



Análisis de las implicaciones médicas de la fertilización *in vitro*

Arturo Zárate*, Leticia Manuel, * Marcelino Hernández-Valencia, * Renata Saucedo, * Lourdes Basurto*

Resumen

Robert Geoffrey Edwards trabajó con Patrick Christopher Steptoe desarrollando la técnica de fertilización *in vitro*. Edwards demostró que los ovocitos humanos podían madurar fuera del organismo y ser fertilizados por un espermatozoide en esas condiciones, es decir, *in vitro*. De esta manera, demostraron que los ovocitos así fertilizados originaban embriones al ser transferidos al útero materno. En 1978, nació Louise Brown convirtiéndose en el “primer bebe probeta”; desde entonces más de cinco millones de bebés han nacido usando esta técnica; además, el procedimiento permitió conocer las etapas de la embriogénesis y el mecanismo de la implantación intrauterina. Así mismo, se pudieron iniciar los estudios genéticos del embrión y la detección de trastornos del DNA. Por otra parte, la práctica de la fertilización *in vitro* amplió el conocimiento de las células madre y la posible aplicación terapéutica. Edwards y Steptoe son considerados relevantes científicos en reproducción humana. Edwards fue honrado con el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en el 2010.

Palabras clave: Fertilización *in vitro*, reproducción asistida, embriogénesis, esterilidad.

Summary

Robert Geoffrey Edwards and Patrick Christopher Steptoe developed the technique of *in vitro* fertilization (IVF). Edwards showed that human oocytes could mature outside the body and be fertilized by sperm in these conditions, *in vitro*. Thus, they showed that fertilized oocytes and embryos originated being transferred to the womb. Louise Brown was born in 1978, becoming in the “first test-tube baby”, and since then more than five million babies have been born using IVF technique, in addition, the procedure has allowed to know the stages of embryogenesis and intrauterine implantation mechanism. Likewise, it could initiate embryo genetic studies and detection of DNA disorders. Moreover the broad practice of FIV knowledge of stem cells and possible therapeutic application. Edwards and Steptoe are considered relevant scientists in human reproduction. Edwards was awarded the Nobel Prize for Physiology and Medicine in 2010.

Key words: *In vitro* fertilization, assisted fertilization, embryogenesis, infertility.

CONTEXTO

Robert Geoffrey Edwards nació el 27 de septiembre de 1925 en Manchester UK, recibió el Premio Nobel en 2010 por sus aportaciones a la fisiología reproductiva.

* Hospital de Especialidades, Unidad de Investigación de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

Correspondencia:

Dr. Arturo Zárate,

Correo electrónico: zaratre@att.net.mx

Aceptado: 21-08-2012.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medicgraphic.com/actamedica>

Sus primeros estudios los realizó en la Universidad de Bangor en Gales, después pasó al Instituto de Genética en Animales Edimburgo, donde obtuvo el doctorado en 1955, estudiando la forma de fertilización *in vitro* (FIV) con gametos de ratón y conejo; lugar donde permaneció hasta 1963 que ingresó en el Churchill Collage de Cambridge para continuar con la investigación de embriogénesis. Una colaboradora importante fue Ruth Fowler, nieta del eminente físico Ernest Rutherford, la cual fue posteriormente su esposa. Los experimentos en animales le mostraron que era indispensable que los óvulos alcanzaran cierto grado de madurez y que una vez que el embrión estuviera constituido por varias células se pudiera transferir al útero. Con este conocimiento se decidió intentar la fertilización con gametos humanos en el laboratorio.¹⁻³

La incapacidad para obtener el desarrollo del embrión utilizando óvulos extraídos de piezas quirúrgicas de

ovario que le proporcionaban como donaciones algunos cirujanos, Edwards buscó la colaboración de un eminente ginecólogo, experto en un nuevo procedimiento que era la laparoscopia, Patrick Steptoe del Oldham General Hospital, para obtener óvulos maduros y frescos. Ambos demostraron en 1970 que era posible recuperar ovocitos maduros inmediatamente antes de la ovulación de mujeres con cierta infertilidad tratadas con hormonas apropiadas (Figura 1). Esos ovocitos, fertilizados *in vitro*, podían dar origen a embriones humanos de ocho células, un hallazgo fundamental que luego fue ampliado al obtener embriones de más células. Al cabo de mucho esfuerzo destinado a ajustar la dosis de hormonas, puesto que interferían con el desarrollo posterior, en 1976, lograron el primer embarazo, que, por un defecto de implantación, no progresó. Después de múltiples intentos y modificando las condiciones experimentales tanto de los cultivos como de la óptima embriogénesis para la implantación intrauterina, se consiguió el embarazo de Leslie Brown y el nacimiento por cesárea de Louise Brown en el Hospital de Oldham.^{4,5} Todo esto fue el corolario de incontables obstáculos tanto técnicos, como legales, éticos y culturales; así mismo, el Consejo Médico de Investigación Británico no autorizó ni financió todo el proyecto de la FIV, pero gracias a la obtención de fondos privados se creó el *Bourn Hall Clinic*, dirigido por Steptoe y Edwards, para continuar el tratamiento de la pareja estéril (Figura 2).

