

Trabajo original

Transferencia intra-tubaria de embriones por vía laparoscópica, una opción terapéutica en pacientes con fallas reiteradas de FIV (fertilización *in vitro*)

Alberto Kenny, Luciano Sabatini, Edgardo Young (H), Martín Vilela, Guillermo Marconi, Luis Augé

Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER).
Reproducción 2010;25:76-81

Resumen

Objetivo. La utilización de la Transferencia Tubaria de Embriones (TET) ha ido declinando gradualmente en todo el mundo a lo largo de los años, en ciclos de FIV, existen múltiples trabajos y meta-análisis que no encuentran diferencias significativas en las tasas de implantación y embarazo entre mujeres que realizan un primer intento de FIV con transferencia al útero vs transferencia a las trompas por vía laparoscópica. Sin embargo existen muy pocos estudios que evalúen el rol que cumple el TET en aquellas pacientes con fallas reiteradas de FIV con transferencia a útero (UET). Nuestro estudio se centra en los resultados reproductivos de mujeres que realizaron un TET y que tenían una historia de 2 fallas reiteradas de UET, comparado con un grupo de pacientes que también tenían el antecedente de 2 UET fallidas, en cuyo tercer intento de igual manera la transferencia se realizó a útero. **Diseño.** Estudio de cohorte retrospectivo. **Materiales y métodos.** Realizamos la evaluación de todos los ciclos de FIV en nuestro centro entre los años 2003-2007, seleccionando 261 pacientes infértiles con 2 fallas en fresco de UET. Las pacientes fueron divididas en 2 grupos; el Grupo A (43) realizaron un tercer intento en fresco a trompa (TET) y el Grupo B (218) en cuyo tercer ciclo en fresco realizaron una transferencia uterina de embriones eco-guiada (UET). Los resultados reproductivos evaluados fueron: número de ovocitos captados, tasa de implantación, embarazo clínico, tasa de aborto, tasa de embarazo ectópico, tasa de embarazo múltiple y recién nacido vivo. **Resultados.** Las causas de infertilidad, los protocolos de es-

tímulo y la respuesta al mismo fueron comparables en ambos grupos. La tasa de embarazo (51% vs 33%) y la tasa de recién nacido vivo (48% vs 27%) fue significativamente mayor en el grupo que realizó TET ($p < 0.05$). Encontramos además una tasa de embarazo gemelar mayor en este grupo de pacientes con transferencia embrionaria a las trompas. **Conclusiones.** La transferencia intra-tubaria de embriones por vía laparoscópica sería una alternativa efectiva, asociado a mejores resultados reproductivos que la transferencia uterina de embriones, en aquellas pacientes con fallas reiteradas de FIV.

Tubal Embryo Transfer a therapeutic option for patients with IVF-UET failure

Summary

Objective. The application of Tubal Embryo Transfer (TET) in IVF population has gradually declined worldwide over the years. A meta-analysis of randomized, controlled trials found no difference in pregnancy and implantation rates between women undergoing TET and IVF-ET (Habana and Van Thillo; Fertil Steril 2001) though few studies have evaluated the worth of TET in recurrent IVF uterine transfer failure. Our study evaluated the outcome of TET in women undergoing IVF who have a history of 2 IVF failures with uterine embryo transfer (UET). **Design.** Retrospective cohort study. **Materials and**

methods. We evaluated the whole IVF population in our center between 2003 and 2007. We selected 261 infertile patients with two failed IVF-ET which performed a third attempt. They were divided into two groups: Group A (43); performed TET (laparoscopically) on day 2 of in vitro culture and Group B (218); received atraumatic ultrasound guided UET on day 3. A pre-requisite for TET was the absence of significant tubal pathology. Main outcome measures were: Implantation, clinical pregnancy, live birth rates and twin pregnancy rate. **Results.** Patient characteristics and response to stimulation were comparable for both groups. Pregnancy rate (51% vs 33%), and live birth rates (48% vs 27%) were significantly higher in the TET group as compared to the UET group, respectively. We also found a significant higher twin pregnancy rate in TET group. **Conclusion(s).** Tubal Embryo Transfer provides an effective choice associated with better outcome than UET for women with recurrent IVF-UET treatment failure.

