

# ASEBIR

## EMBRIOLOGÍA CLÍNICA Y BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

JUNIO 2014 **VOL. 19 N° 1**

**5** **¡YA SOMOS MÁS DE 800!**

**6** **¿QUIÉNES CONSTITUIMOS ASEBIR?**

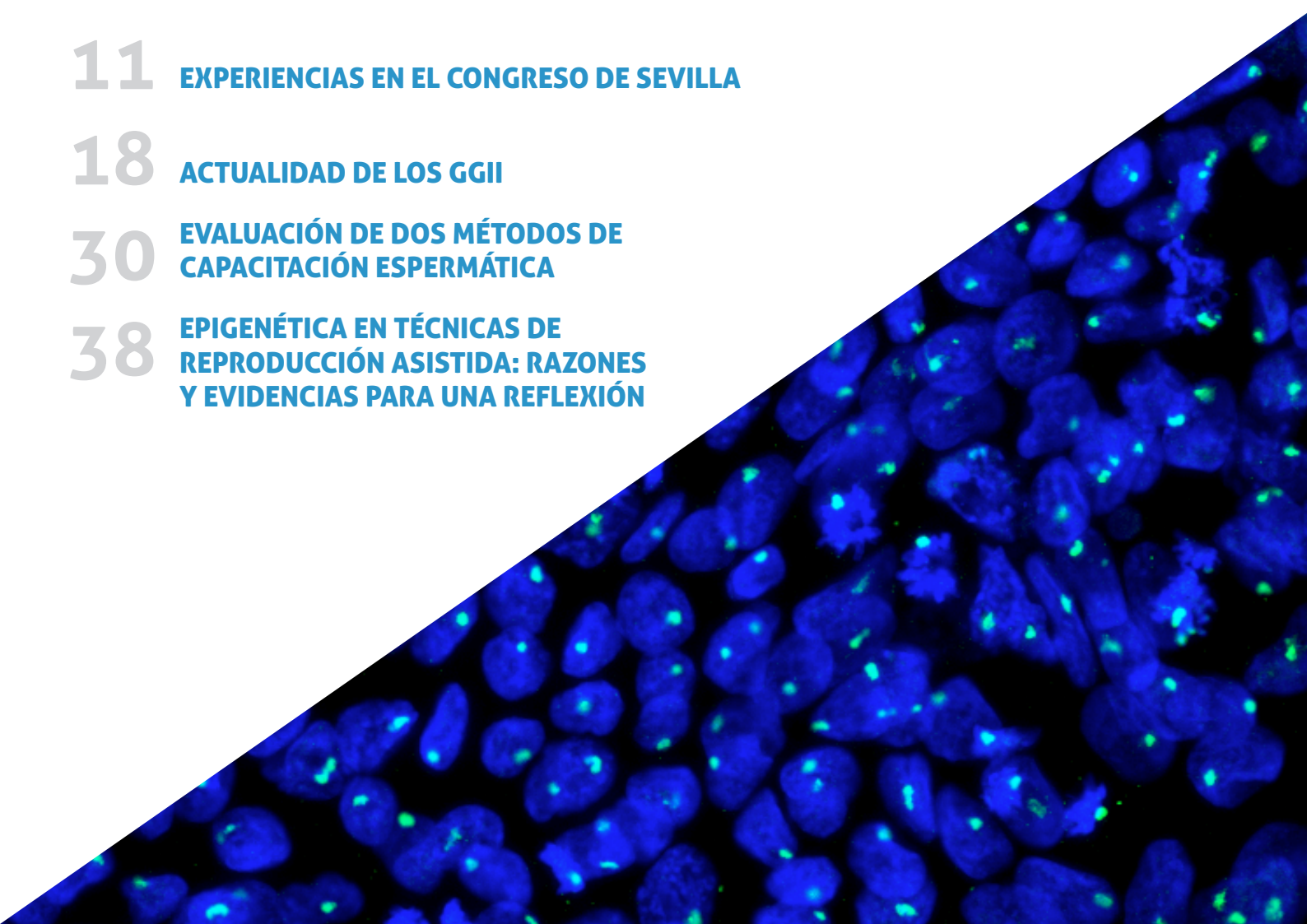
**8** **CERTIFICADO DE EMBRIOLOGÍA**

**11** **EXPERIENCIAS EN EL CONGRESO DE SEVILLA**

**18** **ACTUALIDAD DE LOS GGII**

**30** **EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE  
CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA**

**38** **EPIGENÉTICA EN TÉCNICAS DE  
REPRODUCCIÓN ASISTIDA: RAZONES  
Y EVIDENCIAS PARA UNA REFLEXIÓN**



#### SUMARIO

<b>EDITORIAL</b>	<b>5</b>	<b>AULA JOVEN</b>	<b>30</b>
¡Ya somos más de 800! Montserrat Boada Palá		Evaluación de dos métodos de capacitación espermática (Swim-Up y Gradientes) mediante el estudio de la morfología, madurez y fragmentación del DNA de los espermatozoides en muestras destinadas a IA Burguera Girau, Alba; de la Orden Rodríguez, Marina; Martínez Sanchis, Juan Vicente; Fernández Colom, Pedro José; Rubio Rubio, José María.	
<b>ACTUALIDAD</b>	<b>6</b>	<b>FORMACIÓN CONTINUADA</b>	<b>38</b>
¿Quiénes constituimos Asebir? M <sup>a</sup> José Torelló Ybañez, Montserrat Boada Palá		Epigenética en técnicas de reproducción asistida: razones y evidencias para una reflexión Ariadna Brotons, Ana A Fernández-Peinado, Antonio Moya, Paz Ibañez, Francisco J Vidal-Iglesias, José Solla-Gullón, Jesús Iniesta	
Certificado de Embriología Carmen Ochoa Marieta		<b>NOTICIAS</b>	<b>48</b>
Experiencias en el Congreso de Sevilla Antonio González Utor		30 años desde el primer bebé FIV en España Anna Veiga Lluch	
Próximo congreso: San Sebastián 2015 Yosu Franco		Nueva revista MEDRE Josep Santaló Pedro y Eleuterio Hernández	
Resultados de la encuesta de áreas y GGII Laura Marqués		Manifiesto de la sociedades científicas sobre el anteproyecto de la nueva ley del aborto	
Constitución del nuevo GI de Criobiología Mark Grossman i Camps		Premios Fundación Salud 2000	
Actualidad GI de Andrología Cristina González Ravina		<b>AGENDA</b>	<b>52</b>
GI de Calidad: Biobancos Manuel Ardoy Vilches y cols.			
GI de Embriología: División Temprana M <sup>a</sup> José de los Santos Molina			
GI de Genética: Registro DGP de ASEBIR 2010-2011 Esther Velilla y cols.			

#### Imagen portada:

Colonia de células madre embrionarias femeninas positivas para H3k27me3, marcador asociado a la inactivación de uno de los cromosomas X.  
A. Seriola. Banco de Líneas Celulares. CMRB.

Junio 2014 Vol. 19 Nº1

**EDITA**

Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR).

**COMITÉ EDITORIAL**

M<sup>a</sup> Dolores Lozano Arana.  
HU Virgen del Rocío- Sevilla

Inmaculada Campos Ramírez.  
IVI Almería-Almería

Josep Santaló Pedró.  
Universitat Autònoma de Barcelona

**JUNTA DIRECTIVA ASEBIR (2013-2017)**

**Presidente:**

Montserrat Boada Palá.  
Hospital Universitario Quirón Dexeus- Barcelona

**Vicepresidenta:**

M<sup>a</sup> José Torelló Ibañez.  
Hospital Quirón Barcelona-Barcelona

**Secretaría y RRPP:**

Anna Serra Peruchet.  
IBILAB-Illes Balears

**Tesorería:**

Josep Santaló Pedro.  
Universitat Autònoma de Barcelona

**Patrocinios:**

Aranzazu Galán Rivas.  
IVI Valencia-Valencia

**Vocalía de Grupos de interés e investigación:**

Laura Marqués Soler.  
Centre de Reproductio Asistida, Clínica Sagrada Família- Barcelona

**Vocalía de Publicaciones y Congresos**

M<sup>a</sup> Dolores Lozano Arana.  
HU Virgen del Rocío- Sevilla  
Inmaculada Campos Ramírez.  
IVI Almería-Almería

**Vocalía de Docencia y Formación**

Francisco Javier Vendrell Montón.  
Sistemas genómicos S.L., Sueca-Valencia  
José Luis de Pablo Franco.  
Clínica Quirón, Bilbao

**Vocalía Tecnología de la información y comunicación**

Abel Gayo Lana.  
FIV4-Instituto de Reproducción Asturiano, Oviedo  
Enrique Olaya Vila.  
Clínica Tambre, Madrid

La Revista de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción) está indexada en las bases de datos ICYT, de ciencia y tecnología, e IME, de Biomedicina, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de España y en las bases de datos LATINDEX, para Iberoamérica y CUIDEN®, de la Fundación Index.

**PUBLICIDAD Y COLABORACIONES**

Secretaría ASEBIR  
C/ Cronos 20, Edificio 4, 1º, 6ª / 28037 Madrid - Tfno: 91 367 89 94  
www.asebir.com · asebir@asebir.com

**DISEÑO Y MAQUETACIÓN**

**GÓBALO:** Gráfica · Web · Multimedia · Consultoría  
C/ Castillo de Fuensaldaña 4 | 28232 · Las Rozas · Madrid  
Tfno: 91 626 39 74 | www.gobalo.es · info@gobalo.es  
Depósito legal: M-18873-1996 | ISSN: 1136-4424 | Soporte válido: 78-R-CM

**¡YA SOMOS MÁS DE 800!**

Asebir es una sociedad científica que año tras año sigue creciendo. Prueba de ello es que actualmente ya hemos superado la cifra de 800 socios. No se trata únicamente de crecer sin más sino que ello significa que somos un colectivo que a pesar de venir de áreas formativas distintas, compartimos intereses comunes, somos científicamente inquietos y tenemos una necesidad real de interaccionar intercambiando conocimientos y experiencias.

Es un reto importante para **la nueva Junta Directiva** poder desarrollar nuevas iniciativas que favorezcan nuestro crecimiento individual como profesionales y colectivo, como asociación.

Aunque ha transcurrido poco menos de medio año desde la constitución de la nueva junta, esta ya se ha reunido cuatro veces y ha desarrollado una gran actividad. Una de las primeras iniciativas que se han materializado es la creación del nuevo **Grupo de Interés de Criobiología**. Tal como se detectó en la encuesta realizada en el pasado Congreso de Sevilla, hay un número importante de socios que trabajan en esta área y que ven en esta iniciativa una oportunidad para compartir conocimientos, ampliar formación, desarrollar protocolos de interés general, en definitiva, seguir mejorando. Damos desde aquí la bienvenida al nuevo Grupo de Interés de Criobiología que a pesar de su reciente constitución ya tiene en mente distintos proyectos. Igualmente queremos dar la bienvenida a todos aquellos socios que tras las elecciones del pasado mes de noviembre se han incorporado a alguno de los grupos de interés ya existentes: GI de Embriología, GI de Genética, GI de Andrología y GI de Calidad. Los GGII son uno de los pilares de nuestra asociación. De ellos depende la actividad científica de Asebir por lo que gozarán del apoyo incondicional de la Junta Directiva para la consecución de sus objetivos ya sea en el desarrollo de estudios multicéntricos, producción de cursos formativos o en la publicación de artículos, guías y recomendaciones.

Otra de las iniciativas que se ha puesto en marcha en esta primera etapa es la constitución de un **Servicio de Estadística** que pueda utilizarse tanto para los estudios propios de Asebir como por parte de cualquier socio que quiera contratar este servicio. Esperamos que tenga buena acogida y que con ello podamos favorecer la producción científica no solo en cantidad, sino también en calidad.

En cuanto a **formación**, se ha confeccionado un calendario de cursos, tanto presenciales como *on line* que deseamos cubra las necesidades formativas de todos. Cursos prácticos en el Aula EMB-ASEBIR, cursos teóricos de las distintas áreas de interés y cursos para facilitar la obtención de la nueva norma de calidad específica para los laboratorios de reproducción humana asistida, UNE 179007.

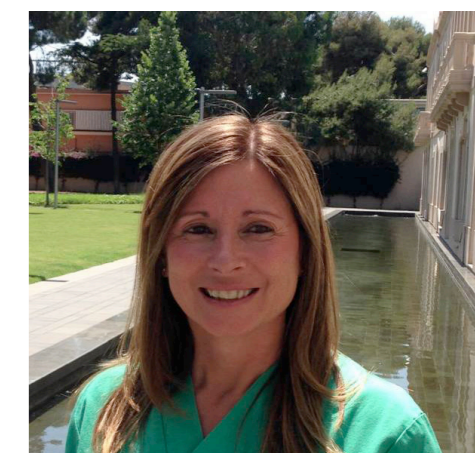
Algunos de los cambios más importantes que está experimentando nuestra asociación tienen que ver con nuestros órganos de comunicación. Como habréis podido observar, se ha realizado una completa renovación de la **página Web** con el fin de que sea más ágil e intuitiva, a la vez que visualmente más atractiva. En cuanto a las publicaciones de la sociedad, estamos en un momento importante. Por un lado, la remodelación de nuestra **revista ASEBIR** como medio de comunicación entre nuestros asociados mediante la difusión de las principales noticias y la publicación de artículos de formación y Aula Joven. Por otro lado, la aparición de la nueva **revista científica Medicina Reproductiva y Embriología Clínica** como revista científica propia de ASEBIR y de la Sociedad Española de Fertilidad. Ambas publicaciones nos abren grandes posibilidades. Os animamos a participar activamente mandando artículos a las dos revistas!

Por último, informaros que aunque este año no es año de congreso, ya hemos empezado los preparativos para el próximo **congreso ASEBIR 2015** que tendrá lugar en San Sebastian y del que ya os iremos informando periódicamente.

Esperamos que todas estas iniciativas que os he presentado tengan una buena acogida y contamos con todos vosotros para seguir avanzando con nuevos proyectos!

**Montse Boada**

**Presidenta ASEBIR 2013-2017**





## ¿QUIÉNES CONSTITUIMOS ASEBIR?

M<sup>a</sup> José Torelló Ybañez  
Montserrat Boada Palá

ASEBIR se creó en el año 1993 con la finalidad de agrupar en una misma sociedad científica a todos los profesionales de nuestro país que trabajan en el ámbito de la Biología de la Reproducción.

Veinte años después, la asociación cuenta con 809 miembros, en su mayoría Licenciados o Doctores en Ciencias Biomédicas que trabajan como embriólogos clínicos en laboratorios de Reproducción Humana Asistida o en laboratorios de Genética Reproductiva. El objetivo de este artículo es dar a conocer quienes formamos parte de este colectivo cuyo trabajo cada vez tiene más importancia en la sociedad en que vivimos.

