

La dificultad y el manchado de la cánula post-transferencia embrionaria en un programa de FIV/TE

The difficulty and stained of the post-transfer embryo catheter in a human IVF/ET program

Pedrero S¹, Íñiguez J¹, Gutiérrez-Corchado L¹, Bachiller J¹, Estrade A¹, Gasca L¹, Salido E¹, Bebek H²

¹Unidad de Reproducción Asistida. Policlínica San Mauricio. Jerez de la Frontera. (Cádiz),

²Hospital General Universitario. Valencia

Resumen

Objetivo: Valorar la posible influencia de la dificultad en la transferencia embrionaria y el manchado de la cánula post-transferencia en las tasas de gestación y de implantación embrionaria.

Ámbito: Centro privado de diagnóstico y tratamiento de la esterilidad.

Sujetos del estudio: Han sido estudiados 117 pacientes que se sometieron a un ciclo de fecundación in vitro con transferencia embrionaria. Todos los ciclos con factor de infertilidad estrictamente masculino.

Resultados: Del total de las transferencias, 104 fueron consideradas fáciles (88.89%); las tasas de gestación fueron 56.1% frente a 50% entre fácil / limpia y fácil / manchada respectivamente. Las tasas de implantación embrionaria fueron 24.9% frente a 22.54% entre fácil/limpia y fácil/manchada respectivamente. En ninguno de los casos diferencias significativas.

Conclusión: Tanto la dificultad en la transferencia embrionaria como el manchado de la cánula post-transferencias son dos variables a tener muy en cuenta en un programa de FIV/TE.

Palabras claves: Transferencia embrionaria. Tasa gestación e implantación. Manchado cánula post-transferencia

Correspondencia: Dr. Sergio Pedrero Santos
Avda. Los álamos, 2
11407 Jerez de la Frontera (Cádiz)
sergiopedrero@hotmail.com

Summary

Groups of study: 117 patients who underwent to a cycle of in vitro fertilization and embryo transfer were studied

Results: From of the embryo transfer, 104 were considered easy (88.89%); pregnancy rates were 56.1% vs 50% refers to easy/clean catheter and easy/stained catheter respectively. Implantation rates were 24.9% vs 22.54% between easy/clean and easy/stained catheter respectively. None of the cases there were significant differences

Conclusions: As well difficultty with embryo transfer as post-transfer stained catheter are two variables to take in consideration in a Human IVF/ET program.

Key words: Embryo transfer. Pregnancy and implantation rates. Stained post-transfer catheter

INTRODUCCIÓN

A pesar que cada uno de los pasos seguidos en un ciclo de FIV es importante para conseguir el objetivo final, la gestación, hay que destacar la importancia que tiene la transferencia embrionaria. Esta puede realizarse en el útero o a nivel de las trompas de Falopio.

En la transferencia intratubárica existen tres posibilidades, todas ellas realizadas por vía laparoscópica:

* Transferencia intratubárica de gametos (GIFT). Consiste en la transferencia de gametos femeninos y masculinos a la región ampular de la trompa. Fue realizada por primera vez por Asch en 1985 (1).

* Transferencia intratubárica de cigotos (ZIFT). La describió Devroey en 1986 (2). Consiste en la transferencia, por vía laparoscópica, de cigotos a las trompas de falopio

* Transferencia intratubárica de embriones (TET). Introducida por Balmaceda en 1988 (3 y 4). La única diferencia estriba que en ésta se permite que los cigotos se dividan y alcancen el estadio de preembriones de 4-6 células, realizándose la transferencia 48 horas después de la punción ovárica.

La transferencia embrionaria intrauterina es hoy en día la técnica más utilizada en la mayoría de los centros donde se realizan ciclos de FIV/TE. Consiste en el depósito de los embriones en la cavidad uterina mediante un catéter a través del canal cervical.

Son muchos los factores que pueden condicionar el éxito de todo un ciclo; la edad de las pacientes, el número y calidad de los embriones transferidos (5), la dificultad en la transferencia embrionaria (6, 7), así como el tipo de cánula utilizada en la transferencia (8, 9).

