

## **El estatuto del embrión humano en el contexto de la fecundación *in vitro*.**

Natalia López Moratalla.

La forma de plantear las cuestiones científicas está cambiando radicalmente en la actualidad. Pero la naturaleza propiamente dicha de la ciencia no ha cambiado, ni puede hacerlo realmente. Esto es especialmente evidente en el campo de la biomedicina. La imagen humanitaria, propia de la investigación que lucha por salvar vidas humanas, por curar la enfermedad y para paliar el dolor, a la que se apela no es coherente con los medios que se pretende emplear, y se emplean en ciertos casos para conseguirlo. Es una contradicción con el fin declarado de curar enfermedades de unos, emplear a otros; o incluso llamar a la vida sólo para ser utilizados como material biológico. La naturaleza de la ciencia no cambia; lo que debatimos, y sobre lo que deliberamos, es cambiar la valoración de la vida de unos a conveniencia de otros. En nombre de la ciencia se trata de imponer a nuestras sociedades una actitud hacia la vida misma incompatible con los valores de toda sociedad democrática. Pero esa actitud no encuentra apoyo en la ciencia rigurosa.

### **1. ¿Tiene el mismo estatuto un embrión *in vitro* que un embrión *in útero*?**

Desde el punto de vista biológico la vida humana comienza tras la fecundación con la aparición de una realidad celular con fenotipo cigoto. La fecundación no es un “instante”, sino un proceso que dura horas y sólo tras la constitución del cigoto, al final del proceso de fusión de los gametos, se establece la identidad genética del nuevo individuo. Sea como fuere la forma y el modo como ha llegado a la vida, cada cigoto vivo es un ser humano con el carácter personal propio y específico de todos los individuos de la especie humana. El ciclo vital tras la concepción tiene un comienzo y un final definidos. Y a lo largo de su existencia cada uno requiere, de diferente manera y con intensidad diferente, la interacción con el medio en que se desarrolla.

El que a un embrión *in vitro* no se le destine (temporal o definitiva) a su implantación en el seno materno, no significa que su valor o *estatus* sea diferente al embrión en útero: o es un embrión humano o no lo será nunca. Sólo significa que sus “progenitores-dueños” no quieren, o no pueden permitirle que anide. La visión de que la fuerza del *estatus moral* de una entidad depende de en qué espacio se le coloque, y por cuanto tiempo esté fuera “de su sitio propio” es algo que carece de justificación biológica y ontológica. El concepto de embrión *no implantable* no corresponde a una situación natural sino que está creada por la manipulación artificial del proceso de transmisión de la vida.

Dos cuestiones incitan la duda, o más bien el debate, acerca de si un embrión *in vitro* tiene o no la misma realidad que un embrión *in útero*.

#### **1.1. Se puede *facticamente* detener la vida**

En primer término, la práctica de las técnicas de reproducción humana –en muchos casos abusiva en exceso– ha convertido el fruto de la generación humana (los embriones precoces) en poco más que una propiedad de los donantes de gametos. El consenso entre el deseo de los padres y la voluntad de satisfacción de tal deseo por parte del equipo biomédico prevalece sobre los serios deberes que la existencia de ese embrión impone al hombre y a la mujer de quienes procede. Han dado vida a un hijo que exige protección y que por tanto requiere ser depositado en su ámbito natural materno para proseguir la gestación. Todo embrión de hecho no obtiene su derecho a existir de la común acogida de sus progenitores, de la aceptación de

una mujer, o de una determinación legal, sino de su condición de ser humano. La implantación diferida en el tiempo se ha hecho posible por las técnicas de cultivo y crioconservación a largo plazo de los embriones preimplantarios; con ello se percibe muy diluida la responsabilidad natural de los padres con el embrión y se da una progresiva despersonalización en la relación paternidad-filiación.

Una anidación o un embarazo diferido –incluso hasta su conversión en sobrante– turba y trastoca aun más la transmisión de la vida hasta el punto de llegar a considerar al hijo una propiedad disponible. Disponible y abandonable.

La legislación admite la crioconservación de embriones (y determina una duración máxima) para evitar los intrincados problemas jurídicos que podrían surgir en torno a esos hijos cuya vida se ha detenido por la congelación en espera de un futuro bastante incierto. Aunque se trata de una realidad que lleva años produciéndose de hecho no es necesariamente inevitable. La existencia de embriones producidos en exceso y de embriones crioconservados, es una situación irresponsable que debe necesariamente acabar y resolverse de una vez para siempre como situación excepcional.

### ***1.2. La posibilidad fáctica de producir embriones en exceso***

La segunda cuestión es derivada de la mentalidad surgida de la práctica de la fecundación *in vitro*. Es la pretensión de justificar la fecundación de más de un óvulo para disponer de la una mayor número de embriones preimplantarios, bien para aumentar la eficacia procreativa con las menores molestias posibles, o bien para permitir la selección de aquellos embriones considerados los óptimos por su estado de previsible salud, o por mera elección del sexo. Pero la lógica del escoger es muy exigente: la posibilidad de escoger lo óptimo está en relación directa al número producido. Aparecen así los adjetivos de embriones subóptimos, inviables, sobrantes, no implantables, crioconservados. Términos todos ellos que no modifican la realidad humana de los embriones, pero que de forma imperceptible y gradual suaviza la carga eugenésica de esta práctica.

El proceso gradual de cambio en la forma de plantear las cuestiones biomédicas es obvio. Al inicio se pretendió justificar la necesidad de una alta producción para poder implantar varios embriones al mismo tiempo, y facilitar así la supervivencia de alguno de ellos, aumentando la escasa eficacia de la práctica de la FIV. Esta medida ha sido contestada por los clínicos dado que los posibles embarazos múltiples no sólo son un peligro para la madre sino que han resultado un déficit para los niños que nacen prematuros. El aborto selectivo de algunos de ellos (conocida con el eufemismo de reducción embrionaria) no resuelve el segundo problema.

A su vez el tratamiento para inducir multiovulación se desaconseja científicamente<sup>1</sup>: los embriones producidos por fecundación de la aproximada docena de óvulos obtenidos tras multiovulación son defectuosos, por su procedencia de óvulos menos maduros que los que se forman en un ciclo natural, en cuanto a su desarrollo y capacidad de anidación. Si a su vez se seleccionan los mejores de entre ellos es obvio que los “sobrantes” que se congelan son precisamente los más débiles y a los que más les afecta el proceso de congelación-descongelación. La sospecha de la mayor debilidad que presentan estos embriones una de las causas para que aquellos donables y donados por padres biológicos no sean fácilmente

---

<sup>1</sup> Moore P, (2001) Natural cycle IVF should be used more frequently *BMJ* 322, 318-319; G. Ertzeid and R. Storeng “The impact of ovarian stimulation on implantation and fetal development in mice” (2001) *Human Reproduction* 16, 221-225.

“acogidos” por otras parejas, y que tras el tiempo que permita la ley, pasen a disposición del centro biosanitario para acabar siendo potencial material biológico para investigación. Más aún, la misma probabilidad de ser defectuosos elimina estos embriones para un uso terapéutico; es decir cuando la investigación aplicada logre dominar las células madre embrionarias que proceden de ellos, será necesario producir nuevos embriones para obtener esas células de padres biológicos fértiles y donantes de óvulos maduros.

Posteriormente se impuso el diagnóstico preimplantatorio a fin de asegurar que sólo fueran gestados aquellos embriones que no presentaran taras heredables. El deseo de un hijo se transformó en exigencia de un hijo sano. La existencia de algunas enfermedades ligadas al sexo abrió el campo a la elección del mismo y de ahí a la oferta de selección de sexo que satisfaga el deseo legítimo pero “no crucial” de los padres a elegir el sexo de su hijo (siempre que no sea un sistema de discriminación). Los centros de reproducción humana asistida recomiendan hacerlo por la técnica de la selección de los espermios, portadores de cromosoma X o de cromosoma Y. Consideran desproporcionada la selección de los embriones del sexo deseado con abandono del resto, pero podría aceptarse –afirman– si las parejas donasen a otras los embriones del sexo no deseado para la reproducción.

### ***1.3. La supuesta potestad de disponer del destino de los embriones***

En esta cultura de la producción técnica, van unidas una débil, o al menos temporal, oposición a crear expresamente embriones para investigación con la aceptación a experimentar con los sobrantes de los programas de fecundación *in vitro*. Tales embriones sobrantes, con un largo periodo de crioconservación y de hecho no implantables (por no ser acogidos en útero) están condenados a morir, tal vez de forma lenta por la congelación pero inexorablemente: son vidas *detenidas* que no van a ser reanimadas tras la descongelación y transferidas al útero de una mujer. Para justificar la investigación con embriones, ahora los sobrantes y más adelante a la carta, se despoja a los embriones preimplantatorios de valor ontológico, o se convierte el problema en un magnífico caso de que el fin justifica los medios. Los investigadores podrán así ver en el embrión humano no como una entidad con valor intrínseco, sino dotado de posibilidades para los intereses y objetivos y utilidades científico-comerciales.

