

Resultados de los 300 primeros ciclos de ICSI en CERHVO. Adaptación de una nueva técnica a la rutina del laboratorio

Morist N, Perendreu E, Ferrer J, Duran M, Briones J, Llaví P.

Centro de Reproducción Humana del Vallés Occidental (CERHVO). Barberá del Vallés (Barcelona). España.

INTRODUCCIÓN

Presentamos los resultados de los 300 primeros ciclos de ICSI realizados en el Centro de Reproducción Humana del Vallés Occidental (CERHVO) desde su incorporación a la rutina del laboratorio en septiembre del 1997.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado 300 ciclos de ICSI a 221 pacientes. La media de edad es de 32,7 años, la mayoría con factor masculino o con baja respuesta ovárica. No se han incluido en el estudio las pacientes receptoras de oocitos. La pauta de estimulación en todos los casos ha sido con análogos de GnRH, FSH y hCG. La monitorización se hizo mediante ecografías por vía transvaginal. Se utilizó tanto protocolo corto como largo y solo se han contabilizado como gestaciones las confirmadas ecográficamente. En el laboratorio solo se microinyectaron oocitos que el día de la punción se encontraban en los estadios de metafase I o metafase II.

RESULTADOS

Se obtuvo una media de 6,6 oocitos por punción folicular: 5,6 en metafase II; 0,39 en metafase I, 0,32 en profase y 0,27 otros tipos (degenerados, rotos...). El 68,4% de los metafases II presentaron dos pronucleos a día 1 y en total se fecundaron el 64% de los oocitos metafase II y I microinyectados. Se realizaron 278 transferencias embrionarias, transfiriendo una media de 2,96 embriones por paciente. Las 86 gestaciones confirmadas ecográficamente suponen una tasa de gestación por paciente del 38,9 %, una tasa de gestación por ciclo del 28,7 % y una tasa de gestación por transferencia del 31 %. La tasa de implantación ha sido del 15,4 %.

CONCLUSIÓN

En nuestro centro los resultados son el reflejo de la formación de los embriólogos, por lo que, aunque incorporar una nueva técnica a un laboratorio siempre implica un periodo de aprendizaje bastante largo los resultados obtenidos pronto compensan los esfuerzos dedicados.

Resultados del primer año del programa de FIV en Castilla-La ManchaE. Huguet G, E. Martín², M.A. García-Largo¹¹Unidad de Reproducción Asistida (URA). ²Consulta de Esterilidad. Complejo Hospitalario de Toledo**INTRODUCCIÓN**

La demanda de las parejas que tienen dificultades para tener descendencia ha ido aumentando en estos últimos años. Por ello, en la sanidad pública se están creando unidades especiales de Reproducción Asistida, donde se realizan programas de Inseminación Artificial y Fecundación In Vitro (FIV).

MATERIAL Y MÉTODOS

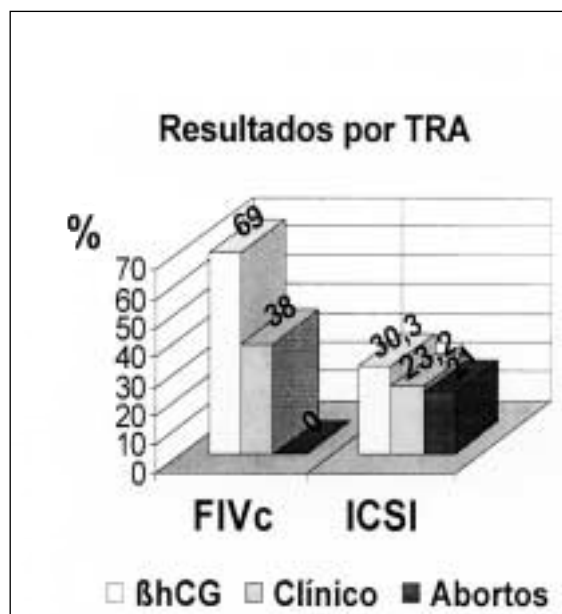
- El semen se mejora mediante la técnica de Swim-Up, a 37°C y con medio IVF. En el caso de Oligospermias severas y Azoospermias se realiza cariotipo y estudio de delección del cromosoma Y.
- El cultivo embrionario se prolonga hasta 48 h en medio IVF (Medi=Cult ó IVF-20 Scandinavian). Si se obtienen 4 ó más embriones evolutivos, se cultivan 72 h o hasta D+5, según diagnóstico, en medio CCM (Scandinavian).
- Se transfieren entre 1 y 3 embriones en D+2/D+3, o bien, entre 1 y 2 blastocistos en D+5 con catéter de tipo Wallace. Las transferencias embrionarias (TEs) se hacen en un volumen final de 20 ml bajo control ecográfico.

RESULTADOS

- De 190 ciclos iniciados (marzo 2000-marzo 2001) se cancelaron 43 (23%) y se consiguió TE en 130 (68%), con una media de edad de 33,1 años y una media de 2,4 embriones por transferencia.
- Se obtuvo un 32% de embarazos con β -hCG +, un 26,2% de embarazos clínicos, de los cuales 71% fue gestación única, el 21% gemelar y el 8% triple. Las tasas de aborto e implantación fueron de un 14,7% y un 15% respectivamente.
- En la tabla se observan los resultados según la técnica aplicada. En el 12,3% de los ciclos transferidos se realizó una FIV convencional (FIVc) en el 76,2% una ICSI y en el 11,5% ambos procedimientos.
- Estadísticamente (chi-cuadrado) hay diferencias significativas entre las tasas de β -hCG + de FIVc en ICSI (69% y 30,3%; $p < 0,05$), pero no entre las tasas de embarazo clínico (38% de FIVc y 23,2% de ICSI; $p > 0,1$) y aborto (0% de FIVc y 21% de ICSI; $p > 0,1$).

CONCLUSIONES

- Se pudo aplicar el TRA adecuada al detectar 2 síndromes de Klinefelter gracias a la realización del cariotipo, 2 delecciones del cromosoma Y.
- No existen diferencias significativas en cuanto a tasas de embarazo clínico respecto a la TRA aplicada (FIVc e ICSI).
- El seguimiento de los embarazos ha permitido detectar una atresia de esófago y un feto cruz en un embarazo gemelar, el primer gemelo sigue su desarrollo con normalidad.
- El buen funcionamiento de esta URA ha logrado 17 "niños en casa", 11 varones y 6 mujeres.



Resultados de los primeros 130 ciclos de FIV/TE en nuestro laboratorio de reproducción

Figueroa MJ, Velarde P, González A, Aragón MJ, Roca A, Girón B, Abril E.

Centro Avanzado de Fertilidad (CAF). Instituto Médico Serman. Jerez de la Frontera (Cádiz)

INTRODUCCIÓN

Presentamos los resultados obtenidos durante los primeros meses de funcionamiento de nuestro centro correspondientes a 130 ciclos de estimulación ovárica y fecundación in vitro.

MATERIAL Y MÉTODOS

No se siguió ningún criterio en la selección de los casos a analizar en cuanto a características de los pacientes, edad, indicaciones, o patología de base, sino que fueron incluidos todos los ciclos que fueron llevados a cabo. En el grupo de pacientes incluidos en el estudio fueron considerados factores como la edad (media de edad: 33,45; DS: 4,10), causa de infertilidad, tiempo de estimulación y protocolo seguido.

La estimulación ovárica se realizó mediante el uso de agonistas de GnRH (Synarel(r), Bucks, England) combinado con gonadotropinas (Puregón(r), Organon, The Netherlands).

Para el tratamiento de los datos y confección de gráficas se empleó el programa Microsoft Excel 2000.

RESULTADOS

Se muestran los resultados correspondientes a:

- Número de folículos aspirados: 1887 en un total de 123 punciones ováricas. Media de ovocitos por ciclo: 10,1.
- Total de ovocitos obtenidos, ovocitos maduros y tasa de madurez: 1252 ovocitos de los cuales 961 estaban en estadio de madurez M-II, lo cual supone una tasa de madurez del 76,9 %
- Tasa de fecundación: calculada sobre el total de ovocitos M-II resultó una media de 66,4 % (DS: 34,60), con tasas de fecundación individual variables entre los rangos de 0 y 100 %.
- Calidad embrionaria: 22 %, 51 % y 27 % de embriones calidad I, II y III respectivamente.
- Tasas de embarazo: sobre el total de transferencias: 26,7 %; sobre el total de pacientes: 34 %.

Primer año de nuestro programa de FIV: resultados

Álvarez C, Taronger R, Cháfer M, Navarro L, Navarro S, Lobo P, García Conesa J, García C, Gómez T, Santiburcio J R, González de Merlo G.

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Presentamos los resultados de los ciclos de FIV realizados en el Complejo Hospitalario de Albacete durante su primer año de funcionamiento (Junio 2000-Mayo del 2001).

De un total de 121 ciclos (94 pacientes) se realizaron 95 punciones. La edad media de las pacientes fue 35,6 años (23-43). La desensibilización hipofisaria se consiguió con aGnRH y la estimulación ovárica se llevó a cabo con FSH sola o combinada con HMG.

De las 95 punciones, 64 fueron ICSI (4 de ellas con cultivos secuenciales), 16 FIV convencional, 10 FIV/ICSI, 1 ICSI con espermatozoides congelados procedentes de testículo y 2 ICSI al 2º día por fallo de fecundación en FIV convencional. Además, en 2 punciones no se obtuvieron ovocitos. El nº medio de ovocitos/punción fue de 6,4. De las 93 punciones con ovocitos, 3 no tuvieron transferencia por fracaso en la evolución embrionaria. La tasa de fecundación fue: 74,3 % en ICSI; 72,5 % en FIV; 55,8 %/69,7 % en FIV/ICSI; 71,4 % en ICSI al 2º día y 64,5 % en ICSI con cultivos secuenciales.

De las transferencias embrionarias, se transfirió un embrión en el 11,1 %, dos embriones en el 31,1 %, tres embriones en el 40 % y más de tres embriones en el 17,8 %.

La tasa de gestación /punción fue del 36,8 % y la tasa de gestación /transferencia del 38,9 %, con una implantación del 20,8 % y una tasa de abortos del 14,3 %.

Técnica	Gestación Ciclo %	Gestación Transfer %	Implantación %	Abortos %
ICSI	38,3	39,7	20,5	13
FIV	37,5	37,5	17,5	16,7
FIV/ICSI	50	50	21,2	20
Biopsiatesticular	100	100	100	0

El 71,4 % de las gestaciones fueron simples y el 28,6 % múltiples (dobles el 22,5 % y triples el 5,7 %). Hasta ahora son 7 los niños nacidos (2 gemelares y 3 únicos), todos sin complicaciones obstétricas salvo una anemia severa. El parto fue vaginal, con pesos de: 2660/1905, 3120, 3580, 2410/2225, 2800, siendo 5 niñas y 2 niños sin ningún tipo de malformación.

Influencia de los parámetros seminales en ciclos de donación de ovocitos.

Luna C, Hebles M, Sánchez F, Sánchez P, Migueles B, Masferrer M, Tena J.A.
GINEMED. Sevilla. España

INTRODUCCIÓN

Se pretende determinar las diferencias entre muestras seminales en ciclos de Ovodon para ver si hay diferencias significativas entre los ciclos en los que se produjo embarazo y los que no.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizan 40 ciclos de Ovodon FIV-ICSI correspondientes a 30 parejas. Se separan en dos grupos: Grupo 1 en los que se produjo embarazo, y Grupo 2 no embarazo. Se compara el recuento y la motilidad en fresco y en capacitado, y el REM.

RESULTADOS

La edad media de las donantes es de 23,6 años, y la de las receptoras 37,5 años. El número medio de ovocitos donados por paciente es de 7,8. La tasa de fecundación fue del 95.3%. El número medio de embriones transferidos fue de 3.5, de los que 2 eran de buena calidad (grados 1 y 2). La tasa de embarazo por ciclo fue del 40%. La tasa de implantación fue del 20.3% por embrión transferido. Los resultados obtenidos para los dos grupos se muestran en la siguiente tabla:

	Grupo 1	Grupo 2
Nº Ciclos	16	24
Recuento fresco (millones spts/ml)	52,4	71,7
Motilidad +++ fresco	27	26,4
Recuento capacitado (millones spts/ml)	37,4	34,4
Motilidad +++ capacitado	85,6	84,7
REM	31,6	29,2

CONCLUSIONES

Las únicas diferencias observables son en el recuento de la muestra en fresco, siendo más alto en el grupo de las que no han tenido embarazo. En vista de los resultados cabe pensar que no hay diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto a características de las muestras seminales, y ya que supuestamente no hay diferencias en la calidad ovocitaria, se podría suponer que las diferencias en cuanto a que haya o no embarazo no se van a deber a diferencias en la calidad seminal.

