



Fertilización *in vitro* e inyección intracitoplasmática de espermatozoides

In vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection

Alejandro Sánchez Aranda,* Claudia Marcela Hernández González,† Alberto Kably Ambe‡

Resumen

La infertilidad es un aspecto común que afecta a las parejas en 15% a nivel global. Los tres pilares básicos del tratamiento de la fertilidad son: inducción de la ovulación, inseminación artificial y fertilización *in vitro* (FIV). La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) es una opción de inseminación en casos en los que no ocurre la fertilización secundaria al factor masculino, motivo por el cual se seleccionan los tratamientos adecuados a los factores de infertilidad involucrados. Actualmente, los procedimientos utilizados en reproducción asistida son incapaces de cubrir por completo los efectos deletéreos de la edad. La técnica de FIV se introdujo por primera vez como un tratamiento para la infertilidad en 1978, y las tasas de éxito han aumentado de manera constante en las décadas posteriores. Muchos factores han contribuido a la mejora de la FIV, incluida la aparición de nuevas técnicas y procedimientos de laboratorio. El objetivo de esta revisión bibliográfica es brindar información adecuada basada en evidencia científica, con el fin de eliminar conceptos erróneos y aportar información específica y actualizada de las técnicas de reproducción asistida.

Palabras clave: Infertilidad, fertilización *in vitro*, inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

Summary

Infertility is a common entity that affects 15% of couples worldwide. The three basic components of infertility treatment are induction of ovulation, artificial insemination and in-vitro fertilization (IVF). In cases where the problem relies on the masculine factor ICSI (intracytoplasmic sperm injection) is an option to achieve fertilization. For the time being, the techniques used in assisted reproduction are not enough to fight back the harmful effects of age. IVF was first introduced in 1978, and the success rates have increased over the last decades. Many factors have contributed to achieve better results, including the emergence of new techniques and laboratory procedures. The aim of this review is to bring proper information based on scientific evidence, with the purpose of eradicating misconceptions and add specific data of reproductive assisted techniques.

Keywords: Infertility, *in vitro* fertilization, intracytoplasmic sperm injection.

INTRODUCCIÓN.

La infertilidad es un aspecto común que afecta a las parejas en 15% en el ámbito mundial, la Encuesta Nacional de Crecimiento Familiar (NSFG) de los Estados Unidos reporta una prevalencia de 12.1% en mujeres entre 15 y 44 años en el periodo de 2010 a 2015. La frecuencia de infertilidad primaria por grupos de edad fue: mujeres

de 15 a 34 años de 9% y de 35 a 44 años de 16%. En una mujer que tiene menos de 30 años, la posibilidad de embarazo por ciclo está entre 12 y 15% y por arriba de 40 menor a 5%, lo que ocasiona un aumento en la demanda de servicios de las clínicas de infertilidad, y en la actualidad los procedimientos utilizados para asistir la reproducción son incapaces de cubrir por completo los efectos deletéreos de la edad; la tasa de éxito en

www.medigraphic.org.mx

* Ginecología y Obstetricia. Subespecialidad en Biología de la Reproducción Humana. Coordinador Clínico del Centro Mexicano de Fertilidad (CEPAM).

† Ginecología y Obstetricia. Alta Especialidad en Cirugía Endoscópica Ginecológica Avanzada, Alta Especialidad en Infertilidad y Reproducción Asistida.

Hospital Ángeles Lomas.

Correspondencia:

Dr. Alberto Kably Ambe

Correo electrónico: drkably@gmail.com

promedio de las técnicas de reproducción es de 41% en mujeres de 35 años y de 4% después de los 42. Desde fines de la década de 1980, han surgido varias técnicas de fertilización asistida que se han desarrollado rápidamente para intentar mejorar los resultados en parejas con infertilidad; independientemente de la causa de ésta, el tratamiento que mejores tasas de éxito presenta es la fertilización *in vitro* (FIV). El Premio Nobel de Medicina de 2010 fue otorgado a Robert Edwards por el desarrollo de la FIV, dando como resultado el nacimiento del primer recién nacido de “probeta” en julio de 1978. La técnica no surgió como un evento cuántico, sino que se basó en los esfuerzos de muchos trabajadores anteriores en los campos de la endocrinología reproductiva.¹⁻³

