

Embriología

Estado actual de la maduración in vitro (MIV)

Maduration in vitro update

Tur R, Martínez F, Arroyo G, Carreras O, Belil I, Coroleu B y Veiga A

Servicio de Medicina de la Reproducción, Departamento de Obstetricia y Ginecología,
Institut Universitari Dexeus, Barcelona

Resumen

Se revisa el estado actual de la Maduración in vitro (MIV) de ovocitos y se aporta la experiencia con esta técnica en el Institut Universitario Dexeus.

Se describen las diferentes experiencias de los autores sobre los distintos aspectos de la MIV y se constatan aspectos todavía controvertidos o no resueltos. En nuestro centro se han realizado un total de 26 punciones foliculares para MIV. Maduraron el 62.3% de los ovocitos y se transfirieron 2.0 ± 0.7 embriones, consiguiéndose 4 embarazos (14.6% por punción, 17,4% por transferencia), con una tasa de implantación del 8,3%.

La MIV se ha aplicado tanto en mujeres que presentan un Síndrome del ovario poliquístico (SOP) y/o ovarios de patrón ecográfico de ovario poliquístico como en mujeres con ciclos regulares y ovarios normales. La mayoría de publicaciones refieren tasas de implantación y embarazo inferiores a la FIV convencional y elevadas tasas de aborto. Los resultados más bajos se presentan en mujeres con SOP. Se estima que han nacido más de 400 niños con un seguimiento obstétrico y perinatal comparable a la FIV convencional.

La MIV es una técnica en auge. Sus potenciales ventajas (mayor comodidad y sencillez de la técnica para la paciente, posible mejor coste-beneficio, menos efectos secundarios, especialmente la HSO etc.) hacen que esta técnica sea atractiva y prometedora aunque existen todavía numerosos aspectos tanto clínicos como biológicos sin resolver.

Puede ser una opción válida en mujeres con riesgo de HSO y en mujeres que desean evitar la estimulación ovárica. En mujeres jóvenes con ciclos regulares que requieren de FIV, habrá que valorar el coste, la eficacia y la inocuidad de las diferentes opciones de tratamiento.

Para que en el futuro la MIV pueda ser una alternativa real a la FIV convencional, es necesario mejorar el manejo de la estimulación ovárica y su monitorización, así como las técnicas laboratorio (medios y protocolos) que proporcionen mayor rendimiento de esta técnica.

Palabras clave: Maduración in Vitro. Fecundación in Vitro. SOP. ovarios poliquísticos. Tasas de embarazo. Técnicas de reproducción asistida.

Correspondencia: Dr. R. Tur
Servicio de Medicina de la Reproducción
Departamento de Obstetricia y Ginecología
Institut Universitari Dexeus
Pº Bonanova, 67
08017 Barcelona
e-mail: rostur@dexeus.com

Summary

This is an update of the In Vitro Maturation of oocytes. Results from and present the experience with this technique at Institut Universitariu Dexeus are present.

Experiences of different IVM teams are described, regarding different aspects of IVM and controversies and unsolved aspects are discussed. At our IVM program, 26 follicular punctions for have been performed. Out of all immature oocytes recovered, 62.3% completed in vitro maturation, 2.0 ± 0.7 embryos were transferred and 4 pregnancies were obtained (14.6% pregnancy /punction, 17,4% pregnancy/ transfer), giving a 8,3% implantation rate.

IVM has been successfully applied to women with normal ovaries, PCOS and/or polycystic ultrasound pattern. Most authors refer pregnancy and implantation rates below to conventional IVF, and higher abortion rates. Lowest results are among PCOS patients. More than 400 births have been documented worldwide with obstetric and perinatal outcomes comparable to conventional IVF.

IVM is an emerging technique. Potential advantages(greater comfort, easiness for patients, potential better cost-benefit ratio, less secondary effects, particularly no OHS, ..) makes this technique very promising and attractive , although several clinical and methodological aspects need to be improved: ovarian stimulation protocols and monitoring , laboratory procedures and culture mediums . It could be a procedure of choice for women at risk of OHSS, or who want to avoid stimulation. For young regularly cycling women needing IVM could be consider among different choices.

Key words: In Vitro Maturation. IVF. PCOS. PCO. Clinical pregnancies. Assisted reproduction technologies.

INTRODUCCIÓN

A la vista de los resultados publicados más recientes (1-4), parece que la punción-obtención de ovocitos inmaduros, sin previa estimulación ovárica y su posterior maduración in Vitro (MIV), puede ser una alternativa a la FIV convencional, especialmente en mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) y/o con patrón de ovario poliquístico (OPQ), ovario multifolicular (OMF). Esta técnica podría eliminar el riesgo de hiperestimulación ovárica (HSO), reducir el coste y la duración del tratamiento, consiguiendo así una mayor sencillez en las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).

Por otro lado, también podría aplicarse a aquellas mujeres con antecedentes de HSO, así como a aquellas que no desean o presentan contraindicación el tratamiento de estimulación ovárica.

El principal atractivo de la MIV respecto a la FIV convencional es evitar la estimulación ovárica con las ventajas que esto comporta:

- * Evitar la posibilidad del Síndrome de HSO (SH-SO)
- * Evitar los posibles efectos adversos a largo plazo de las gonadotropinas (endometrio, ovario y mama)
- * Evitar la incomodidad de la administración inyectable de las gonadotropinas.

