

## Artículos Originales

# Fertilización *in vitro*; experiencia de tres años del grupo SER, en la Clínica Carlos Ardila Lülle

Javier Enrique Gómez Guarín <sup>1</sup>

Norma Cecilia Serrano Díaz <sup>2</sup>

Fernando Aparicio Higuera Escalante <sup>3</sup>

Carlos Hernán Becerra Mojica <sup>4</sup>

Javier Noriega Rangel <sup>5</sup>

José Alberto Pabón Pérez <sup>6</sup>

### Resumen

**S**e presenta el estudio y análisis retrospectivo de 3 años de trabajo en Fertilización *in vitro* (IVF), del grupo SER, de la Clínica Carlos Ardila Lülle de Bucaramanga; durante los cuales realizaron 68 ciclos. Se establecen correlaciones entre la edad de la paciente, etiología de la infertilidad, número de ciclos realizados por paciente con el éxito reproductivo, encontrándose que las tasas de embarazo corresponden a un 24,56%, teniendo mayor probabilidad de éxitos aquellas parejas donde la infertilidad es inexplicada y en segundo término aquellas donde la causa de ésta es debida a factor anatómico diferente a endometriosis.

### Palabras clave

IVF, infertilidad, reproducción asistida, bebé probeta.

### INTRODUCCION

La fertilización *in vitro* (IVF), es una técnica de reproducción asistida de probado beneficio en el tratamiento de la infertilidad. El primer éxito en el mundo se produjo en 1978 con el nacimiento de Louise Brown en Inglaterra <sup>1</sup>. Posteriormente han sido presentados informes de resultados satisfactorios en centros de fertilidad alrededor del mundo, que comprenden más de 16000 nacimientos tan sólo en los Estados Unidos y Canadá <sup>2</sup>.

En este artículo se presenta la experiencia en IVF del Servicio Especializado en Reproducción, Genética y Medicina Materno Fetal (SER), del

<sup>1</sup> MD, Especialista en Ginecología y Obstetricia, grupo SER (CMCAL)

<sup>2</sup> MD., MSc Genética Humana, grupo SER (CMCAL)

<sup>3</sup> Bacteriólogo, grupo SER (CMCAL)

<sup>4</sup> MD, Especialista en Ginecología y Obstetricia, Perinatología grupo SER, (CMCAL).

<sup>5</sup> MD, Especialista en Ginecología y Obstetricia, grupo SER (CMCAL).

<sup>6</sup> MD, Especialista en Urología, grupo SER (CMCAL).

**Correspondencia:** SER. Centro Médico Carlos Ardila Lülle, Urbanización el Bosque. Piso 4, Módulo 40, Torre B. Bucaramanga, Colombia.

Centro Médico Carlos Ardila Lülle (CMCAL), el cual inició labores en 1995. Se da a conocer a la comunidad científica los resultados obtenidos con las parejas que optaron por este método, incluyendo un análisis crítico de los primeros tres años de actividad en esta área de la infertilidad.

## METODOLOGÍA

### Información recolectada

Se revisaron las historias clínicas de las parejas que entre 1995 y 1997 fueron atendidas por el mismo grupo de trabajo para la realización de fertilización *in vitro*. Se tomó la información referente a edad de la pareja, etiología de la infertilidad, historia de IVF previo, éxito de la inducción ovular, número y grado de maduración de los oocitos aspirados, número de oocitos fecundados y grado máximo de desarrollo en que se transfirieron, presencia de gestación (preclínica y clínica), resultado de los embarazos logrados, así como las complicaciones que se presentaron.

Se calcularon seis *indicadores* para la evaluación del trabajo clínico realizado:

- *Proporción de respuesta*: Relación entre las mujeres que entraron al ciclo de estimulación y en las que se obtuvo buena respuesta folicular.
- *Proporción de fecundación*: Relación de oocitos aspirados que fueron luego fecundados.
- *Proporción de implantación*: Relación de mujeres en quienes se hizo transferencia de embriones y se detectó gonadotropina coriónica humana el día 12 postransferencia.
- *Proporción de embarazo clínico*: Relación entre las mujeres en quienes se hizo transferencia de embriones y en las cuales se detectó saco gestacional en la semana tres posterior a la transferencia.
- *Proporción de nacimientos*: Relación de mujeres transferidas y que finalmente tuvieron un parto al término.
- *Proporción de éxito*: Número de nacimientos a partir de los ciclos iniciados.

En los casos pertinentes en que se calcularon proporciones se incluyeron sus intervalos de confianza al 95% (IC 95%); igualmente se hizo la evaluación de las diferencias que estadísticamente pudiesen haber sido significativas, tomando como punto de referencia un alfa del 5% ( $p < 0.05$ ).

