

© Borgis

Praktyczne aspekty transferu zarodków

***Cezary Grygoruk, Grzegorz Mrugacz, Karol Ratomski, Mirosław Grusza,
Agnieszka Talecka-Niczporuk, Piotr Pietrewicz**

Centrum Położniczo-Ginekologiczne „Bocian” w Białymstoku
Kierownik Centrum: dr n. med. Grzegorz Mrugacz

PRACTICAL ASPECTS OF EMBRYO TRANSFER

Summary

It is estimated that the approximately 15% of population in reproductive age is suffering from infertility. It constitutes about 80 millions couples all over the world. The infertility treatment method is carefully chosen to fit individual health requirements and source of infertility of the couple without causing major health side effects and provide a maximal success rate. The in-vitro fertilization process, frequently applied in the case of a male infertility or the closed fallopian tubes, consists of the following stages: preparation, controlled ovarian hyperstimulation, oocytes pick-up, sperm preparation, fertilization of the oocytes, embryo culture, embryo transfer and luteal phase support. The fact that high rates of fertilization in the laboratory result in a relatively low rate of “take home babies” has led investigators to focus the blame on various features of the in-vitro fertilization procedure. The embryo transfer, the final manual intervention in in-vitro fertilization process, remains in the center of interest of the researchers. The main goal of the embryo transfer is to place embryos safely inside the uterine cavity. However, there are many factors influencing the overall success of embryo transfer, for example: an equipment used for embryo transfer including the catheter type, the knowledge of anatomy and physiology of the reproductive tract or the experience of the operator.

Key words: catheter, embryo transfer, infertility

Problem niepłodności dotyczy około 15% populacji w wieku reprodukcyjnym, co stanowi około 80 milionów par na świecie. Z tego też względu Światowa Organizacja Zdrowia (WHO – World Health Organization) uznaje niezamierzoną bezdzietność za chorobę społeczną. Do głównych przyczyn niepłodności zaliczyć można: zaburzenia owulacji (20%), niedrożność jajowodów (30%) oraz czynnik męski (40%). U około 10% niepłodnych par, pomimo przeprowadzonej diagnostyki, nie udaje się ustalić jednoznacznej przyczyny problemów z rozrodem. Wraz ze zrozumieniem uwarunkowań biologicznych rozrodu człowieka oraz postępowaniem technologicznym wprowadzono wiele sposobów postępowania terapeutycznego niepłodności. Można je podzielić na: metody „klasyczne” – wykorzystujące zapłodnienie wewnątrzrozdrowe – oraz techniki wspomaganego rozrodu (ART – *assisted reproduction technology*). W zależności od wykrytej przyczyny braku potomstwa, leczenie dobiera się tak, aby zapewnić pacjentom optymalny poziom skuteczności, w połączeniu z jak najmniejszym ryzykiem powikłań. Najczęstszymi wskazaniami do zastosowania

zapłodnienia pozaustrojowego są: niedrożność jajowodów, endometrioza trwająca ponad trzy lata, niepłodność pochodzenia immunologicznego, zespół niepękającego pęcherzyka oraz niepłodność idiopatyczna. Proces leczniczy z wykorzystaniem zaawansowanych technik wspomaganego rozrodu składa się zazwyczaj z następujących etapów: przygotowanie, kontrolowana hiperstymulacja hormonalna, pobranie oocytów, preparatyka nasienia, zapłodnienie komórek jajowych, hodowla i transfer zarodków, suplementacja fazy lutealnej.

Transfer zarodków (ET – *embryo transfer*) stanowi integralny i kulminacyjny element leczenia metodami zapłodnienia pozaustrojowego. Jego głównym celem jest bezpieczne umieszczenie zarodków o jak najwyższym potencjale rozwojowym w jamie macicy. Do ET używa się specjalnych sond, kateterów połączonych ściśle ze strzykawką. W celu pobrania zarodków do katetera, zanurza się dystalny koniec tego urządzenia w podłoże hodowlane zawierające zarodki. Następnie odciąga się tłok strzykawki wskutek czego do katetera wchodzi podłoże wraz z zarodkami przeznaczonymi do transferu.