Y con ese enfoque, o error, de partida en la consideración del valor del embrión humano, los investigadores han abdicado del rigor de la investigación científica y puesto en evidencia las paradojas internas del argumento de la necesidad para el progreso científico.

- ¿cómo garantizar que van a obtener respuesta válida, conocimiento verdadero, a las preguntas que se consideran tan cruciales como para justificar el sacrificio de vidas humanas incipientes?
- ¿cómo encontrar la “justificación” médica de las técnicas de FIV si es evidente la creación de una presión científico-médico-comercial para introducir las al servicio de nuevos deseos que permitan colmar los “derechos reproductivos”?
- ¿cómo apelar al imperativo científico del progreso si no se investiga ni las causas, ni los procedimientos para paliar la infertilidad?
- ¿cómo justificar el mantener en la legalidad una investigación directa con embriones humanos, en el contexto de la reproducción asistida, sin el requisito mínimo y esencial de una previa investigación con animales?

Han pasado demasiados años desde que la FIV se introdujo como solución de emergencia de una creciente falta de fertilidad. La solución de emergencia ha creado problemas más graves para la vida del embrión y de los nacidos de los que ha solucionado<sup>2</sup>. Más aún, ha creado la falsa expectativa de que toda persona en cualquier situación puede reclamar un hijo en base a un ambiguo *derecho reproductivo*.

Parece obvio que necesitamos asumir la evidencia de que la realidad humana en desarrollo es humana, y abandonar la insistencia en adscribir valor moral a lo humano en función de su contexto y de valores externos adjudicados por otras personas. Al rehuir la perspectiva del carácter personal de la realidad humana embrionaria se pasa necesariamente al imperativo moral de la compasión a las parejas sin hijos y de ahí al imperativo moral de la compasión a los enfermos que nos obliga a la investigación destructiva y consumidora de embriones. Es más, se presenta la gravedad de ciertas enfermedades para dar carácter de urgencia a tales investigaciones “por no haber otras soluciones o al menos ser soluciones lentas”: única o al menos la mejor solución se ha hecho en estos años dogma inamovible de la medicina regenerativa.

## **2. La realidad embrión humano en los primeros seis días tras la fecundación.**

Dos características del embrión precoz han llevado a algunos a pensar que la vida humana en los primeros días de desarrollo antes de la implantación, sería insuficiente para que se pueda asumir que posee el carácter personal propio de todo individuo de la especie humana.

Una de esas peculiaridades se refiere a la capacidad natural de gemelación monocigótica: la fisión o división espontáneamente de un embrión antes de la anidación. Para algunos supondría indefinición o carencia de organización individual. La argumentación se basa en que mientras exista posibilidad de gemelación, la identidad del ser humano no está determinada, y de ahí que no se pueda decir que exista ningún individuo en concreto. Carecería de una de las propiedades esenciales de un individuo: la unicidad o el ser único.

Una segunda propiedad esencial para ser un individuo es la unidad: ser una realidad distinguible de toda otra realidad. Pues bien, la posibilidad de formación de quimeras a partir de cigotos humanos se ha considerado también como manifestación de carencia de individualidad. La indefinición del embrión preimplantatorio respecto a ambas propiedades ha hecho dudar acerca de que pudiera existir “alguien”, un sujeto, ya que la identidad del ser que nacerá al final aún no está determinada.

Una tercera peculiaridad es la viabilidad natural del embrión preimplantatorio, dada la frecuencia, supuestamente excesiva, de pérdidas espontáneas de embriones precoces.

Y en último lugar, y más recientemente, se añade la carencia de una autonomía en su relación con la madre que le gesta. En este punto está jugando un papel importante la tendencia a considerar que sólo tienen derechos los individuos autónomos capaces de sentir y pensar que repite la ideología de la autonomía total del ser humano.

Analizaremos estos aspectos estableciendo a su vez la comparación de las similitudes y diferencias entre el embrión concebido y el creado y cultivado *in vitro*.

---

<sup>2</sup> Numerosas publicaciones ponen de manifiesto los riesgos de la práctica de la FIV: cfr. Winston RML and Hardy K (2002) Are ignoring potential danger of *in vitro* fertilization and related treatments? Nature Cell Biol (Suppl.1) S14-S18; Nature Med 8 (Suppl.1) S14-S18. Kendall Powell (2003) Fertility treatments: Seeds of doubt. Nature 422, 656-658.

### ***2.1. En los seres vivos cada nivel de desarrollo es más que suma de los elementos de partida.***

En biología, el concepto de individuo no remite a la imposibilidad de división, sino a la idea de organización de la estructura. El que un embrión puede acabar en gemelos o en quimera no significa que no sea individuo, o que no desarrolle como individuo. Cada ser vivo es un individuo cuando es un organismo, es decir, una unidad integrada por estructuras y funciones, sea cual sea su nivel de complejidad.

En los últimos años se han alcanzado nuevos paradigmas biológicos del desarrollo hacia la complejidad orgánica, con sus leyes propias: un material de partida que tiene la peculiar propiedad de poseer información genética, la información posicional en el espacio embrionario orgánico, la emergencia de información con el desarrollo mismo por interacción medio-genes y la continua autoreferencia del individuo, en sus diversas etapas vitales, a la identidad conferida fundamentalmente por la información genética heredada de sus progenitores.

El desarrollo no depende sólo de los genes, sino de una compleja interacción entre genes, citoplasma, información posicional de las células, entorno materno, etc. La embriogénesis no es el desarrollo mecánico del programa del genoma: tienen un papel importante los factores espaciales y temporales, así como las fluctuaciones al azar de la concentración de las señales moleculares que aparecen con el desarrollo. Ahora bien el ser humano, el individuo concreto, es inseparable de su desarrollo: en cada fase el fenotipo que adquiere, cambiante con el tiempo de desarrollo y maduración, hace referencia intrínseca e inseparable a la información genética con la que se constituyó a partir de los materiales heredados de sus progenitores.

Esta autorreferencia aporta la conexión del embrión preimplantatorio con el término de la embriogénesis, el feto, y del feto con el término del desarrollo fetal, el nacido y así sucesivamente. Es realidad humana, individuo de la especie, persona desde que es cigoto porque posee toda la información del sistema respecto al término: posee la capacidad de un desarrollo orgánico

Para la mayoría, el embrión humano tiene un valor alto, superior al de un cultivo de tejidos humanos somáticos, debido a que tiene identidad humana y un elevado potencial de convertirse en persona y merece, por ello, una protección que trasciende la que aplicamos a animales. La cuestión que debe ser justificada es –si no fuera persona por el simple hecho de ser individuo de nuestra especie–, qué estatuto asignarle, y en qué fase de su desarrollo y en razón de que cobraría los derechos inherentes a la persona.

No podemos distinguir entre seres humanos y personas. Podemos distinguir diferentes fenotipos o diferentes fases en el desarrollo humano, pero no crear estadios con diferente nivel de realidad ontológica. Una vez que comienza el desarrollo de un ser humano, establecer una frontera para comenzar a su protección implica una decisión arbitraria.

### ***2.2. Vida y muerte del embrión preimplantatorio***

La definición de vida y la constatación de la muerte de un embrión preimplantatorio *in vitro*, al igual que la de un embrión en útero, o de un nacido, o de un adulto, obviamente requieren el mismo criterio: la existencia o constatación de pérdida, respectivamente, de la función vital unitaria como organismo.

La vida como organismo individual es un proceso unitario e integrado. Cada célula es parte del todo en cuanto se está dando esa función vital de crecimiento diferencial organizado, en el espacio corporal y en el tiempo, que tuvo su arranque en la activación mutua de los gametos en la fecundación que originó la célula con fenotipo cigoto. Esta célula polarizada es más que la suma de los gametos: es un nuevo individuo que inicia un ciclo vital con desarrolló, maduración, etc. En cada una de las etapas iniciales de la existencia, cada embrión requiere un medio y unas interacciones específicas muy precisas para desarrollarse en un proceso de desarrollo embrionario, que es continuo en el tiempo y ordenado en el espacio. Sin esas condiciones imprescindibles el embrión muere, al perder la función vital que hasta entonces poseía: el crecimiento y diferenciación celular según el lugar que ocupa cada una de ellas en el diseño corporal que se traza con la fecundación del óvulo por el espermio.

Actualmente, el criterio de constatación de la muerte de una persona es la cesación total e irreversible de toda actividad encefálica<sup>3</sup>, como manifestación de la pérdida de la vida como organismo. De igual manera, el mismo criterio que define la realidad “muerte del embrión” es la que define su carácter de individuo desde la concepción.

En efecto, la polarización del cigoto y el establecimiento de los ejes del embrión, como detallaremos después, demuestran sin lugar a dudas la organización del embrión desde el día uno de su existencia como unidad vital. Desde el punto de vista de la biología del embrión se puede afirmar claramente la distinción entre la muerte del embrión y la permanencia con vida de algunas de sus células, de forma semejante a como se distingue entre muerte del individuo y órganos funcionando (por ejemplo, el corazón latiendo) después. El individuo humano embrión de varios días está vivo, y existe, o está muerto. Las células que componen la masa celular interna darán lugar a todos los órganos y tejidos siempre y cuando estén formando parte de la unidad orgánica viva que es esa persona, y sólo entonces.

