

Trabajo Original

Vitrificación de ovocitos en preservación de la fertilidad. La nueva tendencia

Oocyte vitrification in fertility preservation. The new trend

P. Nicotra Perssi*, A. Coscia, F. Ugozzoli Llugdar, V. Cerisola, S. Kopelman

Centro de Estudios en Genética y Reproducción, CEGyR, Buenos Aires, Argentina

E-mail*: pnicotra@cegyr.com

Resumen

Objetivos: describir el total de tratamientos de criopreservación de ovocitos por técnica de vitrificación realizados en CEGyR desde 2008 hasta la actualidad. Determinar causas, edad, ovocitos aspirados y ovocitos vitrificados de las pacientes que realizaron la técnica.

Diseño: descriptivo, retrospectivo.

Materiales y métodos: se analizaron las historias clínicas de todas las pacientes que realizaron criopreservación de ovocitos por técnica de vitrificación desde noviembre de 2008 a junio de 2014 en CEGyR. Se excluyeron aquellas que no recuperaron ovocitos metafase II (MII) luego de la aspiración folicular.

Resultados: se realizaron 145 tratamientos de criopreservación de ovocitos por técnica de vitrificación. Las causas que motivaron a realizar los tratamientos fueron: el 75,1% por maternidad diferida; el 16,5% por causas oncológicas; el 4,8% por incapacidad masculina de obtener la muestra de semen; el 2,7% por ovocitos remanentes de un ICSI, y el 0,6% por riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica. El promedio de edad encontrado fue de 36,6 años. El número promedio de ovocitos aspirados y vitrificados por paciente fue de 11,2 (1-48 ovocitos) y 8,2 (1-25 ovocitos MII), respectivamente.

Conclusiones: determinamos que la causa más frecuente de vitrificación de ovocitos en nuestra Institución fue electiva, motivada por el deseo de postergar la maternidad. Segunda en frecuencia fue la vitrificación por razones oncológicas, que asumimos se vio incrementada en el último año debido a la concientización de oncólogos y pacientes, y al éxito de los tratamientos oncológicos en aumentar la sobrevida.

Palabras clave: criopreservación, vitrificación, ovocitos.

Abstract

Objectives: To describe number of cases of oocyte cryopreservation per vitrification technique in CEGyR since 2008 to the present. To determine cause, age, aspirated oocytes and vitrified oocytes per patient.

Design: Retrospective descriptive.

Materials and methods: We analysed medical

records. All the patients undergoing oocyte cryopreservation by vitrification technique from November 2008 to June 2014 at our institution were included. We excluded those who did not recover oocytes metaphase II (MII) after follicular aspiration.

Results: 145 cases of oocyte cryopreservation by vitrification were performed. Among the causes for which cryopreservation was performed 75.1% deferred maternity, oncology causes 16.5%, 4.8% for male inability to obtain the semen sample, 2.7% remnants of ICSI oocytes, and 0.6% risk of hyperstimulation ovarian syndrome. The average age was 36.6 years. The average number of aspirated oocytes and vitrified per patient was 11.3 (1-48 oocytes) and 8.2 (1-25 MII oocytes) respectively.

Conclusions: We determined that the most common cause of oocyte vitrification in our institution was elective, motivated by the desire to delay childbearing. Second in frequency was vitrification for oncological reasons; we assume that this indication increased in the last year due to the awareness of oncologists and patients, and due to the success in increasing survival of oncology treatments.

Keywords: cryopreservation, oocyte, vitrification.

Introducción

La preservación de la fertilidad es un área emergente y de gran crecimiento en Medicina Reproductiva, la cual interviene en la conservación de gametas, embriones o tejido ovárico, para proteger el potencial reproductivo en mujeres que por diferentes causas lo requieran (1).

La criopreservación es el proceso mediante el cual células o tejidos son congelados a temperaturas bajo cero grado. De esta manera pueden congelarse células por tiempo indefinido preservando las estructuras biológicas y llevando el metabolismo a un estado latente.

El fundamento de esta técnica data desde principios de la civilización. Sin embargo, su aplicación no se hizo realidad hasta mediados del siglo XX, cuando con el descubrimiento de los crioprotectores en la dé-

cada de los cuarenta se logró minimizar el daño espermático. La técnica utilizada en un primer momento fue la congelación lenta, con la cual tanto la supervivencia ovocitaria como las tasas de fertilización y las tasas de embarazo eran bajas; la principal desventaja era el daño que ocasionaba en las células la formación de cristales de hielo (2). Durante los últimos años, los protocolos de criopreservación de embriones y ovocitos evolucionaron hacia la vitrificación, una alternativa rápida y simple descripta por Rall y Fahy en 1985 (3).

