

## FERTILIZACION ASISTIDA EN EL PERU

*Dres. Christian Beuermann Cancino y Heli Cancino Izaguirre\**

En el breve período de sólo doce años, el uso de procedimientos de fecundación *in vitro* (IVF) y transferencia de embriones (ET) para tratar la Esterilidad se ha convertido en una realidad clínica. Este proceso nacido como un tema propio de la ciencia ficción, se ha convertido en un recurso terapéutico bien establecido, y así, la IVF ha dado nuevas esperanzas a muchas parejas estériles.

La indicación inicial para el uso de IVF-ET como tratamiento de mujeres estériles fue la de enfermedad tubaria grave que incluía a quienes habían sido objeto de salpingectomía bilateral por diversos tipos de enfermedad tuboperitoneal y embarazos ectópicos tubarios. También se incluyó a quienes habían sido objeto de oclusión tubaria o tenían adherencias pélvicas extensas con antecedentes de fracaso de la cirugía reconstructiva. Después de observar embarazos bien logrados con esta indicación, los clínicos extendieron el uso de IVF-ET a parejas con otras causas de Esterilidad. En la actualidad son indicaciones de IVF-ET la Esterilidad inmunitaria, la causada por factor masculino, la debida a factor cervical, la endometriosis, la exposición a dietilestilbestrol y la Esterilidad sin causa aparente o idiopática.

Como se describe en varias revisiones recientes, la IVF ha dado buenos resultados en todas estas circunstancias. Si bien las tasas de embarazo para ellas no han variado grandemente, parece ser que el mejor resultado se obtiene cuando existe enfermedad tubaria, en tanto que las cifras tienden a ser menores en la Esterilidad por factor masculino o sin causa aparente.

El propósito de nuestro trabajo es dar a conocer el inicio en nuestro país, con personal peruano la posibilidad de hacer realidad la IVF-ET, que viene dando excelentes resultados desde 1978 en otros países y que quisimos poner a disposición de las parejas estériles peruanas que no tenían otra posibilidad para lograr descendencia.

\* Centro Peruano de Fertilidad Matrimonial.

### MATERIALES Y METODOS.—

Nuestro trabajo consistió en el estudio de diez parejas estériles comprendidas entre Julio de 1989 y Mayo de 1990, de las cuales la edad promedio de las pacientes fue de 34.6 años (27-42) con un tiempo de duración de Esterilidad de 6.4 años (3-15). La causa de Esterilidad en el 100% de los casos fue obstrucción tubaria bilateral, en ocho de los cuales como consecuencia de síndrome adherencial severo como resultado de cirugías previas, ya sea ginecológicas o intervenciones de cirugía general (Apendicectomías, Peritonitis, etc.), en uno de los casos asociado a endometriosis moderada y el último como producto de tuberculosis genital.

Todas las pacientes fueron evaluadas hormonalmente antes de someterlas al programa, no encontrándose en ninguna falla alguna.

A todas las pacientes se les sometió al mismo protocolo de Hiperestimulación ovárica, el cual consistió en la toma de Citrato de Clomifeno (CC), una tableta de 50 mg. por las mañanas por cinco días seguidos a partir del segundo día del ciclo, lo mismo la aplicación intramuscular de dos ampollas de Gonadotropina Menopáusica Humana (HMG) por las tardes a partir también del segundo día del ciclo menstrual hasta que los niveles de Estradiol (E2) plasmático sobrepase los 1,000 pg/ml y el tamaño folicular oscile entre 18 y 22 mm., ocurriendo esto generalmente en el noveno o décimo día del ciclo, en el cual se administró 5,000 UI de Gonadotropina Coriónica Humana (HCG), realizándose la recuperación ovular transabdominal o transvaginal a las 34-36 horas post HCG. La preparación de los medios de cultivo se realizó el día de la aplicación de la HCG con Ham's F-10, conteniendo diferentes porcentajes de suero materno previamente inactivado a 56 grados centígrados por espacio de 30-60 minutos. Dichos medios fueron incubados a 37° C., en una

atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> con una humedad relativa de 98-100%, 24 horas antes de su uso. La osmolaridad de los medios de cultivo fue ajustada a 280 mOsm/kg y un pH de 7.4 - 7.6<sup>1</sup>.

