

La fertilización in vitro y transferencia del embrión en humanos (FIV-TE)

Dr. José Gabriel Acuña Díaz*

I. INTRODUCCION

Sabemos que la infertilidad es un problema de incidencia alta en la consulta obstétrico-ginecológica, llegando hasta cerca del 20-25% en la población general; en un 50% de los casos hay compromiso del factor femenino, en un 40% del masculino; el resto 10%, corresponde a causas desconocidas.

Grandes avances tecnológicos permiten dar solución a las limitaciones de algunas parejas, mediante la fertilización in vitro (FIV) y trasplante de embrión (TE). El método, de una simplicidad genial en su concepción, reviste sin duda dificultades técnicas complejas en su realización, por lo cual el número de criaturas nacidas mediante su aplicación es relativamente pequeño hasta ahora. Aunque la rapidez en el avance de sus logros hace difícil dar un reporte actualizado, creemos apropiado mencionar los principios generales relacionados con esta nueva área, no sin llamar antes la atención sobre el impacto social, legal, científico y religioso de esta nueva área de la ciencia, que es la medicina reproductiva.

Las condiciones para la aplicación FIV-TE son simples, e incluyen:

a. Ovario accesible y funcional, o al menos estimulable para ovular en caso de oligomenorrea o amenorrea.

b. Utero funcional, libre adherencias intracavitarias y otra patología.

c. Cauterización de la trompa para evitar la migración del embrión hacia un muñón restante del oviducto, lo cual causaría embarazo ectópico.

d. Semen fértil, libre de infecciones bacterianas y virales y con posibilidades de ser capacitado in vitro.

Es necesario, antes de finalizar esta introducción, mencionar que la fertilización in vitro abre el campo a investigaciones importantes que en el futuro darán luz a muchos interrogantes sobre infertilidad masculina, mola y coriocarcinoma, causas de pérdidas de embriones, maduración del oocito humano, etc., constituyendo por lo tanto un campo mucho más amplio e importante que el del tratamiento mismo de la infertilidad por lesión de las trompas de Falopio.

Sobre consideraciones jurídicas del problema, remitimos al lector el texto de la conferencia presentada en la Academia Nacional de Medicina por el Dr. Alfonso Tamayo T., en el mes de marzo de 1985.

II. FERTILIZACION IN VITRO (FIV)

1. Recuento Histórico

El primer nacimiento humano después de fecundación extracorpórea tuvo lugar

* Gineco-Obstetra. Clínica Shaio. Bogotá.

el 25 de julio de 1978, en Oldham, Handcanshire, Inglaterra, después de muchos años de experimentos de embriones de mamíferos; el segundo nacimiento, con técnica similar adicionada de conservación del embrión congelado, tuvo lugar en Calcuta, India, el 3 de octubre de 1978; el tercer nacimiento con éxito fue el 14 de enero de 1979 en Edimburgo, Escocia. En la actualidad hay grupos especializados trabajando en Europa (Alemania, Inglaterra, Francia, Rusia, Suecia y otros países), Asia (India, Japón), Australia (con la investigación académica mejor estructurada en el momento) y Estados Unidos; con el mejoramiento de las técnicas de trabajo han aumentado los éxitos del 8% antes de 1981, al 15–20% en el momento, estando cerca de la tasa del 25% de la fecundación natural.

2. Indicaciones

a. Primarias. No hay duda que la indicación más aparente, y quizás la única, es la presencia de oviductos lesionados irreparablemente, o la ausencia de los mismos, que hacen imposible la fertilización in vivo. Igualmente, los casos de fracaso de microcirugía reparadora de trompas.

La oligozoospermia que no responde a otros tratamientos tradicionales es otra indicación; cuando existe oligoastenozoospermia puede recurrirse a la FIV, después de separar del eyaculado la fracción de espermatozoos más móviles, por técnica especial disponible, que sustituye en cierta forma el efecto de la selección natural que normalmente ejercen las vías genitales femeninas.

b. Secundarias. Cuando fallan los tratamientos convencionales. Infertilidad idiopática prolongada por varios años, presencia de anticuerpos contra los espermatozoos en la hembra, factores

cervicales anormales y endometriosis acompañada de infertilidad (muy discutida).

c. Prevención de anomalías congénitas. Análisis del cariotipo del embrión en etapa de blastocisto, para valorar riesgo genético, identificando embriones defectuosos, mediante microbiopsia del trofoblasto; identificación del sexo buscando controlar enfermedades ligadas al mismo.

