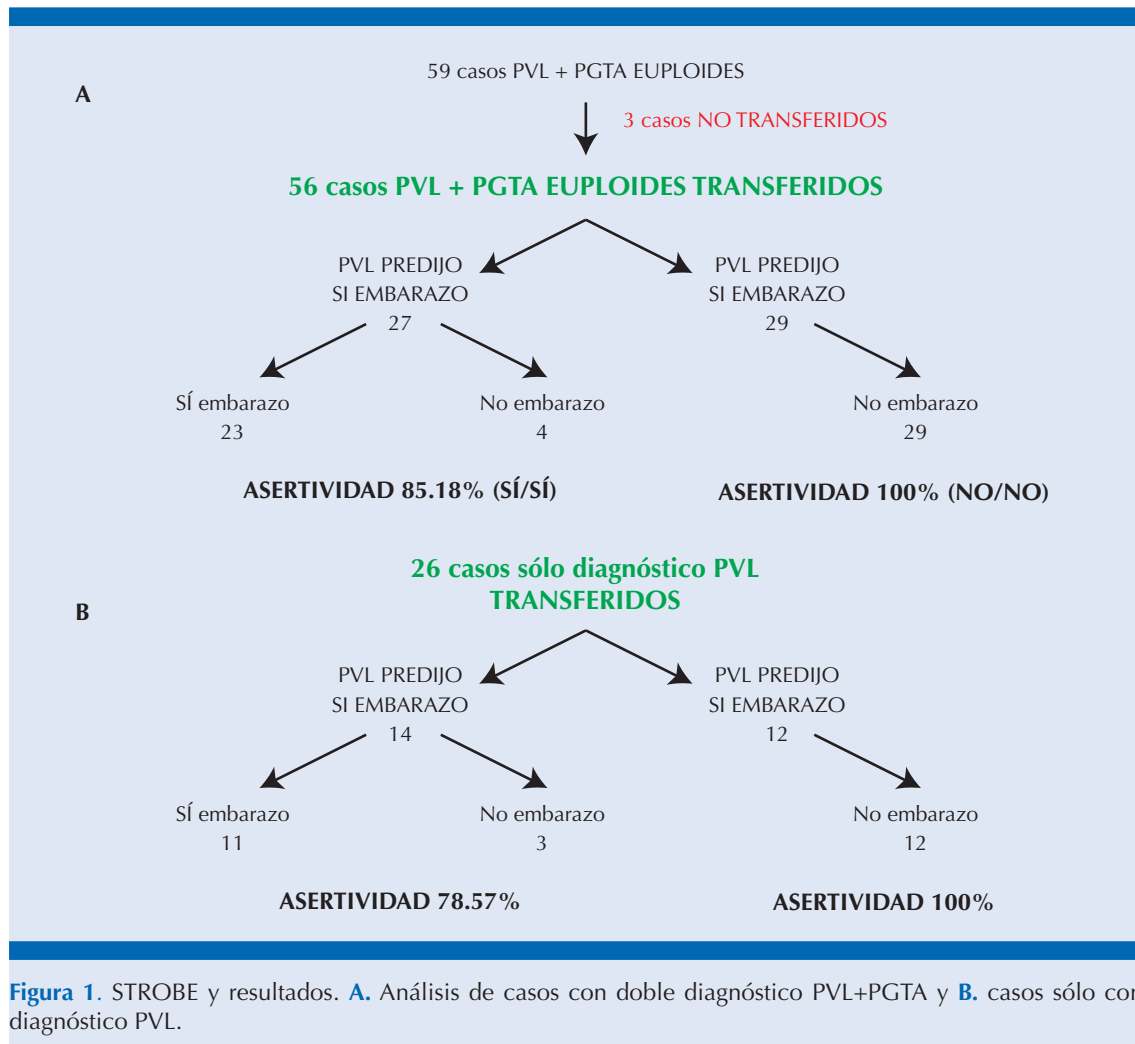
## RESULTADOS

Se evaluó la información de 110 casos de pacientes infértiles con embriones con diagnóstico PVL, PVL+PGTA o solo PGTA. La descripción demográfica de las pacientes se encuentra en el **Cuadro 1**. Las edades promedio fueron similares entre los grupos y las causas de infertilidad también fueron similares, excepto de la mayor representación de baja reserva ovárica en el grupo de doble diagnóstico. En la **Figura 1A** se muestran los resultados del análisis. Se consideró con embarazo positivo a todos los casos con resultados reproductivos de embarazo clínico, en curso o recién nacido vivo. En los 59 casos revisados en el grupo PVL+PGTA, la decisión de cuáles embriones transferir se basó en el resultado

