

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

**FECUNDACIÓN ANÓMALA EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA:
NUEVAS APROXIMACIONES CLÍNICAS**

Autor: Alicia Galtier Zapata

Tutor: Raquel Herrero Saura

Alcobendas, Septiembre 2025

INDICE

1.-RESUMEN	1
2.-ABREVIATURAS.....	1
3.-INTRODUCCIÓN.....	2
3.1- Fecundación	2
3.2- Tratamientos de reproducción asistida (TRA)	2
3.3- Fecundación anómala	4
3.4- Fallo de fecundación (2CP/0PN).....	6
4.- OBJETIVOS	7
5.- MATERIALES Y MÉTODOS	8
6.- RESULTADOS.....	9
6.1- Fallo de fecundación y embriones 2CP/0PN.....	9
6.2- Embriones 2CP/1PN	11
6.3-Embriones 2CP/3PN y 2CP/2.1PN	13
7.- DISCUSIÓN	17
8.- CONCLUSIONES.....	21
9.- BIBLIOGRAFÍA	22

1.-RESUMEN

Los embriones que presentan fecundación anómala son descartados debido a que se asocian con alteraciones cromosómicas. A pesar de esto, estudios recientes demuestran la capacidad de algunos de estos embriones para desarrollarse a blastocistos de buena calidad con un cariotipo euploide. En este trabajo se presenta una revisión sistemática de la literatura de los últimos años sintetizando las tasas de blastocisto, las tasas de euploidia y los resultados reproductivos obtenidos por embriones 2CP/0PN, 2CP/1PN, 2CP/3PN y 2CP/2.1PN. Se analizarán las aproximaciones clínicas disponibles para potenciar el uso de estos embriones gracias a herramientas como la tecnología time lapse o el análisis genético preimplantacional.

2.-ABREVIATURAS

TRA: Tratamientos de reproducción asistida

TL: Time Lapse

FIV: Fecundación in vitro

PGT: Análisis genético preimplantacional

ICSI: Inyección intracitoplasmática de espermatozoide

PGT-A: Análisis genético preimplantacional para aneuploidías

D1: Día 1 de desarrollo embrionario

EMA: Edad materna avanzada

D5: Día 5 de desarrollo embrionario

RNV: Recién nacido vivo

CP: corpúsculo polar

TE: Trofoectodermo

PN: Pronúcleo

MCI: Masa celular interna

ASEBIR: Asociación Española para el estudio de la Biología de la Reproducción

3.-INTRODUCCIÓN

3.1- Fecundación

La fecundación es un proceso biológico, complejo y dinámico mediante el cual un espermatozoide se fusiona con un ovocito para formar una única célula diploide llamada cigoto. Ambos reciben señales recíprocas para así poder completar su competencia funcional. Por un lado, el ovocito, que se encuentra detenido en la metafase II de la meiosis II, activa al espermatozoide gracias a la quimiotaxis, la reacción acrosómica y la fusión de ambas membranas. Y por el otro, el espermatozoide se hiperactiva y va al encuentro del ovocito, para que se produzca la unión inicial entre ambos gametos. (1)

La reacción acrosómica es un proceso dependiente de calcio que consiste en la liberación de las enzimas contenidas en el acrosoma para facilitar la penetración del espermatozoide en la zona pelúcida. La reacción finaliza con la fusión de las membranas del espermatozoide y el ovocito, en este momento se libera la fosfolipasa C zeta (PLC-Z) que se unirá al retículo endoplasmático liso produciendo la liberación de Ca^{2+} en forma de ondas que desencadenará la reacción cortical, que consiste en la extrusión de gránulos corticales para endurecer la zona pelúcida y así evitar la polispermia, y la activación ovocitaria. (1)

Tras los eventos descritos, se da la reanudación de la meiosis II, donde el ovocito extruye el 2º corpúsculo polar (CP), convirtiéndose en una célula haploide. (1) A partir de este momento, comienzan una secuencia de acontecimientos en el interior del ovocito que derivarán en la aparición dinámica de nuevas estructuras nucleares, denominadas pronúcleos (PN). (2)

La aparición del pronúcleo materno se da cerca de la corteza del ovocito y el pronúcleo paterno suele hacerlo por la zona central del mismo. Ambos migran hacia el centro del ovocito y tras intercambiar el material genético desaparecen. Es en este momento cuando comienza el desarrollo embrionario, con la división celular por mitosis. (3)

3.2- Tratamientos de reproducción asistida (TRA)

En los laboratorios de reproducción asistida, se buscan estrategias para superar barreras naturales a la fecundación ante casos de infertilidad. Las dos técnicas utilizadas son: la fecundación in vitro (FIV) convencional, que consiste en la incubación del ovocito

con espermatozoides capacitados buscando que estos realicen la penetración en el ovocito de forma natural. Y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), en la cual, gracias a un sistema más complejo de microinyectores asociados a un microscopio, se selecciona un único espermatozoide que es introducido en el interior del ovocito. (4)

En día 1 de desarrollo (D1) se evalúa la fecundación y los cigotos resultantes se incuban en el laboratorio para seguir su desarrollo embrionario hasta que alcancen el estadio de blastocisto. Esto suele suceder durante el día 5 (D5), y en ocasiones se puede alargar hasta el día 6 o 7 de cultivo. El seguimiento del desarrollo embrionario durante estos días es esencial para identificar aquellos embriones de buena calidad que van a poder ser transferibles y que tienen la posibilidad de derivar en una gestación tras una transferencia.

El tiempo en el que se evalúa la fecundación es fundamental, ya que debe realizarse en una franja horaria donde la gran mayoría de los ovocitos hayan completado todo el proceso, pero antes de que desaparezcan los PN. Al fin y al cabo, la aparición y desaparición de PN es un proceso dinámico, y fuera del rango óptimo de observación, la clasificación de la fecundación puede hacerse de forma errónea. Por eso es muy importante que cada laboratorio establezca sus tiempos en función de cuándo se realiza el FIV convencional o el ICSI.

