
Análisis Crítico por expertos de trabajos seleccionados

MADURACION IN VITRO DE OVOCITOS HUMANOS PARA REPRODUCCIÓN ASISTIDA (In vitro maturation of human oocytes for assisted reproduction)

*Jurema MW, Nogueira D.
Fertil Steril 2006;86:1277-91*

Objetivo: Describir y evaluar la práctica corriente de maduración de ovocitos para reproducción asistida.

Diseño: Revisión de la literatura disponible y relevante sobre maduración in vitro de ovocitos.

Conclusión(es): La maduración in vitro de ovocitos recuperados de folículos ováricos antrales, es un procedimiento emergente que está siendo rápidamente incorporado dentro del dominio tecnológico de la reproducción asistida. Esta nueva tecnología tiene

varias ventajas potenciales sobre la tradicional hiperestimulación ovárica controlada para FIV, tales como la reducción de los costos mediante la minimización del uso de gonadotrofinas y análogos de GnRh, eliminación del síndrome de hiperestimulación ovárica, y simplicidad del protocolo. La maduración in vitro de ovocitos para reproducción asistida en seres humanos está todavía siendo sometida a ajustes, pero está corrientemente produciendo resultados eficaces y seguros, comparables a los de la FIV tradicional en estudios selectos recientes. Implementar la maduración in vitro como

una práctica establecida de FIV es factible y requiere sólo unos pocos simples ajustes. Crucial para el avance y optimización de la tecnología es una mejor comprensión de cómo maximizar el desarrollo de la competencia de los ovocitos inmaduros y la receptividad endometrial.

Dr. David Notrica

Este *abstract* forma parte de un muy completo *review* sobre las distintas experiencias mundiales relevantes en IVM (*In Vitro* Maturation), publicadas hasta el 2005 inclusive.

El IVM tiene el potencial de sustituir o por lo menos complementar a los actuales protocolos de FIV, ya que posee la ventaja de evitar:

- las grandes cantidades de gonadotrofinas para el desarrollo y maduración folicular *in vivo*;
- el costo y la incomodidad de la terapia inyectable; el SHEO;
- los efectos adversos de la concentración suprafisiológica de gonadotrofinas en tejidos sensibles a la hormona esteroides (ovarios, endometrio y pechos);
- los análogos de GnRH, por lo tanto no hay efectos colaterales pituitarios ni extrapituitarios.

Los comienzos de esta técnica en humanos se remontan a 1965, cuando Edwards observa que aquellos ovocitos inmaduros que fueron expuestos a gonadotrofinas exógenas *in vivo* dentro del pool de los aspirados para FIV, luego eran capaces de madurar *in vitro* espontáneamente. Veeck en 1983 comprueba que no sólo maduraban, sino que algunos pocos eran capaces de ser fertilizados, de sostener un desarrollo embrionario y hasta un embarazo a término. Esto se conoce como IVM de rescate, técnica bastante controvertida, dado que algunos estudios demostraron que no era casual que estos ovocitos tuvieran limitado el potencial de fertilización y/o el clivaje embrionario, ya que vienen de una inadecuada respuesta a la exposición *in vivo* de niveles suprafisiológicos de gonadotrofinas exógenas. Es por eso que no sorprende el alto nivel de aneuploidías observado en embriones creados a partir de estos ovocitos.

Hace ya varios años que la práctica de IVM involucra la aspiración intencionada de ovocitos inmaduros, provenientes de pequeños folículos antrales minimamente o directamente no estimulados, y el posterior cultivo de estos ovocitos cubiertos con sus cúmulos muy compactos en un medio adecuado.

La competencia ovocitaria depende de la madurez nuclear y citoplasmática (esta última mucho más difícil de determinar). La inmadurez citoplasmática se manifestará en un clivaje alterado y en fallas de implantación. Por lo tanto, una maduración apropiada

requiere de maduración nuclear y exposición a las señales apropiadas para una maduración citoplasmática sincrónica.