Las parejas que ingresaron al programa tuvieron una detallada historia clínica, incluyendo la evaluación del varón y un set de estudios básicos de los principales factores etiológicos: 1) Factor anatómico (videolaparoscopia e histeroscopia), 2) función ovárica (ecografía para docu-

mentar ovulación y perfil hormonal), 3) Factor masculino (espermograma básico), 4) Factor inmunológico (estudio de allo y autoinmunidad).

Aquellas parejas que posterior a la evaluación clínica su problema de infertilidad no era posible manejarlo con tratamientos tales como cirugía, hormonales, o inseminación intracavitaria, fueron sometidas a IVF. Estas parejas recibieron una detallada información sobre el procedimiento, sus alcances, tasa de éxito reproductivo, posibles complicaciones y posteriormente firmaron el consentimiento informado para el inicio del ciclo.

### Inducción de la Ovulación

Para la hiperestimulación ovárica se utilizaron dos esquemas:

- 1) Clásico: Combinación de citrato de clomifeno y gonadotropina menopáusica humana, administrados en forma coincidente no secuencial.
- 2) Análogos de la GnRH: Se utilizaron análogos por dos vías: a) vía subcutánea en protocolo corto (flare up), b) de depósito vía intramuscular (IM), administrando este último el primer día del ciclo menstrual; posteriormente el estímulo fue realizado con HMG.

Se utilizaron dos parámetros para evaluar la maduración folicular: las mediciones ecográficas del tamaño y número de los folículos y la determinación de  $17\beta$ -estradiol en plasma. Una vez alcanzados los criterios para la administración de HCG se indujo la ovulación con dosis de 5000 a 10.000 UI, para realizar la aspiración folicular entre 34 a 36 horas más tarde.

### Aspiración de oocitos

Este procedimiento fue realizado en quirófano, con la paciente bajo anestesia general, por vía transvaginal con guía sonográfica permanente<sup>3,4</sup>. Previo lavado de la cavidad vaginal con solución salina y yodopovirona, se empleó un transductor de alta frecuencia (7 MHz), y una aguja metálica teflonada de calibre 17 de un solo canal, realizando la aspiración de manera mecánica sin sobrepasar los 200 mm Hg.

Posterior a la aspiración la paciente permaneció en observación clínica durante cuatro horas, para luego ser dada de alta según evolución.

### Técnicas de laboratorio

El aspirado folicular es trasladado de inmediato al laboratorio de IVF, donde se procede a la identificación de los oocitos, clasificación según el grado de madurez y a su posterior inseminación. Pasadas 20 horas, se hace control de la fecundación y división del cigoto, y con base en estos resultados, se procede a la transferencia embrionaria, 24 horas más tarde.

**Identificación y clasificación de los oocitos.** A partir de los líquidos foliculares obtenidos de la aspiración, se identifican los oocitos por observación bajo estereoscopio, para ser lavados en medio Han F-10 (DIBCO BRL, N.Y.), modificado (LOPATA), y pasados a incubación, a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>.

La clasificación del oocito se basó en la morfología celular, teniendo como criterios, la expansión y brillantez del complejo corona/cúmulos la presencia o ausencia de membrana nuclear (vesícula germinal) y primer cuerpo polar del oocito recogido. Mediante este análisis, los oocitos son clasificados rápidamente como maduros, intermedios, e inmaduros<sup>5</sup>. Con base en esta clasificación, se determinó el momento de la inseminación.

**Inseminación.** El semen a utilizar en la inseminación, es capacitado por la técnica de migración-sedimentación<sup>6</sup>. Cada oocito fue inseminado con aproximadamente 100.000 espermatozoides obtenidos del cono central.

**Control de la fecundación y división del cigoto.** Una vez fueron inseminados los oocitos con el esperma capacitado, se incubaron durante un período de 17 a 20 horas, hasta que de nuevo se observaron al microscopio invertido, para determinar la existencia de fertilización.

Bajo visión en microscopio invertido, tres criterios definen si hubo o no fertilización: a) la presencia de dos pronúcleos en el citoplasma del oocito, de los cuales el de mayor tamaño suele ser el masculino, b) la presencia de dos corpúsculos polares en el espacio extracelular, y c) la presencia de restos del flagelo en el citoplasma<sup>7</sup>.

