

## Casos Clínicos

## **Primer nacimiento en España después de la transferencia de embriones procedentes de ovocitos madurados in vitro**

*First delivery of a healthy child in Spain after transfer of embryos obtained from in vitro matured oocytes*

Arroyo G, Belil I, Martínez F, Tur R, Carreras O, Boada M, Veiga A

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

### **Resumen**

*Presentamos el primer nacimiento en España de una gestación obtenida con embriones procedentes de ovocitos madurados in Vitro tras una leve estimulación a una paciente con síndrome de ovario poliquístico.*

**Palabras clave:** síndrome de ovario poliquístico. Maduración in vitro de ovocitos.  
Nacimiento

### **Summary**

*We here present the first delivery of a healthy child in Spain after transfer of embryos obtained from in vitro matured oocytes. The patient, with polycystic ovarian syndrome, received a slight stimulation.*

**Key words:** Polycystic ovarian syndrome. Immature human oocytes. In-vitro maturation.  
Delivery

---

**Correspondencia:** G. Arroyo  
Servicio de Medicina de la Reproducción  
Dpto. de Obstetricia y Ginecología  
Institut Universitari Dexeus  
Pº Bonanova, 67  
08017 BARCELONA

## INTRODUCCIÓN

En las mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) y/o con patrón ecográfico de ovario poliquístico, la alternativa de tratamiento cuando falla la inducción de la ovulación es la Fecundación in Vitro (FIV). Sin embargo, estas mujeres son extremadamente sensibles a la estimulación ovárica con gonadotropinas y tienen un mayor riesgo de desarrollar una hiperestimulación ovárica (HSO) (hasta un 8% en este grupo de pacientes).

Se ha demostrado que la punción-aspiración de ovocitos inmaduros (sin previa estimulación ovárica) y su posterior maduración in vitro (MIV), puede ser una alternativa a la FIV convencional, especialmente en este grupo de mujeres (1). Esta nueva técnica permitiría eliminar el riesgo de HSO y reducir el coste y la duración del tratamiento (2), y se podría aplicar también a mujeres con antecedentes de HSO (3), o que no desean o en las cuales está contraindicado el tratamiento de estimulación ovárica.

Se presenta el caso de una paciente con SOP a la que se le realizó un ciclo de MIV, y tras la transferencia de 2 embriones quedó gestante, dando lugar al primer nacimiento de un niño en España fruto de esta técnica.

## CASO CLÍNICO

Paciente de 31 años diagnosticada de SOP de acuerdo a los criterios de Rotterdam (4).

El varón presentaba oligozoospermia con una correcta recuperación después de la capacitación espermática.

En 2005 se realizaron cuatro ciclos de inducción de la ovulación con gonadotropinas (GonalF®), Laboratorios Serono, España) en un protocolo de pauta lenta e inseminación artificial, obteniendo una respuesta adecuada pero sin conseguir embarazo.

Tras discutir las opciones terapéuticas disponibles, se decidió, dadas las características de la paciente y sus antecedentes realizar un ciclo de FIV con maduración in Vitro de los ovocitos. Se realizó una mínima estimulación con FSH recombinante, (Puregon®), con una dosis total de 225UI y se administraron 10.000 UI HCG (HCG Lepori®) el día 8º del ciclo. Los datos de los controles realizados y las dosis de gonadotropinas administradas se pueden ver en la Tabla 1.

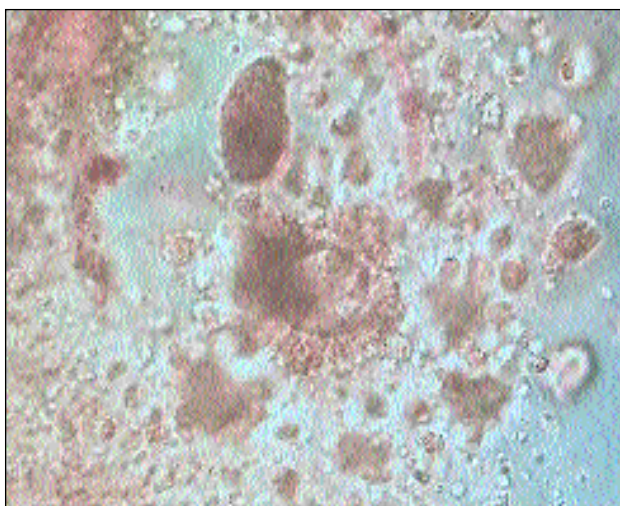
Se procedió a la extracción de los ovocitos inmaduros bajo sedación con propofol, con una aguja de aspiración especial con un bisel más corto, de 17 G y 30 cm (Cook K-OSN-1730-A-60) y una presión de

