

Caso Clínico

Embarazos y nacimientos por ovodonación logrados con ovocitos vitrificados

Inés Carretero, María Fernanda Urquiza, María Silvina Bozzini, Agustín Pasqualini

Halitus Instituto Médico. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Reproducción 2010;25:95-97

Introducción

El ovocito, por sus peculiares características, es más propenso a sufrir daños si se lo somete a las técnicas comunes de criopreservación lenta, experimentando endurecimiento de la zona pelúcida por liberación del contenido de los gránulos corticales, rotura de la membrana plasmática, desorganización extensiva del ovoplasma, y alteraciones en el citoesqueleto. La sensibilidad del huso acromático al enfriamiento puede causar dispersión de los cromosomas y así generar aneuploidias. Distintas modificaciones a las técnicas de criopreservación lenta lograron mejorar los resultados, sin llegar a la optimización deseable para su uso rutinario.^{1,2}

El perfeccionamiento en las técnicas de vitrificación generó expectativas sobre la posibilidad de lograr un método eficaz de aplicación práctica en la conservación de ovocitos.

El concepto de vitrificar, o alcanzar un estado vítreo o similar al vidrio, fue descrito por primera vez en 1860 y retomado por Luyet en 1937, quien aseveró que la cristalización es incompatible con los sistemas vivos y debe ser evitada siempre que sea posible.^{3,4}

Las técnicas actuales de vitrificación exponen al ovocito a una solución altamente concentrada de crioprotectores, solidificándose durante el enfriamiento sin la formación de cristales de hielo.⁵ En la práctica, esto se logra por la inmersión directa en nitrógeno líquido del ovocito contenido en un volumen mínimo (0.1-0.2µl) de crioprotector, alcanzándose así una velocidad de enfriamiento de 25000° C/mín o más. Los medios de vitrificación usados deshidratan al ovocito. Sumergirlo bruscamente en nitrógeno

líquido lo solidifica, y el agua intracelular remanente no forma cristales evitándose daño a los organelas intracelulares y membranas, lo que incrementa el potencial de sobrevida.⁶

El presente estudio tiene por finalidad dar a conocer la obtención de embarazos viables y posteriores nacimientos en nuestro programa de ovodonación, mediante la utilización de ovocitos vitrificados de donantes fértiles.

Material y métodos

El presente estudio se llevó a cabo utilizando ovocitos de donantes voluntarias. La aspiración folicular se realizó por vía transvaginal bajo control ecográfico. Luego se procedió a denudar a los ovocitos obtenidos mediante una exposición breve a la enzima hialuronidasa.

Para la vitrificación, los ovocitos MII desnudados fueron incubados en una solución de equilibrio (SE) conteniendo 7.5% de Etilenglicol (EG) y 7.5% de Dimetilsulfoxido (DMSO) durante 5-8 minutos a temperatura ambiente. Luego de la contracción inicial y posterior recuperación, los ovocitos fueron colocados en una solución de vitrificación (SV) conteniendo 15% de EG, 15% de DMSO y 0,65 molar (M) de sacarosa durante 60 segundos. Finalmente, se cargaron en un volumen pequeño de SV (< 0,1 µL), fueron colocados en dispositivos del tipo semi-pajuelas (hemistraw) y se introdujeron rápidamente en un recipiente con nitrógeno líquido.

Para la desvitrificación, se sumergió el extremo de la semi-pajuela en medio con 1 M sacarosa a 37° C, luego se los pasó sucesivamente por medio conteniendo concentraciones decrecientes de sacarosa. Los ovocitos recuperados se colocaron en medio de cultivo a 37° C y 5% de CO₂

Correspondencia: Inés Carretero
E-mail: ines.carretero@halitus.com

durante 1 a 2 horas y se inseminaron por ICSI los considerados "morfológicamente vivos" en ausencia de las siguientes características negativas: ooplasma oscuro o contraído, vacuolización, zona pelúcida fracturada, pérdida de citoplasma o alteración de cuerpo polar.

Después de la microinyección, los ovocitos permanecieron en cultivo a 37° C y 5% de CO₂. Se observó fertilización normal en 2 pronúcleos (2PN) 18 horas post ICSI. Se evaluó el clivaje y se llevó a cabo la transferencia embrionaria bajo guía ecográfica.

Casos Clínicos

Se presentan 3 casos clínicos de ovodonación con ovocitos vitrificados de donante. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 1.

Al desvitrificar, 38 de los 57 oocitos (tasa total 66.7%) sobrevivieron, 22 fertilizaron normalmente (57.9%). Ocho embriones fueron transferidos a 3 receptoras (edad promedio: 40.7 ± 4.7 años) con un promedio de 2.7 ± 1.5 embriones por paciente. En los 3 casos se obtuvo, a los 14 días post-transferencia embrionaria, ensayo de subunidad β- hCG positiva y 5 semanas después

se detectó actividad cardíaca. En Mayo y en Junio de 2009 nacen dos niñas de 3250 y 3408 gramos, respectivamente. El tercer embarazo clínico cursa las 26 semanas de evolución.