Comprobada la fertilización, los oocitos fertilizados se depositaron de nuevo en cajas con medio fresco e incubados hasta el día siguiente. A las 48 horas postinseminación, los cultivos fueron visualizados de nuevo para comprobar la existencia de división celular. Por lo general, en este momento, los embriones se encuentran en estadio de 2 a 4 blastómeras<sup>7</sup>, y se procede a la clasificación de éstos, para escoger los que serán transferidos.

#### Transferencia embrionaria y seguimiento de implantación

Los embriones son transferidos al útero materno por vía transcervical, mediante catéter de transferencia (Frydman, Francia). Fueron depositados a 1 cm del fondo uterino de 1 a 4 embriones vehiculizados, en una mezcla de suero materno, inactivado al 90% en LOPATA.

Para el mantenimiento de la fase lutea, posterior a la transferencia, se dio soporte hormonal exógeno con HCG o Progesterona, según los niveles hormonales previos a la aspiración y el esquema de hiperestimulación utilizado. Se realizaron controles hormonales posttransferencia los días 7 y 9 de estradiol y progesterona y el día 12 de estradiol, progesterona y HCG, para verificar si hubo implantación.

Verificado por ecografía transvaginal la presencia de embarazo, la paciente pasa a la consulta de Perinatología para recibir información sobre el manejo y seguimiento de su embarazo.

## RESULTADOS

En los tres años del estudio se realizaron 68 ciclos de IVF entre 60 parejas con infertilidad, cuatro de ellos utilizando óvulos donados. En 54 pacientes se realizó ciclo por primera vez (79.41%). No se utilizó semen de donante para ninguna de las inseminaciones. La edad de las mujeres era de 33.73 ± 5.16 años y la de los hombres de 36.53 ± 4.85 años. El diagnóstico que explica la infertilidad se puede apreciar en la Tabla 1, en donde es importante tener en cuenta que algunas pacientes pueden tener más de un factor etiológico de manera simultánea.

Luego de la inducción a la ovulación, en seis casos (8.82%; IC 95% 3.31 a 18.22%) fue necesario cancelar el ciclo por mala respuesta hormonal o de ovulación, aspirándose entonces 62 pacientes, entre quienes se obtuvieron 346 oocitos maduros y 139 inmaduros. A las 20 horas de la inseminación se obtuvo fertilización en 174 de estos (35.88%; IC 95% 31.60 a 40.32%), obteniéndose división celular estado de blastómeras en 145 (83.33%) y de pronúcleo en 29 (16.67%), correspondiendo a 58 de las mujeres aspiradas, no pudiéndose

**Tabla 1. Diagnóstico que justifica la infertilidad de las parejas en IVF**

| Diagnóstico         | Casos (%)*  | Nacimientos** |
|---------------------|-------------|---------------|
| Factor masculino    | 4 ( 6.67%)  | 0 (-)         |
| Factor anatómico    | 37 (61.67%) | 7 (18.92%)    |
| Trompa              | 25 (41.67%) | 6 (24.00%)    |
| Utero               | 13 (21.67%) | 3 (23.08%)    |
| Factor endocrino    | 9 (15.00%)  | 0 (-)         |
| Ovario androgénico  | 6 (10.00%)  | 0 (-)         |
| Anovulación crónica | 2 ( 3.33%)  | 0 (-)         |
| Defecto fase lútea  | 1 ( 1.67%)  | 0 (-)         |
| Factor inmunológico | 1 ( 1.67%)  | 0 (-)         |
| Autoinmunidad       | 1 ( 1.67%)  | 0 (-)         |
| Endometriosis       | 9 (15.00%)  | 2 (22.22%)    |
| Moderada            | 1 ( 1.67%)  | 0 (-)         |
| Severa              | 8 (13.33%)  | 2 (25.00%)    |
| Sin explicación     | 6 (10.00%)  | 2 (33.33%)    |

\* Las pacientes pueden tener más de un factor

\*\*Porcentaje en relación con las mujeres con este diagnóstico sometidas a IVF

transferir cuatro pacientes, por no haber evidencia de fertilización. Una paciente adicional no fue posible transferir por contaminación del cultivo con *Escherichia coli* que posteriormente se documentó como procedente del varón, quién presentaba una orquiepididimitis bacteriana evidente en el espermocultivo. En total se logró transferir en 57 de 62 mujeres que se aspiraron (91.94%; IC 95% 82.17 a 97.33%). En la Tabla 2 se aprecia esta misma discriminación en los tres años de trabajo del grupo.