Como asociación multidisciplinar cabe destacar que la formación académica de nuestros socios es variada. Según los datos de inscripción que cada socio cumplimenta en nuestra Web, la mayoría de los asociados de ASEBIR son Biólogos (74%) v en menor proporción: Médicos (7%). Farmacéuticos (5%), Químicos (4%) y Veterinarios (2%). Fig. 1

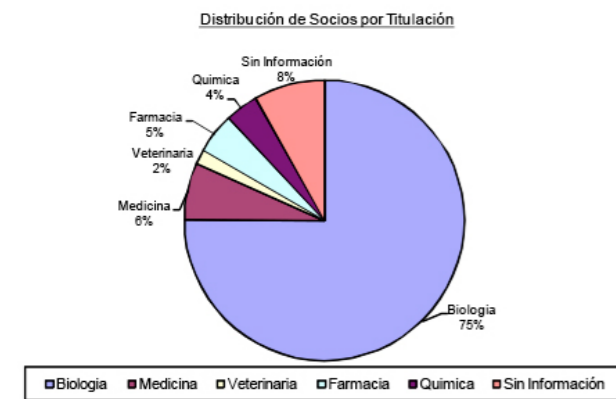


Figura 1. Distribución de socios por titulación

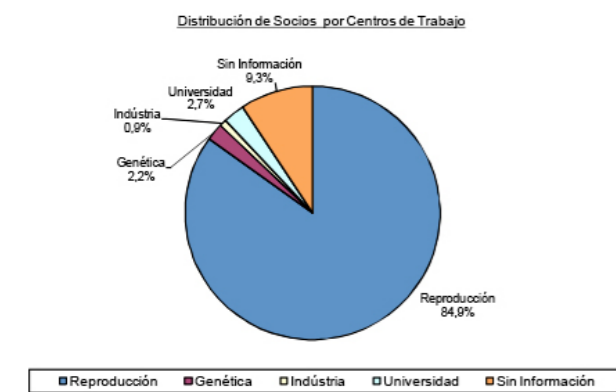


Figura 2. Distribución de socios por centro de trabajo

(8,9%), Alicante (5,3%), Málaga (4,7%) y Vizcaya (4,5%) cuentan también con un alto número de socios que trabajan en 12, 16, 13 y 9 centros respectivamente. Tabla.1

ASEBIR se extiende más allá de nuestras fronteras contando con socios que residen en el extranjero (3,6%): Canadá, Estados Unidos (California), Inglaterra, Irlanda, Italia, Méjico, Perú, Portugal y Venezuela y que trabajan en 26 centros distintos.

Como curiosidad, el 73% de los socios de ASEBIR son mujeres, y ello no tiene nada de extraño ya que la mayoría de

La actividad laboral la realizan mayoritariamente en centros de Reproducción Humana Asistida representando el 84,9% de los socios. También forman parte de ASEBIR, profesionales del ámbito de la Genética (2,2%) y científicos dedicados a la investigación básica sobre biología de la reproducción que desarrollan su labor en la Universidad (2,7%). Un porcentaje pequeño son miembros de la Industria Farmacéutica (0,9%), que además de colaborar con nuestra sociedad mediante la aportación de patrocinios participan individualmente como asociados. El 9,3% restante son socios de los que no se dispone de información sobre su situación laboral. En este grupo se encuentran tanto aquellos que no están activos laboralmente, como estudiantes y embriólogos jóvenes que están terminando su periodo de formación mediante programas de Master y Post-Grado, y los asociados que no han comunicado sus datos. Fig.2

El 81,5% de los socios realizan su actividad laboral en centros españoles de Reproducción Humana Asistida (247 centros) siendo el 77,1% de estos, centros privados y el 22,9% restante, centros públicos. Fig.3

Desde el punto de vista geográfico, el 96% de los asociados de los que tenemos información, residen en España. Las comunidades autónomas que cuentan con un mayor número de socios son: Cataluña (24,4%), Andalucía (17,3%), Madrid (15,2%) y Valencia (14,2%). ASEBIR esta presente, aunque sea con un solo miembro, en todas las comunidades del territorio español. Fig.4

Barcelona (21%) y Madrid (15,2%) son las provincias que cuentan con un mayor número de socios distribuyéndose respectivamente en 36 y 40 centros distintos. Valencia

los estudiantes de Ciencias Biomédicas son de sexo femenino. Figura 5

Los datos expuestos se han podido presentar gracias a la labor de M<sup>a</sup> José Prieto a la que agradecemos públicamente su dedicación y tenacidad. Esta información es de gran interés para todos y creemos que ampliando los datos del cuestionario de socios tendremos una visión más exacta de quienes constituimos nuestra asociación. Os animamos a cumplimentar el nuevo cuestionario que en breve colgaremos de la Web.



Figura 3. Distribución de socios por centros Reproducción Humana Asistida españoles (Públicos / Privados)

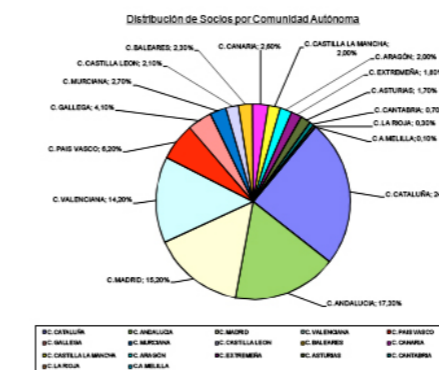


Figura 4. Distribución de socios por Comunidad Autónoma



Figura 5. Distribución de socios por género

Localización	Nº Socios
A CORUÑA	6
A CORUÑA - SANTIAGO DE COMPOSTELA	9
ALBACETE	5
ALICANTE	37
ALMERIA	11
ASTURIAS - AVILES	1
ASTURIAS - GIJON	1
ASTURIAS - OVIEDO	10
BADAJOS	9
BARCELONA	148
CACERES	4
CADIZ	6
CADIZ - JEREZ	3
CIUDAD REAL	4
CORDOBA	7
DONOSTIA-SAN SEBASTIAN	10
GIRONA	11
GRANADA	29
GUADALAJARA	1
HUELVA	4
JAEN	2
LAS PALMAS DE GRAN CANARIA	8
LEÓN	4
LLEIDA	3
LOGROÑO	2
LUGO	1
MADRID	107
MALAGA	33
MELILLA	1
MURCIA	19
PALENCIA	1
PALMA DE MALLORCA	16
PAMPLONA	2
SALAMANCA	1
SANTANDER	5
SEVILLA	27
TARRAGONA	10
TENERIFE	10
TOLEDO	4
VALENCIA	63
VALLADOLID	9
VIGO - PONTEVEDRA	13
VITORIA	2
VIZKAYA	32
ZARAGOZA	14
CANADA - MONTREAL	1
ESTADOS UNIDOS - CALIFORNIA	1
INGLATERRA	6
IRLANDA - DUBLIN	1
ITALIA - BRINDISI	2
MEJICO	2
PERU - LIMA	1
PORTUGAL - BARGA	14
VENEZUELA - CARACAS	1
Sin datos	75

Tabla 1. Distribución de los socios según localización geográfica



## CERTIFICADO DE EMBRIOLOGÍA

Carmen Ochoa Marieta (Presidenta de la Comisión delegada para la Certificación y Especialidad de ASEBIR)  
Clínica Cotero, Centro CER, Santander

La necesidad de acreditación en materia de Reproducción Humana Asistida. Embriología Clínica, deviene de una propuesta realizada por el Ministerio de Sanidad a nuestra sociedad científica, Asebir.

La intención supone la realización de una formación reglada y controlada por Asebir, dado, la no existencia de una especialidad oficial que garantice la homogeneidad en el nivel de conocimientos teóricos y prácticos que debe tener un Especialista en Reproducción Humana Asistida. Embriología Clínica.

Con esta intención hemos elaborado un programa de acceso y desarrollo a dicho certificado para aquellos postgraduados que deseen iniciarse en esta área del conocimiento. Y unas vías de acceso transitorias, para aquellos profesionales que llevan tiempo ejerciendo como Embriólogos Clínicos.

Actualmente 209 profesionales han sido acreditados por Asebir, como especialistas en Reproducción Humana Asistida. Embriología Clínica.

Las vías que existen para acceder a la citada Acreditación son las siguientes:

### VÍA MEDIANTE EXAMEN

Esta vía constituye la última vía transitoria que por el momento persiste. Pretende dar solución a aquellos profesionales que llevan tiempo ejerciendo y que no pudieron acceder a las vías transitorias anteriores, actualmente desaparecidas.

Dos formas de acceso:

1. Personas que llevan trabajando 10 ó mas años
2. Personas que llevan trabajando 6 años y poseen un master ó curso de especialista universitario con un mínimo de 32 créditos ó 6 años de experiencia profesional y una tesis doctoral.

Las convocatorias de examen se

realizaran cada 2 años coincidiendo con el congreso de Asebir y el programa teórico que debe preparar el candidato es el referenciado en el Programa de Especialidad en Embriología Clínica, publicado en la página web de Asebir ([www.asebir.com](http://www.asebir.com))

### VÍA DE NOVO

Esta vía constituye el verdadero fundamento de formación de especialistas en Embriología Clínica y se equipara en su concepto a la formación oficial para las especialidades en régimen hospitalario.

Está dirigida a aquellos licenciados ó su equivalente en el área de las ciencias biomédicas, que deseen iniciarse en los conocimientos de la Embriología Clínica, concluyendo con la obtención de la Acreditación como especialista en Reproducción Humana Asistida. Embriología Clínica, que otorga Asebir.

El proceso se desarrollará durante un periodo de 4 años mínimo y 6 años máximo. Durante este tiempo el discente realizará una formación teórica y práctica que deberá demostrar.

Al finalizar los 4, 5 ó 6 años, deberá acreditar la formación teórica con un mínimo de 32 créditos ECTS y la formación práctica mediante la presentación del libro del especialista en formación, debidamente cumplimentado. Esta documentación será valorada por la Comisión de Certificaciones y Especialidades de Asebir, siendo el candidato aceptado para el examen final (escrito).

La formación teórica que debe adquirir el especialista en formación se encuentra especificada en el programa de especialidad en Embriología Clínica. Y la formación práctica estará **denotada** en el libro del especialista en formación, donde aparecerá el tipo de técnicas que debe aprender el discente, así como el número mínimo de repeticiones de las mismas.

La formación práctica podrá llevarse a cabo en uno ó varios centros, incluso en centros docentes de entrenamiento, pudiendo computar las repeticiones realizadas en estos últimos hasta un máximo del 25% de las repeticiones totales requeridas.

El alumno necesitará contar con un tutor que supervise su formación, pero no necesariamente la impartirá. El tutor deberá poseer la Acreditación Asebir, como especialista en Reproducción Humana Asistida. Embriología Clínica.

La formación teórica se podrá adquirir, bien en diferentes cursos que cuenten con créditos ECTS y que respondan a secciones teóricas del programa de especialidad ó bien mediante masters ó cursos de especialistas universitarios.

La formalización de la solicitud se realizará mediante la cumplimentación de un documento que entrega la secretaría de Asebir y el pago de las tasas correspondientes en concepto de matrícula (100€) y pago anual (100€) por cada año de formación.

El pago de las tasas da derecho a recibir el libro del especialista en formación, al examen final, al diploma del certificado y al proceso notarial de elevación a escritura pública del mismo.

En breve será publicado en la página web de Asebir el **condicionado** necesario para acceder a la Certificación de Novo, así como el documento de inscripción.

La necesidad de acreditación es una realidad social y profesional. Asebir no ha querido permanecer ajeno a esta necesidad, actuando como garante de la formación en Embriología Clínica, sabiendo que así se están defendiendo los intereses de los profesionales y de los pacientes, quienes tienen el derecho a ser atendidos por profesionales con una formación especializada reglada.



Irvine **Scientific**

*Algo está cambiando...*

[www.biocareeurope.com](http://www.biocareeurope.com)

[info@biocareeurope.com](mailto:info@biocareeurope.com)





## CONTROL DE CALIDAD EXTERNO DEL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA

*Parámetros sometidos a examen:* Casos virtuales de pacientes con embriones D+2 a D+5 en los que se evaluará:

- Características morfológicas
- Clasificación y decisión clínica

*Comprobación de toxicidad de material.*

*Características específicas:* Duración: 1 año.  
Nº Especímenes: vídeo y material esterilizado.

*Envío de muestra:* Uno.

*Envío documentación:* Uno.

*Envío de datos:* Vía página web.

*Informes:* Valoración por consenso de laboratorios  
Valoración por consenso de grupo de expertos

*Proceso de datos:* Informatizado.

**PLAZO MÁXIMO DE INSCRIPCIÓN**  
**30 DE SEPTIEMBRE DE 2014**

<http://controldecalidad.asebir.com/>

Con la colaboración de:

Ceifer

### EXPERIENCIAS EN EL CONGRESO DE SEVILLA

Antonio Luis González Utor (Presidente del Comité Organizador del VII Congreso de ASEBIR)  
MasVida Reproducción, Sevilla



Hace ya más de seis meses desde que celebramos el VII Congreso de ASEBIR en Sevilla y ahora la Junta Directiva me pide que haga, como organizador, un breve resumen de lo acontecido en él. Quizás no sea la mejor persona para tratarlo, pues soy parte muy implicada, y me hubiera gustado que fuera cualquier otro socio, quien diera a conocer sus vicisitudes con una perspectiva distinta a la mía. Pero ya que lo hago intentaré escribirlo de la manera más entretenida posible.

Tras la presentación de la candidatura en Asamblea durante el VI Congreso en Girona, recuerdo haber hablado con Joan Sarquella y pedirle consejo y ayuda, respondiéndome que los tendría en todo momento pero que no me preocupara, ya que la secretaría técnica eran unas "personas magníficas" que coordinarían todo el trabajo, y así fue.

Antes de seguir, quiero hacerle la misma reflexión a Josu Franco que me hizo en su día Joan. "No te preocupes, la secretaría técnica del Grupo Process y en especial M<sup>a</sup> José, Carmen, Miguel y Josu, con su trabajo conjunto y a la vez cada uno en su faceta, con su experiencia, compromiso y profesionalidad, te harán fácil toda la

labor organizativa de tu congreso. ¡Con estos ingredientes y cocinado en San Sebastián, está asegurado el éxito!"

Tras volver del congreso de Girona, al poco tenía un plan de acción organizativo, enviado por M<sup>a</sup> José Prieto, de 17 páginas que más que tranquilizarme me sumió en una depresión viendo todo lo que se me venía encima. Tras este susto, empezamos el trabajo que duró 774 días hasta finalizar el 22 de noviembre de 2013 con la cena de clausura. Comenzamos por establecer la sede, crear los logos y la página web, determinar los diferentes comités, elaborar los programas científicos preliminares y actos sociales,.... Y siempre, siempre, confeccionando presupuestos, uno tras otro sin parar.

Poco a poco pasaba el tiempo y tras muchas gestiones, mensajes electrónicos y llamadas telefónicas con la Junta Directiva (con Manuel Ardo y Yolanda Minguez), la secretaría técnica, etc. por fin, llegó el día del acto inaugural.

Comenzó como tenía que empezar. Miércoles, el día era claro, con una temperatura fresca aunque agradable. La sede quedó establecida en el Centro de Convenciones Gran Sevilla del



Hotel Barceló Renacimiento de la Isla de la Cartuja sevillana. La galería del centro estaba majestuosa, con los 20 stands de casas comerciales montados con el mismo formato y numeroso personal alrededor de ellos. El stand de ASEBIR, con el logo del 20 aniversario, empezaba a recepcionar a los primeros inscritos del total que se esperaban. Fueron momentos alegres, saludando a amigos y compañeros pues siempre es grato volverlos a ver, aunque solo sea en estos eventos.