3. La recuperación del oocito

Deben ser tenidas en cuenta algunas consideraciones biológicas acerca de la capacidad de fertilización de oocitos de mamíferos; en la actualidad los oocitos maduros fertilizados se obtienen de preferencia cuando han completado la mayor parte de su ciclo in vivo, constituyendo los cambios nucleares signos morfológicos de maduración, desencadenados por la liberación de la acción inhibidora ejercida por las células del folículo sobre ellos. Además de los cambios nucleares existen los cambios bioquímicos (tardíos), conocidos como "maduración citoplasmática", representada por aparición del factor de crecimiento del pronúcleo masculino. Un tercer componente de maduración es la estimulación funcional de las células del cúmulus oophonus y la corona radiante, por gonodotropinas, para facilitar la capacidad fertilizante del espermatozoo.

Métodos:

Se han empleado dos tipos.

a. La superovulación, que busca aumentar el número de oocitos recuperados y asegura el control preciso del momento de la recuperación (no permite condiciones de implantación óptimas).

b. La recuperación de oocitos en el curso de un ciclo natural, que busca

mejorar las posibilidades de implantación, aunque con menor número de ellos.

c. Resulta más práctica la combinación de técnicas de superovulación, FIV, cultivo de embrión y conservación por congelación de embriones preimplantados, retrasando su transferencia para ciclos menstruales posteriores que no hayan sufrido manipulación, en los cuales la única técnica adicional necesaria es la vigilancia precisa del nivel máximo de LH para planear la reimplantación, sincronizada con la iniciación de una fase luteínica normal endometrial; combinando así la conservación por congelación y la superovulación se lograrán transferencias repetidas de embriones, en varios ciclos naturales siguientes, sin necesidad de recurrir a recuperaciones repetidas de oocitos por laparoscopia.

Recuperación en el curso de un ciclo natural:

Aunque tiene la ventaja de asegurar una fase luteínica equilibrada, favorable para la implantación, requiere determinación precisa del pico de LH, factor crítico indispensable para realizar la aspiración del contenido del folículo preovulatorio, por laparoscopia.

A pesar de su gran precisión, la valoración de L.H. por radio-inmunoanálisis es demorada y se requieren otros métodos rápidos de valoración de radioreceptores vigilando los niveles mediante muestras de sangre tomadas cada 3 horas. Se emplea también la valoración del crecimiento del folículo por ultrasonido (ecografía), controlando su tamaño progresivo hasta que llegue a los 20 mm. de diámetro aproximadamente, para efectuar el procedimiento.

A pesar de la ventaja teórica de asegurar una fase luteínica más favorable para una buena implantación, el empleo del ciclo natural para obtener los oocitos

no ha resultado muy productivo. En una serie de Steptoe y Edwards en 56 casos favorables tuvieron 11 fracasos; de los 45 oocitos recuperados, 10 no fertilizaron; de 35 fertilizados, 3 no segmentaron; de 32 embriones transferibles en 4 no se logró realizarla; de 28 transferidos solo 4 implantaron y de éstos, sólo 2 dieron nacidos vivos.

Recuperación después de inducción folicular:

El problema de la baja recuperación de oocitos fecundables se resolvió adaptando mujeres cíclicas al método empleado para provocar ovulación en mujeres anovulatorias.

Existen varios esquemas, empleados en forma especial por los diferentes grupos, de acuerdo a su experiencia y a la selección de cada caso, que se pueden resumir o esquematizar así, a manera de ejemplo:

a. Gonadrofina menopaúsica humana IM (hMG—Pergonal) a partir del día 3o. del ciclo, cada tercer día, por 3 veces; control seriado de eliminación de estrógenos en 24 horas, con el fin de evitar una estimulación excesiva del ovario (1,3%) y establecer el momento preciso de aplicación de la hCG, aceptando valores de dichos estrógenos no inferiores a 50-100 ugr/orina día; administración de 1 inyección I.M. de 5.000 U.I. de gonadotropina coriónica humana (HCG-APL-Primogonil) al día 11o. del ciclo.

