

Ciclo natural combinado con maduración *in vitro* de ovocitos: la experiencia inicial en México

Sergio Alberto Dávila Garza,* Roberto Santos Haliscak,* Genaro García Villafaña,* Edali Lizzet Lara Rangel,* José Sepúlveda González,* Pablo Díaz Spíndola*

RESUMEN

Antecedentes: el ciclo natural combinado con maduración *in vitro* (MIV) es una alternativa a los protocolos convencionales de fertilización *in vitro* (FIV). En México, donde la estimulación ovárica controlada representa 30 a 40% del precio de los tratamientos, esta estrategia es una opción atractiva para disminuir los costos.

Objetivo: comunicar la experiencia inicial del ciclo natural de fertilización *in vitro* combinado con maduración *in vitro* en pacientes ovulatorias con infertilidad por diversas causas.

Pacientes y método: se hizo un estudio prospectivo de serie de casos, en el que se incluyeron 10 pacientes infértiles, con menstruaciones normales y menores de 35 años de edad. Se utilizó el protocolo descrito por Lim y Chian (2009), en el que sólo se administró hCG cuando el folículo dominante alcanzó un diámetro de 14 mm. Se analizó el porcentaje de maduración, embarazo clínico e índice de implantación. Cada ovocito maduro fue inseminado por inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

Resultados: se recuperaron 69 ovocitos, 12 maduros y 57 inmaduros, de los cuales 33 (58%) maduraron *in vitro* y 19 (57%) fertilizaron después de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides; no se canceló ningún ciclo. A todas las pacientes se les realizó una transferencia de embriones (en tres casos con un embrión derivado del ovocito del folículo dominante, y en los siete restantes con embriones generados de ovocitos maduros e inmaduros). El índice de implantación fue de 13%, con embarazo clínico y en curso de 30% (no se incluyó un embarazo bioquímico). No hubo diferencias significativas en edad o en las cifras de hormona foliculoestimulante al tercer día en el grupo de no embarazo en comparación con el de embarazo (30.5 vs 31 años de edad y 6.4 vs 7.4 mUI/dL, respectivamente). Sólo se observaron diferencias significativas en el tamaño de los folículos no dominantes en los grupos de no embarazo vs embarazo (7.5 ± 1.1 mm vs 9.3 ± 1.1 mm, $p < 0.04$).

Conclusiones: el ciclo natural de fertilización *in vitro* combinado con maduración *in vitro* es una opción efectiva y atractiva para parejas que no pueden financiar un tratamiento convencional. Las ventajas adicionales de esta modalidad son la reducción del riesgo de embarazo múltiple y del síndrome de hiperestimulación ovárica.

Palabras clave: ovocitos, maduración *in vitro*.

ABSTRACT

Background: The natural cycle combined with *in vitro* maturation (IVM) is an alternative to conventional protocols of *in vitro* fertilization (IVF). In Mexico, where controlled ovarian stimulation accounts for 30 to 40% of treatment cost, this strategy is an attractive option for reducing erogation.

Objective: To report the initial experience of the natural cycle of *in vitro* fertilization combined with *in vitro* maturation in patients with ovulation and infertility caused by several factors.

Patients and method: We did a prospective and case series study, which included 10 infertile patients, with normal menstruation and younger than 35 years. We used the protocol described by Lim and Chiang (2009), in which only hCG was administered when the dominant follicle reached a diameter of 14 mm. We analyzed the maturing rate, clinical pregnancy and implantation rate. Each mature oocyte was inseminated by ICSI.

Results: Sixty-nine oocytes were recovered, 12 mature and 57 immature, of which 33 (58%) matured *in vitro* and 19 (57%) were fertilized after ICSI; there was not a canceled cycle. All patients underwent embryo transfer (in three cases with an oocyte-derived embryo of the dominant follicle, and the remaining seven embryos generated from mature and immature oocytes). The implantation rate was 13%, with ongoing clinical pregnancy of 30% (not included biochemical pregnancy). There were not significant differences in age or in concentrations of follicle-stimulating hormone on the third day in the non-pregnant group compared with the pregnant group (30.5 vs 31 years old and 6.4 vs 7.4 mIU/dL, respectively). Significant differences in the size of dominant follicles were observed in the non-pregnant group (7.5 ± 1.1 mm vs 9.3 ± 1.1 mm, $p < 0.04$).

