

Comparación de la transferencia de 1 o 2 embriones en el día 5 de cultivo

Graciano Tessari, Diego Gnocchi, Marcela Irigoyen, Antonio Cattaneo, Lautaro Tessari, Claudio Ruhlmann

Fertilidad San Isidro. Buenos Aires, Argentina.

Reproducción 2018;33(2):17-21

Resumen

El embarazo múltiple acarrea serios riesgos para la madre y los fetos. El objetivo del presente trabajo fue comparar las tasas de embarazo y nacimiento luego de transferir 1 o 2 embriones de día 5. Se analizaron retrospectivamente 606 transferencias de 1 o 2 embriones de día 5. Fueron incluidos casos de pacientes menores de 39 años, con transferencia en fresco y utilizando semen fresco. Se dividieron en 4 grupos: A (n = 24): único embrión que alcanzó un estadio transferible. B (n = 35): recibieron un embrión seleccionado entre varios que alcanzaron un estadio transferible. C (n = 336): recibieron los 2 únicos embriones que alcanzaron un estadio transferible. D (n = 211): recibieron 2 embriones seleccionados entre varios que alcanzaron un

estadio transferible. Se compararon las tasas de embarazo clínico, implantación, embarazo múltiple y nacimientos. El análisis estadístico fue realizado empleando el test de Kruskal-Wallis y el test exacto de Fisher, según correspondiera. El grupo A y el C presentaron un comportamiento similar en cuanto al número de oocitos recuperados y oocitos maduros, la tasa de fecundación, el desarrollo embrionario en día 5 y la tasa de embarazo clínico e implantación; estas últimas fueron significativamente menores que en los grupos B y D que presentaron resultados similares entre sí. Esto muestra que estos dos últimos grupos están compuestos por pacientes con mejor pronóstico que los grupos A y C. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de nacimientos, pero el grupo D presentó diferencias significativas en los embarazos dobles y únicamente los grupos C y D presentaron embarazos triples. Debido a que la transferencia de 2 blastocistos produce un incremento de los embarazos múltiples sin aumentar las tasas de embarazo, implantación y nacimientos, sería recomendable limitar a 1 el número de embriones a transferir.

Correspondencia: Graciano Tessari
Correo electrónico: gaptessari@gmail.com

Palabras claves. Embarazo múltiple, transferencia de embrión único, transferencia en día 5.

Comparison of the transfer of 1 or 2 embryos on day 5 of culture

Summary

Multiple pregnancies carry risks for mothers and fetuses. The objective of the present work was to compare pregnancy and birth rates after the transfer of 1 or 2 day-5 embryos. Six hundred and six embryo transfers of 1 or 2 day-5 embryos were retrospectively analysed. Inclusion criteria were: women under 39 years, fresh transfers, and procedures using fresh semen. Patients were divided into 4 groups: A (n = 24): the only embryo that reached a transferable state. B (n = 35): one selected embryo among several embryos. C (n = 336): the only two embryos that reached a transferable state. D (n = 211): two selected embryos among several embryos. Pregnancy, implantation, multiple pregnancy and birth rates were evaluated. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Fisher's exact test as appropriate. Groups A and C were similar in number of retrieved and matures oocytes, fertilization rate, day-5 embryo development, pregnancy and implantation rates, these last ones were significantly lower than in groups B and D which presented similar results between them. This shows that this last two groups have patients with better prognosis than groups A and C. There were no significant differences in birth rate, but group D showed significant differences in double pregnancy rate, and only groups C and D had triple pregnancies. As double embryo transfer implies an increase of multiple pregnancies without an increase of pregnancy, implantation and birth rates, single embryo transfer would be recommended.

Key words. *Multiple pregnancies, single embryo transfer, day-5 transfer.*

Introducción

El embarazo múltiple está asociado a un aumento en la morbilidad y mortalidad materna y perinatal y siempre se considera un embarazo de alto riesgo.^{1, 2} En cuanto al feto, se ha reportado un aumento en el índice de malformaciones, sín-

drome transfusor-transfundido, bajo peso al nacer, nacimientos prematuros e inclusive muerte fetal.^{3, 4} Mientras que en la evolución del embarazo se ha observado mayor incidencia de trastornos hipertensivos, desórdenes metabólicos, complicaciones placentarias, trabajo de parto pretérmino y aumento del número de cesáreas.^{3, 4, 5}

Por otra parte, las complicaciones del embarazo múltiple tienen un impacto socioeconómico, debido al aumento en el gasto de salud necesario para su tratamiento.^{6, 7}

Por todo lo expuesto existe una tendencia a disminuir el número de embriones a transferir en los programas de fecundación in vitro.^{8, 9, 10}

El objetivo del presente trabajo fue comparar las tasas de embarazo múltiple luego de transferir 1 o 2 embriones de día 5 en un programa de fecundación in vitro.