Entre las 57 mujeres que se transfirieron se obtuvo 19 embarazos (33.33%; IC 95% 21.40 a 47.06%): 14 clínicos (73.68%; 24.56% entre los ciclos con transferencia, IC 95% 14.13 a 37.76%) y 5 preclínicos (26.32%). Estos últimos se manifestaron por elevación de HCG en el día 12 posterior a la transferencia, reabsorbiéndose espontáneamente en las siguientes dos semanas. De los 14 embarazos clínicos, 11 resultaron con recién nacido al término de la gestación (78.57%), dos en aborto (uno anembrionado; 14.29%) y uno en embarazo ectópico diag-

nosticado en semana 7 de gestación (7.14%). En total se obtuvieron 11 nacimientos en 68 ciclos iniciados (16.18%, IC 95% 8.36 a 27.10%).

En ocho de estos embarazos se hizo estudio citogenético prenatal por amniocentesis, siendo cromosómicamente normal todos los casos estudiados. Todas las madres tuvieron control prenatal normal, excepto dos en los que se documentó retardo del crecimiento intrauterino secundario a miomatosis severa en uno y preeclampsia en otro.

## DISCUSION

Los resultados que se presentan en este artículo muestran los tres primeros años de trabajo con parejas infértiles que optaron por la fertilización in vitro, tratadas por SER en Bucaramanga. La tasa de éxito acumulada a lo largo de los tres años (16,18 nacimientos por 100 ciclos iniciados) es similar a la reportada por otros centros, la cual

**Tabla 2. Resultados de aspiración, inseminación, transferencia y embarazo discriminados por cada año de labor**

| Variable/Año                   | 1995         | 1996         | 1997         |
|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Pacientes incluidas en ciclo   | 11           | 27           | 30           |
| Edad de las mujeres (años)     | 33.55 ± 4.72 | 34.89 ± 5.03 | 32.60 ± 5.41 |
| Edad de los hombres (años)     | 35.22 ± 2.33 | 36.84 ± 4.75 | 36.71 ± 5.65 |
| Pacientes en IVF por 1ª vez    | 11 (100%)    | 24 (88.89%)  | 19 (63.33%)  |
| Factor anatómico***            | 9 (81.82%)   | 22 (81.48%)  | 11 (36.67%)  |
| Factor endocrino               | 2 (18.18%)   | 4 (14.81%)   | 4 (13.33%)   |
| Factor endometriósico          | 1 (9.09%)    | 3 (11.11%)   | 6 (20.00%)   |
| Factor idiopático              | 2 (18.18%)   | - (-)        | (20.00%)     |
| Pacientes que no responden     | 0            | 1            | 5            |
| Oocitos aspirados              | 76           | 194          | 189          |
| Oocitos fecundados             | 31           | 76           | 59           |
| Pacientes sin fecundación      | 1            | 0            | 4*           |
| Pacientes transferidas         | 10           | 26           | 21           |
| Embarazos clínicos             | 0            | 6            | 8**          |
| Embarazos preclínicos          | 0            | 5            | 0            |
| Nacimientos                    | 0            | 6            | 5            |
| Proporción de respuesta        | 100%         | 96.30%       | 83.33%       |
| Proporción de fecundación      | 40.79%       | 39.18%       | 31.22%       |
| Proporción de implantación     | 0%           | 42.31%       | 32.00%       |
| Proporción de embarazo clínico | 0%           | 23.08%       | 32.00%       |
| Proporción de nacimientos      | 0%           | 29.63%       | 20.00%       |
| Proporción de éxito            | 0%           | 23.08%       | 16.67%       |

\* Se incluye un caso de contaminación bacteriana por semen infectado

\*\* Dos embarazos terminaron en aborto (uno anembrionado) y otro en embarazo ectópico

\*\*\*Diferencia entre los tres años estadísticamente significativa ( $p < 0.007$ )

oscila entre 15 y 21%<sup>8</sup>. Se han presentado diferencias en el transcurso de los tres años, en donde los primeros ciclos de 1995 no condujeron al resultado esperado, mientras que en el último año se ha logrado alcanzar un estándar de éxito reproductivo similar al encontrado en la literatura científica, gracias al mayor conocimiento del manejo de las diferentes etiologías, uso de tratamientos inmunológicos en pacientes con antecedentes de endometriosis, aborto recurrente y estudios de alo y autoinmunidad positivos.

Las causas que explican la infertilidad entre las parejas tratadas son similares a la registrada, en donde los principales factores son los anatómicos femeninos, las alteraciones endocrinas y la endometriosis, sin olvidar las de causa desconocida, teniendo en cuenta además que en buena parte de las parejas existe más de un factor causal<sup>9</sup>.

