

Fecundación *in vitro* en UNIFERTES, Clínica El Ávila, 1996

Drs. Jorge Lerner, Randolpho Medina, María Teresa Urbina, Alexis Trías, Alejandro Kovac's, Luis Pérez, José Moreno, Arturo Ríos, Nidya Sanginés, Silvia Muñoz

Unidad de Fertilidad UNIFERTES, Clínica el Avila, Caracas, Venezuela

RESUMEN

Objetivo. Comparar la tasa de embarazos clínicos por fecundación *in vitro* de UNIFERTES con las reportadas en la literatura.

Método. Se controló la respuesta a la estimulación ovárica con ultrasonografía transvaginal y estradiol sérico. Los ovocitos aspirados por vía transvaginal, fueron incubados 5 horas e inseminados con 50 000 espermatozoides móviles por ovocito. La presencia de pronúcleos se evaluó a las 16 horas posinseminación, 24 horas más tarde se observó la división celular y, la transferencia de embriones se realizó a los 48 horas posinseminación.

Ambiente. Clínica El Ávila. Caracas, Venezuela.

Resultados. Se recuperaron $7,7 \pm 4,7$ óvulos por paciente, fecundaron 60% y de ellos clivaron 96%, se transfirieron $3,6 \pm 2,2$ embriones por paciente. Se obtuvo 12 embarazos bioquímicos (38%), 9 clínicos (28%), 2 fueron ectópicos (6%) y hubo 4 nacimientos vivos (13%).

Conclusión. Aunque el 60%, 18 pacientes, tenían más de 35 años, la tasa de embarazos clínicos y la tasa de nacimientos fue similar a las últimas reportadas para fecundación *in vitro* por la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida, American Society for Reproductive Medicine, European Society of Human Reproduction and Embryology y el 8° Congreso Mundial de Fecundación *in vitro*.

Palabras clave: Fertilidad. Reproducción asistida. Fecundación *in vitro*. Tasa de embarazo.

SUMMARY

Objective. To compare the clinical pregnancy rate by *in vitro* fertilization in UNIFERTES with those internationally reported.

Method. After ovarian stimulation, response was followed by vaginal ultrasound and serum estradiol. Oocytes transvaginally recovered were incubated for 5 hours, and inseminated with 50 000 sperm per ovum. 16 hours after insemination oocytes were examined for the presence of pronuclei, and 24 hours later for cleavage. Embryo transfer was done 48 hours after insemination.

Setting. El Avila, private clinic. Caracas, Venezuela.

Results. We recovered 7.7 ± 4.7 ovules for patient, 60% of which were fertilized, of these 96% cleaved and 3.6 ± 2.2 per patient were transferred. We had 12 biochemical pregnancies (38%), 9 clinical (28%), 3 of them were ectopic pregnancies (6%) and 4 borne alive (13%).

Conclusion. Although 60%, 18 of our infertile patients, were older than 35 years old, our clinical pregnancy and living birth rates are similar to those reported by Latin American Net of Fertility, American Society for Reproductive Medicine, European Society of Human Reproduction and Embryology and 8th World Congress of *in vitro* Fertilization.

Key words: Fertility. Assisted reproductive techniques. *In vitro* fertilization. Pregnancy rate.

INTRODUCCIÓN

Con la ayuda de las técnicas de reproducción asistida más de 100 000 niños han nacido en el mundo (1) y más de 1 000 en Venezuela (2-4). La Unidad de Fertilidad UNIFERTES fundada en 1987, en la Clínica El Ávila, fue pionera de la reproducción asistida en Venezuela y es responsable del nacimiento del primer bebé probeta por embrión

congelado (3).

La fecundación *in vitro* (FIV) consiste en la aspiración de los ovocitos, justo antes de la ovulación, su inseminación *in vitro* con los espermatozoides y la transferencia de los embriones resultantes al útero. Este procedimiento permite el encuentro de los gametos en pacientes con trompas obstruidas y la aplicación de diversos tratamientos a ovocitos, espermatozoides y embriones (5). La FIV

Recibido: 10-12-97

Aceptado para publicación: 30-01-99

se utiliza en casos en que hay daño irreversible en las trompas, aunque también está indicada en la infertilidad inexplicada, por causa inmunológica, endometriosis severa o factor masculino. Todas las mujeres que se someten a FIV deben tener ovarios funcionales y útero normal, a menos que participen en un programa de donación de ovocitos, embriones o útero subrogado (5). Los datos indican que en mujeres mayores de 40 años la tasa de embarazo disminuye y los riesgos del mismo aumentan (1,6). Queremos dar a conocer los resultados obtenidos en 32 FIV realizados en UNIFERTES y la tasa de embarazos obtenida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Treinta y dos parejas con historia de esterilidad de dos o más años de evolución, por causas diferentes, fueron sometidas a estimulación ovárica con análogos de GnRH (acetato de leuprolide), FSH pura, HMG y hCG urinaria. El acetato de leuprolide se indicó a partir del día 21 del ciclo anterior y la estimulación con gonadotropinas se inició el día del sangrado menstrual (2 ó 3 del ciclo), el crecimiento folicular como respuesta a la estimulación por gonadotropina se controló una ultrasonografía transvaginal y estradiol sérico seriado, cuando se alcanzó al menos 1 000 pg/ml de estradiol sérico y un diámetro folicular de 18 mm se indicó 10 000 UI de hCG, la aspiración folicular se realizó 36 h después. Los folículos se aspiraron guiados por un ultrasonógrafo Combison (310 kretz technik, Tiefenbach, Austria) y transductor de 7,5 MHz, se utilizaron agujas de 30 cm CCD 1403001, los ovocitos recibidos en medio PBS Gibco 14190-136 se entregaron al laboratorio para su evaluación.