Material y métodos

En un programa de un centro privado de Argentina, se realizó el análisis retrospectivo de 606 transferencias consecutivas de 1 o 2 embriones de día 5 realizadas entre los años 2008 y 2014.

Para ser incluidos en este trabajo las pacientes tuvieron que cumplir con los siguientes criterios: edad de la mujer ≤ 39 años, transferencia en ciclo fresco y empleo de semen fresco para realizar la fecundación in vitro.

Todas las pacientes fueron estimuladas con rFSH sola (Gonal-F, Merck-Serono, Alemania; o Puregon, MSD, Holanda) o combinadas con HMG (Menopur, Ferring, Suecia). Se administró una dosis inicial de 300 IU internacionales de gonadotrofinas durante 5 días, ajustándola de acuerdo con la respuesta ovárica. Al alcanzar un diámetro folicular promedio de 14 mm o niveles de estrógenos de 300 pg/ml se administró una dosis diaria de antagonista de GnRh (Cetrotide, Merck-Serono, Alemania) hasta el momento de la descarga folicular. Se administró una dosis simple de 10.000 IU de HCG (Profasi, Merck-Serono, Suiza o Pregnyl, MSD, Holanda) 34-36 h antes de la aspiración folicular. Se administraron 800 mg de progesterona micronizada intravaginal (Progest, Elea, Argentina) para realizar el soporte de la fase lútea.

Cuatro horas después de la aspiración folicular, los oocitos maduros fueron inseminados (FIV convencional o ICSI) en medio GIVF plus (Vitrolife, Suecia). La fecundación fue observada 16-18 h después de la inseminación. Las cigotas fueron cultivadas en medio G1 plus (Vitrolife, Suecia). En el día 3 de cultivo los embriones fueron transferidos a medio G2 plus (Vitrolife, Suecia) hasta el día 5, cuando fueron evaluados y transferidos. Como medio de transferencia se empleó Embryo Glue (Vitrolife, Suecia). Para la evaluación embrionaria se empleó el criterio de clasificación de Gardner y Schoolcraft.¹¹ Los embriones fueron evaluados entre 117-119 h luego de la visualización de los pronúcleos. Los estadios transferidos fueron: mórula compacta (MC), blastocisto en < 50% de expansión (B < 50), blastocisto en > 50% de expansión (B > 50) y blastocisto expandido (BE).

La transferencia embrionaria se realizó empleando un catéter Frydman Ultra-soft (CCD Laboratoires, Francia). El embarazo clínico fue confirmado mediante ecografía transvaginal 28-30 días luego de la transferencia.

Las pacientes fueron divididas en cuatro grupos:

Grupo A (n = 24): pacientes que recibieron el único embrión que alcanzó un estadio transferible en el día 5.

Grupo B (n = 35): pacientes que recibieron 1 embrión seleccionado entre varios que alcanzaron un estadio transferible en día 5.

Grupo C (n = 336): pacientes que recibieron los 2 únicos embriones que alcanzaron un estadio transferible en el día 5.

Grupo D (n = 211): pacientes que recibieron 2 embriones seleccionados entre varios que alcanzaron un estadio transferible en día 5.

Se compararon las tasas de embarazo clínico, implantación, embarazo múltiple y nacimientos entre los grupos.

El análisis estadístico fue realizado empleando el test de Kruskal-Wallis y el test exacto de Fisher, según correspondiera, ambos del programa InStat (GraphPad Software, USA). Valores de $p < 0,05$ fueron considerados significativos.

Resultados

Los 4 grupos fueron comparables en cuanto al promedio de edad y proporción de casos en los que se realizó FIV convencional sobre el total.

El grupo A mostró un mayor número de intentos que los grupos B y D. Los grupos A y C mostraron un menor número de oocitos recuperados y oocitos maduros que el grupo D. Los grupos A y C mostraron una menor tasa de fecundación que los grupos B y D. Los grupos B y D presentaron mayor tasa de llegada a un estadio transferible en día 5 que el grupo C, el cual mostró una tasa mayor que el grupo A (Tabla 1).

Cuando se compara la velocidad de crecimiento de los embriones de día 5 transferidos, se observa que en los grupos A y C se transfirieron significativamente mayor número de embriones tempranos (mórulas y blastocisto en < 50% de expansión) que en los grupos B y D, en los que se transfiere un mayor número de embriones más desarrollados (blastocistos expandidos) (Tabla 2).

Tabla 1. Datos demográficos y clínicos en la comparación de los grupos.

