



## Eclosión asistida en pacientes mayores de 34 años. Experiencia del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE

Jesús Daniel Moreno García,\* Juan Enrique González Becerra,\*\* Miguel Ángel Regalado Hernández\*\*\*

### RESUMEN

**Antecedentes:** la eclosión asistida es un procedimiento que se dio a conocer en 1989 y que intenta adelgazar o perforar la zona pelúcida. Los reportes iniciales mostraron una mejoría importante en las tasas de implantación.

**Objetivo:** determinar la eclosión asistida es un procedimiento que se dio a conocer en 1989 y que intenta adelgazar o perforar la zona pelúcida. Los reportes iniciales mostraron una mejoría importante en las tasas de implantación. La tasa de embarazo con eclosión asistida bioquímica en pacientes mayores de 34 años de edad.

**Pacientes y método:** estudio retrospectivo y descriptivo al que se incluyeron 34 pacientes del servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE, mayores de 34 años de edad, que aceptaron la eclosión asistida con ácido tyrode a embriones en el día tres del desarrollo.

**Resultados:** se incluyeron 34 pacientes de  $38.6 \pm 4.7$  años de edad. Las concentraciones de hormona folículo estimulante al inicio del ciclo de estimulación fueron de  $9.2 \pm 5$  UI/L y de folículos antrales de  $6.7 \pm 5.1$ . Se realizó transferencia embrionaria a las 34 pacientes y la tasa de embarazo fue de 32.4% (11 de 34 pacientes).

**Conclusiones:** el estudio reportó una tasa de embarazo de 32.4%. Se requieren aún más ensayos clínicos controlados con asignación al azar para determinar la eficacia de la técnica.

**Palabras clave:** eclosión asistida, ácido tyrode, embrión, zona pelúcida.

### ABSTRACT

#### Background:

**Objective:** To determine the pregnancy rate with assisted biochemical hatching in patients older than age 34 years.

**Patients and method:** Case report. Human Reproduction Service of the Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE. Patients older than 34 years who agreed to assisted hatching with acidic Tyrode's solution. Assisted hatching with acidic Tyrode's solution to embryos on their 3<sup>rd</sup> day of development.

**Results:** We included 34 patients aged  $38.6 \pm 4.7$  years, follicle stimulating hormone to initiate the cycle of stimulation of  $9.2 \pm 5$  IU / L, antral follicles  $6.7 \pm 5.1$ . Embryo transfer was performed on 34 patients, presenting a pregnancy rate of 32.4% (11 of 34 patients).

**Conclusions:** The study showed a pregnancy rate of 32.4%. It requires a randomized controlled trial to determine efficacy of this technique.

**Key words:** assisted hatching, acidic Tyrode's solution, embryo, pellucid zone.

\* Médico ginecoobstetra, biólogo de la reproducción. Jefe de servicio de Reproducción Humana.

\*\* Médico ginecoobstetra, biólogo de la reproducción. Estudiante de la Maestría en Ciencias Médicas.

\*\*\* Biólogo-embriólogo. Laboratorio de Gametos Centro Medico Nacional 20 De Noviembre, ISSSTE.

Correspondencia: Dr. Jesús Daniel Moreno García. Servicio de Reproducción Humana. Av. Félix Cuevas 540, colonia Del Valle, México 03229, DF. Correo electrónico: morenoda@prodigy.net.mx  
Recibido: noviembre 2011. Aceptado: enero 2012.

Este artículo debe citarse como: Moreno-García JD, González-Becerra JE, Regalado-Hernández MA. Eclosión asistida en pacientes mayores de 34 años. Experiencia del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE. Rev Mex Reprod 2012;4(3):116-119.

**L**a transferencia de embriones fertilizados al útero sigue siendo un paso fundamental para el éxito de las técnicas de reproducción asistida. Se cree que el cultivo *in vitro* de embriones puede endurecer las glicoproteínas que componen la zona pelúcida, impidiendo la eclosión del embrión y, en consecuencia, la implantación.

La eclosión asistida es un procedimiento que se dio a conocer en 1989 y que intenta adelgazar o perforar la zona pelúcida. Los reportes iniciales mostraron una mejoría importante en las tasas de implantación.<sup>1</sup>

Desde la perspectiva fisiológica, la eclosión asistida puede incrementar la comunicación entre el embrión y el endometrio, circunstancia que se traduce en mejor

capacidad de implantación, con mejoría de las tasas de embarazo. Al parecer, la falla de la eclosión del embrión puede ser una de las razones que disminuyen la eficacia de un ciclo de reproducción asistida.<sup>2,3</sup>

En múltiples investigaciones se ha propuesto que la eclosión asistida incrementa las tasas de embarazo.<sup>1,4-7</sup> Incluso, una revisión sistemática demostró que la tasa de embarazo pasó de 29 a 49%.<sup>8</sup> El objetivo de este estudio es comunicar la experiencia del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre en la eclosión asistida en pacientes mayores de 34 años de edad.