**Tabla 1**

*Monitorización de ciclo de FIV-MIV: Datos de las ecografías, estradiol plasmático y dosis diaria de FSHr*

| Día del ciclo                            | ecografía, diámetros foliculares y grosor endometrial en mm             | Niveles Plasmáticos   | Dosis FSHr |
|--|---|---|------------|
| 3º                                       | OD: 8, 7, 7 y 5<br>OI: 8, 7, 7, y 3<br>Endometrio: 4 mm                 | LH: 4.5 mUI/ml<br>FSH: 7.4 mUI/ml<br>Estradiol: 31 pg/ml<br>Prog: 0.4 ng/ml | 50 UI      |
| 4º                                       | —   | —   | 25 UI      |
| 5º                                       | —   | —   | 50 UI      |
| 6º                                       | OD: 10, 9, 7, 7 y 5<br>OI: 12, 7, 7, 7, 6, 6 y 6<br>Endometrio : 5 mm   | Estradiol: 51 pg/ml   | 50 UI      |
| 7º                                       | —   | —   | 50 UI      |
| 8º                                       | OD: 11, 9, 9,9,8,8,8 y 7<br>OI: 14, 9, 9,9,8,7 y 7<br>Endometrio : 7 mm | Estradiol: 58 pg/ml   | HCG        |
| 10º                                      | Punción   |   |            |
| OD: ovario derecho; OI: ovario izquierdo |   |   |            |

aspiración de 75-80 mm Hg, que es inferior a la utilizada en FIV convencional. Se recuperaron 8 ovocitos. Teniendo en cuenta las características morfológicas del cúmulo oóforo se clasificaron en 3 ovocitos en metafase I (MI) y 4 ovocitos en profase I (vesículas germinales (VG)) (Figura 1). Los ovocitos recuperados fueron cultivados durante 4 h 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, estreptomycin, penicilina y rojo fenol. Posteriormente, se cultivaron los ovocitos en medio de maduración IVM (IVM(®), Medicult) (compuesto por glucosa y metabolitos derivados, sales fisiológicas, aminoácidos esenciales y no esenciales, vitaminas, nucleótidos, bases de DNA, piruvato sódico, bicarbonato sódico, estreptomycin, penicilina y rojo fenol) suplementado con FSHr (Puregon(®), Organon), HCG (HCG-Lepori(®), Lepori) y 10% de suero humano obtenido a partir de sangre de la paciente.



**Figura 1**

*Ovocito clasificado como MI con cúmulo abundante y células de la corona radiata compactas y dispuestas radialmente.*

A las 26h post punción, se denudaron todos los ovocitos con hialuronidasa (Hyase (®), Vitrolife). De los 8 ovocitos, 5 maduraron hasta metafase II (MII), y 3 MI permanecieron en cultivo para proseguir con su proceso de maduración.

A las 26 h post-punción se realizó la microinyección espermática (ICSI) según el protocolo habitual en nuestro centro.

A las 18h post-inseminación se observó la presencia de 2 pronúcleos (PN) y 2 corpúsculos polares (CP) en 2 de los cigotos, mientras que 2 de ellos presentaban 1 solo núcleo (N) y 2CP. El resto de los hallazgos en las observaciones se detalla en la Tabla 2. Se transfirieron dos embriones en día +3 post punción, con la metodología habitual (5). En el momento de la transferencia un embrión presentaba 2 células de tamaño similar y un 10% de fragmentos citoplasmáticos, y otro 5 células de distinto tamaño y un 15% de fragmentos. No se pudo criopreservar ningún embrión por presentar multinucleación o bloqueo en división celular. No se observó maduración posterior de los ovocitos en MI. Se suplementó la fase lútea con valerianato de estradiol 2 mg/8 horas desde el día de la aspiración de los ovocitos, y progesterona vaginal micronizada, 200 mg/8 horas, desde el día de la ICSI, hasta la determinación de beta-HCG 12 días después de la transferencia.

