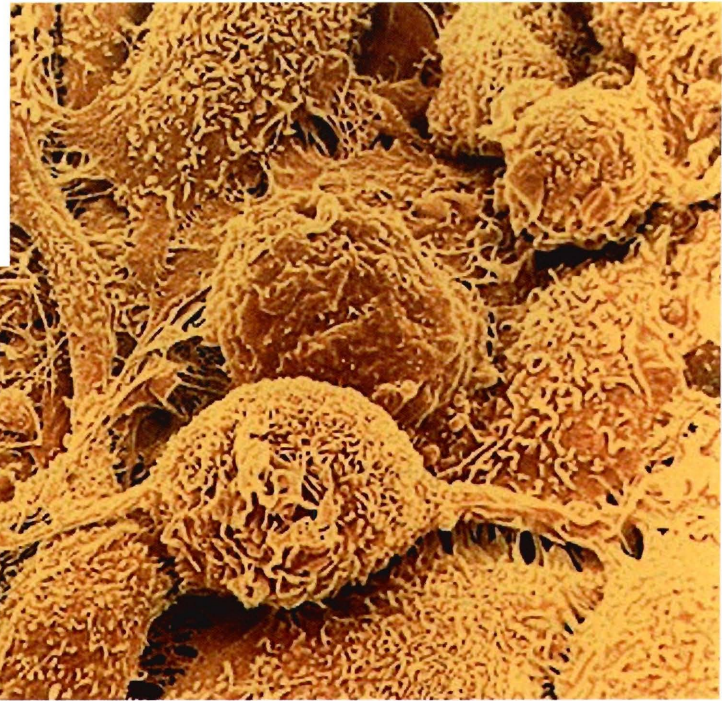




Micrografia d'un òvul humà fertilitzat. K. H. Kjeldsen.



Micrografia electrònica d'escombratge acolorida de cèl·lules mare embrionàries en cultiu. Yorgos Nikas.

## INVESTIGACIÓ EN EMBRIONS HUMANS

Escrit per:

**Montserrat Boada i Anna Veiga**

Institut Universitari Dexeus

L'aparició de les tècniques de reproducció assistida (TRA) als anys seixanta i en concret de la fecundació *in vitro* (FIV) com a tècnica d'aplicació clínica contra l'esterilitat humana no fou un fet puntual sinó que va ser el resultat de molts anys d'investigació i d'intents frustrats, no solament pel que fa a l'espècie humana sinó també als models animals.

Els primers intents de fecundació *in vitro* van ésser realitzats al segle XIX, utilitzant l'eríç de mar i l'estrella de mar. Paral·lelament es va començar a treballar amb mamífers fent servir conills i cobais. Tot i això es van necessitar uns quants anys més per desenvolupar les tècniques de capacitat dels espermatozoides, recuperació d'òocits, cultiu *in vitro* i transferència embrionària, així com per adequar-les a les diferents espècies animals (1). Va ser l'any 1959 quan Chang va fer públic el primer embaràs després de dur a terme un assaig de FIV en un conill (2). Pel que fa a l'espècie humana, Steptoe i Edwards començaren un projecte conjunt l'any 1968, i

deu anys més tard nasqué a Anglaterra el primer bebè concebut per FIV (3). Al nostre país, el primer èxit va ser Victòria-Anna, que va néixer a Barcelona el 12 de juliol de 1984 (4).

Actualment la tècnica de FIV s'aplica habitualment com a tractament per combatre l'esterilitat. Encara, però, es requereix una contínua investigació per tal de perfeccionar la tècnica i millorar-ne els resultats. De la mateixa manera que va succeir al principi, els models animals poden ser de gran utilitat, però és important recalcar que no sempre representen una alternativa possible a la investigació amb embrions humans, perquè la informació que s'obté dels models animals no sempre es pot extrapolar a l'espècie humana. És aquest fet el que ens porta a la necessitat d'emprar embrions de l'espècie humana per poder dur a terme projectes d'investigació els resultats dels quals puguin arribar a tenir aplicació clínica.



Embrí humà en estadi de 4 cèl·lules al segon dia de desenvolupament *in vitro*.

## Principals línies d'investigació en embrions humans

### 1. Investigacions bàsiques sobre processos espècies-específics

Tota investigació sobre el procés de fecundació mateix, o que hi estigui relacionada, hauria de realitzar-se en embrions humans, ja que la fecundació és un procés particular de cada espècie i amb diferències interespecífiques. Això inclouria qualsevol investigació relacionada amb medis de cultiu emprats en la FIV durant la separació del semen i cultiu de gàmetes, estudis sobre la congelació d'òcits i la seva viabilitat postdescongelació, utilització d'espermàtides i aspectes relacionats amb el diagnòstic preconcepcional entre d'altres.

