

Reproducción Asistida

Hacia la erradicación de los grandes múltiples en las gestaciones derivadas de la fecundación in vitro. Experiencia del Hospital U. La Fe

Avoiding high order multiple pregnancies in In Vitro fertilization. The experience of La Fe University Hospital

García-Oms J, Fernández P.F, Monzó A, Zamora P, García-Gimeno T, Cabo A, Romeu A

Servicio de ginecología (Reproducción Humana). Hospital Universitario La Fe. Valencia

Resumen

Introducción: *La transferencia de múltiples embriones, como medio de obtener mejores tasas de gestación en FIV, tiene como consecuencia que la tasa de gestaciones múltiples haya aumentado de forma relevante. Las gestaciones múltiples, sobre todo las triples y de mayor orden, constituyen la más frecuente y grave complicación de la reproducción asistida tanto por las complicaciones maternas de la gestación como por sus consecuencias sobre los recién nacidos.*

Objetivo: *Analizar las consecuencias de la transferencia selectiva de dos embriones de buena calidad morfológica.*

Diseño: *Estudio prospectivo, comparativo, de cohortes*

Ambito: *Unidad de referencia de reproducción asistida. Hospital universitario público*

Material y métodos: *Se incluye 59 ciclos con transferencia selectiva de dos embriones, 174 ciclos con transferencia obligada de dos embriones y 587 ciclos con transferencia de más de dos embriones.*

Parámetros principales: *tasa de gestación y tasa de implantación.*

Análisis estadístico: *análisis de varianza y test de chi cuadrado*

Resultados: *Siendo similar la edad de las pacientes, la tasa de gestación observada en la serie de ciclos en la que fueron selectivamente transferidos dos embriones fue significativamente superior a la observada en los ciclos en los que la transferencia de dos embriones fue obligada y similar a la observada en los ciclos en que fueron transferidos más de dos embriones. No hubo diferencias significativas al comparar las tasas de implantación en los tres grupos.*

Conclusiones: *La transferencia de dos embriones de buena calidad erradica las gestaciones triples y no tiene como consecuencia una disminución de la tasa de gestación que no puede considerarse detrimental para los resultados de la reproducción asistida.*

Palabras Clave: FIV. Gestación múltiple. Transferencia de embriones.

Correspondencia: Dr. Alberto Romeu
Servicio de Ginecología (Reproducción Humana)
Hospital Universitario La Fe
Avda. Campanar, 21
46009 Valencia
e mail: romeu_alb@gva.es

Summary

Introduction: *As a consequence of transferring multiple embryos in order to improve the pregnancy rates in IVF, multiple pregnancy rates have increase relevantly. Multiple pregnancies, specially triple and higher order pregnancies became the mos frequent and serious complication of assisted reproduction as well from the complications during the pregnancy as their pediatric consequences.*

Objective: *To analyze the consequences of selectively transferring two good quality embryos.*

Desing: *Prospective, comparative study.*

Setting: *Reference reproductive unit. University public hospital*

Material and methods: *59 cycles with selective transfer of two embryos, 174 cycles with only two embryos for transfer, and 587 cycles with more than two embryos transferred.*

Principal parameters: *pregnancy and implantation rates.*

Statistical analysis: *variance analysis and chi square tests*

Results: *Being similar the age of the patients in the different groups, the pregnancy rate observed in the group of cycles in which two embryos were selectively transferred was significantly higher when compared to the group of cycles in which only two embryos were available for transfer; statistically significant differences were not observed when compared to the group in which more than two embryos were transferred. Implantation rates did not showed statistically significant difference when compared in the three groups.*

Conclusions: *To transfer two good quality embryos suppress the triple pregnancies without diminishing significantly the pregnancy rate. Such policy can not be considered detrimental in assisted reproduction.*

Key words: IVF. Multiple pegnancy. Embryo transfer.

INTRODUCCIÓN

El número de ovocitos obtenidos y el número de embriones transferidos ha mostrado, a lo largo de los años, una correlación positiva con la tasa de gestación en los ciclos de tratamiento mediante fecundación in vitro (1, 2). Sin lugar a dudas, esta es la razón de que en todos los centros de medicina reproductiva se haya adoptado tradicionalmente la conducta de transferir, siempre que fuera posible, numerosos embriones, con el fin de obtener las mejores tasas posibles de gestación.

Sin embargo, como contrapartida a los “buenos resultados” en términos de tasa de embarazo -en definitiva, este ha sido el parámetro más importante para medir la “calidad” de un centro de reproducción asistida- con el tiempo ha ido ganando terreno entre la comunidad científica la idea de que la tasa de gestaciones múltiples (sobre todo gestaciones triples o de orden superior) era excesiva y, como consecuencia, excesivas también las complicaciones de todo tipo de ello derivadas (3, 4).