Conclusions: The natural cycle of *in vitro* fertilization combined with *in vitro* maturation is an effective and attractive option for couples who can not afford conventional treatment. Additional advantages of this approach include reduced risk of multiple pregnancy and ovarian hyperstimulation.

Key words: oocyte, *in vitro* maturation.

En la actualidad, 4% de los nacimientos en países occidentales son resultado de la reproducción asistida.¹ La fertilización *in vitro* (FIV) ha sido la técnica de elección en el tratamiento de las parejas infértiles que son aptas para la reproducción asistida; sin embargo, la administración de gonadotropinas exógenas tiene ciertos inconvenientes: puede inducir el síndrome de hiperestimulación ovárica y su alto costo las hace poco accesibles a la población.² La maduración *in vitro* de ovocitos surge como una alternativa eficaz que permite la reducción de los riesgos y la fertilización *in vitro* sin alterar los resultados que pueden conseguirse con otras técnicas.³ A pesar de estos beneficios, no se ha difundido ampliamente por dos razones: los resultados que se han obtenido son contradictorios, y en la mayor parte de los reportes el porcentaje de éxito es más bajo que con las técnicas convencionales, lo que genera ciertas inquietudes acerca de su seguridad.⁴ Las primeras experiencias con este procedimiento en el campo de la infertilidad tuvieron lugar con pacientes anovuladoras con síndrome de ovario poliquístico, y produjeron resultados comparables a los de las modalidades convencionales, sin incrementar el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica.⁵ Lim y colaboradores realizaron estudios en pacientes con menstruaciones normales con infertilidad por causas diversas,⁶ utilizaron un ciclo natural de fertilización *in vitro* combinado con maduración *in vitro* de ovocitos y obtuvieron tasas de embarazo similares a las obtenidas con hiperestimulación ovárica controlada (HOC) y fertilización *in vitro*.⁷

* Instituto para el Estudio de la Concepción Humana (IECH), Monterrey, Nuevo León.

Correspondencia: Dr. Sergio Alberto Dávila G. Centro de Fertilidad Instituto para el Estudio de la Concepción Humana. Av. Hidalgo 1842, Pte. 3^{er} piso, colonia Obispado, CP 64060, Monterrey, NL. Correo electrónico: drbetodg@hotmail.com
Recibido: julio, 2011. Aceptado: septiembre, 2011.

Este artículo debe citarse como: Dávila-Garza SA, Santos-Haliscak R, García-Villafañá G, Lara-Rangel EL y col. Ciclo natural combinado con maduración *in vitro* de ovocitos: la experiencia inicial en México. Rev Mex Reprod 2011;4(2):82-85.

www.nietoeditores.com.mx

OBJETIVOS

En México, donde los medicamentos representan 30 a 40% del costo de los tratamientos, la maduración *in vitro* es una alternativa para los pacientes que no pueden cubrir estas necesidades. Este estudio se diseñó con la finalidad de describir la primera experiencia con el ciclo natural de fertilización *in vitro* y maduración *in vitro* de ovocitos en pacientes con menstruaciones normales con infertilidad por diferentes causas (sin disfunción ovulatoria).

PACIENTES Y MÉTODO

Diseño y muestra

Se realizó un estudio prospectivo de casos, en el que se incluyeron 10 pacientes con ciclos menstruales regulares, menores de 35 años de edad, concentraciones de hormona foliculoestimulante menores o iguales a 10 UI/mL en el tercer día, útero de características normales y cuenta folicular antral mayor de seis por ovario. De acuerdo con el protocolo establecido por Liam y Chian (2009),^{7,8} se realizó ultrasonido basal para corroborar que no hubiera folículos mayores de 7 mm. La siguiente monitorización se hizo a partir del séptimo día del ciclo y hasta que el folículo dominante alcanzó un diámetro de 13 a 14 mm. Se administró hCG 10,000 UI, y 36 horas después de procedió a la captura ovocitaria.