## PACIENTES Y METODO

Estudio retrospectivo y descriptivo al que se incluyeron 34 pacientes que cumplieron con los siguientes criterios de selección:

- a) *Inclusión*: pacientes aptas para recibir técnicas de reproducción asistida, como fertilización *in vitro* o inyección intracitoplasmática de espermatozoides, de 35 o más años de edad.
- b) *Exclusión*: rechazo a la eclosión asistida, pacientes que al momento de la eclosión asistida se cancele la transferencia de embriones por pobre desarrollo endometrial.

### Técnica de eclosión asistida bioquímica

Se realizó en el día tres del desarrollo embrionario mediante la siguiente técnica: en una caja de Petri de 60 mm se colocó una gota de 20  $\mu$ L de ácido de tyrode, lo suficientemente alejada de ellas se colocaron dos gotas de HTF Hepes (*in vitro care*) en el que se dispusieron los embriones; posteriormente, la caja se cubrió con 10 mL de parafina líquida (Vitrolife). El proceso se realiza en un microscopio invertido Olympus modelo IX71 a 40 aumentos, que tiene acoplado un sistema de micromanipulación (Narishige, Japón). El microscopio está equipado con una placa térmica (Tokai-Hit, Japón) para evitar cambios en la temperatura durante el procedimiento. Cuando el embrión ya está en la caja, bajo el microscopio, con la ayuda de un micromanipulador se introduce la pipeta de AHA en la microgota de ácido tyrode y se aspira. El embrión se sujeta con una pipeta de Holding (Humagen), y para la realización del orificio en la zona pelúcida se expulsa el

ácido tyrode contenido en la micropipeta de eclosión asistida (Humagen); de manera simultánea se presiona levemente en la zona pelúcida. Cuando se rompe por completo la parte interna de la zona pelúcida (20  $\mu$ m aproximadamente), se comienza a aspirar el medio para retirar la mayor parte del ácido. Enseguida de la eclosión asistida se lava el embrión con HTF Hepes y, posteriormente, se coloca en un medio de cultivo para su posterior transferencia. (Figura 1) Al favorecer la rotura de la zona pelúcida se favorece la extrusión del embrión. (Figura 2)

El análisis descriptivo se efectuó con medidas de tendencia central, con media y desviación estándar, mediana, mínimos y máximos, según el tipo de distribución de las variables normales o anormales.



Figura 1. Fijación del embrión para aplicación del ácido tyrode.

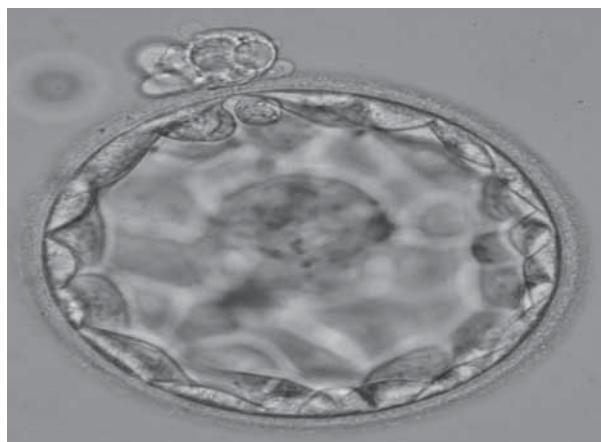


Figura 2. Extrusión del embrión de la zona pelúcida.

## RESULTADOS

En el Cuadro 1 se resumen las características basales de las pacientes y la edad de sus parejas. Se incluyeron 34 pacientes, todas con al menos un factor de riesgo para pobre respuesta: edad mayor de 34 años, FSH mayor de 10 (UI/L), estradiol menor de 25 o mayor de 75 ng/dL.

La eclosión asistida se realizó en el día 3 del desarrollo embrionario y se contó, al menos, con un embrión no arrestado para realizar el procedimiento. En el Cuadro 2 se observa la respuesta a la estimulación ovárica.

La tasa de embarazo en este grupo de pacientes fue de 32.4% (11 de 34 pacientes).

## DISCUSIÓN

En los programas de reproducción asistida se propone a la eclosión asistida como algo benéfico, sobre todo en caso de embriones con zona pelúcida gruesa o densa. Una zona pelúcida con esas características puede asociarse con edad materna avanzada<sup>3</sup> o pobre calidad embrionaria.<sup>9</sup>

Huai L. Feng<sup>10</sup> reportó una tasa de embarazo de 46% (23 de 50 pacientes) en pacientes de  $35 \pm 2.1$  años de edad. Nosotros obtuvimos menor tasa de embarazo

(32.4%) pero la media de edad de las pacientes fue mayor ( $38.56 \pm 4.7$ ). Yao-Yuan y su grupo<sup>11</sup> también realizaron eclosión asistida con ácido tyrode en pacientes de  $39.9 \pm 1.2$  años de edad y reportaron una tasa de embarazo de 16.1% (9 de 56 pacientes).