La utilització d'embrions humans també pot ser de gran utilitat en l'estudi de l'expressió gènica, un dels reptes actuals de la genètica. És mundialment sabut que el Projecte Genoma no és un tema tancat sinó que, al contrari, obre una nova era dins del món de la genètica moderna.

Es té coneixement de l'existència de diferències espècie-específiques en els fenòmens d'*imprinting* i d'inactivació del cromosoma X entre d'altres. La manca de disponibilitat d'embrions humans i, en conseqüència, l'extrapolació del model animal a l'humà s'ha emprat àmpliament en l'estudi de l'expressió gènica. Tot i que el desenvolupament embrionari del ratolí és aparentment molt semblant al de l'espècie humana durant els primers estadis, és evident que el fenotip adult d'ambdues espècies difereix considerablement. Sembla, doncs, inevitable la utilització d'embrions humans per a la investigació d'aquests fenòmens, no essent vàlid el model animal.

### 2. Optimització de les tècniques de FIV

Dins d'aquest apartat s'inclourien totes les investigacions relacionades amb la FIV i tècniques afins com la congelació d'embrions, que pretenen incrementar el tant per cent d'èxit augmentant la taxa de nen viu i sa a casa. S'hi inclourien tant les investigacions de tipus clínic (nous fàrmacs, protocols d'estimulació, mètodes i procediments) com les biològiques (noves tècniques de laboratori, medis de cultiu, etc.). Tenint en compte que l'esterilitat afecta més del 15% de les parelles en edat fèrtil i que en molts casos serà la FIV la tècnica d'elecció per

resoldre el problema, és comprensible no limitar la investigació per tal que aquesta tècnica pugui seguir avançant.

### 3. Investigació sobre malalties congènites i noves possibilitats del diagnòstic genètic preimplantacional (DGP)

Si bé ja han passat més de 10 anys des del primer embaràs aconseguit rere DGP (5), encara són moltes les malalties genètiques que no poden ésser diagnosticades mitjançant aquesta tècnica. La continuïtat de la investigació en aquest camp permetrà millorar el rendiment de la tècnica i ampliar el nombre de parelles susceptibles de ser tractades amb DGP amb la fi d'evitar la transmissió de la malaltia a la descendència.

### 4. Obtenció de cèl·lules mare i desenvolupament de línies cel·lulars

La creació de línies cel·lulars establertes a partir de cèl·lules mare és de gran importància, i pot tenir diferents aplicacions dins l'estudi de l'embriogènesi humana, a més de comportar el descobriment de nous gens, facilitar la realització de tests teratogènics de nous fàrmacs, possibilitar el progrés de la teràpia gènica i permetre el desenvolupament *in vitro* de cèl·lules i teixits diferenciats. És precisament aquesta última aplicació la que ha creat màxim interès pel seu incalculable valor terapèutic, perquè s'espera que en un futur aquestes línies cel·lulars es puguin aplicar en el tractament de regeneració de teixits malmesos ja sigui per accident, malalties degeneratives com les alteracions neurodegeneratives, accidents vasculars, lesions de medul·la òssia, fallida cardíaca o diabetis mellitus, entre d'altres.

Si bé existeixen diferents fonts per l'obtenció de cèl·lules mare (embrions, teixits fetals, cordó umbilical, placenta i alguns teixits adults com la medul·la òssia o la sang), l'obtenció de cèl·lules mare a partir d'embrions no pot obviar-se perquè és una de les fonts més valuoses. Encara que l'obtenció de cèl·lules mare adultes comporta menys objeccions de tipus ètic que la de les d'origen embrionari, els resultats obtinguts fins ara a partir de cèl·lules adultes no són tan satisfactoris ja que són cèl·lules "multipotents" que poden diferenciar-se en cèl·lules de diferents llinatges cel·lulars però no en tots. A diferència de les cèl·lules mare d'origen embrionari, la seva obtenció és més complexa, acostumen a presentar menys plasticitat i necessiten la transdiferenciació per poder assolir les característiques i el funcionalisme d'una altra estirp cel·lular diferent de la seva.

### Possibles fonts d'embrions humans per a investigació

Considerant únicament les possibilitats teòriques, sense realitzar cap tipus de valoració ètica i sense tenir en compte les limitacions legals que poden variar segons cada país i en funció de la normativa vigent, els embrions per utilitzar en investigació poden tenir diferents procedències.