Teratozoospermia en ciclos FIV en un programa de donación de ovocitos. Resultados preliminares

Mendiola J, Ten J, Cuevas I, Peinado I, LLácer J, Bernabeu R

Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología. Alicante

INTRODUCCIÓN

En la Fecundación in vitro (FIV) convencional existen una serie de parámetros seminales básicos que son la concentración, la movilidad y la morfología espermáticas. El parámetro morfológico es el que mayor controversia aporta en relación con las tasas de fecundación, embarazo y aborto bioquímico. En general se observa menor tasa de fecundación según aumenta el grado de teratozoospermia. No obstante, existen trabajos en los que se muestran buenas tasas de embarazo e implantación con menos de un 5% de formas normales.

Nuestro objetivo es comprobar la relación entre el grado de teratozoospermia y las tasas de fecundación, embarazo y aborto bioquímico en ciclos de FIV convencional dentro de nuestro programa de donación de ovocitos. Esta elección ha sido realizada basándonos en el carácter de ovocitos "control" provenientes de donantes anónimas de ovocitos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron los datos pertenecientes a 37 ciclos de FIV convencional realizadas en nuestro programa de donación de ovocitos durante el año 2000. La teratozoospermia del cónyuge de la receptora fue valorada en dos seminogramas previos a la realización del ciclo siguiéndose los criterios de estrictos de Kruger. Se definieron 2 grupos de estudio: A.- Pacientes sin o con teratozoospermia leve y B.- Pacientes con teratozoospermia moderada y severa. Se analizaron estadísticamente las tasas de fecundación, embarazo bioquímico y clínico empleando los estadísticos t-student para muestras independientes y (2. La edad de la receptora y de la donante, así como el número de días de fase folicular, número de ovocitos y calidad embrionaria no fue significativamente diferente entre ambos grupos.

RESULTADOS: Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

	Grupo A n=28	Grupo B n=9	Niv. Signif.
Tasa de fecundación	72%±21	71%±21	NS
Tasa de embarazo clínico	35,7% (10/28)	44,4% (4/9)	NS
Tasa de aborto bioquímico	21,4% (6/28)	11,1% (1/9)	NS

CONCLUSIONES

Según nuestros resultados no existen diferencias significativas en las variables estudiadas. Por tanto, el grado de teratozoospermia no es un factor pronóstico en cuanto al éxito de FIV convencional en un programa de donación de ovocitos. No obstante, debido a que el número de casos no es elevado, sería conveniente ampliar el estudio para verificar estos resultados preliminares y arrojar más luz acerca de este tema.

La calidad embrionaria en relación a la morfología de pronúcleos

Arroyo G¹, Veiga A¹, Santaló J², Barri P N¹

¹Institut Universitari Dexeus. Servicio de Medicina de la Reproducción.

²Universitat Autònoma de Barcelona. Dpto. de Biología Celular y Fisiología

INTRODUCCIÓN

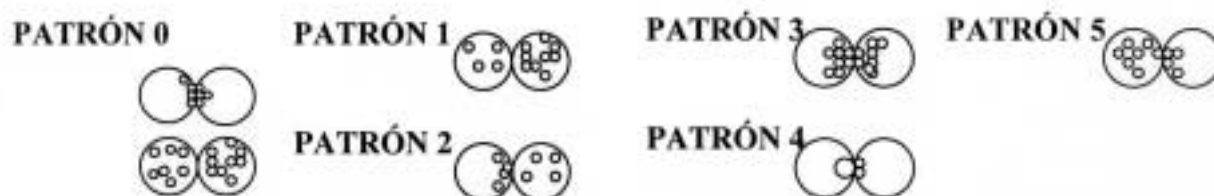
La caracterización de los parámetros morfológicos del cigoto se ha relacionado con su posterior desarrollo mediante el seguimiento a lo largo de su cultivo in vitro. Se han establecido patrones de normalidad en la morfología de pronúcleos (PN) con el fin de predecir dicho desarrollo, así como la capacidad de implantación del embrión.

Material y Métodos

Se han valorado pronúcleos de 463 cigotos provenientes de 51 pacientes que se sometieron a un ciclo de Fecundación in vitro (19 horas post inseminación). El patrón utilizado es el propuesto por Tesarik y Greco 1999 (fig.1) basado en el número y tamaño de los nucleolos, y en su distribución.

La calidad embrionaria en día+2 se clasificó en 3 grupos: 1) Óptimos: ≥ 4 blastómeros simétricos, $\leq 10\%$ fragmentos; 2) Intermedios: algún parámetro anterior alterado; 3) Mala morfología: varios parámetros alterados y/o multinucleación. Se aplicó el test (2 para el procesamiento estadístico de los datos.

Figura 1



RESULTADOS

La distribución de los patrones (p) de PN corresponde: 37,4% a p0, 19,2% a p1, 25,1% a p2, 8,2% a p3, 9,3% a p4 y 0,9% a p5. Los embriones óptimos e intermedios provienen en su mayoría de los patrones 0, 2 y 3. Ningún embrión óptimo corresponde a p5. En cuanto a la evolución de los cigotos, en el 74,4% de los casos, los correspondientes al p4 dan lugar un embrión de mala morfología.

La tasa de embarazo por paciente cuando se ha transferido algún embrión proveniente del patrón 0 es 64,7%, y cuando ninguno corresponde a dicho patrón, 41,2% (d.n.s)

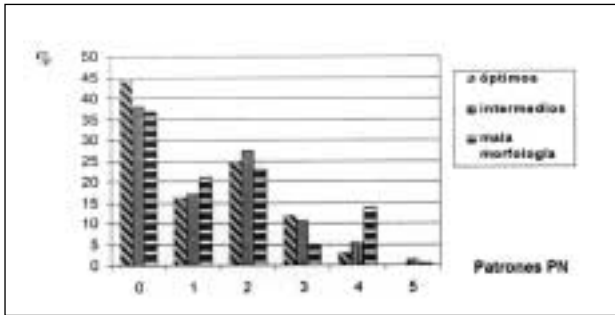


Fig. 2

Distribución de los embriones D+2 por patrones

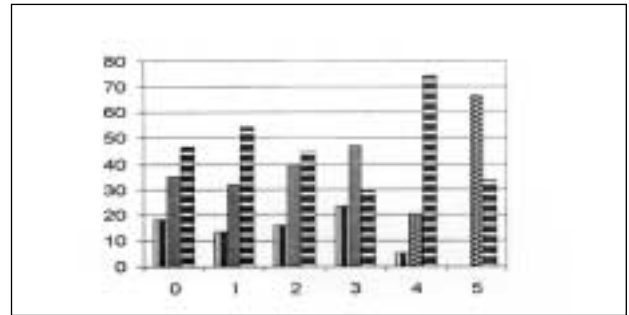


Fig. 3

Evolución de los cigotos en grupos de embriones

CONCLUSIONES

Las distribuciones más frecuentes son los patrones 0, 2 y 1. Los grupos de mejor calidad embrionaria son los provenientes de p0, p2 y p3. Los de peor pronóstico p4, p5 y p1. La tasas de embarazo y la morfología en D+2, nos orientan en favor del patrón 0, si bien la selección de los embriones a transferir se basará también en la morfología del embrión el día de la transferencia.

Criterios de selección embrionaria a las 24 h. post-ICSI

Hurtado de Mendoza M V, González-Utor A L, Gutiérrez P, Colls P

Centro Hispalense de Reproducción Asistida. Hosp. Infanta Luisa. Sevilla.

INTRODUCCIÓN

En los programas de FIV, el proceso de selección embrionaria se realiza básicamente según criterios morfológicos en D+2, D+3 o D+5. Los resultados obtenidos hasta el momento avalan el uso de estos criterios para obtener una buena tasa de embarazo. No obstante, la inclusión de nuevos criterios morfológicos en D+1 (morfología del CP, disposición nucleolar, rotura pronuclear o 1ª división embrionaria) en la selección embrionaria podría incrementar esta tasa. El objetivo del presente estudio es determinar si existe una correlación entre rotura pronuclear o 1ª división embrionaria a las 24 horas post-ICSI y tasa de embarazo.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio preliminar se han estudiado un total de 68 embriones procedentes de 24 ciclos de ICSI. A las 24 horas post-ICSI los ovocitos fecundados se clasificaron en Grupo Rotura (se observó rotura pronuclear o 1ª división embrionaria) y Grupo No Rotura (presencia de 2 pronúcleos). La selección embrionaria se realizó en D+2 o D+3 en función exclusivamente de criterios morfológicos del embrión (nº de blastómeras y grado de fragmentación) obteniéndose 2 tipos de transferencias: NR (todos los embriones proceden del Grupo No Rotura) y R (un embrión como mínimo procede del Grupo Rotura y embriones del Grupo No Rotura). A los 15 días tras transferencia se realizó test de β -hCG.

RESULTADOS

	Transfer No Rotura	Transfer Rotura
Edad (media (SD))	32,25 \pm 2,37	33,31 \pm 3,32
Nº transfers	8	16
Embriones/transfer (media (SD))	2,75 \pm 0,46	2,87 \pm 0,34
Embarazos (%)	3 (37,5)	8 (50)

CONCLUSIONES

Aunque la diferencia entre las tasas de embarazo obtenidas en ambos grupos no es estadísticamente significativa, sí se observa una tendencia hacia una mayor tasa de embarazo cuando se transfiere por lo menos un embrión en el que se ha observado rotura pronuclear o 1ª división embrionaria a las 24 horas post-ICSI. Aunque éstos son resultados preliminares que debe ser completados con un mayor número de casos, este estudio parece indicar que estas observaciones en el cigoto podrían ser un buen criterio de selección embrionaria.

Efecto de la morfología del pronúcleo humano en la calidad embrionaria, potencial de desarrollo hasta blastocisto, embarazo y aborto

Amorocho B¹, Abuzant M¹, Gómez E¹, Pérez-Cano I¹, Landeras J¹, Cano F¹, Ballesteros A¹, Remohí J²

¹IVI-Murcia

²IVI-Valencia

INTRODUCCIÓN

Algunos estudios han correlacionado distintos aspectos de la morfología del cigoto con la calidad embrionaria y los porcentajes de implantación y embarazo. El objetivo de este estudio es determinar si podemos utilizar la morfología de los pronúcleos para seleccionar más correctamente los embriones que se van a transferir al útero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron de forma retrospectiva 1120 cigotos de 224 ciclos de IVF/ ICSI. La morfología de los cigotos se observó a las 16-18 horas tras la inseminación/ microinyección. Los pronúcleos (PN) se denominaron positivos o negativos dependiendo de el número y distribución de los organizadores nucleolares (ON). Se comparó la clasificación de los cigotos con la técnica utilizada, la calidad embrionaria, el porcentaje de formación de blastocistos, embarazo y aborto.

RESULTADOS

El porcentaje de cigotos positivo fue del 54.6%, siendo del 56.3% cuando se utilizó FIV y del 53.8% cuando se usó ICSI. Cuando se analizaron los datos dependiendo del tipo de cigoto de donde provenían los embriones transferidos al útero se observó que existía solamente diferencias en el porcentaje de embarazo cuando se transfirieron embriones procedentes de cigotos positivos (57,8 vs. 36,6%), siendo los demás parámetros estudiados similares.

CONCLUSIÓN

Los datos muestran que la morfología de los pronúcleos se relaciona con el porcentaje de embarazo y no con el aspecto de los embriones y su capacidad para alcanzar el estadio de blastocisto. Estos resultados demuestran la importancia del estudio de los cigotos para obtener unos mejores resultados en el laboratorio de FIV.

Mejora en la tasa de embarazo e implantación en criotransferencia.

Sánchez B, Cortés JL, Orta A, Moliní JL.

Hospital Maternal. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

OBJETIVO

Mejorar la tasa de embarazo e implantación en ciclos de criotransferencia (CT). Para ello hemos comparado dos protocolos, ciclo estimulado (CE) y ciclo con tratamiento hormonal sustitutivo (THS) sin administración de agonista de GnRH (aGnRH).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo del resultado de 122 CT realizadas entre Enero de 1999 y Mayo de 2001. Los embriones criopreservados procedentes de ciclos FIV e ICSI, fueron congelados en estadio de 2-4 células (día +2) o 6-8 células (día +3) (punción día 0) siguiendo un protocolo de congelación lenta y utilizando un congelador programable por ordenador (Minicool 40 PC). Para la descongelación se realizó un protocolo de descongelación rápida. En ambos casos se utilizaron medios comerciales de Vitrolife, trabajando en oscuridad y a temperatura ambiente.