Debido a la elevada frecuencia con que las gestaciones múltiples de orden superior (triples, cuádruples o de mayor orden) se observan como consecuencia de la reproducción asistida y con el fin de

disminuir sus riesgos, tanto maternos como fetales, se desarrollaron técnicas de reducción embrionaria (5) que, sin embargo, no se han visto exentas de críticas, tanto desde el punto de vista clínico como ético (6).

En resumen, parece claro que una abrumadora mayor parte de las gestaciones múltiples que se producen son consecuencia de la aplicación de técnicas de reproducción asistida (7), que prevalencia e incidencia de esta complicación son excesivas (3), que parece estrictamente necesario evitarlas y que la reducción embrionaria instrumental selectiva no está exenta de problemas.

En esta situación, ha ido propugnándose cada vez con más insistencia la disminución del número de embriones en la transferencia como el remedio más aconsejable de la situación (8); en esta línea, se ha llegado a proponer la transferencia de un único embrión (9, 10).

A pesar de todo, la recomendación de disminuir el número de embriones en la transferencia no se ha implantado con la rapidez y la amplitud debidas por el temor a una disminución relevante en la tasa de gestación.

Parece obvio señalar que los profesionales dedicados a la reproducción asistida nos hemos hallado en una encrucijada que debe ser resuelta: erradicar las

gestaciones múltiples de alto orden y mantener, cuando menos, las tasas de gestación. Para conseguirlo, se ha tratado de identificar factores pronóstico de implantación en la madre y mejorar la selección del embrión a transferir (8, 9, 11-13). Algunas publicaciones han insistido en que la disminución del número de embriones transferidos no implica detrimentos significativos en la tasa de gestación, sobre todo si se dispone de un buen programa de criopreservación (9).

En este contexto, en el programa de reproducción asistida del Hospital Universitario La Fe, se inició un protocolo para la reducción del número de embriones transferidos, cuyos resultados se exponen aquí.

MATERIAL Y MÉTODOS

Han sido incluidos en el presente estudio prospectivo para llevar a cabo un estudio comparativo:

- 59 ciclos de fecundación in vitro (FIV clásica o ICSI) en los que el número de embriones transferidos fue limitado selectivamente a dos, aunque se dispusiera de mayor número de embriones de buena calidad.

- 174 ciclos en los que la transferencia fue de dos embriones porque no se disponía de más

- 587 ciclos en los que la transferencia fue de 3 o más embriones (580 ciclos en los que fueron transferidos 3 embriones y 7 ciclos en los que fueron transferidos 4 embriones), se dispusiera o no de mayor número de embriones.

Todos ellos se llevaron a cabo durante el año 2002, sin que se produjeran durante este año cambios relevantes en los protocolos clínicos o de laboratorio que pudieran mediatizar los hallazgos; en el año 2002

se había tomado la decisión de transferir como máximo 3 embriones, salvo contadas excepciones.

Las características clínicas de las pacientes incluidas en el estudio se recogen en la tabla 1.

Los procedimientos clínicos (supresión hipofisaria, estimulación y su control, punción y transferencia) han sido previamente descritos, así como la metodología de laboratorio (14-16).

La selección de casos para la transferencia selectiva de dos embriones se hizo en función de la edad de la mujer (máximo 37 años) y de las características del embrión: practicándose las transferencias en el día 2 ó 3 post-punción, fueron seleccionados para transferencia aquellos embriones que en el día 2 constaban al menos de 4 blastómeras y morfológicamente fueron clasificados como grado 1 ó 2 según la clasificación de Veeck (17) o los que en el día 3, con las mismas características morfológicas, contaban al menos con 8 blastómeras. La decisión de transferir en día 2 ó 3 se tomó en función del número de embriones de buena calidad morfológica disponibles en día 2: se transfirió en día 3 cuando se dispuso de, al menos, 4 embriones de buena calidad.

Los parámetros principales del estudio fueron la tasa de gestación por transferencia y la tasa de implantación (embriones implantados / embriones transferidos x 100).