Los niveles de  $\beta$ HCG fueron de 150 pg/ml. La primera ecografía a 6ª semana de amenorrea mostró un único saco gestacional con un embrión con latido cardíaco positivo. Tras la confirmación del embarazo, se prosiguió con el tratamiento hasta la 11ª semana de gestación.

El embarazo transcurrió sin incidencias destacables y tras un parto eutócico se produjo el nacimiento de un varón sano a la 39ª semana de gestación, con un peso de 4330 kilos y 54 cm.

## DISCUSIÓN

La MIV es una técnica alternativa a la FIV convencional con estimulación ovárica, que ha permitido ya el nacimiento de más de 400 niños.

Se han descrito distintos protocolos para la obtención y posterior maduración de ovocitos inmaduros. La administración de bajas dosis de FSHr al inicio de de la fase folicular no aumenta el número de ovocitos recuperados, su madurez, capacidad de fecundación ni desarrollo de los embriones resultantes (6, 7) en mujeres con ciclos regulares. Parece ser que una estimulación mínima es más adecuada en casos de PCO con ciclos irregulares (8), mejorando las tasas de embarazo. Se aconseja la administración de dosis bajas de gonadotropinas cuando se trata de pacientes SOP o con ovarios multifoliculares. Se han realizado con éxito ciclos de MIV en ciclo espontáneo (9), sin estimulación, y en ciclos con estimulación mínima. Como ya se ha comentado, cuando los ciclos son regulares, la administración de FSH no aumenta la eficiencia de la MIV (10).

**Tabla 2**  
*Seguimiento de los embriones procedentes de los ovocitos madurados In Vitro*

| D+1          | División Temprana  | D+2                            | Estado      |
|--------------|--------------------|--------------------------------|-------------|
| 1. NF 1 CP   | -                  | 2 cels.(multinucl)10% F        | No apto     |
| 2. 2 PN 2 CP | 2PN 2CP            | 2 cels similares 10% F         | Transferido |
| 3. 1 N 2 CP  | 2 cels asimétricas | 4 cels asimétricas (multinucl) | No apto     |
| 4. 1 N 2 CP  | =                  | No dividido                    | No apto     |
| 5. 2 PN 2 CP | no PN              | 5 cels asimétricas 15% F       | Transferido |

NF: no fecundado; CP: corpúsculo polar; PN: pronúcleos; cels: blastómeros; N: núcleo; F: Fragmentos; multinucl: blastómeros multinucleados

Se conoce bien como la LH permite que el ovocito en VG prosiga su maduración y alcance la metafase II, con la extrusión del CP. A pesar de ello, no existe consenso sobre la ventaja de administrar HCG en los ciclos de MIV. Algunos autores no administran HCG de forma rutinaria (8, 11-12), observando una menor tasa de fragmentación embrionaria (13) y obtienen resultados satisfactorios (10). Otros autores muestran que la maduración de los ovocitos y la tasa de embarazo mejoran con la administración de HCG 36h previa a la punción ovárica, se facilita la recuperación de los ovocitos, aumenta el número de ovocitos que alcanzan MII a las 48 h y se acelera el proceso de maduración (14).

Es importante resaltar que la madurez del ovocito debe implicar tanto la madurez nuclear como la citoplasmática. La maduración nuclear se consigue a través del progreso de la meiosis I hacia la meiosis II. La valoración de la madurez citoplasmática es más difícil y se realiza mediante la observación del grado de expansión de las células de cúmulo, la extrusión del segundo corpúsculo polar, y el aumento del espacio perivitelino (15).