Comenzamos con el acto de inauguración institucional, en el cual estuvieron presentes autoridades de la Junta de Andalucía y la Universidad de Sevilla. Por ASEBIR, contábamos con nuestra primera Presidenta Dra. Anna Veiga y







nuestro presidente Dr. Manuel Ardoy. Desde aquí, y con el aprecio que siempre le he mostrado, quiero agradecer a Anna el habernos traído hasta este veinte aniversario de la asociación.

Tras declarar inaugurado el congreso, se dio comienzo con el formato científico mantenido por la Junta Directiva. Los Grupos de Interés son



quienes determinaron los temas que se impartieron durante las jornadas, así en cada sesión además de presentar el estado actual de trabajo de cada grupo, se expusieron dos ponencias, seguidas de las comunicaciones orales asignadas. Esa tarde se impartió la primera sesión que correspondía al Grupo de Interés de Andrología. En ella se trataron, además del estado actual del grupo por su presidente Dr. Alberto Pacheco, temas tan interesantes como los expuestos por el Dr. Juan Álvarez sobre nuevos métodos de selección espermática y por el Dr. Giovanni Ruvolo sobre el significado de las vacuolas espermáticas. Al final de esta sesión estuvimos en la galería tomando un cocktail de bienvenida, donde pude charlar más desahogadamente con



muchos de vosotros. Si hubiera sido otro congreso y más aún en otra ciudad, seguro que yo hubiera continuado charlando dando una vuelta por distintos rincones de la urbe. Pero no hay peor congreso que el que celebras en tu ciudad y más siendo tú el organizador. Así que espero que esa noche la hayáis podido disfrutar mucho dando una vuelta por Sevilla.

La mañana del jueves empezamos con la sesión del Grupo de Interés de Embriología. La Dra. M<sup>a</sup> José de los Santos, presentó, como presidenta, el estado actual de su grupo. Las charlas relacionadas fueron las expuestas por el Dr. Marcos Meseguer sobre la compatibilidad de la clasificación de ASEBIR con las nuevas tecnologías de time-lapse, y por el Dr. Alan Thornhil sobre el fallo de activación ovocitaria.



La asistencia a esa hora era ya masiva y pocos huecos quedaban desocupados en el salón. Posteriormente, expuso la Dra. Ana Clavero una trabajo que, desde el inicio de la confección del programa científico, abordaba un tema original y de gran interés para nuestro colectivo como son los aspectos relevantes de nuestra salud dentro de la profesión que ejercemos. Y así fue, pues su valoración ha sido la más alta obtenida de todas las intervenciones (4,37 de 5,00 máximo).

Entre sesiones y para reponer fuerzas, realizamos pausas para tomar café, zumos,... en la galería.

La siguiente sesión era el I Simposium Satélite realizado sobre time-lapse por Vitrolife con las exposiciones de los Drs. Csaba Pribenszky y Peter Kovacs.



Llegados al mediodía y con suficiente apetito, pasamos a realizar las comidas buffet ofrecidas en el gran atrio del hotel.

Tras esta merecida pausa, acometemos la siguiente sesión donde un servidor, como presidente del Grupo de Interés de Calidad en el laboratorio, expuso



el estado actual de su grupo, con las ponencias de Dra. Nereida Ortiz sobre la nueva norma sectorial UNE179007 (que salió publicada al día siguiente) y Dra. Gloria Calderón sobre medios y condiciones biofísicas del cultivo.

Tras finalizar la jornada realizamos una visita al Real Alcázar por gentileza de la ciudad de Sevilla. La visita fue con guías que nos explicaron toda la historia de este monumento sevillano, uno de los grandes emblemas de la ciudad. Pudimos verlo como nadie, ya que toda la iluminación había sido renovada y ampliada durante ese otoño. De allí, saliendo por el patio de Banderas nos dirigimos al centro para tapear en los diferentes bares que pueblan esta zona, porque habíamos quedado en la Casa Palacio Monasterio para celebrar el 20 Aniversario de ASEBIR. Para este aniversario, la Junta Directiva



organizó una fiesta amenizada con música, en una típica casa sevillana de mediados del siglo XIX en pleno centro

donde se me concedió el título de socio honorífico. En ese momento, aunque sabía que iba a ser candidato a ello, no



histórico. La reunión se extendió hasta altas horas de la noche, sabiendo que al día siguiente había que madrugar (bueno,...no mucho), pero eso nunca nos ha importado porque sabemos compaginar ciencia y diversión.

El viernes, le tocó el turno al Grupo de Interés de Genética y Reproducción,



exponiendo su estado actual la presidenta Dra. Esther Velilla. Los ponentes, los Drs. Josep Santaló e Ivo Gut expusieron los temas sobre implicaciones ético/legales de los test genéticos y herramientas bioinformáticas. Tras esta sesión, se realizó el II Simposium Satélite sobre los resultados de EmbryoGen en fallos de implantación y abortos de repetición, expuesto por la Dra. Beatrice dal Canto.

Antes de finalizar la jornada matutina, dio comienzo la XXVII Asamblea General Ordinaria de ASEBIR según los puntos del Orden del Día. Entre ellos estuvo la votación de la sede para el VIII Congreso, previa presentación de las dos candidaturas por los Drs. Raquel Blanes y Josu Franco.

Seguidamente se dio paso a la relación del trabajo de las diferentes vocalías. Se inició por tesorería y luego presidencia,

pude reprimir mis emociones, no más por el orgullo que sentía al recibirlo, sino también por ver casi finalizado el congreso, el trabajo de dos años. Fue un momento de caída, tan brusco que solo pude decir "gracias". Ahora, con tranquilidad os agradezco a todos este nombramiento. En mis quince años



dentro de algún cargo relacionado con la Junta Directiva, siempre he pensado, y pensaré, en el colectivo de la asociación, para y por el bien de ASEBIR.

Se continuó con las diferentes vocalías y comisiones, hasta que llegó el momento del cambio de presidencia



y Junta Directiva. Sobre la manera en que el Dr. Manuel Ardoy traspasó los poderes a nuestra nueva presidenta la Dra. Montse Boada, diría que fue... "peculiar" sin entrar en más detalles (aunque aún me rio recordándolo).

De todas formas, hay que reconocer el trabajo realizado por esta Junta Directiva, presidida por Manuel y que reunió a un grupo de compañeros, que



todos juntos han hecho de ASEBIR una de las sociedades científicas, pero con muchas cuestiones que quedaron en el "tintero".



dentro de la reproducción asistida, más importante de España y diría de Europa. Gracias compañeros, y desear a la nueva junta todo lo mejor en su mandato. Aunque os hayan puesto el listón muy alto, estoy seguro que seréis capaces de igualarlo o incluso superarlo.

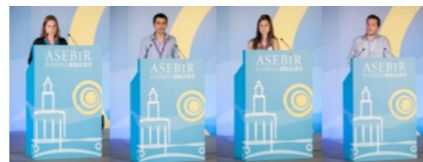
Por la tarde, tuvimos las sesiones denominadas "De la investigación a la aplicación clínica" con las exposiciones de las Dras. Sandra García y Ana Busquets sobre las aplicaciones de transcriptómica y metabólica.

A continuación llegó el debate esperado. En un lado del estrado, por la parte del Embriólogo Clínico estaba nuestro compañero Dr. Fernando Prados y por la parte del Médico Ginecólogo estaba el Dr. Antonio Gosálvez. Ellos debatieron sobre qué opinaba cada profesional del otro en nuestra área de actividad. Podríamos decir que el debate quedó en tablas,

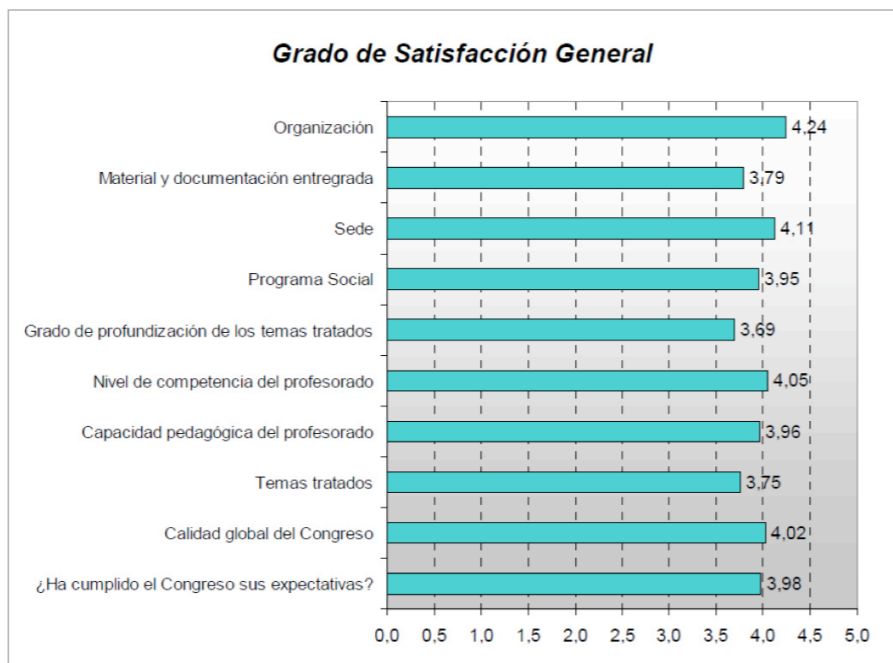


Posteriormente, se expusieron los premios ASEBIR-EMB de 2011 y el premio al mejor póster ASEBIR 2013, dando por finalizada las sesiones científicas del congreso. En la clausura, tanto el Dr. Manuel Ardoy como yo expresamos

nuestro agradecimiento a todas las personas que habían participado en el desarrollo de este evento, desde las 25 casa comerciales colaboradoras, hasta los miembros de la Junta Directiva, en especial a la vocalía de congresos, comités de organización y científico y secretaría técnica. Pero en especial este agradecimiento es para todos los socios de ASEBIR. Sin vuestra contribución con los 208 trabajos presentados y vuestra participación con 353 inscritos esto hubiera sido imposible. Ha sido realmente un placer ver la sala llena de espectadores, con numerosas preguntas a los ponentes, los pasillos con gran afluencia en los posters digitales y casa comerciales,... en fin lo que cualquier organizador hubiera deseado al comenzar su trabajo.



Además, una vez cerrado el congreso y evaluado vuestras calificaciones con respecto a él, han sido más que buenas, obteniendo un grado de satisfacción notable, con una media de 3,95 puntos de 5,00 puntos máximos. Valorando el apartado científico, las notas medias fueron de 3.80 y 3.86 puntos del total de 5.00 puntos para las ponencias y los ponentes, respectivamente.



Después de este inicio pasamos al salón de celebraciones donde estaba programada la cena. Pero antes de ella, se presentó una sorpresa, un espectáculo ecuestre que nos reservaba EMB. Entre las mesas del salón entraron caballos andaluces demostrando sus dotes de doma, finalizando con la perfecta interpretación del baile por sevillanas de un caballo con una mujer vestida de faralaes.

Tras la cena se procedió a la entrega de premios ASEBIR-EMB de 2013 de Embriología Clínica e Investigación Básica, que fueron concedidos por el presidente en funciones Dr. Manuel Ardoy y por el Sr. Sergio Oliveró.

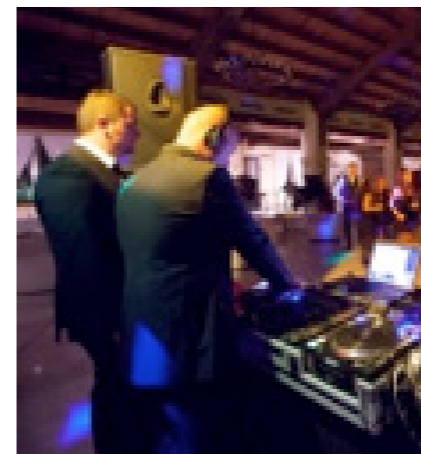
Como colofón tuvimos una velada discotequera, con copas y música pinchada por un disc jockey que se alargó hasta altas horas de la noche. Pero eso ya no importaba..., porque ya no había que "madrugar", se había acabado el congreso.

Dos años y todo había acabado. Para mí, terminó tan rápido como comenzó, pero quedé satisfecho y contento de su desarrollo. Espero que vosotros hayáis cumplido vuestras expectativas y finalizarais con este mismo estado de ánimo. Al menos, así lo intenté.

Gracias a todos. Hasta el próximo VIII Congreso de ASEBIR en San Sebastián en 2015.

Esto fue todo en cuanto a la parte científica del congreso, pero queda aún un apartado, la cena de clausura. Se realizó en la hacienda de San Miguel de Montelirio, una de las mejores de la provincia y claro ejemplo de la arquitectura barroca rural en Andalucía. Además cuenta con uno de los museos de carruajes más importantes del mundo. Inicialmente, entramos en la zona del museo, donde pudimos ver la gran cantidad y variedad de carruajes, tomando unos entremeses, obviamente sin faltar el jamón ibérico y la manzanilla sanluqueña.

Todo este evento fue patrocinado conjuntamente con Equipos Médico Biológicos (EMB) en el que también se celebró el 25 aniversario de su creación. Allí pudimos felicitarlos por sus "bodas de plata", pero desde aquí quiero volver a agradecer todo el esfuerzo al Sr. Sergio Oliveró y todos los componentes de EMB por el apoyo prestado a este congreso.