Para llevar a cabo el análisis estadístico se comprobó si la distribución de los datos era o no normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se comprobó, la homogeneidad de las varianzas mediante el test de Leven. El análisis estadístico practicado consistió en análisis de varianza (anova) seguido de test de t de student para los parámetros cuantitativos cuando la distribución fue normal y el test de

Tabla 1

Edad y resumen de la estimulación y de la respuesta a la misma referida al día de administración de hCG (N= número)

	TRF selectiva 2	TRF no selectiva 2	TRF >2
Edad	32,82±3,3	34,82±3,0	34,26±3,2
Días Estimulación	9,73±2,1	9,54±2,0	9,45±1,7
Dosis total FSH (UI)	1942,9±1579,2	1934,1±1475,2	2637,5±1035,5
Nivel E2 (pg/mL)	1500,91±743,6	1490,7±343,6	1873,6±908,2
N Folículos	8,2±4,3	6,1±4,1	9,5±3,6
N Ovocitos	8,47±5,4	6,47±5,4	8,47±5,4
N Metafase II	4,76±4,1	1,6±1,3	5,4±4,1
N Embriones	3,81±3,1	2±0	5,42±3,9
N Embriones FIV	2,32±1,5	2±0	3,32±1,5
N Embriones ICSI	3,41±2,5	2±0	5,52±2,5

Kruskal-Wallis cuando no lo fue; el test de Chi cuadrado se aplicó para la comparación de los parámetros cualitativos.

Se ha considerado la existencia de diferencias significativas para valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La edad de las pacientes, las características de la estimulación practicada y la respuesta a la misma se recogen en la tabla 1. La dosis total de UI de FSH utilizadas para lograr la estimulación ovárica considerada adecuada fue significativamente mayor en el grupo de ciclos en los que fueron transferidos más de dos embriones al compararla con la correspondiente a los otros dos grupos. El número de ovocitos metafase II obtenido en el grupo en que la transferencia de dos embriones fue obligada fue significativamente menor que el obtenido en los otros dos grupos. No se observó la existencia de diferencias estadísticamente significativas al comparar los restantes parámetros entre los grupos estudiados.

Los resultados en cuanto a tasa de gestación por transferencia, tasa de gestaciones simples, dobles y triples y total de múltiples se recogen en la tabla 2. La tasa de gestación observada en los ciclos en que se practicó una transferencia selectiva de 2 embriones

fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que la observada en los ciclos en la que la transferencia de 2 embriones se practicó porque no se dispuso de más embriones para seleccionar. Por otra parte, no se halló diferencias significativas al comparar la tasa de gestación observada en los ciclos en que fueron transferidos selectivamente dos embriones con la observada en los ciclos en que fueron transferidos tres o cuatro embriones.

El número de embriones transferidos y la tasa de implantación embrionaria se recogen en la tabla 3. No se evidenció la existencia de diferencias estadísticamente significativas al comparar la tasa de implantación observada en las distintas series de ciclos-

DISCUSIÓN

Han sido analizadas tres series de ciclos de FIV en los que han sido transferidos:

- los dos embriones de que se disponía
- dos embriones que cumplieran los requisitos establecidos, aunque se dispusiera de mayor número de embriones de buena calidad
- tres o cuatro embriones (cuatro en sólo 7 de los 587 ciclos), En este grupo pudo seleccionarse para transferencia los embriones de mejor calidad morfológica cuando se disponía de un número más elevado.

Tabla 2

Tasas de gestación, de gestación de 1 saco, 2 sacos, de más de 2 sacos y tasa de gestación múltiple en los tres grupos estudiados

	TRF selectiva 2	TRF no selectiva 2	TRF >2
Número	59	174	587
Ciclos sin gestación	36 (61%)	121 (69,5%)	345 (58,8%)
Ciclos con gestación	23 (39%)*	53 (30,5%)	242 (41,2%)
1 saco	18 (79,3%)	42 (79,8%)	177 (73%)
2 sacos	5 (21,7%)	11 (20,2%)	49 (20,4%)
>2 sacos	0 (0%)	0 (0%)	16 (6,6%)
>1 saco	5 (21,7%)	11 (20,2%)	65 (27%)

Tabla 3

Número de embriones transferidos y tasa de implantación en cada uno de los tres grupos estudiados

	TRF selectiva 2	TRF no selectiva 2	TRF >2
Embriones transferidos	118	348	1768
Tasa de implantación	23,7%	18,4%	18,3%

Cabe destacar que se ha observado una tasa de gestación significativamente mayor en los ciclos en que fueron selectivamente transferidos dos embriones seleccionados al compararla con la correspondiente a los ciclos en que fueron transferidos dos embriones porque no se disponía de más, es decir porque sólo dos embriones habían sido obtenidos, bien porque no fecundaron y se dividieron más de dos ovocitos, bien porque no se obtuvo más de dos ovocitos. De cualquier forma, habida cuenta que en la mayoría de ciclos se practicó una ICSI, este hallazgo sugiere que la estimulación ovárica dio como resultado en esta serie de ciclos la obtención de escasos ovocitos fecundables o de ovocitos de escasa calidad. De hecho, el número de ovocitos metafase II obtenidos en este grupo fue significativamente menor que el obtenido en los otros dos grupos de ciclos estudiados.