Ha sido demostrado ya en todo el mundo, que la tasa de embarazo no cambia a lo largo de los primeros 2 intentos de FIV-ET, pero ésta desciende por debajo del 40% cuando los intentos fallidos son 3 o más.¹ Es por ello que pacientes con fallas reiteradas de FIV, representan una verdadera incógnita para los médicos especialistas en reproducción. Un número realmente considerable de propuestas han aparecido para tratar de contrarrestar esta situación, como el assisted hatching, co-cultivo de embriones, diagnóstico genético pre-implantacional (PGD), etc.² Sin embargo, la indicación de muchas de estas estrategias, para las fallas de FIV, son controvertidas en la actualidad y otras aún son experimentales, de hecho ninguna de ellas ha contribuido en mejorar el pronóstico de este difícil grupo de pacientes.³

En los últimos 5 años, con la finalidad de evaluar la coordinación entre el desarrollo endometrial y el embrionario, una de las opciones terapéuticas que hemos adoptado en el IFER para estas pacientes, ha sido la transferencia intra-tubaria de embriones. Ya en una publicación anterior de nuestro instituto,⁴ mostramos que no

existen diferencias significativas en las tasas de embarazo en un primer intento de transferencia a trompa vs transferencia embrionaria a útero, pero ya existen otros grupos como el de David Levran de Israel que publican mejores resultados reproductivos mediante TET en pacientes con fallas previas de FIV-ET.⁵

Sin lugar a dudas las incógnitas que ofrece este grupo de estudio nos obliga a explorar nuevas técnicas en busca de mejores resultados; es por eso, que el objetivo de nuestro trabajo es comparar la diferencia que existe entre transferir embriones al útero o a las trompas en pacientes con fallas reiteradas de FIV.

Materiales y métodos

Este estudio retrospectivo fue llevado a cabo en el Instituto de Ginecología y Fertilidad de Buenos Aires (IFER), evaluando todos los ciclos de FIV realizados entre los años 2003 y 2007. Doscientas sesenta y un pacientes fueron seleccionadas, las cuales debieron cumplir con los siguientes criterios de inclusión: 1) tener el antecedente de 2 fallas en fresco de FIV, excluyendo los ciclos de transferencia de embriones congelados; 2) cavidad uterina sana evidenciada por histeroscopia; 3) antecedente de una respuesta normal a la hiper-estimulación ovárica controlada, en otras palabras obtener al menos 4 ovocitos al momento de la punción; 4) niveles de FSH <12; 5) no presentar factor masculino severo; 6) todas las pacientes que incluían la rama de UET, debían presentar una transferencia eco-guiada clase A. Todas las pacientes presentaban un status adecuado de las trompas de falopio, evaluado mediante cirugía laparoscópica.

Las 261 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, fueron divididas en 2 grupos; el *Grupo A* compuesto por 43 pacientes que realizaron una transferencia en fresco de embriones en día 2, a la/s trompas y el *Grupo B* constituido por 218 pacientes que realizaron una transferencia eco-guiada, en fresco de embriones en día 2-3 al útero.

Protocolo de estimulación

Todas las pacientes que ingresaron en este trabajo realizaron una hiperestimulación ovárica controlada utilizando esquemas flexibles de anta-

gonistas de la GnRh (orgalutran® 0.25-Organon, aplicando el antagonista cuando el diámetro folicular mayor alcanzaba los 14 o 15 mm), asociados a FSH recombinante (Puregón®-Organon), en dosis que variaban de 200-300 UI/día subcutánea y HMG (Menopur®-Ferring) en dosis de 150-300 UI/día intramuscular o subcutánea. Todas las pacientes fueron monitoreadas con ecografía transvaginal y dosaje de estradiol cada 48 hs desde el inicio de la estimulación.

Una vez que la paciente presentaba al menos 3 folículos con un diámetro \geq a 17mm se aplicaba hCG 10000 UI subcutánea (Gonacor®-Ferring), realizándose la captación ovocitaria, bajo anestesia general, a las 34-36 hs post-aplicación.

Procedimientos de laboratorio

Luego de la captación los ovocitos fueron fertilizados mediante inseminación convencional o a través de la inyección intra-citoplasmática de espermatozoides (ICSI).