La ovulación se suele producir 32 horas después de esta aplicación, momento en el cual los folículos están maduros, sin romperse.

Se comprobó que el número de folículos así obtenidos era 9-10 en promedio, el cual no disminuía al reducir la dosis de HMG a la mitad.

b. Citrato de clomifeno (clomid-omifin) un comprimido de 50 mgrs. por 5 días, iniciando el día 5o. del ciclo, seguido de 1 ampolla IM de hCG de 5.000 U.I. (Primogonil) el día 11o. del ciclo, para coincidir con el aumento de estrógeno, que debe controlarse igualmente en forma seriada.

c. El método más empleado: hMG-hCG 2 ampollas hMG IM c/día (iniciando el 4o. del ciclo), 4 veces. Monitorización del ciclo con:

- a. Control clínico cervical.
- b. Control de E_2 sérico por RIA y ecográfico de maduración y crecimiento folicular, dependiendo del estado del cuello generalmente desde el 8o. del ciclo.

Suspender hMG cuando el E_2 esté entre 300-1.000 pg/ml; hCG 5.000 V.I. I.M. 50 horas después de hMG. Laparoscopia 32-34 horas post hCG.

Técnicas de recuperación

La obtención de oocitos se hace mediante laparoscopia infraumbilical corriente, empleando de preferencia el neumoperitoneo con mezcla de 90% de nitrógeno, 5% de oxígeno y 5% de dióxido de carbono, con el fin de equilibrarla con los medios de cultivo, que están amortiguados con bicarbonato. Se instala luego una pinza-trocar en fosa iliaca derecha, a unos 8 cm. de la línea media, para fijar el ligamento ovárico. La aspiración se hace mediante punción adicional con aguja de bisel corto, de diámetro inferior de 1 mm., preferiblemente de doble luz y unos 8 cm. de largo, conectada a aparato de aspiración especial con dispositivo de vacío ajustado a unos 120-140 mm. de Hg.

La aspiración debe lograrse en unos 20 minutos; al terminarse se lava la aguja con medio de cultivo que contiene hepa-

rina, para evitar la coagulación, con el fin de que los oocitos no queden dentro de ella; se inspeccionan cuidadosamente los ovarios para descubrir cualquier hemorragia, usualmente muy pequeña.

Existen contraindicaciones para la recuperación laparoscópica:

a. Baja eliminación de estrógenos urinarios; cifras inferiores a 50 ug/día (debe ser mayor de 100 ug/día), son índice de poca respuesta folicular.

b. Endometriosis ovárica sin tratamiento.

c. Adherencias anexiales y periováricas no operadas previamente.

Momento adecuado para la recuperación laparoscópica: la ovulación natural se produce usualmente 30-36 horas después del brusco aumento de L.H.; la inducida, 36-40 horas después de la aplicación I.M. de hCG. En base a estos datos debe planearse la laparoscopia.

4. Fertilización

Los conocimientos sobre fertilización humana, adquiridos en estudios in vitro con microscopio electrónico, permiten resumir sus etapas principales, cronológicamente, así:

a. Maduración del oocito (mencionado en el punto 1-3), caracterizada por cambios nucleares, cambios citoplasmáticos y estímulo funcional de la corona radiante y cúmulus oophurus.

b. Capacitación del espermatozoo, o condicionamiento de su membrana, cuando los espermatozoides son agregados al medio de cultivo que contiene los oocitos, deben atravesar el cúmulus y la zona pelúcida, lo cual logran por su propia movilidad, combinada con la actividad de enzimas.

c. Reacción del acrosoma.

d. Paso del espermatozoo a través de la zona pelúcida. Aquí se inicia un proceso de vesiculación de la región acrosómica favoreciendo la penetración de los espermatozoides al espacio perivitelino, los cuales en contacto con la membrana vitelina desencadenan un mecanismo de control de la poliespermia que impide el paso de otros espermatozoides suplementarios, restablece la meiosis en el oocito, interrumpida en la metafase II antes de la ovulación, hasta la formación del segundo cuerpo polar (reducción a la mitad de los cromosomas maternos).

e. Fusión del espermatozoo fertilizante con el oocito.

f. Activación de mecanismos que logran bloquear la polispermia y la iniciación de la segunda división meiótica.

g. Desarrollo de los pronúcleos masculino y femenino, réplica de DNA en cada uno de ellos, rotura de la membrana pronuclear, condensación de cromosomas en la placa ecuatorial organizados en el primer huso de segmentación. Esta etapa constituye el punto culminante de la fertilización, la cual queda demostrada cuando se cumplen estas condiciones: presencia de uno o más cuerpos polares en el espacio perivitelino, presencia de dos pronúcleos en el ooplasma y presencia de restos del flagelo del espermatozoo fertilizante dentro del ooplasma.

