

Casos Clínicos

Embarazo tras ICSI utilizando ovocitos descongelados: A propósito de un caso

Pregnancy obtained with ICSI using thawed oocytes: A case report

García JI*, Valdivieso P**, Zambrano M**, Coronel E**, Valdivieso-Mejía P*

*Grupo PRANOR de Reproducción Asistida, Clínica Concebir, Lima - Perú.

**Unidad de Fertilidad, Hospital Alcívar, Guayaquil - Ecuador.

Resumen

Se presenta el primer embarazo obtenido por nuestro equipo después de la inyección de ovocitos descongelados. Paciente de 40 años con fallo ovárico que recibió ovocitos donados congelados. La supervivencia de ovocitos tras la descongelación fue del 40%. Cuatro ovocitos fueron microinyectados y todos mostraron signos de fecundación normal a las 24 horas. Setenta y dos horas después, tres embriones fueron transferidos al útero de la paciente, quien recibió apoyo progestacional durante la fase lútea.

Tras 14 días de la transferencia se observó una prueba de embarazo positiva y dos semanas más tarde se observaron dos sacos gestacionales intrauterinos. A las 33 semanas se practicó una cesárea con el nacimiento de un varón de 2172 gr y una mujer de 1985 gr, ambos sanos.

Palabras clave: Ovocitos. Criopreservación. ICSI. Tecnologías de reproducción asistida (ART).

Summary

The objective of this paper is report the first pregnancy occurred after oocytes donated cryopreserved were thawed and sperm intracytoplasmic injected. Woman of 40 years old with ovarian failure, received cryopreserved oocytes donated. Ten cryopreserved oocytes donated were thawed with survival rate of 40%. Four oocytes were microinjected and all oocytes showed two pronuclei at the next day. Seventy two hours after, three embryos were transferred to patient who received vaginal luteal supplementation. Was achieved a pregnancy with two gestational sacs and finally two babies (2172 & 1985 gr) healthfully was born.

Key words: Oocyte. Cryopreservation. Intracytoplasmic sperm injection (ART).

Correspondencia: Dr. Javier I. García
Laboratorio de Reproducción Asistida
Clínica Concebir
Los Olivos 364 - San Isidro
Lima, Perú
e-mail: jgarciaf@fertilidadperu.com

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios han mostrado que los procedimientos de criopreservación son herramientas útiles dentro de los programas de reproducción asistida para reducir las tasas de embarazo múltiple mediante la selección del mejor embrión para la transferencia e incrementar las posibilidades de éxito en un ciclo hormonal controlado obteniéndose varios ciclos de transferencia embrionaria con ovocitos y embriones congelados (1-3).

En la actualidad, la criopreservación de ovocitos humanos es una opción importante para aquellas pacientes que pueden ver afectada su fertilidad por efectos de la edad o al ser sometidas a tratamientos médicos y/o quirúrgicos, permitiéndoles lograr un embarazo y un bebé saludable en casa. Asimismo, el criopreservar ovocitos resulta importante para prevenir altas tasas de embarazo múltiple a través de una inseminación reducida de ovocitos y por tanto de embriones obtenidos, lo cual en conjunto, con una adecuada selección embrionaria y cultivo prolongado, permitirá lograr altas tasas de embarazo, reducidas tasas de multigestación de alto orden, reducido número de embriones congelados y menos problemas éticos, económicos y morales.

Por otro lado, son pocos los estudios publicados que muestran embarazos y bebés nacidos, logrados con ovocitos congelados y descongelados (4-6), siendo el problema limitante en el procedimiento la baja tasa de recuperación de ovocitos viables luego de la descongelación, debido a que los protocolos de congelación y descongelación han sido basados en aquellos aplicados a embriones. A pesar de la baja tasa de viabilidad tras descongelar, estos trabajos han mostrado que los ovocitos descongelados pueden ser fecundados normalmente después de ser microinyectados con espermatozoides, dando lugar a embriones viables (7). El presente trabajo reporta el primer caso de embarazo y nacimiento de dos bebés sanos, logrado con ovocitos congelados y descongelados en nuestro centro, mediante procedimientos previamente descritos por otros autores (5, 6).

CASO CLÍNICO

Mujer de 40 años y varón de 26 años de edad con diagnóstico de esterilidad primaria, de causa ovárica (fallo ovárico precoz) y factor masculino (azoospermia secretora). Los pacientes aceptaron el uso de ovocitos donados congelados que luego de ser descongelados fueron microinyectados con espermato-

zoides del banco de semen. El día que los ovocitos fueron descongelados y microinyectados, se administró intravaginalmente a la paciente 600 mg de progesterona micronizada (Utrogestan; Rontag Laboratorios) para sustentar la fase lútea.