El concepto de muerte clínica del embrión preimplantatorio crioconservado tiene la particularidad de que su existencia está detenida en el tiempo por la congelación: es decir está parado su proceso vital de desarrollo o función de crecimiento orgánico. Mientras permanezca en ese estado no es posible constatar si ha muerto o no puesto que justamente el proceso vital está detenido. Si el proceso de desarrollo se ha parado por la congelación requerirá para recomenzar, y continuar viviendo, que ese embrión sea descongelado y reanimado.

Por ello se puede afirmar, que detenida la vida por congelación cesa de inmediato la función vital si tras la descongelación el embrión no tiene las condiciones requeridas para reiniciar y posteriormente continuar el proceso vital de desarrollo. La descongelación de un embrión vivo crioconservado que se realizase sin las condiciones y el medio de cultivo adecuado para

---

<sup>3</sup> El llamado “criterio neurológico” fue declarado válido para la constatación de la muerte del individuo humano el 29 de agosto de 2000, en el discurso que Su Santidad Juan Pablo II pronunció, ante más de cuatro mil científicos de todo el mundo, que participaban en Roma en el XVIII Congreso Internacional de la Sociedad de Trasplantes: “ante los parámetros actuales de constatación de la muerte... la Iglesia no realiza opciones científicas... si es aplicado escrupulosamente, no parece en contraste con los elementos esenciales de una correcta concepción antropológica... y por tanto el operador sanitario... puede basarse en ellos para llegar... a la "certeza moral" necesaria para actuar de manera éticamente correcta”. Presentó la muerte encefálica como “signo” de que se ha perdido la capacidad de integración del organismo individual en cuanto tal. Poco antes afirmaba que la muerte de la persona consiste propiamente hablando “en la total desintegración de complejo unitario e integrado que la persona es en sí misma, a consecuencia de la separación del principio vital, o alma, de la persona de su corporeidad”. La persona es una unidad de cuerpo y espíritu, y el cuerpo es cuerpo de una persona viva, animada por el espíritu, en cuanto organismo en el cual sus partes y funciones están integradas. No basta que se dé una cierta interacción integrada entre algunos de los órganos o funciones biológicas; tiene que ser una unidad orgánica verdaderamente integrada.

poder reanimarle muere con la descongelación: no hay en él actividad vital, no hay proceso funcional de desarrollo unitario.

Sus células (que pueden ser funcionales como tales células pero no como individuo), pueden tomarse si van a ser donadas para investigación, sin necesidad de delimitar un periodo de tiempo después de la constatación de que la muerte ha acaecido. De forma análoga a como la detección de actividad cerebral (muerte encefálica) permite constatar si ha acaecido ya, o no, la muerte del individuo, la pérdida irreversible de la función vital propia de crecimiento diferencial (está en situación de imposibilidad fáctica de reanudar o reiniciar el proceso de desarrollo orgánico) es signo indicativo, es signo, de que la muerte del embrión ha acaecido.

Sólo el cadáver de embrión, como el cadáver del nacido, puede donarse para trasplante o para investigación. Ciertamente las células del embrión muerto no estarán en situación exactamente igual que si está vivo, como los órganos de un hombre muerto empiezan a deteriorarse en el tiempo que media la muerte y el trasplante. Pero no usar como material biológico un embrión humano vivo es el mínimo que deberíamos exigirnos. Esto no es una cuestión de matiz y tampoco es una precisión hipócrita: investigar con embriones vivos, aunque el destino más probable sea morir al haberseles negado la gestación, es una cosa y otra muy diferente usar las células procedentes de embriones que han muerto. Más aún la sensibilidad ética impone límites también en cuanto el uso de las células de cadáveres (injustamente dejados morir) supone una colaboración a la injusticia a que ha sido sometidos.

Hay un hecho específico de la vida incipiente que se presenta más adelante: el carácter totipotencial de conjuntos específicos de sus células, que en tanto separadas del organismo o cadáver del que formaban parte, separadas de la unidad orgánica, tienen capacidad de iniciar un nuevo ciclo vital y dar lugar a un nuevo ser. Ahora bien, una célula del embrión humano de dos, o de cuatro, u ocho células, o de la masa interna del embrión blastocisto no tiene carácter totipotencial; en tanto esté formando parte del embrión la totipotencialidad es del embrión en desarrollo. Sólo sacada de él, y manipulada artificialmente, podría dar lugar (y por ahora sólo teóricamente) a la formación de un nuevo ser (uno o varios): gemelos artificiales. La posibilidad de producir artificialmente un nuevo embrión sacándolas y manipulándolas no implica que cada una de ellas sean en sí un embrión potencial “dentro de otro embrión vivo o cadáver”. Sólo serían capaces de reiniciar un nuevo desarrollo, como gemelo artificial del primer embrión, en unas condiciones muy concretas de colocación en una envoltura similar a una zona pelúcida de óvulo, medios especiales de cultivo, etc., o inserción en otro blastocisto para dar una quimera.

En tales casos se habría producido artificialmente un gemelo, o una quimera, a partir del material biológico del embrión cadáver donante. Ha habido un proceso de producción *in vitro* de un nuevo embrión por gemelación artificial, o por fusión celular. Pero esa posible manipulación de producción de un nuevo ser no implica indefinición de la situación de viva o muerte del embrión preimplantatorio.

### **3. El fenotipo cigoto e inicio del nuevo ciclo vital**

El conocimiento de la primera división del cigoto, que ocurre dentro del primer día tras el inicio de la fecundación, ha permitido conocer que los ejes cabeza-cola y dorso-ventral presentes en el blastocito estaban incoados desde el momento de la concepción. El cigoto se establece como célula polarizada y por ello su primera división se realiza de forma meridional con el plano fijado por el polo heredado del óvulo y el punto de entrada del espermio. En

efecto se ha podido demostrar la existencia de un polo en el huevo fecundado ya que el segundo corpúsculo polar permanece adherido a la superficie del embrión en una posición establecida que determina un polo del cigoto. Zernicka-Goetz sospechó que el acto mismo de la fecundación era la clave para que se fijara un segundo polo, y efectivamente encontró que se trataba del punto por donde había penetrado el esperma. En la mayoría de los casos, la posición marcada coincidía aproximadamente con el ecuador de la primera división celular, indicando que el punto de ingreso del esperma determina el plano por donde se divide la célula la primera vez.

En experimentos posteriores marcaron las dos primeras células de diferente color, usando tinturas disueltas en aceite de oliva y rastrearon sus descendientes en el blastocito. Una célula generalmente da origen a la región de la masa celular interna y la otra a la región destinada principalmente a formar la placenta y otros tejidos de apoyo. La conclusión de Zernicka-Goetz es que la primera división del huevo influye en el destino de cada célula y por último, en todos los tejidos del cuerpo. En efecto, la organización del embrión está creada antes de la implantación<sup>4</sup>. Esto supone un cambio profundo en nuestra idea del embrión. Hace unos pocos años, como comenta en *Nature* Helen Pearson<sup>5</sup>, nadie se hubiera atrevido a afirmar que sólo 24 horas después de la fusión de los gametos existe ya un mapa de destinos en el cigoto. Hoy, sin embargo, es difícil dejar a un lado esa afirmación.

Esta primera división da lugar a la aparición de los dos blastómeros desiguales y con destino diferente en el embrión: el que lleva el punto de entrada del espermio se divide antes que el otro y lo hace además ecuatorialmente. Estas dos células del embrión, que es asimétrico y de tres células, darán origen a la masa interna del blastocisto. El otro blastómero inicial se divide a continuación, constituyéndose el embrión de cuatro células, y su progenie dará origen al trofoblasto<sup>6</sup>. Del primero de los dos blastómeros en que se divide el cigoto se originan las células que van a colocarse en el interior de la morula, tras la etapa de compactación.

Los blastómeros no sólo son desiguales entre sí, sino que además lo son respecto al cigoto del que proceden: poseen en su membrana componentes mediante los que interactúan específicamente constituyendo una unidad orgánica bicelular. La interacción célula-célula activa los caminos de señalización intracelulares modificando el estado del genoma: *informan* a cada de las células de su identidad como parte de un todo bicelular<sup>7</sup>. La autoorganización asimétrica se mantiene a lo largo del desarrollo preimplantatorio implicando interacciones específicas intercelulares<sup>8</sup>, y con ello expresión de genes diferentes en las células en función de la posición que ocupan en el embrión temprano<sup>9</sup>.

<sup>4</sup> Zernicka-Goetz M. (2002) Patterning of the embryo: the first spatial decisions in the life of a mouse. *Development* 129, 815-829. Gardner RL (2001) The initial phase of embryonic patterning in mammals *Internat Rev Cytol* 203, 233-290.

<sup>5</sup> Helen Pearson. (2002) Your destiny from day one. *Nature* 418, 14-15.