Ahora bien, la etiología de la infertilidad tiene relación con el éxito de la IVF; por ejemplo las mujeres con endometriosis tienen una probabilidad menor de embarazarse, ya que las alteraciones inmunológicas asociadas hacen que la calidad de los oocitos esté alterada, que la fecundación sea menos efectiva y que la implantación sea más difícil de lograr y mantener que aquellas mujeres que llegan a IVF por factores anatómicos de otra etiología<sup>10</sup>.

Otro factor que influye en el éxito de la IVF es la edad de la paciente, en donde se ha demostrado que la calidad de los oocitos es menor a medida que aumenta la edad, al igual que el riesgo de aborto espontáneo, que puede ir hasta un 53% en mujeres mayores de 40-45 años, aunque también está claro que la función ovárica postimplantación es similar a la de las mujeres de menor edad<sup>11</sup>, razón por la cual se opta por utilizar oocitos donados para este tipo de pacientes, mejorando de esta forma la probabilidad de implantación. Por otro lado, la probabilidad de embarazo es mejor para las parejas que son sometidas al primer ciclo que en los subsiguientes<sup>12,13</sup>.

No se han presentado casos de gestación múltiple ni de parto prematuro, por el contrario a lo encontrado en la literatura, en donde hasta el 22% de los embarazos logrados son múltiples, ya que para garantizar el éxito del procedimiento usualmente se transfieren 2 a 4 embriones frescos, pudiendo implantarse más de uno (14,15).

## SUMMARY

We present a retrospective study achieved by an IVF program (SER team, Carlos Ardila Lülle Medical Center) in which 68 cycles were done. It establishes correlations between the female patient's age, etiology of sterility and number of cycles in patients with reproductive success. It was found a pregnancy rate that corresponds to a 24.56%. Couples whose cause of sterility is due to an anatomic factor different from endometriosis have a better probability of success.

**KEY WORD:** In vitro fertilization (IVF), Sterility, Assisted Reproduction, Test tube baby.

## BIBLIOGRAFIA

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2: 366.
2. Assisted reproductive technology in the United States and Canada: 1995 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/ Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 1998; 69: 389-98.
3. Lens S, Lauritsen JG, Kjilow M: Collection of human oocytes for in vitro fertilization by ultrasonically guided follicular puncture. *Lancet* 1981; 1:1163.
4. Gleicher N, Freiberg J, Fullan N, et al: Egg retrieval for in vitro fertilization by sonographically controlled vaginal culdocentesis. *Lancet* 1983; 1: 508.
5. Veeck LL. The morphologic estimation of mature oocytes and their preparation for insemination. In: *in vitro fertilization*. Baltimore, Norfolk & Wilkins, 1986: 86.
6. Tea NT, Tondet M, Scholler R. A migration-gravity sedimentation method for collecting motile spermatozoa from human semen. In: Harrison RF, Bonnar J, Thompson W (eds). *In vitro fertilization embryo transfer and early pregnancy*. Xth World Congress on Fertility and Sterility. Dublin. MTP Press, 1983.
7. Edwards RG. Conception in the human females. New York, Academic Press, 1980: 617, 687.
8. Society for assisted reproductive technology, American Fertility Society. Assisted reproductive technology in USA and Canada. 1991 Result from Society for Assisted Reproductive Technology generated for American Fertility Society Registry. *Fertil Steril* 1993; 59: 956-62.
9. Adashi E, Rock JA, Rogenwaks Z: In vitro fertilization productive endocrinology, Surgery and technology. Philadelphia, New York. Lippincott-Ravin, 1996: 2314-34.
10. Dmowski WP, Rana N, Michalowska J et al. The effect of endometriosis, its stage and activity, and autoantibodies on in vitro fertilization and embryo transfer success rates. *Fertil Steril* 1995; 63: 555-62.
11. Roest J, Zeilmaker GH, Van Heusden AM et al. The ovarian response as a predictor for successful in vitro fertilization treatment after the age of 40 years. *Fertil Steril* 1998; 66: 969-73.
12. Croucher CA, Lass A, Margara R, Winston RM. Predictive value of the results of a first in vitro fertilization cycle on the outcome of subsequent cycles. *Hum Reprod* 1998; 13: 403-6.
13. Meldrum DR, Solvberg KM, Bustillo M, Stokers L. Success rate with repeated cycles of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998; 69: 1005-9.
14. Schoolcraft WB, Schlenker T, Gee M, Jones, GS, Jones HW. Assisted hatching in the treatment of poor prognosis in vitro fertilization candidates. *Fertil Steril* 1994; 62: 551-4.
15. Elsner CW, Tucker MJ, Sweitzer CL et al. Multiple pregnancy rate and embryo number transferred during in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 350-55.