* Mayor comodidad por la sencillez en la monitorización.

* Mejor relación coste beneficio.

Actualmente la MIV, a pesar de que existen todavía diversos aspectos clínicos y/o biológicos controvertidos y/o no resueltos, es una técnica en auge tanto por los resultados publicados como por el interés que genera entre las mujeres que desean optar a ella como alternativa a la FIV convencional. El primer nacimiento en España fruto de esta técnica (5) es una buena ocasión para revisar el estado actual de la técnica de MIV. Se ha realizado una revisión de la literatura, seleccionando los artículos de los grupos líderes en MIV, que se refieren especialmente a aspectos clínicos, que proporcionan una visión global del estado actual.

CONCEPTO DE MIV

Un ovocito se considera maduro cuando alcanza la madurez tanto citoplasmática como nuclear. La madurez nuclear se pone de manifiesto con el reinicio de la primera división meiótica hasta metafase II, y se evidencia con la extrusión del primer corpúsculo polar. La madurez citoplasmática se observa, de forma indirecta por la uniformidad del citoplasma, junto con el grado de expansión de las células de cúmulo y el aumento del espacio perivitelino. Ambos procesos

son necesarios para una adecuada fecundación y desarrollo embrionario.

Utilizando técnicas de MIV, los ovocitos inmaduros recuperados en estadio de profase I con presencia de vesícula germinal (VG), procedentes de folículos que todavía no han sufrido la dominancia, son madurados en un medio específico para la maduración hasta que alcanzan metafase II.

La capacidad de madurar ovocitos inmaduros fue demostrada por primera vez en animales por Pincus y Enzmann en 1935 (6) y por Edwards en humanos en 1965 (7). En 1983, Veeck y cols. (8) observaron como ovocitos inmaduros, recuperados de folículos en desarrollo tras estimulación con gonadotropinas, maduraban espontáneamente en el laboratorio y eran capaces de ser fecundados, consiguiendo embriones evolutivos y embarazos. Finalmente en 1991, Cha y cols. (9) publicaron el primer niño nacido tras maduración de ovocitos in vitro y unos años más tarde Trounson y cols. (10) publicaron la primera serie de embarazos en mujeres con SOP conseguidos por MIV. Desde entonces hasta la actualidad se estima que han nacido aproximadamente unos 400 niños gracias a esta técnica (11).

ASPECTOS CLÍNICOS

Candidatas para la MIV:

Desde los primeros casos publicados con MIV hasta ahora, se ha descrito la aplicación de esta técnica en:

-Mujeres con ovarios poliquísticos o de aspecto multifolicular (12), puesto que presentan un gran número de folículos antrales disponibles para la punción. Son mujeres que por tener una mayor sensibilidad a las gonadotropinas tienen un mayor riesgo de HSO.

- Mujeres con antecedentes de HSO en un ciclo de FIV convencional.

- Como alternativa a la cancelación de un ciclo de FIV (conversión de un ciclo de FIV iniciado a un ciclo de MIV), en que se detecta un riesgo elevado de HSO, interrumpiendo la estimulación y aspirando los folículos sin administrar HCG (13) o administrando HCG con diámetro de los folículos dominantes entre 12-14 mm (14). Los ovocitos inmaduros fueron posteriormente madurados in Vitro.

-Mujeres con ciclos normales (15-18), ovarios normales, con una buena reserva ovárica, que desean evitar la estimulación ovárica (menor coste, mayor confort, menos efectos secundarios). Especialmente

indicado en mujeres jóvenes de buen pronóstico que requieren FIV.

-Se ha aplicado también, aunque en menor escala, en mujeres con baja respuesta, aunque el número de casos tratados y los resultados publicados son limitados (19, 20).

A pesar de que los estudios publicados confirman la utilidad de la MIV en un amplio número de pacientes estériles tratadas con esta técnica, no hay estudios rigurosos que comparen la FIV convencional con la MIV, por lo que por el momento parece sensato limitarlo a mujeres con riesgo al tratamiento con gonadotropinas y que presentan una adecuada reserva ovárica.

En nuestro centro se consideran indicaciones para la MIV (5):

1. Mujeres con diagnóstico de SOP y/o patrón ecográfico de ovarios multifoliculares (OMF)

2. Ciclos previos de FIV con antecedente de HSO

3. Contraindicación o no deseo de estimulación ovárica

4. Otras posibles indicaciones a valorar según las condiciones particulares de cada caso:

- Indicación FIV por factor masculino en mujeres < 30 años

- Ciclos FIV en curso, con riesgo de HSO

- Mujeres con baja reserva folicular

Los casos que presentan peor pronóstico y por tanto se consideran como criterios de exclusión:

1. Ecografía: menos de 10 folículos antrales (< 10mm) entre los dos ovarios

2. Edad: superior a 35 años

3. Índice de masa corporal (IMC): superior a 30

Impregnación con gonadotropinas:

Una de los principales atractivos de la MIV respecto a la FIV convencional es que no requiere estimulación ovárica. Sin embargo, no existe unanimidad respecto a las posibles ventajas de una estimulación mínima o la impregnación con HCG.