La estrategia del IVM es recolectar los ovocitos inmaduros antes de ser afectados negativamente por las influencias endocrinas y paracrinas del folículo dominante. La habilidad del ovocito de resumir la meiosis, en teoría es adquirida cuando el tamaño folicular es sólo el 10% (2mm) del diámetro ovulatorio. Es decir, que ovocitos aspirados de folículos antrales muy pequeños ya tendrían la maquinaria necesaria para madurar completamente. En la práctica se demostró que el tamaño folicular mínimo para producir un ovocito competente es de 5mm. Aunque la señal de cascada que gatilla la maduración de los ovocitos humanos es desconocida, la activación sincrónica de la maduración nuclear y citoplasmática se supone altamente dependiente del tamaño folicular del cual se obtienen los ovocitos.

Estudios en modelo animal nos llevan a pensar que la identificación, anterior y posterior al IVM de la expresión de mRNA de ciertos genes y proteínas, proporcionaría información útil respecto de cómo modificar las condiciones de cultivo para mejorar la maduración ovocitaria. Varios medios de cultivo han sido descriptos, pero casi no hay literatura comparando los efectos directos de un medio en particular para IVM.

Aspectos Clínicos

Selección de pacientes

En base a la distinta literatura presentada en el *review*, basada en experiencias clínicas, con notables tasas de maduración, fertilización, embarazo y nacidos vivos, las pacientes que más se beneficiarían con el IVM serían:

- PCOS y PCO ya que poseen gran cantidad de folículos antrales y son más propensas al SHEO;
- pacientes con ciclos regulares donde la infertilidad es masculina, o con fertilidad comprobada y ligadura de trompas, evitarían el uso innecesario de gonadotrofinas;
- pobres respondedoras con ciclos cancelados;
- super respondedoras con riesgo de SHEO.

Los trabajos descriptos en el *review* demostraron el potencial y la eficacia del IVM como una alternativa a la cancelación en casos de grandes respondedoras en particular. Sin embargo no fue posible compararla con otras opciones en estos casos como el *coasting* y la ovulación inducida con agonistas de GnRH.

Priming Folicular

Según todos los estudios reportados salvo uno, una leve estimulación ovárica con FSH y/o hCG sería beneficiosa para incrementar la eficacia del IVM en pacientes puntuales (especialmente para promover el desarrollo de los ovocitos detenidos en el ambiente androgénico de los ovarios poliquísticos).

Monitoreo del ciclo y predictores de resultados

No hay un consenso acerca del protocolo de monitoreo, pero casi la totalidad de los reportes comienzan con una ecografía el día 3 del ciclo para descartar la presencia de quistes, folículo dominante y/o engrosamiento endometrial, y continúan con otra el día 6 para determinar la velocidad del folículo dominante.

El par de estudios retrospectivos muy puntuales que intentaron determinar predictores de pronóstico para IVM no son concluyentes, pero entre ambos se podría sugerir que pacientes jóvenes con buena reserva ovárica, cuyos óvulos produjeron ≥ 6 embriones, tienen mayores chances de lograr un embarazo.

Aspiración folicular

Comúnmente el folículo dominante entre 8 y 12 mm y/o el endometrio >5 mm son vistos como marcadores para realizar la aspiración de ovocitos inmaduros. El principio básico es realizar la aspiración de los ovocitos inmaduros justo después de la inducción a la atresia, pero antes de la exposición prolongada a los posibles efectos adversos del folículo dominante (endócrino y paracrinos). Algunos autores mostraron beneficios al realizar la aspiración después que el folículo dominante alcanza los 10 mm, mientras que otros sostienen que es demasiado tarde y perjudicial, proponiendo cancelar el ciclo. Es por eso que las distintas publicaciones varían significativamente en el criterio ecográfico a seguir.

Endometrio y transferencia embrionaria

Dado que no siempre se forma un folículo dominante o el cuerpo luteo, comprometiendo la contribución de esteroides que éstos producirían para el correcto desarrollo del endometrio, la mayoría de los protocolos utiliza suplementos exógenos de E y P.