La fertilización fue leída a las 16-18 hs posteriores a la inseminación y fue considerada como normal solamente cuando los 2 pronúcleos se observaron en forma clara. Los embriones fueron mantenidos en cultivos P1 (Irving Scientific), suplementado con 5% de CO₂ y a 37° hasta el día 2 o 3 según correspondiera. La clasificación embrionaria realizada para elegir los embriones a transferir se basó en la apariencia morfológica microscópica de los mismos.

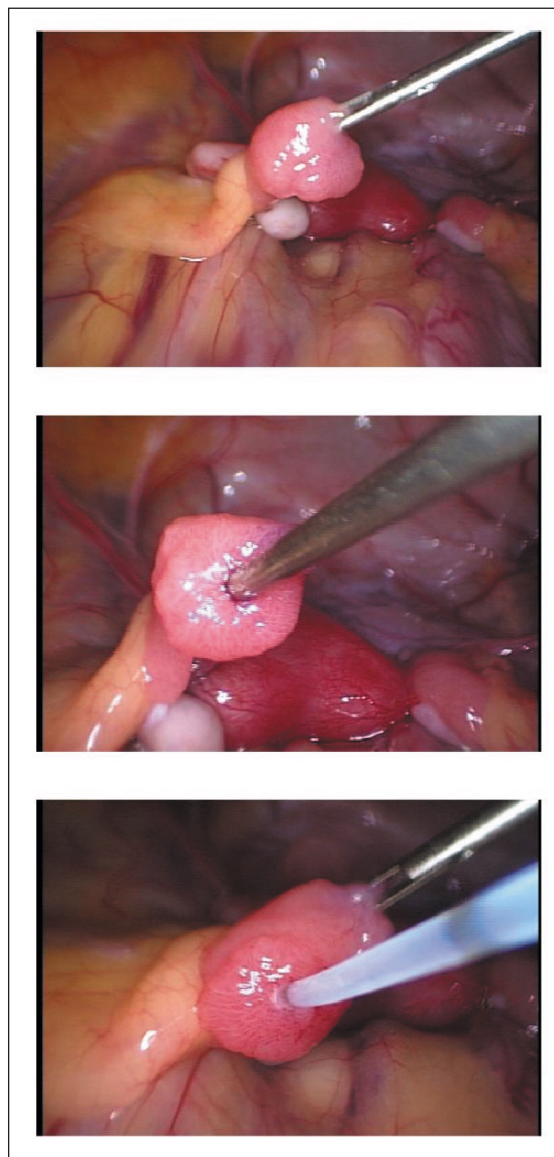
Transferencia embrionaria y soporte de fase lútea

La transferencia tubaria de embriones fue llevada a cabo 48 hs después de la captación ovocitaria, y los cigotos fueron transferidos por vía laparoscópica a una o ambas trompas, (Figura 1).

La transferencia de embriones en día 2-3 al útero, se realiza en nuestro instituto hace ya varios años mediante guía ecográfica trans-abdominal y utilizando cateters ultra-soft del tipo Frydman. Para este procedimiento es indispensable que todas las pacientes tengan como mínimo una retención urinaria de 2 horas, de esta manera la repleción vesical permite por un lado una imagen ecográfica mucho más precisa del catéter a lo largo del cuerpo uterino, y por el otro logra que el útero adopte una posición intermedia, intentando de esta manera realizar una transferencia lo menos traumática posible.

En ambos casos el soporte de la fase lútea se

Figura 1. Técnica quirúrgica: En todas las pacientes se realiza neumoperitoneo por técnica cerrada, utilizando un trocar umbilical de 10mm y 2 trocars accesorios de 5mm. Sobre las trompas se trabaja con pinzas atraumáticas de tal manera que pueda identificarse el ostium tubario de la forma más delicada posible; se realiza a continuación la canalización de la trompa con un catéter de marrs el cual es introducido con una camisa metálica, una vez que esta es retirada, el catéter debe penetrar a lo largo de la trompa hasta la marca que indica una longitud total de 4 cm. Alcanzada esta distancia el cirujano se encuentra en condiciones óptimas para realizar la descarga embrionaria hacia la trompa. El procedimiento se repite en la trompa contralateral en el caso de ser necesario, y finaliza con el control por parte del biólogo corroborando al microscopio el correcto y completo pasaje de los embriones.



llevó a cabo con progesterona micronizada 600 mg/día por vía intra-vaginal (Utrogestan®-Ferring), con el agregado en forma sistemática de 1mg de ácido fólico y 125 mg de ácido acetil salicílico.

