

## **FERTILIZAREA IN VITRO (FIV):** **( după literatura de specialitate)**

**Def.:** (1) este o tehnică de reproducere asistată, alături de :

- inseminarea de spermă;
- transferul intrafalopian de gameți (GIFT);
- tehnici de micromanipulare a gameților( ZIFT, PROST, ICSI).

**Tehnica** cuprinde mai multe etape:

1.) ( 2) Selectarea pacienților cu infertilitate date de :

- a.) Boala tubară( obturarea trompelor);
- b.) Endometrioza ( este cauza cu un procent de 15% a infertilității);
- c.) Infertilitatea de cauză masculină;
- d.) Cauze imunologice.

2.) Inducerea creșterii foliculare ( 3 ):

- la început ( anul 1981) se foloseau oocite (ovuli) din ciclul natural nestimulat dar dezavantajele metodei erau mari;
- din anul 1981 s-a folosit pentru prima dată pentru inducerea ovulației cu Clomiphene Citrat ( CC), astfel rezultând prima sarcină gemelară;
- au apărut alți agenți cum ar fi: hMG, FSH urinar, FSH recombinat, GnRH cu agoniștii și antagoniștii săi, hormonul de creștere,etc.

**Monitorizarea** clinică a inducerii ovulației ( 4) este o etapă importantă pentru a cunoaște și a evalua nu doar creșterea foliculară ci și acțiunea directă a estradiolului și progesteronului asupra endometrului, pentru a-i induce modificări morfologice și funcționale compatibile cu o implantare a embrionului.

**Colectarea de ovule:**

- se face începând cu anul 1984 cu un ac special cu ghidaj al sondei transvaginale, atașat la o pompă automatsucțiune care menține o presiune de 100-120 mm HG;
- cu acul respectiv se puncționează foliculul cel mai apropiat și se golește;
- lichidul folicular obținut va fi predat imediat embriologului pentru a identifica oocitul;
- lichidul este pus de obicei în cutie Petri și se caută oocitul sub un stereomicroscop.

**Cultura de embrioni** ( 5) necesită mai multe etape:

- a.) mediul de cultură: are un pH de 7,35-7,40 și conține ser fiziologic îmbogățit cu soluții complexe de săruri, vitamine și aminoacizi;
- b.) mediul înconjurător: embrionii se cresc într-o atmosferă cu 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> și 90% Nitrogen, în condiții ridicate de umiditate.
- c.) Colectarea și maturarea oocitelor:

- după aspirarea lichidului folicular, aspiratul este pus în vase Petri și examinat la stereomicroscop pentru evidențierea oocitelor;
- se spală sângele din jurul oocitelor;
- **oocitul** găsit se va curăța, se va aspira în pipetă Pasteur și se transferă într-o placă unde din nou este spălat rapid pentru a fi trecut într-un mediu de inseminare; se acoperă plăcuța și se introduce în **incubator**.
- toate aceste manevre trebuie să dureze maxim un minut;
- în timpul puncției ovariene, soțul sau partenerul pacientei va produce sperma necesară prin **mastrubare**, într-un recipient steril;
- sperma **se prepară** prin eliminarea supernatantului după centrifugare, se adaugă și alte substanțe, etc.
- la **4-6 ore** de la colectarea de ovule **se face inseminarea** prin adăugarea spermei rezultate și plăcuța se repune în incubator;

- **controlul fertilizării se face la 16-18 ore după inseminare:** astfel se controlează la microscop oul prezintă cei doi pronuclei,
- **embriotransferul** se efectuează la **44-48 de ore** de la inseminarea oocitelor;
- **se aleg cei mai buni embrioni** ( aici se referă probabil la Dg. de preimplantare care se face pentru a stabili dacă acești embrioni prezintă tare genetice, pentru a fi distruși și reimplantați doar cei sănătoși d.p.d.v.genetic ! ) și, cu acordul pacientei **se implantează 3-4 embrioni în uter, fiind în stadiul de 4-6 celule;**
- pacienta și pacientul pot vizualiza micii embrioni pe monitoarele speciale;
- transferul intrauterin se face cu un cateter special și cu o seringă de tuberculină în care se trag embrionii + ser. Cateterul este introdus până aproape de fundul uterin și sunt transferați embrionii;
- pacienta va aștepta două săptămâni, după care dacă nu apare menstra va face determinarea de hormon B-Hcg ( hormon ce apare în urină dacă femeia este însărcinată). Dacă testul de sarcină este pozitiv va urma evoluția unei sarcini.