En cuanto a la transferencia, sería deseable realizarla en el estadio de blastocisto (siempre y cuando el laboratorio tenga experiencia y buenos resultados con esta técnica) para estudiar la competencia y desarrollo embrionario.

Aspectos de laboratorio

La manipulación de ovocitos inmaduros lleva más tiempo y tiene diferencias técnicas. El agregado de heparina al medio de recolección minimizará la

coagulación, ya que el fluido folicular en IVM es menor en volumen y posee más sangre como resultado del trauma ovárico durante la aspiración. El pH y la temperatura durante la manipulación deben ser estables, para asegurar una apropiada síntesis de proteínas y para mantener estable la morfología del huso mitótico, de esta manera se evita un impacto negativo en el potencial del IVM. La morfología de los ovocitos provenientes de folículos antrales es considerablemente distinta, están cubiertos por una masa compacta de células de la granulosa, donde la musicación varía según el tamaño del folículo y la exposición de éste a gonadotrofinas y/o hCG *in vivo*. Los que presentan un cúmulo más expandido son más fáciles de identificar, poseen mayor expresión de receptores de LH y se los asocia a una mayor eficiencia madurativa y blastulación.

Una vez aislados, los ovocitos cubiertos por sus cúmulos son depositados en medio de maduración, el cual está compuesto por medio de cultivo suplementado con FSH recombinante, hCG y suero inactivado de la paciente. También se ha reportado el uso de fluido folicular de la paciente en lugar de suero, ambos son fuentes proteicas exógenas, y son utilizadas en lugar de suero sintético o albúmina humana ya que también poseen factores de crecimiento, lípidos, glicoproteínas, hormonas esteroides, citocinas y otros factores que estarían involucrados en regular la maduración. El período de maduración varía entre 24/48 horas, hay reportes que indican que aquellos ovocitos en VG que logran madurar dentro de las 30 horas son más competentes.

Posteriormente, los ovocitos son colocados en medios tradicionales para ser inseminados y cultivados. Ya que se necesita evaluar la madurez nuclear, no es de extrañar que en la mayoría de los reportes se utilice el ICSI como método de inseminación. El hipotético endurecimiento de la ZP durante el proceso de IVM también es motivo de preferencia del ICSI, independientemente que el factor de infertilidad sea o no masculino. Sin embargo, reportes comparativos con el FIV tradicional no son concluyentes sobre los beneficios del ICSI; son necesarios más estudios para determinar cual sería la técnica de inseminación óptima.

Experiencia propia, mundial y futuro del IVM

En Procreate Red de Medicina Reproductiva y Molecular, se realizaron 25 ciclos, sin poder reproducir las estadísticas mundiales reportadas en el *review*. A pesar de la buena tasa de recuperación, maduración, fertilización y clivaje, sólo se obtuvo un embarazo que terminó en aborto temprano. El estudio retrospectivo de estas pacientes arrojó una media de 2,5 intentos previos de procedimientos *in vitro* con-

vencionales fallidos, lo cual demuestra que la selección de pacientes con indicación para IVM es fundamental para lograr tasas de embarazo cercanas a las reportadas.

Mientras que en algunos países el IVM está aceptado como una opción clínica más segura para determinadas pacientes (aquéllas con riesgos de SHEO por su extrema sensibilidad a las gonadotropinas), en otros es considerado experimental.

El *review* cita solamente dos trabajos donde se comparan resultados de IVM con *in vitro* convencional en pacientes PCO y PCOS de edad similar, la mayoría de las tasas son similares, salvo la de implantación (ya que la media de embriones transferidos producto del IVM fue considerablemente más alta). Esto sugiere que las líneas a seguir investigando para mejorar el IVM y ampliar su aplicación a un espectro más grande de pacientes serían: el mejoramiento de la competencia ovocitaria (profundizando el entendimiento de los comportamientos del óvulo inmaduro dentro de su ambiente folicular y de las modificaciones epigenéticas producidas por el extenso cultivo *in vitro*), y la optimización de la receptividad endometrial.