El manual de la Asociación Española para el estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR) recomienda realizar la evaluación de la fecundación entre 16 y 18 horas después de los procedimientos de ICSI o FIV. (2) Lo que se espera observar en este intervalo es la existencia de 2CP polares en el espacio perivitelino y 2PN en la zona central del cigoto. En la actualidad el desarrollo de la tecnología Time-Lapse (TL), que mediante la reproducción acelerada de fotografías a intervalos cortos de tiempo crea un video del desarrollo de forma continua, permite monitorizar el desarrollo embrionario y ha proporcionado una mayor flexibilidad a la hora de evaluar la fecundación, ya que no es necesario establecer un rango horario para observarla. Por otro lado, esta tecnología permite una observación más detallada y continua de los eventos que se suceden. (2) Las clínicas que utilizan esta tecnología observan la aparición alrededor de las 9-10 horas de los PN y su desaparición a partir de las 20 horas. (2)

3.3- Fecundación anómala

La fecundación, como ya se ha mencionado anteriormente, es un proceso complejo y dinámico, por lo que en ocasiones estos mecanismos pueden fallar dando lugar a una fecundación anómala. ASEBIR recoge en la Tabla 1 las recomendaciones de cultivo en función del número de pronúcleos y corpúsculos que se observen.

Tabla 1: Recomendaciones de cultivo en función de del número de corpúsculos y pronúcleos

Relación nº PN-CP	FIV	ICSI
2 PN + 2 CP	Continuar	
1 PN + 1 CP	Descartar	
1 PN + 2 CP	Si evoluciona, 80% diploidía	Descartar (según texto). Si evoluciona, 20% diploidía
2 PN + 1 CP	Descartar*	
> 2PN	Descartar	

Fuente: Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humano (2)

La no extrusión del 2º CP y la aparición de 2 PN da lugar a la formación de un cigoto digínico. A pesar de que aparezcan 2 PN, no se recomienda la transferencia de estos embriones debido a la ausencia de cromosomas paternos. (2)

En otras ocasiones, se aprecia la extrusión del 2º CP, pero no la aparición de PN. Generalmente se debe a que el ovocito se activa en un primer momento, pero no continua con los procesos de fecundación. Sin embargo, cabe la posibilidad de que el ovocito sí haya presentado PN y que hubiesen desaparecido en el momento de la observación.

En este trabajo, vamos a definir fecundación anómala como la aparición de 2 corpúsculos polares y la presencia de 1 o más de 2 pronúcleos.

La aparición de un único pronúcleo (1PN) presenta una incidencia de entre el 4% y el 8% en ciclos de FIV convencional. (5) En estos casos, se solía dar por hecho que estábamos ante una haploidía, pero en estos últimos años hay estudios que han demostrado la existencia cigotos 1 PN que pueden contener un complemento cromosómico diploide. Se baraja la posibilidad de que esto se deba a una fusión entre los pronúcleos o la formación asincrónica de estos. (6) La recomendación actual sobre

el modo de actuación ante un cigoto 1PN, difiere según el tratamiento de reproducción asistida (TRA) utilizado. Si el cigoto llega a estado de blastocisto, el 80% y el 20% de los embriones obtenidos por FIV convencional e ICSI respectivamente pueden ser diploides. (Tabla 1) Por lo que el seguimiento de su evolución dependerá del criterio de cada laboratorio. (2)

Otro de los acontecimientos que podemos observar evaluando la fecundación es la aparición de 3 pronúcleos (3PN). Este fenómeno presenta una prevalencia de entre el 5 y el 8,1% en ciclos de FIV convencional y entre un 2,5% y un 6% en ciclos de ICSI. (7) El origen más probable de los cigotos 3PN que provienen de un ciclo de FIV convencional es la polispermia. (2) Estos embriones se consideran aneuploides y se descartan. Gracias a la tecnología TL se han reportado casos en los que se ha extruido el 2º CP y se han desarrollado 3PN tras ciclos de ICSI. A pesar de que se desconocen cuáles son exactamente las causas por las que se puede dar este suceso, y que se dan por embriones triploides, hay casos documentados en los que estos cigotos anormales se reversionan espontáneamente a un estado diploide. Se especula que esto se puede deber a que contienen una cantidad insuficiente de centriolos en comparación con los pronúcleos y por ello se autocorrigien. (6)

Por último, también existe la posibilidad de la aparición de un tercer micronúcleo de tamaño menor comparado con los dominantes (2.1PN). (6) Alrededor de ellos hay mucha controversia: diversos estudios aseguran la posibilidad de encontrar embriones euploides en algunos de estos casos, mientras que hay otros en los cuales los resultados genéticos han encontrado únicamente embriones aneuploides o mosaicos. (8) A pesar de disponer de resultados controvertidos, estos cigotos 2.1PN están en el foco de investigaciones en la actualidad.

En los últimos años, la edad media a la que se plantea tener hijos en España ha ido aumentando debido a factores socioeconómicos. Este incremento constituye un factor limitante a la hora de lograr un recién nacido vivo (RNV), debido a que a partir de los 35 años disminuye la reserva ovárica y la calidad de los ovocitos. Esto se debe a un aumento notable en los errores de segregación meiótica que conlleva una mayor prevalencia en aneuploidías. (9) Se ha observado que en mujeres con edad materna avanzada (EMA) la tasa de embriones que presentan aneuploidías y por lo tanto que no van a ser transferibles aumenta hasta un 75%. Gracias al uso de pruebas preimplantacionales (PGT), se puede diagnosticar los embriones euploides aumentando así las tasas de embarazo clínico y nacimiento de recién nacido vivo.(10)

A pesar de que las técnicas de reproducción asistida cada vez son más eficaces, la edad materna en muchas ocasiones sigue suponiendo un reto debido a la baja cantidad y calidad de los ovocitos. A esto se le suma, el aumento de aneuploidías mencionado anteriormente. (9) Por ello, la búsqueda de estrategias que permitan maximizar el aprovechamiento de los ovocitos obtenidos es imprescindible para aumentar la probabilidad de éxito en estas pacientes.

3.4- Fallo de fecundación (2CP/0PN)

Los ovocitos que no presentan pronúcleos (0PN) durante la evaluación se consideran el resultado de un fallo de fecundación. (Kobayashi) Sin embargo, hay autores que han observado cómo algunos de estos ovocitos se comienzan a dividir iniciando el desarrollo embrionario, reportando tasa de blastocisto e incluso de nacido vivo, por lo que varios estudios los han tenido en cuenta como un subgrupo de fecundación anómala. Cabe destacar que todos ellos utilizaron la observación puntual en microscopio entre las 18-21 horas posteriores a la inseminación, sin tecnología TL; existe por tanto la posibilidad de no haber podido observar bien la aparición de pronúcleos debido a una desaparición temprana de estos.

4.- OBJETIVOS

El objetivo principal de esta revisión es evaluar la posibilidad de introducir en la práctica clínica el uso de embriones provenientes de cigotos que han presentado una fecundación anómala entendiéndose como la presencia de 2CP y 1 o más de 3PN . En los últimos años, diversos estudios han planteado la posibilidad de que estos embriones, que tradicionalmente se descartan, se dejen en observación a blastocisto, ya que gracias a las técnicas de PGT se han encontrado casos de euploidías entre ellos.