Los ovocitos utilizados fueron donados de manera altruista por una mujer que recibió una estimulación ovárica controlada con 250 UI/mL de FSHr (Puregon; Organon Laboratorios) a partir del día 3 al 10 de ciclo; en el día 11 se le administró 10,000 UI de hCG (Pregnyl; Organon Laboratorios). Treinta y seis horas después de la administración de la hCG se recuperaron 10 ovocitos en metafase II, los cuales fueron congelados tras un periodo de 3 horas de cultivo. Las células del cúmulo y corona fueron removidos enzimáticamente con hialuronidasa (80 UI/mL; LifeGlobal, Canadá) y ayuda de pipetas de vidrio de 120-200 micras de diámetro. Los ovocitos fueron criopreservados en 1,5 M de 1,2 propanediol y 0.2 M sacarosa en PBS (Phosphate Buffer Saline, Irvine Scientific, USA) con 30% SSS (serum substitute supplement; Irvine Scientific, USA). Brevemente, luego de un periodo de incubación en PBS con 30% SSS por 1-2 minutos a temperatura ambiente, los ovocitos fueron colocados en 1,5 M de 1,2-propanediol por 10 minutos y luego transferidos por dos minutos a 1.5 M de 1,2 propanediol conteniendo 0.2 M de sacarosa. Los ovocitos fueron cargados rápidamente en pajuelas estériles (straws) de 0,25 ml y colocados en una máquina Cryobath de congelación lenta (Cryologic, Australia). La temperatura fue reducida lentamente desde 22° C hasta -6,9° C donde se realizó la nucleación de congelación (seeding) manualmente con una pinza previamente enfriada. La temperatura fue gradualmente reducida en 0.2°C/minuto hasta -40° C y luego rápidamente en 50°C/minuto hasta -150° C en que las pajuelas fueron almacenadas en los tanques de nitrógeno líquido a -196° C.

Para el procedimiento de descongelación las pajuelas fueron retiradas del nitrógeno líquido, mantenidas por 30 segundos a temperatura ambiente y luego colocadas en baño de agua a 30°C por 40 segundos. Los embriones fueron rápidamente transferidos a soluciones secuenciales de concentración decreciente de 1,2 propanediol (1.0, 0.5, 0.0 M) conteniendo 0.3 M sacarosa en PBS con 30% SSS y una última dilución de 0.2 M sacarosa solo; después de los cuales, los ovocitos fueron transferidos a medio de cultivo fluido tubárico humano (HTF; LifeGlobal, Canadá) suplementado con 10% SSS y cultivados a 37,1° C en una atmósfera de 5,4% de CO₂ en aire durante 1 hora antes de la realización de la microinyección. Fueron 4 de 10 ovocitos los que sobrevivieron

al procedimiento de descongelación. Estos 4 ovocitos fueron microinyectados con espermatozoides (espermatozoides capacitados: 10×10^6 espermatozoides/mL, 85% movilidad Grado III). Aproximadamente diecisiete horas después de la inyección, 4 ovocitos mostraron 2 pronúcleos. A las 72 horas de cultivo se realizó la transferencia al útero de la paciente 3 embriones; 2 embriones de 4 células grado 2 b (10-30% de fragmentación) y un embrión de 5 células grado 2 b, utilizando un cateter Cook (Cook, USA). Catorce días después de la transferencia embrionaria las concentraciones séricas de β hCG fueron de 3,270 mUI/mL confirmando un embarazo. Se realizó un examen ecográfico a las 8 semanas desde la transferencia embrionaria lo cual demostró la presencia de 2 sacos gestacionales con actividad cardíaca cada uno. Tras 33 semanas de gestación nacieron dos bebés saludables pesando 2186 y 1987 g respectivamente que continúan su normal desarrollo.

DISCUSIÓN

Los procedimientos de congelación-descongelación de ovocitos resultan una herramienta útil dentro de los programas de reproducción asistida tal como ha sido demostrado por diversos autores (5, 6). Sin embargo, el ovocito humano en metafase II es especialmente susceptible a daños causados por los procedimientos de congelación y descongelación, lo cual está relacionado a características particulares de los mismos tales como temosensibilidad, huso meiótico ensamblado, citoesqueleto y zona pelúcida; lo cual ha sido un limitante en el desarrollo de protocolos adecuados que permitan tasas de viabilidad adecuada en ovocitos descongelados.

En el presente caso se realizaron cambios en las concentraciones de suero y sacarosa en relación a protocolos previamente descritos (7); con lo cual se

logró una deshidratación más adecuada del ovocito y protegerlo del daño osmótico y menor tiempo de exposición al medio crioprotector previniendo posibles daños por los cristales de hielo hacia la célula. Este reporte sustenta la factibilidad de tener ovocitos criopreservados en el laboratorio, banco de óvulos, en aquellas mujeres que desean postergar la maternidad, mujeres que son sometidas a tratamientos de quimioterapia y/o aquellas que por razones éticas no quieren criopreservar embriones.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Chen C.:** Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*, 1986; 1: 884-886.
2. **Borini A, Cattoli M, Bulletti C, Coticchio G.:** Clinical efficiency of oocyte and embryo cryopreservation. *Annual New York Acad. Sci.* April, 2008; 1127: 49-58.
3. **Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C.:** Human oocyte cryopreservation: new perspective regarding oocyte survival. *Human Reprod.* Mar, 2001; 16(3): 411-416.
4. **Polak de Fried E, Notrica J, Rubisntein M, Marazzi A, Gómez-González M.:** Pregnancy after human donor oocyte cryopreservation and thawing in association with intracytoplasmic sperm injection in a patient with ovarian failure. *Fertil Steril*, 1998; 69: 555-557.
5. **Porcu E, Fabbri R, Damiano G.:** Clinical experience and applications of oocyte cryopreservation. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 69: 33-37.
6. **Stachecki J, Cohen J.:** An overview of oocyte cryopreservation. *Reprod Biomed Online*, 2004; 9(2): 152-163.
7. **Quintans C, Donaldson MJ, Bertolino MV, Pasqualini RS.:** Birth of two babies using oocytes that were cryopreserved in a choline-based freezing medium. *Human Reprod.* 2002; 17: 3149-1352.