

Comparación del porcentaje de fecundación y la calidad embrionaria tras la realización de FIV e ICSI en un mismo ciclo de tratamiento: estudio preliminar.

Assessment of fertilization rate and embryo quality after FIV and ICSI in the same treatment cycle: Preliminary study

Navarro I, Quintero LA, Jiménez-Moreno V, Monzó A, Santana AG, Montañana V, Romeu A.
Instituto de Medicina Reproductiva (IMER). Valencia. España

Resumen

Objetivo: Comparar el porcentaje de fecundación y la calidad embrionaria tras ICSI y FIV en un grupo de pacientes a las que se les realizó ambas técnicas en un mismo ciclo de tratamiento.

Ámbito: Centro privado de diagnóstico y tratamiento de la esterilidad

Sujetos del estudio: Siete parejas con esterilidad primaria sin diagnóstico de factor masculino severo, a las que se les practicó al menos 4 ciclos de inseminación intrauterina sin gestar, antes de ser indicada una FIV/ICSI

Intervenciones: Estimulación ovárica, fecundación in vitro y microinyección espermática.

Principales variables de valoración: Porcentaje de fecundación, calidad embrionaria, porcentaje de implantación por embrión transferido.

Resultados: Se obtuvieron un total de 142 ovocitos, de los cuales 109 fueron clasificados como metafase II. El 43,1% fueron inseminados utilizando técnicas de fecundación in vitro convencional, mientras que el 56,9% fueron microinyectados. El porcentaje de fecundación tras fecundación in vitro fue del 76,6% y tras microinyección del 87,1% ($p=0,2$). El 30,5% y el 61,1% de los embriones obtenidos tras fecundación in vitro y tras microinyección espermática respectivamente, fueron considerados de buena calidad ($p=0,008$). La tasa de implantación tras FIV fue de 11,1% y tras ICSI de 28,5% diferencia que no alcanzó significación estadística ($p=0,6$).

Conclusiones: La tasa de fecundación observada en el presente estudio, tras fracaso de inseminación intrauterina, fue similar en FIV y en ICSI. Sin embargo, la calidad embrionaria fue significativamente mejor tras ICSI que tras FIV, aunque la tasa de implantación no mostró diferencias estadísticamente significativas.

Palabras Clave: Fecundación in vitro. Microinyección espermática. Calidad embrionaria. Porcentaje de fecundación.

Correspondencia: Inmaculada Navarro Sanz
Instituto de Medicina Reproductiva (IMER)
C/ Santísima Trinidad, 45
46110-Godella (Valencia)
E. Mail: imer@arrakis.es

Summary

Objective: To compare the fertilization rate and embryo quality after IVF and ICSI in patients undergoing both procedures in the same cycle of treatment.

Setting: Private unit of sterility diagnosis and treatment

Patient(s): Seven couples with diagnosis of primary infertility, with non severe male factor indication after failed intrauterine insemination at least 4 times.

Intervention(s): Ovarian stimulation, in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection.

Main outcome measures: Fertilization rate, embryo quality, embryo implantation rate.

Results: 142 oocytes were recovered, 109 of these were classified metaphase II. The 43,1% were inseminated by conventional IVF procedures and 56,9% were injected with single sperm (ICSI). There was no significant difference in fertilization rates between ICSI (87,1%) and conventional IVF (76,6%). ICSI resulted in better formation of good-quality embryos (61,1%) compared with conventional IVF (30,5%), this difference was significant ($p=0,008$). There was no significant difference in implantation rate between ICSI (28,5%) and conventional IVF (11,1%).

Conclusions: There was no significant difference in fertilization rate between ICSI and conventional IVF in couples after failed intrauterine insemination. However, the embryo quality was better after ICSI than IVF. The implantation rate was similar in both procedures.

Key words: In vitro fertilization. Intracytoplasmic sperm injection. Embryo quality. Fertilization rate.

INTRODUCCIÓN

La microinyección espermática (ICSI) nació como una alternativa de tratamiento para aquellos casos en que la esterilidad era consecuencia de un factor masculino severo. Sin embargo, actualmente se discuten otras indicaciones para su uso, por ejemplo en casos de sospecha de mala calidad ovocitaria (endometriosis y mujer de edad avanzada) aunque el factor masculino sea normal (1).