El fundamento de la vitrificación consiste en someter a las células a soluciones altamente concentradas en solutos, de manera que se favorezca la deshidratación de la célula y el ingreso del crioprotector antes de que el proceso de congelación se haya iniciado. Los crioprotectores pasan de un estado líquido a otro no estructurado, conocido como estado vítreo. Para lograr el estado vítreo, además de elevar la viscosidad de la solución, se requiere alta velocidad de enfriamiento de -15.000 a -30.000 °C por minuto. Las células son deshidratadas en pocos minutos (un máximo de 15 minutos) y luego transferidas en un volumen mínimo de medio (menor $0,1$ u/l) desde la temperatura ambiente directamente a -196 °C del nitrógeno líquido. Este proceso, a diferencia del congelamiento lento, es ultrarrápido y no requiere de sofisticados equipos para un descenso programado de la temperatura. Kuwayama fue quien perfeccionó la técnica de vitrificación por Cryotop y revolucionó los principios del congelamiento (4).

La introducción de la vitrificación de ovocitos en los tratamientos de reproducción asistida se ha establecido como un método válido con resultados similares a los obtenidos con ovocitos en frescos (5,6). De esta manera se abre un amplio campo de acción, donde las principales aplicaciones de la técnica se dirigen a mujeres que postergan su maternidad, a pacientes oncológicas que requieran tratamiento quimio o radioterápico, y a aquellas que por alguna condición médica puedan desarrollar una falla ovárica prematura (1).

Objetivos

El objetivo de este trabajo es describir el total de tratamientos de criopreservación de ovocitos por técnica de vitrificación en CEGyR desde 2008 hasta la actualidad.

Determinar causas, edad, ovocitos aspirados y ovocitos vitrificados de las pacientes que realizaron la técnica.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo, donde se incluyeron todas las pacientes que realizaron criopreservación de ovocitos por técnica de vitrificación

desde noviembre de 2008 hasta junio de 2014 en nuestra institución, CEGyR.

Se excluyeron aquellas que no recuperaron ovocitos metafase II (MII) luego de la aspiración folicular.

III: ovocitos donde se evidenció salida del primer corpúsculo polar.

Resultados

Se incluyeron 145 pacientes, que corresponden al 2,5% del total de tratamientos de alta complejidad que se realizan en nuestra institución durante ese período de tiempo. El promedio de edad de las pacientes fue de 36,6 años (23-43 años). El número promedio de ovocitos aspirados y vitrificados por paciente fue de 11,3 (1-48 ovocitos) y 8,2 (1-25 ovocitos MII), respectivamente.

Dentro de las causas de criopreservación, el 75,1% se realizó por maternidad diferida (109 pacientes); el 16,5% por causas oncológicas (24 pacientes); el 4,8% por incapacidad masculina de obtener la muestra de semen (7 pacientes); el 2,7% por ovocitos remanentes de un ICSI (4 pacientes), y el 0,6% (1 paciente) por riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (**GRÁFICO 1**).

En el último año se realizó el 34% del total de los procedimientos de preservación de la fertilidad, y el 55% de los tratamientos de criopreservación por causa oncológica.

Discusión

La criopreservación es un método que se utiliza para proteger el potencial reproductivo de mujeres en edad fértil. Es un proceso mediante el cual las células o tejidos son congelados a muy bajas temperaturas para disminuir sus funciones vitales y poder mantenerlos en estas condiciones hasta su futuro uso.

En 1953 se reportó el primer nacimiento con espermatozoides congelados (7) y en 1986, el primer nacido vivo de ovocitos criopreservados (8).

Existen pocos trabajos controlados aleatorizados en la literatura que comparen resultados clínicos de ciclos FIV/ICSI con ovocitos frescos *versus* vitrificados (5,9-12).

La tasa de sobrevivencia posdescongelación reportada es del 90-97%; la tasa de fertilización, del 71-79%; la tasa de implantación, del 17-41%; la tasa de embarazo clínico por transferencia, del 36-61% y la tasa de embarazo clínico por ciclo del 4,5 y 12%. Si bien los autores no encontraron diferencias significativas respecto a la utilización de ovocitos frescos en ciclos de FIV/ICSI de pacientes jóvenes, los resultados no pueden extrapolarse a la población general por su limitado número.