El consenso sobre la futura implementación del IVM como una opción viable (no sólo para PCO y PCOS) dependerá de la aparición de estudios concluyentes comparativos con ovocitos madurados *in vivo*, los cuales además de la eficacia y la seguridad, deberán proveer información acerca del costo beneficio del IVM en relación al *in vitro* convencional, y a los ciclos espontáneos. Si esto es alguna vez alcanzado, el IVM no sólo tendrá posibilidades de ser el procedimiento elegido por pacientes infértiles, sino también para la donación de óvulos y para la preservación de la fertilidad.

Claudio Bisioli

Germinal Reproducción Asistida

Griveo 2474 - C1419EVF Buenos Aires – Argentina

Teléfono: (54-11) 4 571 5326 Móvil: 155 663 8243

bisioli@fibertel.com.ar

El artículo de Marcus Jurema y Daniela Nogueira (2006), de la *Brown University Medical School* en Providence, Rhode Island, Estados Unidos, es una revisión del tema de maduración *in vitro* (MIV) de ovocitos con el propósito de describir y evaluar el estado actual de la práctica a nivel mundial. Un tono netamente optimista recorre sus páginas. Los autores califican a la MIV como “tecnología emergente con potencial promisorio” cuya “eficacia y seguridad son comparables a la FIV tradicional”. En forma un tanto contradictoria estos mismos autores nos advierten que para que la tecnología de la MIV

reemplace a la FIV convencional deberá demostrar que es segura y eficiente.

En mi opinión lo primero que cualquiera de nosotros debería hacer antes de comenzar un programa de MIV es plantearse algunas preguntas:

- ¿Para qué sirve?
- ¿Cómo se usa?
- ¿Qué resultados se han obtenido hasta ahora?
- ¿Es segura para mis pacientes?

¿Para qué sirve?

La maduración *in vitro* de ovocitos para ser usados en reproducción asistida surgió inicialmente como un procedimiento para “rescatar” aquellos ciclos en que se recuperaban ovocitos inmaduros (denominados “dis-maduros”) a pesar de la exposición suprafisiológica de gonadotropinas exógenas (Veeck *et al.*, 1983). Luego se pensó que su uso podía extenderse hacia otras indicaciones, como por ejemplo las pacientes poliquísticas, las de pobre respuesta a la estimulación ovárica y a las que tienen un riesgo elevado de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO).

Jurema y Nogueira (2006) han listado una serie de ventajas que justificarían un uso más amplio de esta tecnología:

1. No requiere el uso de dosis altas de gonadotropinas. Por consiguiente, el costo y los inconvenientes de la aplicación de estas drogas se evitan.
2. También se evita el riesgo del síndrome de hiperestimulación ovárica.
3. Y cualquier efecto adverso potencial a corto o largo plazo proveniente de las concentraciones suprafisiológicas de gonadotropinas sobre los tejidos sensibles a las hormonas sexuales esteroides.
4. Se evita la aplicación de análogos de GnRH, con lo cual se esquivan sus efectos colaterales pituitarios y extra-pituitarios.

O sea que los beneficios del uso de la tecnología de MIV son deseables y muy importantes, y justifican la realización de esfuerzos de investigación para lograr el éxito.

¿Cómo se usa?

Una contribución muy importante del artículo de Jurema y Nogueira (2006) es la revisión sistemática de ciertos puntos claves para tener en cuenta si se quiere iniciar un programa de MIV (como si se tratara de una hoja de ruta), y que parecen estar justificados por la experiencia de la mayoría de los autores reseñados, a saber:

- La estimulación leve con gonadotropinas, hCG o ambos (*priming*).

- El uso de agujas de punción especiales para MIV y con menor presión de aspiración.
- El uso de heparina en el medio de lavado folicular.
- El uso de suero inactivado de la paciente o de fluido folicular para suplementar los medios de cultivo.
- La inseminación mediante ICSI.
- El uso de la eclosión (*hatching*) asistida.
- La administración de estradiol y progesterona exógenos para el soporte de la fase lútea.