<sup>6</sup> Piotroska K, Wianny F, Pedersen RA, Zernicka-Goetz M (2001) Blastomeres arising from the first cleavage division have distinguishable fates in normal mouse development. *Development* 128, 3739-3748.

<sup>7</sup> López Moratalla, N (1997) "La construcción de un ser vivo". En *Temas 3: Investigación y Ciencia*. "Construcción de un ser vivo". Prensa Científica, S.A., pág. 2-5; López Moratalla, N (1997) "Biología del desarrollo". *Investigación y Ciencia* 247, 34-36.

<sup>8</sup> Gardner RL. The initial phase of embryonic patterning in mammals. En: Etkin LD, Jeon KW. Cell lineage specification and patterning of the embryo. *Int Rev Cytol* 2001;203:233-290; Cellular heterogeneity in the epiblast. <http://www.devbio.com/chap11/link1103.shtml>; The cell surface and the mechanism of compaction, <http://www.devbio.com/chap11/link1104.shtml>

<sup>9</sup> Louvet S, Aghion J, Santa-María A, Mangeat P, and Maro B (1996) Ezrin Becomes Restricted to Outer Cells Following Asymmetrical División in the Preimplantation Mouse Embryo. *Developmental Biology* 177, 568-579; Dard N., Louvet S., Santa-María A Aghion J., Martin M., Mangeat P. and Maro B (2001) In vivo functional



Por tanto, el embrión temprano no es sin más un tejido homogéneo e indiferenciado: pueden distinguirse por marcadores que además señalan el destino que seguirán. Además de las moléculas que interconectan las membranas de modo específico en las diferentes etapas, cada una de las células del embrión temprano posee una historia espacial y temporal como células diferentes de un único organismo. Es un crecimiento acompañado de diferenciación: y ese crecimiento orgánico es la función vital unitaria que hace de ese conjunto celular un organismo.

Tras las divisiones celulares alcanza el estado de 16 células y las células del exterior, justamente por su situación externa, expresan una proteína clave que las determina a ser trofoblasto, por estar implicada en la formación del epitelio funcional. Esta proteína citocortical, denominada ezrina, es un componente del citoesqueleto y juega un papel importante en la formación y estabilización del polo de las microvellosidades. El polo apical de la microvellosidad es el factor de asimetría mantenido durante las mitosis; la polaridad es restablecida solo en las células hijas que se llevan todo a parte suficiente del polo de la célula inicial, cigoto<sup>10</sup>.

Una primera consecuencia que se puede sacar de esta información es que el cigoto tiene carácter individual, y además posee la información *suficiente* respecto al término, pues posee una propiedad única: en la primera división origina dos células (blastómeros) con fenotipo diferente al suyo (diferentes entre sí, e incluso, en algunas especies al menos, con diferente destino en el proceso ontogénico), que las constituye en una unidad orgánica al interactuar específicamente. Por el contrario, una célula sin el fenotipo propio del cigoto origina al dividirse dos células que pueden seguir creciendo, con o sin interacciones entre ellas, de las que no emerge información para autoconstituirse, en una conformación del todo, con realidad propia.

La existencia de un patrón morfológico en las primeras etapas del embrión humano pone en duda si ciertas técnicas de reproducción asistida<sup>11</sup> podrían afectar los delicados procesos de establecimiento de los ejes corporales, como es el caso de la ICSI. Con la inyección intracitoplásmica de un espermio el punto de entrada del espermio se pierde como segundo polo del cigoto. Aunque es probable que la flexibilidad de los embriones humanos sea suficiente para compensar estas manipulaciones, lo cierto es que los nacidos por ICSI tienen más riesgo de defectos cromosómicos.

### ***Dos cigotos de una sola fecundación***

No conocemos el mecanismo de la gemelación *in vivo* a partir de una única fecundación. Sin embargo, se dio por supuesto como único mecanismo la separación de algunas células, que se reagrupan de nuevo para dar una nueva unidad de multiplicación celular, con lo que se generarían dos embriones, que anidarían por separado y originarían dos hermanos gemelos monocigóticos. Según esa visión, la gemelación espontánea se debería a la falta de organización unitaria del embrión en su estado preimplantatorio. Pero también se ha aducido

---

analysis of ezrin during mouse blastocyst formation. *Developmental Biology* 233 161-173; Louvet-Vallee S, Dard N, Santa-María A, Aghion J, Maro B (2001) A major posttranslational modification of ezrin takes place during epithelial differentiation in the early mouse embryo. *Developmental Biology*, 231 190-200.

<sup>10</sup> Louvet S, Aghion J, Santa-María A, Mangeat P and Maro B (1996) Ezrin Becomes Restricted to Outer Cells Following Asymmetrical Division in the Preimplantation Mouse Embryo. *Developmental Biology* 177, 568-579; Dard N, Louvet S, Santa-María A, Aghion J, Martin M, Mangeat P and Maro B (2001) In vivo functional analysis of ezrin during mouse blastocyst formation. *Developmental Biology* 233, 161-173.

<sup>11</sup> Winston RML, Hardy K (2002) Are we ignoring potential danger of in vitro fertilization and related treatments? *Nature Med* 8, S14-S18.

que la posibilidad de división no tendría que indicar necesariamente que el embrión carezca de carácter individual; podría suponer sencillamente que una parte de él, por estar en el inicio de la emisión del mensaje, constituyera una nueva unidad de emisión.

La fecundación misma puede verse como originaria de la organización individualizada del embrión en la etapa de cigoto. Así, el patrón estructural del blastocisto no se establece si la fecundación no se inició por el camino correcto: así, no lo alcanzan los partenogenotes producidos por una activación del óvulo maduro, ni el embrión derivado de un cigoto al que se le ha quitado el citoplasma cortical de la zona de entrada del espermio<sup>12</sup>. Hay que añadir además que el control del tiempo de la primera y segunda división del cigoto tiene mecanismos muy precisos<sup>13</sup>. La primera división celular de un cigoto tiene dos relojes moleculares, algo que marca claramente su diferencia de la simple división simple de otra célula en dos; son mecanismos mediados por iones, especialmente el calcio<sup>14</sup>.

Estos datos permiten plantear un nuevo escenario a la gemelación natural a partir de una única fecundación: un adelanto en el tiempo de la primera división respecto a la organización celular que permite alcanzar el fenotipo cigoto polarizado cuando está terminando el proceso de fecundación. Es decir, una ligera irregularidad en la difusión del ion calcio alteraría la sincronización de dos procesos habitualmente sincronizados: división celular y organización intracelular polarizada que culminan con la adquisición del fenotipo cigoto. De esta forma, si la célula, producto de la fusión de los gametos, se dividiera antes de haberse polarizado plenamente, las dos células resultantes no son dos blastómeros desiguales que constituyen un embrión bicelular; por el contrario, son dos células iguales derivadas de la célula híbrida, producto de la fusión de los gametos, y capaces de dar lugar a dos cigotos idénticos.

Esto es, una sola fecundación daría dos cigotos que se desarrollan independientemente, bajo la misma cubierta (la zona pelúcida del oocito fecundado), y que serán hermanos gemelos. La gemelaridad por aparición de dos cigotos al completarse la fecundación puede entenderse como una irregularidad “natural” causada por una ligera modificación del flujo de calcio desde la zona de entrada del espermio al óvulo. Tal irregularidad podría ser inducida por factores maternos; precisamente las diversas situaciones en que se da un incremento de la frecuencia de gemelaridad, existe una reducción de los niveles de calcio en la madre en el tiempo de la fecundación<sup>15</sup>. En este caso esa irregularidad natural sería provocada por el estado materno. Y en cualquier caso no desdice en absoluto de la individualidad del embrión.

### ***Fusión embrionaria y unidad***

Obviamente dos gemelos, procedentes de una única fecundación, o de dos independientes, que se gestan al unísono pueden dar lugar a un intercambio de células (incluso a través de la madre) o a la implantación precoz de células pluripotentes de uno de ellos (posiblemente tras su muerte) en el otro en fase temprana. Es más, el mecanismo de fusión es más sencillo que el de fisión en el estrecho margen de espacio de la zona pelúcida; sólo así se pueden explicar las quimeras naturales, e incluso las quimeras con hermafroditismo, que se deben a la

<sup>12</sup> Piotrowska K, Zernica-Goetz M. (2002) Early patterning of the mouse embryo-contributions of sperm and egg. *Development* 129, 5803-5813.

<sup>13</sup> Ciemerych MA, Maro B, Kubiak JZ. (1999) Control of duration of the first two mitoses in a mouse embryo. *Zygote* 7, 293-300.

<sup>14</sup> Day ML, Johnson MH, Cook DI. (1998) Cell cycle regulation of a T-type calcium current in early mouse embryos. *Eur. J. Physiol.* 436, 834-842.

<sup>15</sup> Stainman G. (2001) Mechanisms of Twinning III. Placentation, Calcium Reduction and Modified Compaction *The Journal of Reproductive Medicine* 46, 995-1002; Boklage CE (1987) Twinning, nonrighthandedness, and fusion malformations: Evidence for heritable causal elements held in common. *Am J Med Genet* 28, 67-84.

fusión embrionaria de células de un hermano de diferente sexo y procedente de la fecundación de dos óvulos diferente<sup>16</sup>. Aunque no hay datos que muestren la fisión de embrión antes de la implantación se tiene evidencia de que ocurren fusiones<sup>17</sup>.