Es útil en estos casos tener en cuenta los resultados de estudios observacionales. El trabajo de mayor

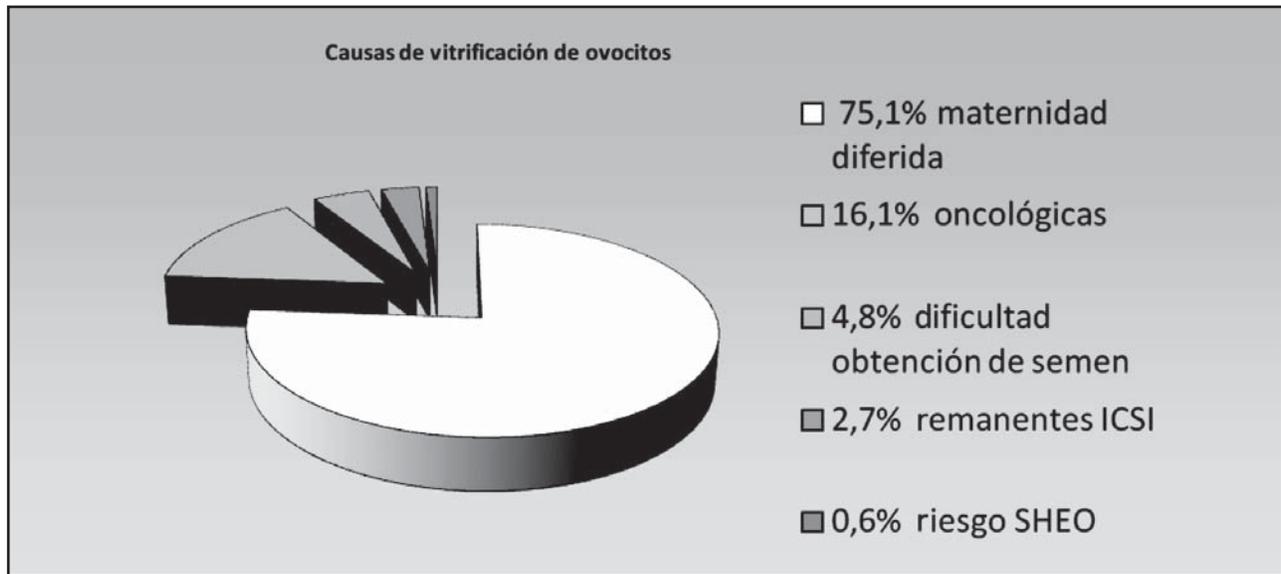


FIGURA 1. Causas de congelación de ovocitos por técnicas de vitrificación.

tamaño muestral, publicado por Borini (13), que utilizó protocolo de congelación lenta, demostró tasas de éxito significativamente superiores utilizando ovocitos frescos respecto a los congelados. La tasa de sobrevida fue del 55,8%; la tasa de fertilización, del 72,5% vs. 78,3%; la tasa de implantación del 10,1% vs. 15,4%; la tasa de embarazo clínico por transferencia, del 17% vs. 17,9% y la tasa de recién nacido vivo por transferencia, del 11,6% y 21,6%.

Es indispensable asesorar sobre el impacto de la edad en el éxito del procedimiento. Los resultados de criopreservación de ovocitos tanto por congelación lenta como por vitrificación declinan con el paso de los años. Por lo tanto, la edad es un dato de suma importancia para tener en cuenta en el momento del asesoramiento a la paciente que consulta por preservación de fertilidad. El punto de corte superior como límite para realizar la vitrificación de ovocitos es un tema de amplia controversia en la literatura y en las diferentes sociedades científicas en el mundo. Tanto la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) como la Europea (ESHRE) (14) toman como límite más adecuado los 38 años de edad, asegurando un buen resultado reproductivo. Otros autores (15) opinan que no se debería poner una edad como límite superior, ya que se ha demostrado que hasta los 42 años se han logrado nacidos vivos con el descongelamiento de ovocitos, sin embargo, estos mismos autores publican que la edad de 36 años es la que representa la tasa de embarazo más razonable. En nuestro trabajo la edad de las pacientes muchas veces excede lo recomendado internacionalmente.

Con respecto al tiempo de almacenamiento y su efecto en la sobrevida ovocitaria la literatura aún es limitada. Existe solo un estudio que no muestra diferencias

significativas en sobrevida, fertilización, clivaje, calidad embrionaria, implantación y tasa de recién nacido vivo luego de 4 años de almacenamiento (16).

Concordante con los datos publicados, las indicaciones médicas más frecuentes en nuestro estudio para la utilización de la técnica fueron: maternidad diferida (13); causas oncológicas (17); dificultad masculina en la obtención de la muestra de semen (18) y objeción en la criopreservación de embriones en estímulos con ovocitos excedentes (12). En cuanto a la vitrificación de ovocitos en pacientes oncológicas, esta representa una de las mejores opciones de preservación de fertilidad disponibles en la actualidad, siempre que la condición clínica de la paciente, el tiempo para iniciar el tratamiento oncológico y la reserva ovárica lo permitan (18).