En los CE, las pacientes recibieron una estimulación suave con FSHp a partir del día 3 del ciclo, realizándose control ecográfico y determinación de estradiol plasmático a partir del día 11. Una vez alcanzado el grosor endometrial adecuado se administró hCG (día 0) programándose la CT para el día +4 o +5. En los ciclos con THS la preparación endometrial se realizó con valerianato de estradiol en dosis crecientes desde 2 mg/día hasta 6 mg/día, comenzando el día 1 del ciclo y hasta el día 11 en el que se realizó el control ecográfico. Si el grosor endometrial era (< 8 mm se mantuvo la dosis de valerianato de estradiol y se programó la CT; si por el contrario el grosor endometrial era (> 8 mm se aumentó la dosis de valerianato de estradiol y se realizó un nuevo control ecográfico el día 14 decidiéndose si la CT se realizaba o no. Tanto en CE como en THS el soporte de la fase lútea se inició 2 o 3 días antes de la CT, según el estadio en que fueron congelados los embriones (día+2 o día +3) para que existiera sincronía entre embriones y endometrio. Mientras que en CE el soporte de la fase lútea se realizó con progesterona via vaginal (600 mg/día), en ciclos con THS además de progesterona se continuó con la administración de valerianato de estradiol al menos hasta la confirmación del embarazo.

RESULTADOS

	Estimulado	THS
Nº Ciclos	65	63
Nº Criotransferencias	61	61
Tasa de supervivencia	72,3%	89,2%
Nº embriones transferidos	162	179
% Embriones intactos/transferidos	51,8%	66,4%
Media embriones transferidos	2,6	2,9
Media embriones buena calidad/transferecia	2,3	2,5
Embarazos bioquímicos/transfer	4	6
Embarazos clínicos/transfer	8	14
% Embarazos clínicos/transfer	13,1%	23%
Tasa implantación	5,6%	11,7%
% Abortos/ transfer	1,6%	4,9%
% Embarazos múltiples/embarazos	12,5%	50%

CONCLUSIONES

Las CT con THS en las que la preparación endometrial se realiza con estradiol y el soporte de la fase lútea con progesterona y estradiol, muestran una importante mejoría, tanto en la tasa de embarazo como de implantación, con respecto a las CT en ciclo estimulado (casi se duplica), no siendo necesaria la supresión hipofisaria con aGnRH.

El programa de criopreservación: una potente herramienta dentro de los protocolos de Reproducción Asistida

Grossmann M, Pons M C, Masramon M, Viladoms J M, Vergés A, Nadal J

Unidad de Reproducción Asistida. Centro Medico Teknon.

INTRODUCCIÓN

Desde su creación en marzo del 2000, la Unidad de Reproducción Asistida ha mantenido como estrategia del programa de criopreservación la estricta selección de los embriones tanto en estadio pronuclear como en estadio de blastocisto. Programamos criopreservación cuando se obtienen más de 9 cigotos de buena morfología de un mismo ciclo de FIV y/o cuando los embriones no transferidos alcanzan el estadio de blastocisto con excelente morfología (tanto de trofotodermo como de MCI). Además, en los ciclos de transferencia asincrónica, se criopreserva la totalidad de los cigotos 2PN.

Todos los embriones criopreservados están documentados para grupo sanguíneo y analíticas de infecciosas y se dispone de las correspondientes autorizaciones para la propia criopreservación y para su hipotética donación en los casos previstos en la legislación vigente.

MATERIAL Y MÉTODOS

El protocolo de criopreservación de cigotos 2PN fue descrito por Lassalle, Testart y Renard (Fert&Steril. 44:645, 1985) usando propilenglicol (1,5M) y sacarosa (0,1M). Para la criopreservación de blastocistos se siguió el protocolo descrito por Cohen y col. (J. IVF/ET 2:59, 1985) basado en la incorporación lenta de glicerol hasta una concentración final del 8%.

En todos los ciclos se realizó seeding manual a la temperatura de -7°C.

RESULTADOS

En los 91 ciclos de criopreservación realizados hasta el 15/06/01 se han almacenado un total de 504 embriones.

De las 56 transferencias de embriones criopreservados se detectó $\text{hCG}+$ en el 39%. La siguiente tabla resume los resultados de esas transferencias

	2PN propios	2PN donación	blastocistos
núm de ciclos descongelación	7	48	3
núm embriones descongelados	29	183	8
núm embriones que sobreviven (%)	25 (86,2)	162 (88,5)	6
núm transferencias	7	46	3
núm embriones transferidos	21	125	6
media embriones transferidos	3	2,6	2
núm $\text{hCG}+$ /ciclo descongelación (%)	2 (28,6)	18 (37,5)	2 (66,6)
percentage $\text{hCG}+$ /ciclo transferencia	28,6	39%	66,6%

En el póster actualizaremos estos datos y analizaremos la evolución de las gestaciones.

CONCLUSIONES

La rigurosa selección de los embriones sometidos a criopreservación permite obtener tasas de gestación notablemente altas, lo que convierte dicho programa en una potente herramienta más allá de la mera obligación legal de conservar los embriones viables sobrantes a un ciclo de FIV.

Optimización en los resultados de criotransferencia embrionaria

Sarrias O, Cortés S, Hernández B, Núñez R

Clínica Tambre. Madrid

INTRODUCCIÓN

La criopreservación de embriones es un procedimiento obligado en Fecundación in vitro cuando existen embriones sobrantes. Sin embargo, los malos resultados que se obtienen tras la descongelación de los mismos, ha desilusionado a muchos grupos de Reproducción Asistida, lo que ha desembocado en realizar esta técnica sólo en casos imprescindibles.

OBJETIVO

La finalidad de este estudio es el análisis exhaustivo de todos los factores que inciden en la consecución de una buena tasa de gestación por transfer con embriones criopreservados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se comparan los resultados obtenidos en el año 1999, 2000 y hasta junio del 2001, utilizando el mismo método de congelación y descongelación. Los medios empleados en los dos casos son medios comerciales (EMB, Scandinavian) y el criocongelador es el Nicool (Air-Liquide). La descongelación embrionaria se realiza 24 horas antes de la transferencia. Los embriones descongelados se colocan en microgotas de medio hasta la transferencia al día siguiente.

RESULTADOS

Los resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1

Nº total de ciclos de transferencia con embriones criopreservados en 1999, 2000 y 2001, así como el nº de embriones descongelados, tasa de supervivencia, división y gestación en los ciclos en los que se ha realizado transferencia.

	1999	2000	2001	Total
Nº total ciclos	114	93	81	288
Nº ciclos con transfer (%)	80 (70)	76 (81,7)	67 (83)	223 (77,4)
Nº embriones descongelados	384	314	265	963
Nº embriones sobreviven (%)	278 (72,3)	228 (72,6)	195 (73,5)	701 (73)
Nº embriones divididos (%)	200 (72)	190 (83,3)	144 (73,8)	534 (76)
Nº gestaciones (%)	16 (20)	18 (23,6)	16 (24)	50 (22,4)

CONCLUSIONES

Los resultados globales (21,7%) de tasa de gestación por transfer y por año, demuestran que la transferencia de embriones criopreservados es una técnica muy válida con la que se pueden obtener resultados aceptables que pueden mejorar cada año con la experiencia (como lo demuestra el aumento de la tasa de gestación y supervivencia), teniendo en cuenta los siguientes factores:

- 1.- Congelar únicamente embriones de buena calidad (grado 1 y 2)
- 2.- Realizar el proceso de congelación embrionaria correctamente para conseguir una buena tasa de supervivencia: importancia fundamental del "seeding" ..
- 3.- Incubar los embriones en medio de cultivo adecuado durante 24 horas para comprobar división embrionaria.

Transferencia de embriones criopreservados: factores que influyen en la mejora de los resultados.

Núñez Calonge R, Cortés S, Sarrias O, García Enguádanos A, Heredia J, González Casbas J M, Caballero Peregrín P.

Clínica Tambre. Madrid.

OBJETIVO

La finalidad de este estudio es el análisis exhaustivo de todos los factores que inciden en la consecución de una buena tasa de gestación por transfer con embriones criopreservados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se comparan los resultados obtenidos en el año 1999 y el 2000 utilizando el mismo método de congelación y descongelación. La descongelación embrionaria se realiza 24 horas antes de la transferencia. Los embriones descongelados se colocan en microgotas de medio hasta la transferencia al día siguiente.

RESULTADOS

Los resultados se muestran en la tabla siguiente:

	1999	2000	Total
Nº total ciclos	114	93	207
Nº ciclos con transfer	80	76	156
Nº embriones descongelados	384	314	698
Nº embriones sobreviven/ %	278/ 72,3	228/ 72,6	506/ 72
Nº embriones divididos/ %	200/ 72	190/ 83,3	390/ 77
Nº gestaciones/ %	16/ 20	18/ 23,6	34/ 21,7

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que la transferencia de embriones criopreservados es una técnica muy válida con la que se pueden obtener resultados aceptables teniendo en cuenta los siguientes factores: 1.- Congelar únicamente embriones de buena calidad (grado 1 y 2) 2.- Realizar el proceso de congelación embrionaria correctamente para conseguir una buena tasa de supervivencia. 3.- Incubar los embriones en medio de cultivo adecuado durante 24 horas para comprobar división embrionaria.

Eclosión asistida en estadio de blastocisto. Su utilidad en pacientes con fallos previos de implantación

Belil I, Esbert M, Torelló M J, Buxaderas R, Veiga A, Barri P

Servicio de Medicina de la Reproducción, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Institut Universitari Dexeus, Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Fallos repetidos en la implantación embrionaria pueden ser debidos a la incapacidad que tienen algunos embriones de alcanzar el estadio de blastocisto, o de eclosionar y abandonar la zona pellucida. Tanto la eclosión asistida en el tercer día de cultivo (D+3) como la transferencia en estadio de blastocisto son técnicas que se han aplicado para mejorar la tasa de embarazo en pacientes con mal pronóstico.

El objetivo de este estudio prospectivo es determinar el beneficio que aportan la eclosión embrionaria asistida en D+3, la transferencia en estadio de blastocisto y la transferencia en estadio de blastocisto con eclosión embrionaria asistida previa a la transferencia, cuando se aplican a pacientes con fallos repetidos en la implantación.

MATERIAL Y MÉTODO

43 pacientes (p) con fallos previos repetidos de implantación ((3 transferencias (TE) previas y/o (10 embriones transferidos previamente sin lograr embarazo), que realizaron un ciclo de FIV entre Junio de 1999 y Abril de 2001 y que obtuvieron más de 4 embriones en dicho ciclo, aceptaron ser prospectivamente randomizadas para realizar eclosión asistida en D+3 (Grupo 1, 14 p), o transferencia en estadio de blastocisto (Grupo 2, 15 p), o eclosión asistida en blastocisto previo a la transferencia (Grupo 3, 14 p). La media de la edad, del nivel de estradiol y del número de transferencias previas en los tres grupos experimentales fueron similares. Se utilizaron los medios secuenciales G1-G2 (Vitrolife, Suecia) para el cultivo prolongado de embriones. La eclosión embrionaria asistida en D+3 o en D+5/+6/+7 fue realizada aplicando un sistema diodo láser de 1.48 (M (Fertilase, Suiza). Se compararon las tasas de embarazo clínico y de implantación embrionaria. El estudio estadístico se realizó aplicando el test de t Student para comparar medias y el test de Chi cuadrado para comparar variables cualitativas.

RESULTADOS

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Media embr. transfer. (DS)	3,3 a (0,24)	2 (0,15)	2 (0,33)
(N) Tasa embarazo/paciente %	(3) 21,5	(2) 13,3	(7) 50
(N) Tasa embarazo/transfer %	(3) 21,5	(2) 15,4	(7) 58,3 b
(N) Tasa de implantación %	(4) 8,7	(3) 11,5	(10) 41,7 c
a) P=0,000 respecto a los grupos 2 y 3			
b) P=0,043 respecto al grupo 2			
c) P=0,025 respecto a los grupos 1 y 2			

CONCLUSIÓN

Este estudio pone de manifiesto que la eclosión embrionaria asistida en estadio de blastocisto, aplicada a pacientes con fracasos repetidos en la implantación, proporciona una mejor capacidad de implantación a los embriones y una mayor probabilidad de embarazo, que cuando se realiza transferencia de embriones en estadio de blastocisto sin eclosión asistida o cuando la eclosión asistida se realiza en el D+3. Es aconsejable confirmar estos resultados ampliando el tamaño de los grupos experimentales.

