



World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences

WJPLS

www.wjpls.org

Article Received on 06/01/2024 Article Revised on 26/01/2024 Article Accepted on 16/02/2024

BREVE HISTORIA DE LA FECUNDACIÓN IN VITRO EN EUROPA: UNA VISIÓN DESDE DENTRO

Jan Tesarik*

Clínica MARGen, Camino de Ronda 2, 18006 Granada, España

ABSTRACTO

El primer nacimiento después de una fertilización in vitro (FIV) en humanos se logró en Gran Bretaña en 1978. Poco después esta técnica se aplicó con éxito en diferentes países europeos. El autor de este artículo ha estado involucrado en el desarrollo de diferentes procedimientos clínicos y de laboratorio utilizados en la FIV desde sus inicios hasta la actualidad, en nueve países diferentes, principalmente en Europa (España, Francia, Italia, Checoslovaquia, Rusia) y ocasionalmente fuera de Europa (Brasil, Egipto, Arabia Saudita, Emiratos Árabes Unidos). Por lo tanto, en lugar de una revisión observacional escrita por alguien desde fuera, este artículo presenta la historia vista desde adentro. El artículo también esboza ideas sobre las posibles técnicas futuras, aún en el camino de desarrollo y pruebas en cuanto a su seguridad y eficiencia.

PALABRAS CLAVE: Fertilización in vitro, estimulación ovárica, tratamiento de espermatozoides y ovocitos, inyección intracitoplasmática de espermatozoides, uso de células germinales masculinas inmaduras, gametos elaborados a partir de células somáticas.

INTRODUCCIÓN Y FONDO

Muchas parejas humanas sufren de infertilidad debido a diferentes factores, tanto de origen masculino como femenino. En la actualidad, la fertilización in vitro (FIV) puede ayudar, con más o menos éxito. en la mayoría de estos, aunque no en todos, casos. Sin embargo, no fue así al principio,[1] y las indicaciones terapéuticas de la FIV han sido en continua expansión a lo largo de los últimos 45 años.[2]

Todavía como un estudiante de medicina en la antigua Checoslovaquia, donde nació, fui enviado a Francia por el principal promotor de FIV en ese país, el Profesor Milan Dvorak, con el fin de perfeccionar nuestros protocolos de estimulación ovárica y del manejo de gametos masculinos y femeninos. Como resultado de esta nueva experiencia, logré obtener ovocitos humanos maduros y tempranos, así que embriones de preimplantación. Al inicio esos ovocitos y embriones fueron analizados por la microscopia electrónica, antes de proceder a los primeros ensayos clínicos.[3,4] Posteriormente se procedió a la aplicación clínica, resultando en un parto normal, en el año 1982.

En el mismo período desarrollamos una nueva técnica, mediante la cual los espermatozoides y los ovocitos se transfirieron aloviducto durante su reparación microquirúrgica laparotómica.[5] Esta fue la primera demostración de que se los espermatozoides y los ovocitos pueden formar embriones normales tras ser transferidos al oviducto.

Mientras que el primer nacimiento de un bebé mediante FIV se logró en una pareja con gametos aparentemente normales, en quienes la infertilidad fue causada por una obstrucción tubárica bilateral,[1] l'evolución posterior de FIV demostró que la técnica también puede adaptarse para casos de anomalías de los espermatozoides tanto que de las de los ovocitos.[2] Esta evolución será resumida en el texto adicional a continuación.

Anomalías de espermatozoides

Las anomalías espermáticas actualmente conocidas incluyen problemas de numeración, motilidad, morfología e integridad del ADN. Después de dejar Checoslovaquia, continué mi carrera en Francia, principalmente en el Hospital Americano de Paris, alternando con la Universidad de Granada en España. Durante este período, mi equipo descubrió una serie de nuevas anomalías en los espermatozoides, no relacionadas con los descritos anteriormente. Para empezar, se hizo aún más evidente que la preparación de los espermatozoides para la fertilización (capacitación y reacción acrosómica) son eventos finamente sintonizados, cuyas perturbaciones pueden seriamente comprometer la

fertilización. La capacitación de los espermatozoides depende de la eliminación de diversos factores, de origen seminal, desde la superficie del los espermatozoide. Normalmente esta limpieza ocurre durante el paso de los espermatozoides a través del oviducto. Sin embargo, en la FIV este paso debe ser realizado in vitro mediante un lavado de esperma en medio de cultivo. Los espermatozoides capacitados adquieren la capacidad de desarrollar una forma específica de movimiento, llamada hiperactivación, que facilita la penetración de los espermatozoides a través de la envoltura más externa del ovocito: el cumulus oophorus, que consiste en modificadas células de la granulosa y un material intercelular viscoso.