Análisis Estadístico

Los datos estadísticos analizados incluyen: la edad, etiología, número de ovocitos captados, promedio de embriones transferidos, tasa de implantación, de embarazo clínico, de aborto, de embarazo ectópico, de embarazo múltiple y tasa de recién nacido vivo. El embarazo clínico fue definido mediante la visualización ecográfica de un embrión con latido cardíaco positivo.

El programa de estadística con el que se trabajó fue el STATA, utilizando el Student t- test y χ^2 según corresponda. Los resultados fueron considerados significativos cuando la $p < 0,05$.

Resultados

Las características clínicas y etiológicas de las pacientes fue similar en ambos grupos como se muestran en la Tabla 1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en térmi-

Tabla 1. Características de los pacientes y distribución etiológica.

Características	UET	TET	P
N	218	43	-----
Edad	36 ± 4.6	36 ± 4.2	NS
FSH basal	6.39 ± 4.07	6.44 ± 6.41	NS
Infertilidad	74/218	15/43	NS
primaria	34%	36%	
Factor masculino	60	10	NS
Anovulación	37	7	NS
Endometriosis	48	10	NS
ESCA	36	7	NS
otros	37	9	NS

nos de edad, valor de FSH basal y proporción de pacientes con esterilidad primaria.

Los protocolos de estimulación utilizados como así también la respuesta a los mismos fue comparable para ambos grupos de estudio, pues el número de ovocitos captados fue de 11.7 ± 5.7 en el grupo de transferencia al útero y de 11.6 ± 6.6 para los transferidos por vía laparoscópica, (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados reproductivos.

	TET (n=43)	UET (n=218)	P
Ovocitos captados	11.6 ± 6.6	11.7 ± 5.7	NS
Embriones transferidos	2.9 ± 0.93	2.8 ± 1.03	NS
Tasa de implantación (%)	27/125 (21%)	77/613 (12%)	NS
Tasa de embarazo (%)	22 (51%)	71 (33%)	<0.05
Embarazo doble (%)	5 (22%)	6 (8%)	<0.05
Tasa de aborto (%)	4 (18%)	11 (15%)	NS
Embarazo ectópico	0%	1 (0.4%)	NS
Nacidos vivos	21 (48%)	59 (27%)	<0.05

En cuanto a los resultados reproductivos el promedio de embriones transferidos en ambos grupos fue comparable, 2.9 ± 0.93 en el grupo TET y 2.8 ± 1.03 en UET; En cuanto a la tasa de implantación si bien la diferencia no fue estadísticamente significativa, 21% (27/125) para las pacientes con TET vs 12% (77/613) para las UET, si podemos observar una clara tendencia a favor de aquellas mujeres que tuvieron su transferencia a las trompas.

Por otro lado, tanto la tasa de embarazo clínico como así también la tasa de recién nacido vivo mostró una diferencia significativa a favor de las pacientes a las cuales se les practicó una transferencia de embriones a las trompas, 51% y 48% respectivamente vs el 33% y 27% para las pacientes con transferencia a útero. Otro de los parámetros que mostró diferencias estadísticas fue la tasa de embarazo doble con un 22% para las pacientes con TET y con un 8% para las pacientes con UET, no se registraron en ninguno de las dos ramas de estudio embarazos triples. En el resto de las variables estudiadas, tanto la tasa de aborto (18% vs 15%) como la tasa de embarazo ectópico (0% vs 0.4%), no se hallaron diferencias entre estos dos grupos en estudio.

Discusión

Los resultados de nuestro estudio indican claramente que la transferencia de embriones en día 2-3 al útero, presenta peores resultados reproductivos que la transferencia tubaria por vía laparoscópica, en pacientes con fallas reiteradas de FIV.⁶ Las altas tasas de embarazo clínico y de recién nacidos vivos que se obtienen realizando la trans-

ferencia embrionaria a las trompas, que rondan el 50%, enfatiza el importante rol terapéutico que juega el TET en este grupo tan complicado de pacientes.