Przygotowany w taki sposób kateter wprowadza się do jamy macicy przez kanał szyjki macicy. Następnie w wyniku naciśnięcia tłoka strzykawki zostaje wytworzone ciśnienie w komorze roboczej, które jest przenoszone do wnętrza katetera, na skutek czego dochodzi do wstrzyknięcia transferowanego podłoża hodowlanego wraz z zarodkami do jamy macicy. Pomimo tego, że uzyskiwane w laboratoriach wskaźniki zapłodnień i rozwoju zarodków są dość wysokie, to jednak ostateczne wyniki kliniczne rozumiane w postaci ciąży klinicznych oraz „zdrowego dziecka zabranego do domu” są nadal niezadawalające (1). Skłoniło to wielu badaczy do poszukiwania przyczyn takiego stanu rzeczy. Spośród wielu czynników mogących mieć wpływ na powodzenie transferu najczęściej zwraca się uwagę na czynniki związane z anatomią i fizjologią układu rozrodczego oraz na aspekty techniczne ET.

Łatwość wykonania transferu ma zasadniczy wpływ na ostateczny wynik leczenia. Z obserwacji klinicznych wynika, że prawdopodobieństwo uzyskania ciąży jest znacznie większe w przypadku transferu łatwego niż trudnego, tzn. przebiegającego z komplikacjami (2). W badaniu obejmującym 4807 transferów wykazano, że wskaźnik ciąży był 1,7 razy wyższy w grupie transferów łatwych niż trudnych (3). Pojęcie transferu trudnego jest dość subiektywne, niemniej wiąże się z użyciem dodatkowego instrumentarium, dyskomfortem pacjentki, wydłużeniem czasu procedury. Jednym z możliwych mechanizmów odpowiedzialnych za słabsze wyniki w przypadku transferu trudnego może być stymulowanie czynności skurczowej macicy (4). W nieciążarnej macicy, spontaniczne skurcze rozchodzą się w kierunku od szyjki macicy do dna macicy z częstością od 1 do 5 skurczów/minutę. Jedynie podczas miesiączki skurcze obierają kierunek przeciwny i mają mniejszą częstotliwość od 0,5 do 2,5 skurczy/minutę (5). Manipulacje na szyjce macicy oraz podrażnienie dna macicy w czasie ET mogą powodować uwolnienie oksytocyny oraz prostaglandyn i w efekcie indukować czynność skurczową mięśnia macicy. Każda zmiana charakterystyki skurczy macicy wpływa bezpośrednio na przemieszczanie się płynu w jamie macicy, a co za tym idzie także na miejsce implantacji zarodka (6). Wyciszenie czynności skurczowej macicy na czas ET i bezpośrednio po nim może mieć korzystny wpływ na wyniki leczenia (7).

Obecność krwi na kateterze po wykonaniu ET jest uznawana przez niektórych za oznakę trudnego transferu i czynnik zmniejszający szansę na powodzenie leczenia (8). Według Goudas i wsp. obecność krwi na kateterze zmniejsza siedmiokrotnie szansę na uzyskanie ciąży (8). Podobne wyniki uzyskał zespół badaczy pod kierownictwem Alvero (9). Według badań Silberstien i wsp. obecność krwi na kateterze nie miała wpływu na wskaźnik implantacji i wskaźnik uzyskanych ciąży klinicznych (10). Dość częstą przyczyną trudnych transferów są warunki anatomiczne związane ze zbyt silnym przodo-, tyłopochyleniem lub przodo-, tyłozgięciem macicy, jak też ze zwężeniem kanału szyjki macicy (11). W takich przypadkach korzystne wydaje się wykonanie transferu