### Descrierea etapelor.

#### 1.) **Prepararea și inseminarea spermei ( 6):**

- sperma este obținută prin **masturbare** într-un recipient steril ;
- se face spermograma ;
- se urmărește obținerea unui specimen cu un număr cât mai mare de spermatozoizi cu motilitate bună și lipsit de contaminare microbiană;
- nu se cunoaște densitatea minimă de spermatozoizi necesară pentru fertilizare; inseminarea se efectuează la o concentrație de 50.000-200.000 spermatozoizi/ml.

#### 2.) **Fertilizarea( 7):**

- fuzionarea spermatozoizului cu oul reprezintă punctul culminant al unor multitudini de procese ;
- la ejaculare spermatozoidii parcurg un fenomen de capacitare care îi face capabili să penetreze oul;
- apoi spermatozoidul parcurge reacția de acrozom prin care el va penetra membrana ovulului, apoi are loc o reacție corticală prin care este blocată intrarea altor spermatozoizi în ou;
- oul, la rândul lui, înainte de fecundare este curățat și introdus în incubator, după care este apt pentru fecundare.

#### 3.) **Calitatea embrionului ( 8):**

- **după 48 de ore** de stat în incubator, oocitele fecundate, ajung la stadiul de **4 celule;**
- se face apoi evaluarea embrionilor pentru transfer și pentru crioprezervare ( tehnică efectuată sub microscop);

#### 4.) **Co- culturile de embrioni ( 9) :**

- este nevoie de un sistem de co-cultură care să ajute maturarea și dezvoltarea embrionilor; astfel crește numărul de celule per embrion și permit unui număr mai mare de embrioni să atingă stadiul de blastocist, comparativ embrionii de control crescuți în medii standard;

**5.) Aspectele genetice ale FIV ( 10) :**

- studiul cariotipului oocitelor a dus la concluzia că frecvența **oocitelor cu anomalii variază între 24 și 35%!** Cele mai comune erori sunt: ANEUPLOIDIA, DIPLOIDIA și ANOMALIILE STRUCTURALE.

**6.) Crioprezervarea ( 11) :**

- s-a dezvoltat o tehnologie în paralel care permite depozitarea embrionilor pe termen lung;
- embrionii înghețați în nitrogen lichid de la stadiul de zigot până la blastocist au putut fi transferați, ducând la creșterea numărului de sarcini;
- se fac studii despre potențialul genetic după crioprezervare, respectiv posibila deteriorare a embrionului la temperatura camerei după dezghețare, crescând riscul ANEUPLOIDIILOR!

**7.) Maturarea in vitro ( 12) :**

- unul din cele mai mari dezavantaje în FIV este hiperstimularea ovariană controlată cu riscul de a NU obține un embrion ( un copil)!.
- un alt dezavantaj este necesitatea existenței unor oocite proaspete, sănătoase, nedeteriorate, competente pentru diviziune.

**8.) Embriotransferul – ET (13) :**

- un procent de 87,5% dintre pacientele la care s-au colectat ovule sunt capabile de embrio-transfer, dar numai 21,1% dintre ele vor procrea ;
- **etapele ET sunt:**
  - a. transferul se face de la ziua 1 după colectarea de ovule până la ziua 5 în stadiul de blastocist ;
  - b. este foarte important stadiul dezvoltării endometrului;șansa cea mai mare de implantare o are în zilele de 17-19 ale ciclului;
  - c. numărul embrionilor transferați este important, astfel rata sarcinilor multiple este în concordanță cu numărul de embrioni de bună calitate transferați; în prezent marea majoritate a clinicilor limitează numărul embrionilor transferați la 2 pentru pacientele sub 35 de ani și la3 pentru cele trecute de 35 de ani;
  - d. embrionii sunt transferați în cateter într-un mediu vâscos pentru a falicita transferul;
  - e. locul de transfer embrionar în cavitatea uterină: este în partea joasă a uterului, crescând astfel rata sarcinii, astfel embrionii trebuie să fie la 1 cm proximal de fundul uterin;
  - f. după transfer cateterul se scoate cu grijă.

**9.) Faza luteală ( 14) :**

- între anii 1980-1987, s-au folosit Clomiphene Citrat și hMG pentru stimularea ovariană.
- mai târziu, datorită deficitului de fază luteală s-a încercat o stimulare cu hCG sau progesteron care nu a îmbunătățit însă rezultatul până recent când s-a introdus în inducerea ovulației analogul de GnRH combinat cu Metropine.