La transferencia de blastocistos aumenta la tasa de embarazo en receptoras de ovocitos

Aragones M¹, Scheffer R¹, Mercader A², Isaza V¹, Mínguez Y¹, García Velasco JA¹, Simón C².

¹IVI MADRID-Madrid.

²Instituto Valenciano de Infertilidad.Valencia

OBJETIVO

Analizar las tasas de implantación y embarazo de transferencias embrionarias realizadas en día 2 y día 6, en pacientes receptoras de ovocitos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo de 249 transferencias embrionarias de nuestro programa de donación de ovocitos, realizados en el período de enero a diciembre del 2000. Las pacientes se clasificaron en 3 grupos; Grupo A: 153 transferencias embrionarias realizadas en día 2 de división, cultivadas en medio G1 (Scandinavia, Gothenburg); se transfirieron hasta 4 embriones de buena calidad (> 4 blastomeras, <30% de fragmentación y >75% de simetría entre las blastomeras). Grupo B: 67 transferencias embrionarias realizadas en día 6 de división, en el que solamente se transfirieron blastocistos expandidos, hatching o hatched (blastocistos tardíos) que tenían masa celular interna y trofoectodermo en óptimas condiciones. Grupo C: 29 transferencias embrionarias realizadas en el día 6 de división, en el que sólo se transfirieron blastocistos tempranos o cavitados (blastocistos tempranos) o transferencias mixtas de blastocistos tempranos y tardíos. En los grupos B y C se transfirieron hasta 3 blastocistos, todos ellos obtenidos por co-cultivo en monocapa de células endometriales así: los embrionesse cultivaron en el día 1 y 2 de división en medio IVF (Scandinavia, Gothenburg), en los días 2 y 3 en medio IVF:CCM (1:1) (Scandinavia, Gothenburg) y hasta el día 6 en CCM(descrito previamente por Simon y Colaboradores, JCEM, 1999). Las pacientes en los tres grupos eran comparables en edad, grosor endometrial, estradiol sérico, fecundación por FIV o ICSI, factor masculino asociado e indicaciones para la donación de ovocitos. La información se analizó por ANOVA y chi2.

RESULTADOS

	GRUPO A (n=153)	GRUPO B (n=67)	GRUPO C (n=29)
Media de ovocitos	6,96 ^{a,b}	10,11 ^a	9,2 ^b
Tasa de fecundación	79,21%	79,13%	81,4%
# de embriones de buena calidad en día 2 que ingresaron en co-cultivo	-	7,1	6,3
Tasa de formación de blastocistos	-	50,78%	45,07%
Media de embriones/blastocistos transferidos	3,36 ^d	2,5 ^c	2,1 ^d
Tasa de embarazo	59,47% ^e	74,62% ^{e,f}	55,17% ^f
Tasa de implantación	29,29% ^g	45,61% ^g	33,33%

p<0.05: ^{a, b, c, d, e, f, g}

CONCLUSIONES

La transferencia de blastocistos de óptima calidad (grupo B) aumenta de manera significativa la tasa de embarazo que cuando se transfieren embriones en día 2 (grupo A) (74,62% vs 59,47%), en receptoras de ovocitos. La tasa de implantación también aumenta significativamente en el grupo B (45,61% vs 29,29%). Esta información puede ser útil para disminuir el número de embriones a transferir y por lo tanto disminuir el riesgo de embarazo múltiple.

Estudio de la relación entre el valor de 17-β-estradiol en ciclos de fecundación in vitro y calidad ovocitaria.

Cortés S, Sarrias O, Hernández B, Agustín S, Núñez Calonge R

Clínica Tambre.Madrid.

INTRODUCCIÓN

Aunque está demostrada la relación entre el nivel del estradiol plasmático y el número de folículos en un ciclo de inducción de ovulación, la monitorización del estradiol es empírica, sin beneficio respecto a la ecografía. Sin embargo, los avances en la tectonología que aumentan la reproducibilidad de la estimación del estradiol, pueden incrementar su utilidad.

OBJETIVO

La finalidad de este estudio comparar la estimación del estradiol por un nuevo método de quimioluminiscencia frente al enzimoimmunoensayo, comprobando si existe una relación del valor con la calidad ovocitaria.

Material y métodos

En el trabajo intervienen 58 pacientes en tratamiento con FSH para Fecundación In vitro, en las que se realizan determinaciones de estradiol por el método de quimioluminiscencia (Elecsys 1010) y ELISA (Vidas Se analiza la relación entre el valor de estradiol y el nº de ovocitos el día de la punción, y en segundo lugar se estudia el número de ovocitos Metafase II y se relaciona con el nivel de estradiol.

RESULTADOS

Existe una correlación ($r=0.89$) entre la concentración de estradiol con los dos métodos excepto en 18 ciclos. En 18 ciclos, existían diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos ($p<0,01$), siendo mayor el nivel de E2 con el sistema ELISA. En la Tabla I se representa la relación entre los valores de estradiol por los dos métodos, nº de ovocitos el día de la punción y nº de ovocitos en los 18 casos sin correlación entre los niveles (los valores son las medias). Aparentemente, se relaciona más el nº de folículos con el método VIDAS, pero al comprobar la madurez se encuentra una mayor relación con el estradiol obtenido por el Elecsys.

0 E ₂ Elecsys	0 E ₂ VIDAS	Nº Ovocitos	MII
708,5 (600-800)	1567,4 (1200-1900)	15 (12-20)	8 (4-12)
1250,8 (1100-1500)	2350,7 (1500-4000)	22 (10-30)	12 (10-14)
2250,6 (1900-3500)	4850,7 (>4500)	26 (18-30)	18 (12-20)

CONCLUSIONES

1.- Existe una buena correlación entre los niveles de estradiol obtenidos por los dos métodos y 2.- El método de quimioluminiscencia es más sensible y detecta mejor, no sólo el nº posible de folículos en FIV, sino su grado de maduración.

Valor predictivo de la β HCG precoz en la evolución del embarazo en ART

I. Cabañes, R. Scheffer, V. Isaza, J. Grande, Y. Mínguez, M. Aragonés, R. Herrer, J.A. García-Velasco, C. Simón

IVI-Madrid

OBJETIVO

Analizar el valor predictivo de la determinación precoz de la β hCG en la evolución del embarazo tras un ciclo de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo de un total de 216 pacientes, sometidas a un tratamiento de reproducción asistida (FIV, IC-SI, donación de ovocitos) en el IVI Madrid, entre el 1/1/00 y el 30/9/00. Se extrajo sangre de las pacientes 12 días después de la transferencia de embriones y se procesó en el AXSYM system. Se incluyeron en el estudio aquellas pacientes con β hCG > 10 mUI/ml. Diez días después de la prueba se realizó una ecografía transvaginal para definir la presencia de saco gestacional, y una semana más tarde una nueva ecografía para valorar la existencia de embrión y si tiene FCF.

RESULTADOS

SIN SACO	n 36	X (mUI/ml) 86,2±20,19	Punto de corte P< 0.001
CON SACO	180	214,11±14,69	>30 mUI/ml
SIN FCF	n 10	X (mUI/ml) 89,12±71,9	P< 0.005
CON FCF	170	221,47±199,68	
UN SACO *	n 95	X (mUI/ml) 144,68±12,56	Punto de corte P< 0.001
MAS DE UN SACO* *con saco y latido	75	318,73±27,04	>140 mUI/ml
EVOLUTIVO	n 161	X (mUI/ml) 225.02±16.02	Punto de corte P< 0.001
NO EVOLUTIVOS Bioquímicos, abortos, ectópicos	55	98.48±15.23	>100 mUI/ml

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados podemos concluir que el nivel de β hCG en sangre en día 12 tiene valor predictivo de la presencia (β hCG >30 mUI/ml) de saco gestacional, del número de sacos (embarazos múltiples β hCG >140 mUI/ml) y la posterior evolución de los mismos (embarazos evolutivos β hCG >100 mUI/ml).

La Temperatura Atmosférica Afecta al Porcentaje de Embarazo en un Programa de Inseminación Artificial Intrauterina.

Pérez-Cano I¹, Gómez E¹, Mollá M¹, Amorocho B¹, Landeras J¹, Cano F¹, Ballesteros A¹, Remohí J².

¹IVI-Murcia. Murcia

²IVI-Valencia

INTRODUCCIÓN

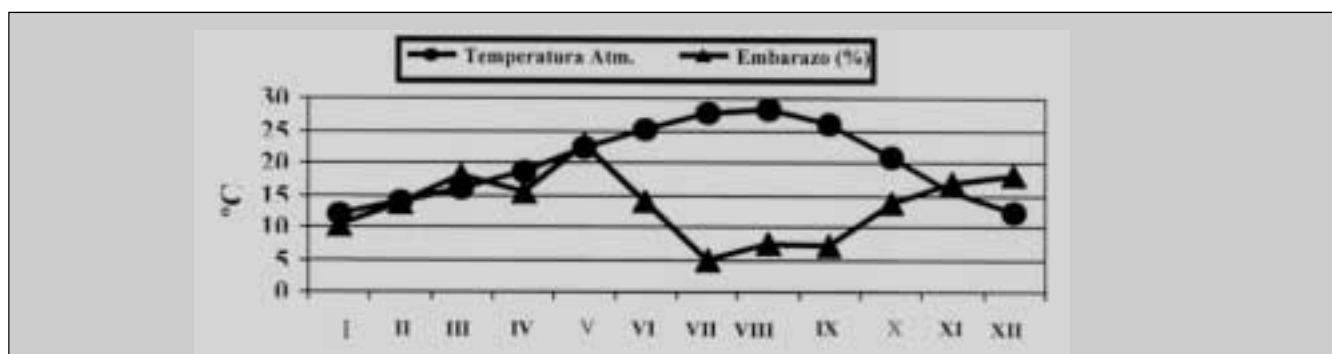
Se ha demostrado que existe una relación directa entre la concepción natural humana, los índices de nacimiento y las estaciones del año. Por el momento no existen datos que relacionen la temperatura atmosférica con los porcentajes de embarazo en inseminación intrauterina homóloga (IIH). El propósito de este estudio es analizar de forma retrospectiva nuestros resultados en IIH y relacionarlos con la temperatura en la ciudad de Murcia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desde Enero de 1997 hasta Diciembre de 2000, se realizaron en nuestro centro 1269 IIH. El Instituto Nacional de Meteorología de Murcia nos proporciono las temperaturas medias mensuales de la estación metereológica más cercana a nuestro Centro. La media de edad de las pacientes fue de 32,9; y no se observaron diferencias significativas ni en este parámetro ni en las etiologías de la infertilidad.

RESULTADOS

Los resultados se muestran en la siguiente gráfica:



CONCLUSIONES

La temperatura ambiente parece tener una influencia significativa en la concepción humana, incluso cuando se utilizan técnicas artificiales como la IIH. Las altas temperaturas podrían contribuir a la reducción de la calidad seminal, los porcentajes de ovulación o la receptividad endometrial.

Estacionalidad y resultados de un programa de FIV/ICSI

Núñez AI, Luceño F, Suárez I, García-Peña ML, Clavero A, Mendoza N, Martínez L, Castilla JA.

U. Reproducción, HU "Virgen de las Nieves", Granada.

INTRODUCCIÓN

La influencia de la época del año en los parámetros seminales es conocida desde hace tiempo, relacionándose éstos con las horas de luz o la temperatura. Son escasos los trabajos que estudian la estacionalidad en los resultados de los programas de reproducción asistida.

OBJETIVO

Analizar diferentes parámetros de nuestro programa de FIV/ICSI según la época

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado los resultados de 412 punciones realizadas entre enero de 1999 y diciembre de 2000. Las indicaciones para FIV fueron: factor tubárico, endocrino y esterilidad sin causa; y para ICSI factor masculino y fallos previos de fecundación. Los resultados se analizaron bimensualmente: dic-enero (63), feb-marzo (99), abril-mayo (98), jun-julio (79), octubre-noviembre (73). No se analizaron los meses de agosto y septiembre por la escasa actividad existente en esos meses por motivos de organización. Durante ese periodo de tiempo no se introdujo ningún cambio significativo en los recursos del laboratorio. La comparación de datos se realizó mediante test de chi-cuadrado y análisis de la varianza.