El objetivo inicial era observar como podían variar las tasas de gestación y de implantación en función de la dificultad de la transferencia embrionaria. Del mismo modo, también nos planteamos la posibi-

lidad de poder analizar si el manchado o no de la cánula post-transferencia era un valor a tener en cuenta en un programa de fecundación in vitro.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Para la realización de este estudio, de las 342 pacientes que se sometieron a un ciclo de FIV/TE entre Abril de 2.000 y Noviembre de 2.001, ambos inclusive, fueron seleccionadas aquellas cuyo factor de infertilidad era de tipo estrictamente masculino y, además, en todos los casos la transferencia fue realizada por el mismo equipo (embriólogo/ginecólogo), para evitar así posibles errores en la valoración de la dificultad y el manchado de la cánula.

En total 117 pacientes que cumplían con los requisitos fueron distribuidas en dos grupos según una serie de variables:

* Dificultad de la transferencia: fácil o difícil (6, 10).

* Manchado o no de la cánula una vez realizada la transferencia (7).

En el estudio se incluyeron todas las pacientes, independientemente del número de embriones transferidos o de la calidad de los mismos. La técnica que se empleó para la fecundación fue la microinyección intracitoplasmática (ICSI). Todas las transferencias que se realizaron fueron intrauterinas y bajo control ecográfico, lo cual aporta importantes beneficios en las tasas de gestación (11-13), ya que según Baba et al. (14) la mayoría de los embriones implantan en el mismo lugar donde fueron transferidos.

Protocolo de estimulación

En todos los casos, se disminuyó la función hipo-

fisaria con triptorelina (Decapeptyl diario 0.1 mg, Ipsen Pharma); se inició su administración el día 21 del ciclo. A partir del tercer día del siguiente ciclo, se comenzó a administrar la FSHr (Gonal F150, Serono). La dosis se ajustó individualmente y, en caso de ciclos previos de tratamiento, se determinó en función de la respuesta previa. En nuestro centro un dato que se tiene muy en cuenta es el valor del estradiol. Cuando se observó que el folículo mayor tenía un tamaño de 19 mm, se procedió a la administración de la HCG (Profasi, Serono), entre 36-38 horas antes de la punción ovárica.

Trabajo de laboratorio

Los ovocitos se obtuvieron por punción ovárica guiada ecográficamente. Se dejaron dos horas en el incubador para posteriormente pasar a denudarlos. Aquellos ovocitos maduros, metafases II, fueron microinyectados. En ninguno de los 117 ciclos se utilizó semen de donante ni se realizó ninguna fecundación in vitro clásica (FIV).

Los ovocitos microinyectados se cultivaron en microgotas de IVF (Scandinavian IVF Science AB, Suecia) de 30 µl de volumen cubiertas por aceite mineral (Sigma, St. Louis MO, Estados Unidos) en el incubador a 37 °C y 5% de CO₂. Entre 16 y 20 horas después de la microinyección se procedió a efectuar la observación de la fecundación. Los cigotos fecundados normales (2 PN y 2 CP) fueron cultivados en G1.1 (Scandinavian IVF Science AB, Suecia) hasta el día de la transferencia, aproximadamente 24 horas después de esta primera observación o bien 48 después.

Antes de la transferencia se valoraron los embriones (5). En nuestro centro utilizamos una clasificación combinada de 2 dígitos (L. Veek): el primero corresponde al número de blastómeras y el segundo al grado de fragmentación evaluado del 1 al 5, donde 1 representa la ausencia total de fragmentación y simetría de las blastómeras, y 5 representa que ninguna blastómera está íntegra, es decir, la totalidad del embrión está fragmentado.

Para la transferencia se eligieron los embriones de mejor calidad, un máximo de 4 y un mínimo de 1 embrión.

Característica del catéter de transferencia

La elección de un determinado tipo de catéter de transferencia embrionaria es un paso a tener muy en cuenta, según la mayoría de la literatura científica (8, 9). Todas las transferencias se realizaron

con la misma cánula, emtrac-set (Gynetics). Es un set que consta de dos cánulas: una externa que utiliza el ginecólogo para colocarla lo más próxima posible al lugar del endometrio donde se depositarán los embriones, y una segunda cánula interna con la cuál el embriólogo carga los embriones. La cánula externa combina flexibilidad en la punta del catéter con una mayor rigidez en su parte inicial, para así ayudar al ginecólogo en la canalización cervical. Esta cánula externa consta de un marcador situado a unos 6 ó 7 centímetros del final.

La cánula interna es de las consideradas blandas o flexibles, lo cual aporta importantes ventajas. Cuenta con una funda de acero que facilita el manejo de la misma así como de un marcador que indica cuando, una vez introducida ésta en la cánula exterior, se ha alcanzado la parte más distal de la cánula exterior.