#### A) Embrions gamètics

##### 1. Embrions creats específicament per a investigació a partir d'òcits i espermatozoides donats per aquest propòsit

Les investigacions sobre els mecanismes relacionats amb el procés de la fecundació no poden realitzar-se amb embrions ja formats sinó que s'han d'emprar gàmetes (òcits i espermatozoides)

procedents de donacions i crear embrions especialment per aquest fi. La possibilitat de crear embrions a partir de gàmetes de característiques ben determinades permet millorar els resultats de la investigació. Tot i que l'opinió majoritària és contrària a la producció d'embrions destinats a investigació, alguns experts com el Grup d'Opinió de l'Observatori de Bioètica i Dret del Parc Científic de Barcelona consideren que és recomanable, sota control de les autoritats sanitàries competents, la creació d'embrions per a investigació quan no sigui possible emprar embrions somàtics o embrions gamètics ja existents (6).

## 2. Embrions sobrants de la FIV

Com a conseqüència de l'aplicació de les tècniques de FIV s'ha generat durant els últims anys un elevat nombre d'embrions congelats que en alguns casos es guarden en els centres de TRA sense una opció reproductiva clara. Es tracta d'embrions els progenitors dels quals, per motius diversos, no desitgen o no poden utilitzar-los ni per la seva pròpia reproducció ni per donació a tercers, i que per desig explícit la parella dona per a la investigació. Estudis realitzats recentment al nostre centre posen de manifest que un 74% de les parelles que congelen embrions acceptarien donar-los per investigació quan ja no els necessitin per a la seva reproducció (7).

És important assenyalar que els embrions morfològicament no viables o bé genèticament anormals presenten limitacions importants quant a la seva utilitat en investigació en tractar-se, normalment, d'un model no extrapolable a la normalitat. Així doncs, tot i que els esmentats embrions poden ser utilitzats per alguna investigació determinada, no són el material idoni per a la majoria d'investigacions. Es consideren embrions o zigots morfològicament no viables:

- a) els zigots aturats en estadi de 2 pronuclis,
- b) els zigots anormals en estadi de 3 o més pronuclis obtinguts per una fecundació errònia per part de més d'un espermatozoide (polispèrmia) o per una reactivació incorrecta de la meiosi rere la fecundació (no extrusió del segon corpuscle polar),
- c) embrions parats o amb retard de creixement,
- d) embrions amb blastòmers multinucleats, la qual cosa indica, en la majoria dels casos, una constitució genètica anormal d'aquestes cèl·lules,
- e) embrions molt fragmentats,
- f) embrions o zigots amb focus degeneratius o signes de necrosi.

La pràctica de les tècniques de diagnòstic preimplantacional permet detectar els embrions genèticament anormals. Basant-nos únicament en criteris morfològics, aquests embrions haurien estat considerats com viables. Si es disposa del diagnòstic genètic, aquests embrions han de ser considerats també com embrions no viables.

## 3. Embrions procedents de rentat uteri

Aquests embrions es podrien emprar pels estudis relacionats amb el període postimplantacional encara que per qüestions tant tècniques com de caràcter èticolegal, els rentats uterins no són freqüents en l'espècie humana. En general s'utilitza, en lloc seu, material procedent de gestacions interrompudes de segon o tercer trimestre.



Embrió humà en estadi de blastocist al sisè dia de desenvolupament in vitro.

## B) Embrions somàtics

### 4. Embrions somàtics obtinguts per tècniques de clonació per transferència de nucli

Aquests embrions poden ser utilitzats per obtenir cèl·lules mare i línies cel·lulars amb finalitat regenerativa i de trasplantament. Si les cèl·lules mare embrionàries (CME) s'obtenen d'embrions clonats obtinguts mitjançant la tècnica de transferència de nucli (clonació terapèutica), les diferents línies resultants podran ésser empeltades al pacient sense que apareguin problemes de rebuig.

### 5. Embrions somàtics obtinguts per activació partegenètica

L'activació partenogènica d'un oòcit permet aconseguir desenvolupament embrionari en absència de fecundació per part d'un espermatozoide. Es tracta d'una tècnica experimental amb la qual es pretén obtenir embrions per a la investigació, però dels quals mai no esdevingui un naixement. Fins ara s'han aconseguit cèl·lules mare d'oòcits activats partenogènica a primats, però no s'ha aconseguit encara en una línia partenogènica humana, encara que s'hi està treballant.