ANTECEDENTES

El fusionar un óvulo y un espermatozoide humanos fuera de la mujer y la transferencia posterior del embrión resultante a un útero, es relativamente un hecho reciente y de rápida evolución que se ha convertido en una nueva técnica para solucionar los problemas de la pareja infértil. Los primeros reportes de una implantación exitosa y embarazo posterior al uso de esta técnica en seres humanos se publicaron durante la década de los 70. Desde esa época hasta la fecha, las técnicas FIV han conducido a nuevos conocimientos sobre la interacción de los gametos y el desarrollo embrionario temprano, así como el advenimiento de miles de embarazos normales. La historia de la fecundación *in vitro* tiene sus orígenes a finales del siglo XIX, en concreto durante 1890, cuando Heape transfirió de manera exitosa embriones de conejo. Heape recuperó dos embriones al lavar las trompas de una coneja fecundada horas antes y luego los transfirió a las trompas de una coneja; de estos embriones nacieron seis conejos completamente sanos; esto se reafirmó hasta 1959 por Chang, quien replicó la fertilización en conejos. Chang y Austin descubrieron el fenómeno de capacitación espermática después de este descubrimiento, los científicos se volvieron conscientes de la dificultad de seleccionar los criterios apropiados para la fecundación *in vitro*. En 1959, Chang logró el nacimiento de unos conejos como resultado de la fecundación *in vitro*, al cambiar la técnica por la transferencia de Heape. El primer gran éxito (entendido como un embarazo uterino llevado a término) conseguido en seres humanos lo lograron precisamente el ginecólogo Patrick C Steptoe y el biólogo Robert G Edwards, realizado en Inglaterra, y culminó con el nacimiento de un producto femenino sano de 2.700 g el 25 de julio de 1978 (Louise Joy Brown) por vía cesárea. Previamente, el mismo equipo logró un embarazo, pero resultó ectópico.^{4,5}

Con el paso del tiempo, la fecundación *in vitro* en humanos ha sufrido numerosas modificaciones: mejora-

miento de los medios de cultivo, la propia fecundación, la transferencia de embriones en día tres o cinco, ya sea en fresco o congelados, así como diferentes protocolos de estimulación ovárica.

FERTILIZACIÓN *IN VITRO*

Los intentos por lograr la FIV pasaron por varias etapas de investigación, muchos científicos exponían los óvulos recuperados de las trompas, útero o folículos de conejos, ratones o hámsteres a espermatozoides provenientes del epidídimo o del eyaculado. Se creía que el simple hecho de juntar al espermatozoide con el óvulo resultaba en fertilización, claro que la presencia del espermatozoide dentro del óvulo, la salida del segundo cuerpo polar y el clivaje son todos indicadores importantes de fertilización, pero cada uno por su lado no son suficientes para distinguir una fertilización normal de otros fenómenos.⁶

La fertilización *in vitro* se define como una técnica de reproducción asistida que involucra fecundación extracorpórea. En general, la técnica consiste inicialmente en una estimulación ovárica controlada mediante medicamentos aplicados de forma subcutánea o intramuscular con la intención de obtener múltiples folículos, los cuales contienen los ovocitos que después serán aspirados vía vaginal guiado por ultrasonido. Esos ovocitos serán fertilizados en el laboratorio (*in vitro*) y posteriormente, los ovocitos que sean fertilizados y progresen de manera adecuada a embriones, ya sea en tres o cinco días, serán transferidos a la cavidad uterina. Este proceso, que por lo general dura alrededor de dos semanas, es llamado un ciclo de fertilización *in vitro*.⁷

La FIV se diseñó en principio para superar el problema de la infertilidad tubárica, pero ahora se considera que representa el tratamiento de elección para la infertilidad inexplicada, infertilidad por factor masculino, endometriosis y la disfunción ovárica resistente a la inducción de la ovulación. La introducción de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ha generado que formas severas de infertilidad alcancen porcentajes altos de fertilización. La publicidad que se ha dado en los últimos años a las técnicas de reproducción asistida ha llevado a una percepción errónea de éxito para todos aquéllos que tienen dificultades para concebir un embarazo. Esto se ha reflejado en la rápida expansión de las indicaciones para la FIV y el número anual en la actualidad de ciclos de FIV en todo el mundo. En los últimos años, se ha prestado mayor atención al equilibrio entre beneficios, cargas y riesgos del tratamiento de FIV, y el concepto de lograr el embarazo a toda costa ha sido cada vez más rechazado. El nivel de provisión de tratamiento de FIV varía mucho de un país a otro, y pocos proporcionan acceso al tratamiento de FIV a todos