de euploidia dado por PGTA. De tal forma que los 56 casos donde sí hubo transferencia de embriones euploides y de buena calidad morfológica, en 27 hubo un embrión viable preliminar que predecía embarazo positivo y 29 casos un PVL que predecía embarazo negativo. La coincidencia en predicción de buen pronóstico se dio por el resultado del índice PVL  $\geq 58.2$ , y la asertividad de los resultados reproductivos de predicción positiva-embarazo positivo fue de un 85.18% y 100% para negativo-negativo ( $\chi^2$   $p = 0.0001$ , especificidad de 88 %, IC95%, **Figura 1A**). El embrión viable preliminar tiene, por sí mismo, una tasa de asertividad en la predicción para embarazos positivos del 78.5% y la misma tasa del 100% para predicción de embarazo negativo (**Figura 1B**), aunque la diferencia no es significativa con respecto a predecir los positivos comparando los dos grupos usando  $\chi^2$  ( $p = 0.593$ ). Al comparar la especificidad (z-test para las proporciones) no hubo diferencia para la especificidad ( $p = 0.473$ ) en la comparación con los casos positivos de ambos grupos. Valga hacer notar que en el grupo de PVL más PGTA hubo mejores tasas de embarazo (85.18%) y éstas son aún mejores al compararlas con grupos con solo diagnóstico por PGTA, lo que indica que sí hay una diferencia en la previsibilidad de los métodos ( $p = 0.021$ ; PGTA 60.0%).

## DISCUSIÓN

La tasa de expresión de los genes prostaglandin-endoperoxida sintasa 2 (PTGS2) y Versican (VCAN), con L19 como control (ribosomal), constituye el índice PVL que, cuando es  $\geq 58.2$  indica la existencia de un embrión de calidad adecuada para la transferencia.<sup>9</sup> La implementación del índice PVL como método de apoyo y mejora en los procesos de evaluación y selección embrionaria del laboratorio de fertilización in vitro parece incrementar las tasas de éxito en tratamientos de alta complejidad. El análisis de los datos sugiere que es un sistema sensible y específico para la predicción del resultado de la



transferencia para embarazo positivo y negativo (cuando el índice es menor a 58). Cuando se consideran los resultados del análisis PVL y PGTA juntos, esta investigación muestra una mayor tasa de éxito en la transferencia embrionaria.

Para valorar la capacidad predictiva del análisis transcripcional, y considerando el estudio amplio reportado en 2018, donde las tasas de predicción fueron superiores al 80%, aquí se incluyó un segundo grupo de 25 pacientes con diagnósticos paralelos para entender si el método

sigue dando los mismos resultados; se confirmó una especificidad del 80%.

El nivel de aneuploidía en las cohortes de embriones aumenta con la edad.<sup>13</sup> En México se sugiere a las mujeres de 38 años y más completen la fertilización in vitro con PGTA, para evaluar la aneuploidía y, en general, solo el 30% de las pacientes opta por el PGTA. Aquí se propone que el uso tanto del índice PVL como del PGTA mejorarían los resultados de la fertilización in vitro y se muestran los casos en los que ambas

**Cuadro 1.** Características de las pacientes

	PVL + PGTA	PVL	PGTA	P
Cantidad de casos	59	25	25	
Edad (años; promedio ± DE)	37.2 ± 4.75	37.2 ± 4.76	37.6 ± 2.77	NS
Cantidad embriones analizados	79	88	56	
Causas de infertilidad		(casos)		
Ovario poliquístico	5	4	4	
Baja reserva ovárica	26	8	6	
Endometriosis	8	5	4	
Factor ovárico	4	4	2	
Factor edad	17	4	9	
Euploides	59		23	
Aneuploides	17	NA	15	

DE: desviación estándar.

pruebas genéticas para la selección del embrión a transferir mejoran el resultado de embarazo en curso y recién nacido vivo. Para PGTA se mostraron los casos igual que los reportados en un trabajo previo.<sup>12</sup>