### Consideracions legals

La llei espanyola sobre tècniques de reproducció humana assistida (Llei 35/1988) estableix que la investigació amb preembrions hauria de realitzar-se únicament a centres autoritzats, sota consentiment escrit dels progenitors i mai perllongant el desenvolupament embrionari més enllà de catorze dies després de la fecundació i especificava que la investigació sobre preembrions *in vitro* viables només s'autoritzaria si es tractava d'una investigació aplicada de caràcter diagnòstic i amb objectius terapèutics o preventius (article 15è) (8).

La promulgació de la nova llei 45/2003, que modifica alguns aspectes de l'anterior, obre la possibilitat d'emprar els embrions sobrants, actualment congelats, amb finalitats investigadores (9). Si bé aquesta nova normativa suposarà una millora important en aquest aspecte, les limitacions establertes en el nombre d'oòcits a fecundar i a la finalitat única de la congelació d'embrions per ús reproductiu suposarà una restricció important que probablement en un futur haurà de ser revisada.

## Referències:

1. Biggers J. In vitro fertilization and embryo transfer in historical perspective. En: In vitro fertilization and Embryo Transfer. A. Trounson y C. Wood eds. Churchill-Livingstone. London.1984. pp 3-15
2. Chang M.C. Fertilization of rabbit ova in vitro. Nature 1959;184:466-467
3. Steptoe P.C. y Edwards R.G. Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet.1978; 2:366-370.
4. Barri P.N., Veiga A., Calderón G. Embarazo por fecundación *in vitro*. Prog Obstet Ginecol. 1984; 27:211-214.
5. Handyside AH., Kontogianni EH., Hardy K., Winston RML. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. Nature.1990; 344:768-770
6. Grup d'Opinió de l'Observatori de Bioètica i Dret del Parc Científic de Barcelona (2001) Document sobre Cèl·lules Mare Embrionàries.
7. Boada M., Rodrigo C., Veiga A., Barri, P. N. The future of frozen embryos: Couples' point of view. Human Reproduction. 2003; vol. 18, suppl 1: xviii68
8. Ley 35/1988 de 22 noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. Madrid .1988. BOE núm.282, 33373-33378.
9. Ley 45/2003, de 21 de noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. Madrid. 2003. BOE núm.280, 41458-41463.



**Montse Boada Palá** és llicenciada en Ciències Biològiques i doctorada per la Universitat Autònoma de Barcelona pel treball "Ultraestructura d'oòcits humans inseminats in vitro". Des de 1989 és coordinadora del Programa de Fecundació *In Vitro* i Donació d'Oòcits i Embrions de l'Institut Universitari Dexeus de Barcelona i representa el Col·legi Oficial de Biòlegs en la Comissió Assessora sobre Tècniques de Reproducció Assistida de Catalunya des de 1993. És també membre i vocal de la Comissió Nacional sobre Reproducció Humana Assistida (CNRHA) des de 1997 com a representant del Consell General de Col·legis Oficials de Biòlegs i durant el període 1998-2000 fou membre de l'Advisory Comittee de la Societat Europea de Reproducció Humana i Embriologia (ESHRE).



**Anna Veiga Lluch** és llicenciada en Ciències Biològiques, doctorada per la Universitat Autònoma de Barcelona i especialista en Reproducció Assistida Humana pel Col·legi Oficial de Biòlegs i l'Associació per l'Estudi de la Biologia de la Reproducció. És membre del Cos Facultatiu de l'Institut Universitari Dexeus des de 1982, on dirigeix la Secció de Biologia del Servei de Medicina de la Reproducció, orientant la seva principal activitat assistencial cap a les Tècniques de Reproducció Assistida i el tractament de l'esterilitat. Va fundar l'any 1994 l'Associació per l'Estudi de la Biologia de la Reproducció (ASEBIR), de la qual ha estat presidenta fins el 2002 i en fou membre en representació a la Comissió Nacional de Reproducció Humana Assistida (1998). Forma part de la Comissió Executiva de la Societat Europea per la Reproducció Humana i Embriologia (ESHRE), és Membre Honorífica de la Societat Italiana d'Embriologia i Investigació (SIERR) i pertany a les principals societats científiques relacionades amb l'esterilitat i la reproducció assistida. Participa en programes d'investigació i docència relacionats amb les tècniques de reproducció humana i en la formació de nous especialistes i col·labora activament en la difusió de les Tècniques de Reproducció Assistida en diversos medis de comunicació.