En un estudio publicado por Levrán en *Fertility and Sterility*, se destaca que incluso comparando el TET con la transferencia embrionaria al útero en estadio de blastocisto, los resultados reproductivos son significativamente superiores en aquellas pacientes con transferencia a la trompa.⁷

El número de pacientes en cada grupo, pero sobretodo las 43 pacientes que constituyen el grupo del TET, es realmente importante si uno lo compara con los trabajos publicados en la literatura, y más aún si se tiene en cuenta la dificultad que existe en reclutar pacientes que ya hayan tenido 2 tratamientos en fresco fallidos.

Cabe destacar que si bien nuestro trabajo coincide con el de Levrán en Israel, tanto la tasa de embarazo clínico (55% vs 40%) como la de recién nacido vivo (48% vs 38%), en el grupo de pacientes que realizó TET, nos muestran una mejoría de los parámetros reproductivos que obtuvimos comparado con el grupo de Tel Aviv. Un aspecto que se debe tener en cuenta es la tasa de embarazo doble, la cual fue significativamente mayor en el grupo que realizó la transferencia tubaria (22% vs 8%). A pesar de esta diferencia, creemos que el porcentaje de embarazo doble, para un grupo de pacientes que presenta el antecedente de 2 fallas reiteradas de FIV en fresco, no es una cifra relevante si uno lo compara con los resultados de la bibliografía (Levrán 54%).⁷ Además este hecho remarca la mejor tasa de implantación que presentan estas pacientes (TET 21% vs UET 12%), ante un número promedio de embriones transferidos que es comparable entre ambos grupos (2.9 ± 0.93 vs 2.8 ± 1.03). De todas formas las conclusiones de este trabajo también nos permitirán en futuros TET de pacientes con fallas de FIV, transferir un menor número de embriones para que de esta manera podamos disminuir aún más la tasa de embarazo doble.

Entre los mecanismos implicados que mejoran la implantación embrionaria durante tratamientos de alta complejidad, podemos inferir que existen factores muy importantes y que

vamos a intentar explicar.

El primero de ellos es la receptividad endometrial, este factor es actualmente el más estudiado en busca de mejores resultados reproductivos en tratamientos de alta complejidad.⁸ Esto se debe a que son múltiples los mecanismos biológicos y bioquímicos que intervienen en este fenómeno y por supuesto es muy poco lo que todavía se conoce. Lo que sí podemos afirmar es que son numerosos los cambios, génicos e histológicos, que se producen a lo largo del ciclo menstrual, y más aún durante la ventana de implantación.⁹ La receptividad endometrial es crucial al momento de la implantación embrionaria, y ya muchos investigadores, como lo es Simón en España, demostraron la diferente expresión de genes reguladores que existe durante este período.¹⁰ Incluso la expresión génica en el endometrio de pacientes sometidas a hiperestimulación ovárica controlada (HOC), es diferente comparado con ciclos naturales en las mismas pacientes.¹¹ Mirkin y col. en el 2004 publicaron cómo la HOC en tratamientos de FIV, influía negativamente en la implantación embrionaria.¹² Dicha estimulación genera cambios estructurales y funcionales cuando se los compara con ciclos naturales.¹² Las pacientes que realizan HOC, muestran endometrios histológicamente más retrasados, con una inmadurez a nivel de la expresión de los pinópodos, down regulation en el receptor de esteroides y una diferencia significativa en la expresión génica.¹⁰⁻¹³ Quizás la transferencia intra-tubaria de embriones permita, una mayor comunicación y sincronización entre la cavidad uterina y el embrión para el desarrollo de un adecuado endometrio decidual.