## PRÓXIMO CONGRESO: SAN SEBASTIÁN 2015

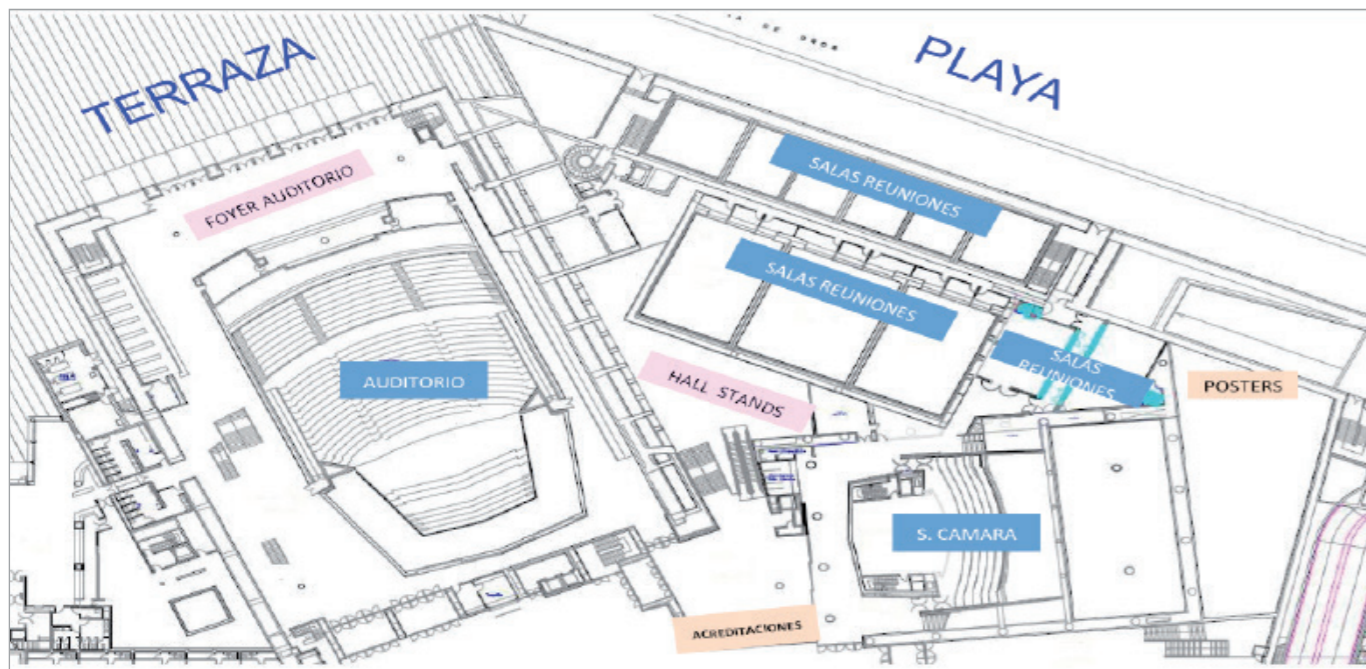
Yosu Franco Iriarte (Presidente del Comité Científico y Organizador del VIII Congreso ASEBIR)  
Centro Sanitario Virgen del Pilar, San Sebastián

Apreciados compañeros/as:

Es un privilegio para mí resumir en unas líneas la ciudad en la que vivo y que espero tengáis el gusto de conocer. San

La sede del congreso se realizará en el palacio de congresos Kursaal situado en el corazón de la ciudad frente al mar con una sala Vip que puede albergar a más de 700 personas, y más de 10 salas

alternativas para poder disfrutar, teniendo la oportunidad a todos los asistentes al congreso de poder realizar una visita guiada en el bus turístico de la ciudad que el ayuntamiento de San



Sebastián, ciudad de 183.000 habitantes tiene el honor de ser la sede del próximo congreso Asebir 2015 caracterizada a

complementarias que nos permitirá realizar reuniones de trabajo a los asistentes y a cada grupo de interés

Sebastián gentilmente ha ofrecido de manera gratuita.



San Sebastián es a su vez considerada la ciudad con más estrellas Michelin por metro cuadrado del mundo lo que potenciará que los asistentes puedan reponer energía tras días intensos de ciencia e intercambio de conocimiento.

Ahora sólo esperamos que podamos disfrutar cuando llegue su momento del trabajo conjunto desde todas sus vertientes en un entorno tan gratificante como es esta ciudad, que esperamos desde aquí sea vuestra ciudad.

su vez por haber sido durante los dos últimos años (2011-2013) ciudad de la ciencia e innovación. Importante es destacar que ha sido elegida Capital de la Cultura Europea 2016 lo que dará a la ciudad una mayor oferta cultural y de ocio, y al congreso, en particular, una ciudad mejor si cabe a nivel de infraestructuras.

que lo necesite. Además el palacio de congresos alberga un hall de más de 960 m2 que nos aportará poder observar, valorar e intercambiar las distintas tecnologías, medios y aparatajes que las casas comerciales nos ofrecen

Además del componente científico la ciudad os puede ofrecer muchas



Nº Registro DGSFP J-1.281 Concertado Seguro de R.C. y de Caución conforme a la Ley 26/2006

llama ahora al  
**944 354 600**  
e infórmate

Teléfono exclusivo para  
Asociados comercializado  
por Segurmec

## Con el Seguro de Responsabilidad Civil Profesional de Segurmec

Puedes contratar un **capital asegurado** de hasta **1.200.000 €**  
Incluye **coberturas específicas** para nuestro colectivo tales como la **Garantía de Gametos y Preembriones** y la posibilidad de asegurar a las **Sociedades Profesionales** sin coste añadido





## RESULTADOS DE LA ENCUESTA DE ÁREAS Y GRUPOS DE INTERÉS ASEBIR 2013

Laura Marquès (Vocal de los Grupos de Interés)  
Clínica Sagrada Familia, Barcelona

En el pasado Congreso bienal de ASEBIR (Sevilla, 2013), se realizó una encuesta a los socios y/o asistentes al mismo, con el fin de conocer cuáles eran las Áreas de interés preferentes del colectivo y animarle a formar parte de los Grupos de Interés (GGII) de la Sociedad. Un total de 57 asociados respondieron a la encuesta que incluía dos cuestiones:

**1. Valoración del interés en las Áreas de Embriología Humana, Andrología, Criobiología, Genética/Diagnóstico Genético Preimplantacional, Investigación Básica/Animal, Células Madre, Calidad, Ética y Legal.** Los encuestados tenían que señalar un máximo de tres áreas indicando la opción 1, 2 y 3 según un mayor o menor grado de preferencia (Tabla 1).

**2. Interés en formar parte de alguno de los GGII existentes:** Embriología, Andrología, Genética y Calidad. Los encuestados tenían que señalar si querían pertenecer a algún o varios GGII y cuál era su preferencia. También se les preguntaba si su participación quería ser activa o sólo recibir información de las actividades del GI. Podía señalarse más de una opción (Tabla 2).

Del resultado de estas dos preguntas constatamos que el área de interés preferencial de nuestros socios es la de Embriología.

Así mismo pudimos comprobar que un 64% de ellos tiene interés en participar de forma activa en los GGII por lo que se ha promovido la incorporación de nuevos miembros a los GGII actuales, la creación del nuevo GI de Criobiología y la modificación del reglamento interno de los GGII.

Después de promover la incorporación de socios a los GGII, se puede observar en la tabla 3 el estado actual del número de miembros que pertenecen a los distintos GGII.

ÁREAS DE INTERÉS	EMBRIOLOGÍA	ANDROLOGÍA	CRIOBIOLOGÍA	GENÉTICA / DGP	INVESTIGACIÓN BÁSICA / ANIMAL	CÉLULAS MADRE	CALIDAD	ÉTICA	LEGAL
Opción 1	24	6	4	4	0	0	1	1	0
Opción 2	9	10	6	3	3	1	5	2	1
Opción 3	2	4	10	7	6	3	2	1	0
Opción seleccionada sin especificar preferencia	17	10	9	9	1	1	5	1	3
No seleccionado	5	27	28	34	47	52	44	52	53

Tabla 1. Áreas de interés de los socios de ASEBIR que respondieron a la encuesta.

INTERÉS DE PARTICIPACIÓN EN LOS GGII	EMBRIOLOGÍA	ANDROLOGÍA	GENÉTICA	CALIDAD	SÓLO RECIBIR INFORMACIÓN	PARTICIPAR ACTIVAMENTE
	31	13	10	7	20	36

Tabla 2. Interés de los encuestados en participar en los GGII.

	COMISIÓN PERMANENTE	SOCIOS ADSCRITOS A LA BASE
GI EMBRIOLOGÍA	12	53
GI ANDROLOGÍA	11	19
GI GENÉTICA	11	23
GI CALIDAD	12	19
GI CRIOBIOLOGÍA	12	27

Tabla 3. Número de socios que pertenecen a los GGII

## CONSTITUCIÓN DEL NUEVO GI DE CRIOBIOLOGÍA

Mark Grossman i Camps (Presidente del Grupo de Interés de Criobiología de ASEBIR)  
IVF, Barcelona



Desde la Junta Directiva de ASEBIR se promueve la puesta en común de conocimientos y líneas de investigación, los estudios multicéntricos y la colaboración entre miembros de ASEBIR y entre sociedades científicas, Universidades y Administración. Los Grupos de Interés son las estructuras participativas de las que ASEBIR se dota para cumplir estas tareas.

En la actualidad, ASEBIR cuenta con cuatro Grupos de Interés y sólo en el GI de Andrología se tocan temas de criobiología cuando se trabaja la criopreservación de espermatozoides.

La criobiología es la rama de la Biología que estudia los efectos de las bajas temperaturas en organismos vivos y cómo aprovechar estos efectos para preservar la materia orgánica y los organismos vivos. En la práctica, y en el campo de las Técnicas de Reproducción Asistida, el interés de la criobiología reside en la posibilidad de criopreservar tejido gonadal, gametos y embriones.

La criobiología ha acompañado la Reproducción Asistida desde sus comienzos. La posibilidad de criopreservar tejido gonadal, gametos y embriones, significa un sustancial incremento de las tasa acumulada de gestación por ciclo, es una potente herramienta de contención de los embarazos múltiples, independientemente de si se siguen protocolos de congelación lenta o de

vitrificación, y facilita la preservación de la fertilidad.

La actual Junta Directiva de ASEBIR propuso, en su programa, la creación de un quinto Grupo de Interés focalizado en asuntos de criobiología.

La constitución de un nuevo Grupo de Interés –Grupo de Interés en Criobiología– comporta abrir un período de información y de inscripción de las personas interesadas, nombrar el comité permanente y proponer los objetivos generales propios.

Hasta la fecha se han recibido 31 solicitudes de ingreso y hemos establecido los siguientes objetivos generales

- Elaborar y publicar guías para ayudar en la toma de decisión a la hora de decidir criopreservar o no embriones y para coordinar el transporte de gametos y embriones entre centros
- Apoyar la implementación del registro de donantes de gametos que se plantea en la legislación
- Organizar la recogida retrospectiva de datos para conocer el estado de la criopreservación de embriones en nuestro país
- Promover estudios multicéntricos. Por ejemplo, la utilidad de la eclosión asistida en la transferencia de embriones criopreservados
- Organizar jornadas de actualización en Criobiología con especial hincapié en las técnicas de vitrificación
- Fomentar contactos con otras sociedades científicas afines como ESHRE, CRYO o SEF.

Y evidentemente, un Grupo de Interés debe ser capaz de asesorar –a través de ASEBIR– a la administración sanitaria en los temas que le competen y tiene que realizar tareas de divulgación científica, en nuestro caso presentando la criobiología como el extraordinariamente útil protocolo de

soporte a los ciclos de FIV que es.

Finalmente es nuestro objetivo también (aunque este sea más difícil de cumplir y más que un objetivo sea un reto) impulsar la investigación a partir de los embriones criopreservados y donados a la ciencia que se mantienen en la mayoría de bancos de embriones. Esperamos que, con la participación de todos, seamos capaces de presentar proyectos que superen la evaluación de las autoridades sanitarias y permitan “dar salida” a los embriones que están ahora en espera.



Somos conscientes que cada uno de los tres campos de los que hemos hablado (tejido gonadal, gametos o embriones), por si sólo merecería la creación de su propio GI debido a la enorme cantidad de información disponible y a la enormes posibilidades de desarrollo de cada uno de ellos. De momento, vamos a empezar la andadura de este nuevo GI proponiendo una comisión permanente y acordando los temas que se trabajarán este año 2014.

El GI de criobiología, como el resto de GGII, está abierto siempre a nuevas incorporaciones y podréis seguir sus trabajos en la web de ASEBIR [<http://www.asebir.com/es/sobre-asebir/grupos-y-comisiones/grupos-de-interes/grupo-de-interes-de-criobiologia>]





# Primo Vision System



# RI Witness™



## Modular y Ampliable



- » Cada microscopio es programable de forma independiente
- » Adaptable a cualquier incubador
- » Mínima exposición a la luz

## Time-Lapse Embriomonitorización



- » Permite el acceso remoto
- » Captura, Analiza y Reporta
- » Presenta informes automáticos completos

## Pantalla táctil de captura de datos



- » Introducción directa de los datos del paciente desde la estación de trabajo
- » Evita la manipulación continua de datos y errores de transcripción
- » Permite el acceso inmediato a los datos

## Lector por radiofrecuencia



- » Identificación automática de la identidad con etiquetas adhesivas RFID
- » Mejora el registro y control del flujo de trabajo
- » Incrementa la seguridad



## ¿ES NECESARIA LA AUTORIZACIÓN DE FUNCIONAMIENTO COMO BIOBANCOS DE INVESTIGACIÓN EN UNA UNIDAD DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA?

Manuel Ardoy Vilches<sup>1</sup>, Fernando Abellán-García Sánchez<sup>2</sup> y Nereyda Ortiz Piñate<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Grupo de Interés de Calidad del Laboratorio de Reproducción Asistida de ASEBIR  
<sup>2</sup>Asesoría Jurídica de ASEBIR



Recientemente se recibió en el Grupo de Interés de Calidad de nuestra sociedad una duda relacionada con el proceso de renovación de la certificación ISO 9001:2008.

Según lo enviado por el centro consultante, durante dicho proceso de auditoría externa, el auditor solicitó la autorización de funcionamiento como Biobanco de Investigación Biomédica en base al decreto vigente en su comunidad autónoma, Andalucía, por el que se regula la autorización para la constitución y funcionamiento de biobancos con fines de investigación biomédica, entendiéndose que dicha ausencia constituía una “no conformidad mayor”. Dicho centro adujo que no realizaba investigación con embriones sobrantes de técnicas de Reproducción Humana Asistida (RHA), y que por lo tanto dicha normativa no le era de aplicación. Con el fin de poder justificar su opinión, nos fue solicitado un informe al respecto.

Nuestra premisa inicial era la coincidencia con los planteamientos del centro. El primer paso fue solicitar un informe a la Asesoría Jurídica de ASEBIR.

A continuación transcribimos el informe de la Asesoría Jurídica:

### CONSULTA

*Se plantea si es procedente que se exija a los laboratorios de los centros de reproducción asistida de Andalucía, la autorización de funcionamiento como biobancos de investigación biomédica, en base al Decreto Andaluz 1/2013, de 8 de enero, por el que se regula la autorización para la constitución y funcionamiento de biobancos en dicha Comunidad Autónoma.*

*La citada cuestión se suscita a raíz de la auditoría realizada al centro, al que la auditora le ha comunicado una “no conformidad de categoría mayor” por carecer de la citada autorización.*

### RESPUESTA

La normativa estatal sobre biobancos está constituida por la Ley 14/2007, de investigación biomédica, y por el Real Decreto 1716/2011, de biobancos, de 18 de noviembre. A partir de estas disposiciones generales, con vigencia en todo el Estado, algunas comunidades autónomas, como Aragón o Andalucía, han publicado ya sus normas de desarrollo dirigidas a fijar los requisitos y trámites concretos para la autorización e inscripción registral de los biobancos ubicados en sus respectivos territorios.

Lo que es un biobanco está definido tanto en la mencionada Ley de investigación biomédica como en el Real Decreto de biobancos. En este último, más reciente en el tiempo, se lo describe de la siguiente manera:

«*Biobanco con fines de investigación biomédica*»: establecimiento público o

*privado, sin ánimo de lucro, que acoge una o varias colecciones de muestras biológicas de origen humano con fines de investigación biomédica, organizadas como una unidad técnica con criterios de calidad, orden y destino, con independencia de que albergue muestras con otras finalidades.*

De esta definición se desprende con claridad una cuestión esencial, y es que el biobanco es un establecimiento en el que se manejan “muestras biológicas” y no otra cosa. Además, dentro de la normativa, existe también la figura de la colección de muestras, como régimen alternativo al del biobanco, con sus particularidades propias.