También se ha sugerido que la ICSI podría ser una mejor alternativa que la fecundación in vitro (FIV), ya que mejoraría el porcentaje de fecundación, en parejas con esterilidad inexplicable que no hayan conseguido gestar tras varios intentos de inseminación intrauterina (IIU) (2) o tras inseminación intraperitoneal (DIPI) (3).

Está descrito que la exposición del ovocito a un medio con abundantes espermatozoides, como ocurre en la FIV, podría ser deletéreo en términos de fecundación y división embrionaria, ya que se expone a una alta concentración de enzimas espermáticas que pueden ejercer un efecto negativo sobre él (1), este fenómeno no ocurriría con la ICSI y esto podría condicionar un mejor porcentaje de fecundación así como una mejor calidad embrionaria con la ICSI que con la FIV en casos sin un factor masculino severo.

El objetivo del presente trabajo es comparar el porcentaje de fecundación, la calidad embrionaria y el porcentaje de implantación tras FIV e ICSI. Con el

fin de evitar posibles sesgos en relación con diferencias entre distintos ciclos de tratamiento, el presente estudio se realizó en un grupo de pacientes a las que se realizó ambas técnicas en el mismo ciclo de tratamiento, dividiendo los ovocitos para cada una de las técnicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos del estudio

Fueron estudiados 7 ciclos de hiperestimulación ovárica controlada para FIV/ICSI practicados a 7 pacientes durante el año 2000.

La media de edad de las mujeres fue de $33,1 \pm 2,5$ (29-37) años y de sus parejas de $36,0 \pm 4,3$ (32-43). La media de tiempo de su esterilidad fue de $1,7 \pm 0,3$ (1-2,3) años.

En todos los casos tras el estudio diagnóstico se concluyó que las mujeres presentaban una función reproductora aparentemente normal. En el caso de los varones el diagnóstico en todos los casos fue de oligoastenozoospermia leve, observándose una media de $14,2 \times 10^6 \pm 3,1 \times 10^6$ espermatozoides por ml y una motilidad del $32,5\% \pm 9,7\%$.

Las 7 parejas fueron incluidas en un programa de inseminación artificial en que se les realizó al menos 4 ciclos a cada una, sin haber logrado conseguir el embarazo con este tipo de tratamiento, por lo que se

indicó la realización de un ciclo de FIV/ICSI. En todos estos ciclos se produjo la ovulación, a juzgar por los niveles de progesterona observados durante la fase lútea y por la ruptura folicular comprobada por ecografía.

Estimulación ovárica

La estimulación ovárica se realizó bajo protocolo largo con la administración de acetato de leuprolide (Procrin® Laboratorios Abbott. Madrid) a una dosis de 0,5 mg/día. Tras comprobar supresión hipofisaria se inició la administración de FSH-r (Gonal-F® Lab. Serono. Madrid; Puregon® Lab. Organon. Barcelona) a una dosis de 300 UI/día durante 5 días, tras lo cual la dosis diaria fue ajustada en función de la respuesta individual.

El control del desarrollo folicular se realizó con determinaciones de estradiol sérico y ecografía transvaginal.

En el momento que se observaron criterios de una adecuada madurez folicular (al menos 4 folículos ≥ 16 mm y niveles de estradiol adecuados al desarrollo folicular) se indicó la administración de 10.000 UI de hCG (Profasi® Serono. Madrid).

La punción folicular se llevó a cabo 35 horas tras la administración de la hCG, bajo guía ecográfica. La transferencia embrionaria fue realizada 48 horas tras la captación de los ovocitos (4).

Se consideró tasa de implantación, como el número de sacos gestacionales observados ecográficamente a las 4 semanas de la transferencia, divididos por el número total de embriones transferidos.

Procedimientos de laboratorio

Tras la captación los ovocitos fueron clasificados de acuerdo a su estado de madurez nuclear e incubados durante al menos 1 hora en medio de cultivo (IVF médium® Medicult. Dinamarca).

Aproximadamente la mitad de los ovocitos clasificados como metafase II fueron desnudados y microinyectados, (ICSI) mientras que la otra mitad fueron inseminados con $10-20 \times 10^4$ espermatozoides por ovocito (FIV).

Tras 18 horas de la microinyección o inseminación fueron observados los ovocitos en busca de signos de fecundación (presencia de dos pronúcleos y dos corpúsculos polares), y fueron cambiados a nuevo medio de cultivo (IVF médium® Medicult. Dinamarca) los que estaban fecundados.