La FIV ha permitido conseguir cerca de cinco millones de nacimientos hasta la actualidad, mediante los gametos de la pareja estéril, así como la utilización de óvulos, espermatozoides y embriones obtenidos de donadores.^{6,7} Otra consecuencia de la FIV fue el desarrollo de la inyección

intracitoplasmática de un espermatozoide al óvulo (ICSI), así como el análisis genético del embrión y la contribución a las investigaciones relacionadas con las “células madre”. El galardón científico más importante que se concede en USA es el Premio Lasker que tiene la especial particularidad de predecir un futuro Premio Nobel, ya que un número importante de los que reciben el Lasker llegan a ser candidatos y/o recipientes del Nobel. El profesor Edwards recibió la presea Lasker en 2001 en el área de Investigación Médica Clínica;⁸ sin embargo, su *con-frere* P. Steptoe no lo compartió por haber fallecido en 1988. La controversia ética y social se considera la causante de una espera de cerca de 30 años para que al profesor Edwards se le concediera el Nobel, pero no pudo asistir a la ceremonia de premiación en Estocolmo por padecer la enfermedad de Alzheimer.

EVOLUCIÓN METODOLÓGICA DE LA FIV

Desde 1944 se describieron los primeros intentos para obtener la FIV en animales, por lo cual Edwards mostró interés en este tema. Desde su época repitió los estudios de estudiante de pregrado. Una vez que obtuvo su doctorado decidió conseguir la fertilización con gametos humanos utilizando tejido ovárico proveniente de tejido extraído durante alguna operación ginecológica efectuada incidentalmente, pero pronto advirtió la dificultad para conseguir la formación de un embrión ya que en los primeros días se suspendía la división celular. Estos experimentos le permitieron concluir que era indispensable que los folículos ováricos hubieran alcanzado su madurez para que el óvulo estuviera en condiciones óptimas, lo cual ocurría entre 24 y 40 horas, tiempo en que se agregaría el espermatozoide *in vitro*. Otra observación seminal fue que no era indispensable una “capacitación” de los espermatozoides consecuencia de su paso por la vaginal para tener la capacidad de fecundar, era suficiente que simplemente estuviera fresco el esperma. Por todo esto, concluyó en la necesidad de obtener óvulos maduros y decidió buscar la colaboración del conspicuo ginecólogo Steptoe quien había perfeccionado la técnica de laparoscopia. En 1968, se consiguió la obtención inocua y efectiva de oocitos en horas previas a la evolución; más adelante se utilizaron fármacos inductores de la ovulación en parejas estériles para ayudar a determinar el momento de la ruptura de los folículos que habían alcanzado la madurez. También se recurrió a la detección urinaria de hormona luteinizante para una mayor precisión del momento de la ovulación. En la figura 3 se ilustra esquemáticamente el procedimiento de la fertilización e implantación intrauterina del embrión que en ese momento estaba constituido entre 10 y 16 células. El matrimonio Brown que no podía procrear debido a una



Figura 1. Patrick Steptoe el ginecólogo y pionero de la laparoscopia acompañado a su izquierda de Robert G. Edwards, el fisiólogo (circa 1979).

obstrucción tubaria irreversible de varios años solicitó de manera voluntaria ser sometido a la FIV experimental, no obstante que otras parejas no habían logrado conseguir un hijo vivo. Este suceso marca el primer nacimiento por FIV en 1978 (*Figura 4*).

Se comprueba la fertilización del oocito cuando aparecen dos pronúcleos dentro de las 17 horas posteriores a la inseminación, y al formarse el blastómero se divide cada 12 a 14 horas, hasta que el embrión posee ocho células cerca de las primeras 72 horas. El embrión se califica en "estado de anclaje" entre dos a cuatro días y como un blastocisto un día después que es cuando se implanta

cerca del séptimo día, por lo tanto, la implantación debe realizarse antes de esta semana. En el caso de un análisis genético se hace la extracción de una célula cerca de las 72 horas de la fertilización sin que se haya informado un trastorno en la implantación y/o en la evolución del embarazo y del recién nacido.