En consonancia con la definición comentada, el mismo Real Decreto que se comenta dice en su art. 3.2, c), lo siguiente:

*“Las disposiciones de este real decreto no serán de aplicación:*

*c) A los preembriones y los ovocitos de origen humano, cuya conservación y tratamiento se llevará a cabo según lo dispuesto por la Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida, y su normativa de desarrollo”.*

Es decir, la normativa estatal de biobancos establece con rotundidad que no se aplica a los embriones y ovocitos, que se rigen por la normativa de reproducción asistida.

Por lo que se refiere al Decreto Andaluz 1/2013, de 8 de enero, sobre biobancos de Andalucía, en consonancia con lo que contiene el Real Decreto estatal, al que desarrolla, afirma lo siguiente en su art. 2.2, relativo al ámbito de su aplicación:

*“Asimismo, las disposiciones de este Decreto no serán de aplicación a los supuestos contenidos en el artículo 3.2 del Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre”.*

Se observa, por tanto, que hay una remisión del Decreto Andaluz al Decreto estatal en esta materia, de forma que deja fuera igualmente a los embriones y ovocitos.

En conclusión, la norma andaluza en la que se apoya la empresa auditora para exigir a los laboratorios de reproducción asistida que estén autorizados como biobancos en dicha Comunidad Autónoma, excluye de forma expresa el régimen de biobancos para esos laboratorios.

Por otro lado, cabría añadir que si un laboratorio de reproducción asistida conservara muestras biológicas con fines de investigación, tampoco tendría por qué estar obligatoriamente autorizado como biobanco, ya que podría optar por dar de alta una colección privada a nombre de su responsable.

En definitiva, la “no conformidad” significada por el auditor al centro andaluz ya no sólo es que carezca de la mínima justificación legal, sino que es, además, abiertamente contraria a la normativa.

### COMENTARIOS DESDE EL GRUPO DE INTERÉS DE CALIDAD DE ASEBIR

Según indica nuestro ordenamiento, Ley 14/2006, los preembriones generados tras fecundación in vitro tienen un destino primario de uso reproductivo. Solo si no son transferidos tras el ciclo reproductivo pueden ser criopreservados. En este caso, en los consentimientos informados se solicita que la/los pacientes indiquen otra finalidad para los preembriones, siempre como destino secundario si estos no fueran usados para su finalidad inicial. Entendemos por tanto, que éste es el objeto esencial de los bancos de los centros de RHA, y no la investigación biomédica. Máxime cuando la misma norma indica que los preembriones cuyo destino

consentido sea el de la investigación habrán de ser criomantenidos en los centros de reproducción asistida correspondientes.

Además, el RD1716/2011, en el art. 3.2.c, se excluye expresamente a los preembriones y ovocitos humanos de su propio ámbito de aplicación.

*“Las disposiciones de este real decreto no serán de aplicación:*

*c) A los preembriones y los ovocitos de origen humano, cuya conservación y tratamiento se llevará a cabo según lo dispuesto por la Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida, y su normativa de desarrollo.”*

Sin embargo, la norma permite que un centro de reproducción humana pueda realizar investigación biomédica. Por lo que habría que hacer compatible este hecho con la finalidad propia de un banco de preembriones.

Los laboratorios de RHA que no realicen investigación con preembriones humanos, aplicarán expresamente la Ley 14/2006 y su ordenamiento específicamente derivado. En estos laboratorios no aplica el RD1716/2011 y la Ley 14/2007 y por tanto no precisan ser autorizados expresamente en ninguna de las posibilidades establecidas en estas normas. De esta manera, y conforme a la Ley 14/2006 si los progenitores deciden dar un destino de investigación a los preembriones, esto supone que el banco del laboratorio de RHA pasaría sólo a tener la custodia de estos.

En nuestra opinión bastaría con tener correctamente ubicados e identificados estos preembriones a la espera de hacerse efectiva la donación a los centros donde se realizará la investigación.

En el caso de que un centro de RHA disponga de un proyecto autorizado por la CNRHA o las correspondientes autoridades sanitarias competentes, habrá de cumplir los requisitos que la legislación establezca. Lo que no es el caso del centro que consultó con nuestro grupo de interés.

### BIBLIOGRAFÍA

Decreto 1/2013, de 8 de enero, por el que se regula la autorización para la constitución y funcionamiento de Biobancos con fines de investigación biomédica, se crean el Registro de Biobancos de Andalucía y el Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía 7, 10/01/2013.

Ley 14/2006 de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. BOE 126, 27/05/2006, pp 19947-19956.

Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación bio-médica. BOE 159, 04/07/2011, pp 28826.

Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica. BOE 290, 2/12/2011, pp 128434.

## GI ANDROLOGÍA

Cristina González Ravina (Presidenta del Grupo de Interés de Andrología de ASEBIR)  
IVI Sevilla, Sevilla



Hola a todos.

Es un placer para mí poder estar al frente del GI de Andrología continuando con la fantástica labor realizada por mi predecesor, el Dr. Alberto Pacheco. La idea de haber asumido las riendas de esta etapa no es otra que continuar con lo que hemos conseguido ir haciendo estos últimos años, y seguir avanzando en la participación activa de nuestro GI en actividades de formación, publicaciones y colaboración con otras sociedades. Para ello, tengo intención de contar con todos aquellos miembros del GI que estén interesados, tanto los de la comisión permanente como los que os habéis incorporado recientemente. Dentro de los objetivos que nos hemos fijado para este año y el 2015, tenemos previsto el envío de artículos a la nueva revista conjunta entre SEF y ASEBIR "Medicina Reproductiva y Embriología Clínica". En esta primera edición os podéis encontrar un artículo enviado por uno de los miembros activos de nuestro grupo, el Dr. Rafael Lafuente, que lleva por título: "Estudio de la morfología de organelas en espermatozoides móviles (MSOME): correlación con parámetros seminales y el índice de fragmentación del ADN". Desde aquí os invito a leerlo, pues seguro resultará de gran interés para todos nosotros. Además, los miembros de la Comisión Permanente nos mantenemos actualizados en cuanto a bibliografía en el campo de la Andrología, de manera que mensualmente compartimos

artículos que encontramos relevantes y hacemos foros para comentarlos. Como pensamos que otras personas, aunque no estén en el grupo de interés, pueden estar muy interesados en actualizarse en Andrología, hemos propuesto realizar una jornada (aún no sabemos si presencial o en formato online) de "Actualización bibliográfica en Andrología", para finales de 2014 o principios de 2015, donde se repasarán los trabajos más importantes del año dentro de la Andrología básica y clínica.

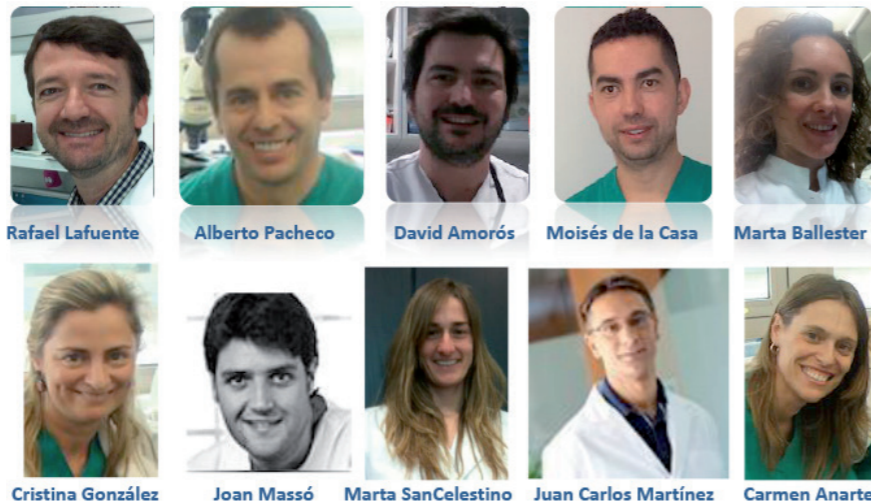
En el último Congreso Asebir celebrado en Sevilla el año pasado, el GI de Andrología organizó un Curso Precongreso de "Técnicas actuales de diagnóstico y/o análisis de Andrología: Fragmentación, MACS". En vista de la enorme aceptación que tuvo, superando nuestras expectativas, tenemos intención de ofrecer una 2ª edición de la Jornada para después del verano de 2014, aunque aún debemos valorar la sede donde tendría lugar, pues la intención es que sea predominantemente práctico.

Por otro lado, tenemos muy avanzada la puesta en marcha, con posible colaboración con el Grupo de interés de Calidad de ASEBIR, de un control de calidad externo para Fragmentación

de ADN espermático. Espero que antes de mitad de año podamos pasar unos cuestionarios sobre el método de medición de fragmentación de ADN que usáis en los diferentes centros para ponerlo en marcha teniendo en cuenta la diversidad metodológica existente.

Y como cualquier "mago", no es mi intención desvelar todos los secretos que tenemos preparados, así que espero poder llevar a cabo algunos proyectos desde el GI que resulten útiles para todos los que formamos familia en el campo de la Andrología. Aprovecho estas líneas para animaros a participar activamente en nuestro grupo de interés. Cada vez vamos siendo más y tenemos más presencia dentro del campo de la Reproducción, demostrando día a día que "el poder de la Andrología es infinito". Gracias por mantener esa ilusión!

### GRUPO DE INTERÉS DE ANDROLOGÍA ASEBIR



## GI EMBRIOLOGÍA: DIVISIÓN TEMPRANA

Mª José de los Santos Molina (Vocal del Grupo de Interés de Embriología de ASEBIR)  
IVI Valencia, Valencia



*"A MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY TO ASSESS THE EFFECT OF EARLY CLEAVAGE ON EMBRYO QUALITY, IMPLANTATION, AND LIVE-BIRTH RATE". FERTIL STERIL. 2014 APR;101(4):981-7*

Este artículo nace como resultado de dar respuesta a una de las preguntas que surgieron desde el Grupo de Interés en Embriología.

¿Debíamos evaluar los embriones entre las 25-27 horas post inseminación

y utilizar ese dato para seleccionar mejor los embriones antes de su transferencia?

Tras un gran esfuerzo fuimos capaces de reunir entre los socios participantes un número suficiente de datos sobre embriones que nos permitieron analizar el impacto de la evaluación de la división temprana en la selección de los embriones sobre la implantación.

Este estudio ha mostrado que la evaluación de la división temprana no añade valor pronóstico a la evaluación morfológica dada por ASEBIR en momentos posteriores del crecimiento embrionario. La gran mayoría de los embriones que sufren división temprana son buenos embriones desde el punto de vista morfológico en día +2 ó día +3 y por lo tanto, resulta más lógico no distorsionar el cultivo embrionario en una etapa de crecimiento más bien delicada (paso de G2 a M) además de no añadir carga de trabajo extraordinaria en el

laboratorio.

Resulta además interesante que la división temprana no se encuentre entre las variables morfocinéticas de mayor peso específico para el pronóstico de la implantación. Sólo la división directa a tres células (que sólo se puede contemplar con el uso de la tecnología de time lapse) refleja su importancia a nivel de implantación.

En este trabajo no sólo hemos podido presentar datos de la división temprana e implantación, sino que hemos ido más lejos y hemos observado que no hay ninguna asociación entre división temprana y tasa de nacimiento.

De esta forma, por ahora, y hasta que no aparezcan otros datos, podemos decir que ASEBIR apuesta por una clasificación ASEBIR que no tenga en cuenta la división temprana al menos cuando se cultiven los embriones de forma convencional.



## GI GENÉTICA: ENCUESTA DGP 2010-2011

Esther Velilla <sup>1,2,3</sup>, Silvia Fernández <sup>1,3</sup>, Mònica Parriego <sup>1,4</sup>, Carmen Rubio <sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Grupo de interés de Genética y Reproducción, ASEBIR

<sup>2</sup> Institut Marquès

<sup>3</sup> Centro de Medicina Embrionaria

<sup>4</sup> Hospital Universitario Quirón Dexeus

<sup>5</sup> Iviomics



El Grupo de Interés de Genética y Reproducción (GiGR) presentó en el V congreso ASEBIR la actividad de DGP realizada en España durante los años 2010-2011. Los datos fueron recogidos por la secretaria de ASEBIR y enviados anónimamente a los miembros del GiGR para su análisis.

El número de centros que aportan los resultados de sus ciclos de DGP a Asebir se ha mantenido estable en las tres últimas recogidas. (Figura 1)

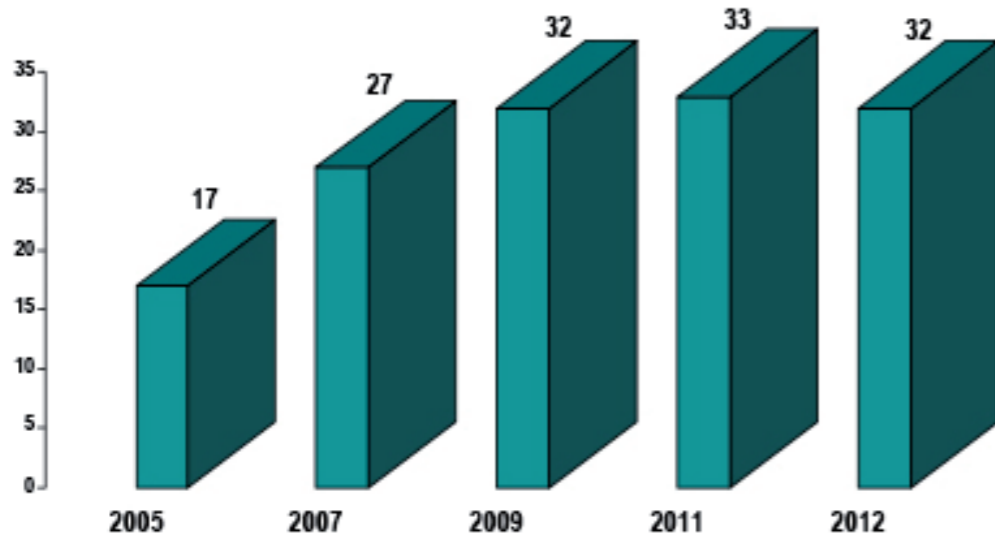


Figura 1: Evolución del número de centros participantes en las 5 recogidas de datos de DGP.

Los datos obtenidos se han analizado por grupos en función del tipo de DGP:

1. DGP para screening de aneuploidías incluyendo las siguientes indicaciones:

- Abortos de repetición (ABR): 2 o más abortos previos (no se incluyen bioquímicos).
- Fallos repetidos de FIV (FFIV): Más de dos ciclos de FIV previos sin embarazo.
- Edad materna avanzada (EMA): Ciclo de FIV con ovocitos propios procedentes de mujeres mayores de 37 años.
- Pacientes con embarazos previos trisómicos (PTRI): Pacientes con antecedentes de 1 o más concepciones previas con trisomías.
- Factor masculino genético (FMG): FISH alterado o estudio de meiosis alterado.
- Factor masculino (FM): Seminograma alterado.

2. DGP para pacientes portadores de reorganizaciones cromosómicas:

- Translocaciones recíprocas (TREC).
- Translocaciones Robertsonianas (TROB).
- Inversiones (INV).