- Estimulación mínima con FSH: Diferentes estudios han demostrado resultados aceptables en ciclos de MIV no estimulados tanto en ciclos regulares (17, 22), como en mujeres con SOP (3, 11). A la vista de las bajas tasas de implantación conseguidas en MIV en las mujeres con SOP (23), algunos autores (24) demostraron que un mayor número de ovocitos alcanzaron Metafase II con la administración de gonadotropinas y una mejor tasa de embarazo con la administración de gonadotropinas en fase folicular precoz (150UI FSH durante 3 días) en comparación a

la no estimulación con gonadotropinas (25). Un estudio reciente de ciclos de MIV en mujeres con SOP (26), compara tres grupos: 28 ciclos no estimulados, 26 ciclos no estimulados pero con administración de metformina y 12 ciclos con metformina más estimulación con gonadotropinas, obteniendo los mejores resultados en este último grupo. Estos resultados deben analizarse con cautela por tratarse de un estudio retrospectivo y con un número limitado de casos.

- Administración de 10.000 UI HCG 36 horas antes de la punción folicular:

La LH permite que el ovocito en VG prosiga su maduración y alcance la metafase II, con la extrusión del corpúsculo polar (CP). Chian y cols. (27), en un estudio randomizado, compararon entre la administración o no de hCG y observaron que la maduración de los ovocitos y la tasa de embarazo mejoraba con la administración de 10.000 UI de HCG 36h previa a la punción ovárica. Según los autores, la HCG facilita la recuperación de los ovocitos, aumenta el número de ovocitos que alcanzan MII a las 48 h. y acelera el proceso de maduración. En un estudio reciente (28), se observó un menor porcentaje de blastómeros multinucleados en ciclos en que se administró hCG en comparación a ciclos en que se administró solo FSH. Sin embargo, otros grupos (3, 17, 22) no administran HCG y obtienen resultados satisfactorios.

- Asociación de FSH+ HCG en mujeres con SOP: mientras que unos autores (29) no observaron ninguna ventaja al asociar ambos tratamientos, otros (30) obtuvieron una mejor calidad embrionaria al realizar impregnación con FSH y HCG.

Por tanto, hasta que no se disponga de más estudios, parece que las mujeres con SOP se van a beneficiar de la estimulación mínima con FSH y/o administración de HCG 36 horas antes de la punción folicular.

En nuestro protocolo, administramos dosis mínimas de FSH-r (entre 37,5-75 UI FSH-r) a partir del día 3-5 del ciclo espontáneo o post deprivación, hasta conseguir un endometrio ≥ 5 mm momento en que se administra 10.000 UI de HCG.

En la Tabla 1 se resume la experiencia con MIV en pacientes con ciclos regulares y ovarios normales y en la Tabla 2 la experiencia en pacientes con SOP.

Monitorización del ciclo

Aunque no hay un protocolo universalmente aceptado para la MIV, la mayoría de grupos realizan un control en el 3º día del ciclo menstrual (espontáneo o tras deprivación con progesterona) para descartar la presencia de quistes ováricos, folículos en crecimen-

to y determinar el grosor endometrial. En los casos de SOP, la mayoría de autores administran 150Ui de FSH-r durante 3 días y repitiendo el control, valorando posible crecimiento folicular, grosor endometrial, y estradiol. Se realizan 1-2 controles posteriores, hasta observar un endometrio ≥ 5 mm. y folículos antrales entre 8-12mm de diámetro. Se programa la punción folicular con o sin la administración de 10.000 de HCG.

Punción folicular: Aspectos clínicos

En general se considera el momento óptimo de la punción folicular cuando el diámetro folicular oscila entre 8 y 12mm. y el grosor endometrial es ≥ 5 mm.

El objetivo es realizar la extracción de los ovocitos inmaduros alrededor del momento de la selección del folículo dominante, pero antes de la dominancia (entre el inicio de la atresia y la atresia completa).

Sin embargo, los criterios para determinar el momento de la punción no están bien definidos y la mayoría se basan en la experiencia de estudios retrospectivos. Mikkelsen y cols. (31), no observaron diferencias en mujeres que presentaban ciclos regulares, cuando el folículo dominante era de <12 mm o >12 mm. Por el contrario otros autores (32), compararon ciclos en los que todos los folículos eran < 10 mm frente a ciclos en los que algunos folículos eran > 10 mm. Se recuperaron más folículos en el primer grupo y aunque la tasa de maduración y fecundación fue similar en ambos grupos, alcanzaron el estadio de blastocisto mayor número de embriones en el primer grupo (< 10 mm). Finalmente, Chian y cols. (33), en un estudio en bovinos no encontraron diferencias en relación al momento de realizar la recuperación de los ovocitos.

Respecto a los niveles de estradiol, se ha observado una mayor tasa de embarazo cuando en el momento de la punción folicular el nivel de estradiol fue un 100% superior a los valores basales (31). En otra publicación (18) se refiere mayor tasa de embarazo cuando el estradiol basal fue < 55 pg/ml.

Respecto al endometrio, la mayoría de autores aconsejan esperar a observar un grosor endometrial mínimo de 5mm para realizar la punción folicular. Sin embargo otros autores (34) no encuentran relación entre el grosor endometrial en el momento de la punción folicular y las tasas de embarazo. Algunos proponen criopreservar los embriones para transferencia posterior si el endometrio no alcanza > 6 mm (1).