Como objetivo secundario se van a revisar los casos de fallo de fecundación 2CP/0PN, porque también se han reportado casos de gestaciones exitosas procedentes de estos ovocitos.

En este trabajo se revisarán sus distintos resultados y se analizarán distintos factores como la tasa de blastocisto, la tasa de aneuploidía, la tasa de gestación o el número de recién nacidos vivos de estos embriones.

Todo ello con el objetivo de esclarecer si sería posible implementar un cambio a la hora de toma de decisiones respecto a estos embriones que pudiera aumentar las posibilidades de obtener un niño en casa , sobre todo para aquellos casos con un pronóstico clínico comprometido.

5.- MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica con el objetivo de evaluar la viabilidad de embriones resultantes de una fecundación anómala. En dicha revisión se han analizado ensayos clínicos y otros artículos científicos, la mayoría de ellos publicados en los últimos 5 años. Para ello, se han realizado búsquedas avanzadas en bases de datos científicas como lo son PubMed, CINAHL, Medline o Google Scholar.

Se utilizaron términos clave como “abnormal fertilization”, “3PN embryos”, “2.1PN embryos”, “1PN embryos”, “euploidy rates”, “embryo quality” o “time lapse” todos ellos combinados por los operadores AND y OR. Entre todos ellos se han incluido estudios clínicos, metaanálisis, estudios retrospectivos, guías clínicas... Los criterios de inclusión fueron: estar publicados recientemente, idioma en inglés o español y estudios realizados en humanos que aporten datos comparativos entre embriones con una fecundación normal y anómala.

Los resultados obtenidos por los diferentes estudios que se exponen en este trabajo, van a ser analizados y comparados entre sí, con el fin, de llegar a conclusiones globales sobre cuales deben de ser las siguientes vías de investigación. Con ello se pretende obtener conclusiones sólidas sobre la posibilidad de una aplicación clínica en pacientes con un pronóstico reproductivo comprometido. En las cuales, por pequeña que sea la probabilidad de aumentar la tasa de éxito, este pequeño incremento, puede ser determinante.

6.- RESULTADOS

6.1- Fallo de fecundación y embriones 2CP/0PN

Como se ha explicado anteriormente, la evaluación de la fecundación en un tiempo óptimo es imprescindible para evaluar la formación de los cigotos. En los últimos años, y gracias a la tecnología TL, esta evaluación ha dejado de ser tiempo dependiente, ya que el sistema de video continuo permite observar y evaluar todos los cambios morfofocinéticos en cualquier momento del desarrollo. (2)

La desaparición de los pronúcleos sucede a partir de las 19 horas posteriores a la fecundación,(2) por lo que los laboratorios que no disponen de tecnología TL, han de ser especialmente precisos a la hora de establecer el momento para la evaluación de la misma.(1) En la evaluación tradicional, la presencia de 2 CP y 0PN se registra como fallo de fecundación y se descarta, puesto que se da por hecho que el ovocito se ha activado pero no se ha dado la fecundación. Sin embargo, hay casos donde una desaparición temprana de PN o una observación tardía de la fecundación pueden llevar a error, y por tanto derivar en la exclusión de embriones que podrían ser viables.(11)

Muchos estudios sin TL consideran los 2CP 0PN como un grupo de cigotos con fecundación anómala ya que se ha observado cómo estos pueden desarrollarse hasta blastocisto; es decir, han estudiado cómo embriones que no presentaban pronúcleos en el momento de la evaluación de la fecundación, han comenzado la mitosis y han continuado con el desarrollo embrionario incluso derivando en embriones euploides que si se transfieren pueden derivar en una gestación e incluso en un RNV. (Tabla 2)

Tabla 2: Resultados de estudios de embriones 2CP 0PN considerados fecundación anómala

ARTÍCULO	TL	N (Prevalencia)	TRA	T. BLASTOCISTO	T. EUPLOIDIA	T.GESTACIÓN	Nº RNV
Zhu and coll. 2024 (5)	No	705/18.734 (3,76%)	FIV	29,60%			
Chen and coll. 2022 (4)	No	46.804/380.250 (12,31%)	FIV/ICSI	13,90% *		50,70%	87
Tong and coll. 2023 (11)	No	7.084/81.588 (8,68%)	FIV/ICSI	FIV:47,70% ICSI: 32,00% *	62,50%	FIV:46,20% ICSI: 46,30%	FIV: 90 ICSI: 16
Wang and coll. 2025 (12)	No	50/736 (6,79%)	ICSI	66,00% *	18,18%		2
Destouni and coll 2018 (13)	No	108/466 (23,20%)	ICSI	41,60%	30,61%	30,76%	2

*Diferencia significativa respecto a 2CP/2PN (p<0.05)

Observando los datos representados en la Tabla 2 podemos destacar que ninguno de los artículos que valoró los 2CP/0PN cómo fecundación anómala utilizaba la tecnología TL. A pesar de que el tamaño muestral varía considerablemente entre los artículos, se encuentran estudios con un tamaño muestral elevado que han presentado tasas relevantes que demuestran la posibilidad de desarrollo de los 2CP/0PN. La prevalencia de la aparición de dichos embriones oscila entre un 3,76% y un 23,2%.

Respecto a los resultados obtenidos por dichos estudios, la tasa de blastocisto osciló entre un 14 y un 66%. Chen, Tong y Wang encontraron diferencias significativas entre el grupo 0PN y 2PN ($p < 0.05$), observando tasas de blastocisto más bajas para los 0PN. (4,11,12) Sin embargo, Zhu y Destouni observaron tasas similares entre ambos grupos. (5,13)

En cuanto a la evaluación de la euploidía mediante un análisis genético preimplantacional para aneuploidías (PGT-A) a biopsia de trofoectodermo (TE), entre un 18% y un 62% de los blastocistos analizados fueron euploides. Sin embargo, Wang añadió un análisis para las alteraciones estructurales (PGT-SR) observando que el 66% de embriones 0PN eran euploides y no presentaban ninguna alteración estructural como una translocación o reordenamiento cromosómico. (12) Por otro lado, Destouni se centró en pareja portadoras de enfermedades monogénicas que solicitaron un análisis PGT-M, por lo que consideró euploides aquellos que son diploides biparentales, que no había heredado la variante patogénica y que no presentaba aneuploidías numéricas ni estructurales, observando un resultado de euploidia del 41,6%. (13)