Procedimiento de la transferencia

Los embriones de mejor calidad fueron colocados en una caja de pocillo central (Falcom 356553) en 1 mL de G2.2 (Scandinavian IVF Science AB, Suecia). Si la transferencia tuvo lugar 48 después de la punción ovárica, los embriones a transferir fueron colocados 30' antes en el G2.2., en cambio, cuando la transferencia se realizó 72 horas post punción ovárica, los embriones eran colocados en el G2.2 en el mismo momento en que se efectuaba la valoración de éstos para elegir los embriones a transferir.

Al catéter de transferencia interno se le acopló una jeringuilla de insulina y, previamente a proceder a la carga de los embriones, el catéter fue purgado con 1 ml de aire. El procedimiento seguido para cargar los embriones fue el siguiente: primero se aspiró 0.1 ml de aire, que nos servirá, al realizar la transferencia, para vaciar completamente el catéter. A continuación, se aspiran 5 µl de medio de cultivo y se deja la misma cantidad de aire. Posteriormente se cargan los embriones con la menor cantidad de medio posible y se deja otro espacio de aire antes de aspirar la última porción de medio, aproximadamente 5 µl.

Se colocó a la paciente en posición ginecológica. El ginecólogo, tras realizar un lavado de la zona genital con suero fisiológico y una aspiración del posible moco cervical, procedió a la canalización cervical de la cánula externa bajo control ecográfico, quedando la parte más distal de ésta en el lugar del endometrio más adecuado.

Una vez cargada la cánula con los embriones, ésta se introdujo en la cánula externa y se transfirieron los embriones al interior de la cavidad uterina, aproximadamente a 1 centímetro del fondo uterino, presionan-

do suavemente la jeringuilla de insulina. Los dos catéteres se retiraron a la vez inmediatamente después de la transferencia de los embriones y se comprobó, bajo microscopio estereoscópico, que no había quedado ningún embrión adherido a las paredes del catéter, lavándolo con 1 ml de medio.

La paciente se mantuvo 5' en reposo en el quirófano antes de ser dada de alta, recomendándole reposo relativo durante unas 15 horas.

Se efectuó la valoración de la dificultad de la transferencia por parte del ginecólogo, teniendo en cuenta la dificultad en la canalización cervical y el empleo o no de las pinzas de pozzi. Se utilizaron dos variables, fácil o difícil. La observación del manchado o no de la cánula post-transferencia fue realizada por el embriólogo que realizó la transferencia, utilizándose el adjetivo manchado para todas aquellas cánulas que al terminar la transferencia no se encontraban completamente limpias.

Análisis estadístico

Para las variables paramétricas se utilizó la prueba independiente de la t de Student, considerándose diferencias significativas aquellas cuya $p < 0.05$. Las variables no paramétricas fueron comparadas con el estadístico Exacto de Fisher o con la prueba de la Chi Cuadrado, considerándose también diferencias significativas aquellas con una $p < 0.05$.

RESULTADOS

Primero dejaremos al margen el manchado o no de la cánula post-transferencia, para así poder analizar los resultados de la posible dificultad en la transferencia embrionaria.

La tasa de gestación de las 117 transferencias realizadas fue de 52.1%. Del total de transferencias, 104 fueron consideradas como fáciles (88.89%) y 13 como difíciles (11.11%). El concepto difícil se reservó cuando hubo algún problema en la canalización cervical y hubo que recurrir a la utilización de las pinzas de Pozzi para dilatar el canal cervical. Las tasas de gestación entre las transferencias consideradas fáciles y las difíciles muestran una diferencia muy importante (54.8% y 30.8%, respectivamente), aunque no significativa (tabla 1). Las tasas de implantación embrionaria también indican diferencias importantes (24.7% frente 13.95%, entre fáciles y difíciles respectivamente) (tabla 1), aunque no son comparables estadísticamente por el bajo número de sacos gestacionales de las transferencias difíciles.

En cuanto a las características de las pacientes (tabla 2) no hubo diferencias significativas en ninguna de las variables cuantitativas estudiadas. La edad de todos los grupos fue pareja, 32.24 ± 4.06 frente 33.77 ± 5.21 entre las transferencias consideradas fáciles y las difíciles, respectivamente. Tanto el número de ovocitos obtenidos (13.81 ± 7.59 y 15.92 ± 10.91) como el número de embriones transferidos (3.19 ± 0.56 y 3.31 ± 0.48) entre fáciles y difíciles, respectivamente, así como la calidad de los mismos (2.26 ± 1.10 y 2.15 ± 1.14 , embriones grado I y II) fue muy parejo.

