

Transporte de Gametos y Embriones: Resultados en ciclos de FIV e ICSI

Transport of gametes and embryos: Results of IVF and ICSI's cycles

Javier I. García, L. Noriega-Hoces

Grupo PRANOR de Reproducción Asistida, Clínica Concebir, Lima - Perú

Resumen

El presente es un estudio retrospectivo de procedimientos de FIV e ICSI con transporte de gametos y embriones llevados a cabo en un centro periférico en Perú entre Agosto del 2002 y Agosto del 2003, donde fueron obtenidos los ovocitos y espermatozoides que fueron luego transportados, en una incubadora portátil (JCD, France), hacia el laboratorio central donde se realizó el procedimiento de FIV, ICSI y desarrollo embrionario. Los embriones fueron cultivados durante 48 a 72 horas post-aspiración y luego nuevamente transportados hacia el centro periférico para ser transféridos al útero de las pacientes. Se realizaron 23 aspiraciones foliculares; siendo 13 de ellos procedimientos de FIV y 10 procedimientos de ICSI. Se obtuvieron un total de 151 ovocitos de los cuales, fueron inseminados 126 ovocitos metafase II (83,4%; 66 y 60 ovocitos por FIV e ICSI respectivamente). 16-18 horas post-inseminación, hubo fecundación (2PN) en el 66,7% de ciclos de FIV y en el 81,7% de ciclos de ICSI. Se realizaron un total de 20 transferencias de embriones; 10 fueron ciclos de FIV y 10 ciclos de ICSI. Se lograron 7 embarazos clínicos (3 de ciclos de FIV y 4 de ciclos de ICSI) naciendo 8 bebés saludables de 5 partos.

Palabras clave: FIV. ICSI. Transporte. Gametos. Tecnologías de Reproducción Asistida (ART).

Summary

The present is our experience about gametes transport in Peru between august 2002 and August 2003. The oocytes and spermatozoa were transported under controlled condition from the periphery center to central laboratory. There were 23 follicular aspirations (thirteen cycles of IVF and ten cycles of ICSI). A total 151 oocytes was obtained and were inseminated 126 oocytes in metaphase II. The fertilization was evaluated 16-18 hours post-insemination in pronucleus stage. The fertilized oocytes (IVF: 66.7%; ICSI: 81.7%) were further cultured for 24 to 48 before being transported and transferred to the patient, whom received vaginal luteal supplementation. There were 20 embryos transfers: 10 were IVF's cycles and 10 ICSI's cycles and were achieved 7 clinical pregnancies and finally eight babies healthfully were born.

Key words: IVF. ICSI. Transport. Gametes. ART.

Correspondencia: Dr. D. Javier I. García
Laboratorio de Reproducción Asistida
Clínica Concebir
Los Olivos 364 - San Isidro
Lima, Perú
e-mail: jgarciaf@fertilidadperu.com

INTRODUCCIÓN

Los procedimientos de Reproducción Asistida (RA) constituyen métodos alternativos para una variedad de condiciones de infertilidad. La fecundación in Vitro (FIV) y la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI) son hoy en día, los tratamientos más avanzados dentro de las tecnologías de reproducción asistida (TRA). El costo asociado a estos procedimientos constituye uno de los factores limitantes más importantes para que parejas con problemas de fertilidad puedan acceder a los centros y técnicas especializadas de RA. Una alternativa a estos casos es la creación de centros periféricos al laboratorio central, que permitirían disminuir los costos de los procedimientos, elevar el acceso de aquellos profesionales de la salud que no pertenecen a un centro especializado de RA y otorgar la oportunidad a parejas infértiles de lograr un embarazo exitoso mediante las TRA a un costo accesible.

Punto crucial de la creación de los laboratorios periféricos es el transporte de ovocitos y espermatozoides, los cuales deben ser llevados desde el lugar de obtención hacia el laboratorio central bajo condiciones adecuadas que no afecten su viabilidad y capacidad de producir embriones viables. Esta estrategia evita los altos costos de equipamiento y mantenimiento que son requeridos para un adecuado desarrollo de los laboratorios de Reproducción Asistida y permite tener un control de calidad y uniformidad metodológica de los procedimientos de FIV e ICSI.