próbny lub badania ultrasonograficznego w trakcie ET (USG – *ultrasonography*). Próbnym transferem wykonanym podczas fazy lutealnej poprzedzającego cyklu, na początku kontrolowanej stymulacji jajników, w czasie pobrania oocytów lub bezpośrednio przed ET zmniejsza trudność wykonania zasadniczego ET i dzięki temu korzystnie wpływa na wyniki implantacji i uzyskiwanych ciąży (3). Według Sallam i wsp. badanie ultrasonograficzne podczas zasadniczego ET jest lepszym rozwiązaniem niż sam próbny transfer (12). Zastosowanie podglądu ultrasonograficznego w trakcie ET po raz pierwszy zostało opisane przez Strickler i wsp w 1985 roku (13). Powyższa technika umożliwia uwidocznienie końcówkę katetera wewnątrz jamy macicy, a wraz z tym pozwala precyzyjnie określić miejsce, gdzie zostaje umieszczony zarodek. Ponadto USG pozwala ocenić kąt między szyjką macicy a trzonem macicy i odpowiednio dostosować wygięcie katetera przed ET, dzięki czemu zmniejsza się ryzyko uszkodzenia nabłonka i naczyń w obrębie kanału szyjki macicy i jamy macicy (12). Wykorzystanie USG w czasie ET poprawia znacząco wyniki leczenia (14).

Jednym z istotnych elementów wpływających korzystnie na wynik ET jest usunięcie śluzu z kanału szyjki macicy przed ET (15). Śluz szyjkowy może spowodować przytkanie wylotu katetera podczas przechodzenia przez kanał szyjki macicy i utrudnić wstrzyknięcie zarodka do jamy macicy. Ponadto zarodek w czasie wstrzykiwania może przykleić się do śluzu oblepiającego kateter i być wyciągnięty wraz z kateterem po zakończeniu ET. Jednakże w badaniu przeprowadzonym na 1204 pacjentkach wykazano, że jedynie w przypadku, gdy obecności śluzu na kateterze towarzyszyła także obecność krwi, szanse na uzyskanie ciąży były obniżone (16). Visschers i wsp. nie stwierdzili korzystnego wpływu usuwania śluzu z kanału szyjki macicy przed ET (17).

Kwestia wyboru katetera do ET jest wciąż tematem dyskusyjnym. Miękkie katetery, takie jak Labotect (Labotect, Bovender-Gottingen, Niemcy), Cook (Cook Ob/Gyn, Inc., Bloomington, IN, USA) i Wallace (Marlow Technologies, Willoughby, OH, USA) są chętniej wykorzystywane niż sztywne katetery, takie jak TDT (Laboratoire CCD, Paris, Francja), Frydman (Laboratoire CCD), Tomcat (Kendell Health Care, Hampshire, MA, USA), Tefcat (Kendell Health Care, USA) i Rocket ET (Rocket Medical, Tyne and Wear, Wielka Brytania) ze względu na mniejsze prawdopodobieństwo uszkodzenia nabłonka szyjki i jamy macicy (18). Istnieją badania wskazujące na przewagę sztywnych kateterów oraz badania, które nie wykazują żadnych różnic pomiędzy stosowanymi kateterami (19, 20). Kolejnym istotnym czynnikiem wpływającym na powodzenie ET jest objętość płynu, który wstrzykuje się do jamy macicy. W zależności od ośrodka leczenia niepłodności używa się objętości od 20 do 130 μL . Transfer objętości większych niż 60 μL może sprzyjać wypchnięciu zarodka z jamy macicy. Transfer objętości mniejszych niż 10 μL negatywnie wpływa na wskaźnik implantacji. W świetle dostępnych danych najbardziej korzystne wydaje się zastosowanie objętości zbliżonych do 30 μL (21). Lepkość podłoża, w którym transferuje się