Caso 1

Paciente de 39 años de edad que consultó por esterilidad secundaria de 9 años de evolución, con antecedentes de enfermedad genética: un hijo con síndrome de Down [46 XY traslocación (tr) (14; 21) desbalanceada]. El cariotipo de la mujer es 45 XX tr (14; 21q) balanceada, y el hombre es 46 XY. Optaron por ovodonación en agosto de 2008.

Caso 2

Paciente de 37 años con diagnóstico de esterilidad secundaria de 14 años, con factor femenino (ooforectomía derecha por endometriosis y niveles elevados de FSH) y factor masculino (asteno-teratospermia severa). Realizó 3 tratamientos de alta complejidad (ICSI) fallidos. En octubre de 2008 se decidió realizar ovodonación.

Caso 3

Paciente de 43 años con diagnóstico de esterilidad primaria de 2 años de evolución con diagnóstico de falla ovárica prematura. Realizó ovodonación en octubre de 2009.

Tabla 1. Descripción de los casos clínicos.

CASO CLINICO	1	2	3
Edad	39	37	46
Nº ooc. desvitrificados	12	5	17
Nº oocitos viables	10	2	12
Tasa de sobrevida (%)	83.3	40.0	70.6
Nº ooc. MII inyectados	10	2	12
Tasa de fertilización (%)	9/10 (90.0)	1/2 (50.0)	4/12 (33.3)
Fecha de transferencia	01/09/2008	18/10/2008	19/10/2009
Nº embr. transferidos	4	1	3
Calidad embrionaria (*)	8AB, 8B, 8B, 8BC	4BC	7BC, 6BC, 8BC
Valor de bhCG (mUI/ml)	129/610/1410	132/816	135/478
Fecha de nacimiento	01/05/2009	25/06/2009	-
Vía de parto	Cesárea	Vaginal	-
Semanas de gestación	37	38	-
Peso al nacer (gramos)	3250	3408	-
Sexo del nacido vivo	Femenino	Femenino	-
Evolución	Nacido vivo sano	Nacido vivo sano	En curso (26 Sem)

Comentario final

En la actualidad, algunas mujeres postergan el momento de tener hijos ya sea por motivos económicos, sociales o laborales. La vitrificación ovocitaria permitiría detener el reloj biológico y así conservar la calidad de los mismos.

La vitrificación de ovocitos de donantes nos permitiría hacer un aprovechamiento más eficaz de gametas y a su vez evitar el proceso de sincronización donante-receptora. A su vez, habiendo ovocitos de reserva se podría fertilizar un menor número para evitar los embarazos múltiples o la criopreservación de embriones supernumerarios. Por otro lado, se podrían almacenar ovocitos si la paciente deseara tener descendencia de la misma donante a futuro.

Dado que en los últimos años ha mejorado la sobrevida de las pacientes jóvenes que padecen de cáncer resulta de suma importancia proteger su potencial fértil previo a comenzar el tratamiento antineoplásico mediante la vitrificación de sus ovocitos.

Dicha técnica también sería de gran utilidad en los tratamientos en los que pudieran surgir imprevistos, como sería el caso de la imposibilidad de obtención de la muestra seminal el día del

procedimiento; de este modo evitaríamos la pérdida de los ovocitos obtenidos.

Nuestros logros son alentadores; con el aumento de la casuística se podría conocer cual es la verdadera eficiencia de esta metodología de relativamente reciente difusión.

Referencias

1. Quintans CJ, Donaldson MJ, Bertolino MV y col. Birth of two babies using oocytes that were cryopreserved in a choline-based freezing medium *Hum Reprod* 2002;17: 3149-3152.
2. Fabbri R, Porcu E, Marsella T y col. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001;16:441-446.
3. Kuleshova LL, Shaw JM, Trounson AO. Studies on replacing most of the penetrating cryoprotectant by polymers for embryo cryopreservation. *Cryobiology* 2001;43:21-31.
4. Liebermann J, Nawroth F, Isachenko y col. Potential importance of vitrification in reproductive medicine. *Biol Reprod* 2002;67:1671-1680.
5. Vajta G, Kuwayama M. Improving cryopreservation systems. *Theriogenology* 2006;65:236-244.
6. Bianchi V, Coticchio G, Fava L y col. Meiotic spindle imaging in human oocytes frozen with a slow freezing procedure involving high sucrose concentration. *Hum Reprod* 2005;20(4):1078-1083.