Captura ovocitaria

La aspiración folicular se llevó a cabo con una aguja 12-gauge de un lumen (Vitrolife/97178) conectado a un equipo de aspiración portátil con una presión menor de 100 mmHg. Los ovocitos se recolectaron en tubos (10 mL) con medio Ham F-10 heparinizado con N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-ácido etilosulfónico (HEPES) precalentado. La madurez de los ovocitos obtenidos de los folículos maduros se evaluó con la técnica de separación y las características del cúmulo oóforo determinaron el grado de madurez. En el citoplasma del ovocito se buscó la vesícula germinal; en caso de que no se encontrara, se clasificó como liberación de vesícula germinal. La madurez ovocitaria se valoró de acuerdo con el primer cuerpo polar en el espacio perivitelino.

Técnica

Los ovocitos maduros provenientes del folículo dominante se inseminaron con inyección intracitoplasmática de espermatozoides dos a cuatro horas después de la aspiración. Los ovocitos inmaduros (vesícula germinal y metafase I) se colocaron en un disco para cultivo que contenía 1 mL de medio de maduración (Maria Fertility Hospital, Seúl, Corea del Sur) con 75 mUI de hormona foliculoestimulante y 75 mUI de hormona luteinizante, y se incubaron a 37°C en 5% de CO₂ y 95% de O₂, con alta humedad para la maduración *in vitro*. Después de 24 horas fueron denudados de las células del cúmulo con hilauronidasa al 0.03%, en N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-ácido etilosulfónico neutralizado con HAM F-10 con pipeta mecánica.⁸ Los ovocitos que alcanzaron la metafase II fueron inseminados con inyección intracitoplasmática de espermatozoides. La fertilización se valoró a las 18 horas de este procedimiento, mediante la búsqueda de dos pronúcleos y dos cuerpos polares. Los cigotos se cultivaron en 20 µL de medio de cultivo para embriones.

Transferencia de embriones y preparación endometrial

La transferencia embrionaria se hizo al tercer día de la aspiración. La preparación endometrial se realizó con valerianato de estradiol a dosis de 6 mg diarios a partir del día de la aspiración folicular, y progesterona a dosis de 400 mg diarios iniciando al siguiente día de la captura ovocitaria. La determinación de la β-hCG se realizó a los 14 días de la transferencia embrionaria para detectar el embarazo, el cual se corroboró por la visualización del saco y la frecuencia cardíaca fetal a las seis semanas de la transferencia embrionaria.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis estadístico con el programa SPSS, versión 15.0, para Windows. Se compararon las diferencias entre las características de las pacientes que se embarazaron y las que no. Los resultados se expresaron como las diferencia de las medias, y se consideraron significativas con un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Se incluyeron 10 pacientes menores de 35 años de edad, con menstruaciones normales, a las que se les indujo

un ciclo natural combinado con maduración *in vitro*; no hubo cancelaciones. Se obtuvieron 69 ovocitos, 12 maduros provenientes de los folículos dominantes y 57 inmaduros, de los cuales 33 (58%) maduraron *in vitro* y 19 (57%) fertilizaron después de la ICSI. A todas las pacientes se les transfirió un embrión derivado del ovocito maduro del folículo dominante y en siete casos se agruparon con embriones generados de los ovocitos madurados *in vitro*. Se transfirieron 22 embriones. El índice de implantación fue de 13%, con un embarazo clínico en evolución de 30% por ciclo y por transferencia (no se incluyó un embarazo bioquímico).

No hubo diferencias significativas en la edad o en las cifras de hormona foliculoestimulante al tercer día en el grupo de no embarazo en comparación con el de embarazo (30.5 vs 31 años y 6.4 vs 7.4 mUI/dL, respectivamente). Sólo hubo diferencia estadística en el tamaño de los folículos no dominantes en los grupos de no embarazo vs embarazo (7.5 ± 1.1 mm vs 9.3 ± 1.1 mm, $p < 0.04$) [Cuadros 1 y 2].

CONCLUSIONES

Esta técnica resulta efectiva y atractiva para las parejas que por razones económicas no pueden someterse a un ciclo de fertilización *in vitro* convencional con estimulación ovárica controlada. Una de sus ventajas es la posibilidad de abolir el síndrome de hiperestimulación ovárica, a lo que se agrega la reducción del riesgo de embarazo múltiple^{9,10} y de la necesidad de congelar embriones, con sus consiguientes implicaciones éticas. Aunque no se logró establecer con exactitud la eficacia de la técnica de maduración *in vitro* propiamente, se obtuvieron resultados comparables con los de los ciclos de fertilización *in vitro* convencional, independientemente del diagnóstico, en pacientes ovuladoras. Li y colabora-

Cuadro 1. Características demográficas

	No embarazo	Embarazo	Valor de p
Edad	30.5 ± 1.0	31.0 ± 1.8	NS
FSH	6.4 ± 1.67	7.4 ± 1.4	NS
LH	3.6 ± 1.6	4.9 ± 1.6	NS
Estradiol	32.5 ± 11.1	58.1 ± 25.6	NS

FSH: hormona foliculoestimulante; LH: hormona luteinizante.