aquéllos que pueden beneficiarse. Por lo tanto, el desafío es doble: en primer lugar, identificar a aquellas parejas para quienes los beneficios potenciales del tratamiento de FIV ameritan los riesgos y costos asociados; y, en segundo lugar, mejorar el balance riesgo/beneficio a favor de este último; en los últimos años, se ha avanzado en ambos aspectos. Los nuevos estudios que se centran en los resultados de la FIV han aclarado aún más los factores que determinan el resultado y ofrecen la posibilidad de individualizar los protocolos de estimulación ovárica y las políticas de transferencia de embriones. El concepto de considerar las indicaciones para la FIV se ha vuelto más sofisticado que sólo identificar una causa de infertilidad que podría ser susceptible a la FIV.^{6,8}

Indicaciones

La FIV se desarrolló para el tratamiento de la infertilidad tubárica, aunque en la actualidad se emplea para muchas otras indicaciones: factor tubárico, endometriosis, falla de inseminación artificial, factor masculino (recuento de espermatozoides móviles [REM] < 3 millones), infertilidad de origen desconocido, insuficiencia ovárica prematura, disminución de la reserva ovárica, criopreservación de ovocitos en pacientes oncológicos o con enfermedad médica y preservación de la fertilidad.⁸

HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA

La inducción de ovulación implica un crecimiento homogéneo de una cohorte folicular para producir una mayor cantidad de ovocitos de adecuada calidad, por medio del uso de diferentes esquemas de tratamiento. El desarrollo folicular múltiple puede lograrse mediante medicamentos específicos, cada uno con sus ventajas e indicaciones, seleccionando ésta y la dosis en función de la edad de la mujer, la reserva ovárica, la respuesta a estimulaciones previas y el índice de masa corporal.⁷

Un análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) se utiliza para prevenir el surgimiento endógeno de LH (por ejemplo, protocolo antagonista o largo), lo cual arruinaría el ciclo de FIV debido a lo que se conoce como una luteinización prematura. Cuando los folículos ováricos se consideran maduros (folículos con un diámetro promedio de 17 mm o más), se administra un medicamento para desencadenar la maduración del ovocito. La punción folicular se realiza 34 a 36 horas después de la administración de la gonadotropina coriónica humana, se emplea la aspiración de ovocitos guiada por ultrasonido transvaginal bajo sedación o con anestesia local si el número de folículos a puncionar es bajo.^{9,10}

EVALUACIÓN DE LA FERTILIZACIÓN CONVENCIONAL (FIV)

Los ovocitos inseminados mediante FIV convencional se preparan para la evaluación de la fertilización alrededor de 16 a 20 horas después de la inseminación. La mayoría de los protocolos están de acuerdo en que la evaluación de la fertilización debe llevarse a cabo 18 ± 1 hora. Los ovocitos inseminados para la fertilización convencional se encuentran, por lo general, cubiertos por una capa de células dispersas de la corona y el cúmulo. Estas células deben ser retiradas con cuidado para permitir la visualización apropiada del citoplasma de la célula, y poder evaluar de manera adecuada los signos de fertilización. Una vez que el espermatozoide ha penetrado en la zona pelúcida, se produce la reacción cortical. La presencia del primer cuerpo polar en el espacio perivitelino es la característica necesaria que indica que se trata de un ovocito metafase II maduro, los cromosomas se dividen entre el ovocito y el primer cuerpo polar. Esto es un indicador de que el ovocito ha alcanzado la madurez nuclear. Por fertilización normal se entiende la identificación de dos pronúcleos y la presencia de dos cuerpos polares.¹⁰⁻¹²

La formación de los pronúcleos (2PN) es el proceso de fertilización que implica la activación de la membrana del ovocito maduro con la descondensación del espermatozoide, la fusión de los gametos haploides masculinos y femeninos crea un cigoto diploide. Por lo tanto, en el caso de la fertilización *in vitro* convencional, los espermatozoides se añaden a una placa de cultivo que contiene uno o más complejos cúmulo-ovocito, los espermatozoides deben nadar a través de la masa de células del cúmulo que rodean al ovocito hasta que un único espermatozoide alcanza y se une con éxito a la zona pelúcida.^{12,13}