Los ovocitos se cambiaron a medio HTF-Hepes (*Irvine Scientific* 9963) para su evaluación, los clasificados como metafase II y metafase I maduros se colocaron en gotas de 50 µl de medio P1 (*Irvine Scientific* 99242) al 5% suero sustituto (*Irvine Scientific* 99193), bajo aceite mineral (SIGMA M-8410) e incubados por 5 horas en CO₂ al 5% y a 37°C, en incubadora Nuair US autoflow. Estos ovocitos se inseminaron con 50 000 espermatozoides móviles por óvulo, seleccionados por separación en un gradiente de Percoll (SIGMA P-1644). A las 16 horas posinseminación los ovocitos fueron observados para detectar la presencia de pronúcleos. Los fecundados se cambiaron a medio P1 al 10% de suero sustituto y vistos 24 horas después para

evaluar la división celular. Un máximo de 5 embriones fueron transferidos a las 48 horas posinseminación, y los restantes se congelaron. La transferencia de embriones se realizó en medio HTF 50% de suero sustituto con catéter Frydman 4,5 (CCD 1306045) y catéter de transferencia difícil Frydman (CCD 1308000), cuando fue necesario.

Desde el día de la transferencia se indicó a las pacientes como soporte de la fase lútea, progesterona oleosa (*Steris Laboratories Inc.* NDC 0402—0379-10), 50 mg/día intramuscular, y se evaluaron a los 12 días postransferencia para la detección de hCG cuantitativa, que se realizó por medio del ensayo Delfia, se tomó como criterio de embarazo bioquímico más de 12 UI de hCG.

El día 21 postransferencia se realizó ecografía para confirmar o no embarazo.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestra la edad de las pacientes, de las 32 estudiadas 18 tenían más de 35 años, lo que representa el 60% de la población de estudio, 6 pacientes tenían entre 30 y 35 años (20%), y 6 tenían menos de 30 años (20%).

Cuadro 1
Distribución por edad

Rango (Años)	N°	%
< 30	06	20
30-35	06	20
> 35	18	60

Mínimo: 27.

Máximo: 40.

Media: 35.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos en 32 casos de FIV realizados durante el año 1996: se aspiró un promedio de $7,7 \pm 4,7$ ovocitos por paciente, fecundó un promedio de $4,5 \pm 3,1$ óvulos por paciente (60%), y de ellos clivó un promedio de $4,0 \pm 3,0$ óvulos fecundados por paciente (96%). El promedio de embriones transferidos fue $3,6 \pm 2,2$ por paciente. La tasa de embarazos bioquímicos por transferencia fue 38%, la tasa de embarazos clínicos por transferencia 28% y la de nacimientos vivos por transferencia 13%.

Cuadro 2
Resultados FIV 1996

N° de casos	32
N° de ovocitos aspirados	7,7 ± 4,7
N° de óvulos fecundados	4,5 ± 3,1
% de fecundación	60%
N° de embriones clivados	4,0 ± 3,0
% de clivaje	96%
N° de embriones transferidos	3,6 ± 2,2
N° de embarazos bioquímicos	12 (38%)
N° de embarazos clínicos	9 (28%)
N° de nacimientos vivos	4 (13%)

DISCUSIÓN

Se conoce ampliamente que la fertilidad en la mujer disminuye con la edad (6), y existen muchos factores que contribuyen a este descenso, tales como: disminución de la receptividad endometrial (7), número y calidad de los ovocitos (8,9) y de los embriones transferidos (10). El 80% (24 casos) de las pacientes de UNIFERTES fueron mayores de 30 años y 60% (18 casos) mayores de 35 años, el promedio de ovocitos aspirados (7,7 ± 4,7) y de embriones transferidos (3,6 ± 2,2) de UNIFERTES fueron bajos, si se compara con mujeres de la misma edad de otros estudios (9,11), pero a pesar de esto, las tasas de fecundación *in vitro* (60%) y de clivaje (96%) no fueron diferentes de las esperadas para mujeres de menor edad, lo que concuerda con otros estudios que no han mostrado diferencias entre las tasas de fecundación *in vitro* entre mujeres jóvenes y mayores (12,13). Aunque otros sí han encontrado diferencias significativas (14,15), la tasa de embarazos clínicos de UNIFERTES (28%) fue similar a la reportada por el Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida 1995 (24,6%), la *American Society for Reproductive Medicine* (ASMR) (18,1%) y la *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) (23,1%) (1), así como a la reportada en el 8° Congreso Mundial de FIV (21,6%) para 99 314 ciclos con transferencia (16).