### ***Gemelación artificial***

Se entiende con este término de gemelación artificial la separación de blastómeros provenientes de embriones pre-implantatorios de 2 a 8 ó más células y el alojamiento de dichos blastómeros en una cubierta proveniente de otro óvulo, o en una cubierta artificial. Los embriones originados así serán idénticos entre sí, tanto en genes nucleares, como en genes mitocondriales pero no idénticos a sus progenitores; no son pues clones sino gemelos. Este procedimiento se ha utilizado con fines experimentales, para comprender la capacidad de desarrollo de blastómeros aislados<sup>18</sup>, y con fines prácticos como una forma de incremento la producción de embriones de animales domésticos de interés comercial<sup>19</sup>; los resultados muestran una muy baja eficacia por una considerable pérdida de embriones por la manipulación.

Se conoce un solo intento de emplear esta metodología, de forma experimental, en humanos usando embriones poliploides no viables<sup>20</sup>. Este sistema artificial de obtención de gemelos no consiste en una simple partición de un individuo en ‘mitades’, o ‘cuartos’. La existencia de ejes que organizan las células derivadas de la multiplicación del cigoto no permite referirse a mitades o cuartos (como si se tratara de una realidad biológica simétrica y homogénea) sino a partes. Esto implica que aún en el embrión de dos células la separación de una de ellas y su transferencia a otra zona pelúcida no supone en sí la desaparición del embrión original, al modo de lo que ocurre en la división celular de una bacteria para desaparecer y dar paso a dos bacterias “hijas”, ninguna de las cuales mantiene la identidad de la primera.

Por el contrario un blastomero (o un conjunto de varios) sacados de un embrión precoz y cultivados en condiciones adecuadas pueden reprogramar su organización celular a un nuevo sistema unitario; el embrión “donante” de parte de sus células puede reprogramar su desarrollo recuperando con flexibilidad las células perdidas manteniendo su configuración. Al embrión bicelular le ocurriría lo mismo puesto que los dos primeros blastómeros son diferentes entre si, no puede hablarse de una partición con desaparición del primero sino de una regeneración celular de cada uno de los blastómeros aislados artificialmente.

Se plantea la posibilidad de originar varios embriones humanos por gemelación artificial de no único para aumentar la eficacia de las prácticas de reproducción humana asistida y para la obtención de más embriones “sobrantes” de estas prácticas a fin de obtener material biológico (células madre embrionarias) para investigación. La inseguridad acerca de si se obtendrían gemelos, o por el contrario se perdería el de partida existente, hace poco probable la práctica de esta técnica.

## **4. El fenotipo blastocisto**

<sup>16</sup> Strain L, Dean JCS, Hamilton MPR, Bonthron DT (1998) A true hermaphrodite chimera resulting from embryo amalgamation after in vitro fertilization. *New England Journal of Medicine* 338, 166-169.

<sup>17</sup> Spencer R (1992) Conjoined Twins: Theoretical Embryologic basic. *Teratology* 45, 591-602.

<sup>18</sup> Di Berardino MA (1997) *Genomic Potential of Differentiated Cells*. Columbia University Press, New York.

<sup>19</sup> Willadsen SM (1979) A method for culture of micromanipulated sheep embryos and its use to produce monozygotic twins. *Nature* 277, 298-300.

<sup>20</sup> Hall JL, Engel D, Gindoff PR, Mottla GL, Stillman RJ (1993) Experimental cloning of human polyploid embryos using an artificial zona pellucida. *Conjoint Meeting of the American Fertility Society and the Canadian Fertility and Andrology Society*, Montreal, 11-14 Octubre 1993, abstract O-001.

El embrión humano alcanza hacia el quinto día de desarrollo la etapa de blatocisto; estadio en el que aparecen ya establecidos dos tejidos diferentes. Las células situadas hacia el exterior y polarizadas se configuran como tejido extraembrionario, el trofoblasto o cubierta que le permitirá el intercambio con el exterior de materia, energía y señales moleculares para su crecimiento armónico y funcionará además como la primera barrera de defensa en la vida en simbiosis con la madre, que iniciara con la etapa de anidación.

Las células del interior se aglutinan constituyendo la masa interna celular de las que derivan los diferentes tejidos. Esta primera diferenciación a dos linajes celulares diferentes iniciada en la constitución del cigoto, se compromete definitivamente en el embrión de ocho células con la compactación. La diferencia de interacciones entre las células que ocupan el interior y las del exterior permite que reciban señales diferentes y se diferencien tanto en morfología, como en composición iónica del citoplasma y composición de la membrana.

El trofoblasto no es sólo un tejido "extraembrionario" que dará lugar a la placenta, necesaria e imprescindible para la comunicación con la madre en la gestación. Es un componente del sistema inmunitario innato con un papel esencial en la defensa frente a infecciones bacterianas durante la vida intrauterina<sup>21</sup>; para organizar la respuesta inmunitaria en la interfase útero-placenta tiene lugar un "diálogo molecular" materno-filial en el que los factores, liberados por células del sistema inmunitario de la madre presentes en las trompas, se unen a receptores específicos del trofoblasto del embrión y activan dichas células.

Al término de la anidación las células de la masa interna se han organizado como disco embrionario bilaminar<sup>22</sup> y la siguiente etapa, conocida como gastrulación transforma, con una segunda diferenciación celular, el disco embrionario en trilaminar.

Las tecnologías de reproducción *in vitro* han mostrado que la viabilidad del embrión en la etapa preimplantatoria es dependiente del aporte de los factores moleculares; factores que en el proceso natural la madre aporta al embrión a su paso por las trompas. La falta de eficacia de esta técnicas tiene en ello una explicación obvia: ni los gametos están en la situación biológica óptima para interactuar y fecundarse y con el embrión fuera de su sitio natural ni él ni la madre intercambian las señales imprescindibles para el desarrollo al paso por las trompas y su posterior anidación facilitada por las moléculas con reconocimiento específico madre-hijo.

### ***Gemelación monocigótica por fisión del embrión preimplantatorio***

La gemelación que se origina por una fisión del embrión deriva de "decisiones" moleculares que tienen lugar no más tarde del día ocho del desarrollo embrionario<sup>23</sup>. La causa de la gemelación por escisión es un retraso en el desarrollo temporal que refleja una parada bioquímica, y por tanto un enlentecimiento de la vida embrionaria precoz. Se asocia a niveles bajos de calcio en la madre por diversos factores como el bloqueo de los canales de calcio, lactancia (que comporta hipocalcemia), y es mucho más frecuente en casos de inducción de la ovulación y cuando la fecundación y cultivo del embrión se ha hecho *in vitro*.

<sup>21</sup>Guleria I, Pollard JW (2000) The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy. *Nat-Med* 6, 589-93.

<sup>22</sup>Gardner RL (1982) Investigation of cell lineage and differentiation in the extraembryonic endoderm of the mouse embryo. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 68, 175-198.

<sup>23</sup> Cfr. revisión: Steinman G. (2001) Mechanisms of Twinning Medicine II. Laterality and Intercellular Bonding in Monozygotic Twinning. *The Journal of Reproductive Medicine* 46, 473-479.

En tal situación un debilitamiento de la fuerza de los enlaces intercelulares en el embrión podría provocar su; la concentración de calcio en el blastocisto libre *in vitro* es significativamente más baja que cuando tras su transferencia a la madre interacciona con el endometrio<sup>24</sup>. También se ha visto que la gemelación monocigótica es más frecuente en hembras<sup>25</sup>, precisamente por el enlentecimiento del desarrollo precoz que conlleva la menor velocidad de replicación de dos cromosomas X respecto a un cromosoma X y otro Y.

Así pues la gemelación por escisión, cuando ocurre, no supone falta de organización intrínseca del embrión sino factores externos que le retrasan el contacto con el endometrio materno. El mantenimiento del embrión en un medio pobre en calcio puede originar debilitamiento de los enlaces intercelulares y en el momento de la implantación deshacerse la polarización axial, por lo que las células podrían organizarse en dos ejes de crecimiento. Esto se ha podido comprobar en estudios de cultivo *in vitro* de blastocistos murinos desprovistos de la zona pelúcida; de cada cien, uno origina gemelos por separación en dos unidades de la masa celular interna al iniciarse el cono de implantación en la zona opuesta al polo embrionario<sup>26</sup>. De hecho la unión del trofoectodermo del polo embrionario se une al endometrio a través de integrinas específicas que son dependientes de calcio<sup>27</sup>; y requiere una total sincronía con una ventana de tiempo en que la implantación puede ser correcta<sup>28</sup>.