La alternativa de los laboratorios periféricos fue por primera vez aplicada y probada por Planchot y col. (1984) (1) en París y Feichtinger and Remeter (1984) (2) en Viena. Posteriormente, Balet y col. (1995) (3) y Alfonsín y col. (1998) (4) en Argentina han logrado resultados aceptables en el transporte de gametos y obtención de embarazos exitosos.

La aplicación de este sistema constituye una gran ventaja para aquellos profesionales de la salud que no están formalmente afiliados a un centro de RA, los cuales no necesariamente tendrán que derivar a sus pacientes a los centros especializados; sino que trabajarían en conjunto con ellos bajo lineamientos dados por el laboratorio central.

El presente trabajo describe la experiencia de nuestro grupo en el transporte de gametos y procedimientos de FIV e ICSI comparando estos resultados con aquellos disponibles en la literatura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

En el presente estudio se estudiaron 23 parejas de un centro periférico que realizaron ciclos de FIV o ICSI (13 parejas en ciclos de FIV, y 10 parejas en ciclos de ICSI) con transporte de gametos y embriones a un costo reducido, siendo el Laboratorio de Reproducción Asistida del Instituto de Ginecología y Reproducción el centro donde se realizó el procedimiento de FIV e ICSI. Los procedimientos se llevaron a cabo entre Agosto del 2002 y Agosto del 2003.

Las características de los grupos evaluados se muestran en la Tabla 1.

Las pacientes fueron sometidas a procedimientos de estimulación ovárica controlada, bajo lineamientos dados por el laboratorio central, con agonista de la GnRH (Acetato de Leuprolide, Lupron® Laboratorios Abbott), FSHr (Gonal-F® Laboratorios Serono) y/o HMG (Humegon® Laboratorios Organon). El desarrollo folicular se monitorizó mediante ecografía transvaginal hasta el día en que dos o más folículos alcanzaron un diámetro 18 mm y entonces se admi-

Tabla 1
Características de los grupos evaluados

Característica	FIV	ICSI
Número de Pacientes	13	10
Edad (años) (rango)	35,08±4,96 (24 - 43)	35,00±2,83 (30 - 41)
Causa de Infertilidad ¹		
Factor Tubárico	2 (15)	
Factor ovárico	9 (69)	3 (30)
Factor Masculino	2 (16)	2 (20)
Causa Múltiple		5 (50)

¹Valores entre paréntesis son porcentajes del número total de pacientes

nistró la hCG (10000 U dosis única; Pro fasi®, laboratorios Serono).

Aspiración Folicular

La aspiración folicular se llevo a cabo 34 a 36 horas después de la aplicación intra muscular de la hCG. La punción folicular se realizó ecográficamente vía vaginal con aguja y la paciente bajo anestesia general (Diprivan®, 1%P/V; Laboratorios AstraZeneca, UK). El líquido folicular aspirado fue evaluado bajo lupa estereoscópica donde luego de ubicar y evaluar los complejos ovocito-cúmulo-corona (OCC), éstos fueron lavado rápidamente y colocados en medio de cultivo HTF-Hepes suplementado con 10% de suero sintético sustituto (SSS) (Irvine Scientific, USA).

Transporte de ovocitos-cúmulo-corona (OCC)

Luego de terminada la aspiración folicular, los OCC fueron colocados en tubos Falcon 2011 (Becton Dickinson Labware, NJ) conteniendo 1 mL de medio HTF-Hepes suplementado con 10% de SSS y colocados en la incubadora portátil (JCD, France) a 37°C, la cual durante el transporte al laboratorio central estuvo operativa mediante una batería de 12 V.

Procedimiento de FIV e ICSI

El tiempo de transporte del centro periférico al laboratorio central osciló entre 30 y 55 minutos y la temperatura entre 36,5 y 37,0°C. Luego del arribo al laboratorio central, los complejos OCC fueron pasados de los tubos en la incubadora de transporte a las cápsulas de cultivo conteniendo medio HTF suplementado con 10% SSS (Irvine Scientific, USA) y cultivados bajo aceite mineral a 37°C y una atmósfera de 5,2% de CO₂ en aire.

En aquellos procedimientos de fecundación in Vitro (FIV), la inseminación de ovocitos se realizó a las 40 horas post-aplicación de la hCG con 50.000 a 100.000 espermatozoides móviles; igualmente en aquellas parejas con indicación de ICSI la inyección se realizó aproximadamente a las 40 horas post hCG.