Cuadro 2. Resultados clínicos del ciclo natural de fertilización *in vitro* combinado con maduración *in vitro*

	No embarazo	Embarazo	Valor de p
Cuenta folicular antral	7.3 ± 1.5	11.5 ± 5.8	NS
Folículos totales día hCG	13.9 ± 0.8	13.7 ± 0.5	NS
Día de aspiración	11.0 ± 0.6	10.0 ± 0.8	NS
Tamaño del folículo dominante	13.2 ± 2.7	13.1 ± 2.8	NS
Tamaño de folículos no dominantes	7.5 ± 1.1	9.3 ± 1.1	0.041
Grosor endometrial día de hCG (mm)	6.5 ± 0.9	6.8 ± 1.0	NS
Ovocitos recuperados en promedio (maduros/inmaduros)	5.3 ± 2.5	9.7 ± 6.0	NS
Ovocitos maduros del folículo dominante	1.1 ± 0.4	1.2 ± 0.5	NS
Ovocitos inmaduros	4.1 ± 2.6	8.0 ± 5.8	NS
Maduración a las 24 horas	2.3 ± 2.4	4.75 ± 2.6	NS
Ovocitos maduros inseminados por ICSI	1.1 ± 0.4	1.2 ± 0.5	NS
Fertilización	1.1 ± 0.4	1.2 ± 0.5	NS
	100%	100%	
Núm. de ovocitos madurados inseminados por ICSI a las 24 horas	2.3 ± 2.4	4.75 ± 2.6	NS
Fertilización	1.5 ± 1.8	2.5 ± 2.3	NS
	60%	52%	
Embriones transferidos	2.0 ± 0.8	2.5 ± 0.5	NS

dores reportaron resultados semejantes. Se requieren más estudios controlados y comparativos para determinar la eficacia y seguridad de la maduración *in vitro*.⁶

REFERENCIAS

1. Albuz FK, Sasseville M, Lane M, Armstrong DT, et al. Simulated physiological oocyte maturation (SPOM): a novel *in vitro* maturation system that substantially improves embryo yield and pregnancy outcomes. Hum Reprod 2010;25(12):2999-3011.
2. Jurema M, Nogueira D. *In vitro* maturation of human oocytes for assisted reproduction. Fertil Steril 2006;86(5):1277-1291.
3. Suikkari AM. *In vitro* maturation: its role in infertility treatment. Curr Opin Obstet Gynecol 2008;20:242-248.
4. Tur R, Martínez F, Arroyo G, Carreras O, et al. Estado actual de la maduración *in vitro* (MIV). Rev Iberoam Fertil Reprod Hum 2007;24(2):113-122.
5. Zhao J. *In vitro* maturation and fertilization from unstimulated ovaries in infertile women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2009;91(6):2568-2571.
6. Li J, Xu Y, Zhou G, Guo J. Clinical outcomes for various causes of infertility with natural cycle *in vitro* fertilization combined with *in vitro* maturation of immature oocytes. Fertil Steril 2010;94(2):770-780.
7. Lim J, Yang S, Xu Y, Yoon S, Chian R. Selection patients for natural cycle *in vitro* fertilization combined with *in vitro* maturation of immature oocytes. Fertil Steril 2009;91(4):1050-1055.
8. Chian RC. *In vitro* maturation of human oocytes. Reprod Biomed Online 2004;8(2):148-166.
9. le Du A, Kadoch IJ, Bourcigaux N, Doumerc S, et al. *In vitro* oocyte maturation for the treatment of infertility associated with polycystic ovarian syndrome: the French experience. Hum Reprod 2005;20(2):420-424.
10. Zhang XY, Ata B, Son WY, Tan SL, et al. Chromosome abnormality rates in human embryos obtained from *in vitro* maturation and IVF treatment cycles. Reprod Biomed Online 2010;21(4):552-559.