En nuestro protocolo, se administran 10.000 UI hCG cuando se observa un endometrio ≥ 5 mm (inde-

Tabla 1
Experiencia con MIV en pacientes con ciclos regulares

| Autor y año de publicación | Nº ciclos | Impregnación | Tasa de embarazo por transferencia |
|--|-------------------------|--|---|
| Mikkelsen 1999 | 10 10 5 7 | No FSH FSH x 3 días FSH x 3 días FSH hasta 6 días | 33,3% 22,2% 20% 0% |
| Mikkelsen 2000 | 87 | No | 17,4% |
| Mikkelsen 2001 | 132 | No | 18% |
| Soderstrom-Anttila 2005 | 100 ICSI 63 FIV/ICSI | No | 31% |
| Yoon 2001 | 63 | No | 21% |
| Dal Canto 2006 | 109 masculino 38 SOP | Ciclo regular No SOP, FSH | 20.5% * |
| *No se especifica tasas según indicación | | | |

Tabla 2
Experiencia con MIV en pacientes con SOP

| Autor y año de publicación | Nº ciclos | Impregnación | Tasa de embarazo por transferencia |
|---|--|---|---|
| Trounson 1994 | 23 | No | |
| Cha 2000 | 94 | No | 27,1% |
| Cha 2005 | 203 | No | 21,9% |
| Child 2001 | 53 OPQ 68 SOP | HCG | 23,1% 29,9% |
| Child 2002 | 107 | HCG | 21,5 |
| LeDu 2005 | 45 | HCG | 22,5 |
| Mikkelsen 2001 | 12 24 | No FSH FSH | 0 33 |
| Soderstrom-Anttila 2005 | 20 OPQ (FIV vs ICSI) 28 SOP (FIV vs ICSI) | No | 13,3% vs 0% 34,5% vs 12,5% |
| Dal Canto 2006 | 109 masculino 38 SOP | Ciclo regular No Ciclo irregular FSH | 20,5% |
| *No se especifica tasas embarazo según indicación | | | |

pendientemente de los niveles de estradiol plasmáticos) realizándose la punción folicular 36 horas después.

Punción folicular: aspectos técnicos

La punción folicular para una MIV consume más tiempo que una FIV convencional y requiere algunas modificaciones desde el punto de vista técnico.

En nuestro centro se realiza el siguiente procedimiento:

* Se utiliza una aguja con bisel mas corto (más ángulo) comparada con la habitual (Cook (®) K-OSN-1730-A-60, 17Gx30 cm.), para poder penetrar en los folículos de pequeño tamaño.

* La técnica de punción en MIV difiere de la punción FIV convencional en que: se puncionan folículos muy pequeños, no se puncionan uno a uno, realizándose un movimiento de barrido del ovario desde el polo superior al inferior, y nunca se lavan. Suelen ser

ovarios muy móviles que se desplazan cranealmente e incluso giran sobre su eje, siendo útil una fijación abdominal externa.

* La presión de aspiración debe ser menor para no denudar las células de la granulosa de los ovocitos inmaduros (75-80 mm. Hg).

* La recuperación del aspirado folicular se lleva a cabo en tubos FALCON con 2 ml. de medio de cultivo heparinizado. Se taponan la aguja y el tubo de aspiración con mayor frecuencia que en FIV convencional por lo que conviene lavar aguja y sistema a menudo y utilizar mucho medio de cultivo.

* El tiempo medio de realización de la punción es de alrededor de 40 minutos.

Preparación endometrial y transferencia embrionaria

Se ha establecido que la administración hormonal exógena de estrógenos y progesterona es necesaria para alcanzar una correcta preparación endometrial en los ciclos de MIV (35, 36).

El protocolo utilizado en nuestro centro y por la mayoría de autores (1-4, 9, 12, 22), consiste en:

- 6mg valerianato de estradiol (Progynova®), Schering, España) , 2mg/8horas, vía oral, desde el mismo día de la punción folicular.

- 600mg progesterona, 200mg/8horas (Utrogestan®), Seid, España), vía vaginal, desde el día siguiente de la punción folicular.

En caso de embarazo, se mantiene el tratamiento hasta las 12 semanas de gestación.

La transferencia embrionaria se realiza de dos a tres días post inseminación, dependiendo del grado de desarrollo embrionario, siendo de mejor pronóstico los embriones procedentes de ovocitos madurados a las 24horas (37).

En la tabla 3, se presenta el protocolo seguido en nuestro centro.

ASPECTOS BIOLÓGICOS

Identificación y manipulación de los ovocitos inmaduros.