La muestra de semen de los esposos reunían todos los parámetros mínimos indispensables para ser considerados normales, a excepción de uno que presentó ligera Astenozoospermia. La preparación de éstas muestras se realizaron el mismo día de la recuperación ovular en el que el paciente debía tener tres días de abstinencia sexual y realizar la recolección de la misma por medio de masturbación. Después de transcurrido el tiempo de liquefacción, se realizó la capacitación espermática mediante el proceso de migración-sedimentación (TEA-JONDET), el cual se realiza en un medio con 10% de suero materno<sup>578</sup>.

#### RESULTADOS.—

Cabe hacer notar que de las diez pacientes en estudio, se tubieron que cancelar a dos de ellas por pobre respuesta tanto en el Estradiol Plasmático como en la producción de Folículos.

En las ocho pacientes restantes presentaron un pico de Estradiol superior a 1,000 pg/ml en los días nueve o diez del ciclo y concomitantemente folículos iguales o mayores a 18 mm.

Se realizó 34-36 horas post aplicación de HCG Laparoscopia de aspiración en cinco pacientes y aspiración folicular por vía transvaginal en las tres restantes. Se aspiraron 27 folículos en total obteniéndose 16 oocitos, lo cual significa un porcentaje de recuperación ovular de 59.25% que está un poco por debajo del porcentaje de recuperación de otros centros. De los 16 oocitos recuperados (100%) 13 fueron completamente maduros (81.25%) Metafase II. Dos oocitos fueron Metafase I (12.5%), y un oocito fue con zona rota (6.25%), no se recuperó oocitos atrésicos.

La inseminación de los quince oocitos se realizó con semen previamente capacitado entre 3-4 horas post recuperación, en una cantidad entre 50,000 - 100,000 spz/por oocito. Lográndose fertilización en doce de ellos, lo cual significa

un porcentaje de fertilización de 80%, esto concuerda con el porcentaje de la mayoría de los programas.

De los doce oocitos fertilizados se obtuvo igual número de embriones. Se realizó la transferencia de embriones a las 62 horas post aplicación de HCG en un promedio de 1.5 embriones por paciente (1-2 embriones por paciente) estadios comprendidos entre 2-6 blastómeras, en un medio totalmente enriquecido con suero materno (90%).

De los ocho casos se obtuvieron dos embarazos, uno de los cuales terminó en aborto preclínico (Bioquímico) y el restante se encuentra en curso con un tiempo de gestación de tres meses y medio aproximadamente. En los seis casos restantes no hubo éxito. Estos resultados nos muestran un 25% de éxito en el logro de gestaciones por medio de este programa, lo cual concuerda con el porcentaje de otros centros que realizan dicho programa.

CUADRO N° 1

N° de Ptes.	Edad	Tiempo de Esterilidad	Causas de Esterilidad
I	27	4	OTB
II	36	5	OTB
III	39	15	OTB
IV	30	5	OTB
V	42	6	OTB
VI	35	9	OTB
VII	33	7	OTB
VIII	32	4	OTB
IX	35	3	OTB
X	37	6	OTB

CUADRO N° 2

Edad (años)	34.6 (27 : 42)
Duración de Esterilidad (años)	6.4 (3 - 15)
Clasificación de la Esterilidad.	
- Factor Tubárico	10 (100%)

CUADRO N° 3

Pctes. N° de	Petes. N° Fol/	Recuperados N° oocitos	Aspiración Técnica de
I	3	2	TV
II	2	2	LAP
III	4	3	LAP
IV	6	2	LAP
V	4	2	LAP
VI	3	1	LAP
VII	2	2	TV
VIII	3	2	TV
TOTAL	27	16	

CUADRO N° 4

CLASIFICACION DE OOCITOS		
N° Total	16	(100%)
Metafase II	13	(81.25%)
Metafase I	2	(12.5%)
Zona Rota	1	(6.25%)
Atrésicos	0	

CUADRO N° 5

oocitos Inseminados	oocitos Fertilizados	Porcentaje de Fertilización
15	12	80%

CUADRO N° 6

TRANSFERENCIA EMBRIONARIA		
I	2 (4 y 6 B1)	Embarazo
II	2 (2 y 4 B1)	Negativo
III	2 (2 y 2 B1)	Negativo
IV	2 (4 y 4 B1)	Negativo
V	1 (4 B1)	Negativo
VI	1 (3 B1)	Negativo
VII	1 (2 B1)	Negativo
VIII	1 (4 B1 + Frag.)	Negativo