Es decir la gemelación llamada homocigótica puede ser debida a que una sola fecundación acabe en dos cigotos, excepción que viene potenciada por la situación de bajo calcio materno. La otra posibilidad de gemelación homocigótica es debida a una escisión de la masa interna del embrión por formarse dos polos de implantación. Está es más frecuente en la práctica de la FIV que en la generación natural debido a la situación precaria del embrión en desarrollo y sin sincronización materna.

#### **4. Viabilidad intrínseca del embrión preimplantatorio *in vivo* e *in vitro*: mortalidad embrionaria.**

La posibilidad de seleccionar embriones vivos óptimos y dejar crioconservados y poder posteriormente llevar a cabo investigaciones con los subóptimos requiere definir desde el punto de vista biológico los criterios acerca de la viabilidad del embrión vivo *in vitro*. La definición (basada en criterios morfológicos o genéticos) tiene un carácter negativo: se trata de definir qué condiciones observables de los embriones *in vitro* pueden asociarse a su no viabilidad posterior; es decir qué criterios permiten predecir las probabilidades de no continuar el desarrollo después de su anidación. El mismo concepto de viabilidad hace referencia también a los defectos cromosómicos o del desarrollo embrionario que no permiten que llegue a término y nazca o lo haga con tales carencias y malformaciones que no sobreviva en un margen de tiempo tras la separación de la madre.

<sup>24</sup> Lutwak-Mann C, McIntosh JEA (1971) Calcium content and uptake of Ca in rabbit blastocysts and their environment. *J Reprod Fertil* 27, 471-475.

<sup>25</sup> James WH (1980). Sex ratio and placentation in twins. *Ann Hum Biol* 7, 273-276; Steinman (2001) Mechanisms of Twinning IV. Sex Preference and Lactation. *The journal of Reproductive Medicine* 46, 1003-1007.

<sup>26</sup> Hsu YC, Gonda MA (1980) Monozygotic Twin Formation in mouse embryos *in vitro*. *Science* 209, 605-606

<sup>27</sup> Frenette PS, Wagner DD (1996) Adhesion molecules: Part I. *N Engl J Med* 334, 1526-1529.

<sup>28</sup> Genbaced OD et al. (2002) Trophoblast L- selectin mediated adhesion at the maternal – fetal interface. *Science* 299, 405-408.

En el contexto de este trabajo nos vamos a referir a la diferencia de viabilidad intrínseca del embrión preimplantatorio *in útero* e *in vitro*. Esto es, la viabilidad y mortalidad asociada a la forma en que han sido concebidos.

El número tan elevado de pérdidas de embriones con la práctica de la FIV se intenta justificar con la afirmación de que la pérdida de embriones es un hecho transitorio ligado a las actuales imperfecciones de las técnicas, pero que mejoraran con el tiempo. Sin embargo no sólo no ha sido así sino que la realidad muestra algo muy distinto: el supuesto mejoramiento de las técnicas ha conducido a que sobran embriones que no son implantados y que permanecen criopreservados. Es decir se fecundan “muchos” aunque sean de peor calidad, se eligen y el resto se rechaza.

La argumentación justificadora de estas pérdidas vuelve la mirada a los datos con que se intentó apoyar la idea de un estado pre-embriionario: ¿cómo es posible que la naturaleza conduzca a una elevadísima muerte de embriones antes de su implantación en el útero materno? Puesto que no tiene explicación lógica habría —se afirma— que conceder que esa etapa por baja viabilidad es incompatible con un ser personal (sería algo así como un “derroche injustificado de almas”). Por tanto, el embrión preimplantatorio *in vivo* (y como consecuencia y con más razón *in vitro*) carece de *consistencia* para predicar de él el carácter personal propio de un individuo de la especie.

La cuestión tiene un error de partida: la supuesta elevada pérdida de embriones precoces en su fase inicial. Los datos acerca de la mortalidad embrionaria muestran que el porcentaje de embriones que detienen su desarrollo entre las etapas de cigoto y blastocisto es más elevada cuando la generación e inicio del desarrollo tiene lugar *in vitro*<sup>29</sup> que *in vivo*. Lógico si se tienen en cuenta que la “situación biológica primordial” es esencial ya para el desarrollo temprano del embrión.

Un estudio publicado en 1954 mostró que hasta un 30% de los embriones tienen interrumpido su desarrollo antes del estadio de blastocisto<sup>30</sup>. Este dato no ha sido confirmado con posterioridad; así en un estudio de 2002 se discute aún si los niveles en orina de la hormona HCG es un biomarcador fiable de la no-concepción, concepción y pérdida del embrión temprano<sup>31</sup>. Por otra parte ese marcador biológico puede estar igualmente elevado tanto si se ha producido una verdadera fecundación o no la ha habido. Y además, la causa mayor de pérdidas durante la gestación humana son las anomalías cromosómicas. La proporción de gestaciones de embriones con anomalía cromosómica decrece a lo largo del tiempo de gestación<sup>32</sup>; lo cual indica que la mortalidad embrionaria más que constituir un signo de que el embrión preimplantatorio no es un individuo de la especie humana por carecer de suficiente consistencia, es una clara muestra de un sistema de selección natural.

<sup>29</sup> Hardy H, Handyside AH, Winston RML (1989) The human blastocyst: cell number, death and allocation during late preimplantation development *in vitro*. *Development* 107, 597-604.

<sup>30</sup> Hertig AT, Rock J, Adams EC, Menkin MC (1954) Thirty-four fertilised human ova, good, bad and indifferent, recovered from 210 women of known fertility. *Pediatrics* 23, 202-211.

<sup>31</sup> Cho, S.-I., Goldman, M.B., Ryan, L.M., Chen, C., Damokosh, A.I., Christiani, D.C., Lasley, B.L., O'Connor, J.F., Wilcox, A.J., Xu, X. (2002). Reliability of serial urine HCG as a biomarker to detect early pregnancy loss. *Hum Reprod* 17: 1060-1066.

<sup>32</sup> Burgoyne PS, Holland K, Stephens R (1991) Incidence of numerical chromosome anomalies in human pregnancy estimation from induced and spontaneous abortion data. *Human Reproduction* 6, 555-565.

Diversos análisis han estudiado la mortalidad de los embriones producidos *in vitro*<sup>33</sup>. Y varias causas podrían explicar esta detención del desarrollo: la misma infertilidad de los progenitores<sup>34</sup>, defectos intrínsecos del oocito<sup>35</sup> y sobre todo las anomalías cromosómicas. El análisis cromosómico de embriones humanos generados y cultivados *in vitro* ha puesto de manifiesto que hasta un 40% de ellos contienen anomalías cromosómicas.<sup>36</sup> Aproximadamente el 50% de los embriones preimplantatorios de 2 ó 4 células que se cultivan *in vitro* no llegan al estadio de blastocisto.<sup>37</sup> Además, sólo aproximadamente el 20% de los embriones de 4 células transferidos se implantan en útero.<sup>38</sup> Además hasta un 75% de los embriones humanos cultivados *in vitro* presentan fragmentación del citoplasma de sus células. La viabilidad de estos embriones tempranos está comprometida cuando esos fragmentos contienen proteínas que son esenciales para continuar con el desarrollo.<sup>39</sup> Sin embargo, en ocasiones, la existencia de fragmentos no es letal y constituyen estructuras transitorias que desaparecen por reabsorción o lisis.<sup>40</sup> Se han identificado también anomalías tales como fragmentación nuclear,<sup>41</sup> y la existencia de células binucleadas o anucleadas, posiblemente originadas como un fallo de la división celular.<sup>42</sup>

Así pues, el embrión generado naturalmente tiene una mejor viabilidad intrínseca que el creado *in vitro*<sup>43</sup>; es decir los embriones creados en el laboratorio están más enfermos.

Tres parámetros definen qué morfología se corresponde con el grado de viabilidad intrínseca del blastocisto *in vitro*; y se refieren, como es obvio, a la organización según los ejes diseñados con la polarización del cigoto: a) una cavitación iniciada en el día 4, que origina

<sup>33</sup> Wilcox, A.J., Weinberg, C.R., O'Connor, J.F., Baird, D.D., Schlatterer, J.P., Canfield, R.E., Armstrong, E.G. and Nisula, B.C. (1988) Incidence of early loss of pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, 319, 189–194. Winter, E., Wang, J., Davies, M. J., Norman, R. (2002). Early pregnancy loss following assisted reproductive technology treatment. *Hum Reprod* 17: 3220-3223. Levy, T., Goldman, J.A., Dicker, D., Ashkenazi, J. and Feldberg, D. (1991) Very early pregnancy wastage in in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET). *J. In Vitro Fert. Embryo Transf.*, 8, 250–253. Simon, C., Landeras, J., Zuzuarregui, J.L., Martin, J.C., Remohi, J. and Pellicer, A. (1999) Early pregnancy losses in in vitro fertilization and oocyte donation. *Fertil. Steril.*, 72, 1061–1065.