Si tomamos el grupo de las transferencias fáciles y estudiamos el manchado de la cánula post-transferencia, vemos como las tasas de gestación son muy parecidas (56.1% frente 50%, limpia y manchada respectivamente) (tabla 3). La tasa de implantación embrionaria (24.9% frente 22.54%, limpia y manchada respectivamente) tampoco aporta diferencias significativas. Lo mismo ocurre en las variables cuanti-

Tabla 1

Tasas de gestación e implantación según la dificultad de la transferencia

	Fácil	Difícil	p-valores
No. ciclos (n)	104	13	—
Tasa de gestación (%)	54.8	30.8	NS
Tasa de implantación (%)	24.7	13.95	—

Valores expresados como porcentajes
NS: diferencia no significativa

Tabla 2

Características generales según la dificultad de la transferencia

Variables	Fácil	Difícil	p-valores
No. pacientes (n)	104	13	—
Edad de las pacientes	32.24 ± 4.06	33.77 ± 5.21	NS
No. ovocitos	13.81 ± 7.59	15.92 ± 10.91	NS
No. metafases II	9.75 ± 5.13	10.31 ± 6.49	NS
No. ovocitos fecundados	7.7 ± 4.04	8 ± 5.12	NS
No. embriones transferidos	3.19 ± 0.56	3.31 ± 0.48	NS
Embriones grado I y II	2.26 ± 1.1	2.15 ± 1.14	NS
Embriones grado III, IV y V	0.92 ± 1.21	1.15 ± 1.28	NS

Valores expresados como media \pm error estándar de la media
NS: diferencia no significativa

tativas, salvo en la calidad de los embriones, donde se observan diferencias significativas (2.17 ± 1.08 y 2.59 ± 1.14 , limpia y manchada) (tabla 4). Éste dato será comentado ampliamente en la conclusión.

DISCUSIÓN

A la vista de los resultados de Dorn C. et al (10) la utilización de las pinzas de Pozzi durante la transferencia embrionaria supone la liberación de cantidades importantes de oxitocina (causante de contracciones uterinas) en suero. Aunque el número de casos no es comparable, por el hecho que el número de transferencias consideradas fáciles es de 104 y de las consideradas difíciles de 13, consideramos que si existen diferencias importantes, aunque no significativas, entre ambos grupos (57.4% vs 30.77%, a favor de transferencias fáciles, $p > 0.05$).

Esta diferencia de casos entre transferencias fáciles o difíciles podría estar en relación con el hecho de realizar todas las transferencias embrionarias bajo

Tabla 3

Tasas de gestación e implantación según el manchado o no de la cánula post-transferencia

	Fácil y limpia	Fácil y manchada	p-valores
No. transferencias (n)	82	22	—
Tasa de gestación (%)	56.1	50	NS
Tasa de implantación (%)	24.9	22.54	NS

Valores expresados como porcentajes
NS: diferencia no significativa

Tabla 4

Características generales según el manchado o no de la cánula post-transferencia

Variables	Fácil y limpia	Fácil y manchada	p-valores
No. pacientes (n)	82	22	—
Edad de las pacientes	32.21 ± 4.08	32.36 ± 4.04	NS
No. ovocitos	13.59 ± 7.86	14.64 ± 6.6	NS
No. metafases II	9.5 ± 5.2	10.68 ± 4.89	NS
No. ovocitos fecundados	7.52 ± 4.2	8.36 ± 3.4	NS
No. embriones transferidos	3.18 ± 0.59	3.23 ± 0.43	NS
Embriones grado I y II	2.17 ± 1.08	2.59 ± 1.14	0.046
Embriones grado III, IV y V	1 ± 1.24	0.64 ± 1.09	NS

Valores expresados como media \pm error estándar de la media
NS: diferencia no significativa

control ecográfico, lo cual aporta importantes ventajas a las transferencias embrionarias, según la gran mayoría de trabajos existentes sobre el tema (11-14).

Para Goudas et al. (7), el manchado exterior de la cánula post-transferencia afecta a las tasas de gestación y de implantación (estudio realizado en 354 transferencias). Por el contrario, según Tur-Kaspa et al. (6) la dificultad o la repetición de la transferencia no afectaban a los resultados de un programa de FIV, pero no comentaban el manchado o no de la cánula post-transferencia.