## 10.)REZULTATE ( 15) :

- rata sarcinii este de **25-30% prin Gift** față de **12-19% prin FIV-ET** și în prezent nu se cunosc îmbunătățiri substanțiale;
- **sarcinile ectopice** după ET ( embriotransfer), au loc în proporție de **4-5%**;
- rata sarcinii crește cu numărul de embrioni transferați, dar crește și numărul de sarcini multiple;
- riscul **nașterii premature** ( 26-28 săptămâni), este de **12,8%**;
- procentul de **operații cezariene în FIV este de 45-55%**,
- **mortalitatea perinatală** în FIV este de **45/1000 nașteri** în Australia, 27 în Marea Britania, etc.;
- procentul malformațiilor congenitale în FIV nu diferă față de cel al populației generale(?).

## 11.)Micromanipularea gameților:

- tratamentul infertilității masculine a fost cu rezultate minime față de cel al infertilității feminine. Astfel au apărut noi speranțe o dată cu FIV și Embrio-transferul,
- există trei tipuri de spermă asociate cu infertilitatea de cauză masculină: oligospermia, teratozoospermia și astenozoospermia,
- există trei proceduri de micromanipulare care îmbunătățesc capacitatea spermatozoizilor de a fertiliza:
  - a.) procedeul de *zona-opening*, prin obținerea unei mici ferestre în zona pellucida ( membrana ovariană) cu ajutorul unui microac, fiind astfel direct expus spermatozoizilor **crescând numărul de sarcini !** ( 16 ).
  - b.) *Insertia spermatică subzonală (SUZI)*, prin microinjectarea unuia sau mai multor spermatozoizi în interiorul zonei pellucida. Un mare dezavantaj al acestei metode este că atunci când se alege doar o singură spermă (!) pentru micromanipulare trebuie întâi tratată pentru a asigura completarea reacției acrozomiale ( 17).
  - d.) *injecția intracitoplasmatică de spermă (ICSI)*, având avantajul de a utiliza doar o singură spermă pentru fertilizare și poate fi aplicată în cazuri severe de oligozoospermie ( cantitate insuficientă de spermatozoizi la bărbați, fiind motiv de infertilitate), și azoospermie obstructivă ( lipsa spermatozoizilor prin obstrucția canalelor prin care ei ajung în mod obișnuit în spermă).(18)

### Concluzii:

- fertilizarea asistată prin primele două metode ( a și b ) prezentate mai sus nu are mare succes în tratarea tuturor cazurilor de infertilitate masculină ,
- fertilizarea asistată s-a utilizat pentru a îndepărta barierele de fertilizare in vitro, prin dislocarea zonei pellucida, permițând astfel spermei un acces direct în ovul pentru a fi fecundat,
- procentul de fertilitate a fost scăzut!
- doar a **treia metodă ( ICSI)**, la care se folosește injectarea unui singur spermatozoid (!), a dat rezultate mai bune, crescând procentul de fertilitate iar numărul de embrioni sunt mult mai mari.
- „MEDSANA” este prima clinică din țară unde se efectuează această metodă de însămânțare artificială.