RESULTADOS

Hemos observado un incremento significativo en el número de ovocitos recuperados en los meses de junio-julio en pacientes sometidas a ICSI. Este incremento no fue observado en pacientes de FIV. No se han observado diferencias significativas ni en el programa de FIV ni en el de ICSI, en el porcentaje de ovocitos en metafase II, tasa de fecundación, porcentaje de embriones tipo I y tasa de gestación por transferencia en los meses analizados.

CONCLUSIONES

En mujeres aparentemente sanas (como las sometidas a ICSI) se observa una mayor respuesta a la estimulación de la ovulación durante los meses de máxima luminosidad. No obstante, este incremento es de escasa relevancia clínica, ya que los resultados de nuestro programa de FIV/ICSI no se ven influidos por la época del año.

Comparación de 2 tipos de cánulas de inseminación artificial intrauterina

Cubillos S¹, Mollá M¹, Pérez-Cano I¹, Amorocho B¹, Gómez E¹, Landeras J¹, Cano F¹, Ballesteros A¹, Pellicer A²

¹ IVI-Murcia

² IVI-Valencia

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial intrauterina (IAIU) es una técnica de reproducción asistida ampliamente utilizada. El semen previamente capacitado se deposita en la cavidad uterina mediante una cánula conectada a una jeringa. El tipo de cánula utilizado no ha sido, hasta el momento, relacionado con la tasa de gestación. El objetivo de este estudio es comparar los resultados de nuestro programa de IAIU con 2 tipos de cánulas de inseminación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio prospectivo y randomizado de 257 ciclos de IAIU desde octubre de 2000 hasta mayo de 2001. Para la realización de las inseminaciones se utilizaron 2 tipos de cánulas: Emtrac- Delphin de Gynetics (4219D) y una sonda traqueal de Lee de Vygon (5333.08). Las etiologías femeninas estuvieron homogéneamente distribuidas. El análisis estadístico utilizado fue la chi².

RESULTADOS

Se realizaron 127 inseminaciones tanto homólogas como con semen de donante con la sonda traqueal de Lee con una tasa de gestación del 21,3 %. Asimismo, se utilizó la cánula tipo Delphin en 130 IAIU con una tasa de gestación por ciclo del 23,1. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

CONCLUSIONES

Ante los resultados obtenidos se concluye que los tipos de cánulas utilizadas en este estudio no afectan a la tasa de gestación. Debido a la diferencia de precio y a la vista de los resultados se considera adecuada la utilización de la sonda traqueal de Lee para la realización de la inseminación artificial intrauterina.

Comparación de 3 medios diferentes en la preparación de la inseminación artificial intrauterina

Mollá¹ M, Pérez-Cano I¹, Amorocho B¹, Gómez E¹, Landeras J¹, Cano F¹, Ballesteros A¹, Pellicer A²

¹IVI-Murcia

²IVI-Valencia.

INTRODUCCIÓN

Para la purificación y separación de semen hay 2 técnicas ampliamente utilizadas: swim- up en el que se hace un lavado con Sperm Preparation Medium y gradientes de densidad con SupraSperm o PureSperm. SupraSperm es una solución salina que contiene una suspensión de partículas de sílice estabilizadas con

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio prospectivo y randomizado de 143 ciclos de IAIU desde enero de 2000 hasta mayo de 2001. La preparación de las inseminaciones se realizaron mediante gradientes con distintos medios, PureSperm y SupraSperm, o con swim- up (sperm). Las etiologías femeninas estuvieron homogéneamente distribuidas. El análisis estadístico utilizado fue la (2).

RESULTADOS

Medio	Nº Ciclos	Nº de Embarazos	Tasa de Gestación/ciclo (%)
Pure Sperm	43	10	23,3
Supra Sperm	47	12	25,5
Sperm	53	14	26,4

Las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

CONCLUSIONES

No existe diferencia entre las 2 técnicas de capacitación ni entre los 2 medios utilizados para la técnica de gradientes de densidad en la tasa de gestación tras IAIU.

Valoración de parámetros clínico-biológicos de la estimulación ovárica en una muestra de mujeres representativas de la población general

Velarde P, Figueroa MJ, González A, Aragón MJ, Roca A, Girón B, Abril E.

Centro Avanzado de Fertilidad (CAF). Instituto Médico Serman. Jerez de la Frontera-Cádiz

INTRODUCCIÓN

Un total de 49 ciclos de estimulación ovárica correspondientes a parejas que consultaban por infertilidad debido a factor masculino, fueron seleccionados con el objetivo de evaluar la respuesta ovárica en una muestra representativa de una población presumiblemente normorespondedora. Fueron excluidas del estudio aquellas pacientes con patología ovárica y endocrina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Como criterio de inclusión se consideró el haber completado un ciclo de estimulación con el uso de agonistas de GnRH (Synarel(r), Bucks, England) combinado con gonadotropinas (Puregón(r), Organon, The Netherlands). Para ello se seleccionó un total de 49 ciclos de estimulación seguidos de FIV/ICSI en 35 mujeres que consultaban por infertilidad debido a causas no ováricas ni endocrinas, partiendo del subgrupo de parejas que consultaban por factor masculino.

En la muestra se consideró: la edad; duración del tratamiento con análogos de FSH; número de folículos obtenidos; cantidad de ovocitos; tasa de recuperación y tasa de fecundación. Para su valoración estadística, fueron cruzados y evaluados mediante los coeficientes de correlación de Pearson.

RESULTADOS

La edad se situaba en un rango comprendido entre 27 y 42 años, con una media de 33,39 (DS: 4,00). Se obtuvieron una media de 11,18 ovocitos por punción ovárica, con una tasa de madurez de 76,94 %. La tasa de fecundación media fue de 65,47 %, y la tasa de embarazo de 34,38 sobre el total de los pacientes.

En el estudio estadístico se observó correlación negativa entre la edad y el número de folículos, de ovocitos y los niveles de estradiol. La tasa de recuperación se correlacionó positivamente con la duración del tratamiento con FSH, pero no sin embargo con los niveles de estradiol. La tasa de fecundación no se correlacionó con ninguno de los parámetros estudiados, es decir: edad, duración del tratamiento, niveles de estradiol, cantidad de folículos u ovocitos obtenidos en la punción.

CONCLUSIONES

La edad es el factor que más parece influir en la respuesta ovárica, afectando a los niveles de estradiol, y la cantidad de ovocitos y folículos. Los niveles de estradiol se relacionan con el total de folículos y ovocitos obtenidos, pero no parece incidir sobre la tasa de recuperación, la cual sólo parece depender, de entre las variables estudiadas, de la duración del tratamiento. La falta de relación de todas estas variables con la tasa de fecundación posiblemente está enmascarada por el hecho de que la calidad seminal juega un papel importante, y quizá preponderante dada las características del grupo de estudio. La tasa de embarazo es, no obstante, similar a la global obtenida en nuestro centro (34,28 %).

Siameses tras transferencia de embriones congelados

González-Utor A L, Hurtado de Mendoza M V, Colls P, Gutiérrez P.

Centro Hispalense de Reproducción Asistida. Hosp. Infanta Luisa. Sevilla.

INTRODUCCIÓN

La presencia de gemelos siameses en embarazos evolutivos es una rara condición, con frecuencias publicadas entre 1:2800 y 1:200000 (Rees y cols., 1993). Se han postulado dos hipótesis embriogénicas para la formación de esta unión. La primera, denominada de fisión, sería debida a la incompleta división de un embrión en diferentes estadios (blastogénesis, eclosión del blastocisto o en el disco embrionario de 13-15 días)(Goldberg y cols., 2000; Jong y Kirby, 2000). La segunda, denominada de fusión, sería el resultado de la unión secundaria de dos discos embrionarios mono-ovulares que originariamente se encontrarían separados (Spencer, 2000). En FIV se han publicado anteriormente 3 casos de gemelos siameses, dos de ellos en FIV clásica (uno con eclosión asistida) y el otro en FIV/ICSI. Este caso que comunicamos es el primero reportado en técnica de transferencia de embriones congelados/descongelados provenientes del programa FIV/ICSI.

CASO ESTUDIO

Paciente de 36 años de edad, que cursa esterilidad primaria de 6 años de evolución, la cual es sometida a programa de FIV/ICSI por factor masculino severo (oligoastenoteratozoospermia). Se obtuvieron un total de 8 embriones, de los cuales tres fueron transferidos (D+3, con eclosión asistida) y cinco fueron criopreservados. Posteriormente, al no quedar gestante, la pareja vuelve para la transferencia de los embriones sobrantes. Se realizó la descongelación de dos embriones (100% y 75% de supervivencia) que fueron transferidos, tras eclosión asistida, en ciclo inhibido/sustituido. A los 13 días postransferencia, la paciente tuvo un nivel de 254 mIU/ml de β -hCG y 18 días después se determinó latido cardíaco fetal en un saco gestacional de 18 mm, remitiéndose a su ginecólogo habitual. En control obstétrico rutinario, realizado a las 13 semanas de gestación, se detectó un embarazo gemelar monoamniótico monocoriónico con unión toraco-abdominal, por lo que se determinó realizar un estudio más completo por exploración ecográfica tridimensional con Doppler color. Este estudio confirmó la presencia de una gestación de siameses toraco-onfalópagos (fusión anterior de torax y abdomen). Las anomalías anatómicas mayores de esta unión fueron la presencia de un solo corazón con sus respectivas aortas ascendentes y descendentes para cada feto, y un solo hígado cruzado, de feto a feto, por una sola vena umbilical. Tras informar a la pareja, esta decidió optar por la interrupción del embarazo.

CONCLUSIONES

El caso aquí presentado es el primero descrito a nivel mundial de gemelos siameses tras transferencia del programa congelación/descongelación de embriones. Inicialmente parece no existir diferencias entre la frecuencia de aparición de esta anomalía embrionaria en embarazos naturales y en los provenientes de FIV, aún cuando conocemos la alta incidencia de embarazos múltiples que produce en esta última. Por otro lado, dado el escaso número de siameses en FIV y la discusión sobre su embriogénesis, sería arriesgado postular que la eclosión asistida pueda tener una relación directa con esta anomalía fetal.

ICSI día 1º vs. ICSI “de rescate” en ciclos con fallo tras FIV: resultados preliminares

J. Ten J, Cuevas I, Peinado I, Mendiola J, Bernabeu R

Instituto Bernabeu de fertilidad y ginecología- Alicante

INTRODUCCIÓN

Las tasas de fecundación y gestación cuando se realiza una ICSI al 2º día tras fallo total de FIV (ICSI de rescate) se ven disminuidas respecto a la ICSI en día 1º (día de la recuperación ovocitaria) en un ciclo normal. A diferencia de otros trabajos, en este estudio hemos querido comparar, dentro del grupo homogéneo de fallo tras FIV, los resultados entre la ICSI en día 1º y la ICSI al 2º día.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron retrospectivamente 37 ciclos llevados a cabo durante 1999 y 2000. Estos ciclos fueron divididos en dos grupos de estudio:

1.- Día 1º: 12 pacientes con un ciclo mixto (FIV e ICSI) en los que se observa en el día post-inseminación/microinyección fallo de fecundación en FIV, pero no en ICSI.

2.- Día 2º: 25 pacientes sometidos a un ciclo de FIV con fallo de fecundación, a los que se realiza una microinyección en el segundo día a los ovocitos que se encuentran en MII.

En ambos casos se analizaron estadísticamente las tasas de fecundación, fecundación anómala con 3 PN y 1PN, no fecundación, ovocitos degenerados, cigotos evolutivos y gestación. Para ello se aplicó el estadístico t-student para muestras independientes, utilizando como variable de agrupación el día de microinyección. El nivel de significatividad fue ≤ 0.05 .

No hubieron diferencias significativas en cuanto al protocolo de estimulación, la edad de las pacientes y los parámetros seminales.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

TASA	día ICSI	Nº	Media (%)	Desv. Típica	Significatividad
FECUND	1	12	66.1996	26.4079	NS
	2	25	45.5190	33.0894	
3 PN	1	11	3.8636	7.0146	NS
	2	25	10.9000	17.2030	
1 PN	1	11	8.1627	10.2670	NS
	2	25	12.4429	21.8602	
NF	1	11	7.4875	9.5302	NS
	2	25	20.9048	28.7970	
DEG	1	11	2.5974	8.7146	NS
	2	25	9.9000	16.6151	
EVOLUTIVOS	1	12	93.6195	10.0422	NS
	2	22	80.3788	37.1823	
GESTACIÓN	1	12	42.00		SIG.
	2	25	0.00		

CONCLUSIONES

Aunque sólo la tasa de gestación fue significativa, se puede apreciar una tendencia bastante clara a favor de la ICSI en día 1º en cuanto al resto de parámetros analizados. A pesar de tratarse de un número bajo de casos, estos resultados preliminares avalan la realización de ciclos mixtos siempre que sea posible, evitando la práctica del ICSI al 2º día. Las diferencias observadas entre los dos grupos podrían ser debidas a distintos factores: envejecimiento de los gametos, interacción entre espermatozoide-ovocito durante las 16-18h de inseminación y/o factor ovocitario endógeno. Son necesarios más estudios para averiguar esta/s causa/s.