<sup>34</sup> R.B. Hakim, R.H. Gray and H. Zacur, Infertility and early pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol* 172 (1995), pp. 1510–1517. Kolstad, H.A., Bonde, J.P., Hjollund, N.H., Jensen, T.K., Henriksen, T.B., Ernst, E., Giwercman, A., Skakkebaek, N.E. and Olsen, J. (1999). Menstrual cycle pattern and fertility: a prospective follow-up study of pregnancy and early embryonal loss in 295 couples who were planning their first pregnancy. *Fertil. Steril.*, 71, 490–496. M.J. Zinaman, E.D. Clegg, C.C. Brown, J. O'Connor and S.G. Selevan, Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril* 65 (1996), pp. 503–509.

<sup>35</sup> Sauer, M.V. (1997) Infertility and early pregnancy loss is largely due to oocyte aging, not uterine senescence, as demonstrated by oocyte donation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 828, 166–174.

<sup>36</sup> Plachot M, de Grouchy J, Junca AM (1987) From oocyte to embryo: a model, deduced from in vitro fertilization, for natural selection against chromosome abnormalities. *Annals of Genetics* 30, 22-32; Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J (1995) Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertility and Sterility* 64, 382-391.

<sup>37</sup> Hardy H, Handyside AH, Winston RML (1989) The human blastocyst: cell number, death and allocation during late preimplantation development in vitro. *Development* 107, 597-604.

<sup>38</sup> Devreker F, Hardy K, Van den Bergh M, Winston RML, Birmane J, Englert Y (2000) Non-invasive assessment of glucose and pyruvate uptake by human embryos after ICSI and during the formation of pronuclei. *Fertility and Sterility* 73, 947-956.

<sup>39</sup> Antczak M, Van Blerkom J (1999) Temporal and spatial aspects of fragmentation in early human embryos: possible effects on developmental competence and association with the differential elimination of regulatory proteins from polarized domains. *Human Reproduction* 14, 429-447

<sup>40</sup> Van Blerkom J, Davis P, Alexander S (2001) A microscopic and biochemical study of fragmentation phenotypes in stage-appropriate human embryos. *Human Reproduction* 16, 719-729.

<sup>41</sup> Hardy K (1997) Cell death in the mammalian blastocyst. *Molecular Human Reproduction* 3, 919-925.

<sup>42</sup> Hardy K, Warner A, Winston RML, Becker DL (1996) Expression of intercellular junction during preimplantation development of the human embryo. *Molecular Human Reproduction* 2, 621-632.

<sup>43</sup> López Moratalla, N (2000) Fecundación *in vitro* y la pérdida en la relación intergametos y en la relación inicial madre-hijo. En “La humanidad *in vitro*” (Coord. Jesús Ballesteros) Ed. Comares. Granada.

una cavidad excéntrica; b) la cavidad se expande y se alinea con la región de la masa celular interna delimitada por una capa de trofoectodermo, y c) la morfología de la masa celular interna presente un único foco. Por el contrario el grado de viabilidad disminuye drásticamente si antes de la expansión se forman vacuolas y más aún si se forman focos degenerativos esta zona<sup>44</sup>. La validez de esta clasificación<sup>45</sup> se ha confirmado por medida del nivel de la hormona beta-hCH segregada por el blastocisto que crece en cultivo.

La cantidad de embriones inviábiles son el resultado de las manipulaciones *in vitro* del proceso y sería extrapolar en falso pensar que reproducen el proceso natural. Por otra parte, las técnicas para un diagnóstico preimplantatorio, que requieren tomar una o dos células de un embrión de tres días, han puesto de manifiesto la asombrosa habilidad para compensar el daño<sup>46</sup>. Son muestra evidente de la consistencia intrínseca de un embrión y la disminución por la manipulación artificial y la falta del medio natural adecuado para su desarrollo.

La transferencia a útero de embriones humanos en fase blastocisto ha llegado a ser la práctica más común en la reproducción asistida; se puede sincronizar mejor crecimiento en cultivo con la preparación del endometrio de la mujer receptora y se hace una selección previa de los embriones disminuyendo así a uno o dos al máximo el número de los transferidos al mismo tiempo<sup>47</sup>.

Se práctica también el diagnóstico genético preimplantatorio (PGD), desarrollado como una alternativa al diagnóstico prenatal y para ser empleado en parejas con riesgo de transmitir enfermedades hereditarias a su descendencia. Con el PGD, la pareja utiliza un ciclo de fecundación *in vitro* para generar embriones en el laboratorio y se realiza una biopsia de los embriones cuando estos se encuentran en el estadio de 6-8 células (día 3 de desarrollo), extrayendo 1 ó 2 blastómeros. Se realiza a continuación un análisis de esos blastómeros empleando las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o de hibridación *in situ* fluorescente (FISH), dependiendo de la enfermedad que se desea estudiar. Los embriones no afectados se transfieren al útero con el conocimiento de que la gestación se desarrollará con fetos no afectados<sup>48</sup>. En la actualidad, se utiliza también el diagnóstico genético del cuerpo polar para inferir la constitución genética del embrión. El procedimiento de biopsia embrionaria consiste en una penetración de la zona pelúcida, que se puede realizar utilizando una solución ácida, micromanipulación o, según desarrollos más recientes, empleando un laser, seguido de aspiración del blastómero<sup>49</sup>. En algunos casos, pueden estar afectados todos

<sup>44</sup> Balaban B et al. (2000) Blastocyst quality affects the success of blastocyst-stage embryo transfer. *Fertility and Sterility* 74, 282-287.

<sup>45</sup> Dokras A et al. (1993) Human blastocyst grading: an indicator of developmental potential. *Human Reproduction* 8, 2119-2127.

<sup>46</sup> Harper JC, Delhanty JDA, Handyside A (2001) *Preimplantation Genetic Diagnosis*, Wiley, New York.

<sup>47</sup> Olivennes F et al. (1994) Four indications for transfer at the blastocyst stage. *Human Reproduction* 9, 2367-2373.

<sup>48</sup> Harper JC, Delhanty JDA (2000) Preimplantation genetic diagnosis. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 12, 67-72; Delhanty JDA, Harper JC (2000) Pre-implantation genetic diagnosis. *Balliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 14, 691-708; Harper JC, Delhanty JDA, Handyside A (2001) *Preimplantation Genetic Diagnosis*, Wiley, New York.

<sup>49</sup> Hardy K, Martin KL, Leese HJ, Winston RM, Handyside AH (1990) Human preimplantation development *in vitro* is not adversely affected by biopsy at the 8-cell stage. *Human Reproduction* 5, 708-714; Malter HE, Cohen J (1989) Partial zona dissection of the human oocyte: a non-traumatic method using micromanipulation to assist zona penetration. *Fertility and Sterility* 51, 139-148; Cieslak J, Ivakhnenko V, Wolf G, Sheleg S, Verllinsky Y (1999) Three-dimensional partial zona dissection for preimplantation genetic diagnosis and assisted hatching. *Fertility and Sterility* 71, 308-313; Veiga A, Sandalinas M, Benkhalifa M, Boada M, Carrera M, Santalo J, Barri PN, Menezo Y (1997) Laser blastocyst biopsy for preimplantation genetic diagnosis in the



los embriones o todos pueden ser morfológicamente pobres. Además, las tasas de gestación después del procedimiento de diagnóstico preimplantatorio parecen ser menores que las obtenidas con embriones no manipulados<sup>50</sup>. Es obvio que el PGD añade una tasa de muerte embrionaria injustificable y que exige definir previamente de forma clara los efectos de sacar del embrión alguna célula de forma indiscriminada. Como es bien conocido, las células que forman la llamada masa celular interna se posa en una línea de latitud dividiendo el hemisferio superior (dorso), del hemisferio inferior (región ventral del embrión) y esos ejes se mantienen a lo largo de la construcción del cuerpo ya que este patrón es conservado por el embrión después de la implantación.

## 5. Situación de los embriones cultivados *in vitro*

Actualmente es posible incubar *in vitro* todos los estadios de desarrollo preimplantatorio del ratón y de otros modelos animales con una tasa de desarrollo muy elevada. El metabolismo del embrión es diferente cuando se comparan las etapas pre- y post-compactación, que corresponden a los momentos anteriores y posteriores a la cuarta segmentación. Antes de la compactación los embriones tienen blastómeros que no están unidos entre sí y estén expuestos por igual al medio que les rodea. En esta etapa los embriones tienen un nivel de biosíntesis reducido, tasas de respiración bajas y una capacidad limitada de metabolizar la glucosa como fuente de energía<sup>51</sup>. Por otra parte, después de la compactación los embriones tienen una tasa elevada de biosíntesis y una demanda mayor de energía. Se tornan capaces de metabolizar la glucosa y de controlar activamente el pH citoplásmico. Se ha obtenido información básica sobre parámetros físicos, sustratos de los que obtener energía y necesidad de aminoácidos o factores de crecimiento y se han desarrollado “medios secuenciales” para ser utilizados con embriones humanos generados mediante técnicas de reproducción asistida. Estos medios permiten el desarrollo de un 50-60% de los embriones hasta el estadio de blastocisto; la mayoría de estos embriones generan el blastocele en el día 5 y tienen una tasa de implantación del 45%<sup>52</sup>.