3. DGP para enfermedades monogénicas:

- Parejas con enfermedades monogénicas dominantes.
- Parejas con enfermedades monogénicas recesivas
- Parejas con enfermedades monogénicas ligadas a los cromosomas sexuales.
- Parejas con enfermedades monogénicas con selección de tipaje HLA.

En la Figura 2 se muestra el número de ciclos de DGP realizados en los distintos períodos. Puede observarse que el número de ciclos de DGP se ha

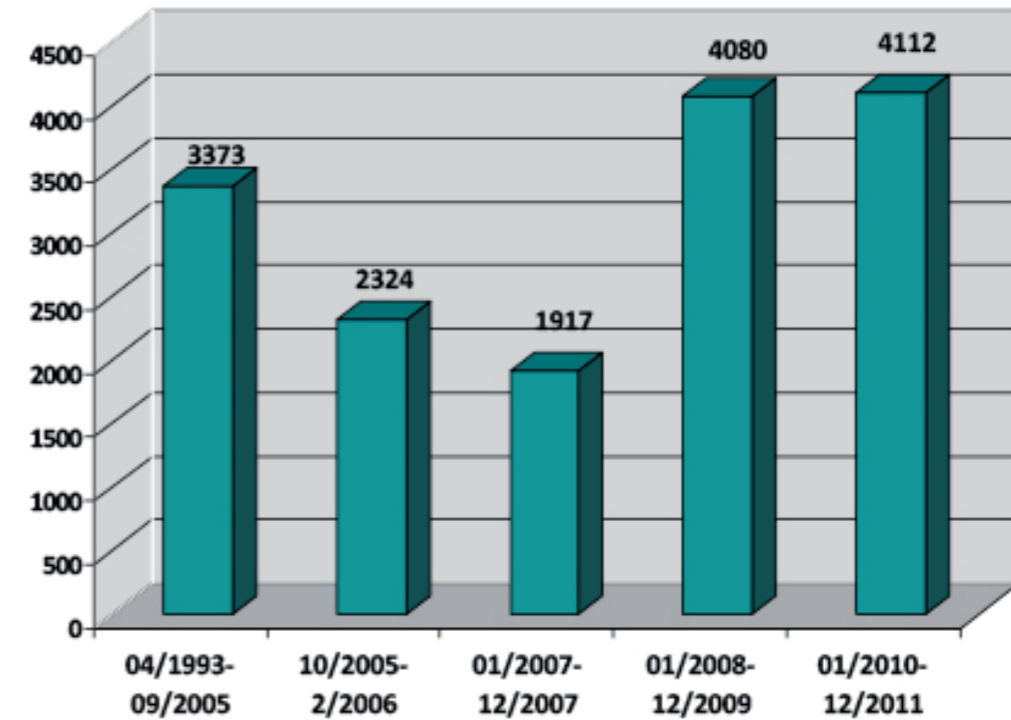


Figura 2: Evolución del número de ciclos de DGP a lo largo de los años.

estabilizado en los últimos 4 años. Durante los años 2010 y 2011 se han reportado un total de 4112 ciclos de

DGP procedentes de 32 centros de los cuales el 79.5% (3267 ciclos) fueron DGP para screening de aneuploidías,

el 9.0% (369 ciclos) fueron DGP para reorganizaciones cromosómicas y el 11.5% (476 ciclos) fueron DGP para enfermedades monogénicas.

	2008-2009	2010-2011
Nº Ciclos	3422	3267
Nº Transferencias (%)	1903 (55.6)	1999 (61.2)
Media de embriones transferidos	1.5	1.6
Nº embarazos positivos* /transfer (%)	731 (38.4)	9789 (39,47)
Nº embarazos gemelares (%)	180 (24.6)	123 (15,6)
Nº embarazos múltiples (%)	13 (1.8)	2 (0,2)
Nº abortos (%)	124 (17.0)	166 (21,0)
Nº RNV	708	681

\* Embarazos con saco

Tabla 1: Resultados clínicos tras DGP para screening de aneuploidías.

### DGP PARA SCREENING DE ANEUPLOIDÍAS

De los 3267 ciclos de DGP reportados para screening de aneuploidías, se indicó en un 50.9% por edad materna avanzada, en un 15.8% por abortos de repetición, en un 12.5% por fallo repetido de FIV, en un 10.8% por factor masculino genético, en un 6.8% por un embarazo previo cariotipado con un alteración cromosómica y en un 3.2% por factor masculino (Figura 3).

Es importante destacar que hasta el año 2009 todos los ciclos de DGP se habían realizado utilizando la técnica de FISH y analizando hasta un máximo de 12 cromosomas, mientras que en el período 2010-2011 empiezan a aparecer ciclos de DGP en los que se ha realizado screening cromosómico completo, siendo un 12.9% del total de ciclos de DGP para screening de aneuploidía.

	TROB		TREC		INV	
	2008-2009	2010-2011	2008-2009	2010-2011	2008-2009	2010-2011
Nº Ciclos (%)	128 (38.8)	139 (37.7)	185 (56.1)	220 (59.6)	17 (5.1)	10 (2.7)
Nº Transferencias (%)	91 (71.1)	95 (68.3)	111 (60.0)	131 (59.5)	15 (88.2)	9 (90)
Media embriones transferidos	1.8	1.6	1.6	1.3	2.1	1.6
Nº embarazos positivos /transfer (%)	41 (45.0)	42 (44.2)	39 (35.1)	54 (41.2)	6 (40.0)	4 (44.4)
Nº embarazos gemelares (%)	12 (29.3)	6 (14.3)	6 (15.4)	11 (20.4)	3 (50.0)	1 (25)
Nº embarazos múltiples (%)	2 (4.9)	0	3 (7.7)	0	0	0
Nº abortos (%)	2 (4.9)	6 (14.3%)	10 (25.6)	13 (24.0)	1 (16.6)	0
Nº RNV	50	38	32	49	7	5

Tabla 2: Resultados clínicos tras DGP para screening de aneuploidías.

Los resultados clínicos se muestran en la tabla 1. La tasa de embarazo clínico por transferencia obtenida tras la realización del DGP en este periodo fue del 47.5%, resultando más elevada que la obtenida durante los años 2008-2009 (38.4%). Esta mejora en los resultados podría explicarse por la incorporación de ciclos en los que se ha realizado

el análisis de todos los cromosomas mejorando la selección de los embriones a transferir.

DGP PARA REORGANIZACIONES CROMOSÓMICAS

Durante el periodo descrito, se realizaron 369 ciclos de DGP para

reorganizaciones cromosómicas. Se realizaron un 59.6% (220 ciclos) de los ciclos de de DGP en portadores de translocaciones recíprocas, un 37.7% (139 ciclos) en portadores de translocaciones Robertsonianas, y un 2.7% (10 ciclos) en portadores de Inversiones. La tabla 2 muestra los resultados clínicos detallados por tipo de reorganización cromosómica y la comparación con los datos obtenidos en el periodo 2008-2009.

DGP PARA ENFERMEDADES HEREDITARIAS

Durante el bienio descrito se han realizado 476 ciclos de DGP para enfermedades monogénicas. De estos, el 66.6% de los ciclos de DGP para enfermedades hereditarias (317 ciclos) se han realizado para evitar una enfermedad con herencia dominante, un 12.0% (57 ciclos) con herencia recesiva, un 15.1% (72 ciclos) una enfermedad ligada a los cromosomas sexuales y un

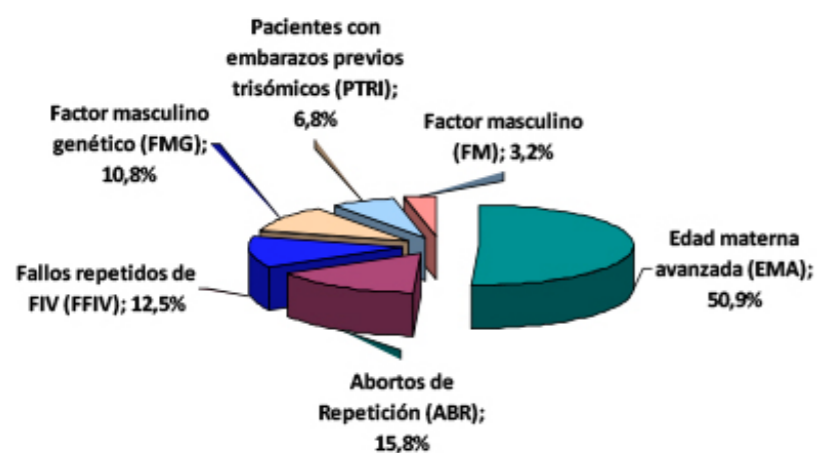


Figura 3: DGP para screening de aneuploidías. Distribución por indicaciones.

	TOTAL		DOMINANTES		RECESIVAS		LIGADAS AL X	
	2008-2009	2010-2011	2008-2009	2010-2011	2008-2009	2010-2011	2008-2009	2010-2011
Nº Ciclos (%)	315	446	147	317	91	57	77	72
Nº Transferencias (%)	280 (88.9)	346 (77.6)	128 (87.0)	247 (77.9)	82 (90.1)	46 (80.7)	70 (90.9)	53 (73.6)
Media embriones transferidos	1.8	1.6	1.8	1.6	1.8	1.7	1.7	1.6
Nº embarazos positivos/transfer (%)	102 (36.4)	122 (35.3)	41 (32.0)	86 (34.8)	33 (40.2)	17 (36.9)	28 (36.4)	19 (35.8)
Nº embarazos gemelares (%)	35 (34.3)	19 (15.6)	12 (29.3)	12 (17.1)	11 (33.4)	3 (17.6)	12 (42.8)	4 (26.7)
Nº embarazos múltiples (%)	1 (1)	-	1 (2.4)	-	-	-	-	-
Nº abortos (%)	23 (22.5)	21 (17.2)	11 (26.8)	16 (18.6)	5 (15.2)	1 (5.9)	7 (25)	4 (21)
Nº RNV	107	120	42	82	35	19	30	19

Tabla 3: Resultados clínicos tras DGP para enfermedades monogénicas.

6.3% (30 ciclos) en combinación con la selección de embriones histocompatibles (HLA). La tabla 3 muestra los resultados clínicos de los ciclos de DGP por enfermedades monogénicas desglosados en función del tipo de herencia y la comparación con los datos obtenidos en el periodo 2008-2009. Se ha obtenido una tasa global de embarazo del 35.3%, manteniéndose estable respecto a la obtenida en el bienio anterior.

Los datos clínicos de los ciclos de DGP para enfermedades monogénicas en combinación con la selección de embriones histocompatibles se muestran en la tabla 4.

APROXIMACIONES FUTURAS

ELGiGR quiere agradecer a todos los centros de reproducción asistida que aportan sus datos el esfuerzo realizado y es consciente del trabajo que representa añadiéndose a las múltiples tareas diarias. Con el objetivo de facilitarles el trabajo el GiGR está desarrollando una plataforma on line para que los datos puedan introducirse de una forma ágil y práctica y que a la vez sea compatible con el registro de datos de la ESHRE (PGD Consortium). Esperamos poder disponer de esta herramienta para la recogida de datos correspondientes al año 2013. Así, la próxima recogida de datos de los ciclos realizados en el año

2012 aún va a realizarse en formato Excel, aunque mejorado. A partir de este año la recogida de datos de ASEBIR coincidirá con el mismo calendario que el registro de datos de la SEF.

ASEBIR desea trasladar al registro de la SEF, los datos referentes a los ciclos de DGP realizados en España así como sus tasas de embarazo. Sólo se cederán a la SEF los datos de los centros que hayan dado permiso expreso para ello.

	2008-2009	2010-2011
Nº Ciclos	13	30
Nº Transferencias (%)	7	10 (33.3)
Media embriones transferidos	1.1	1.1
Nº embarazos positivos (%transfer)	0	1 (10)
Nº embarazos gemelares (%)	0	-
Nº embarazos múltiples (%)	0	-
Nº abortos (%)	0	-
Nº RNV	0	1

Tabla 4: Resultados clínicos tras DGP para enfermedades monogénicas en combinación con HLA.



# EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA (SWIM-UP Y GRADIENTES) MEDIANTE EL ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA, MADUREZ Y FRAGMENTACIÓN DEL ADN DE LOS ESPERMATOZOIDES EN MUESTRAS DESTINADAS A INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA).

Alba Burguera Girau, Marina de la Orden Rodríguez, Juan Vicente Martínez Sanchis, Pedro José Fernández Colom, José María Rubio Rubio Hospital Universitari i Politènic La Fe de Valencia

**Objetivo:** mejora de las muestras seminales para IA y puesta a punto de herramientas accesorias para su evaluación.

**Diseño y tamaño muestral:** 190 muestras seminales; estudio prospectivo y aleatorio.

**Material y Métodos:** las muestras se procesaron con Swim-Up o Gradientes. Se anotaron diferentes tiempos (recogida, procesado, capacitado e inseminado). Se realizaron 3 extensiones en fresco por muestra: morfología (Diff Quick), madurez (Azul de Anilina) y fragmentación de ADN (Naranja de Acridina), y 2 en capacitado (madurez y fragmentación).

**Resultados:** obtuvimos un 16% de gestación con Gradientes y un 9,37% en Swim-Up (p\_valor de 0,08). La media de edad de las pacientes embarazadas fue de 31,7, siendo significativa (p\_valor 0,02). Los gradientes seleccionaron mejor los espermatozoides maduros (89,48% vs 91,33%) y sin fragmentación de ADN (81,21% vs 88,2%) que el Swim-Up con (p\_valores = 0,014 y 0,006 respectivamente). El tiempo que pasa la muestra en el laboratorio resulta significativo, siendo las que menos tiempo pasan en él, las que mejor tasa de gestación (TG) presentan (p\_valor 0,024).

**Conclusión:** la edad de las mujeres condiciona el éxito de la IA. Los Gradientes mejoran las TG de IA en la Unidad, sin llegar a ser estadísticamente significativo. Los gradientes consiguen recuperar un mayor número de espermatozoides maduros y sin fragmentación de ADN. Cuanto menos tiempo pasa la muestra en el laboratorio mejor para la consecución del embarazo.

**Palabras clave:** espermatozoides, Swim-Up, Gradientes, morfología, fragmentación ADN, madurez, histonas, protaminas, tiempo.

**Objective:** IUI sperm improvement using Swim-Up and Gradients and its evaluation using appropriate techniques.

**Material and Methods:** semen samples were processed using Swim-Up or Gradients and were registered at 3 different times. 3 smears were done with fresh semen and we analysed morphology (Diff Quick), maturity (Aniline Blue) and DNA fragmentation (Acridine Orange). Two smears were done with processed samples (maturity and DNA fragmentation).

**Results:** we got 16% PR (pregnancy rate) using Gradients and 9,37% using Swim-Up (p\_value 0'08). The average age of the women was 31,7 years (p\_value 0,02). The Gradients selected better mature spermatozoa (89,48% vs 91,33%) and with no DNA fragmentation (81,21% vs 88,2%) than Swim-Up (p\_value 0,014 and 0,006). Time spent by the sample in the laboratory influences PR. The less time the samples spend in the lab, the better the rate (p\_value 0,024).