## Vidul legislativ al FIV din țara noastră ( din Dosarele Provita Media București) :

- primul centru de fertilizare *in vitro* din România a intrat în funcțiune în 1995, la Timișoara, după care au luat ființă alte două în București. Activitatea acestor centre însă nu are nici un suport legal.
- Parlamentul României a ratificat la 22 februarie 2001, conform Constituției României , art. 74, alin. 2, Convenția Europeană pentru protecția drepturilor omului și a demnității ființei umane, față de aplicațiile biologiei și medicinei, Convenția privind drepturile omului și biomedicina, semnate la Oviedo, la 4 aprilie 1997 . S-a semnat la Paris la 12 ianuarie 1998 și Protocolul adițional la această Convenția Europeană privind drepturile omului și a demnității ființei umane față de aplicațiile biologiei și medicinei , referitor la interzicerea clonării ființelor umane.
- Comisia de Obstetrică și Ginecologie a Ministerului Sănătății și Familiei consideră că activitatea de fertilizare in vitro se desfășoară în baza acestor acte normative care sunt însă doar orientative, fără să existe o lege în România care să precizeze toate detaliile activităților ce presupun intervenții pe embrioni.
- După un interviu realizat de Asociația Provita Media din București cu prof. dr. Bogdan Marinescu, prof. dr. Virgiliu Ancăr și prof. Dr. Ifrim Mircea în legătură cu acest „**gol legislativ**”, redăm câteva răspunsuri. **Prof. dr. Bogdan Marinescu**, fost secretar de stat la Ministerul Sănătății, recunoaște că ***la noi, legea care acoperă fertilizarea in vitro este legea de transplanturi și organe și țesuturi. Numai că noi în loc să transplantăm organe, transplantăm oameni intregi, embrioni!*** Despre soarta embrionilor supranumerari ne spune că aceștia rămân ***doi ani înghețați, după care aceștia pot fi donați altui cuplu sau spre cercetare!*** Pe plan mondial sunt țări care permit cercetarea pe embrioni și sunt țări care nu permit acest lucru. Noi activăm sub umbrelă , a reglementării pe care am adoptat-o și la noi privind protejarea genomului uman, normă impusă de d UNESCO. **Prof. Ifrim Mircea**, președintele Comisiei de Sănătate a Camerei deputaților, susține că laboratoarele nu necesită o legislație aparte, dar există o legislație pe plan internațional. De asemenea ne spune că ***încă NU avem o legislație care să interzică cercetările pe embrion și nu avem legi care să interzică „mama purtătoare”!*** În Franța spre exemplu este interzisă „mama purtătoare”. O concluzie tristă la care a ajuns **prof. dr. Virgil Ancăr**, membru al Academiei medicale și șeful Clinicii de Obstetrică și Ginecologie de la Spitalul Clinic de Urgență „Sf. Pantelimon”, este aceea că „...din ce în ce mai multe femei doresc să facă copii cu spermă donată. ***Avem foarte multe cereri ale unor femei singure care vor să aibă copii, doar pentru ele și nu le interesează soțul...***”

## **Dr. Todea-Gross Christa : Ce spun alți medici despre FIV și la ce concluzii au ajuns diferite studii medicale ?**

După un sudiu realizat 26 de Centre de Dg. de preimplantare din Europa, Australia și SUA. în perioada 1993-2000 la 886 de perechi care au recurs la FIV s-au relatat următoarele:

- *s-au născut 162 de copii din 123 de sarcini ( multe fiind gemelare);*
- *au fost folosite 47 de ovule fecundate pentru fiecare naștere, deci pentru cele 162 de sarcini s-au fertilizat artificial 9102 de embrioni!*
- **în total s-au creat pe cale artificială 9102 de embrioni, dintre care s-au născut doar 162 de copii, deci un procent de 1,8%!**
- **în 132 de cazuri s-au făcut alături de Dg. de preimplantare și alte metode invazive și s-au constatat și embrioni bolnavi. Astfel, s-au făcut 7 avorturi terapeutice timpurii, în primele 3 luni de sarcină și alți 9 copii au fost practic distruși în timpul gravidității printr-o tehnică numită „reductivă”. Pentru această tehnică se folosește o substanță numită Clorură de Calciu care se injectează în inima copilului și care îi va fi fatală. Alți 2 copii au murit în timpul sarcinii. S-au născut și 2 copii bolnavi. Deci 18 copii au murit din cei 132, un procent de 13%;** una dintre mame a avut 5 embrioni, dintre care au fost „reduși”2; la altă mamă care a avut 3 embrioni s-a făcut o „reducere”, rămânând cu 2 copii, dar a făcut o infecție în săptămâna a 22-a de sarcină și a pierdut și pe ceilalți 2 copii. (19 )

**Dr. Gabi Wloka - medic din Germania** – afirmă despre această metodă următoarele: „Metoda FIV duce frecvent la apariția unei boli cum ar fi mucoviscidoză, o boală letală în timp. S-a întâmplat ca o mamă să aibă toți copiii (4) bolnavi , motiv pentru care ei au fost distruși Ce se întâmplă? Prin Dg. de preimplantare se distruge și multe celule așa numite „cu potențial letal”. Aprox. în stadiul de morulă cu 8-10 celule se pot distruge aceste celule. În Germania există o lege care ocrotește embrionul. Și totuși un procent de 20% dintre femei preferă un avort decât nașterea unui copil bolnav iar 36% preferă să nască un copil bolnav decât să avorteze.