5. Preimplantación

La etapa inicial del desarrollo del embrión humano se inicia con la primera segmentación, muy lenta, seguida de otras en un ritmo cada vez más acelerado, favorable; en la etapa de 8 células hay una especie de compactación, con cambios en la forma de los mismos, al unirse unas a otras, estableciendo uniones que

llevan a la formación de una cavidad con microambiente interno, ya en la etapa de mórula; al progresar la división se llega a la formación de blastocisto, que tiene cuatro componentes diferentes: zona pelúcida, capa trofoblástica de células aplanadas que la reviste internamente, masa celular interna y blastocele lleno de líquido; al abrirse entonces la zona pelúcida el blastocisto sale, como abandonándola, y está en condiciones, finalmente, de ser implantado en el endometrio.

Durante toda esta etapa son posibles, con recursos de alta tecnología (microscopio de video, videotapes, filtros de densidad neutra, microbiopsias, etc.), los controles de fertilización y crecimiento que permiten descubrir anomalías cromosómicas, alteraciones del desarrollo, etc.

III. TRANSFERENCIA DEL EMBRION

1. Técnica

Aunque se ha ensayado la transferencia quirúrgica, es evidente que la mejor forma de realizarla es la no quirúrgica, cuyo procedimiento es similar al de la inseminación artificial. Paciente en posición ginecológica, sin anestesia. Sonda fina de 1.5 mm. de diámetro montada en jeringa graduada de 1 ml, con la cual se toma el embrión, que se deposita en la cavidad uterina; al extraer la sonda se comprueba con microscopio que el embrión ha sido transferido.

El procedimiento se realiza en pocos minutos, la paciente debe permanecer acostada 24 horas; luego, varios días en reposo, hasta la reiniciación de su actividad normal pasados 4-5 días. Si no hay éxito en un primer ciclo se aconseja un período de espera, 1-2 ciclos, antes de un nuevo procedimiento, hasta unos 4 procedimientos como máximo.

2. Momento de transferencia

Pensar en el aforismo que dice: "el embrión esperará al endometrio, pero éste no esperará al embrión". Para asegurar la implantación debe existir una perfecta sincronización entre el desarrollo embrionario y el endometrial; parece que sólo se logra buen resultado en la transferencia cuando los embriones están en etapa de 8-16 células.

3. Soporte

Se han ensayado diferentes terapéuticas de sostén, al parecer sin buen resultado, para substituir posibles deficiencias del cuerpo amarillo; las más conocidas

son Progesterona, inyecciones de hCG, combinación de ellas, Clomifen, Parlodel. En las series que obtienen oocitos de ciclo natural hay menor tendencia a su empleo.

4. Vigilancia del embarazo

Toda gestación por FIV-TE será considerada como de alto riesgo. Se han propuesto protocolos especiales para manejo durante la gestación y al término, que no son del caso detallar en este resumen y pueden encontrarse en artículos y textos de la especialidad, e incluyen controles frecuentes, laboratorio hormonal, ecografía, etc.

BIBLIOGRAFIA

1. SPEROFF/L. GLASS R. y KASE N. *Clinical Gynecology, endocrinology-infertility*. Tercera edición. Williams. Cap. 20. 523, 1983.
2. SONPART P. Estado actual de la FIV y la TE en la especie humana. *Clínicas Obst. Gin.* Vol. 3 697-1980.
3. ACOSTA A. JONES W. Fertilización extracorpórea y transferencia del embrión humano. *Estudios de Población*. Vol. 8 No. 16-15/1983.
4. AGUINAGUA H. Estrategias para el mejoramiento de la Salud Reproductiva. *Estudios de población*. Vol. 8. No. 1-6 55/1983.
5. TAMAYO T.A. Consideraciones jurídicas sobre fertilización in vitro. Conferencia Academia de Medicina. Bogotá 7-III/85. Sin publicar.