Los embriones fueron clasificados a las 48 horas tras la captación ovocitaria. Su clasificación se basó

en la morfología de las blastómeras y su grado de fragmentación, considerando embriones de buena calidad aquellos que presentaban blastómeras simétricas y un grado de fragmentación menor o igual al 25%, tal y como lo describe Veeck L. (5).

La muestra de semen utilizada para la microinyección (ICSI) e inseminación (FIV) fue capacitada mediante técnica de swim-up.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo en un ordenador Macintosh®, utilizando el paquete estadístico StatView. La significación de las diferencias fue estimada usando las pruebas de t de Student, chi-cuadrado y U de Man-Whitney. Las diferencias que mostraron valores de $p < 0,05$ fueron consideradas estadísticamente significativas.

Resultados

Fueron recuperados 142 ovocitos, lo que significó una media de $20,2 \pm 6,6$ (10-30) ovocitos por paciente. En total, 109 fueron clasificados como metafase II. De estos, 47 (43,1%) fueron inseminados siguiendo técnicas clásicas de fecundación in vitro (FIV) y 62 (56,9%) fueron microinyectados (ICSI). La media de ovocitos microinyectados (ICSI) por paciente fue de $8,8 \pm 2,3$ (5-12) y la de inseminados (FIV) $6,7 \pm 1,7$ (4-14).

De los 47 ovocitos inseminados (FIV) fecundaron 36 lo que corresponde a un porcentaje de fecundación del 76,6%, mientras que de los 62 ovocitos que fueron microinyectados (ICSI) fecundaron 54, lo que corresponde a un porcentaje de fecundación del 87,1%; estas diferencias no alcanzaron significancia estadística ($p=0,2$).

De los 36 embriones obtenidos tras FIV, 11 (30,5%) fueron considerados de buena calidad (blastómeras simétricas y $\leq 25\%$ de fragmentación), mientras que de los 62 obtenidos tras ICSI 33 (61,1%) se consideraron como embriones de buena calidad; esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,008$).

De los embriones obtenidos tras FIV, 9 fueron transferidos a tres mujeres, observándose implantación de uno de ellos, lo que representó una tasa de implantación por embrión transferido del 11,1%, mientras que de los 33 embriones obtenidos tras ICSI se transfirieron 14 a cuatro mujeres, e implantaron 4, lo que representó una tasa de implantación del 28,5%. Estas diferencias no alcanzaron significación estadística ($p=0,6$).

COMENTARIOS

¿Se debería realizar una ICSI en todos los casos en que está indicada una fecundación in vitro?. Esta es una pregunta que el especialista en reproducción asistida se plantea frecuentemente. Sin embargo, aún está sin respuesta.

Van Steirteghem y cols. (6) plantean una serie de preguntas que deberían contestarse afirmativamente antes de decidir hacer una ICSI a todos los casos, estas preguntas son: i) ¿es la fecundación normal y la división embrionaria mejor con la ICSI que con la FIV? ii) ¿con la ICSI se podrían disminuir los casos de fallo total de fecundación inesperada que se observan con la FIV? iii) ¿el potencial de implantación embrionaria es similar tras FIV e ICSI? iv) existen más problemas durante el embarazo y con los niños nacidos tras ICSI que tras FIV?

En el presente estudio el porcentaje de fecundación, aunque superior tras ICSI (87,1%) comparado con FIV (76,6%), no mostró diferencias estadísticamente significativas, por lo que en base a nuestros resultados no se puede concluir que con la ICSI se obtenga un porcentaje de fecundación superior que con la FIV convencional, al menos en los casos en que no está involucrado un factor masculino severo, lo cual es descrito de forma similar por otros autores (7). Sin embargo, otros autores describen un porcentaje de fecundación significativamente superior con el uso de la ICSI frente a la FIV (6). Si bien existe controversia en relación con la superioridad del porcentaje de fecundación de la ICSI sobre la FIV, al menos parece estar claro que con ambas técnicas se obtienen resultados similares de fecundación cuando un factor masculino severo no está involucrado.

En base a los resultados obtenidos en relación con las tasa de fecundación, tanto en FIV como en ICSI en que no se observaron diferencias significativas, se debería considerar el uso de cualquiera de las dos técnicas cuando se trata de una pareja que ha tenido un fracaso en un programa inseminación intrauterina. Sin embargo, el escaso número de casos del presente estudio no permite sacar conclusiones al respecto.