¿Qué resultados se han obtenido hasta ahora?

Dicen estos autores que los estudios más recientes han mostrado resultados comparables a los de los ciclos de FIV convencionales, pero que estrictamente todavía no ha sido comparada rigurosamente con la FIV tradicional. Es decir, todavía no contamos con estudios prospectivos aleatorizados, a excepción, como ya veremos, de dos trabajos con pacientes poliquísticas.

El diseño científico de la publicación se ha basado en la revisión de la bibliografía internacional relevante, sin aclarar en ningún momento qué entienden los autores por *relevante*. El tamaño muestral no parece ser porque se contemplan estudios basados en observaciones sobre una decena de pacientes. Los buenos resultados tampoco porque se estarían dejando de lado los que demuestran malos resultados (¿los hay? ¿se publican?). El renombre de los autores no parece ser una medida apropiada, al menos si estamos pensando científicamente.

Si se estudia con atención la Tabla 1 de Jurema y Nogueira (2006) (resultado clínico de ciclos de MIV en pacientes poliquísticas), se observará que la revisión comprende sólo 9 trabajos donde se han obtenido tasas de maduración, embarazo e implantación razonables sobre un número limitado de ciclos (rango 11-203), transfiriendo en general muchos embriones (rango 1.7-5.0). La tabla no informa cuántos de los ciclos iniciados llegaron a la transferencia de embriones. La tasa de aborto parece situarse alrededor de un 40%. Este valor tan alto puede deberse al carácter de las pacientes tratadas (poliquísticas) y no a la maduración *in vitro*.

En el caso de pacientes con ovarios normales y ciclos regulares se mencionan 6 trabajos, donde la tasa de embarazo ronda el 20%, un valor considerablemente inferior a lo que se consigue con FIV en ese tipo de pacientes. El porcentaje de abortos vuelve a ser alto, aunque no al nivel de lo experimentado con las pacientes poliquísticas.

Nuestra propia experiencia preliminar con pacientes con poliquistosis ovárica (PQO) o síndrome de ovario poliquístico (SOPQ)¹ ha arrojado resultados alentadores (de Zúñiga *et al.*, 2006). De las 25 punciones realizadas sólo una fue cancelada porque no obtuvimos ovocitos. Globalmente obtuvimos 4.4 ovocitos por punción (109/25, rango 1-14). Trece de las 25 fueron punciones sin dificultad, donde se obtuvo un número de ovocitos adecuado para trabajar (6.2 ovocitos por punción). En las 12 restantes las punciones fueron dificultosas y se obtuvieron 2.3 ovocitos por punción. Aunque en los tratamientos previos 12 de ellas habían experimentado niveles moderados a severos de síndrome de hiperestimulación ovárica, ninguna lo manifestó durante esta experiencia.

De los 109 ovocitos captados cultivamos 88 (4 eran rotos y 17 atrésicos) y maduraron 68 (77.3%). Fertilizaron mediante ICSI 36 (52%) y clivaron 31 (86%). Transferimos un promedio de 1.93 embriones por paciente (rango 1-4). La tasa de implantación fue del 9.7% (3/31). Obtuvimos 3 embarazos clínicos (12% del total de casos). Si consideramos solamente a aquellos ciclos pacientes con un número adecuado de ovocitos para cultivar (6.2), la tasa asciende a 23.1% (3/13). Nuestra primera conclusión fue entonces que esta técnica debería ofrecerse cuando se recupera un buen número de ovocitos, de lo contrario debería cancelarse el ciclo. Esta observación concuerda con Child *et al.* (2002), que encontraron una significativa mejora en las tasas de embarazo mediante MIV cuando se producen más de 6 embriones. De nuestros 3 embarazos nacieron 2 bebés y el tercero finalizó en un aborto espontáneo a las 7 semanas de gestación, con análisis genético normal.