Rentabilidad de la prestación de Fecundación In Vitro por el Sistema Sanitario Público Español

Arday M, Marcos M, Ortiz N, Molina M, Cuadrado C, García I, Sánchez F

Servicio de Esterilidad del Hospital Universitario La Paz.

INTRODUCCIÓN

Frecuentemente se habla de las unidades de Fecundación In Vitro de los hospitales públicos españoles cuestionándolas con el argumento de ser gastos servicios de lujo en un sistema sanitario público en continuo problema financiero. Sintiendo este comentario como injusto, decidimos intentar justificar la F.I.V. en el Sistema Sanitario Público, no sólo con los argumentos del derecho reconocido por la OMS a tener hijos, y por el principio de igualdad que asegure su acceso a toda la población, sino también con argumentos en la misma frecuencia de onda: pesetas.

Lo primero que pensamos fue que el comentario pecaba de un punto de vista de cortas distancias, debiendo valorar a medio y largo plazo con los réditos que una unidad de este tipo rinde: nacidos.

OBJETIVO

Valorar la rentabilidad de la prestación de F.I.V. en el Sistema Sanitario Público Español.

MATERIAL Y MÉTODOS

Comparar el coste de sacos gestacionales, y nacidos estimados de ciclos realizados en el periodo septiembre-diciembre del año 2000, frente a los ingresos que para el Estado supone un nuevo niño. En costes se incluyen gastos hasta la constatación de menstruación, o hasta derivación al tocólogo de zona, momento a partir del cual el coste no difiere del de un embarazo de la población fértil: fungibles del proceso; mantenimiento de las consultas, quirófano y laboratorio; hospital de día; amortización de aparataje; medicación; analíticas y estudios realizados; y sueldo del personal. En ingresos para el estado: impuestos indirectos derivados de gastos familiares por persona/año, y cuota líquida de la declaración de la renta que en un futuro generará.

Los datos de ingresos al estado se obtuvieron de: Instituto Nacional de Estadística, Agencia Tributaria Española, Ministerio de Sanidad y de Economía y Hacienda.

RESULTADOS

(en cifras aproximadas):

T. implantación ¹	Coste saco gest.	Coste de nacido ²	Gasto persona/año Zimp. generados ³
24%	1.050.000 ptas	1.310.000 ptas	1.115.000 (200.000 de impuestos)

¹0% emb. triple. ²Estimado el % de aborto para cada tipo gestacional. ³En Madrid, y en ptas.

Por simple división, en aprox. 7 años el nuevo nacido generará un ingreso para el Estado similar al costo extraordinario de su creación. Está claro que los costes están infravalorados, aunque su valor debe rondar el descrito, pero tengamos en cuenta que la riqueza económica para la sociedad que una persona genera no es toda la que se declara.

COMENTARIOS

Si valoramos a medio y largo plazo con los datos aportados, la prestación de F.I.V. por el Sistema Sanitario Español no es deficitaria, si no que precisa del medio plazo, aprox. 7 años, para compensar costes. Aunque se pueda decir que un niño concebido de forma natural es beneficioso desde el inicio, hay que responder que si no fuera por la F.I.V., un gran número de los concebidos artificialmente no aumentarían las cifras de natalidad, y jamás empezarían a generar devengos al Estado a partir del citado plazo. Además, en 20-24 años el 40% de ellos encontrarán su primer trabajo, generando una cuota líquida media de 470.000 pesetas. Vamos, evitar en algo el envejecimiento, problemas de pensiones, ..., por tan sólo un gasto que además se compensa en unos 7 años. ¿Cuántos servicios sanitarios del Sistema Público de Salud pueden jactarse de esto?

Selección embrionaria en TEC: estudio retrospectivo

Hurtado de Mendoza M.V, González-Utor A.L, Colls P, Gutiérrez P.

Centro Hispalense de Reproducción Asistida. Hosp. Infanta Luisa. Sevilla

OBJETIVO

Evaluar la efectividad de seleccionar antes de criopreservar, en base a la calidad morfológica, los embriones sobrantes de los programas de FIV, FIV-ICSI. Se realiza un estudio retrospectivo sobre la población de embriones criopreservados sin previa selección comparando los resultados de embarazo con una población de embriones criopreservados tras selección. Por otro lado, se valora la influencia del índice de supervivencia de la población global de los embriones descongelados antes de su transferencia.

MATERIAL Y METODOS

A fin de evitar el mayor número de alteraciones en el estudio de las muestras se han seleccionado, para este trabajo, ciclos con embriones sobrantes de programas de FIV, FIV-ICSI que cumplen los siguientes requisitos: embriones criopreservados en D+2 en propanodiol 1,5M y sacarosa; previa a su transferencia se realiza la eclosión asistida mediante solución ácida de Tyrode; se transfieren el mismo día que se descongelan, en ciclo espontáneo cuya ovulación se induce mediante la inyección de HCG. El apoyo de la fase lútea se realizó mediante progesterona micronizada, comenzando en D+1. Este protocolo incluyó administración de antibióticos y corticosteroides para evitar posible respuesta inmune. La edad o número de ciclo no se ha tenido en cuenta. Dentro de esta población se diferencian dos grupos: A) Control: embriones criopreservados sin criterio de selección previa (N=143) .B) Estudio: embriones criopreservados con <30% de fragmentación. (N=43). Dado que sus resultados preliminares, la población estudio no tiene la suficiente potencia como para aplicar un test estadístico.

Por otro lado, la influencia del índice de supervivencia (>50%; <50%; mixto) se valoró en las transferencias realizadas.

RESULTADOS: Los resultados se recogen en las tablas 1 y 2.

Tabla 1

A	B	
Ciclos	143	43
Embr. Descongelados	396	102
Sobrev. descong. (%)	372 (93,9)	98 (96)
Sobrev. rehidrat. (%)	357 (90,1)	94 (92,1)
Embr./Transfer	2,47+0,64	2,18+0,10
Embarazo (%)	18,1	13,9

Tabla 2

Todos <50% superviv. 30/150 (20%)
 Todos <50% superviv 0/4
 Mixtos 2/31 (6,4%)

CONCLUSIONES

No parecen existir diferencias entre seleccionar o no los embriones previa a su criopreservación, siempre y cuando los embriones de mala calidad (morfológica grado 3) se congelen junto a otros de calidad buena (mixtos). Es posible la obtención de embarazo con embriones de mala calidad, por lo tanto no nos parece oportuno descartar estos embriones. La tasa de supervivencia a la descongelación, tiene una mayor relación con embarazo que la calidad embrionaria en si.

Carga asistencial y resultados de laboratorio de FIV/ICSI

Luceño F, Núñez AI, Suarez I, Garcia-Peña ML, Clavero A, Fontes J, Maldonado V, Castilla JA.
U. Reproducción, HU "Virgen de las Nieves", Granada

INTRODUCCIÓN

Uno de los factores determinantes en la calidad de cualquier servicio es la carga de trabajo, siendo necesario determinar la influencia de ésta en los resultados. En los programas de FIV/ICSI se producen picos de actividad debido a la imposibilidad de ajustar con precisión la respuesta a la estimulación de la ovulación de las pacientes, lo que lleva a días con una actividad frenética en nuestros laboratorios de FIV/ICSI.

OBJETIVO

En este trabajo nos propusimos relacionar los resultados de un laboratorio de FIV/ICSI y la carga de trabajo asistencial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizan los siguientes parámetros: nº de ovocitos por punción, % ovocitos MII, % de fecundación, % de embriones tipo I, y % gestaciones por transfer. El estudio abarcó 412 punciones realizadas en los años 1999 y 2000. Estos parámetros se compararon en 353 punciones realizadas en días en que había 3 o menos punciones frente a 59 punciones realizadas en días que había más de 3 punciones. También se compararon los resultados de las punciones según el orden de realización en un mismo día: 240 en primer lugar, 111 en segundo lugar, 41 en tercer lugar y 20 en la cuarta o mayor posición. Todas las punciones realizadas en un mismo día se realizaron de forma consecutiva sin interrupción. Durante ese periodo de tiempo no se introdujo ningún cambio significativo en los recursos del laboratorio. El material de nuestro laboratorio es: 2 incubadoras, dos puestos de trabajo con estereomicroscopio y un microinyector. Trabajando en él habitualmente 2 personas. La comparación de datos se realizó mediante test de chi-cuadrado, T de student y análisis de la varianza.

RESULTADOS

Tanto en ciclos de FIV como de ICSI no observamos diferencias en ninguno de los parámetros analizados entre el grupo de punciones realizadas en días con poca actividad (3 o menos punciones) frente a punciones realizadas en días de más actividad (4 o más punciones). De igual manera, no parece influir el orden de la punción en los resultados obtenidos ni en FIV ni en ICSI.

CONCLUSIONES

Creemos que existe una adecuada relación entre recursos materiales y humanos en nuestro laboratorio de FIV/ICSI, lo que le permite hacer frente a picos de actividad asistencial sin disminuir la calidad del servicio. Desconocemos cuál es la dimensión óptima (nº de punciones máximo sin disminución de resultados) de nuestro laboratorio de FIV/ICSI.

Microinyección Intracitoplasmática Utilizando Espermatozoides Testiculares

Zamora M J, Belil I, García F, Parriego M, Veiga A, Barri P.N.

Dept. Obst. y Ginecología. Servicio de Medicina de la Reproducción. Institut Dexeus.

INTRODUCCIÓN

En casos de esterilidad masculina severa, la recuperación espermática testicular es la vía de obtención de espermatozoides ausentes en el eyaculado. En pacientes con azoospermia obstructiva y en pacientes que tienen comprometida la espermatogénesis, los espermatozoides testiculares se utilizan en la microinyección intracitoplasmática (ICSI) de los ovocitos, constituyendo una buena oportunidad para conseguir el embarazo.

El objetivo de este estudio fue valorar los resultados obtenidos después de la microinyección intracitoplasmática con espermatozoides de testículo recuperados mediante biopsia testicular (TESE) o aspiración testicular (TESA), en fresco o congelados (TESEC/TESAC) en pacientes sin espermatozoides en la muestra de eyaculado. Asimismo, presentar los resultados cuando se distribuyen los casos en función de la indicación o causa de la esterilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo de 103 ciclos del programa FIV del Institut Dexeus realizados durante los años 1999 y 2000, en los que se llevó a cabo ICSI con espermatozoides de testículo. Se analizaron las tasas de fecundación, de evolución embrionaria, de implantación y de embarazo. El método estadístico utilizado para compararlas fue el test de chi².

RESULTADOS

La tasa de fecundación (53,1%, 54,4%, 59,9% y 34,4%), la tasa de evolución de los embriones (64,3%, 70,1%, 76,5% y 45,5%), la tasa de implantación (27,3%, 37,2%, 24,6% y 66,7%) y la tasa de embarazo (41,1%, 75%, 46% y 100%) no mostraron diferencias significativas en los diferentes grupos, en función de la técnica de recuperación espermática (TESE, TESEC, TESA y TESAC) utilizada.

Distribuyendo los casos según la indicación fuera debido a una azoospermia EXCRETORA o SECRETORA, una oligoastenoteratozoospermia (OTA) o a OTRAS causas, la tasa de fecundación (58,3%, 52,1%, 52,4% y 65,3%), la tasa de evolución embrionaria (74,9%, 73%, 75,6% y 57,9%), la tasa de implantación (25,5%, 27,5%, 41% y 19,2%) y la tasa de embarazo (50%, 50%, 69% y 50%) resultaron también, sin diferencias significativas.

CONCLUSIONES

Cualquiera de las técnicas utilizadas para la obtención de los espermatozoides testiculares es igualmente eficaz, constituyendo una buena alternativa terapéutica en los casos estudiados. Su capacidad fecundante, después del ICSI, y el desarrollo de los embriones son buenos, consiguiendo unos resultados no muy diferentes a los que se obtienen con espermatozoides del eyaculado.

La utilización de espermatozoides previamente congelados y descongelados, aunque el número de casos es bajo, no parece disminuir las tasas obtenidas y supone reducir el número de intervenciones sobre el testículo.