Respecto a la tasa de gestación, ninguno de los estudios encontró diferencias significativas entre los 0PN y el grupo control 2PN, presentando tasas similares de entre un 31% y un 50% para 0PN frente a un intervalo de 39% (4) y 50% (11) en el grupo de los 2PN. Se observó como resultado final el nacimiento de niños sanos provenientes de dichos embriones. No se presentaron diferencias significativas en cuanto a aborto, malformaciones congénitas ni peso al nacer. (4,5,11)

Pese a que los resultados expuestos parecen prometedores no debemos pasar por alto que todos los estudios reconocieron como una limitación el no utilizar tecnología TL, ya que no pueden cerciorarse de que alguno de los embriones clasificados como 0PN no sea en realidad un 2PN al que no se le han visualizado los pronúcleos en el momento de la evaluación. Por lo que recomiendan encarecidamente el uso de esta tecnología para confirmar la veracidad de estos resultados. (14)

6.2- Embriones 2CP/1PN

Los embriones que presentan un pronúcleo y dos corpúsculos (Figura 1) suelen considerarse haploides.(15) Sin embargo, varios estudios han investigado la dotación cromosómica de estos embriones demostrando su diploidía y euploidía, que incluso han derivado en recién nacidos vivos sanos. (12,15–17)



Figura 1: Embrión 2CP/1PN (16)

Esto sugiere otros posibles escenarios en los que nos podemos encontrar ante la observación de un único pronúcleo, como puede ser la formación anormal de la envoltura nuclear, la aparición asincrónica de los pronúcleos o la fusión de ambos. (15) En la Tabla 3 se recogen los resultados de estudios que compararon el potencial clínico de los embriones 1 PN medido en tasa de blastocisto, tasa de euploidía, tasa de gestación y nº de RNV.

Tabla 3: Resultados de estudios de 2CP 1PN

ARTÍCULO	TL	N (Prevalencia)	TRA	T. BLASTOCISTO	T.EUPLOIDIA	T.GESTACIÓN	Nº RNV
Wang and coll 2025 (12)	No	50/736 (6,79%)	ICSI	72% *	11,11% *		1
Zhu and coll 2024 (5)	No	412/18.734 (2,20%)	FIV	17% *		44,40%	7
Tong and coll 2023 (11)	No	2.238/81.588 (2,74%)	FIV/ICSI	FIV:29,0% * ICSI: 16,0% *		FIV:52,6% ICSI: 42,9%	FIV: 29 ICSI: 6
Hirata and coll 2020 (15)	No	38/1.761 (2,16%)	FIV/ICSI	FIV:37,5% ICSI: 18,8%	74.6% **	FIV:25,0% * ICSI: 30,0% *	10
Al Hashimi and Coll 2025 (16)	Si	50/4822 (1,04%)	ICSI		55,30%		4
Uzun and coll 2020 (18)	Si	146/1280 (11,41%)	ICSI	17,10%			
Capalbo and coll. 2017 (17)	Si	149/2802 (5,31%)	ICSI	6,5% *	69,20% ..		1

*Diferencia significativa respecto a 2CP/2PN ($p < 0.05$)

**Tasa de Diploidía

En este grupo de estudios sí que encontramos presencia de grupos que utilizaron la tecnología time lapse para monitorizar el desarrollo embrionario. (16–18)

La prevalencia de los embriones 2CP/1PN en los estudios expuestos se encuentra entre un 1% y un 11,4%. La tasa de blastocisto oscila entre un 6,5% y un 72%, por lo que los resultados son muy variables. Cabe destacar que se obtuvieron menores tasas en los estudios realizados con TL, ya que fueron capaces de clasificar los cigotos de una forma más precisa, diferenciando aquellos casos de formación asincrónica o fusión de membranas, y clasificándolos como 2 PN en lugar de como 1PN. Dicha distinción fue más difícil de llevar a cabo para los grupos que no disponían TL, que pudieron haber clasificado incorrectamente embriones 2 PN como 1PN. (15)

Algunos de estos estudios realizaron una distinción según la TRA utilizada para llevar a cabo la fecundación. En ellos se observó una mayor tasa de blastocisto en los embriones 1PN provenientes de un ciclo de FIV convencional (entre un 29% (15) y un 37,5% (11)) comparado con un 16% (15) y un 18,8% (11) observado en los ciclos con ovocitos microinyectados.

Observamos que algunos de los estudios obtuvieron tasas de blastocisto para 1PN significativamente menores a las presentadas por el grupo control 2PN. Por ejemplo, Zhu reportó una tasa de blastocisto para los 2PN de un 32,1%, frente al 17% de los 1PN ($p < 0.05$) (5). Por otro lado, otros estudios como el de Hirata no reportaron diferencias significativas entre 1PN y 2PN para ninguno de los grupos estudiados (15), si bien el número de embriones en este artículo (38) puede ser una limitación importante a la hora de extraer conclusiones válidas.

Respecto a la dotación cromosómica de estos embriones 1PN, algunos estudios como el de Hirata o Capalbo estudiaron la diploidía de dichos embriones, es decir detectaron las alteraciones numéricas como las monosomías o la ganancia o pérdida parcial de material genético. (15,17). Hirata no encontró diferencias significativas en la tasa de aneuploidía de los 1PN frente a los 2PN, presentando tasas de alrededor del 30% de aneuploidía para los grupos de FIV e ICSI. (15)

Por otro lado, Wang describió una tasa de euploidia del 11,11% significativamente inferior al 33,21% que presentó el grupo de 2PN. En este estudio se llevó a cabo un análisis genético que no solo detectaba las alteraciones en el número de copias de los cromosomas de los embriones, sino que gracias a técnicas de técnicas de hibridación con microarrays se detectaron también alteraciones estructurales como translocaciones o reordenamientos en el interior de los cromosomas. (12)

Las gestaciones clínicas registradas por aquellos embriones que llegaron a desarrollarse hasta blastocistos de buena calidad y por tanto pudieron ser transferidos obtuvieron unas tasas de gestación de entre el 25% (15) al 52,6% (11). Zhu y Tong no observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la incidencia de aborto bioquímico ni de embarazos ectópicos entre los grupos de embriones. Tampoco se observaron diferencias significativas en cuanto a las malformaciones congénitas ni en los percentiles de peso al nacer. (5,11) Estos resultados sugieren la prueba irrefutable de que los embriones 1 PN, si se desarrollan en blastocistos de buena calidad, se analizan genéticamente y son euploides, pueden lograr derivar en recién nacidos vivos sanos en casa. Esta selección de estudios acumula un total de 56 niños nacidos a partir de embriones 1PN. (Tabla 3)

6.3-Embriones 2CP/3PN y 2CP/2.1PN

Una de las grandes preocupaciones sobre el uso de embriones fecundados anormalmente, es la arraigada creencia de que estos son cromosómicamente defectuosos. Como se ha descrito en los apartados anteriores, en estos últimos años diversos estudios se han centrado en demostrar la existencia de embriones con fecundación anómala pueden llegar a tener una relevancia clínica. Otro de los grupos en los que se centran dichos estudios es en los 2CP/3PN (16,19,20). Por lo general, la aparición de 3 PN se asocia a una dotación cromosómica triploide. (20) En la Tabla 4 podemos observar los resultados obtenidos por algunos de los estudios que han estudiado el potencial uso de los embriones 3PN. La prevalencia que se observó en ellos se encuentra entre un 1% (16) y un 25% (20).