Al mismo tiempo, los espermatozoides se vuelven capaces de unirse a la superficie de la siguiente envoltura ovocitaria, la zona pelucida (ZP). Una proteína específica de ZP, denominada ZP3, actúa sobre un receptor complementario, ubicado en la membrana plasmática cubriendo la superficie del espermatozoide y, al activarse, inicia una cadena de eventos de señalización intracelular en el espermatozoide que conducen a la reacción acrosómica (RA). RA significa excitosis del acrosoma del esperma, un lisosoma modificado ubicado en la porción anterior de la cabeza del espermatozoide. Enzimas hidrolíticas del acrosoma permiten la penetración del espermatozoide a través del ZP del ovocito. Sin embargo, para que esto ocurra la RA debe sincronizarse con el paso de los espermatozoides.[6] En consecuencia, definimos dos opuestos, pero igualmente nocivas patologías de RA: insuficiencia de RA y precocidad de la RA. La primera condición significa que los espermatozoides carecen de receptores funcionales para inducir RA en respuesta a ZP3, mientras que este último se refiere a la condición en la que la RA ocurre antes del contacto con los espermatozoides con ZP. Porque la RA implica una pérdida de la membrana superficial del espermatozoide, esta última condición impide que se produzca la unión entre espermatozoides y ovocitos.

Los tratamientos para ambas condiciones fueron estudiados y los tratamientos adecuados permitieron el éxito de la FIV en muchos casos.[7]

Sin embargo, poco tiempo después todo cambió, debido a la introducción de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) para ayudar a la FIV.[8] ICSI obvia la importancia de la sincronización de RA, porque cada espermatozoide es introducido en un ovocito mediante micromanipulación. Por lo tanto, la evaluación de RA, tanto la insuficiencia y la prematuridad, quedó relegada al uso diagnóstico para ayudar a comprender la causa de infertilidad natural, y se recomendó ICSI a todas las parejas en esta condición.[9]

El daño (fragmentación) del ADN del espermatozoide es causado por factores oxidativos que pueden resultar de un estilo de vida poco saludable (como fumar), pero también puede aparecer sin ninguna explicación aparente. El ADN del espermatozoide está parcialmente protegido contra el daño oxidativo por su asociación con proteínas (protaminas). Sin embargo, algunos de los espermatozoides pueden tener alteraciones locales de esta protección que muestra minivacuolas intranucleares que sólo pueden visualizarse en los espermatozoides vivos mediante microscopía óptica de gran aumento.

Así puede mejorar la selección de espermatozoides con un gran aumento los resultados de ICSI al evitar la inyección de espermatozoides mostrando esta anomalía.[10] Sin embargo, el tratamiento más utilizado en esta afección es un tratamiento directo: acción antioxidante utilizando mezclas de antioxidantes tomados por vía oral durante 2 a 3 meses.[11]

Finalmente, la espermatogénesis se puede detener antes de la etapa de espermatozoides maduros en algunos hombres. Antes de la era de ICSI, esta condición no tenía solución viable. Gracias a los experimentos pioneros con animales, dirigidos por Profesor Ryuzo Yanagimachi, quedó claro que la descendencia normal se puede obtener mediante la fertilización de ovocitos de ratón con espermátidas redondas.[12] Alentados por este logro, probamos la FIV con espermátidas redondas en humanos, pero usando inyección de espermátidas redondas (ROSI), una técnica derivada de ICSI, en lugar de electrofusión utilizada por el grupo de Yanagimachi. La técnica funcionó

bien y condujo al nacimiento de los dos primeros bebés humanos sanos del mundo concebidos con espermátidas redondas.[13] Estos resultados fueron posteriormente confirmados por nosotros mismos[2] y un otro estudio independiente.[14] Además también logramos embarazos en casos de hombres con parada de espermatogénesis en la etapa de espermatoцитos primarios, mediante el cultivo de segmentos de túbulos seminíferos en medio enriquecido con hormonas, lo que lleva a la evolución de los espermatoцитos a espermátidas redondas que posteriormente fueron inyectadas en ovocitos.[15]