Se estima que más del 10% de los cánceres se diagnostican en pacientes menores de 40 años de edad; este dato, asociado a la tendencia mundial de postergar la maternidad, da como resultado que muchas de estas pacientes no tengan hijos o aún no hayan completado sus deseos reproductivos. Por lo tanto, como se observa en el presente estudio, la vitrificación de ovocitos en pacientes oncológicas representa una de las principales indicaciones en nuestros días.

La criopreservación de ovocitos ha dejado de ser una técnica experimental con tasas de implantación y embarazo muy satisfactorias, pero se debe reconocer que las tasas de éxito no pueden extrapolarse a toda la población y cada institución debería realizar un asesoramiento individual a sus pacientes según sus limitaciones y condiciones clínicas particulares. Los mejores resultados se obtienen en población de donantes y en parejas infértiles por factor masculino. Es demasiado pronto para obtener conclusiones acerca de la incidencia de

riesgos de anomalías en el desarrollo de la descendencia. Futuros estudios aclararán dudas aún presentes.

Conclusiones

La vitrificación de ovocitos es la técnica actualmente utilizada para la preservación de la fertilidad. Tras la realización de 145 ciclos en los últimos seis años, determinamos que la causa más frecuente de vitrificación en la institución fue electiva, motivada por el deseo en las pacientes de postergar su maternidad. Segunda en frecuencia fue la vitrificación por razones oncológicas, que asumimos se vio incrementada en el último año debido a la concientización de oncólogos y pacientes, y al éxito de los tratamientos oncológicos en aumentar la sobrevida.

Acorde con las últimas publicaciones, no disponemos aún de suficiente información sobre embarazos logrados con ovocitos vitrificados, ya que pocas pacientes regresaron para realizar tratamientos con sus óvulos.

A pesar de lo recomendado por las diferentes Sociedades Científicas con respecto a la edad límite sugerida para congelar, existe en nuestra población el 33,7% de pacientes que superaron los 38 años de edad.

El aumento exponencial en los últimos meses sugiere un futuro prometedor de esta técnica.

Referencias

1. Cobo A, Garcia-Velasco J, Domingo J, Remohi J, Pellicer A. Is vitrification of oocytes useful for fertility preservation for age-related fertility decline and in cancer patients? *Fertil Steril*. 2013;99(6):1485-94.
2. The Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. *Fertil Steril*. 2013;99(1):37-42.
3. Rall WF, et al. Ice free cryopreservation of mouse embryos at -196 C by vitrification. *Nature*. 1985;313:571-75.
4. Kuwayama M, et al. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocyte. *Reprod Biomed Online*. 2005;11(3):300-8.
5. Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril*. 2011;96:227-85.
6. Antinori M, et al. Cryotop vitrification of human oocyte results in high survival rate and healthy deliveries. *Reproductive Biomedicine Online*. 2007;14:72-9.
7. Sherman J. Synopsis of the use of frozen human semen since 1964: state of the art of human semen banking. *Fertil Steril*. 1973;24:397-412.
8. First baby born of frozen embryo. *New York Times*; April 11, 1984.
9. Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, Cuomo S, Ciampaglia W, Infante FE, et al. Efficiency of aseptic open vitrification and hermetical cryostorage of human oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2011;23:505-12.
10. Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohi J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril*. 2008;89:1657-64.
11. Rienzi L, Romano S, Albricci L, Maggiulli R, Capalbo A, Baroni E, et al. Embryo development of fresh 'versus' vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. *Hum Reprod*. 2010;25:66-73.
12. Cobo A, Meseguer M, Remohi J, Pellicer A. Use of cryo-banked oocytes in an ovum donation programme: a prospective, randomized, controlled, clinical trial. *Hum Reprod*. 2010;25:2239-46.
13. Borini A, Levi Setti PE, Anserini P, De Luca R, De Santis L, Porcu E, et al. Multicenter observational study on slow-cooling oocyte cryopreservation: clinical outcome. *Fertil Steril*. 2010;94:1662-8.
14. ESHRE Task Force on Ethics and Law, Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, Tarlatzis B, Barri P, Diedrich K. Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. *Hum Reprod*. 2012;27(5):1231-7.
15. Cil AP, Bang H, Oktay K. Age-specific probability of live birth with oocyte cryopreservation: an individual patient data meta-analysis. *Fertil Steril*. 2013;100(2):492-9.
16. Parmegiani L, Garello C, Granella F, Guidetti D, Bernardi S, Cognigni GE, et al. Long-term cryostorage does not adversely affect the outcome of oocyte thawing cycles. *Reprod Biomed Online*. 2009;19:374-9.
17. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol*. 2006;24:2917-31.
18. Virant-Klun I, Bacer-Kermavner L, Tomazevic T, Vrtacnik-Bokal E. Slow oocyte freezing and thawing in couples with no sperm or an insufficient number of sperm on the day of in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9:19.