McCallie observó que alrededor de un 44% de los embriones 3PN (Figura 2) lograban desarrollarse a blastocisto.(19) En cuanto a la euploidía de este grupo de embriones observamos una amplia variabilidad en las tasas que oscilan entre un 8%(19) y un 36%. (Tabla 4) Este hecho resulta sorprendente, ya que no se ha logrado explicar con exactitud cómo un embrión que inicialmente cuenta con tres pronúcleos es capaz de desarrollarse formando un blastocisto con una dotación cromosómica

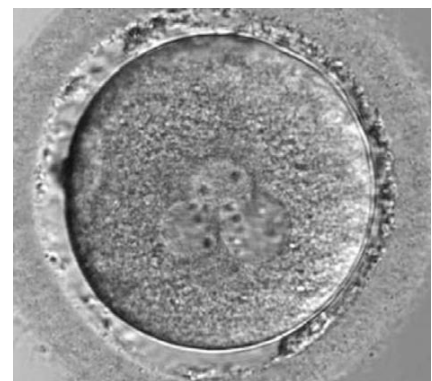


Figura 2: Embrión 2CP/3PN (16)

diploide. Cómo se ha mencionado anteriormente se cree que la explicación podría deberse a un número insuficiente de centriolos en comparación con el número de PN.

(6) Estos estudios además reportaron la existencia de 4 recién nacidos vivos a partir de embriones 3PN. (Tabla 4)

Existe un grupo de embriones que inicialmente se clasificó junto con los 3 PN pero que debido a relevantes diferencias entre los resultados se ha considerado el analizarlos como un grupo aparte. Se trata de los embriones micro 3PN o 2.1PN (Figura 3), que se caracterizan por la aparición de un tercer núcleo de tamaño menor a los dos pronúcleos dominantes. (20) Dichos embriones se agruparon inicialmente como un subgrupo de 3PN, ya que se creía que iban a presentar una triploidía y que no iban a ser aptos para una transferencia. (6) Pero una vez que los estudios comenzaron a considerarlos como un grupo independiente, la primera gran diferencia que se encontró fue que la tasa de triploidía que se observaba en ambos grupos eran significativamente muy distintas. (6)



Figura 3: Embrión 2CP/2.1PN (16)

Girardi estudió la distribución global de configuraciones de ploidía en cigotos con diferente número de pronúcleos, observando un que un 34,8% de los embriones 2.1PN que estudió fueron triploides. Los 3PN presentaron el doble de embriones triploides con un 74,1%. (20) Hay estudios como el de Canon que no reportaron ningún embrión 2.1PN triploide, alentando a cultivar dichos embriones hasta estadio de blastocisto.(6)

El mecanismo de formación de estos embriones todavía no está claro; se especulan diferentes hipótesis como la fragmentación de un núcleo, la citocinesis fallida o la fecundación tardía.(6) La monitorización de la formación de estos cigotos mediante la tecnología TL sugirió que un 80% de los micro pronúcleos derivaron del PN femenino. (21)

Tabla 4: Resultados de estudios de 2CP 2.1PN y 2CP 3PN

	ARTÍCULO	TL	N	TRA	T. BLASTOCISTO	T.EUPLOIDIA	T.GESTACIÓN	Nº RNV
2.1PN	Capalbo and coll 2017(17)	Si	20/2802 (0,71%)	ICSI	51,9% *	85,70%		2
	Takahashi and coll 2022(8)	Si	32/7520 (0,43%)	ICSI	43,80%	0%		
	Canon and coll 2023(6)	No	183/60161 (0,3%)	ICSI	23,00%	27,50%		1
	Wang and coll 2024(22)	Si	171/1907 (8,9%)	FIV/ICSI	25,73% *	50%		
	Hattori and coll 2024(21)	Si	304/1699 (17,8%)	FIV/ICSI	40,0% *	95,8%**	30.8% *	3
	Al Hashimi and Coll 2025(16)	Si	24/4822 (0,5%)	ICSI		33,30%		1
	McCallie and coll. 2025 (20)	No	23/208 (11%)	ICSI		66,2%**		
MultiPN	Uzun and coll. 2020(18)	Si	70/1280 (5,5%)	ICSI	42,80%	43%		
3PN	McCallie and coll. 2025 (19)	No	172/680 (25,3%)	ICSI	43,00%	8%	62,50%	3
	Girardi and coll. 2024(20)	Si	54/208 (25,96%)	ICSI		25,9% **		
	Al Hashimi and Coll 2025(16)	Si	65/4822 (1,35%)	ICSI		36%		1

*Diferencia significativa $p>0.05$

**Tasa de Diploidia

Como se puede observar en la Tabla 4, los embriones 2.1PN presentan una tasa de blastocisto de entre el 23% (6) y el 52% (17); las tasas de euploidía son superiores a las estudiadas en el resto de grupos; hubo estudios que reportaron que entre el 85% (17) y el 95% (21) de los embriones 2.1PN eran diploides. Por otro lado, las tasas de euploidía oscilan entre 27% (6) y el 66% (20).