Anomalías de los ovocitos

En Europa, la mayoría de las anomalías de los ovocitos detectadas en las parejas infértiles hoy en día están relacionadas con el aumento de la edad reproductiva femenina relacionada con el retraso de la reproducción por diferentes razones. Este tipo de anomalías pueden ser relacionados con alteraciones nucleares y citoplasmáticas de los ovocitos.

Las anomalías nucleares y citoplasmáticas suelen resultar, respectivamente, en errores meióticos y aneuploidía, al envejecimiento mitocondrial y el agotamiento del stock de ARNm maternos utilizados durante las primeras etapas del desarrollo postfertilización. De hecho, en todas las especies animales el desarrollo embrionario temprano es dependiente de especies de ARNm maternos almacenadas en el citoplasma del ovocito. El momento de activación de la transcripción y expresión del genoma embrionario varía entre especies, ocurriendo relativamente tarde en humanos. Nosotros demostramos previamente que los primeros signos entre la etapa de desarrollo de 4 y 8 células,[16] mientras que los primeros signos ultraestructurales de la expresión del genoma embrionario sólo se puede observar a partir de la etapa de 8 células.[17] En consecuencia, la escasez de ARNm materno almacenado en los ovocitos humanos son un problema más grave en comparación con especies en las que se produce la activación de genes embrionarios más temprano.

Interesantemente, un ensayo controlado aleatorio demostró que la inclusión de la hormona

del crecimiento en la estimulación ovárica mejoró significativamente las tasas de nacidos vivos en mujeres mayores de 40 años,[18] aparentemente correspondiente a la disminución en la secreción endógena de esta hormona relacionada con la edad.

Técnicas que enriquecen el citoplasma de ovocitos más viejos con el de ovocitos jóvenes de las donantes[19,20] también demostraron ser de ayuda. Por otro lado, existen dudas sobre la utilidad de pruebas genéticas previas a la implantación para detectar aneuploidías porque esta técnica puede causar daño incluso a los ovocitos sanos.[21]

Receptividad uterina (endometrial) para embriones

La receptividad endometrial depende críticamente de progesterona secretada por el cuerpo lúteo (CL) durante la fase lútea y, posteriormente, después del desplazamiento luteoplacentario, por la placenta. Ambas funciones a menudo se ven perturbadas por protocolos de estimulación ovárica.[22] Por lo tanto, los niveles de progesterona en el suero sedeben controlarse con frecuencia, al menos el día de la transferencia de embriones y luego una vez a la semana para prevenir las consecuencias de una posible deficiencia de CL y de un retraso en el desplazamiento luteoplacentario, para administrar progesterona exógena cuando la endógena sea demasiado baja con respecto a la duración del embarazo. [22]

En algunos casos, relativamente raros, el fracaso de la implantación y la pérdida del embarazo pueden ocurrir a pesar de ser normales los niveles séricos de progesterona. En esta condición, varios tratamientos experimentales, incluido un raspado del endometrio,[23] lesión intencional al endometrio usando instrumentos, más frecuentemente un catéter Pipelle insertado a través del útero, e inyecciones subcutáneas de la hormona del crecimiento,[24] tuvieron éxito en algunos casos.

Sin embargo, la eficacia de estos tratamientos aún está por determinar y ser corroborada por análisis aleatorios suficientemente potentes.

CONCLUSIONES

La mayoría de las anomalías de los espermatozoides se resolvieron mediante el uso de ICSI y ROSI, y la receptividad uterina también puede ser controlada con relativa facilidad. Por otro lado, anomalías de los ovocitos, principalmente aquellas relacionadas con la edad avanzada de la mujer, siguen siendo un problema abierto a futuras investigaciones. Creación de ovocitos humanos artificiales utilizando las células de la misma paciente indican una dirección. Los núcleos de células somáticas son una posible aproximación a este problema,[25] pero se necesita más investigación para estar seguros sobre la eficiencia y seguridad de esta técnica.