La tasa de nacimientos de UNIFERTES (13%) también es similar a la reportada por el Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida 1995 (18,8%), ASRM (15,7%) y ESHRE (13,1%) (1), a pesar de la edad avanzada de las pacientes.

Es necesario hacer notar que las estadísticas de FIV de UNIFERTES (1996) no son comparables a la

de centros que disponen de microinyección del espermatozoide en el óvulo (*Intra-cytoplasmic sperm injection*, ICSI), como ha sido reportado por Trías y col. en 1996 en la XIII Jornada Nacional de Obstetricia y Ginecología (trabajo no publicado), porque los centros incluyen sólo parejas con infertilidad por factor femenino en sus programas de FIV, mientras que UNIFERTES incluyó 24% de los casos con factor masculino, 19% mixto y 57% por factor femenino.

En UNIFERTES con la introducción de la FSH recombinante (17) y la técnica ICSI (18,19), se espera obtener resultados superiores que con hormonas urinarias y FIV clásico, lo que dará nuevas esperanzas a las parejas infértiles.

REFERENCIAS

1. Van den Eede B. Investigation and treatment of infertile couples. ESHRE guidelines for good clinical and laboratory practice. *Hum Reprod* 1995;10(5):1246-1271.
2. Aller J, Barany A, Del Giudice M, Faro I. Fertilización *in vitro* y transferencia de embriones. Primera experiencia nacional. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1986;46:51-57.
3. Lerner J, Martínez A, Trías A, Kovac's A. Embarazo con embrión congelado a partir de óvulo donado. Primer caso en Venezuela. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1991;51(2):117-119.
4. Lerner J, Martínez A, Trías A, Kovac's A, Pérez Sánchez LE, Moreno J. Transferencia intratubaria de gametos: primeros 30 casos. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1992;52(3):157-160.
5. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown *in vitro*. *Br J Obstet Gynaecol* 1980;87:737-756.
6. Pellicer A, Simón C, Rehomí J. Effects of aging on the female reproductive system. *Hum Reprod* 1995;10:77-83.
7. Borini A, Bianchi L, Violini F, Maccolini A, Cattoli M, Flamigni C. Oocyte donation program: Pregnancy and implantation rates in women of different ages sharing oocytes from single donor. *Fertil Steril* 1996;65:94-97.
8. Navot D, Bergh PA, Williams MA, Garrissi GJ, Guzmán I, Sanler B, et al. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet* 1991;337:1375-1377.
9. Lim A, Tsakok M. Age-related decline in fertility: A link to degenerative oocytes? *Fertil Steril* 1995;62(2):265-271.
10. Roseboom TJ, Vermeiden JPW, Schoute E, Lens JW, Schats R. The probability of pregnancy after embryo transfer affected by the age of the patient, cause of infertility, number of embryos transferred and the aver-

- age morphology score, as revealed by multiple logistic regression analysis. *Hum Reprod* 1995;10:3035-3041.
11. Hurst B, Tucker K, Awoniyi C, Schlaff W. Preprogrammed, unmonitored ovarian stimulation reduces expense without compromising the outcome of assisted reproduction. *Fertil Steril* 1987;68:282-286.
 12. Romeu A, Muasher SJ, Acosta AA, Veeck LL, Díaz J, Jones GS, et al. Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older. The Norfolk experience. *Fertil Steril* 1987;47:130-136.
 13. Oehninger S, Veeck L, Lazendorfd S, Maloney M, Torner J, Muasher S. Intracytoplasmic sperm injection: Achievement of high pregnancy rates in couples with severe male factor infertility is dependent primarily upon female and not male factors. *Fertil Steril* 1995;64:977-981.
 14. Penzias AS, Thompson IE, Alper MM, Oskwitz SP, Berger MJ. Successful use of gamete intrafallopian transfer does not reverse the decline in fertility in women over 40 years of age. *Obstet Gynecol* 1991;77:37-39.
 15. Scott RT, Opsahi MS, Leonardi MR, Neall GS, Illions EH, Navot D. Life table analysis of pregnancy rates in a general infertility population relative to ovarian reserve and patient age. *Hum Reprod* 1995;10:1706-1710.
 16. Cohen J. Actualización en técnicas de reproducción asistida. En: Remohi J, Simón C, Pellicer A, Bonilla-Musoles F, editores. *Reproducción Humana*. Primera reimpresión. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España; 1997.p.328-336.
 17. Mercan R, Mayer JF, Walker D, Jhones S, Oheninger S, Toner JP, et al. Improved oocyte quality is obtained with hormone alone than with follicle stimulating hormone/human menopausal gonadotrophin combination. *Hum Reprod* 1997;12:1886-1889.
 18. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992;340:17-18.
 19. Van Steirtghem AC, Liu J, Joris J, Nagy Z, Janssenswillen C, Toumaye H, et al. Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Hum Reprod* 1993; 8:1055-1060.