

## GESTACIONES CON EMBRIONES CONGELADOS

Dolors Company, Pilar Martín, Silvia Menéndez, Alfons Vergés  
Teresa Draper, Simón Marina, Lluís Gil-Vernet.

Instituto de Reproducción CEFER.  
c/ Lázaro Cárdenas 2,bis 08021 BARCELONA

### Introducción:

Cada vez son más los grupos que trabajan en fecundación in vitro ( F I V ) que ponen a punto la técnica de congelación de embriones ya que son numerosas las ventajas que reporta.

La congelación de embriones es una técnica reciente. El primero que obtuvo resultados satisfactorios fue Whittingham en 1972 trabajando con embriones de ratón. En humanos, hubo que esperar hasta 1983 para conseguir el primer embarazo. Hoy en día son ya muchos los niños nacidos a partir de un embrión congelado.

La técnica es muy útil en un programa de FIV-TE por varias razones:

1- Permite transferir 2 o 3 embriones en fresco y mantener el resto para transferencias en ciclos posteriores aumentando de esta forma la probabilidad de embarazo.

2- Permite aplazar la transferencia ( T E ) si después de la laparoscopia se observa alguna anomalía en útero que impide la T E ( caso de un mioma, por ejemplo )

3- Facilita los casos en que hay donación de ovocitos o embriones ya que evita tener que sincronizar el ciclo menstrual de la donante y la receptora y facilita el anonimato.

En este trabajo se hace referencia a los resultados obtenidos en nuestro instituto tras la congelación-descongelación de embriones humanos.

#### Material y métodos:

Desde diciembre - 1987 hasta diciembre - 1988 se congelaron 54 embriones obtenidos tras un ciclo de de FIV-TE. Estos ciclos fueron estimulados con Buseriline y Fsh pura. De los embriones obtenidos se transfirieron 2 ó 3 en fresco y se congelaron los restantes en el estadio de 2 pronúcleos ( P N ) siguiendo la técnica descrita por Lassalle ( Lassalle et al. 1985 ) que utiliza el 1,2 propanodiol ( P R O H ) y la sacarosa como medio crioprotector .

Básicamente, la técnica de Lassalle, se basa en una serie de pases a través de unos medios de cultivo que contienen cantidades crecientes de PROH y sacarosa y cuya misión es que el medio crioprotector penetre en la célula.

El envasado se realiza en pajuelas de cloruro de polivinilo de 0.5 ml de capacidad.

La congelación se realiza con un Planer Kryo 10 - 1.7 con autoseeder AS-ID alimentado con nitrógeno líquido (N<sub>2</sub> L) El descenso de la temperatura se hace de forma lenta a razón de -0.3º C por minuto de -7º C hasta -30º C. A partir de -30º C la temperatura empieza a disminuir más rápidamente (a razón de -50º C por minuto ) hasta llegar a -80º C momento en que se sumergen en N<sub>2</sub> L donde son almacenados.

El intervalo medio entre congelación y descongelación fue de  $3 \pm 1.6$  meses .

La transferencia se llevó a cabo tras un ciclo espontá-

neo monitorizado por ecografía y por determinaciones de LH urinaria por RIA. La transferencia se programó para 84 horas después de haberse detectado el pico de LH.

24 horas antes de la T E se procedió a la descongelación de los embriones utilizando, también para ello, la técnica de Lassalle ya citada, que consiste en una serie de pases a través de unos medios que contienen cantidades decrecientes de medio crioprotector ( PROH y sacarosa ) con el fin de eliminarlo. Una vez descongelados los embriones se dejaron incubar en Ham - F 10 suplementado con un 15 % de suero materno, a la temperatura de 37º C y atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub> en aire.

Se utilizó como criterio de supervivencia el que el embrión se hubiera dividido.

Antes de la transferencia los embriones fueron clasificados atendiendo a su morfología:

  categoría 1: embriones con blastómeros regulares y sin fragmentos citoplasmáticos.

  categoría 2: blastómeros regulares y algún fragmento citoplasmático.

  categoría 3: blastómeros irregulares; no fragmentos citoplasmáticos.

  categoría 4: blastómeros irregulares con fragmentos citoplasmáticos.

#### Resultados:

Desde diciembre - 1987 a diciembre - 1988 se descongelaron 31 embriones pertenecientes a 16 pacientes.