La obtención de numerosos ovocitos fecundables está vinculada a la reserva ovárica y ésta a la edad de la mujer (18, 19); del número de ovocitos fecundables obtenidos depende, obviamente, la obtención de numerosos embriones. No es extraño que la edad de la paciente haya sido señalada, tiempo atrás y repetidas veces, como un factor de buen pronóstico para la gestación (2). Sin embargo, en el presente estudio, la obtención de escasos ovocitos metafase II en el grupo de ciclos en que no se dispuso más que de dos embriones no es imputable a la edad de las pacientes, puesto que este parámetro no mostró diferencias significativas al comparar los distintos grupos. Pudo tratarse de mujeres con fallo ovárico oculto pero incidir este aspecto nos alejaría del tema del presente estudio.

De estas reflexiones parece desprenderse que la hiperestimulación ovárica controlada que se utiliza habitualmente como preámbulo a la FIV debe seguir utilizándose y que el objetivo de ésta deberá ser siempre obtener el desarrollo de, al menos, 6-8 folículos preovulatorios.

Claro está que esto último no dejará de ser difícil o imposible en mujeres de edad reproductiva avanzada o en las que presentan un fallo ovárico oculto, en las que la reserva ovárica está limitada y en las que, como consecuencia, el número de folículos desarrollados tras la estimulación es escaso (19-21).

En resumen, parece evidente que la primera premisa para obtener buenos resultados en FIV es obtener farmacológicamente estimulaciones ováricas adecuadas.

La tasa de gestación observada en los ciclos en que fueron transferidos más de dos embriones (en general tres) ha sido mayor, aunque no significativamente, que la observada en los ciclos en que dos embriones fueron seleccionados para una transferencia selectiva. Cabe, ante todo, señalar que, con frecuen-

cia, en estos ciclos, los embriones transferidos fueron también seleccionados, aunque no con el mismo rigor, puesto que la media de embriones disponibles en este grupo fue mayor que en los otros dos grupos. En otras palabras, en este grupo fueron transferidos los tres embriones de mejor calidad morfológica de los que se dispuso.

El hecho de que no existan diferencias significativas en la tasa de gestación entre el grupo de transferencia selectiva de dos embriones y el grupo de transferencia de más de dos embriones merece un análisis más profundo pero, al menos en un primer abordaje parece sugerir que, si bien la limitación del número de embriones en la transferencia, cuando se dispone de dos embriones de buena calidad, permite que se cumplan los objetivos de semejante decisión, la selección del embrión a transferir todavía debe mejorar. Esto se ve corroborado por la similitud de las tasas de implantación observadas en los distintos grupos. Quizás transfiriendo sistemáticamente en día 3 al menos (22), quizás prolongando el cultivo para transferir blastocistos (13, 23), quizás disponiendo de parámetros distintos a los utilizados que permitan una mejor valoración de la viabilidad.

A pesar de todo, el resultado obtenido corrobora lo que había sido previamente afirmado (10): han disminuido las gestaciones múltiples (27% vs 21,7%), han sido erradicados los embarazos triples (6,6% vs 0%) y, aunque ha disminuido la tasa de gestación (41,2% vs 39%), no lo ha hecho de forma significativa.

Por otra parte, habrá que esperar a tener información acerca de los nacidos sanos de las gestaciones consideradas para determinar si, a pesar de la ligera disminución de la tasa de gestación observada, el resultado final justifica plenamente la reducción del número de embriones en la transferencia.

En función de estos resultados parece poder afirmarse que las unidades de reproducción asistida deben desarrollar protocolos que permitan limitar a dos el número de embriones transferidos, sobre todo impulsando aquéllos que supongan avances en la selección embrionaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Kerin J, Warner G, Quinn P, Jeffrey R, Godfrey B, Broom T, et al.:** The effect of clomid induced superovulation on human follicular and luteal function for extracorporeal fertilization and embryo transfer. *Clin Reprod Fertil* 1983; 2:129-42.
2. **Wood C, McMaster R, Renie G, Trounson A, Leeton J.:** Factors influencing pregnancy rates follo-