En el caso de embriones no transferidos, que aquí son específicamente los aneuploides para el grupo PGTA, puede resultar ambiguo si se trata de un resultado negativo o si los datos deben ignorarse, puesto que se sigue la política de no transferencia de embriones aneuploides. Veriseq reporta mosaicos cuando las variaciones son menores al 40% y las aneuploides superiores a éste.<sup>12</sup> Sin duda, no se llevaron a cabo las transferencias de embriones aneuploides para saber si hubieran resultado en embarazos positivos y normales y entonces las tasas de embarazo son más bajas. Es necesario considerar que estos porcentajes son consistentes con las tasas de embarazo que, sostenidamente, se observan en pacientes mayores de 38 años.<sup>12</sup> Entre las fortalezas del estudio está la innovación de agregar este análisis al PGTA, quizá para tomar muy en cuenta la predicción negativa y considerar otras alternativas, como la donación de óvulos.

En la bibliografía se encuentran pocas publicaciones referidas a población mexicana. La limitación más relevante del estudio radicó en que no fue aleatorio controlado, que es el paso siguiente para establecer con precisión el valor de la suma de PVL+PGTA en la selección del embrión a transferir.

**CONCLUSIONES**

La tasa de embarazo resultante es mejor cuando PVL se combina con PGTA para la selección embrionaria. El poder predictivo de PVL, particularmente para los casos negativos, debe ser tomado en consideración, lo que amerita continuar analizándolo.

**REFERENCIAS**

1. Sanchez F, Smitz J. Molecular control of oogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822 (12): 1896-912. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.013>
2. Shpakov AO. Hormonal and allosteric regulation of the luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2024; 29 (9): 313. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2909313>
3. Martinez CA, Rizos D, Rodriguez-Martinez H, Funahashi H. Oocyte-cumulus cells crosstalk: New comparative insights. *Theriogenology* 2023; 20587-93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.04.009>



4. Ye X, Baker PN, Tong C. The updated understanding of advanced maternal age. *Fundam Res* 2024; 4 (6): 1719-28. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2023.09.013>
5. Borup R, Thuesen LL, Andersen CY, Nyboe-Andersen A, et al. Competence Classification of Cumulus and Granulosa Cell Transcriptome in Embryos Matched by Morphology and Female Age. *PLoS One* 2016; 11 (4): e0153562. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153562>
6. Ekart J, McNatty K, Hutton J, Pitman J. Ranking and selection of MII oocytes in human ICSI cycles using gene expression levels from associated cumulus cells. *Hum Reprod* 2013; 28 (11): 2930-42. <https://doi.org/10.1093/humrep/det357>
7. Iager AE, Kocabas AM, Otu HH, Ruppel P, et al. Identification of a novel gene set in human cumulus cells predictive of an oocyte's pregnancy potential. *Fertil Steril* 2013; 99 (3): 745-52 e746. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.10.041>
8. Wathlet S, Adriaenssens T, Segers I, Verheyen G, et al. Cumulus cell gene expression predicts better cleavage-stage embryo or blastocyst development and pregnancy for ICSI patients. *Hum Reprod* 2011; 26 (5): 1035-51. <https://doi.org/10.1093/humrep/der036>
9. Ocampo A, Pedraza J, Ortiz G, Hernandez-Perez E, et al. Assessment of Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2 and Versican gene expression profile from the cumulus cells: association with better in vitro fertilization outcomes. *J Ovarian Res* 2018; 11 (1): 84. <https://doi.org/10.1186/s13048-018-0456-2>
10. O'Connor AM, Sargeant JM, Dohoo IR, Erb HN, et al. Explanation and elaboration document for the STROBE-Vet Statement: Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology-Veterinary Extension. *J Vet Intern Med* 2016; 30 (6): 1896-928. <https://doi.org/10.1111/jvim.14592>
11. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol* 2008; 61 (4): 344-49. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2007.11.008>
12. Schaeffer E, Porchia LM, Neumann A, Luna A, et al. Embryos derived from donor or patient oocytes are not different for in vitro fertilization outcomes when PGT allows euploid embryo selection: a retrospective study. *Clin Transl Med* 2020; 9 (1): 14. <https://doi.org/10.1186/s40169-020-0266-1>