1.5 Emb/P.

CUADRO N° 7

PARAMETROS NORMALES DEL SEMEN	
Número espermatozoides/CC	> 20'000,000
Porcentaje de Movilidad	> 50%
Porcentaje de Morfología Normal	> 60%

CUADRO N° 8

MUESTRAS DE SEMEN

	Concentración/CC	Movilidad %	Morfología %
I	40'000,000	63	90
II	48'000,000	56	87
III	162'000,000	80	98
IV	92'000,000	71	84
V	32'500,000	35	87
VI	49'200,000	69	88
VII	35'000,000	58	81
VIII	125'000,000	60	87

DISCUSION.—

Hoy es una realidad el aumento de la incidencia de la Esterilidad conyugal, tanto es así que las estadísticas demuestran que el 25% de la población presentan mayores o menores problemas para poder reproducirse. De este porcentaje el 50% corresponde al factor femenino, el 45% a factor masculino y un 5% a causas desconocidas (Infertilidad Idiopática) <sup>1</sup>.

El problema se agrava aún más ante la utilización precoz de distintos métodos anticonceptivos que en mayor o menor grado van a ser lesivos para lograr una fecundación. De otra parte, el incremento de las enfermedades venéreas están permitiendo observar con una mayor frecuencia el daño irreparable en las trompas de Falopio, la presencia de Endometriosis es también en mujeres nulíparas cada vez más frecuentes <sup>2</sup>.

La microcirugía en sus distintas modalidades se emplean ampliamente pero indudablemente sus mejores resultados se obtienen en el tratamiento de la reversibilidad de la esterilización, pero todavía hay dudas sobre la presencia de un aumento significativo en las gestaciones intrauterinas, un año luego de practicada la cirugía, de tal modo que no todas las pacientes son susceptibles de una técnica microquirúrgica exitosa. En las situaciones de Esterilidad tubárica irreversible las alternativas antes, eran la adopción o, en casos muy especiales, la contratación de una madre sustituta. Cualquiera de las dos opciones no siempre puede ser una solución psicológica satisfactoria para las parejas; estas sueñan con lograr el embarazo prescindiendo de las trompas de Falopio<sup>23,4</sup>.

El primer nacimiento humano después de una fecundación extracorpórea tuvo lugar en Inglaterra en 1978, y fue la culminación de 20 años de experimentos con embriones de otros mamíferos. En la actualidad, hay más de 10,000 mujeres embarazadas mediante el procedimiento de fecundación in vitro y ya han nacido más de 6,000 perfectamente normales, fruto de dicho método. Antes de 1981, el éxito global en la tasa de embarazo oscilava entre el 1 y 8%, en todo el mundo. Sin embargo, los avances recientes en la tecnología han aumentado esta cifra a 30-40%, lo que representa una notoria mejoría en comparación con los resultados de hace 6 años. Varios factores han contribuido a dicha mejoría: La monitorización más precisa de la ovulación con técnicas ultrasónicas de alta resolución y el desarrollo de folículos múltiples mediante la inducción de hiperestimulación ovárica, lo cual han perfeccionado el proceso de recuperación de oocitos y de fecundación. La transferencia de varios embriones frescos también aumenta las posibilidades de lograr una implantación exitosa<sup>25</sup>.

A medida que aumenta el número de centros de fecundación in vitro y transferencia de embriones en todo el mundo y contando con que exista el rápido intercambio de conocimientos entre los distintos investigadores, existen buenas razones para creer que las tasas de éxito de la fecundación in vitro están alcanzando en la actua-

lidad porcentajes superiores a la tasa de fecundación natural que es de aproximadamente 25% por ciclo<sup>6</sup>.

En la actualidad existen varios protocolos de hiperestimulación ovárica, nosotros hemos utilizado uno de ellos, el llamado clásico para todas las pacientes de nuestro estudio, el cual comprende el uso concomitante de Citrato de clomifeno (CC) y Gonadotropina Menopáusica Humana (HMG) a partir del segundo día del ciclo hasta que se logre un pico de estradiol plasmático superior a 1,000 pg/ml. y que el tamaño folicular sea igual o mayor a 18 mm, parámetros que se lograron en un 90% de los casos en el día noveno del ciclo, datos que concuerda en la mayoría de centros que realizan este tipo de programas<sup>12,3</sup>, momento en el cual se procedió a la aplicación de Gonadotropina Coriónica Humana (HCG).