La identificación y manipulación de los ovocitos inmaduros es un proceso más largo y laborioso comparado con la recuperación de éstos en FIV conven-

Tabla 3

Protocolo de MIV (Institut Universitari Dexeus)

| Día del ciclo | Acción | |
|---------------------------|--|--|
| Inducción menstruación | Deprivación con progesterona | |
| 2º-4 | Ecografía: Análisis Inicio FSH-r | Valoración tamaño y número de folículos < 10mm. Descartar presencia de quistes ováricos LH, FSH, Estradiol, Progesterona entre 37,5-75 UI de FSH-r (solamente los casos con SOP) |
| 6º-8º | Ecografía Análisis | Ajustar dosis FSH-r según folículos y estradiol Estradiol |
| 8º-12º | Ecografía Análisis HCG | Endometrio ≥ 5 mm Diámetro folicular 8-12mm LH, Estradiol, Progesterona 10.000 U |
| 10º-12º | Punción | 36h post HCG Inicio V. estradiol el mismo día de punción |
| 24h post-punción | Inseminación | Entrega muestra de semen Inicio Progesterona |
| 48h-72h post-inseminación | Transferencia | |
| 12 días post-transfer | Análisis | Beta-HCG* |

* En caso de embarazo se mantiene el tratamiento (Progynova®) + Utrogestan® hasta la 12ª semana de gestación

cional (21). Estas diferencias pueden ser menores al adquirir experiencia. El líquido folicular que se recupera es menor en volumen y con un mayor contenido de sangre por lo que es necesaria la adición de heparina. Los cúmulos oóforos son a menudo pequeños y poco refringentes. Los ovocitos pueden estar incluidos en un cúmulo compacto y oscuro, o bien rodeados únicamente de pocas células de la granulosa. Los ovocitos recuperados son clasificados y separados según su grado de madurez.

Maduración in Vitro de los ovocitos

Los ovocitos recuperados son cultivados durante 2-4 horas en medio de maduración (LAG (®), Medicult). Consiste en una solución salina suplementada con suero sintético (SSR (®), USA: ART Supplement), albúmina sérica humana (HSA), piruvato sódico, glucosa, bicarbonato sódico, streptomina, penicilina y rojo fenol. Posteriormente, se cultivan los ovocitos en medio de maduración IVM (®), Medicult) (compuesto por glucosa y metabolitos derivados, sales fisiológicas, aminoácidos esenciales y no esenciales, vitaminas, nucleótidos, bases de DNA, piruvato sódico, bicarbonato sódico, streptomina, penicilina y rojo fenol) suplementado con FSHr (Puregon(®), Organon), HCG (HCG-Lepori(®), Lepori) y 10% de suero obtenido a partir de sangre de la paciente. (suplementado con FSHr (Puregon(®), Organon), HCG (HCG-Lepori(®), Lepori) y 10% de albúmina sérica obtenida a partir de sangre de la paciente.

A las 26h post punción y tras el cultivo en medios de maduración, se denudan todos los ovocitos con hialuronidasa (Hyase (®), Vitrolife) y se clasifican según el estadio madurativo.

Inseminación

Una vez se ha conseguido madurar los ovocitos hasta metafase II (MII) se realiza la inseminación. Aunque no hay estudios que demuestren que la ICSI sea mejor técnica de inseminación de los ovocitos madurados in Vitro (3), es la técnica mayoritariamente utilizada.

Nuestro centro realiza la ICSI a las 4h post-denuclación, según el protocolo habitual. Los ovocitos en metafase I (MI) y profase I (vesículas germinales, VG) continúan el cultivo con medio de maduración IVM y si al día siguiente han alcanzado el estadio de MII, son inseminados mediante ICSI (21).

RESULTADOS Y SEGUIMIENTO DE LOS NIÑOS NACIDOS POST MIV

Las tasas de embarazo obtenidos con esta técnica están alrededor del 20-25% (1-4, 22, 38).

Se han descrito embarazos después de la criopreservación en estadio de pronúcleos (39), en blastocistos vitrificados (40) y también tras la transferencia de un embrión de MIV sometido a diagnóstico genético preimplantacional (41).

La mayoría de publicaciones de ciclos tratados con MIV, refieren unas tasas de implantación y embarazo inferiores a la FIV convencional y con unas elevadas tasas de aborto. En una revisión realizada el año 2006 (11), refieren unas tasas de implantación entre un 1.5-22%, con una tasa de embarazo por transferencia entre 4-31% y con una tasa de aborto entre un 20-50%, en los casos con SOP. Los resultados son similares en los casos de mujeres con ciclos regulares y ovarios normales, unas tasas de implantación entre un 1.5-22.6%, con una tasa de embarazo por transferencia entre 4-33.3% y con una tasa de aborto entre un 20-50%. Parece ser que el bajo rendimiento de esta técnica, pueda ser debido a una mayor tasa de aneuploidías en los embriones procedentes de los ovocitos de MIV (28, 42).

Hasta la actualidad, se estima que han nacido más de 400 niños gracias a la técnica de MIV. El seguimiento obstétrico y perinatal de los niños nacidos tras MIV (1-4) muestra resultados comparables a los obtenidos tras FIV convencional, sin embargo son necesarios estudios de seguimiento con mayor número de casos y durante tiempo más prolongado para confirmarlo.

Experiencia del SMR del IU Dexeus (Junio 2005 - Diciembre 2006).

Se han realizado un total de 28 ciclos en 18 mujeres, llevándose a cabo un total de 26 punciones (2 ciclos cancelados por crecimiento folicular) y 23 transferencias (dos casos de no fecundación y un caso de no inseminación).

En su mayoría fueron casos diagnosticados de SOP (Fallo de inducción, antecedente de HSO en ciclo de FIV previo etc.). Tan solo un caso fue realizado por contraindicación a la estimulación ovárica con gonadotropinas.