LITERATURA

1. Steptoe PC, Edwards RG. *Lancet*, 1978; 2(8085): 366.
2. Tesarik J. Forty years of in vitro fertilisation: a history of continuous expansion. In: Tesarik J (ed.). *40 Years After In Vitro Fertilisation: State of the Art and New Challenges*, Cambridge; Cambridge Scholars Publishing, 2019, 1-24.
3. Dvorak M, Tesarik J. Ultrastructure of human ovarian follicles. In: Motta PM, Hafez ESE (eds.). *Biology of the Ovary*, The Hague, Springer, Martinus Nijhoff, 1980; 121-137.
4. Tesarik J, Dvorak M. *J Ultrastruct Res*, 1982; 78(1): 60-72.
5. Tesarik J, Pilka L, Dvorak M, Travník P. *Fertil Steril*, 1983; 39(4): 472-475.
6. Tesarik J, Testart J. *Hum Reprod*, 1989; 4(7): 729-741.
7. Tesarik J, Mendoza C. *Fertil Steril*, 1995; 63(1): 153-157.
8. Palermo J, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. *Lancet*, 1992; 340(8810): 17-18.
9. Tesarik J. Assisted reproduction: new challenges and future prospects. In: Tesarik J (ed.). *40 Years After In Vitro Fertilisation: State of the Art and New Challenges*, Cambridge; Cambridge Scholars Publishing, 2019; 269-286.
10. Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca A-M, Cohen Bacrie P, Tesarik J. *Reprod Biomed Online*, 2006; 12: 19-25.
11. Greco E, Romano S, Iacobelli M, Ferrero S, Baroni E, Minasi MG, Ubaldi F, Rienzi L, Tesarik J. *Hum Reprod*, 2005; 20(9): 2590-2594.
12. Ogura A, Matsuda J, Yanagimachi R. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1994; 2; 91(16): 7460-7462.
13. Tesarik J, Mendoza C, Testart J. *N Engl J Med*, 1995; 24; 333(8): 525.
14. Tanaka A, Suzuki K, Nagayoshi M, Tanaka A, Takemoto Y, Watanabe S, Takeda S, Irahara M,

- Kuji N, Yamagata Z, Yanagimachi R. *Fertil Steril*, 2018; 110(3): 443-451.
15. Tesarik J, Bahceci M, Ozcan C, Greco E, Mendoza C. *Lancet*, 1999; 353(9152): 555-556.
 16. Tesarik J, Kopecny V, Plachot M, Mandelbaum J. *J Reprod Fert*, 1986; 78: 463-470.
 17. Tesarik J, Kopecny, Plachot M, Mandelbaum J. *Dev Biol.*, 1988; 128(1): 15-20.
 18. Tesarik J, Hazout A, Mendoza C. *Hum Reprod*, 2005; 20(9): 2536-2541.
 19. Cohen J, Scott R, Schimmel T, Levron J, Willadsen S. *Lancet*, 1997; 350(9072): 186-187.
 20. Tesarik J. *Reprod Biomed Online*, 2017; 35: 432.
 21. Tesarik J, Mendoza-Tesarik R, Mendoza C. *Gynecol Reprod Health*, 2018; 2: 1-5.
 22. Tesarik J, Conde-López C, Galán-Lázaro M, Mendoza-Tesarik R. *Front Reprod Health*, 2020; 2: 595183.
 23. Kang Y, Wang Z, Yang Y, Liang H, Duan X, Gao Q, Yin Z. *Medicine (Baltimore)*, 2022; 101(33): e30150.
 24. Altmäe S, Mendoza-Tesarik R, Mendoza C, Mendoza N, Cucinelli F, Tesarik J. *Journal of the Endocrine Society*, 2018; 2(1): 96-105.
 25. Tesarik J, Mendoza C, Mendoza-Tesarik R. *Reproduction and Fertility*, 2021; 2(1): H1-H8.