En relación al origen de la azoospermia, con la utilización de los espermatozoides testiculares y ICSI, se consiguen buenos resultados, tanto si la azoospermia es obstructiva como si es secretora. En los casos de OTAs y en otros casos, en los que en ocasiones no existe un motivo fisiológico claro para la azoospermia, los resultados que se obtienen son similares. Los espermatozoides testiculares tendrían el mismo buen pronóstico para la consecución del embarazo, independientemente de la naturaleza de la azoospermia.

¿Qué aporta la inseminación de ovocitos inmaduros?

Florensa M, Aran B, Barri PN, Veiga A

Institut Universitari Dexeus- Barcelona

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de estimulación hormonal previo a un ciclo de fecundación in vitro (FIV), a menudo da lugar a la recuperación de un elevado número de ovocitos, entre los cuales, es posible encontrar ovocitos inmaduros. Para aumentar las probabilidades de éxito de cada ciclo, estos ovocitos se cultivan in vitro durante unas horas con el fin de favorecer su maduración antes de ser inseminados. Teniendo en cuenta que los ovocitos inmaduros representan más de un 20% del total de ovocitos recuperados en un ciclo de FIV, con la maduración, inseminación y posterior fecundación de dichos ovocitos podemos incrementar significativamente la cohorte de embriones disponibles para la transferencia embrionaria. El objetivo de este estudio es evaluar la capacidad de los ovocitos inmaduros para ser fecundados tras maduración in vitro, así como la calidad de los embriones resultantes de dicha fecundación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha llevado a cabo un estudio retrospectivo de 55 ciclos de FIV convencional llevados a cabo en el Servicio de Medicina de la Reproducción del Instituto Universitario Dexeus, en los cuales se han recuperado ovocitos maduros e inmaduros. Todos los ovocitos fueron inseminados convencionalmente pero, mientras los ovocitos maduros fueron inseminados aproximadamente tres horas después de su recuperación, los inmaduros fueron cultivados en medio de cultivo durante cinco horas para facilitar su maduración antes de ser inseminados. Se ha valorado la tasa de fecundación de los ovocitos maduros e inmaduros y la calidad embrionaria correspondiente. Para este último parámetro se ha tenido en cuenta el número de células y el porcentaje de fragmentos que los embriones presentaban el día de la transferencia.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran una tasa de fecundación significativamente más elevada en el caso de los ovocitos maduros (83%) respecto de los inmaduros (54.6%). En lo que a la calidad embrionaria se refiere, no existen diferencias significativas ni en el número ni en el porcentaje de fragmentos de los embriones provenientes de ovocitos maduros o de ovocitos inmaduros.

CONCLUSIONES

1) A pesar de ser significativamente menor, la tasa de fecundación de los ovocitos inmaduros no es despreciable. 2) La calidad embrionaria no se ve influenciada por el hecho de que los embriones procedan de ovocitos inmaduros en lugar de ovocitos maduros. 3) Cultivando in vitro e inseminando los ovocitos inmaduros recuperados se ha aumentado un 21,5% la tasa de embriones evolutivos.

Resultados preliminares de la utilización de pentoxifilina

Delgado A, Bou C, Gragera J.A, Badajoz V, Santos S, Bonache R, Arenaza A.

GINEFIV S.L. Clínica Belén. MADRID

INTRODUCCIÓN

Demostrar la viabilidad de la pentoxifilina en la preparación de muestras principalmente procedentes de biopsia testicular y criptozoospermias, para mejorar la movilidad espermática y su posterior uso en el ICSI.

MATERIAL Y METODOS

Se ha utilizado la pentoxifilina en la proporción 1:1 en las muestras con alteraciones severas en todos sus parámetros una vez lavadas y preparadas en microgotas cubiertas con aceite mineral. Se han estudiado 103 casos desde Junio 1999 hasta Diciembre 2000.

RESULTADOS

Nº total de ciclos	103
Nº total de TESA	87
Nº total de ICSI	16
Nº embriones de TESA por categorías	47 / 90 / 73 / 12
Nº embriones de ICSI por categorías	14 / 15 / 18 / 1
Nº embarazos de TESA	11
Nº embarazos de ICSI	7
Nº real pacientes de TESA	55
Nº real pacientes de ICSI	14
% embarazo por transfer en TESA	12,6%
% embarazo por transfer en ICSI	43,75%
% embarazo por paciente de TESA	20%
% embarazo por paciente de ICSI	50%
Nº total de abortos	5
Niños nacidos	14

CONCLUSIÓN

Se ha demostrado que la pentoxifilina es de gran utilidad en el ICSI con muestras muy severas porque mejora la movilidad de los espermatozoides permitiendo disponer de un mayor número de espermatozoides móviles con lo que facilitará el trabajo de búsqueda y selección de los mismos.

No se han observado diferencias significativas entre las tasas de fecundación, evolución embrionaria y porcentaje de embarazo respecto a los casos de ICSI sin utilización de pentoxifilina.

Hasta la fecha no se ha comprobado que la pentoxifilina pueda aumentar la tasa de malformaciones.

Cultivo de los embriones no transferidos: valor predictivo del número de células en día 3

Vendrell F J, Bonada M, Marqueta J, Roses A, Torres M

Instituto Balear de Infertilidad. Palma de Mallorca.

INTRODUCCIÓN

El objetivo del presente trabajo es doble, en primer lugar comparar retrospectivamente la tasa de embarazo e implantación en pacientes que se sometieron a FIV-TE con transferencia en D3 y tuvieron embriones sobrantes que se cultivaron hasta el estadio de blastocisto, con las pacientes que no tuvieron embriones cultivados. Por otra parte, examinar el posible valor predictivo del número de células en D3 con relación al desarrollo de blastocistos in vitro.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó sobre 162 pacientes de 33.9 (3.7 (24-43) años de edad que se sometieron a 180 ciclos de FIV-TE de enero a diciembre de 2000 (24 ciclos de FIV, 85 de ICSI, 33 mixta, 15 ICSI con espermatozoides testiculares, 23 A.H). El cultivo hasta blastocisto se realizó en medios secuenciales (G1.2, G2.2; IVF Science Scandinavian).

RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 2253 ovocitos (12.5 (6.9) que dieron lugar a 1005 embriones evolutivos en D3 (5.6 (3.9). Se transfirieron 510 embriones (2.8 ± 0.8) y se consiguió una tasa de embarazo global del 41.8 % (74/177) y una tasa de implantación del 22.9 % (117/510). El 42 % (68/162) de las pacientes tuvieron embriones sobrantes que fueron cultivados in vitro. De éstas, el 63.2% (43/68) tuvieron blastocistos que se congelaron, o no, según los casos. El análisis de los resultados mostró un mayor número de ovocitos extraídos (16.1 ± 6.6 vs. 10.0 (5.9; $P < 0.0001$), embriones evolutivos en D3 (8.3 (3.6 vs. 3.7 (2.8; $P < 0.0001$), embarazo por transferencia (54.2 % vs. 33.3 %; $P < 0.05$), e implantación (30.0 vs. 17.6; $P < 0.001$) en el grupo de cultivo a blastocisto frente al grupo sin desarrollo a blastocisto. Por otra parte, de los 297 embriones no transferidos se obtuvieron un total de 116 blastocistos (39.1%) entre D5-D7. Cuando los blastocistos procedían de embriones de 8 células/compactación en D3 la tasa de formación de blastocistos fue del 62.2 % (51/82) ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES

El cultivo de los embriones sobrantes permite (i) distinguir determinados ciclos y/o pacientes con “alto potencial de implantación” expresado por las mayores tasas de embarazo e implantación y, por tanto, con mayor riesgo de embarazo múltiple, y (ii) inferir acerca de la formación de blastocistos en ciclos sucesivos. Además, el número de células en D3 puede resultar decisivo a la hora de adoptar la estrategia a seguir en cada caso particular.

¿Influye la apoptosis en el número de células de la granulosa presentes en líquido folicular?

Clavero A, Suárez I, Luceño F, Núñez AI, Maldonado V, Fontes J, Mendoza N, Castilla JA

Unidad de Reproducción. Hospital Virgen de las Nieves. Granada.

INTRODUCCIÓN

Las células de la granulosa (CG) constituyen un componente folicular muy relacionado con la función ovocitaria, influyendo en el crecimiento y maduración del ovocito. La apoptosis en estas células es un marcador de calidad del folículo, por lo que nos propusimos profundizar en el conocimiento de la fisiología folicular analizando el papel que juega la apoptosis en estas células en el número total de células presentes en el líquido folicular (LF).

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamos CG de 58 líquidos foliculares claros en pacientes de nuestro programa de ICSI por factor masculino, las cuales fueron sometidas al protocolo de desarrollo folicular múltiple "análogo largo". Tras la obtención del líquido folicular sin signos macroscópicos de contaminación sanguínea, procedíamos al aislamiento y separación del ovocito. Posteriormente realizamos la separación de las CG y leucocitos del líquido folicular mediante centrifugación. El aislamiento de las CG para la obtención de una población purificada de dichas células se realiza mediante dos pasos fundamentales: la separación de las CG de la contaminación con hematíes y leucocitos polimorfonucleares mediante centrifugación en gradientes de Ficoll-Hypaque, y la separación de los leucocitos mononucleares mediante la tinción con un antígeno panleucocitario (CD45). Tras lavado de las células realizamos la tinción de las mismas con anexina V marcada con fluoresceína, la cual mide apoptosis, y se evalúa posteriormente mediante citometría de flujo.

RESULTADOS

Según nuestros resultados, no existe relación entre el número de CG en LF y el grado de apoptosis que presentaban dichas células ($r=0.02$). El grado de apoptosis presentado por las C fue de un $3.3 \pm 1.9\%$ de las células estudiadas, mientras que la media del número total de CG fue de 233.064 ± 354.359 células.

CONCLUSIONES

Dado que las CG que presentaban apoptosis constituyen aproximadamente un 3% del total de CG presentes en el LF, es lógico pensar que este bajo porcentaje no sea capaz de producir una disminución significativa en el número de las CG que encontramos en los LF. Hay que tener en cuenta que en mujeres con ciclos estimulados se administra FSH recombinante, la cual es un factor de supervivencia celular, con lo que no podemos descartar que en mujeres con ciclos naturales la apoptosis influya en el número de CG recuperadas del LF ovárico.

Esteroidogénesis folicular y leptina en líquido folicular de mujeres sin patología endocrina

Suárez I, Clavero A, Núñez AI, Luceño F, Maldonado V, Fontes J, Martínez L, Castilla JA

Unidad de Reproducción. Hospital Virgen de las Nieves. Granada.

INTRODUCCIÓN

Se ha postulado que la leptina puede tener importancia en la fisiopatología de la esterilidad que presentan las mujeres obesas. Esta molécula es un péptido derivado del gen *ob* que se encuentra presente en el líquido folicular (LF) en concentraciones parecidas a las del suero. El papel que pueda jugar la leptina en la regulación de la esteroidogénesis ovárica en mujeres normales no se conoce, por lo que nos propusimos evaluar la relación entre las concentraciones de leptina y de hormonas esteroideas en LF de mujeres sin patología endocrina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudiamos 85 LF de mujeres incluidas en el programa de microinseminación por factor masculino de la Unidad de Reproducción. Se analizaron estradiol y progesterona mediante técnicas de ELISA (Biomerieux, Marcy-l'Étoile, Francia), y testosterona (Orion Diagnóstica, Espoo, Finlandia) y leptina (Linco Research Inc, St. Charles, Missouri, USA) mediante RIA. Para el análisis estadístico se realizaron estudios de correlación lineal simple mediante el cálculo de coeficiente de correlación de Pearson.

RESULTADOS

No observamos una correlación significativa entre los niveles de leptina en LF y los de estradiol ($r=-0.01$), progesterona ($r=-0.16$) y testosterona ($r=0.18$). Si se observó una relación estadísticamente significativa entre la concentración en LF de estradiol y progesterona ($r=0.65$; $p<0.01$), y entre progesterona y testosterona ($r=-0.44$; $p<0.05$).

CONCLUSIONES

En mujeres sin patología endocrina los niveles de leptina no parecen jugar un papel clave en la regulación de la esteroidogénesis en el folículo humano. Sin embargo, no podemos descartar que en mujeres con alguna patología, como pueda ser la obesidad, en la que la leptina se encuentre en altas concentraciones pueda afectar negativamente a dicha esteroidogénesis por ello afectar a la fertilidad.