La edad media de las mujeres fue de 32.8 ± 3.7 , con un índice de masa corporal de 25.2 ± 3.9 .

Se recuperaron una media de 14.5 ± 8.8 ovocitos, de los se consiguió maduración en una media de $9.4 \pm$

5.6 (62.3%), de los que fecundaron 6.6 ± 4.4 (70.2%) y fueron evolutivos 3.5 ± 2.9 (48.5%) (Tabla 4).

Se transfirieron una media de 2.0 ± 0.7 embriones, consiguiéndose 4 embarazos (14.6% por punción, 17,4% por transferencia), con una tasa de implantación del 8,3%).

La evolución de las cuatro gestaciones conseguidas fue de un niño nacido a término, un embarazo en curso y 2 abortos de primer trimestre.

Tabla 4

Resultados MIV (IU Dexeus, Junio 2005-Diciembre 2006)

| | Media \pm DS | % |
|---------------------------------|----------------|---------|
| Folículos antrales, n | $24,1 \pm 8,4$ | |
| Ovocitos recuperados, n (%) | $14,5 \pm 8,8$ | (60,1%) |
| Ovocitos MII inseminados, n (%) | $9,4 \pm 5,6$ | (62,3%) |
| Ovocitos fecundados, n (%) | $6,6 \pm 4,4$ | (70,2%) |
| Embriones evolutivos, n (%) | $3,5 \pm 2,9$ | (48,5%) |
| Embriones transferidos, n | $2,0 \pm 0,7$ | |
| Embriones congelados, n | $1,3 \pm 2,8$ | |

DISCUSIÓN

La MIV es una técnica en auge. Sus ventajas (mayor comodidad y sencillez de la técnica para la paciente, posible mejor coste beneficio, menos efectos secundarios especialmente de la HSO etc.) hacen que esta técnica sea francamente atractiva y prometedora. Los estudios publicados confirman la utilidad de la MIV en un amplio número de pacientes estériles, sin embargo, no hay estudios rigurosos que comparen la FIV convencional con la MIV y además existen todavía numerosos aspectos tanto clínicos como biológicos sin resolver.

Teniendo en cuenta los datos publicados, parece sensato limitar la MIV a mujeres con riesgo al tratamiento con gonadotropinas y que presentan una adecuada reserva ovárica. Las mujeres con SOP o con OPQ parecen las mejores candidatas. Desde el punto de vista técnico, el gran número de folículos antrales favorece su extracción y además son las que potencialmente presentan un mayor riesgo de HSO en la FIV convencional. Sin embargo, se ha demostrado una peor calidad ovocitaria en las mujeres con SOP (por el efecto deletéreo de la LH y de los andrógenos sobre el ovocito) (43), que puede dar lugar a una mayor tasa de aneuploidías (28,42) en los embriones procedentes de los ovocitos de MIV y consecuentemente un bajo rendimiento de la técnica. Desde el punto de vista clínico queda por determinar si la im-

pregnación con gonadotropinas y/o HCG ofrece ventajas sobre la no impregnación y desde el punto de vista biológico, sería interesante determinar si la mejora de los medios de maduración utilizados pueden compensar estos hechos. Desde otro enfoque, cuando se analizan los resultados en las mujeres con ciclos regulares, aunque se obtienen resultados aceptables, también se deben considerar otras posibles opciones: FIV convencional con protocolos suaves de estimulación ovárica (44); FIV en un ciclo natural/seminatural (45). Serán necesarios estudios prospectivos bien diseñados para resolver la relación eficacia-coste-beneficio y efectos secundarios de todas las posibles opciones. Finalmente, en la baja respondedora, la MIV no parece la mejor opción. En la mayoría de casos estas paciente presentan un número reducido de folículos antrales que dificultará la obtención de los ovocitos. En estos casos, antes de la donación de ovocitos, habrá de considerar otras alternativas tanto en la vía del ciclo natural como en la del ciclo estimulado (46, 47).

A pesar de que los resultados obtenidos muestran unas tasas de embarazo inferiores a la FIV convencional, la MIV de ovocitos y su posterior fecundación in Vitro, es una alternativa a considerar dentro de las propuestas terapéuticas de la reproducción asistida (48). Puede ser una opción válida en mujeres con riesgo de HSO, especialmente en mujeres con SOP y en mujeres que desean evitar la estimulación ovárica. En mujeres jóvenes con ciclos regulares que requieran de FIV, habrá que valorar el coste, la eficacia y la inocuidad de las diferentes opciones de tratamiento.