O metodă FIV costă 5000 Euro. **Riscurile** unei astfel de metode o reprezintă o rată crescută a unor boli precum Diabet Zaharat și Preeclampsia ( o HTA gravă care duce rapid la comă și la moartea mamei). De asemenea crește rata sarcinilor multiple, în mod normal există un procent de 1,2% al sarcinilor gemelare dar prin FIV crește de **20 de ori!** Iar în 3% din cazuri există tripleți. Doar în Germania în ultimii 20 de ani s-au născut 9.000 de gemeni. O femeie poate purta în mod normal doar un copil, cu puține excepții mai mulți. De aceea FIV a dus la mari riscuri în cazul sarcinilor multiple. Astfel DZ, preclampsia, depresii nervoase, etc. dar și multe malformații deoarece sunt distruse celule sănătoase prin aceste metode. În cazul sarcinilor multiple se recurge la acele „reduceri” de care am amintit mai sus. Dar apar după aceste ucideri frecvent depresii nervoase ale mamei.

Singura metodă prenatală nenocivă este **ecografia și analizele de sânge ale mamei.**

Toate celelalte metode moderne ( de stabilire a Dg. prenatal) sunt invazive și constituierăcări ale medicinei ( amniocenteza etc.).

Există în Germania o clasificare al bolilor prenatale și există pentru fiecare din această grupă o statistică care arată procentul cererilor de avorturi al acestor copii bolnavi. Astfel au fost împărțite în 3 grupe :

- grupa I : multiple malformații cu potențial letal: boli cromozomiale, displazia osoasă, etc. cu o rată de peste **80%** al avorturilor;
- grupa II : boli cronice netratabile: spina bifida, etc. cu un procent de **peste 50% al avorturilor;**

- grupa III : boli ușoare, tratabile, rata avorturilor fiind de peste **10%** ; (20).

**Prof. Dr. H.Tristram Engelhardt jr.**

- în cartea „*Fundamentele Bioeticii Creștine*” ( 21 ) afirmă :” Întrucât prin FIV concepția are loc în afara soției, există o ruptură dihovnicească semnificativă (...). Funcțiile sexuale reproductive și cele unitive au fost separate”. Îl dă ca exemplu pe Sf. Vasile cel Mare care susținea că „ ucigaș este cel ce ucide un embrion neformat sau imperfect, întrucât acesta, deși nu e încă o ființă completă, era menit să se desăvârșească în viitor, potrivit succesiunii neapărate a legilor firii”.
- autorul cărții mai afirmă că este imoral ca embrionii „în exces” să fie congelați sau distruși și dă o penitență cuplului( 22 ) :”Pentru a nu fi vinovat de avort, un cuplu care a produs un exces de embrioni, are obligația *prima facie* de a avea copii în fiecare an, până când tuturor embrionilor li s-a dat posibilitatea de a se naște”.

**Concluzii: Dr. Todea-Gross Christa :**

- *omul dorește tot mai mult să-l înlocuiască pe Dumnezeu și astfel s-a gândit să „creeze”el în locul Lui atunci când, din motive numai de El știute, Dumnezeu întârzie să dea un astfel de dar anumitor cupluri,*
- Fiv este o „altă față nevăzută a avortului”,
- conceperea unui copil NU trebuie să se facă decât în modul natural și nicidecum folosind alte metode, imorale, precum este „masturbarea”!
- FIV a dus la apariției deja a unei alte forme de fertilizare in vitro – cea a **partenogenezei** - care ne duce cu gândul spre o clonare și reprezintă o adevărată insultă la adresa omului în general și a lui Dumnezeu în special! Această metodă a partenogenezei urmărește cuplarea a doi spermatozoizi sau a două ovule, fiind astfel o „speranță” a homosexualilor de a avea copii. La ora actuală o firmă de medici din Japonia a reușit acest lucru, urmează să mai experimenteze la porci, după care vor să o facă și la oameni! (23).
- FIV devine totodată o nouă formă de rasism prin „eliminarea” embrionilor bolnavi și „cultivarea” doar a celor perfect sănătoși, doriți de cuplu: astfel prin intermediul Dg. de preimplantare ( care este tratat în alt curs), embrionul este supus deja în primele zile unor investigații pentru a descoperi eventualele modificări genetice și doar dacă este sănătos va fi reimplantat în uter. În acest sens, **prof. Virgil Ancăr** susține că „*Avortul în cazul handicapului, se face când vine așa zisul „rezultat pozitiv”, adică este atestat handicapul prin diferite teste genetice ( vezi Dg. Prenatal ).*(24).

***Autor: Dr. Christa Todea Gross***