Magli y su grupo efectuaron un estudio en mujeres mayores de 38 años de edad o con tres o más ciclos fallidos, o ambas situaciones, e hizo eclosión con ácido tyrode; la tasa de embarazo conseguida fue de 33%.<sup>12</sup>

Una de las complicaciones publicadas es el riesgo de tener gemelos monocigotos.<sup>13</sup> En nuestra serie de casos no hubo ningún embarazo gemelar.

Otro riesgo relacionado con la eclosión asistida es el incremento en la incidencia de embarazo ectópico.<sup>14</sup> Quizá debido a que se trató de una serie pequeña de casos no se registró ningúnx embarazo ectópico.

En nuestro servicio, la tasa de embarazo mediante fertilización *in vitro* en mujeres mayores de 34 años es de 15% sin eclosión asistida. Este estudio fue útil para determinar el tamaño de muestra si se desea realizar un ensayo clínico controlado y aleatorio. Al utilizar la fórmula de comparación de dos proporciones se obtuvo un tamaño muestral de 65 pacientes en el grupo de intervención (eclosión asistida) y 65 pacientes en el grupo control (sin eclosión asistida) para obtener significación de 0.05 y un poder de .8.

**Cuadro 1.** Características al inicio de la estimulación ovárica

Variable	Número de pacientes	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
Edad del hombre (años)	34	37.7	35	43	2.3
Edad de la mujer (años)	34	38.6	35	49	4.7
Folículos antrales basales	34	6.7	1	21	5.1
FSH basal (UI/L)	34	9.2	2	23	5
LH basal (UI/L)	34	3.4	1	11	2.1
E <sub>2</sub> basal (ng/dl)	34	46.8	20	122	25.4
Prolactina basal (ng/dl)	34	12.55	1	24	5.5

**Cuadro 2.** Respuesta a la estimulación ovárica

Variable	Número de pacientes	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
Ovocitos capturados	34	4.4	1	15	3.3
Ovocitos fertilizados	34	3	1	10	2.1
Embriones transferidos	34	1.9	1	4	.9

## CONCLUSIONES

En esta serie de casos la tasa de embarazo fue de 32.4%. Hace falta realizar un ensayo clínico para evaluar la eficacia y llegar a conclusiones sólidas.

## REFERENCIAS

1. Cohen J. Assisted hatching of human embryos. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1991;8:179-190.
2. Balaban B, Urman B, Alatas C, Mercan R, Muncu A, Isiklar A. A comparison of four different techniques of assisted hatching. *Human Reprod* 2002;17:1239-1243.
3. Bider D, Livshits A, Yonish M, Yemini Z, et al. Assisted hatching by zona drilling of human embryos in women of advanced age. *Hum Reprod* 1997;12:1239-1243.
4. Liu HC, Cohen J, Alikani M, Noyes N, Rosenvaks Z. Assisted hatching facilitates earlier implantation. *Fertil Steril* 1993;60:871-875
5. Osagi E, Hooper L, Seif M. The impact of assisted hatching on live birth rates and outcomes of assisted conception: a systematic review. *Human Reprod* 2003;18:1828-1835.
6. Magli MC, Giaroli L, Ferraretti AP, Fortini D, et al. Rescae of implantation potential in embryos with poor prognosis by assisted zona hatching. *Hum Reprod* 1998;13:1331-1335.
7. Joris H, De Vos A, Janssens R, Devroey P, et al. Comparison of the results of human embryo biopsy and outcome of PGD after drilling using acid Tyrode medium or laser. *Hum Reprod Biomed Online* 2002;4:27-31.
8. Das S, Blake D, Farquhar C, Seif MMW. Assisted hatching on assisted conception (IVF and ICSI). *Cochrane Database Syst Rev* 2009(2): CD 001894.
9. Gabrielsen A, Bhatnager PR, Petersen K, Linderberg S. Influence of zona pellucida thickness of human embryos on clinical pregnancy outcome following in vitro fertilization treatment. *J Assist Reprod Genet* 2000;17:323-328.
10. Huai LF. A retrospective study comparing three different assisted hatching techniques. *Fertility and Sterility* 2009; 91:1323-1325.
11. Yao-Yuan H, Chun-chia H, Tzu-Chun C, et al. Laser-assisted hatching of embryos is better than the chemical method for enhancing the pregnancy rate in women with advanced age. *Fertility and Sterility* 2002;78:179-182.
12. Magli MC, Giaroli L, Ferraretti AP, et al. Rescae of implantation potential in embryos with poor prognosis by assisted zona hatching. *Human Reprod* 1998;13:1331-1335.
13. Tzong-Chyi S, Su-Ru C, Heng-Kien A, et al. Herniated blastomer following chemically assisted hatching may result in monozygotic twins. *Fertility and Sterility* 2001;75:442-444.
14. Sunny H, Amin A. Assisted hatching is associated with a higher ectopic pregnancy rate. *Fertility and Sterility* 2004;81:1701-1703.