**Conclusion:** women's age affects IUI success. Gradients improve PR in our Hospital, but it is not significant. Gradients allow us to get a higher number of mature spermatozoa and with no DNA fragmentation. Time spent by the sample in our lab affects IUI success. Smoking increases DNA fragmentation on fresh semen samples.

**Key words:** spermatozoa, Swim-Up, Gradients, morphology, DNA fragmentation, maturity, histones, protamines, time.

## INTRODUCCIÓN

Atendiendo a una mejora de los resultados en la técnica de Inseminación Artificial (IA) nos planteamos optimizar los protocolos de trabajo. Nos proponemos averiguar: la influencia de dos técnicas de capacitación (Swim-Up y Gradientes), la valoración de la morfología espermática (mediante ISAS), estado de ADN (madurez y fragmentación), y si el tiempo desde la recogida de la muestra hasta la

inseminación es significativo en el éxito de la IA.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizó, junto con recuento y motilidad, la morfología, madurez y fragmentación de DNA de 190 muestras de semen procesadas mediante Swim-up o Gradientes para realizar IA en el Hospital La Fe de Valencia. Las muestras homólogas fueron obtenidas por

masturbación, con abstinencia de 3 a 5 días, en botes estériles. Las muestras de donante se descongelaron 30' a 37°. Antes de procesar las muestras, se valoró su recuento y motilidad en fresco y en capacitado después de procesarse mediante el método correspondiente.

### PROCESAMIENTO MEDIANTE SWIM-UP

96 muestras de las 190 se procesaron mediante Swim-Up. Se repartió cada

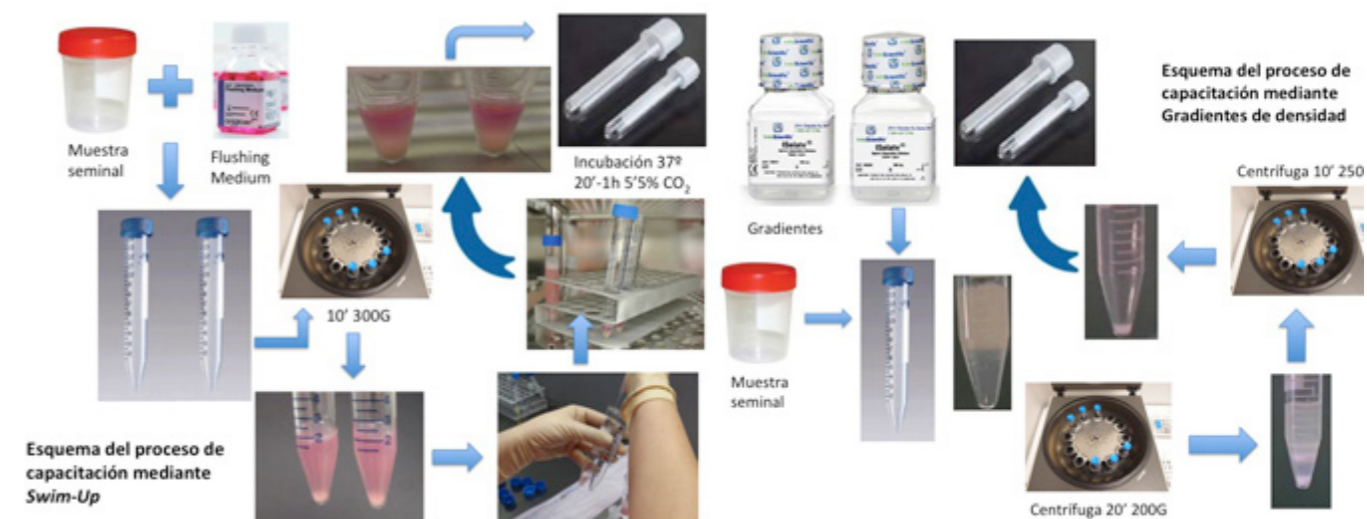


Figura 1: Esquema del procesado de muestras seminales mediante Swim-Up (izquierda) y Gradientes Isolate (derecha).

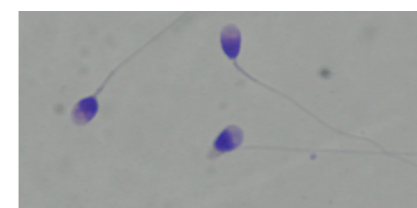


Figura 2: Fotografía de espermatozoides teñidos con la tinción Diff Quick para la valoración de su morfología. Se puede distinguir claramente la cabeza con su acrosoma, la pieza intermedia y la cola.

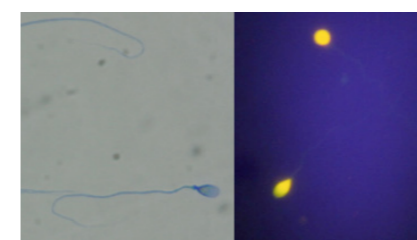


Figura 3: Fotografías de los resultados de las dos tinciones empleadas (Azul de Anilina en la izquierda y Naranja de Acridina a la derecha).

muestra en dos tubos falcon (Fisher Scientific; Cat.: 05-539-5) y se mezcló volumen a volumen con Flushing Medium (Origio; Cat.:10845060). Las muestras fueron centrifugadas durante 10' a 250G. Después se eliminó el sobrenadante y se añadieron 250 µl de medio de cultivo (IVF, Origio; Cat.: 10315060). Se incubaron entre 20' y 1h y pasado el tiempo, se recogió la capa superficial de medio, y se aisló en un tubo estéril. La muestra se volvió a guardar en el incubador hasta su uso.

### PROCESAMIENTO MEDIANTE GRADIENTES

94 de las 190 muestras se procesaron mediante Gradientes. Se prepararon los gradientes según el protocolo de Isolate (Irvine; Cat.: 99264). El medio se sacó de la nevera 30' antes de su uso, y en un tubo falcon (Fisher Scientific; Cat.: 05-539-5) se repartió 1,5 ml de cada fase. Sobre las dos fases se colocaron 2 ml de la muestra de semen (o toda la muestra en caso de poseer menos de 2 ml). Los tubos fueron centrifugados 20' a 200G, y se separó el pellet metiendo una pipeta Pasteur hasta el fondo del tubo. Esta fase se mezcló con 2 ml de Flushing Medium (Origio; Cat.:10845060) y se centrifugaron los tubos 10' a 200G. Al terminar la centrifuga, se eliminó el sobrenadante y los pellets se resuspendieron en 0'5 ml de medio de cultivo IVF (Origio; Cat.: 10315060). El resuspendido se separó en un tubo estéril y se guardó en campana, a temperatura ambiente, hasta su uso.

### MORFOLOGÍA

De cada muestra en fresco, se cogieron 7 µl con los que se realizó una extensión en un porta y se dejó secar al aire. Realizamos la tinción Diff Quick: las muestras se fijaron en 30'' en etanol absoluto (Panreac; Cat.: 131086) y sin dejar secar se sumergieron

30'' en eosina roja (Panreac; Cat.:253999) y 30'' en eosina azul (Panreac; Cat.: 251416). Se lavó cada porta con agua destilada y se dejó secar. Posteriormente se montaron con un cubreobjetos con Eukitt y se dejaron secar para su posterior observación al microscopio. Las morfologías se analizaron utilizando un programa

	Media
Ellas	33'63 años
Ellos	35'15 años
Ellas embarazadas	31,68 años
Parejas embarazadas	33'88 años

Tabla 1: Edad media de las parejas junto con la media de las mujeres embarazadas y de sus parejas.

informático (ISAS, Proiser). Se obtuvieron fotografías de 100 espermatozoides de cada muestra obteniendo el porcentaje de espermatozoides normales (Figura 2).

### AZUL DE ANILINA

De cada muestra se realizaron 2 extensiones de 7 µl, una en fresco y otra en capacitado. Se

	Gesta	No Gesta	TG	p_valor
Swim-Up	9	87	9'37%	
Gradientes	15	79	15'95%	0,08

Tabla 2: Gestaciones obtenidas en los diferentes métodos de capacitación espermática.



dejaron secar al aire y se fijaron en Metanol (Merk) 10'. A continuación se lavaron con agua destilada y se dejaron secar. Posteriormente se tiñeron 5' en azul de anilina (Panreac; Cat.: 253708.1606). Una vez teñidas las muestras, se lavaron con agua destilada, se dejaron secar y se montaron con un cubreobjetos y medio de montaje Eukitt. Se leyeron 100 espermatozoides a 100x y bajo aceite de inmersión, contando el número de cabezas teñidas (Figura 3).

**NARANJA DE ACRIDINA**

De cada muestra se realizaron 2 extensiones, una con la muestra en fresco y otra con la muestra capacitada, de 7 µl cada una. Se dejaron secar al aire y se fijaron entre 2'-4' en Carnoy (metanol-ácido acético 3:1) y se dejaron secar. En el momento de leer las muestras, se tiñeron con Naranja de Acridina (Sigma) 4', se lavaron con agua destilada y se dejaron secar para ser leídas

		Media	p_valor
Swim-Up	Fresco	88'94%	
	Capacitado	89'48%	0,313
Gradientes	Fresco	88'84%	
	Capacitado	91'33%	0,014

Tabla 3: % medio de espermatozoides maduros contados en muestras frescas y capacitadas con las dos técnicas.

	Fresco	Capacitado
Swim-Up	77,79%	81,21%
Gradientes	76,32%	88,20%
p_valor	0,32	0,006

Tabla 4: % de espermatozoides con DNA sin fragmentar recolectados antes y después de capacitar mediante Gradientes y Swim-Up.

	% spz normales en capacitado	% spz maduros en capacitado
Embarazadas	88'09%	92'68%
No Embarazadas	82'27%	90'65%
p_valor	0,012	0,2

Tabla 5: Porcentaje medio de espermatozoides con DNA sin fragmentar y media de espermatozoides maduros inseminados en mujeres que posteriormente gestaron, frente a las que no gestaron.

	Tiempo medio		p_valor
	Gesta	No gesta	
TTPM	167'78 min	198'42 min	0'022
TIA	59'48 min	74'09 min	0'086
TL	44'48 min	54'05 min	0'823

Tabla 6: Tiempo medio en minutos en cada intervalo estudiado, para pacientes embarazadas y no embarazadas.

inmediatamente a 100x bajo el microscopio de fluorescencia, contando el número de espermatozoides verdes y anaranjados (Figura 3).

**TIEMPOS**

De cada inseminación anotamos 4 horas: hora de recogida (cuando el paciente eyacula la muestra), hora de procesado (momento en el que la muestra empieza a procesarse), hora de capacitado (momento en el cual la muestra está lista para inseminarse), hora de IA (cuando se realiza la inseminación). Con estas horas calculamos 3 tiempos que luego tuvimos en cuenta en nuestros análisis: tiempo de licuado de la muestra (TL: minutos que pasan entre que se recoge la muestra y se procesa), tiempo de Inseminación (TIA: minutos que pasan entre que el capacitado está preparado y se realiza la Inseminación Artificial), y tiempo total de procesado de la muestra (TTPM: minutos que pasa entre que se obtiene la muestra y se realiza la inseminación).

**RESULTADOS**

Exponemos los datos en forma de medias. Las variables categóricas se analizaron usando un test de Chi-Cuadrado, y las continuas usando el test T. Utilizamos Regresión Logística para analizar las correlaciones entre las diferentes variables y la consecución o no de embarazo. Consideramos estadísticamente significativos los p\_valores <0,05, y comprobamos que todas las variables se distribuyen de forma normal y homogénea.

**DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO**

En total hemos analizado 190 ciclos de Inseminación Artificial en 131 parejas del Hospital La Fe de Valencia, entre Septiembre y Diciembre de 2013. La media de edad de las parejas fue de 33,6 años en ellas y 35,5 años en ellos. El 73,4% de las mujeres estaban diagnosticadas como función reproductora normal (FRN), 13,83% como anovuladoras, 2,13% como fase lútea inadecuada (FLI), 6,9% como fallo ovárico precoz (FOP), y 3,7% con otras causas (endometriosis leve, lesión tubárica no obstructiva, alteraciones genéticas o malformaciones genitales). En cuanto a ellos, el 5,5% estaban diagnosticados de normozoospermia, un 69,23% de astenozoospermia (leve y

moderada), un 12,63% de azoospermia y un 12,63% de oligoastenoospermia. En el momento de la realización de las inseminaciones, la media del índice de masa corporal (IMC) de las mujeres fue de 23,32%. La media de días que fueron estimuladas fue de 8,2%, la última FSH tomada de 6,43% y la última LH de 5,32%.

**RESULTADOS DEL ESTUDIO**

Analizamos si las edades de las pacientes y de los pacientes (Tabla 1) afectan a la TG de las IA, obteniendo un p\_valor de 0,021 para ellas y de 0,309 para ellos; en ninguno de los dos casos el uso de Gradientes o Swim-Up beneficia o perjudica a las parejas más o menos jóvenes (p\_valores de 0,16 y 0,2 respectivamente).

En cuanto a los datos analizados después de la realización de las IA, de las 190 IA, 24 resultaron gestantes (12,56%), dos de las cuales (8,3%) abortaron (un aborto espontáneo y un embarazo ectópico). Analizamos si el número de gestaciones variaba en función de la técnica de capacitación espermática empleada, obteniendo 9 gestaciones de 96 muestras procesadas mediante Swim-Up (9,37%) y 15 gestaciones de 94 muestras procesadas mediante Gradientes (15,95%). El p\_valor obtenido fue de 0,086>0,05, cercano a la significatividad (Tabla 2).

En cuanto a la morfología, el tener más o menos % de normales en fresco no parece afectar a la TG (p\_valor = 0,315); sin embargo, cabe mencionar que ninguna de las pacientes embarazadas tenían un recuento de normales del 0%.

La técnica del Azul de Anilina nos permitió ver que la media de espermatozoides maduros recuperados con Gradientes era superior a los recuperados con Swim-Up (89,48% frente a 91,33% respectivamente) siendo estadísticamente significativo con un p\_valor de 0,014 (Tabla 3). Sin embargo, no tenemos evidencia estadística de que las pacientes embarazadas fueran inseminadas con muestras con una mayor madurez espermática que las que no gestaron (p\_valor 0,2) (Tabla 5).

La tinción utilizada para valorar la fragmentación del ADN (Naranja de Acridina) nos permitió comprobar que los Gradientes seleccionan mejor

espermatozoides sin fragmentación del ADN (81,21% de espermatozoides sanos recolectados mediante Swim-Up, frente al 88,2% mediante Gradientes, siendo el p\_valor de 0,012) (Tabla 4); además, en este caso sí parece ser que las mujeres embarazadas fueron inseminadas con muestras con menor % de fragmentación del ADN espermático (88,09% en embarazadas frente al 82,27% de no embarazadas) (Tabla 5).

De los tiempos anotados en cada IA, resultó estadísticamente significativo el TTPM (p\_valor = 0,022), siendo el promedio en pacientes embarazadas de 167,78 minutos y en no embarazadas de 198,42 minutos. El TL no resultó significativo (p\_valor=0,823), mientras que el TIA parece tener una leve significatividad, con un p\_valor de 0,086, cercano al 0,05, siendo el tiempo medio de inseminación de las pacientes embarazadas de 59,48 minutos y en las pacientes no embarazadas de 74,09 minutos (Tabla 6).