Inmunoanálisis de complejos sinaptonemales y puntos de recombinación en espermatozocito I

Codina-Pascual M¹, M.Oliver M¹, J.Navarro J¹, Garcia F, C.Abad C³, Egozcue J², J.Benet J¹

¹Unitat Biologia, Facultat Medicina, ²Unitat Biologia Cel.lular, Facultat Ciències, Departament de Biologia Cel.lular, Fisiologia i Immunologia, UAB, Bellaterra, Barcelona. ³Servei d'Urologia, Consorci Hospitalari Parc Taulí, Sabadell, Barcelona

Durante la profase meiótica en los espermatozocitos primarios se da la sinapsis de los cromosomas homólogos y la recombinación meiótica. La sinapsis comporta la formación de los complejos sinaptonemales (CS), estructura proteica que se sitúa a lo largo del eje de los bivalentes. Los desórdenes sinápticos y de recombinación pueden provocar un bloqueo parcial o completo de la meiosis. Hasta ahora los estudios de CS se han realizado mediante la técnica de tinción inespecífica con AgNO₃. Para su análisis se usaba tanto la MO convencional como la ME. Recientemente, la aparición de marcajes específicos para proteínas de CS basados en anticuerpos han permitido una mejora en los métodos de análisis del proceso meiótico.

En este trabajo describimos la puesta a punto en nuestro laboratorio de la técnica inmunocitogenética fluorescente en CS y puntos de recombinación en diferentes especies murinas (hámster y ratón) y en humano. Básicamente consta de una fijación de material testicular, proveniente de biopsia testicular en el caso de humanos. Incubación de 12h con anticuerpos anti-SCP3 (proteína de los elementos laterales de CS) y anti-MLH1 (proteína detectada en los nódulos de recombinación). Lavados y detección mediante incubación de 4h con anticuerpos secundarios marcados con fluorocromos (TRITC y FITC respectivamente). Lavados y contratinción con DAPI. Observación con MO de fluorescencia, captura con cámara digital y análisis de imágenes mediante Vysis.

Esta técnica nos permite: a) Identificar las diferentes fases de la profase I meiótica. b) Detectar desórdenes sinápticos (CS fragmentados, desinapsis, CS irregulares) tanto en bivalentes autosómicos como en gonosómicos. c) Observar estructuras meióticas características de alteraciones cromosómicas estructurales. d) Analizar el número y distribución de puntos de recombinación por bivalente y por célula. Además, el método conserva parcialmente la cromatina permitiendo la posterior hibridación in situ con sondas cromosómicas.

Agradecimientos: Dr. Christa Heyting por la gentil donación de anticuerpos anti-SCP3. M.C. becaria de DGR (2001FI 00468). Trabajo realizado con ayuda económica de FIS 98/0031-01 y 1999-SGR-00104.

Diagnóstico genético preimplantacional mediante 1cp o blastomero y análisis de la segregación cromosómica en una mujer 45XX, t(13;14)(q10;q10).

Durban M¹, Pujol A¹, Boada M², Belil I, Benet J¹, Veiga A Egozcue J, Navarro J¹

¹ Unidad de Biología, Departamento de Biología Celular, Fisiología y Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra Barcelona ² Servicio de Medicina de la Reproducción, Instituto Universitario Dexeus. Barcelona. España.

En mujeres portadoras de translocaciones, el Diagnóstico Genético Preimplantacional DGP permite seleccionar embriones cromosómicamente normales o equilibrados. Hemos realizado el DGP mediante análisis de primer corpúsculo polar (1CP) o de blastómeros de una mujer portadora de una translocación Robertsoniana: 45,XX,t(13;14)(q10;q10).

En un ciclo estándar de FIV, se obtuvieron 26 ovocitos de los cuales 12 eran maduros y 14 VG. El DGP-1CP o BL se realizó en los 12 ovocitos maduros mientras que los 14 inmaduros se mantuvieron en cultivo para análisis citogenético. Los 12 ovocitos fueron inseminados mediante microinyección espermática 1 hora después de la punción folicular, justo antes de realizar la biopsia de 1CP mediante un sistema láser adaptado a un microscopio invertido. Cada 1CP fue fijado siguiendo una modificación del método descrito por Durban y col., (1998;Hum. Reprod. 13(3):583-587). El análisis citogenético se realizó aplicando dos rondas de FISH utilizando sondas de DNA apropiadas para los cromosomas 13 y 14 (LSI 13 S. green, Telvysion 14q S. orange, WCP 13 FITC and WCP 14 Cy3)

El DGP-1CP se realizó en 7 de los 12 ovocitos maduros, en los 5 restantes y debido a que el 1CP era fragmentado, se había lisado durante el proceso de biopsia o de fijación o el resultado de FISH no fue informativo, el DGP se realizó en un blastómero de los correspondientes embriones.

Cinco de los 12(41,7%) ovocitos maduros eran cromosómicamente normales o equilibrados mientras que cinco(41,7%) eran cromosómicamente desequilibrados (tres nulisómicos para el cromosoma 14, un nulisómico para los cromosomas 13 y 14 y un disómico para el cromosoma 14) y dos (16,6%) no fueron diagnosticados. Tres de los cinco ovocitos normales o equilibrados fueron transferidos en día 3 y se está pendiente de la b_HCG.

Diez de las 14(71,4%) VG maduraron in vitro (MIV+) mientras que cuatro (28,6%) restantes degeneraron. Los 10 MIV+ fueron fijados enteros y analizados mediante FISH. Cinco de los 10 ovocitos MIV+ (50%) eran cromosómicamente normales o equilibrados, tres de los 10 (30%) eran cromosómicamente desequilibrados (dos eran resultado de una segregación 3:0 con cromátides separadas para los cromosomas 14 y der.13/14 y uno era nulisómico para el cromosoma 14) y los dos restantes (20%) no fueron diagnosticados.

Globalmente, un 81'8% (18/22) de los ovocitos o correspondientes embriones procesados fueron diagnosticados de los cuales el 55'6% (10/18) era portador de dotaciones cromosómica normales o equilibradas mientras que el 44,4% (8/18) eran desequilibrados.

Agradecimientos: FIS 98/0031-02, CIRIT 1999-SGR-00104. Dirección actual de M. Durban: Clínica EUGIN. C. Entenza 273. 08021, Barcelona.

Aire vs medio de cultivo (G2.2) para transferencia embrionaria tras Fecundación in Vitro.

Vidal E., Moreno V, Calafell JM, Cívico S, Peñarrubia J, Manau D, Balasch J, Vanrell JA.

Institut Clínic de Ginecologia, Obstetrícia i Neonatologia. Hospital Clínic. Barcelona.

OBJETIVO

Comparar los resultados en cuanto a tasas de implantación y de gestación en FIV al realizar la transferencia embrionaria con la jeringa cargada con aire o medio de cultivo (G2.2, Vitrolife, Suecia).

DISEÑO

Estudio prospectivo randomizado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 96 pacientes del programa de Fecundación in Vitro candidatas a FIV o ICSI. La estimulación ovárica se realizó con gonadotrofinas bajo supresión hipofisaria con análogos de la GnRH. La transferencia embrionaria se realizó a las 48-72 horas de la punción-aspiración folicular. Grupo A: 49 pacientes en las que la transferencia embrionaria se realizó cargando la jeringa con aire. Grupo B: 47 pacientes en las que la transferencia se realizó cargando la jeringa con medio de cultivo.

RESULTADOS

No se encontraron diferencias significativas entre los grupos A y B en cuanto a las características epidemiológicas basales de las pacientes, respuesta ovárica a la estimulación ni resultados de la FIV en el laboratorio. El número y calidad de los embriones transferidos así como el día de la transferencia, fueron similares en ambos grupos. La tasa de implantación fue del 24,4% en el Grupo A y 18,8% en el Grupo B. La tasa de gestación fue del 42,9% en el Grupo A y 34% en el Grupo B.

CONCLUSIONES

Aunque las diferencias entre ambos grupos de estudio no resultaron estadísticamente significativas debido al tamaño de la muestra, nuestros resultados apoyan el uso de aire versus medio de cultivo en la jeringa de transferencia.

Tasa de implantación en D+2 vs D+3 en pacientes con niveles de E2 >3000 pg/ml el día de la administración de HCG

Cívico S, Vidal E, Calafell JM, Moreno V, Creus M, Fabregues F, Balasch J, Vanrell JA.

Institut Clínic de Ginecologia, Obstetrícia i Neonatologia. Hospital Clínic. Barcelona.

OBJETIVO

Determinar si los niveles suprafisiológicos de E2 en el ciclo de FIV pueden asociarse a una reducción de la tasa de implantación según el día de la transferencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizan retrospectivamente 75 casos de ciclos de FIV en los que la cifra de E2 > 3000 pg/ml. En 43 casos la transferencia se realizó en D+2 (Grupo1) y en 22 casos en D+ 3 (Grupo 2). Como grupo control se incluyeron 108 casos de ciclos de FIV en los que el nivel de E2 el día de la administración de la HCG era (2000 pg/ml. En 75 casos la transferencia se practicó en D+2 (Grupo 3) y en 33 casos en D+3 (Grupo 4). Todas las pacientes fueron estimuladas bajo supresión hipofisaria y con FSH. En todos los casos la edad era (38 años, el número de ovocitos recuperados(4 y la causa de esterilidad de las parejas era exclusivamente masculina. Periodo de estudio: Enero 1999-Diciembre 2000.

RESULTADOS

Las tasas de embarazo e implantación en los grupos 1 y 2 fueron de 32.55% y 14.82% vs 50% y 21.21%, respectivamente. En el caso del grupo control, las tasas de embarazo e implantación en los grupos 3 y 4 fueron de 48% y 22.37% vs 51.51% y 25.80%.

CONCLUSIONES

Cifras superiores a 3000 pg/ml de estradiol el día de la administración de la HCG hacen aconsejable la transferencia de embriones en D+3.

Primeros embarazos obtenidos mediante diagnóstico genético preimplantacional (DGP)

Fernández García M, Romero Roncero C, de la Fuente Hernández A, Fernández García E

Laboratorio de FIV, Fundación Jiménez Díaz. Madrid

INTRODUCCIÓN

La incorporación de la Genética ha ofrecido nuevas posibilidades en el campo de la Reproducción Humana, en concreto en el Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP); el cual nos permite analizar las anomalías cromosómicas y genéticas antes o después de la fertilización (ovocitos o embriones respectivamente) pero siempre antes de la implantación del embrión en el útero, ofreciendo así una alternativa a la interrupción del embarazo después de un Diagnóstico Prenatal (DP) a parejas en riesgo de transmitir una enfermedad genética grave a su descendencia.

Nuestra Unidad de Reproducción Humana de La Fundación Jiménez Díaz, se propuso a partir del 1997 incorporar el DGP a la rutina del Laboratorio de FIV, habiendo realizado desde Julio de 1999 hasta la fecha veinte ciclos de FIV-DGP para el estudio de aneuploidías cromosómicas y selección del sexo del embrión en enfermedades genéticas ligadas al sexo (cromosoma X) en diez pacientes. Presentamos los dos primeros embarazos obtenidos en dos pacientes, una portadora de agammaglobulinemia y otra infertil.

El estudio genético realizado en los embriones obtenidos tras la FIV se ha realizado mediante la Hibridación in situ fluorescente (FISH), primero se hibrida con sondas específicas de los cromosomas sexuales X,Y y después deshibridación/hibridación con sondas de los cromosomas autosómicos 13,21; con el fin de detectar el sexo y el estatus de ploidía de los cromosomas estudiados en aquellos casos que ha sido posible.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado un total de 6 ciclos de FIV-DGP. La biopsia se realiza en embriones en estadio de 6-8 células en el día +3 postinseminación. Una vez obtenidos los blastómeros, se fijan aplicando el método de Tarkowski's, con pequeñas modificaciones. Primero se hibrida con la sonda centromérica XY (CEP X Spectrum Orange y CEP Y Spectrum Green) (Vysis) y después deshibridación/hibridación con las sondas de los cromosomas autosómicos 13/21 (LSI 13 Spectrum Green y LSI 21 Spectrum Orange) (Vysis).

RESULTADOS

Se han realizado 6 ciclos de FIV-DGP y se han analizado 35 embriones mediante FISH. Se han realizado un total de 5 transferencias, consiguiendo 2 embarazos uno gemelar y otro único, en ambos casos se ha realizado diagnóstico prenatal. El número de embriones transferidos fue de dos embriones de sexo femenino en el caso del embarazo único y de tres embriones dos de sexo masculino, uno femenino en el caso del embarazo gemelar.

Han nacido los dos gemelos a las 32 semanas, un niño de 2,100 Kg y una niña de 1,750 Kg y el otro embarazo está en curso.