La prevalencia de los 2.1PN es muy baja, rondando en la mayoría de los estudios el 1%. (6) Debido a esto, el tamaño muestral de dicho grupo se ve bastante limitado, por lo que es normal encontrar discrepancias entre los resultados de los distintos estudios. Un ejemplo de ello lo observamos en el estudio de Takahashi que de los 32 embriones 2.1PN que analizó ninguno resultó ser euploide. (8)

A pesar de las discrepancias, la evidencia concluyente de que estos embriones son capaces de desarrollarse a blastocistos sanos transferibles es la existencia de RNV a partir de estos. De la combinación de resultados de los artículos mencionados, se han reportado 7 niños sanos. (Tabla 4)

Wang analizó 171 embriones 2.1PN para evaluar su potencial de desarrollo y la posible influencia de la edad materna avanzada (EMA). Observó en primer lugar un mayor número de embriones 2.1PN en el grupo de mujeres mayores de 38 años alcanzado una incidencia de un 21,48% frente a un 8,32%. (22)

El aumento de esta prevalencia podría deberse al envejecimiento ovocitario, relacionado con un aumento de defectos meiótico, desalineación cromosómica y alteraciones en la organización del huso mitótico asociado a la edad materna. Todo ello aumenta el riesgo de que se de un error a la hora de la fecundación y como resultado se obtenga un cigoto con fecundación anómala. Sin embargo, no todos los artículos publicados muestran la misma tendencia. Wang y cols compararon los resultados de los embriones 2.1PN y 2PN de las mujeres mayores de 38, encontrando tasas de formación de blastocisto del 34,38% y 38,18% respectivamente (NS, $p < 0.05$). Además, las tasas de euploidía de ambos grupos se encontraron en torno al 50%. (22)

No se encontraron diferencias significativas, por lo que se llegó a la conclusión de que estos embriones 2.1PN que se desarrollan son similares a los 2PN, lo cual puede suponer un aumento de oportunidades para aquellas mujeres con EMA que presentan pocos ovocitos y de baja calidad.

7.- DISCUSIÓN

Con la exposición de los trabajos anteriormente descritos se pretende determinar si los embriones que hemos clasificado como fallo de fecundación (2CP/0PN) y fecundación anómala (2CP/1PN, 2CP/3PN y 2CP/2.1PN), pueden presentar un potencial de desarrollo y una calidad suficiente para considerarse candidatos para su uso en tratamientos de reproducción asistida. En la actualidad, estos embriones se suelen descartar por norma general, debido a que se les suele asociar con errores en la fecundación y por tanto se considera que presentan alteraciones cromosómicas y pueden derivar en fallos de implantación, abortos o RNV con alguna enfermedad genética. (21)

Los resultados expuestos han sido recogidos de la literatura que hay disponible sobre el potencial clínico de estos embriones en los últimos años. Todos ellos se han centrado en evaluar parámetros clave como la tasa de blastocisto, la tasa de euploidía, la tasa de gestación y el número de recién nacidos vivos que se han obtenido a partir de dichos embriones. En general, cada estudio estableció los grupos estudiados y los sesgos que consideró oportunos. Los protocolos de laboratorio fueron similares entre todos los grupos. La diferencia más característica entre ellos fue el uso/no uso de la tecnología TL para la monitorización continua del desarrollo embrionario, así como la utilización/no utilización de técnicas de análisis genético preimplantacional.

A rasgos generales, la interpretación de los datos expuestos sugiere que, a pesar de tener una baja prevalencia y un potencial de desarrollo menor que los embriones 2CP 2PN, los embriones que consiguen desarrollarse hasta estadio de blastocisto presentan una calidad suficiente para poder optimizar el número de embriones disponibles a la hora de la transferencia, siempre y cuando se realice PGT-A para ver la dotación cromosómica. Por ello se plantea un cambio a la hora de tomar decisiones clínicas y establecer protocolos sólidos para abrir líneas de investigación que estén mejor planteadas y orientadas a individualizar el manejo de los embriones con estas características.

En lo que respecta al grupo 2CP/0PN, si bien ha existido cierta controversia en cuanto a incluir estos cigotos como fecundación anómala, la aparición de las técnicas TL ha demostrado que en realidad se trata de un fallo de fecundación. El grupo de Kobayashi comparó dos métodos de observación de la fecundación y desarrollo embrionario posterior: el tradicional al microscopio, entre las 18-21h post-inseminación, y el que se

monitoriza con TL. La incidencia de división embrionaria fue de un 8,3% en el primer grupo, mientras que ningún ovocito 2CP/0PN se dividió en células de entre los 514 clasificados así por TL. (14)

Por lo tanto, cabe pensar que el hecho de que haya cigotos 2CP/0PN que llegan a blastocisto, e incluso dan lugar a gestaciones y a nacidos vivos, puede corresponder a que en realidad se trata de cigotos con 1, 2 ó 3 PN, y que en el tiempo de mirar la fecundación hubiesen desaparecido ya.

Entre el resto grupos analizados (1PN, 2.1PN y 3PN) se encuentran estudios que han utilizado la tecnología TL para monitorizar el desarrollo a blastocisto, por lo que sí se puede afirmar la existencia de embriones 1PN, 2.1PN y 3PN que han acabado desarrollándose en blastocistos viables para conseguir un niño en casa.

A la hora de elegir un embrión para una transferencia, se selecciona aquel que presenta un mejor pronóstico de implantación. Para ello se observa el desarrollo del embrión tras la fecundación, se sigue las divisiones celulares que se suceden y se evalúa la calidad del blastocisto formado según el aspecto del TE y la masa celular interna (MCI). (2) Algunos de los estudios que evaluaron la tasa de formación de blastocisto de los embriones procedentes de fecundaciones anómalas, clasificaron también la calidad de los embriones formados, confirmando la existencia de embriones de buena calidad.(5,11,12,15)

No obstante, la evaluación de la morfología del blastocisto y su desarrollo es un marcador pronóstico utilizado de forma rutinaria en la toma de decisiones en los laboratorios de reproducción asistida, pero no es determinante. La integridad del material genético en estos casos tan especiales de fecundación es imprescindible para el éxito de un tratamiento de reproducción asistida, puesto que la alteración de este puede resultar en fallos de implantación, abortos e incluso en nacimientos de niños con alteraciones cromosómicas. (10)

La creencia de que los embriones 1PN son haploides (6) y los 2.1PN y 3PN son triploides (20) queda en entredicho por los resultados presentados por estudios que realizaron análisis genético preimplantacional a dichos embriones; si bien es cierto que hay mayor tasa de haploides en los cigotos 1PN, y mayor proporción de triploides en los 2.1 y 3PN , en ambos grupos la tasa de euploidía es lo suficientemente relevante como para tener en cuenta la existencia de una proporción considerable de embriones que en primera instancia hubieran sido descartados y que gracias al PGT podrían ser incluidos como una opción viable para transferir.(20)