zarodki jest porównywalna do lepkości wody, podczas gdy lepkość płynu w jamie macicy jest znacznie wyższa (22, 23). Dlatego też podjęto próby transferu zarodków w podłożach o zwiększonej lepkości. Uzyskane wyniki nie są jednak jednoznaczne (24, 25). W praktyce klinicznej dość często słup transferowanego płynu dzieli się pęcherzykami powietrza. Dzięki temu uzyskuje się lepszą wizualizację USG transferowanej objętości. Dotychczas nie wykazano, aby takie postępowanie w jakikolwiek sposób wpływało na wyniki leczenia (26). Biorąc pod uwagę fakt, że aż 80% zarodków implantuje się w miejscu ich wstrzyknięcia, można przypuszczać, że umiejscowienie końcówki katetera we wnętrzu jamy macicy ma istotny wpływ na powodzenie ET (27). Według dostępnych badań, najlepsze wyniki uzyskuje się, gdy końcówka katetera jest umieszczona w odległości od 2 do 3 centymetrów od dna macicy (28). W przypadku umieszczenia końcówki katetera zbyt blisko dna macicy, < 5 mm, uzyskiwano gorsze rezultaty, jak również wzrastał odsetek ciąży pozamacicznych (29). Czas, po którym należy wyciągnąć kateter z jamy macicy po wstrzyknięciu zarodków, był analizowany przez zespół Martineza (30). Według badaczy pozostawienie katetera na 30 sekund po ET w jamie macicy poprawiało szanse na uzyskanie ciąży w porównaniu do natychmiastowego wyciągnięcia katetera (69,4% vs 60,8%). Uzyskane wyniki nie osiągnęły jednak poziomu znamienności statystycznej ze względu na małą liczebność grup (30). Szybkość wstrzykiwania zarodków do jamy macicy stanowi bardzo istotny element ET. Ogólnie zaleca się, aby transfer zarodków do jamy macicy był wykonywany delikatnie lub wolno (31). Wynika to z obserwacji, że wolne wstrzyknięcie zwiększa szanse zarodków na znalezienie się w dniu macicy w momencie implantacji, jak też w mniejszy sposób oddziałuje na potencjał rozwojowy zarodków (32, 33).

Transfer zarodków stanowi integralny i kulminacyjny element leczenia niepłodności metodami zapłodnienia pozaustrojowego. W znacznym stopniu o bezpiecznym umieszczeniu zarodków w jamie macicy decyduje doświadczenie operatora. Nie bez znaczenia dla ostatecznego wyniku ET pozostaje także znajomość aspektów technicznych wykorzystywanego instrumentarium, jak też uwzględnienie czynników związanych z anatomią i fizjologią układu rozrodczego. □

Piśmiennictwo

1. Edwards RG: Clinical approaches to increasing uterine receptivity during human implantation. *Hum Reprod* 1995; 10 Suppl 2: 60-6.
2. Tomás C, Tikkinen K, Tuomivaara L et al.: The degree of difficulty of embryo transfer is an independent factor for predicting pregnancy. *Human Reproduction* 2002; 17: 2632.
3. Mansour R, Aboulghar M, Serour G: Dummy embryo transfer: a technique that minimizes the problems of embryo transfer and improves the pregnancy rate in human in vitro fertilization. *Fertility and sterility* 1990; 54: 678.
4. Fanchin R, Righini C, Olivennes F et al.: Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Human Reproduction* 1998; 13: 1968.
5. Birnholz J: Ultrasonic visualization of endometrial movements. *Fertility and sterility* 1984; 41: 157-8.
6. Eytan O, Elad D: Analysis of intra-uterine fluid motion