La fecundación fue evaluada entre las 16-18 horas después de la inseminación y/o inyección, mediante la visualización de los pronúcleos masculino y femenino. Los ovocitos fecundados fueron transferidos a medio HTF suplementado con 20% SSS (Irvine Scientific, USA) y cultivados por 24 a 48 horas más antes de ser transferidos al útero de la paciente.

Para la transferencia, los embriones fueron nuevamente colocados en tubos Falcon 2011 (Becton

Dickinson Labware, NJ) conteniendo 1 mL de HTF-Hepes suplementado al 50% SSS (Irvine Scientific, USA) y transportados en la incubadora portátil al laboratorio periférico donde fueron transferidos al útero de la paciente utilizando un catéter Frydman Soft (CCD Laboratorio, France). La fase lútea fue sustentada mediante la aplicación vaginal de óvulos de progesterona micronizada (Utrogestan 100 mg/óvulo; 2 óvulos/3 veces al día).

Muestras seminales

Las muestras seminales fueron colectadas en frascos estériles mediante masturbación, al término de las aspiraciones foliculares y transportadas al laboratorio central. Los espermatozoides fueron recuperados mediante gradiente de densidad (Irvine Scientific, USA) lavados con medio HTF-Hepes suplementado con 10% SSS (Irvine Scientific, USA) y almacenados a temperatura ambiente hasta el momento de la inseminación.

RESULTADOS

Transporte de gametos

El tiempo de transporte desde el laboratorio periférico al central osciló de 30 a 55 minutos con un promedio de 43,54±11,23 minutos (Promedio±DS). Durante el transporte la temperatura osciló entre 36,5° y 37°C. La recuperación de complejos OCC y embriones desde los tubos Falcon 2011 de transporte hacia las cápsulas de cultivo y transferencia fue 100%.

Transporte de FIV / ICSI

Los resultados obtenidos luego del proceso de FIV e ICSI con transporte de gametos y embriones se resumen en la tabla 2. La tasa de fecundación fue 66,7% y 81,7% en los procedimientos de FIV e ICSI respectivamente. Se realizaron 20 transferencias embrionarias (10 ciclos de FIV y 10 ciclos de ICSI), lográndose 7 embarazos clínicos que cursaron desarrollo normal y de los cuales nacieron 8 bebés saludables. En ciclos de ICSI hubo 4 embarazos clínicos; de los cuales dos llegaron a término siendo partos únicos. En ciclos de FIV hubo 3 embarazos clínicos de los cuales nacieron 6 bebés saludables; tres ciclos de FIV fueron cancelados, dos de ellos por falla de fecundación y el tercero por mala calidad embrionaria. El porcentaje de embriones de buena calidad (Grado 1 - 2a: Blastómeras simétricas y de 0 a

Tabla 2*Tasa de fecundación y tasa de embarazo. Características de los grupos evaluados*

Característica	FIV	ICSI
Nº de ciclos	13	10
Nº de ovocitos aspirados	6,23±3,96	7,00±4,24
Nº de ovocitos inseminados	5,08±4,01	6,00±3,83
Nº de ovocitos fecundados	4,00±3,16	4,90±3,11
Tasa de Fecundación (%)	66,7	81,7
Tasa de Clivaje (%)	91	100
Embriones Grado 1 - 2a (%)	77,3	65,3
Nº de embriones transferidos	2,40±0,84	2,70±0,48
Ciclos con transferencia embrionaria	10	10
Tasa de Embarazo (%)	30	40
Tasa de Implantación (%)	25	14,8
Tasa de Parto (%)	100	50

<10% de fragmentación) fue adecuado en los embriones cultivados. Las transferencias embrionarias se realizaron a las 48 y 72 horas post-aspiración, en 7 y 13 ciclos respectivamente.

DISCUSIÓN

El propósito del presente estudio fue evaluar si el transporte de gametos y embriones bajo condiciones adecuadamente controladas, desde un centro periférico en el cual se realiza la obtención de ovocitos y muestra seminal hacia un laboratorio central donde se lleva a cabo el procedimiento de FIV y/o ICSI, afecta el proceso de fecundación y desarrollo embrionario.