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Número de transferencias	24	35	336	211
Edad promedio	34,0 ± 3,2	32,8 ± 3,7	34,1 ± 3,1	34,2 ± 2,9
Número de intentos	2,9 ± 0,9 a	1,8 ± 0,6 b	2,4 ± 1,2 ab	1,9 ± 0,8 b
Proporción de FIV/ICSI	15/24 (63%)	21/35 (60%)	214/336 (64%)	121/211 (57%)
Oocitos recuperados	11,8 ± 8,9 a	12,7 ± 6,1 ab	11,0 ± 5,6 a	13,7 ± 7,1 b
Oocitos maduros	7,7 ± 4,4 a	9,1 ± 3,7 ab	7,8 ± 3,3 a	10,2 ± 5,1 b
Tasa fecundación	115/167 (69%) a	266/313 (85%) b	1891/2402 (79%) a	1631/1936 (84%) b
Tasa de llegada a estadio transferible en día 5	24/115 (21%) a	159/266 (60%) b	672/1891 (36%) c	1023/1631 (63%) b

(a, b, c) Valores con diferente letra dentro del renglón difieren significativamente ($p < 0,05$).

Tabla 2. Tasa de desarrollo de los embriones transferidos en los diferentes grupos.

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
M	5/24 (21%) a	1/159 (1%) b	179/672 (27%) a	36/1023 (4%) b
B<50%	10/24 (42%) a	26/159 (16%) b	177/672 (26%) a	94/1023 (9%) b
B>50%	4/24 (17%)	26/159 (16%)	152/672 (23%)	221/1023 (22%)
BE	5/24 (21%) a	107/159 (66%) b	164/672 (24%) a	672/1023 (66%) b

M = Mórula; B < 50% = Blastocisto expandido menor al 50%; B > 50% = Blastocisto expandido mayor al 50%; BE = Blastocisto expandido; (a, b) valores con diferente letra dentro del renglón difieren significativamente ($p < 0,05$).

Tabla 3. Tasa de embarazo y nacimiento de los diferentes grupos.

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Tasa de embarazo clínico	8/24 (33%) a	19/35 (54%) ab	143/336 (43%) a	129/211 (61%) b
Tasa de implantación	8/24 (33%) a	22/35 (63%) b	182/672 (27%) a	178/422 (42%) c
Tasa de embarazo múltiple (≥ 2 fetos)	0/24 (0%) a	3/35 (9%) a	37/336 (11%) a	46/211 (22%) b
Tasa de embarazo múltiple (3 fetos)	0/24 (0%)	0/35 (0%)	2/336 (0,6%)	3/211 (1,4%)
Tasa de aborto	1/8 (13%)	2/19 (11%)	29/143 (20%)	24/129 (19%)
Tasa de embarazo ectópico	0/8 (0%)	0/19 (0%)	2/143 (1%)	3/129 (2%)
Tasa de nacimientos	7/24 (29%)	17/35 (49%)	112/336 (33%)	102/211 (48%)

(a, b, c) valores con diferente letra dentro del renglón difieren significativamente ($p < 0,05$).

Los grupos A y C mostraron una tasa de embarazo clínico e implantación menor que los grupos B y D. El grupo D presentó una tasa de embarazo múltiple significativamente mayor que el resto de los grupos. Pese a que no se encontraron diferencias significativas, los grupos en los que se transfirieron dos embriones (C y D) son los únicos que presentaron embarazos triples. Por último, no se encontraron diferencias entre los grupos en la tasa de nacimientos (Tabla 3).

Discusión

Los grupos A y C, en los cuales se transfirieron los únicos embriones de día 5 disponibles, reunieron pacientes con menor respuesta que las de los grupos B y D. Esto se evidenció en el menor número de oocitos totales y oocitos maduros recuperados, y en las tasas más bajas de fecundación llegada al estadio de blastocisto, embarazo clínico e implantación. Por otra parte, en el grupo A y

en el C los embriones transferidos mostraron menor grado de desarrollo, recibiendo un número significativamente mayor de embriones tempranos (mórulas compactas y blastocistos tempranos). Por ello podemos afirmar que el grupo A y el C presentaron un comportamiento similar en cuanto al número de oocitos recuperados y oocitos maduros, la tasa de fecundación, el desarrollo embrionario en día 5, la tasa de embarazo clínico e implantación; estas últimas fueron significativamente menores que en los grupos B y D que presentaron resultados similares entre sí. Por ello podemos afirmar que estos dos últimos grupos están compuestos por pacientes con mejor pronóstico que los grupos A y C.

A pesar de estas dos vertientes de comportamiento entre los 4 grupos, no se encontraron diferencias significativas en la tasa de nacimientos, y es importante recalcar que solo el grupo D (dos embriones de día 5 seleccionados) presentó diferencia significativa en los embarazos dobles y úni-

camente presentaron embarazos triples los grupos en los cuales se transfirieron dos embriones de día 5 (grupos C y D), con las consecuencias que esto implica.