Tras 24 horas de incubación se observó que la división celular se había producido en 28 de los 31 embriones descongelados ( tasa de sobrevivencia embrionaria: 90.3 % )

En la tabla 1 se muestra el estadio en que se encontraban los embriones en el momento de la T E :

	2 cel.	3 cel.	4 cel.	6 cel.	8 cel.	total
nº de embriones	16	3	7	1	1	28
	(57.1%)	(10.7%)	(25%)	(3.6%)	(3.6%)	(100%)

Tabla 1

En la tabla 2 se encuentra la categoría a la que pertenecían dichos embriones en el momento de la T E:

	C 1	C 2	C 3	C 4	TOTAL
nº embriones	11	11	1	5	28
	(39.3%)	(39.3%)	(3.6%)	(17.9%)	(100%)

Tabla 2

El número de T E realizadas fue de 16. El número de embriones transferidos por T E varía de 1 a 3 ( tabla 3 )

	1 E	2 E	3 E	total
nº transferencias	4	9	3	16
	(25%)	(56.25%)	(18.75%)	(100%)

Tabla 3

De las 16 TE se obtuvieron 4 embarazos ( 25 % T E ) dos de ellos por T E doble y los otros dos por T E triple.

Uno de los 4 embarazos dió lugar, en marzo - 1989, al nacimiento de una niña sana. Otro resultó en aborto tras 3 meses de gestación y los otros dos embarazos están todavía en curso.

#### Discusión:

La técnica descrita de congelación de embriones da una tasa elevada de sobrevivencia ( 90.2 % ) y una tasa de gestación similar a la obtenida con T E de embriones que no han sido congelados ( 25 % )

La ventaja de la congelación de embriones en estadios muy tempranos ( 14 - 20 horas post-inseminación ) es que hace innecesario el cultivo prolongado de los embriones evitando el riesgo de contaminación que esto implica.

La técnica utilizada es una técnica sencilla con la que se obtienen muy buenos resultados.

Dado que la tasa de gestación es similar a la obtenida con la T E de embriones en fresco, hace que sea una técnica imprescindible en un programa de F I V - T E por las numerosas ventajas que comporta.

#### Bibliografía:

1. LASSALLE et al.(1985) . Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1.2 propanediol . Fert. and Ster. vol 44, nº 5 . Nov 1985.

2. TESTART et al. (1986) . High pregnancy rate after early human embryo freezing . Fert. and Ster. vol 46, nº2 agosto 1986.

La técnica descrita de congelación de embriones de una fase elevada de supervivencia ( 90.2 % ) y una tasa de gestación similar a la obtenida con I.E. de embriones que no han sufrido congelación ( 75.2 % ) al estar en el

Disposición:	1	7	3	41
	(75.2%)	(85.7%)	(87.0%)	(81.7%)

La técnica utilizada es una técnica sencilla que permite obtener muy buenos resultados ( 85.7 % ) . Dado que la tasa de gestación es similar a la obtenida con I.E. de embriones en fresco, hace que sea muy aconsejable en un programa de F.I.V. - T.E. por las numerosas ventajas que comporta.

La técnica utilizada es una técnica sencilla que permite obtener muy buenos resultados ( 85.7 % ) . Dado que la tasa de gestación es similar a la obtenida con I.E. de embriones en fresco, hace que sea muy aconsejable en un programa de F.I.V. - T.E. por las numerosas ventajas que comporta.

1	7	3	41
(75.2%)	(85.7%)	(87.0%)	(81.7%)

La técnica utilizada es una técnica sencilla que permite obtener muy buenos resultados ( 85.7 % ) . Dado que la tasa de gestación es similar a la obtenida con I.E. de embriones en fresco, hace que sea muy aconsejable en un programa de F.I.V. - T.E. por las numerosas ventajas que comporta.

1	7	3	41
(75.2%)	(85.7%)	(87.0%)	(81.7%)

La técnica utilizada es una técnica sencilla que permite obtener muy buenos resultados ( 85.7 % ) . Dado que la tasa de gestación es similar a la obtenida con I.E. de embriones en fresco, hace que sea muy aconsejable en un programa de F.I.V. - T.E. por las numerosas ventajas que comporta.