Jurema y Nogueira (2006) declaran que la tecnología de MIV ha sido aplicada exitosamente en la industria ganadera. En los programas de fecundación *in vitro* animal se colectan ovocitos inmaduros debido a las dificultades para detectar ovulación, no porque la técnica sea exitosa: en realidad es la única técnica con la que cuentan. Y la calificación *exitosa* habría que relativizarla: en ganado caprino, por ejemplo, el desarrollo potencial de los ovocitos inmaduros colectados es del 30%, tanto en animales jóvenes como en adultos (Holtz, 2005).

Estos autores citan oportunamente los dos únicos trabajos que se conocen hasta el presente donde se compara el uso de la MIV contra la FIV convencional en pacientes con PQO y SOPQ, y que en mi

¹ PQO y SPQO se consignan (y se pronuncian) habitualmente sin traducir como "PCO" y "PCO like", al igual que se hace con los acrónimos ICSI, TESE o PGD. Se supone que es correcto hacerlo así porque ya son parte del lenguaje profesional. Sin embargo no es claro porqué TESE se pronuncia en castellano (como "tese") y PGD se pronuncia "pi-yi-dí"

opinión son los más importantes para considerar en esta reseña.

Child *et al.* (2002) compararon 107 ciclos de MIV contra 107 ciclos de FIV en pacientes PQO-SOPQ. Los números absolutos de ovocitos captados, M₂, fecundados y clivados fueron mayores en el grupo de FIV. Sin embargo, al comparar proporciones, encontraron resultados similares en el porcentaje de maduración, fecundación, clivaje y embarazo clínico (Tabla 1).

Estos autores sí encontraron diferencias significativas en el número de embriones transferidos (MIV>FIV), la tasa de implantación (mayor en el grupo FIV) y en el número de casos de SHEO: 12 en el grupo FIV contra ninguno en el grupo MIV (Tabla 2).

El otro estudio es el de Cha *et al.* (2000) que reportó una tasa de embarazo del 27% transfiriendo en promedio 4.9 embriones en 94 ciclos de MIV, contra un 37.5% de embarazo transfiriendo 5.0 embriones en 43 ciclos de FIV.

¿Es segura para mis pacientes?

La tabla 3 del artículo de Jurema y Nogueira (2006) muestra los resultados obstétricos, perinatales y de desarrollo temprano de 193 niños nacidos mediante esta técnica (se calcula que en el mundo hay unos 400 niños nacidos a partir de la tecnología de la MIV). En general los resultados son alentadores con respecto a la seguridad de estos procedimientos, no encontrándose diferencias cuando se los compara con los resultados de los niños nacidos mediante FIV convencional. Sin embargo, los autores hacen bien en alertar que, a partir de los experimentos con animales, surgió la preocupación acerca de los posibles daños epigenéticos que esta tecnología pudiera ocasionar.

La epigenética es otra “capa” de información genética, distinta a la codificada en el ADN. Una “marca epigenética” es una modificación química de las bases de ADN o una modificación de la estructura cromatínica que tiene un efecto en la manera en que la información genética es leída durante la transcripción. En el ejemplo más sencillo, un grupo metilo en el sitio de transcripción hace que esa información no sea leída y ese alelo no se exprese. Si la ubicación de la marca depende del origen paterno o materno del alelo en cuestión, hablamos de *imprinting*. Durante el desarrollo embrionario esta información adicional se borra y vuelve a instalar, lo que a veces se denomina maduración epigenética. Si esta reinstalación es defectuosa puede ocurrir que un gen se exprese doblemente cuando debía hacerlo normalmente uno sólo de los alelos. En ganado bovino y ovino se ha observado una ausencia de marca epigenética en el gen para la hormona de crecimiento, que se debería a una incorrecta reprogramación epigenética, producto de las condiciones de cultivo o a los procesos de clonación. La ausencia de la marca hace que se expresen ambos alelos, cuando normalmente debería hacerlo uno sólo. Se produce entonces más hormona de crecimiento que lo habitual y el efecto es que los terneros nacen más gordos que el resto (*large offspring syndrome, LOS*) (Thompson *et al.*, 1995; Young *et al.*, 1998).