Pronto se repitió en otras partes del mundo la FIV para el tratamiento de la esterilidad y, como una consecuencia, fue la creación de modalidades técnicas para mejorar la efectividad y asegurar el estado de salud, tanto de la madre como del bebé. En la actualidad el aprovechamiento del desarrollo tecnológico, particularmente de los fármacos reguladores de la ovulación, los ensayos hormonales, el



Figura 2. Una fotografía de la clínica de ginecoobstetricia privada *Bourn Hall Clinic*, fundada por Steptoe y Edwards, cuyo retrato aparece a la derecha.

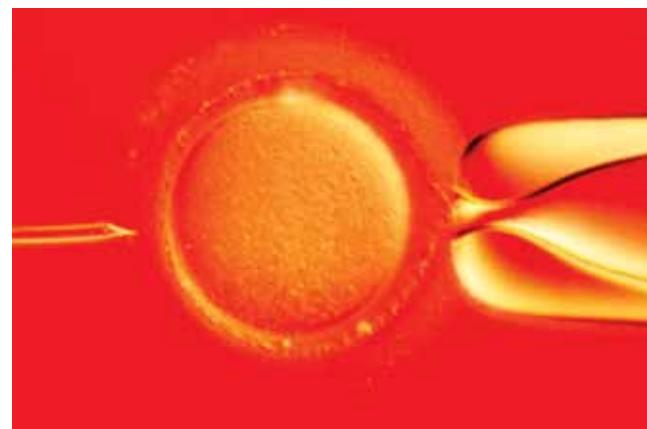


Figura 3B. Se ilustra la forma de realizar la FIV mediante la introducción de espermatozoide en el oocito.



Figura 3A. El proceso técnico de la FIV se muestra de manera sencilla y esquemática. (Publicada en el periódico *British Broadcasting Corporation*, BBC, de Londres).



Figura 4. En la fotografía, de izquierda a derecha, aparecen Robert G. Edwards, Leslie Brown (quien consiguió por primera vez un embarazo llegado a término) y Louise Brown (el primer bebé de "probeta"). En brazos aparece el hijo de Louise sin que haya requerido intervención médica. La fotografía apareció en la prensa internacional con motivo del fallecimiento a los 65 años de edad de Leslie, ocasionado por un cáncer de la vesícula biliar.

ultrasonido de alta resolución, la implantación de sólo uno o dos embriones, la ICSI, el análisis genético del embrión, han impactado sobre la seguridad y efectividad de la FIV (*Cuadro I*).

Aún existen inconvenientes como son el costo muy elevado de todo el procedimiento, así como la hiperestimulación ovárica, la ocurrencia de embarazos múltiples y el parto pretérmino. Tampoco se ha concluido el metaanálisis relacionado con los efectos a largo plazo (entre los que llaman la atención como la capacidad intelectual y los trastornos metabólicos) de los niños nacidos mediante la FIV.⁹⁻¹² Recientemente, en la reunión de 2012 de la Academia Americana de Pediatría se enfatizó que la FIV puede ocasionar un número importante de malformaciones congénitas en los bebés nacidos mediante este procedimiento. Así, se informó que cerca del 9% presentan alguna malformación, contrastando con el 6.6% de los bebés nacidos naturalmente. Las malformaciones más frecuentes ocurren en corazón, aparato renal, esqueleto, en los ojos y órganos reproductivos.

APLICACIÓN DE LA FIV EN MUTACIONES DEL ADN MITOCONDRIAL

Se ha comenzado a describir la ocurrencia de mutaciones en el ADN mitocondrial, lo cual podría causar trastornos cerebrales y de músculo esquelético de orden hereditario que, aunque son raros, deben corregirse. En consecuencia se han iniciado experimentos que consisten en extraer el núcleo del oocito con mitocondria mutada, así como de otro oocito que tenga mitocondria normal y posteriormente transferir el núcleo proveniente del primer oocito al segundo huevo. A continuación se fertiliza con el espermatozoide del esposo. De esta manera, se obtiene un embrión con el material genético de ambos padres y una mitocondria donada (sana).^{13,14} Por este motivo se predice que esta modalidad tecnológica de ingeniería genética puede generar una discusión ética.