### 5.1. Congelación de embriones

Sigue planteada la necesidad de conservar embriones humanos congelados. Por una parte, los resultados de embarazos después de una fecundación *in vitro* son cada vez mejores y por lo tanto existe una tendencia a restringir a un máximo de dos el número de embriones que se transfieren. Esto ha llevado a la necesidad de almacenar los embriones que no se transfieren con el fin de utilizarlos en un intento posterior de reproducción asistida en un ciclo natural sin estimulación ovárica. Por otra parte, en algunas ocasiones el ciclo resultante de la estimulación ovárica no es adecuado para proceder con la transferencia del embrión y también se ha de recurrir a la conservación del embrión.

---

human. *Zygote* 5, 351-354; Boada M, Carrera M, de la Iglesia C, Sandalinas M, Barri PN, Veiga AJ (1998) Successful use of a laser for human embryo biopsy in preimplantation genetic diagnosis: report of two cases. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 15, 302-307.

<sup>50</sup> Harper JC, Delhanty JDA, Handyside A (2001) *Preimplantation Genetic Diagnosis*, Wiley, New York.

<sup>51</sup> Leese HJ (1991) Metabolism of the preimplantation mammalian embryo. *Oxford reviews of Reproductive Biology* 13, 35-72.

<sup>52</sup> Jones GM, Trounson AO, Gardner DK, Kausche A, Lolatgis N, Wood C (1998) Evolution of culture protocol for successful blastocyst development and pregnancy. *Human Reproduction* 13, 169-177; Gardner DK, Vella P, Lane M, Wagley L, Schlenker T, Schoolcraft WB (1998) Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Fertility and Sterility* 69, 84-88.

Los primeros intentos de criopreservación de embriones humanos, seguidos de transferencia de los embriones y nacimientos, tuvieron lugar a comienzos de los años 80<sup>53</sup>. Recientemente se ha realizado en Francia un análisis de una larga serie de transferencias embrionarias (involucrando miles de casos) que ha permitido concluir que la gestación por embrión es menor con embriones criopreservados (7.3%) que en embriones frescos (9.2%)<sup>54</sup>. De todas maneras, se ha observado que el daño experimentado por los embriones como resultado de la congelación-descongelación es del orden del 30%<sup>55</sup>. En general, cuanto más tarde se haga la selección, mejores serán los resultados de la transferencia de los embriones, aunque pocos embriones *pasen* este proceso de selección en esta etapa más tardía.

La descongelación se realiza en presencia de concentraciones adecuadas de azúcares no permeables con el objeto de evitar la sobrehidratación de las células al mismo tiempo que se produce la dilución del crioprotector. Es habitual, antes de proceder a la transferencia, realizar un cultivo *in vitro* de los embriones descongelados durante un período de 24 horas para asegurarse que continúan el desarrollo. Estos datos muestran que para la reanudación de la vida de los embriones que está detenida por la congelación no basta la simple descongelación sino un posterior cultivo en el medio adecuado según los días de vida del momento de la congelación. Existe en la actualidad un interés por la congelación de blastocistos<sup>56</sup>. No obstante el proceso de congelación-descongelación es más perjudicial para los embriones más desarrollados.

Y también la viabilidad del embrión tras la descongelación es dependiente de la técnica con que fueron generados.

## 5.2. Cultivo de células de la masa interna del blastocisto (células madre embrionarias)

La multiplicación de células totipotentes (blastómeros) o pluripotentes (masa celular interna del blastocisto, células madre embrionarias) requiere unas condiciones de extracción, de no colocación en el interior de una zona pelúcida y de medio de cultivo, que el resultado lejos de ser un nuevo embrión es una agrupación celular (cuerpo embrioide) estructurada de forma muy diferente a un embrión. La adición de factores específicos a estas células permite su diferenciación celular dirigida así artificialmente y de manera que no permite a las células más o menos diferenciadas constituir una unidad en desarrollo, un individuo.

## 6. Conclusiones.

1. El embrión temprano no es un simple tejido homogéneo e indiferenciado. El plano de polarización del cigoto fija el plano de las primeras divisiones celulares y organiza el embrión en estructuras espaciales precisas. La confirmación de que en el cigoto hay un plano o mapa debido a su polarización, y el conocimiento de la asimetría de la primera división celular, pone en tela de juicio esta explicación hasta ahora generalmente aceptada

<sup>53</sup>Trounson AO, Mohr L (1983) Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 305, 707-709; Downing BG, Mohr LR, Trounson AO, Freemann LE, Wood C (1995) Birth after transfer of cryopreserved embryos. *Medical Journal of Australia* 142, 409-411; Cohen J, Simons RF, Fehilly CB, Fishel SB, Edwards RG, Hewitt J, Rowland GF, Steptoe PC, Webster JM (1985) Birth after replacement of hatching blastocyst cryopreserved at expanded blastocyst stage. *Lancet* 1, 647.

<sup>54</sup>FIVNAT (1996) Bilan des transferts d'embryons congelés de 1987 à 1994. *Contraception, Fertilité, Sexualité* 14, 700-705.

<sup>55</sup>Testart J, Lasalle B, Belaisch-Allart J, Forman R, Hazout A, Volante M, Frydman R (1987) Human embryo viability related to freezing and thawing. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 157, 168-171.

<sup>56</sup>Kaufman RA, Menezo Y, Hazout A, Nicollet B, DuMont M, Servy EJ (1995) Cocultured blastocyst cryopreservation: experience of more than 500 transfer cycles. *Fertility and Sterility* 64, 1125-1129

del origen de los gemelos homocigóticos en la partición, más o menos simétrica, de un embrión temprano constituido por blastómeros idénticos entre sí. El concepto de preembrión (aplicado al embrión preimplantatorio) como una fase del desarrollo en que no ha alcanzado el carácter de individuo de la especie (precisamente por la posibilidad de dar origen por división a dos gemelos monocigóticos) carece de fundamento biológico. Esto implica que la actual ley española de reproducción humana asistida está apoyada en un presupuesto biológico falso.

2. En definitiva el *estatus* del embrión preimplantatorio (generado naturalmente o creado *in vitro*) es el mismo: individuo de la especie humana. La diferencia de situación biológica primordial del embrión en útero o *in vitro* no cambia su ser –su estatuto biológico y ontológico–, sino su salud y viabilidad. *In vitro* disminuye drásticamente la capacidad de un correcto desarrollo en simbiosis armonizada con la madre; es decir se le resta posibilidad de vivir, continuar su desarrollo sin interferencias, y se le aumentan el riesgo de malformaciones y enfermedades. Esto no significa menor humanidad, sino que siendo un ser humano, se le ha generado y situado en unas circunstancias en las que la capacidad de seguir viviendo está limitada.
3. La reanudación de la vida de los embriones (detenida por la congelación) no basta la simple descongelación sino un posterior cultivo en el medio adecuado según los días de vida del momento de la congelación. El mismo principio de vida (crecimiento diferencial como unidad orgánica) que define la existencia o no de un nuevo individuo en desarrollo permite al constatar su inexistencia la muerte embrionaria. Es necesario distinguir los términos “vivo viable o inviable” de “muerto”, o “con la vida detenida”.
4. También se diferencia técnicamente una gemelación artificial que daría lugar a más de un embrión por aislamiento y cultivo de células tomadas de un embrión preimplantatorio, del crecimiento y cultivo de las células pluripotentes del interior de la mórula y de la masa celular interna dirigido a la obtención de células madre embrionarias.
5. La tasa de embriones inviables es mayor en los originados por las prácticas de fecundación asistida que de los engendrados naturalmente. La selección, por observación morfológica de los embriones, aptos para garantizar una mayor tasa de implantación supone una experimentación que no beneficia de ninguna forma al embrión sino una eliminación de probables defectuosos. Por otra parte el diagnóstico genético preimplantatorio eleva la tasa de muerte embrionaria.
6. La conveniencia de producir el mayor número de embriones para poder seleccionar los óptimos para transferencia a la madre, anidación y desarrollo está originando un número desorbitado y no decreciente de embriones que queda como excedentes. Es razonable establecer la práctica (y modificar en tal sentido la actual ley española) de no fecundar más óvulos que embriones van a poder ser transferidos y gestados con oportunidad de continuar su desarrollo. La necesidad de una potencial-posible utilidad de los embriones sobrantes para investigación no justifica la desidia de permitir que sobren embriones.
7. De ahí que sea necesario disminuir el número de embriones producidos por ciclo, y responsabilizar a los padres en el compromiso de utilizar para procreación los embriones creados. La situación actual de las técnicas hace posible que, sin limitar el *derecho reproductor* que la ley otorga con las técnicas de reproducción asistida (es decir la eficacia medida en niños nacidos), se evalúan los riesgos de mortalidad, y de incidencia de enfermedades y taras en los hijos, así como los efectos negativos para el hijo y la madre

de una agresiva multiovulación. Y más aún, la posibilidad de equilibrar de derechos e intereses (“derecho a la vida del hijo” “salud del hijo” y “derechos reproductivos”), en una práctica que se define como clínica y conducente a paliar la esterilidad, pasa necesariamente por un diagnóstico claro y riguroso del tipo o causa de la esterilidad.