CULTIVO DE EMBRIONES

La transferencia embrionaria puede realizarse tres a cinco días después de que fertilizan, en la actualidad se realiza de manera habitual en estadio 5 (blastocisto) dado que permite una mejor selección embrionaria y por lo tanto un incremento en la tasa de embarazo clínico.^{14,15}

LA INYECCIÓN INTRACITOPLÁSMICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI)

Se refiere a una técnica en la que se inyecta un solo espermatozoide de manera directa en el citoplasma de un ovocito maduro. Este procedimiento se realiza como parte de un ciclo de fertilización *in vitro* y proporciona un método eficaz para ayudar a la fertilización en hombres con parámetros de semen alterados o que experimenta-

ron tasas de fertilización nulas o bajas después de la FIV convencional. ICSI se aplicó por primera vez en 1988; los primeros embarazos se registraron en Bélgica en 1992. Esta técnica ha demostrado de manera sistemática tasas de fertilización más altas que las técnicas convencionales de fertilización. La capacidad de esta técnica ha hecho que sea el tratamiento más exitoso para la infertilidad masculina; en 2016, la FIV con ICSI comprendió 66% de los procedimientos iniciados de tecnología de reproducción asistida en los Estados Unidos. El uso de ICSI para la infertilidad por factor masculino aumentó de 84% en 2003 a 93% en 2012.^{15,16}

A partir de 1992, se inició una nueva era en la medicina reproductiva que hizo posible el manejo de parejas con factor masculino severo. Sin embargo, con la difusión y el dominio del ICSI y con la idea de disminuir al máximo las fallas de fecundación por medio de la fertilización *in vitro*, muchos centros de fertilidad han optado por considerar a la ICSI como la técnica de elección, incluso cuando no cumple con la indicación.

Indicaciones

La ICSI está indicada principalmente para el tratamiento de la infertilidad del factor masculino: oligozoospermia, astenozoospermia, teratozoospermia, anticuerpos antiespermatozoide, ausencia de conductos deferentes, todas las indicaciones de epidídimo. También puede ser útil en las siguientes situaciones clínicas: fertilización fallida en un ciclo de FIV anterior, diagnóstico genético preimplantación, fertilización de ovocitos previamente criopreservados y maduración *in vitro* de ovocitos. En parejas con infertilidad por factor masculino, se observan tasas de fertilización de 80% y tasas de embarazo clínico de 45% cuando se realiza ICSI.⁸

Los Comités de Práctica de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) y la Sociedad de Tecnología Reproductiva Asistida (SART) concluyeron que la evidencia existente no apoya el uso de ICSI como un procedimiento de rutina para mejorar las tasas de embarazo clínico en parejas con infertilidad inexplicable, bajo reserva ovárica o edad materna avanzada.⁸

FERTILIZACIÓN

El ovocito antes de ser inyectado se somete a una manipulación enzimática y mecánica para ser desprovisto de las células del cumulus e identificar su estado de madurez y la ubicación del primer cuerpo polar. La descripción de la técnica del ICSI exige tomar como punto de referencia para ubicar el huso meiótico ovocitario, el lugar donde se encuentra el primer cuerpo polar, lo cual evita la inyección del espermatozoide sobre el huso, y previene daños sobre

tal estructura. La inyección se realiza mediante una pipeta que contiene un espermatozoide inmovilizado el cual se empuja de manera suave a través de la zona pelúcida, luego se usa presión negativa para romper la zona pelúcida, seguido de una suave aspiración del citoplasma.¹⁷

Esta maniobra de inyección sustituye los pasos descritos de interacción entre gametos, como reacción acrosómica, unión del espermatozoide a la zona pelúcida, penetración e interacción de membranas ovocitaria y espermática. La activación ovocitaria que se observa en la ICSI, sugiere que ciertos componentes espermáticos pueden desencadenarla, aun en ausencia de interacciones de membrana.¹⁸

CONCLUSIÓN

La evaluación integral de la pareja infértil es el primer paso para poderles ofrecer la mejor opción de las técnicas de reproducción asistida disponible en la actualidad. La fertilización *in vitro* convencional y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides es la técnica de reproducción asistida más utilizada en pacientes con factor tubárico o falla en la fertilización, misma que obtiene una adecuada tasa de éxito. Es importante mencionar que los procedimientos utilizados son incapaces de cubrir por completo los efectos deletéreos de la edad, motivo por el cual no existe ninguna técnica para reestablecer la competencia intrínseca de gametos/embriones, por lo que el médico sólo puede adaptar la estrategia adecuada para maximizar la respuesta ovárica y recuperar el mayor número posible de ovocitos.