Ho *et al.* (1994) observaron que el patrón global de la expresión génica sería perturbado por modestos cambios en la composición de los medios de cultivo. Según Walter *et al.* (2000), el ambiente en el que ocurre la fecundación y el crecimiento embrionario influye, no sólo en el desarrollo embrionario, sino también en el fenotipo de los nacidos (ver también Schultz y Williams, 2002). Cox *et al.* (2002) y

Tabla 1: comparación MIV contra FIV en pacientes PQO-SOPQ. Resultados sin diferencias significativas.

Grupos de estudio	MIV	FIV
% de ovocitos madurados <i>in vitro</i>		
o de ovocitos captados como M2	76	80
Fecundación	78	77
Clivaje	95	92
Embarazo	21	34

Resultados expresados en porcentaje y simplificados, sin decimales. Tomado de Child *et al.* (2002).

Tabla 2: comparación MIV contra FIV en pacientes PQO-SOPQ. Resultados diferentes estadísticamente.

Grupos de estudio	MIV	FIV
Numero de embriones transferidos	3.2	2.7
Implantación (%)	9.5	17.0
SHEO (%)	0	11
Tomado de Child <i>et al.</i> (2002)		

Cha *et al.* (2005), entre otros, han sugerido que las técnicas de reproducción asistida (ICSI y también la FIV de rutina) podrían aumentar los riesgos de defectos en el *imprinting*, que se manifestarían en el nacimiento de niños con síndromes de Prader-Willi, Beckwith-Wiedemann o Angelman.

Eppig y Schroeder (1989) encontraron problemas relacionados a la falta de una correcta maduración epigenética durante el uso de gametas inmaduras para FIV en ratones. Eggbert, el primer ratón concebido mediante MIV, nació obeso (*LOS*) y sufriendo hiperplasia de los islotes pancreáticos, sarcomas y alteraciones neurológicas (Eppig, 2001). Asimismo, Schultz (2001) encontró que los ratones concebidos *in vitro* demoraban más en aprender el sitio del alimento en experimentos con laberintos, cuando se los comparaba con ratones concebidos naturalmente. Algunos de estos trabajos han sido criticados porque no usan en las comparaciones los mismos linajes de ratones. Sin embargo, la seguridad es un tema insoslayable que va a requerir mayor investigación, cautela en el uso de la MIV y seguimiento estricto de los nacidos.

Li *et al.* (2006), realizando observaciones con microscopía confocal, observaron que los ovocitos madurados *in vitro* tenían una frecuencia más alta de anomalías en el huso meiótico, y en la morfología de la alineación de los cromosomas que los ovocitos madurados *in vivo*.

Conclusión

Según Piquette (2006), la tecnología de la MIV no se ha establecido como una técnica reproducible, debido a los aspectos técnicos de aspirar y manipular ovocitos inmaduros y a los sistemas de cultivo corrientemente en uso. Para Lazendorf (2006), se trata de una técnica que debe considerarse experimental, con resultados actuales que no son comparables a los de las técnicas convencionales de reproducción asistida. Trounson (2006) ha sugerido que los ovocitos inmaduros de las pacientes con síndrome de ovario poliquístico podrían incluir una alta proporción de ovocitos generados en folículos atrésicos o que se están degenerando, y que nunca hubieran sido seleccionados para la maduración *in vitro*. Esta sugerencia está cuestionada por la observación de Chian *et al.* (2002), que encontraron que ovocitos bovinos inmaduros expuestos a un folículo dominante mantienen intacta su capacidad de desarrollo.

La MIV es una tecnología que, dados los resultados preliminares de eficacia y seguridad que disponemos, podría tener a corto plazo su lugar para el tratamiento de la PQO y el SOPQ (Chian *et al.*, 2004). Debe sin embargo encararse con suma cautela, considerarse experimental, y estar sujeta a la aprobación de comités

de ética independientes y bajo el consentimiento informado de los pacientes. No debería entonces generar ningún tipo de rédito económico hasta que no se confirmen sus reales beneficios. La investigación previa en modelos animales debería ser alentada.