Se debe recordar que el ADN mitocondrial se hereda de la madre porque permanece en el citoplasma del oocito

Cuadro I. Éxito de la fertilización *in vitro* (FIV) de acuerdo con la edad de la madre hasta el 2008.

| Edad (años) | Porcentaje de nacimientos |
|-------------|---------------------------|
| < 35 | 33.1 |
| 35 - 37 | 27.2 |
| 38 - 39 | 19.3 |
| 40 - 42 | 12.5 |

y que, aunque el espermatozoide contiene una mínima cantidad mitocondrial en la cola, queda fuera.

El ADN mitocondrial (mtDNA) es un material genético circular cerrado de doble cadena que se localiza en el interior de las mitocondrias celulares. El genoma mitocondrial consta de aproximadamente 16,500 pares de bases (pb), y codifica para una pequeña fracción de las proteínas mitocondriales. El mtDNA contiene información de 38 genes: 2rRNA (12S y 16S), 22tRNA y 13 genes estructurales, los cuales codifican diferentes subunidades de los complejos enzimáticos del sistema de fosforilación oxidativa. En comparación con el ADN nuclear o genoma contiene cerca de 20,000 genes.

La mitocondria realiza la función vital de convertir la glucosa en material energético en la forma de ATP; es decir, simbólicamente la máquina generadora de energía. Por otra parte, con este experimento llama la atención que en la actualidad se podría aceptar metafóricamente que un niño podría llegar a tener "dos madres y un padre".

PROLIFERACIÓN ABUNDANTE DE LAS CLÍNICAS MÉDICAS

Una preocupación justificada es la proliferación de clínicas "privadas" que promueven la FIV sin contar con una certificación que asegure la capacidad profesional ni los recursos técnicos indispensables para este procedimiento tan delicado y costoso. En muchas partes del mundo no se ha logrado implementar un programa de supervisión y análisis de los resultados terapéuticos, así como del destino de los gametos y de los embriones, todo lo cual ha generado problemas éticos y legales. En nuestro país existe una corporación con el nombre de Red LARA (Red Latinoamericana de Reproducción Asistida), que forma parte de una asociación internacional con el objeto de resolver el problema; sin embargo, en México sólo cerca de la mitad de estas clínicas se han certificado oficialmente.

RECONOCIMIENTO

Los autores son investigadores profesionales del IMSS y acreditados por el Sistema Nacional de Investigadores, CONACYT.

REFERENCIAS

1. Johnson M. Robert Edwards: the path to IVF. *Reprod BioMed Online* 2011; 23: 245-262.
2. Wilson E, Edwards RG. Parturition and increased litter size in mice after superovulation. *J Reprod Fert* 1963; 5: 179-186.
3. Fowler RE, Edwards RG, Steptoe PC. Steroid production from 17a-hydroxy pregnenolone and dehydroepiandrosterone by human granulosa cells *in vitro*. *J Reprod Fert* 1978; 54: 109-117.
4. Steptoe PC. Laparoscopy and ovulation. *Lancet* 1968; 2 (7574): 913.

5. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the implantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 312 (8085): 366.
6. Yovich JL. A clinician's personal view of assisted reproductive technology over 35 years. *Reproductive Biology* 2011; Suppl 3: 31-42.
7. Vajta G, Rienzi L, Cobo A, Yovich JL. Embryo culture: can we perform better than nature? *Reprod BioMed Online* 2010; 20: 453-469.
8. Edwards R. The Lasker Foundation and recognition of scientific excellence. *JAMA* 2005; 294 (11): 1422-1423.
9. Checa MA, Alonso-Coello PA, Sola I, Robles A, Carreras R, Balasch J. IVF/ICSI with or without preimplantation genetic screening for aneuploidy in couples without genetic disorders: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2009; 26: 273-283.
10. McLernon DJ et al. Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *BMJ* 2010; 341: c6945.
11. Gearhart J, Cuortifaris C. *In vitro* fertilization, the Nobel Prize, and human embryonic stem cells. *Cell Stem* 2011; 8: 12-15.
12. Zárate A, MacGregor C. Fertilización extracorpórea. En: Zárate A (ed). *Manejo de la pareja estéril*. México: Trillas; 1987: 86-90.
13. Taylor R, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 2005; 6 (5): 389-402.
14. Tachibana M, Amato P, Sparman M, Woodward J et al. Towards germline gene therapy of inherited mitochondrial diseases. *Nature* 2012; doi: 10.1038/nature11647. [Epub ahead of print]