En cuanto al manchado o no de la cánula post-transferencias no hemos encontrado diferencias significativas en las tasa de gestación (56.1% frente 50%, entre limpia y manchada, $p=0.61$), ni tampoco en las tasas de implantación (24.9% frente 22.54% entre limpia y manchada, $p=0.77$). Estos no eran los resultados esperados por el equipo de reproducción, pues según algunos autores (7, 10) el manchado de la cánula si que tenía una estrecha relación con las tasas de gestación y de implantación. Una posible explicación radicaría en el hecho que se han transferidos embriones de mejor calidad cuando la cánula post-transferencia ha resultado manchada (2.17 ± 1.08 frente 2.59 ± 1.14 , entre limpia y manchada, $p=0.046$). Por tanto, esto podría considerarse como un "factor corrector" que mejoraría el resultado gestacional, hasta igualarlo al grupo de transferencias con cánula limpia. Habrá que esperar a tener una mayor casuística para poder sacar una conclusión definitiva, aunque todo hace apuntar que si que existirán diferencias entre ambos grupos.

BIBLIOGRAFIA

1. **Asch RH, Ellsworth LR, Balmaceda JP, Wong PC.:** Birth following gamete intrafallopian transfer. *Lancet*.1985 Jul 20; 2(8447): 163
2. **Devoroe P, Braeckmans P, Smitz J, Van Waesberghe L, Wisanto A, Van Steirteghem A, Heytens L, Camu F.:** Pregnancy after translaparoscopic zygote intrafallopian transfer in a patient with sperm antibodies. *Lancet*.1986 Jun 7; 1(8493): 1329.
3. **Balmaceda JP, Gastaldi C, Remohi J, Borrero C, Ord T, Asch RH.:** Tubal embryo transfer as a treatment for infertility due to male factor. *Fertil Steril*.1988 Sep, 50(3): 476-9.
4. **Borrero C, Balmaceda JP, Rojas FJ, Asch RH.:** The GIFT experience: an evaluation of the outcome of 115 cases. *Hum Reprod*.1988 Feb; 3(2): 227-30.
5. **Cummins JM, Breen TM, Harrison KL, Shaw JM, Wilson LM, Hennessey JF.:** A formula for scoring human embryo growth rates in in vitro fertilization: its value in predicting pregnancy and in comparison with

- visual estimates of embryo quality. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1986 Oct; (5): 284-95.
6. **Tur-Kaspa I, Yuval Y, Bider D, Levron J, Shulman A, Dor J.:** Difficult or repeated sequential embryo transfer do not adversely affect in-vitro fertilization pregnancy rates or outcome. *Hum Reprod.*1998 Sep; 13(9): 2452-5.
 7. **Goudas VT, Hammitt DG, Damario MA, Session DR, Singh AP, Dumesic DA. :** Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.*1998 Nov; 70(5): 878-882.
 8. **Gonen Y, Dirnfeld M, Goldman S, Koifman M, Abramovici H.:** Does the choice of catheter for embryo transfer influence the success rate of in-vitro fertilization?. *Hum Reprod.*1991 Sep; 6(8): 1092-4.
 9. **Meriano J, Weissman A, Greenblatt EM, Ward S, Casper RF.:** The choice of embryo transfer catheter affects embryo implantation after IVF. *Fertil Steril.* 2000 Oct; 74(4): 678-82.
 10. **Dorn C, Reinsberg J, Schlebusch H, Prietl G, Van der Ven H, Krebs D.:** Serum oxytocin concentration during embryo transfer procedure. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*1999 Nov; 87(1): 77-8.
 11. **Coroleu B, Carreras O, Veiga A, Martell A, Martinez F, Belil I, Hereter L, Barri PN.:** Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*2000 Mar; 15(3): 616-20
 12. **Wood EG, Batzer FR, Go KJ, Gutmann JN, Corson SL.:** Ultrasound-guided soft catheter embryo transfers will improve pregnancy rates in in vitro fertilization. *Hum Reprod.*2000 Jan; 15(1): 107-12
 13. **Kan AK, Abdalla HI, Gafar AH, Nappi L, Ogunyemi BO, Thomas A, Ola-ojo OO.:** Embryo transfer: ultrasound-guided versus clinical touch. *Hum Reprod.*1999 May; 14(5): 1259-61.
 14. **Baba K, Ishihara O, Hayashi N, Saitooh M, Taya J, Kinoshita K.:** Where does the embryo implant after embryo transfer in humans?. *Fertil Steril.*2000 Jan; 73(1): 123-25.