Referencias

1. Cha KY, Han SY, Chung HM, Choi DH, Lim JM, Lee WS, Ko JJ, Yoon TK. Pregnancies and deliveries after *in vitro* maturation culture followed by *in vitro* fertilization and embryo transfer without stimulation in woman with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2000;73:978-83
2. Chang AS, Moley KH, Wangler M, Feinberg AP, DeBaun MR. Association between Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproductive technology: a case series of 19 patients. *Fertil Steril* 2005;83:349-54
3. Chian RC, Chung JT, Downey BR, Tan SL. Maturation and developmental competence of immature oocytes retrieved from bovine ovaries at different phases of folliculogenesis. *Reprod Biomed Online* 2002;4:127-32
4. Chian RC, Lim JH, Tan SL. State of the art in *in vitro* oocyte maturation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004;16:211-9
5. Child TJ, Phillips SJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL. A comparison of *in vitro* maturation and *in vitro* fertilization for women with polycystic ovaries. *Obstet Gynecol* 2002;100:665-70
6. Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, Horsthemke B. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002;71:156-60
7. de Zuñiga I, Quintana R, Bisioli C, Valcarcel A, Gomez Peña M, Tiveron M, Young E. Maduración *in vitro* de ovocitos: Experiencia preliminar del IFER. I Reunión Científica Anual de SAMeR, 20 de Marzo de 2006
8. Eppig JJ, Schroeder AC. Capacity of mouse oocytes from preantral follicles to undergo embryogenesis and development to live young after growth, maturation and fertilization *in vitro*. *Biol Reprod* 1989;41:268-76
9. Eppig J (2001). The oocyte-Granulosa Cell Regulatory Loop. Third Biennial Alpha Conference. New York, New York, Estados Unidos, Septiembre 8-11
10. Ho Y, Doherty AS, Schultz RM. Mouse preimplantation embryo development *in vitro*: effect of sodium concentration in culture media on RNA synthesis and accumulation and gene expression. *Mol Reprod Dev* 1994;38:131-41
11. Holtz W. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Ruminant Research* 2005;60:95-110

12. Jurema MW, Nogueira D. In vitro maturation of human oocytes for assisted reproduction. *Fertil Steril* 2006;86:1277-91
13. Lanzendorf SE. Developmental potential of in vitro- and in vivo-matured oocytes collected from stimulated and unstimulated ovaries. *Fertil Steril* 2006;85:836-7
14. Li Y, Feng HL, Cao YJ, Zheng GJ, Yang Y, Mullen S, Critser JK, Chen ZJ. Confocal microscopic analysis of the spindle and chromosome configurations of human oocytes matured in vitro. *Fertil Steril* 2006;85:827-32
15. Piquette GN. The in vitro maturation (IVM) of human oocytes for in vitro fertilization (IVF): is it time yet to switch to IVM-IVF? *Fertil Steril* 2006;85:833-5
16. Schultz R. Imprinting and embryo culture conditions (2001). Third Biennial Alpha Conference. New York, New York, Estados Unidos, Septiembre 8-11
17. Schultz RM, Williams CJ. The science of ART. *Science* 2002;296:2188-90
18. Thompson JG, Gardner DK, Pugh PA, McMillan WH, Tervit HR. Lamb birth weight is affected by culture system utilized during in Vitro pre-elongation development of ovine embryos. *Biol Reprod* 1995;53:1385-91
19. Trounson A. Spindle abnormalities in oocytes. *Fertil Steril* 2006;85:827-32
20. Veeck LL, Wortham JW Jr, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, García JE, Jones GS, Jones HW Jr. Maturation and fertilization of morphologically immature oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983;39:594-602
22. Walker SK, Hartwich KM, Robinson JS. Long-term effects on offspring of exposure of oocytes and embryos to chemical and physical agents. *Hum Reprod Update* 2000;6:564-77
23. Young LE, Sinclair KD, Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Rev Reprod* 1998;3:155-63