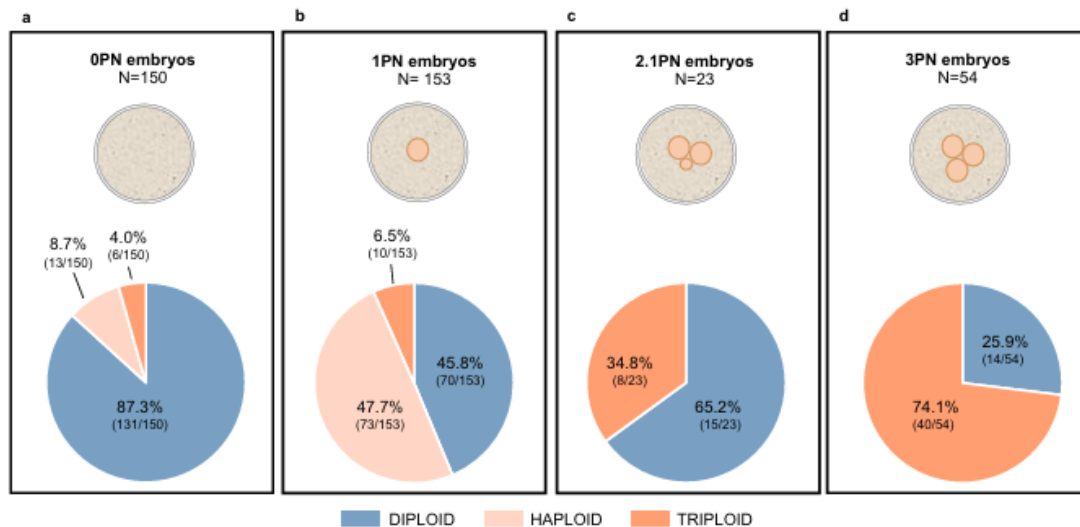


Imagen 1: Distribución global de las configuraciones de ploidía en cigotos fecundados de forma anómala con diferentes estados pronucleares (20)

Gracias a estas herramientas, se han podido transferir embriones fecundados anormalmente pudiendo observar sus resultados clínicos para evaluar su potencial. Como consecuencia, ya hay varios trabajos que reportan tanto gestaciones clínicas tras la transferencia de los embriones estudiados, (5,11,15,19,21) como el nacimiento de niños sanos sin diferencias significativas en cuanto a abortos, malformaciones congénitas o percentiles de peso cuando se comparan con cigotos 2CP/2PN. (4,5,11)

A pesar de que los estudios expuestos demuestran potencial clínico de los embriones 2CP/1PN, 2CP/2.1PN y 2CP/3PN, también presentan limitaciones que no pueden ser despreciadas. En primer lugar, la baja prevalencia de estos grupos limita el tamaño muestral, por lo que es difícil establecer comparaciones con el grupo control de embriones 2CP/2PN, pudiendo aumentar la variabilidad de resultados. Por otro lado, hay una gran heterogeneidad entre los tamaños muestrales de cada estudio, por lo que complica el realizar una comparación entre los datos obtenidos de cada uno, dificultando así la posibilidad de sacar conclusiones generalizadas.

En segundo lugar, los datos expuestos sobre tasas de euploidía se calcularon teniendo en cuenta el número de embriones que llegaron a formar el blastocisto, por lo que no se tuvieron en cuenta los embriones que se detuvieron durante el desarrollo embrionario.(6,12,16,19,22) Algunos de los estudios, como los de de Hattori, Girardi, Capalbo y Hirata únicamente se centraron en la diploidía, por lo que se pueden pasar por alto otras alteraciones cromosómicas equilibradas. (15,17,20,21) Algunos autores como Girardi recomiendan la incorporación de estrategias moleculares más sensibles en la detección de alteraciones genéticas. (20)

De la misma forma, las tasas de gestación se calcularon en base a los embriones que fueron transferibles, y no el número de embriones inicial. (5,11,15,19,21) Por lo que es posible que los datos obtenidos no reflejen el verdadero potencial de los embriones con fecundación anómala, ya que este puede estar sobreestimado. Por ello, estos resultados tienen que ser tratados con prudencia.

Centrándonos en los datos sobre transferencias realizadas con embriones que han presentado una fecundación anómala, observamos que estos se ven limitados debido a que se prioriza la transferencia de un embrión 2CP/2PN frente a un 2CP/1PN, 2CP/1.2PN o 2CP/3PN. Por lo tanto, el número de transferencias realizadas fue muy escaso y no se puede evaluar el verdadero potencial por el hecho de encontrarnos ante un tamaño muestral muy reducido. Otro aspecto relevante es que la gran mayoría de los estudios expuestos son de diseño retrospectivo y unicéntrico, por lo que los resultados no se pueden generalizar.

Capalbo afirma que la evaluación de dichos embriones no añade un coste adicional significativo en cuanto a carga de trabajo y gastos en comparación a la ganancia potencial de embriones que se podría obtener.(17) Destouni en su estudio calculó que un 31% de los ciclos que llevó a cabo habrían sido cancelados por falta de embriones transferibles. Gracias a los embriones con fecundación anómala el número de ciclos que alcanzó la transferencia embrionaria aumentó un 81%.(13)

A pesar de que los estudios presentan dichas limitaciones también aportan evidencias claras de la posibilidad de utilizar embriones con fecundación anómala que pueden derivar en RNV sanos. Este aumento de embriones transferibles sería muy beneficioso para los ciclos de FIV, especialmente en los grupos de mujeres de EMA y bajas respondedoras, que por norma general disponen de un menor número de embriones de calidad en sus ciclos.

8.- CONCLUSIONES

1- La observación tradicional de la fecundación descarta de forma sistemática todos los ovocitos con fecundación anómala. Sin embargo, y gracias a los avances en el screening genético de aneuploidías embrionarias, se han reportado casos de blastocistos euploides de buena calidad que han derivado en gestaciones y RNV.

En función del tipo de fecundación anómala, se llegan a las siguientes conclusiones:

2- **Embriones 2CP/0PN:** la aparición de los incubadores TL ha puesto de manifiesto que las gestaciones derivadas de estos embriones no corresponden a una fecundación anómala, sino que el tiempo de observación no ha sido el adecuado, generalmente debido a una desaparición temprana de los PN.

3- Se puede concluir por tanto que los ovocitos 2CP/0PN corresponden a un fallo de fecundación en los sistemas TL

4- Embriones **2CP/1PN, 2CP/2.1PN y 2CP/3PN:** si bien los resultados generales muestran un menor porcentaje de tasa de blastocisto, tasa de euploidía, y RNV que los cigotos fecundados normalmente, los datos obtenidos pueden suponer un incremento en el número de embriones transferibles, y por tanto una mejora en la probabilidad de niño en casa.

5- Se necesitan más estudios multicéntricos con protocolos estandarizados para poder aumentar el conocimiento sobre este tipo de fecundaciones anómalas, y establecer directrices generales acerca de su utilización en los ciclos de RA.