Para que en el futuro la MIV pueda ser una alternativa real a la FIV convencional, son necesarios un mejor manejo de la estimulación ovárica y su adecuada monitorización, así como la mejora en las técnicas de cultivo que permitan mejorar los resultados de esta técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Le Du A, Kadoch IJ, Bourcigaux N, Doumerc S, Bourrier MC, Chevalier N, Fanchin R, Chian RC, Tachdjian G, Frydman R, Frydman N.**: In vitro oocyte maturation for the treatment of infertility associated with polycystic ovarian syndrome: the French experience. *Hum Reprod* 2005; 20 : 420-4.
2. **Mikkelsen AL.**: Strategies in human in-vitro maturation and their clinical outcome. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 593-9.
3. **Soderstrom-Anttila V, Makinen S, Tuuri T, Suikkari AM.**: Favourable pregnancy results with in-

- semination of in vitro matured oocytes from unstimulated patients. *Hum Reprod* 2005; 20: 1534-40
4. **Chian RC, Buckett WM, Tan SL.:** In-vitro maturation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2004; 8: 148-66.
 5. **Martínez F, Tur R, Belil I, Arroyo G,Boada M, Coroleu B.:** Primeros embarazos del programa de maduración in Vitro del I.U.Dexeus. *Rev Iberoamer Fertil* 2006: 196-197
 6. **Pincus G, Enzmann EV.:** Comparative behaviour of manipulation eggs in vivo and in vitro. *J Exp Med* 1935; 62:665-8.
 7. **Edwards RG.:** Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet* 1965; 2: 926-9.
 8. **Veeck LL, Wortham JW Jr, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, Garcia JE, Jones GS, Jones HW Jr.:** Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983; 39: 594-2.
 9. **Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK.:** Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 1991; 55: 109-13.
 10. **Trounson A, Wood C, Kausche A.:** In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril* 1994; 62: 353-2.
 11. **Jurema MW, Nogueira D.:** In vitro maturation of human oocytes for assisted reproduction. *Fertil Steril* 2006; 86: 1277-91.
 12. **Child TJ, Phillips SJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL.:** A comparison of in vitro maturation and in vitro fertilization for women with polycystic ovaries. *Obstet Gynecol* 2002; 100: 665-70.
 13. **Coskun S, Jaroudi KA, Hollanders JM, Atared AM, Roca GL.:** Recovery and maturation of immature oocytes in patients at risk for ovarian hyperstimulation syndrome. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15: 372-7.
 14. **Lim K, Lee W, Lim J. IVM.:** After interruption of COH for the prevention of OHSS. *Fertil Steril* 2005; 84: S84-5.
 15. **Yoon HG, Yoon SH, Son WY, Lee SW, Park SP, Im KS, Lim JH.:** Pregnancies resulting from in vitro matured oocytes collected from women with regular menstrual cycle. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 325-9.
 16. **Child TJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL.:** In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated normal ovaries, polycystic ovaries, and women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2001; 76: 936-2.
 17. **Mikkelsen AL, Smith SD, Lindenberg S.:** In-vitro maturation of human oocytes from regularly menstruating women may be successful without follicle stimulating hormone priming. *Hum Reprod* 1999; 14: 1847-1.
 18. **Mikkelsen AL, Andersson AM, Skakkebaek NE, Lindenberg S.:** Basal concentrations of oestradiol may predict the outcome of in-vitro maturation in regularly menstruating women. *Hum Reprod* 2001; 16: 862-7.
 19. **Requena A, Neuspiller F, Cobo AC, Aragonés M, Remohi J, Simon C, Pellicer A.:** The potential use of maturation in vitro of human oocytes in low responder patients. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 239-4.
 20. **Liu J, Lu G, Qian Y, Mao Y, Ding W.:** Pregnancies and births achieved from in vitro matured oocytes retrieved from poor responders undergoing stimulation in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2003; 80: 447-9.
 21. **Belil I, Arroyo G, Martínez F, Tur R, Carreras O, Veiga A, Barri PN.:** Aspectos biológicos de la maduración in vitro de ovocitos: evolución de ovocitos madurados IV y de embriones resultantes. *Rev Iberoamer Fertil* 2006: 160-161
 22. **Dal Canto MB, Mignini Renzini M, Brambillasca F, Cepparo H, Comi R, Villa A, Rangoni G, Mastrolilli M, Crippa M, de Ponti E, Nielsen HI, Fadini R.:** IVM—the first choice for IVF in Italy. *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 159-65.
 23. **Cha KY, Han SY, Chung HM, Choi DH, Lim JM, Lee WS et al.:** Pregnancies and deliveries after in vitro maturation culture followed by in vitro fertilization and embryo transfer without stimulation in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73: 978-83.
 24. **Wynn P, Picton HM, Krapez JA, Rutherford AJ, Balen AH, Gosden RG.:** Pretreatment with follicle stimulating hormone promotes the numbers of human oocytes reaching metaphase II by in-vitro maturation. *Hum Reprod* 1998; 13: 3132-8.
 25. **Mikkelsen AL, Lindenberg S.:** Benefit of FSH priming of women with PCOS to the in vitro maturation procedure and the outcome: a randomized prospective study. *Reproduction* 2001; 122: 587-92.
 26. **Fukuda AI, Kanaya H, Suguhara K, Nagata F, Nakaoka Y, Morimoto Y.:** Low dose FSH administration over metformin pretreatment on polycystic ovarian syndrome (PCOS) patients improves the clinical outcome of in vitro maturation and in vitro fertilization and embryo transfer (IVM-IVF) treatment. *Fertil Steril* 2005; 84: S83-4.
 27. **Chian RC, Buckett WM, Tulandi T, Tan SL.:** Prospective randomized study of human chorionic gonadotrophin priming before immature oocyte retrieval from unstimulated women with polycystic ovarian syndrome. *Human Reprod* 2000; 15: 165-70.