REFERENCIAS

- Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, Division of Vital Statistics. *Key Statistics from the National Survey of Family Growth*. [Access 1 June 2019] Available at www.cdc.gov/nchs/nsfg/key_statistics/i.htm.
- Chandra A, Copen CE, Stephen EH. *Infertility and impaired fecundity in the United States, 1982-2010: data from the national survey of family growth*. National health statistics reports; no 67. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. 2013.
- Gearhart J, Coutifaris C: *In vitro* fertilization, the Nobel Prize, and human embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*. 2011; 8 (1): 12-15.
- Eskew AM, Jungheim ES. A history of developments to improve *in vitro* fertilization. *Mo Med*. 2017; 114 (3):156-159.
- Steptoe PC, Edwards RG. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978; 2 (8085): 366.
- Wang J, Sauer MV. *In vitro* fertilization (IVF): a review of 3 decades of clinical innovation and technological advancement. *Ther Clin Risk Manag*. 2006; 2 (4): 355-364.
- Bradley J, Voorhis V. *In vitro* fertilization. *N Engl J Med*. 2007; 356: 379-386.
- Giles J, Celada P, Vidal C. *Fecundación in vitro FIV e ICSI*. En: Remohí J, Pellicer A, Simón C, Navarro J, eds. *Reproducción humana*. 5a ed, Madrid: Mc Graw-Hill-Interamericana; 2017. p. 551-561.
- Alper MM, Fauser BC. Ovarian stimulation protocols for IVF: ¿is more better than less? *Reprod Biomed Online*. 2017; 34 (4): 345-353.

10. Speroff L, Fritz M. *Técnicas de reproducción asistida, en endocrinología ginecológica clínica y esterilidad*. 8 ed. Madrid: lippincott Williams & Wilkins; 2015. pp. 1215-1274.
11. Liu H, Zhao H, Yu G, Li M, Ma S, Zhang H et al. Conventional *in vitro* fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI): which is preferred for advanced age patients with five or fewer oocytes retrieved? *Arch Gynecol Obstet*. 2018; 297 (5): 1301-1306.
12. Saiz IC. The embryology interest group: updating ASEBIR's morphological scoring system for early embryos, morulae and blastocysts. *Med Reprod*. 2018; 5 (1): 42-54.
13. Tannus S, Son WY, Gilman A, Younes G, Shavit T, Dahan MH. The role of intracytoplasmic sperm injection in non-male factor infertility in advanced maternal age. *Hum Reprod*. 2017; 32 (1): 119-124.
14. Yang L, Cai S, Zhang S, Kong X, Gu Y, Lu C et al. Single embryo transfer by Day 3 time-lapse selection versus Day 5 conventional morphological selection: a randomized, open-label, non-inferiority trial. *Hum Reprod*. 2018; 33 (5): 869-876.
15. Zhang W, Xiao X, Zhang J, Wang W, Wu J, Peng L et al. Clinical outcomes of frozen embryo versus fresh embryo transfer following *in vitro* fertilization: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Gynecol Obstet*. 2018; 298 (2): 259-272.
16. Hernandez LC. Inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI): una técnica de reproducción asistida con indicaciones. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2003; 54 (3): 157-163.
17. Grimstad FW, Nangla AK, Luke B, Stern JE, Mak W. Use of ICSI in IVF cycles in women with tubal ligation does not improve pregnancy or live birth rates. *Hum Reprod*. 2016; 31 (12): 2750-2755.
18. Li Z, Wang AY, Bowman M, Hammarberg K, Johson L, Safi N et al. ICSI does not increase the cumulative live birth rate in non-male factor infertility. *Hum Reprod*. 2018; 33 (7): 1322-1330.