La madurez del ovocito viene regulada por complejas interacciones entre distintos factores intracelulares, paracinos y estructurales (que incluyen esteroides, factores de crecimiento y adenosina monofosfato cíclica (16)). Para conseguir una adecuada maduración de los ovocitos es preciso disponer de medios de cultivo específicos que induzcan la progresión de la meiosis hasta el estadio de metafase II y que induzcan también la maduración citoplasmática. La variación del tiempo de maduración de los ovocitos se ha relacionado con el posterior desarrollo del embrión (17). Los ovocitos que maduran el mismo día de su recuperación dan lugar a embriones de mejor calidad que los que provienen de los madurados a las 24 horas y 48 horas. La mala calidad de los embriones derivados de

ovocitos madurados lentamente puede ser debida a una pérdida de la actividad del factor promotor de la fase M (muy variable en función del tiempo de maduración), de la producción de ciclinas y/o de otras proteínas implicadas en el control del ciclo celular. (18)

La elevada tasa de embriones procedentes de MIV con blastómeros multinucleados y su relación con mayor tasa de aneuploidías ha sido descrita en distintos trabajos. Se ha atribuido a que los ovocitos de MIV pueden presentar un bloqueo de la división celular y un aumento de la multinucleación en relación con las gonadotropinas administradas (13). Se ha descrito también que los ovocitos derivados de la MIV presentan más alteraciones del huso meiótico y de la alineación de los cromosomas que los ovocitos madurados in vivo (19).

Diversas publicaciones han descrito los resultados obtenidos con esta técnica, con tasas de embarazo alrededor del 20-25% (20-22) que, aunque inferiores a las tasas de embarazo obtenidas tras FIV, ponen de manifiesto que puede representar una alternativa válida para mujeres en las que se desee evitar los posibles riesgos de la estimulación ovárica.

La baja o nula estimulación necesaria en los ciclos de MIV ha sido propuesta como alternativa a la FIV con estimulación convencional, sobretodo en países como Italia en que la legislación vigente no permite inseminar más de tres ovocitos. Los resultados de un 15.2% de embarazo por transferencia y una implantación de 8.8% (10) justifican plenamente la utilización de esta técnica en el ámbito legal descrito.

Recientemente se ha publicado los datos de un estudio multicéntrico basado en más de 1000 ciclos, con tasas de embarazo y de implantación en ciclos de MIV que llegan al 30-35% y al 10-15% respectivamente, en mujeres infértiles con PCO y anovulatorias PCOS (23) frente al 25.5% referido por Le Du y colaboradores (24).

En el Institut Universitari Dexeus se han realizado desde junio de 2005 hasta agosto de 2006, 23 transferencias a 18 pacientes, con una media de  $2.0 \pm 0.7$  embriones transferidos, dando lugar a 4 embarazos (14.6% por punción, 17,4% por transferencia), con una tasa de implantación del 8,3%). Estos resultados, aunque claramente inferiores a los obtenidos tras FIV, son equiparables a los que aparecen en la bibliografía.

Todas las publicaciones refieren unas tasas de implantación de los embriones procedentes de MIV inferiores a las observadas tras FIV. Como ya se ha mencionado, ello podría ser debido a una mayor tasa de aneuploidía en los embriones procedentes de los ovocitos de MIV (13, 19). A pesar de ello, el seguimiento obstétrico y perinatal de los niños nacidos tras MIV (21, 25) muestra resultados comparables a los obtenidos tras FIV.

Se han obtenido embarazos tras MIV tanto con embriones en fresco como tras congelación en estadio de pronúcleos (23), e incluso con blastocistos vitrificados (26). También se ha descrito el embarazo tras la transferencia de un embrión de MIV sometido a diagnóstico genético preimplantacional (27).