En relación con el hecho de que con la ICSI podrían superarse los casos de fallo total de fecundación inesperados en FIV, si bien este factor no está contemplado en el presente trabajo, se debe mencionar que está descrito que la ICSI puede superar los casos de fallo de fecundación inesperado en una FIV, con similares porcentajes de fecundación, implantación y embarazo que los observados con el uso de la ICSI en casos de factor masculino severo (8).

En relación con la calidad embrionaria, el presente estudio y otros relacionados (6, 9) parecen demostrar que la misma es superior tras el uso de la ICSI. Parecería ser que pese a que con la ICSI es necesario atravesar el ovocito con una aguja, esto causaría menos injurias sobre él, que las causadas por las enzimas liberadas por la alta concentración de espermatozoides (100.000-200.000) que suele utilizarse para la fecundación en FIV. Esto concuerda con estudios realizados que describen que el número de espermatozoides que llegan a la trompa de falopio para tratar de fecundar al ovocito es de tan solo 200 aproximadamente (10).

Si entendemos que para un correcto “diálogo embrión-endometrio” durante el proceso de implantación es necesario una buena calidad embrionaria, parecería razonable pensar que si con la ICSI se obtienen embriones de mejor calidad que con la FIV, éstos deberían tener un mayor potencial de implantación. Sin embargo, aunque se observó un mayor porcentaje de implantación con los embriones provenientes de la ICSI, las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas. Sería conveniente realizar estudios con series más amplias para valorar este hecho y tener respuestas concluyentes al respecto.

El escaso número de casos incluidos en el presente estudio no permite obtener conclusiones definitivas. No obstante de confirmarse los resultados en series más amplias podría apoyar la indicación de ICSI en pacientes con fracaso previo tras inseminación intrauterina y alteraciones espermáticas discretas.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Hidekazu S, Takakazu S, Tomoko K, Isoji S, Takeshi K, Masahiko H.:** Relatively poor quality is an indication for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil & Steril*, 2000, 73:465-469.
2. **Ruiz A, Remohi J, Minguez Y, Guanes PP, Simón C, Pellicer A.:** The role of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in couples with unexplained infertility after failed intrauterine insemination. *Fertil & Steril*, 1997, 68:171-173.
3. **Takeuchi S, Minoura H, Shibahara T, Shen X, Futamura N, Toyoda N.:** In vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection for couples with unexplained infertility after failed direct intraperitoneal insemination. *J Assist Reprod Genet*, 2000, 17:515-520.
4. **Quintero LA, Diez E, Peiró T, Abad A, Bosch E, Monzó A, Romeu A.:** Embarazo ectópico en pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida y cirugía de reconstrucción tubárica. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*, 14: 129-134, 1997.
5. **Veek L.:** Evaluación de ovocitos y preembriones en

- el laboratorio FIV. En: Remohi J, Pellicer A, Bonilla-Musoles F, editores. *Avances en Reproducción Asistida*. Madrid: Ediciones Diaz de Santos S.A, 1992, p. 117-162.
6. **Van Steirteghem A, De Vos A, Staessen C, Verheyen G, Bonduelle M.:** Should ICSI apply to all IVF cycles? En: Shoham Z, Howles C, Jacobs H, editores. *Female infertility therapy*. 1 ed. London: Martin Dunitz Ltd, 1999, p. 243-251.
 7. **Yang D, Shahata MA, al-Bader M, al-Natsha SD, al-Flamerzia M, al-Shawaf T.:** Intracytoplasmic sperm injection improving embryo quality: comparison of the sibling oocytes of non-male-factor copules. *J Assist Reprod Genet*, 1996, 13:351-355.
 8. **Benadiva CA, Nulsen J, Siano L, Jennings J, Givargis HB, Maier D.:** Intracytoplasmic sperm injection overcomes previous fertilization failure with conventional in vitro fertilization. *Fertil & Steril*, 1999, 72:1041-1044.
 9. **Khamsi F, Yavas Y, Roberge S, Wong J, Lacanna I, Endman M.:** Intracytoplasmic sperm injection increased fertilization and good-quality embryo formation in patients with non-male factor indications for in vitro fertilization: a prospective randomized study. *Fertil & Steril*, 2001, 75:342-347.
 10. **Ahlgren M.:** Sperm transport to and survival in the human fallopian tube. *Gynecol Invest*, 1975, 6:206-214.