6- Por todo lo expuesto anteriormente se propone el cultivo de los embriones 1PN, 2.1PN y 3PN bajo tecnología TL combinada con el análisis genético preimplantacional, ya que puede aumentar el número de embriones euploides transferibles, mejorando por tanto la probabilidad de un niño sano en casa.

9.- BIBLIOGRAFÍA

1. Tosti E, Ménézo Y. Gamete activation: basic knowledge and clinical applications. Hum Reprod Update. junio de 2016;22(4):420-39.
2. ASEBIR. Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humano. En: CUADERNOS DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA: Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humano. 3ª. 28232 Las Rozas, Madrid; 2015. p. 20-33.
3. Ezoe K, Takahashi T, Shimazaki K, Miki T, Tanimura Y, Amagai A, et al. Human 1PN and 3PN zygotes recapitulate all morphokinetic events of normal fertilization but reveal novel developmental errors. Hum Reprod. 30 de septiembre de 2022;37(10):2307-19.
4. Chen C, Li W, Yin M, Li M, Wu L, Si J, et al. Does the cell number of 0PN embryos on day 3 affect pregnancy and neonatal outcomes following single blastocyst transfer? BMC Pregnancy Childbirth. 12 de marzo de 2022;22(1):200.
5. Zhu M, Dong Q, Zhu Y, Le Y, Wang T, Zhou Y, et al. Developmental potential of non- and mono-pronuclear zygotes and associated clinical outcomes in IVF cycles. Front Endocrinol. 12 de marzo de 2024;15:1361734.
6. Canon C, Thurman A, Li A, Hernandez-Nieto C, Lee JA, Roth RM, et al. Assessing the clinical viability of micro 3 pronuclei zygotes. J Assist Reprod Genet. julio de 2023;40(7):1765-72.
7. Mutia K, Wiweko B, Iffanolida PA, Febri RR, Muna N, Riayati O, et al. The Frequency of Chromosomal Euploidy Among 3PN Embryos.
8. Takahashi H, Hirata R, Otsuki J, Habara T, Hayashi N. Are tri-pronuclear embryos that show two normal-sized pronuclei and additional smaller pronuclei useful for embryo transfer? Reprod Med Biol. enero de 2022;21(1):e12462.
9. Cimadomo D, Fabozzi G, Vaiarelli A, Ubaldi N, Ubaldi FM, Rienzi L. Impact of Maternal Age on Oocyte and Embryo Competence. Front Endocrinol. 29 de junio de 2018;9:327.

10. Adamyan L, Pivazyán L, Obosyan L, Krylova E, Isaeva S. Preimplantation genetic testing for aneuploidy in patients of different age: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol Sci.* 15 de julio de 2024;67(4):356-79.
11. Tong X, Jin J, Xue Y, Fang L, Zhu H, Jiang L, et al. Clinical outcomes of frozen-thawed blastocysts from zygotes with no or one pronucleus for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Arch Gynecol Obstet.* 30 de junio de 2023;308(3):1015-22.
12. Wang J, Xie H, Zou Y, Gao M, Wang L, Liu X, et al. The use of blastocysts developing from nonpronuclear and monopronuclear zygotes can be considered in PGT-SR: a retrospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. 3 de mayo de 2025 [citado 17 de julio de 2025];25(1). Disponible en: <https://bmcpregnancychildbirth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12884-025-07621-0>
13. Destouni A, Dimitriadou E, Masset H, Debrock S, Melotte C, Van Den Bogaert K, et al. Genome-wide haplotyping embryos developing from 0PN and 1PN zygotes increases transferrable embryos in PGT-M. *Hum Reprod* [Internet]. 31 de octubre de 2018 [citado 22 de julio de 2025]; Disponible en: <https://academic.oup.com/humrep/advance-article/doi/10.1093/humrep/dey325/5151365>
14. Kobayashi T, Ishikawa H, Ishii K, Sato A, Nakamura N, Saito Y, et al. Time-lapse monitoring of fertilized human oocytes focused on the incidence of 0PN embryos in conventional in vitro fertilization cycles. *Sci Rep.* 22 de septiembre de 2021;11(1):18862.
15. Hirata K, Goto S, Izumi Y, Taguchi M, Hayashi A, Fujioka M, et al. Chromosome analysis of blastocysts derived from single pronuclear zygotes by array CGH and clinical outcomes by the transfer of single pronuclear zygotes. *J Assist Reprod Genet.* julio de 2020;37(7):1645-52.
16. Al Hashimi B, Harvey SC, Harvey KE, Linara-Demakakou E, Raikundalia B, Green O, et al. Reassessing the conventional fertilization check: leveraging preimplantation genetic testing for aneuploidy to increase the number of transferrable embryos. *Reprod Biomed Online.* junio de 2025;50(6):104595.
17. Capalbo A, Treff N, Cimadomo D, Tao X, Ferrero S, Vaiarelli A, et al. Abnormally fertilized oocytes can result in healthy live births: improved genetic technologies for

preimplantation genetic testing can be used to rescue viable embryos in in vitro fertilization cycles. Fertil Steril. diciembre de 2017;108(6):1007-1015.e3.

18. Uzun KN, Cincik M, Selam B, Takmaz Ö, Uyar E. Comparison of the rates for reaching the blastocyst stage between normal and abnormal pronucleus embryos monitored by a time-lapse system in IVF patients. J Turk-Ger Gynecol Assoc. 28 de mayo de 2021;22(2):120-6.

19. McCallie BR, Haywood ME, Henry LN, Lee RM, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. The Identification of Molecular Ploidy Status of Abnormal Pronuclear Zygotes Reveals a Significant Number of Euploid Blastocysts Available for Conception. Biomedicines. 28 de diciembre de 2024;13(1):51.

20. Girardi L, Patassini C, Miravet Valenciano J, Sato Y, Fagundes Cagnin N, Castellón JA, et al. Incidence of haploidy and triploidy in trophectoderm biopsies of blastocysts derived from normally and abnormally fertilized oocytes. J Assist Reprod Genet. diciembre de 2024;41(12):3357-70.

21. Hattori H, Okuyama N, Ashikawa K, Sakuraba Y, Igarashi H, Kyono K. The utility of human two plus one small pronucleated zygotes (2.1PN) based on clinical outcomes and the focused ploidy analysis. J Assist Reprod Genet. junio de 2024;41(6):1589-96.

22. Wang J, Xiong S, Hao X, Gao Y, Xia F, Liao H, et al. Evaluating the developmental potential of 2.1PN-derived embryos and associated chromosomal analysis. J Assist Reprod Genet. junio de 2024;41(6):1597-603.