El segundo factor que nos queda por analizar es la transferencia embrionaria. En los últimos años el aumento observado en las tasas de embarazo en nuestro instituto, es debido entre otras cosas, a la utilización de cánulas flexible y guía ecográfica durante la transferencia embrionaria; pero sobretodo lo que más influyó fue reconocer que los micro-traumatismos provocados en el endometrio durante la transferencia embrionaria, influían negativamente en el resultado reproductivo.¹⁴ Ya en el año 2005 Marconi y col de nuestro instituto, publicó cómo repercutía a nivel endometrial, la utilización de diferentes cánulas

de transferencia, en ciclos naturales de mujeres a las cuales se les realizaba una histeroscopia luego de la utilización de la cánula, mostrando la repercusión endometrial de cada una de ellas.¹⁵ Creemos que el TET al evitar cualquier tipo de traumatismo a nivel endometrial, permite mejorar la chance implantatoria del embrión, luego de su pasaje por la trompa de Falopio.

En conclusión, los resultados de nuestro estudio demuestran claramente la eficacia del TET, como herramienta terapéutica, en pacientes con fallas reiteradas de FIV. De todas maneras futuros estudios serán necesarios para aclarar los mecanismos implicados, tanto en las fallas reiteradas de FIV, como así también el beneficio del TET en estas pacientes. Teniendo este conocimiento en nuestras manos, podrá ser posible identificar, en este complejo grupo de pacientes, cuándo el TET sería una terapéutica beneficiosa.

Referencias

1. Sherwin R, Catalano R, Sharkey A. Large-scale gene expression studies of the endometrium: what have we learnt? *Reproduction* 2006;132:1-10.
2. Sharkey A. Cytokines and implantation. *Rev Reprod* 1998;3:52-61.
3. Basak S, Dubanchet S, Zourbas S, Chaouat G, Das C. Expression of proinflammatory cytokines in mouse blastocysts during implantation: modulation by steroid hormones. *Am J Reprod Immunol* 2002;47:2-11.
4. Van Thillo G, Inza R, Londra L, Buzzi J, Marconi G, Kenny A. Embryo transfer technique significantly influences pregnancy rates in an assisted reproduction program. *Fertility and Sterility* 2004;82(Suppl.2):S256-S257.
5. Levran D, Mashiach S, Dor J, Levron J, Farhi J. Zygote intrafallopian transfer may improve pregnancy rate in patients with repeated failure of implantation. *Fertil Steril* 1998;69:26-30.
6. Barash A, Weissman A, Manor M, Milman D, Ben-Arie A, Shoham Z. Prospective evaluation of endometrial thickness as a predictor of pituitary down-regulation following GnRH-a administration in an IVF program. *Fertil Steril* 1998;69:496-499.
7. Farhi J, Weissman A, Nahum H, Levran D. Zygote intrafallopian transfer in patients with tubal factor infertility after repeated failure of implantation with in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2000;74:390-393.
8. Weissman A, Barash A, Manor M, Ben-Arie A, Granot I, Shoham Z. Acute changes in endometrial thickness after aspiration of functional ovarian cysts. *Fertil Steril* 1998;69:1142-1144.
9. Li R, Zhuang G, Gui Y, Zhong K, Wang W. Local injury to the endometrium improves the pregnancy rate in patients undergoing in vitro fertilization. 18th World Congress on Fertility and Sterility (IFFS 2004); May 23-28, 2004; Montreal, Canada.
10. Horcajadas SA, Pellicer A, Simón C. Wide genomic analysis of human endometrial receptivity: new times, new opportunities. *Human Reprod Update* 2007;13:77-86.
11. Li R, Zhong K, Lu L, Wang H, Cai Z. Mechanical stimulation to the endometrium improves the clinical pregnancy rate in patients undergoing in vitro fertilization [in Chinese]. *Sheng Zhi Yi Xue Za Zhi* 2004;13:342-345.
12. Mirkin S, Nikas G, Hsiu JG, Diaz J, Oehninger S. Gene expression profiles and structural/functional features of the peri-implantation endometrium in natural and gonadotropin-stimulated cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5742-5752.
13. Mirkin S, Arslan M, Churikov D, Corica A, Diaz JI, Williams S, et al. In search of candidate genes critically expressed in the human endometrium during the window of implantation. *Hum Reprod* 2005;20:2104-2117.
14. Barash A, Dekel N, Fieldust S, Segal I, Schechtman E, Granot I. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003;79:1317-1322.
15. Marconi G, Vilela M, Belló J, Diradourian M, Quintana R, Sueldo C. Endometrial lesions caused by catheters used for embryo transfers: a preliminary report. *Fertil Steril* 2003;80:363-367.