La MIV de ovocitos representa una alternativa válida a la FIV con estimulación convencional para determinados grupos de pacientes con riesgo de HSO, obteniéndose tasas de embarazo aceptables, con una adecuada relación riesgo-beneficio. La mejora en el manejo clínico y de las técnicas de cultivo para MIV deberá permitir optimizar los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **Yang SH, Son WY, Yoon SH et al.:** Correlation between in vitro maturation and expression of LH receptor in cumulus cell of the oocytes collected from PCOs patients in HCG-primed IVM cycles. *Human Reproduction* 2005, 20, 2097-2103.
2. **Ali A, Behhalifa M, Miron P.:** In-vitro maturation of oocytes: biological aspects. *RBMOnline* 2006, 13 (2): 437-446.
3. **Son WY.:** Effect of gonadotrophin on in-vitro maturation of oocytes collected from women at risk of OHSS. *RBMOnline* 2006, 13 (3): 340-348.
4. **The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group.:** Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004, 19 (1): 41-7.
5. **Coroleu B, Barri PN, Carreras O, Belil I, Buxaderas R, Veiga A, Balasch J.:** Effect of using an echogenic catheter for ultrasound-guided embryo transfer in an IVF programme: a prospective, randomized, controlled study. *Hum Reprod* 2006; 21 (7):1809-15.
6. **Mikkelsen AL, Smith S, Lindenberg S.:** In vitro maturation of human oocytes from regular menstruating women may be successful with FSH priming. *Hum Reprod* 1999, 14, 1847-1851.
7. **Trounson A, Anderiesz C, Jones G.:** Maturation of human oocytes in vitro and their developmental competence. *Human Reproduction* 2001, 121, 51-75.
8. **Mikkelsen AL.:** Time interval between FSH priming and aspiration of immature human oocytes for in-vitro maturation: a prospective randomized study. *RBMOnline* 2003, 6 (4): 416-420.
9. **Chian RC, Buckett WM, Tan SL.:** In-vitro maturation of human oocytes. *RBMOnline* 2004, 8:148-166.
10. **Dal Canto MB.:** IVM - The first choice for Italy. *RBMOnline* 2006, 13 (2): 159-165.
11. **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: 1685-1690.
12. **Mikkelsen AL, Andersson AM, Skakkebaek NE, Lindenberg S.:** Basal concentrations of oestradiol may predict the outcome of in in-vitro maturation in regularly menstruating women. *Hum Reprod* 2001, 16: 862-867.
13. **Vlaisavljevic V, Cizek-Sajko, M, Kovac V.:** Multinucleation and cleavage of embryos derived from in vitro-matured oocytes *Fertility and Sterility* 2006, 86 (2) 487-489.
14. **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 ovary syndrome. *Hum Reprod* 2000, 15: 165-170.
15. **Kruip TAM, Cran D, Van Beneden T et al.:** Structural changes in bovine oocytes during final maturation in vitro. *Gamete Research* 1983, 8, 29-47.
16. **Jamnongjit M, Hammes S.:** Oocyte maturation: the coming of age of germ cell. *Seminars in reproductive Medicine* 2005, 3, 234-241.
17. **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. *RBMOnline* 2005, 10, 398-401.
18. **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, 11: 3204-3207.
19. **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: 827-832.
20. **Child TJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL.:** In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated normal ovaries, polycystics ovaries , and women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2001, 76: 936-942.
  21. **Mikkelsen AL.:** Strategies in human in vitro maturation and their clinical outcome. *RBMOnline* 2005, 10: 593-599.
  22. **Papanikolau E, Plateau P, Albano C, Nogueira D, Cortvrindt R, Devroy P.:** Immature oocyte in vitro maturation: clinical aspects. *RBMOnline* 2005, 10: 587-592.
  23. **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 (8):1700-2.
  24. **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.
  25. **Söderstrom-Anttila V, Salokorpi T, Pihlaja M, Serenius-Sirve S, Suikkari AM.:** Obstetric and perinatal outcome and preliminary results of development of children born after in vitro maturation of oocytes *Hum Reprod.* 2006, 21 (6):1508-13.
  26. **Son WY, Park SJ, Hyun CS, Lee WD, Yoon SH, Lim JH.:** Successful birth after transfer of blastocysts derived from oocytes of unstimulated woman with regular menstrual cycle after IVM approach. *J Assist Reprod Genet* 2002, 19 (11):541-3.
  27. **Ao A, Jin S, Rao D, Son WY, Chian RC, Tan SL.:** First successful pregnancy outcome after preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in embryos generated from natural-cycle in vitro fertilization combined with an in vitro maturation procedure. *Fertil Steril* 2006, 85 (5): 1510 e9-e11.