- wing in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1985; 43:245-50.
3. **Salat-Baroux J, Antoine J.:** Multiple pregnancies: the price to pay. *Eur J Obstet Gynecol Biol Reprod* 1996; 65(S):S17-S8.
 4. **Elster N.:** Science If, technology Twgor. Less is more: the risks of multiple births. *Fertil Steril* 2000; 74:617-23.
 5. **Dommergues M, Nisand I, Mandelbrot L, Isfer E, Radunovic N, Dumez Y.:** Embryo reduction in multifetal pregnancies after infertility therapy: obstetrical risks and perinatal benefits are related to operative strategy. *Fertil Steril* 1991; 55:805-11.
 6. **Papiernik E, Grange G, Zeitlin J.:** Should multifetal pregnancy reduction be used for prevention of preterm deliveries in triplet or higher order multiple pregnancies? *J Perinat Med* 1998; 26:365-70.
 7. **Keith L, Oleszczuk J.:** Iatrogenic multiple birth, multiple pregnancy and assisted reproductive technologies. *Int J Gynecol Obstet* 1999; 64:11-25.
 8. **Bronson R, Bavister B, Van Blerkom J, et al.:** How should the number of embryos transferred to the uterus following in-vitro fertilization be determined to avoid the risk of multiple gestation? *Hum Reprod* 1997; 12:1605-107.
 9. **Coetsier T, Dhont M.:** Embryo transfer and multiple gestation. Avoiding multiple pregnancies in in-vitro fertilization: who's afraid of single embryo transfer? *Hum Reprod* 1998; 13:2663-70.
 10. **Strandell A, Bergh C, Lundin K.:** Selection of patients suitable for one-embryo transfer may reduce the rate of multiple births by half without impairment of overall birth rates. *Hum Reprod* 2000; 15:2520-5.
 11. **Staessen C, Camus M, Bollen N, Devroey P, Van Steirteghem A.:** The relationship between embryo quality and the occurrence of multiple pregnancies. *Fertil Steril* 1992; 57:626-30.
 12. **Fujii S, Fukui A, Yamaguchi E, Sakamoto T, Sato S, Saito Y.:** Reducing multiple pregnancies by restricting the number of embryos transferred to two at the first embryo transfer attempt. *Hum Reprod* 1998; 13:3550-4.
 13. **Gardner D, Vella P, Lane M, Wagley L, Schlenker T, Schoolcraft W.:** Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Fertil Steril* 1998; 69:84-8.
 14. **Dieguez L, Molina I, Alvarez C, Blanco C, Bosch E, Cabo A, et al.:** ¿Existen razones en la estimulación ovárica para FIV que condicionen la polipenetración? *Revista Iberoamericana de Fertilidad* 1993; 10:23-30.
 15. **Fernandez P, Luna C, Blanes R, Navarro I, Molina I, Dieguez L.:** Uso razonado de las técnicas de selección espermática empleadas en reproducción asistida. *Revista Iberoamericana de Fertilidad* 1998; 15:13-28.
 16. **Molina I, de la Orden M, Dieguez L, Fernandez P, Monzó A, Romeu M, et al.:** Nuevo método para la inyección intracitoplasmática de espermatozoides. *Revista Iberoamericana de Fertilidad* 2000; 17:120-6.
 17. **Veeck L.:** Atlas of the human oocyte and early conceptus. Baltimore, London. Los Angeles, Sydney: Williams and Wilkins; 1986.
 18. **Maroulis G.:** Effect of aging on fertility and pregnancy. *Semin Reprod En doocrinol* 1991; 9:165-75.
 19. **Kim S-H.:** Female aging and superovulation induction for IVF. *J Obstet Gynaecol (Japan)* 1995; 21:75-82.
 20. **Romeu A, Muasher S, Acosta A, Veeck L, Díaz J, Jones G, et al.:** Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older: the Norfolk experience. *Fertil Steril* 1987; 47:130-6.
 21. **Mettler L, Salmassi A, Branderburg A, Lutzewitch N.:** Non-responsive patients: characteristics of patients. In: Hedon B, Bringer J, Mares P, editors. *Fertility and Sterility. A current overview.* New York: The Parthenon Publishing Group; 1995. p. 361-7.
 22. **Racowsky C, Jackson K, Cekleniak N, Fox J, Hornstein M, Ginsburg E.:** The number of eight-cell embryos is a key determinant for selecting day 3 or day 5 transfer. *Fertil Steril* 2000; 73:558-64.
 23. **Milki A, Hinckley M, Fisch J, Dasig D, Behr B.:** Comparison of blastocyst transfer with day 3 embryo transfer in similar patient populations. *Fertil Steril* 2000; 73:126-9.