28. **Vlaisavljevic V, Cizek-Sajko M, Kovac V.:** Multinucleation and cleavage of embryos derived from in vitro-matured oocytes. *Fertil Steril* 2006; 86: 487-9.
29. **Lin YH, Hwang JL, Huang LW, Mu SC, Seow KM, Chung J, Hsieh BC, Huang SC, Chen CY, Chen PH.:** Combination of FSH priming and hCG priming for in-vitro maturation of human oocytes. *Hum Reprod* 2003; 18: 1632-6.
30. **Kovac V, Sajko MC, Vlaisavljevic V, Reljic M, Lovrec VG.:** A comparison of parameters affecting the success of IVM treatment in PCOS patients primed with FSH or HCG. *Human Reprod* 2005; 20: i102
31. **Mikkelsen AL, Smith S, Lindenberg S.:** Impact of oestradiol and inhibin A concentrations on pregnancy rate in in-vitro oocyte maturation. *Hum Reprod* 2000; 15: 1685-90.
32. **Cobo AC, Requena A, Neuspiller F, Aragon s M, Mercader A, Navarro J, Simon C, Remohi J, Pellicer A.:** Maturation in vitro of human oocytes from unstimulated cycles: selection of the optimal day for ovum retrieval based on follicular size. *Hum Reprod*. 1999; 14: 1864-8.
33. **Chian RC, Chung JT, Downey BR, Tan SL.:** Maturation and developmental competence of immature oocytes retrieved from bovine ovaries at different phases of folliculogenesis. *Reprod Biomed Online* 2002; 4: 127-2.
34. **Child TJ, Sylvestre C, Tan SL.:** Endometrial volume and thickness measurements predict pituitary suppression and non-suppression during IVF. *Hum Reprod* 2002; 17: 3110-3.
35. **Russell JB, Knezevick KM, Fabian KF, Dickson JA.:** Unstimulated immature oocyte retrieval: early versus midfollicular endometrial priming. *Fertil Steril* 1997, 67: 616-620
36. **Requena A, Neuspiller F, Cobo AC, Aragonés M, García-Velasco JA, Remohi J, Simon C, Pellicer A.:** Endocrinological and ultrasonographic variations after immature oocyte retrieval in a natural cycle. *Hum Reprod* 2001; 16: 1833-7.
37. **Son WY, Lee SY, Lim JH.:** Fertilization, cleavage and blastocyst development according to the maturation timing of oocytes in in Vitro maturation cycles. *Hum Reprod* 2005; 20: 3204-7.
38. **Papanikolaou EG, Platteau P, Albano C, Nogueira D, Cortvrindt R, Devroey P et al.:** Immature oocyte in-vitro maturation: clinical aspects. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 587-2.
39. **Chian RC, Gulekli B, Buckett WM, Tan SL.:** Pregnancy and delivery after cryopreservation of zygotes produced by in-vitro matured oocytes retrieved from a woman with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2001; 16: 1700-2.
40. **Son WY, Lee SY, Chang et al.:** Pregnancy resulted from transfer of repeat vitrified blastocysts produced by in.vitro matured oocytes in patients with polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 398-1.
41. **Ali A, Behhalifa M, Miron P.:** In-vitro maturation of oocytes: biological aspects. *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 437-6.
42. **Li Y, Feng HL, Cao YJ, Zheng GJ, Yang Y, Mullen S, Critser J, Chen ZJ.:** Confocal microscopic analysis of the spindle and chromosome configurations of human oocytes matured in vitro. *Fertil Steril* 2006; 85: 827-2.
43. **Franks S, Roberts R, Hardy K.:** Gonadotrophin regimens and oocytes quality in women with polycystic ovaries. *Reprod Biomed Online* 2002; 6: 181-184.
44. **Hohmann FP, Macklon NS, Fauser BC.:** A randomized comparison of two ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cotreatment for in vitro fertilization commencing recombinant follicle-stimulating hormone on cycle day 2 or 5 with the standard long GnRH agonist protocol. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 166-73.
45. **Pelinc MJ, Vogel NE, Hoek A, Simons AH, Arts EG, Mochtar MH, Beemsterboer S, Hondelink MN, Heineman MJ.:** Cumulative pregnancy rates after three cycles of minimal stimulation IVF and results according to subfertility diagnosis: a multicentre cohort study. *Hum Reprod* 2006; 21: 2375-83.
46. **Ubaldi FM, Rienzi L, Ferrero S, Baroni E, Sapienza F, Cobellis L, Greco E.:** Management of poor responders in IVF. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 235-46.
47. **Morgia F, Sbracia M, Schimberni M, Giallonardo A, Piscitelli C, Giannini P, Aragona C.:** A controlled trial of natural cycle versus microdose gonadotropin-releasing hormone analog flare cycles in poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004; 81: 1542-7.
48. **Coroleu B.:** La maduración in vitro de ovocitos, una alternativa a tener en cuenta. *Rev Iberoamer Fertil* 2006; 23:141-2.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado bajo los auspicios de la " Cátedra de Investigación en Obstetricia y Ginecología" del Institut Universitari Dexeus, Universidad Autónoma de Barcelona.

Agradecer a Ignacio Rodríguez por el análisis estadístico realizado.