En este punto no podemos soslayar las múltiples ventajas de transferir un único embrión, aunque no siempre es posible llevar adelante esta práctica. En muchas ocasiones la ansiedad de la pareja por lograr el embarazo, la limitación económica para realizar múltiples tratamientos, la búsqueda de aumentar las tasas de éxito en un centro de fertilidad, la mala calidad embrionaria u otros factores particulares llevan al médico tratante a aumentar el número de embriones a transferir en su programa.¹²

Es muy importante resaltar que la mejora en las tasas de éxito experimentada en los últimos cinco años con la criopreservación de embriones ha provisto de una herramienta de gran utilidad para disminuir el número de embriones a transferir. En la actualidad se pueden plantear estrategias de transferencia “fresco-criopreservado” confiando en que los resultados entre ambos tipos de transferencia son similares.

Teniendo en cuenta que, en Argentina, en general, los tratamientos son solventados mayormente por los pacientes, que en ocasiones especiales pueden llegar a recibir un subsidio limitado por parte del Estado o de los seguros médicos, se debe llegar a una solución de compromiso entre la cantidad de embriones a transferir para asegurar una tasa de embarazo aceptable y el riesgo de producir un embarazo múltiple no deseado.^{13, 14}

En la actualidad esto es posible gracias a la evolución de los fármacos empleados para la estimulación ovárica, la mejora de los medios de cultivo embrionarios y la disponibilidad de métodos de criopreservación más eficientes.

Conclusiones

Debido a que la transferencia de 2 blastocistos produce un incremento de los embarazos múltiples sin aumentar las tasas de embarazo, implantación y nacimientos sería recomendable limitar a 1 el número de embriones a transferir. Esto producirá un número menor de embarazos múltiples, disminuyendo las complicaciones en el manejo obstétrico.

A partir de estos resultados, nuestro programa de fecundación in vitro ha adoptado la tendencia a limitar a un embrión la transferencia de día 5 en todos los casos que sea posible.

Se debe realizar la tarea de comunicación a los pacientes de las tasas de éxito y las ventajas de la transferencia de un único embrión.

Referencias

1. Kazemier BM, Buijs PE, Mignini L et al. Impact of obstetric history on the risk of spontaneous preterm birth in singleton and multiple pregnancies: a systematic review. *BJOG* 2014; 121: 1197-1208.
2. Young BC, Wylie BJ. Effects of twin gestation on maternal morbidity. *Semin Perinatol* 2012; 36: 162-168.
3. Blencowe H, Vos T, Lee A et al. Estimates of neonatal morbidities and disabilities at regional and global levels for 2010: introduction, methods overview, and relevant findings from the Global Burden of Disease study. *Pediatr Res* 2013; 74: 4-16.
4. Palmer Dickey R. Strategies to reduce multiple pregnancies due to ovulation stimulation. *Fertil Steril* 2009; 91: 1-17.
5. Reh A, Fino ME, Krey LC et al. Optimizing embryo selection with day 5 transfer. *Fertil Steril* 2010; 93: 609-615.
6. Lemos EV, Zhang D, Van Voorhis BJ et al. Healthcare expenses associated with multiple vs. singleton pregnancies in the United States. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209: 586: e1-11.
7. Russell RB, Green NS, Steiner CA et al. Cost of hospitalization for preterm and low birth weight infants in the United States. *Pediatrics* 2007; 120: e1-9.
8. Forman E, Tao X, Ferry K et al. Single embryo transfer with comprehensive chromosome screening results in improved ongoing pregnancy rates and decreased miscarriage rates; *Hum Reprod* 2012; 27: 1217-1222.
9. Sullivan EA, Wang Y, Hayward I et al. Single embryo transfer reduces the risk of perinatal mortality, a population study. *Hum Reprod* 2012; 27: 3609-3615.
10. Paulson RJ. How do we decide how many embryos are safe for transfer? *Fertil Steril* 2014; 102: 1565-1566.
11. Gardner DK, Lane M, Stevens J et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2000; 73: 1155-1158.
12. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine; Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Guidelines on number of embryos transferred. *Fertil Steril* 2009; 92: 1518-1519.
13. Mullin CM, Fino ME, Talebian S et al. Comparison of pregnancy outcomes in elective single blastocyst transfer versus double blastocyst transfer stratified by age. *Fertil Steril* 2010; 93: 1837-1843.
14. Kazumi T, Seung C, Hidekazu S et al. Impact of single embryo transfer policy on perinatal outcomes in fresh and frozen cycles - Analysis of the Japanese assisted reproduction technology registry between 2007 and 2012. *Fertil Steril* 2016; 105: 337-346.