La idea de transportar gametos desde un centro periférico hacia uno central donde se lleva a cabo el FIV y/o ICSI permitiría a aquellas parejas que no pueden acceder fácilmente, por motivos económicos o de ubicación geográfica a los principales centros de reproducción asistida del país, lograr un embarazo exitoso. Asimismo, resulta importante para aquellos profesio-

nales dedicados a la medicina reproductiva que no se encuentran afiliados a un centro de reproducción asistida ofrecerles a sus pacientes las TRA sin tener que derivarlos a los especialistas de dichos centros.

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran la viabilidad del mismo, siendo la tasa de embarazo por transferencia obtenida similar a otros estudios reportados. Así, Feichtinger y Remeter (1984) (2) evaluaron un grupo de 29 pacientes de las cuales a 16 de ellas se les realizó transferencia embrionaria (55%), logrando una tasa de embarazo clínico de 19%. Por otro lado, Kingsland y col. (1992) (5) realizaron la aspiración folicular en un grupo de 26 pacientes, que ingresaron a un programa de FIV, de las cuales 24 de ellas tuvieron transferencia de embriones al segundo día post-aspiración y logrando finalmente una tasa de embarazo clínico de 29%. Zeilmaker y col. (1987) (6) igualmente reportaron tasas de embarazo clínico (24%) similares a los obtenidos por otros estudios antes mencionados; los cuales, son similares a las tasas de embarazo clínico reportados en el presente estudio (Tabla 3).

Tabla 3*Resultados de otros grupos que han realizado transporte de gametos y embriones en FIV*

	Nº ciclos Aspirados	Nº ciclos Transferidos	Embarazos Clínicos
Fleichtinger and Remeter (3)	29	16 (67%)	19%
Zeilmaker y col. (9)	1721	1361 (79%)	24%
Kingsland y col. (6)	26	24 (92%)	29%
Alfonsín y col. (1)	575	480 (83%)	21%
Presente estudio	23	20 (87%)	35%

Las condiciones de transporte utilizado en el presente estudio fueron establecidas de acuerdo a parámetros propios de nuestro laboratorio de Reproducción Asistida, basados en lineamientos básicos establecidos dentro de las técnicas de TRA. Asimismo, el efecto de la intensidad de luz y temperatura durante la aspiración folicular y transferencia embrionaria fueron considerados de acuerdo a estudios previos (7-9).

En conclusión, el sistema de transporte de gametos y embriones resultó válido como opción a aquellas parejas que por razones económicas o de lugar de residencia no puede acceder fácilmente a los principales centros especializados en medicina reproductiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Planchot M, Mandelbaum J, Cohen J, Salat-Baroux J.:** Organization of human IVF centers on the basis of egg and embryo transportation. Recent progress in human in vitro fertilization. Palermo, Cofese. 1984; 216-222.
2. **Feichtinger W, Kemeter P.:** Organization and computerized analysis of in vitro fertilization and embryo transfer programs. J In Vitro Fertil Embryo Transf. 1984; 1: 134-141.
3. **Balet R, Mehta J, Lower A, Wilson C.:** Transport IVF: an old concept for the future. Assisted Reprod Reviews. 1995; 5: 102-105.
4. **Alfonsín A, Amato A, Arrighi A, Blaquier J, Cogorno M, Fieldman E.:** Transport in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: results of a collaborative trial. Fertil Steril 1998; 69: 466-470.
5. **Kingsland C, Aziz N, Taylor C.:** Transport in vitro fertilization: a novel scheme for community based treatment. Fertil Steril 1992; 58: 153-159.
6. **Zeilmaker G, Alberra A, Jansen C.:** Results of IVF treatment combined with transport in Rotterdam. Ned. Tijdsch. Genesk. 1987; 131: 2198-2201.
7. **Fisher B, Schumacher A, Hogle-Hartung C, Befer H.:** Potential risk of light and room temperature exposure to preimplantation embryos. Fertil Steril. 1988; 50: 938-944.
8. **Johnson M, Pickering S, George M.:** The influence of cooling on the properties of the zona pellucida of mouse oocytes. Human Reprod. 1988; 3: 383-387.
9. **Roest J, Verhoeff A, Van Lent M, Huisman G, Zeilmaker G.:** Results of decentralized in-vitro fertilization treatment with transport and satellite clinics. Human Reprod. 1995; 10: 563-567.
10. **Zarutskie P, Kuzan F, Moore D, Soules M.:** An in vitro fertilization using satellite physicians. Obstet Gynaecol. 1988; 72(6): 929-934.