- induced by uterine contractions. *Bulletin of mathematical biology* 1999; 61: 221-38.
7. Pierzynski P, Reinheimer TM, Kuczynski W: Oxytocin antagonists may improve infertility treatment. *Fertility and sterility* 2007; 88 (213): e19-e22.
8. Goudas VT, Hammitt DG, Damaro MA et al.: Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertility and sterility* 1998; 70: 878-82.
9. Alvero R, Hearn Stokes R, Catherino W et al.: The presence of blood in the transfer catheter negatively influences outcome at embryo transfer. *Human Reproduction* 2003; 18: 1848.
10. Silberstein T, Weitzen S, Frankfurter D et al.: Cannulation of a resistant internal os with the malleable outer sheath of a coaxial soft embryo transfer catheter does not affect in vitro fertilization-embryo transfer outcome. *Fertility and sterility* 2004; 82: 1402-6.
11. Garzo VG: Embryo transfer technique. *Clinical obstetrics and gynecology* 2006; 49: 117.
12. Sallam H, Agameya A, Rahman A et al.: Ultrasound measurement of the uterocervical angle before embryo transfer: a prospective controlled study. *Human Reproduction* 2002; 17: 1767.
13. Strickler R, Christianson C, Crane J et al.: Ultrasound guidance for human embryo transfer. *Fertility and sterility* 1985; 43: 54-61.
14. Buckett WM: A meta-analysis of ultrasound-guided versus clinical touch embryo transfer. *Fertility and sterility* 2003; 80: 1037-41.
15. Eskandar MA, Abou-Setta AM, El-Amin M et al.: Removal of cervical mucus prior to embryo transfer improves pregnancy rates in women undergoing assisted reproduction. *Reproductive biomedicine online* 2007; 14: 308-13.
16. Awonuga A, Nabi A, Govindbhai J et al.: Contamination of embryo transfer catheter and treatment outcome in in vitro fertilization. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 1998; 15: 198-201.
17. Visschers B, Bots R, Peeters M et al.: Removal of cervical mucus: effect on pregnancy rates in IVF/ICSI. *Reproductive biomedicine online* 2007; 15: 310-5.
18. McDonald JA, Norman RJ: A randomized controlled trial of a soft double lumen embryo transfer catheter versus a firm single lumen catheter: significant improvements in pregnancy rates. *Human Reproduction* 2002; 17: 1502.
19. Al-Shawaf T, Dave R, Harper J et al.: Transfer of embryos into the uterus: how much do technical factors affect pregnancy rates? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 1993; 10: 31-6.
20. Wisanto A, Janssens R, Deschacht J et al.: Performance of different embryo transfer catheters in a human in vitro fertilization program. *Fertility and sterility* 1989; 52:79.
21. Ebner T, Yaman C, Moser M et al.: The ineffective loading process of the embryo transfer catheter alters implantation and pregnancy rates. *Fertility and sterility* 2001; 76: 630-2.
22. Allen W, Tiplady C, Butler S et al.: Rheological characterisation of estrous uterine fluid in the mare. *Theriogenology* 2002; 58: 503-6.
23. Karni Z, Polishuk W, Adoni A et al.: Newtonian viscosity of the human cervical mucus during the menstrual cycle. *International journal of fertility* 1971; 16: 185.
24. Friedler S, Schachter M, Strassburger D et al.: A randomized clinical trial comparing recombinant hyaluronan/recombinant albumin versus human tubal fluid for cleavage stage embryo transfer in patients with multiple IVF-embryo transfer failure. *Human Reproduction* 2007; 22: 2444.
25. Karimian L, Rezazadeh V, Baghestani A et al.: A prospective randomized comparison of two commercial embryo transfer medium in IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod* 2004; 19: i52.
26. Moreno V, Balasch J, Vidal E et al.: Air in the transfer catheter does not affect the success of embryo transfer. *Fertility and sterility* 2004; 81: 1366-70.
27. Baba K, Ishihara O, Hayashi N et al.: Where does the embryo implant after embryo transfer in humans? *Fertil Steril* 2000; 73: 123-5.
28. Coroleu B, Barri PN, Carreras O et al.: The influence of the depth of embryo replacement into the uterine cavity on implantation rates after IVF: a controlled, ultrasound-guided study. *Human Reproduction* 2002; 17: 341.
29. Bilalis D, Marangou S, Polidoropoulos N et al.: Use of different loading techniques for embryo transfer increasing the risk of ectopic pregnancy. *Hum Re-*

prod, Abstract Book, P-479 2002; 17:162. **30.** Martinez F, Coroleu B, Parriego M et al.: Ultrasound-guided embryo transfer: immediate withdrawal of the catheter versus a 30 second wait. Human Reproduction 2001; 16: 871. **31.** Chalubinski K, Deutinger J, Bernaschek G: Vaginosonography for recording of cycle-related myometrial con-

tractions. Fertility and sterility 1993; 59: 225. **32.** Eytan O, Elad D, Jaffa AJ: Evaluation of the embryo transfer protocol by a laboratory model of the uterus. Fertil Steril 2007; 88: 485-93. **33.** Grygoruk C, Sieczynski P, Modlinski JA et al.: Influence of embryo transfer on blastocyst viability. Fertil Steril 2011; 95: 1458-61.

nadesłano: 15.02.2012

zaakceptowano do druku: 29.02.2012

Adres do korespondencji:

*Cezary Grygoruk

Centrum Ginekologiczno-Położnicze „Bocian”

ul. Akademicka 23, 15-267 Białystok

tel.: +48 (85) 744-77-00

e-mail: cezary.grygoruk@gmail.com