La recuperación ovular se efectuó entre las 34 y 36 horas post aplicación de HCG, en 5 de los casos por vía abdominal y en los 3 restantes por vía transvaginal, se aspiraron un total de 27 folículos, logrando recuperarse 16 oocitos, lo cual nos dio un porcentaje de recuperación de 59.25%, cifra que está por debajo de la lograda en otros centros<sup>26</sup>.

la inseminación de los oocitos se realizó entre 3 y 4 horas post-recuperación con semen previamente capacitado mediante la técnica de MIGRACION-SEDIMENTACION<sup>5,7,8</sup>, la cual proporciona la obtención de un 95% de espermatozoides móviles con capacidad traslativa progresiva, en una proporción de 50,000 - 100,000 spz/oocitos. Se logró fertilización en 12 de ellos, lo cual nos da un porcentaje de fertilización del 80%<sup>12</sup>. Todos los oocitos fertilizados lograron división celular (embriones) los cuales fueron transferidos al útero materno a las 62 horas post aplicación de HCG en un promedio de 1.5 embriones por paciente, en estadios comprendidos entre 2 - 6 blastómeras.

De las ocho transferencias embrionarias realizadas, se lograron 2 gestaciones (25%), una de ellas terminó en un aborto pre-clínico o bio-

químico y la otra en la actualidad se encuentra en curso con un tiempo de gestación de tres meses y medio aproximadamente. Esto nos demuestra un 25% de éxito en nuestro programa, porcentaje muy similar al de otros centros especializados<sup>1234</sup> bajo el sistema de hiperestimulación ovárica utilizado. En el resto de casos no hubo resultado positivo. Cabe hacer notar que en todos los casos, a las pacientes se les aplicó 2,500 UI de Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) en los días 1, 3 y 5 post-transferencia con la finalidad de brindar un soporte al posible cuerpo lúteo de un embarazo.

Con nuestro trabajo queremos también mostrar que ya existe en el Perú un Centro de Fertilización Asistida altamente especializado, que pone al alcance otra nueva opción para aquellas parejas que prácticamente han visto perdidas todas las esperanzas de poder lograr una gestación uterina. En un futuro muy próximo esperamos que la afluencia de pacientes a nuestro programa vaya en aumento y así seguir demostrando mayores logros y éxitos para la alegría tanto de las parejas como de nosotros mismos.

### B I B L I O G R A F I A

1. DIAMOND M. P., DECHERNEY A. H.: Ovulation Induction and oocyte recovery for in vitro fertilization. In Sciarra JJ (ed): Gynecology and Obstetrics. Volumen 5. Philadelphia, Harper and Row, 1987.
2. FRYDMAN R., FORMAN R., RAINHORN J. D., et al.: A new approach to follicular stimulation for in vitro fertilization: Programed oocyte retrieval. Fertil Steril 46 : 657, 1986.
3. GARCIA J. E., JONES G. S., ACOSTA A. A., et al.: Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase 1, 1981. Fertil Steril 39 : 167, 1983.
4. GARCIA J. E., JONES G. S., ACOSTA A. A., et al.: Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase 2, 1981. Fertil Steril 39 : 174, 1983.
5. LUCENA E., LUCENA C., GOMEZ M., ORTIZ J. A., ARANGO A., DIAZ C. and BEUERMANN C. (1989). Recovery of motile sperm using the Migration-Sedimentation technique in an in vitro fertilization-embryo transfer program. H. Reprod., Vol. 4, N° 2, Pág. 163.
6. JONES H. W., ACOSTA A. A., ANDREWS M. C., et al.: Three years of in vitro fertilization at Norfolk. Fertil Steril 42 : 826, 1984.
7. TEA N. T., JONDET M. and SCHOLLER R. (1983). A "migration-gravity sedimentation" method for collecting motile spermatozoa from human semen. In vitro Fertilization, N° 21, Pág. 117.
8. TEA N. T., JONDET M. and SCHOLLER R. (1983). Procédé d'isolement de spermatozoides mobiles du sperm humain par la méthode de migration-sédimentation. Path. Biol., Vol. 31, Pág. 688.