Analizamos otros parámetros como el REM, diagnóstico de las parejas, número de folículos, IMC, o procedencia del semen (homólogo o donante), sin llegar a obtener datos estadísticamente significativos en ninguno de ellos.

**DISCUSIÓN**

Uno de los factores más importantes a la hora de predecir el éxito o no de una IA es la **edad de la mujer**; Merviel et al. en su estudio de 2010 afirma que la edad de la mujer es uno de los factores más importantes que pueden predecir el éxito de la IA. En este estudio presentaban una tasa de gestación en mujeres menores de 30 años alrededor del 38%, mientras que pasaba a un 12,5% en mujeres cerca de los 40. Por otro lado, otro estudio de Brzechffa et al., 1998. afirma que por debajo de 40 años no hay variación en las tasas de gestación. Wainer et al., 2004 y Zapardiel Gutiérrez et al., 2007 están de acuerdo con que las mejores tasas de gestación se logran en mujeres jóvenes. En nuestro trabajo hemos obtenido una diferencia significativa en las edades de las mujeres embarazadas respecto a las que no lo están, siendo la media de las mujeres embarazadas de 31,7 años. Esto puede deberse a que la calidad ovocitaria de estas mujeres está menos deteriorada, lo cual, añadido al acortamiento de las distancias entre los gametos, el principal efecto de

esta técnica, puede favorecer, junto a otros factores, el éxito de la gestación.

Cada laboratorio ha de encontrar su modo de trabajar, utilizando las técnicas y productos que más favorezcan sus resultados. Es por eso que decidimos probar una técnica de capacitación alternativa, los Gradientes Isolate (Irvine Scientific; California). Los resultados obtenidos (9 gestaciones en Swim-Up frente a las 15 con gradientes) (Tabla 3) nos permiten ver un ligero incremento de las tasas de gestación, de un 9,37% en Swim-Up, frente a casi un 16% por ciento en Gradientes (15,95%), datos similares a otros trabajos como el de Morshedi et al., 2003. Este resultado no resulta estadísticamente significativo (p\_valor 0,086>0,05) como ocurre en el trabajo de Dodson et al., 1998. En el artículo de Ricci et al., 2009 justifican el uso de los gradientes para IA debido a que se obtiene una fracción mayor de espermatozoides móviles totales.

Muchos artículos, tales como Van der Zwalm et al., 1991 y Prakash et al., 1998, estudian la diferencia de la morfología de los espermatozoides según el método de capacitación espermática, por lo que hemos querido evaluar la morfología en fresco para determinar si influye en el éxito de la inseminación, y valorar la inclusión de un análisis de rutina de la morfología en pacientes que van a someterse a IA. Sin embargo no hemos obtenido un resultado que correlacione la morfología en fresco con el éxito de la técnica, lo mismo que en el trabajo de Karabinus et al., 1997. De todas formas, cabe mencionar que ninguna de las muestras procesadas que dio lugar a embarazo, tenían un 0% de normales. Esto indica que por poco que sea el porcentaje de espermatozoides normales, la técnica de capacitado va a ayudar a mejorar la muestra, no siendo influyente el porcentaje del cual se parta (Karabinus et al., 1997). En el artículo de Zapardiel Gutiérrez et al., 2007 no obtienen diferencias significativas en cuanto a la TG según el porcentaje de formas normales, y en el de Hammadeh et al., 2001 y Prakash et al., 1998 obtienen resultados a favor de los gradientes en cuanto a mejora de la morfología tras el capacitado. En el repaso de la bibliografía que ofrece el estudio Van Waart et al., 2001 en cuanto a la morfología como predictor del éxito de las IAs, se observa que la tendencia a quedarse embarazada se ve disminuida si el porcentaje de espermatozoides es menor al 4%. Aún

así, los autores de esta revisión recomiendan que si el porcentaje de normales es inferior al 4%, pero otros parámetros son adecuados (como el número total de espermatozoides móviles inseminados, motilidad o número de folículos) no se desaconseja el uso de una IA. Si todos estos parámetros, junto con la normalidad de los espermatozoides, se ven afectados, hay que recurrir a técnicas de fecundación in vitro. Wainer et al., 2004 observan una mejora en las morfologías tras capacitar la muestra, sin embargo estos datos no les ayudaron a predecir el éxito de la IA. También observaron que cuanto menor es el porcentaje de espermatozoides normales, mayor debe ser el número total de espermatozoides móviles inseminados. En nuestro trabajo analizamos la morfología mediante el ISAS (Integrated Semen Analysis System). Este sistema permite evaluar los parámetros morfológicos de los espermatozoides de forma objetiva (Soler et al., 2005); en el estudio de Soler et al. obtienen en muestras para IA una correlación negativa entre las TG y las cabezas grandes, recomendando su exclusión de esta técnica puesto que estos espermatozoides pueden tener problemas en la condensación de su cromatina.

Para analizar y justificar el uso de los Gradientes hemos utilizado dos técnicas para valorar la madurez espermática y la fragmentación del ADN, que son el Azul de Anilina y el Naranja de Acridina. El Azul de Anilina nos permite detectar un tipo de proteínas, presentes en el DNA del espermatozoide, las histonas, que durante la espermiogénesis deben sustituirse por protaminas (otro tipo de proteínas más compactas y densas), por lo tanto, aquellos espermatozoides azules tras la tinción lo son porque no han madurado correctamente (Golan et al., 1997; Kazerooni et al., 2009). Comparamos el porcentaje de espermatozoides maduros obtenidos tras capacitar con Swim-Up y con Gradientes, obteniendo diferencias estadísticamente significativas a favor de los Gradientes (p\_valor 0,014). Esto quiere decir que los Gradientes seleccionan una mayor cantidad de espermatozoides maduros, debido a que al tratarse de una separación por diferencia de densidades, los espermatozoides más densos, es decir los que han sustituido sus histonas por protaminas, son los que se separan de los menos densos y los que son seleccionados para la Inseminación. En otros artículos como Kim et al., 2013 se

correlaciona la condensación anormal de la cromatina detectada con el Azul de Anilina, con la morfología espermática, o en el de Alkhayal et al., 2013 que subraya el hecho de que pacientes infértiles con parámetros seminales normales pueden tener problemas en la cromatina de sus espermatozoides. Pese a todo esto, un dato curioso obtenido en nuestro estudio fue que las mujeres embarazadas no fueron inseminadas con un mayor porcentaje de espermatozoides maduros que las no embarazadas, lo cual nos indica que la madurez no es un factor clave a la hora de conseguir un embarazo; haría falta incrementar el número de muestras a evaluar para asegurar que no hay un sesgo.

El daño en el DNA de los espermatozoides puede ocurrir debido a 3 mecanismos: defectos en la condensación de la cromatina durante la espermiogénesis, inicio temprano de la apoptosis, o estrés oxidativo debido a la presencia de ROS (Duran et al., 2002). En un estudio reciente de 2012 (Jayaraman et al., 2012) se analizaron diferentes técnicas de capacitado en su capacidad para seleccionar espermatozoides no apoptóticos, y obtuvieron resultados similares para las técnicas empleadas, concluyendo que eran todas capaces de seleccionar espermatozoides no apoptóticos. La técnica del Naranja de Acridina marca en verde los espermatozoides con el DNA intacto, mientras que los que poseen fragmentación, su color vira a naranja-rojo (Cortés-Gutiérrez et al., 2007; Eggert-Kruse et al., 1996; Golan et al., 1997). En nuestros resultados obtenemos que con Gradientes se logra mejorar las muestras que poseen mayor porcentaje de espermatozoides con ADN fragmentado, con un p\_valor de 0,012. Además en este caso si que parece ser que las mujeres embarazadas fueron inseminadas con mayor número de espermatozoides con el ADN sin fragmentar, lo cual nos permite poder relacionar los Gradientes con el aumento de gestaciones que ha experimentado la Unidad de Reproducción de nuestro Hospital. En el trabajo de Liu y Baker, 2007, en el que analizan la integridad del ADN de los espermatozoides unidos a la Zona Pelúcida (ZP) del ovocito, obtienen que los espermatozoides unidos a la ZP son los que mayor porcentaje de ADN normal poseen (en torno al 90%); además, pacientes con una proporción muy baja de espermatozoides con DNA normal, son los pocos que puedan ser normales los que consiguen unirse a la ZP, actuando ésta

como barrera selectiva de espermatozoides. En otros estudios (Cortés-Gutiérrez et al., 2007; Duran et al., 2002) no obtienen embarazos en muestras con más de un 12% de fragmentación de la muestra.

Sin embargo, en el trabajo de Calderón-Mendoza et al., 2012 en el que comparan la mejora de las muestras espermáticas en cuanto a fragmentación del ADN usando las mismas técnicas de capacitación que en nuestro estudio, obtienen que tanto el Swim-Up como los Gradientes de Isolate mejoran las muestras, sin encontrar diferencias significativas entre ambas. Además, otro trabajo (Zini et al., 2000), encuentra mejores resultados en cuanto a fragmentación de DNA en las muestras procesadas mediante Swim-Up (cabe mencionar que utilizaron gradientes Percoll y no Isolate como en nuestro caso).

Del estudio de los tiempos podemos deducir que, cuanto menos tiempo pase la muestra en el laboratorio, más beneficiada resultará la pareja a la hora de conseguir el embarazo, siendo el TTPM el valor que más fuerza tiene a la hora de relacionarse con la tasa de gestación; el tiempo de IA, resultó estar cercano a la significatividad, lo cual nos incitó a analizar este tiempo por separado en las dos técnicas, y obtuvimos un p\_valor de 0,016 en Swim-Up y de 0,33 en Gradientes, por lo tanto podemos deducir que el tiempo que pasa la muestra esperando después de procesar parece ser más importante cuando se realiza la primera técnica. Además, con nuestros datos pudimos observar que con los Gradientes el tiempo medio de procesado de la muestra es menor en comparación con el Swim-Up.

### CONCLUSIÓN

En este proyecto pretendíamos evaluar dos técnicas de capacitación espermática y plantearnos, en base a los resultados, modificar la metodología de trabajo en nuestro laboratorio. Obtuvimos más embarazos utilizando la técnica de Gradientes que con la de Swim-Up, sin embargo, pese a no ser resultados estadísticamente significativos, nuestras tinciones empleadas para detectar madurez espermática y fragmentación de DNA (Azul de Anilina y Naranja de Acridina respectivamente) indican que los Gradientes funcionan mejor a la hora de seleccionar los mejores espermatozoides, lo cual puede

estar relacionado con el aumento de la tasa de gestación. El tiempo fue otro factor que consideramos analizar. Cuanto menos tiempo pase la muestra en el laboratorio, mejor para lograr una gestación, y la técnica que permitió una capacitación más rápida fueron los Gradientes. Independientemente y entre los factores clínicos a destacar según importancia, las mujeres de menor edad se ven favorecidas a la hora de quedar gestantes con esta técnica de Reproducción Asistida. Para finalizar, cabe mencionar que lo más importante es optimizar el trabajo en el laboratorio para lograr mejores resultados, adecuando los protocolos de trabajo dependiendo de las técnicas realizadas.

### BIBLIOGRAFÍA

Alkhayal A, San Gabriel M, Zeidan K, Alrabeeah K, Noel D, McGraw R, et al. Sperm DNA and chromatin integrity in semen samples used for intrauterine insemination. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2013; vol. 30, 11:1519-1524.

Brzechffa PR, Daneshmand S, Buyalos RP. Sequential clomiphene citrate and human menopausal gonadotrophin with intrauterine insemination: the effect of patient age on clinical outcome. *Human Reproduction (Oxford, England)* 1998; vol. 13, 8:2110-2114.

Calderón-Mendoza L, Vivas-Ramírez C, De los Reyes L. Evaluación de las técnicas de capacitación espermática y su efecto en la fragmentación del ADN. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología* 2012; vol. 63, no. 2.

Cortés-Gutiérrez E, Dávila-Rodríguez M, López-Fernández C, Fernández J, Gosálvez J. Evaluación del daño en el DNA espermático. *Actas Urológicas Españolas* 2007; vol. 31, 2:120-131.

Dodson WC, Moessner J, Miller J, Legro RS, Gnatuk CL. A randomized comparison of the methods of sperm preparation for intrauterine insemination. *Fertility and Sterility* 1998; vol. 70, 3:574-575.

Duran EH, Morshedi M, Taylor S, Oehninger S. Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome: a prospective cohort study. *Human Reproduction (Oxford, England)* 2002; vol. 17, 12:3122-3128.

Eggert-Kruse W, Rohr G, Kerbel H, Schwalbach B, Demirakca T, Klinga K, et al. The Acridine Orange

test: a clinically relevant screening method for sperm quality during infertility investigation? *Human Reproduction (Oxford, England)* 1996; vol. 11, 4:784-789.

Golan R, Shochat L, Weissenberg R, Soffer Y, Marcus Z, Oschry Y, et al. Evaluation of chromatin condensation in human spermatozoa: a flow cytometric assay using acridine orange staining. *Molecular Human Reproduction* 1997; vol. 3, 1:47-54.

Hammadeh M, Kühnen A, Amer A, Rosenbaum P, Schmidt W. Comparison of sperm preparation methods: effect on chromatin and morphology recovery rates and their consequences on the clinical outcome after in vitro fertilization embryo transfer. *International Journal of Andrology* 2001; vol. 24, 6:360-368.

Jayaraman V, Upadhy D, Narayan PK, Adiga SK. Sperm processing by swim-up and density gradient is effective in elimination of sperm with DNA damage. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2012; vol. 29, 6:557-563.

Karabinus DS, Gelety TJ. The impact of sperm morphology evaluated by strict criteria on intrauterine insemination success. *Fertility and Sterility* 1997; vol. 67, 3:536-541.

Kazerooni T, Asadi N, Jadid L, Kazerooni M, Ghanadi A, Ghaffarpasand F, et al. Evaluation of sperm's chromatin quality with acridine orange test, chromomycin A3 and aniline blue staining in couples with unexplained recurrent abortion. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2009; vol. 26, 11-12:591-596.

Kim H, Kang MJ, Kim S.A, Oh SK, Kim H, Ku S, et al. The utility of sperm DNA damage assay using toluidine blue and aniline blue staining in routine semen analysis. *Clinical and experimental reproductive medicine* 2013; vol. 40, 1:23-28.

Liu DY, Baker, HW. Human sperm bound to the zona pellucida have normal nuclear chromatin as assessed by acridine orange fluorescence. *Human Reproduction (Oxford, England)* 2007; vol. 22, 6:1597-1602.

Merviel P, Heraud MH, Grenier N, Lourdel E, Sanguinet P, Copin H. Predictive factors for pregnancy after intrauterine insemination (IUI): an analysis of 1038 cycles and a review of the literature. *Fertility and Sterility* 2010; vol. 93, 1:79-88.

Morshedi M, Duran HE, Taylor S, Oehninger S. Efficacy and pregnancy outcome of two methods of semen preparation for intrauterine insemination: a prospective randomized study. *Fertility and Sterility* 2003; vol. 79, 1625-1632.

Prakash P, Leykin L, Chen Z, Toth T, Sayegh R, Schiff I, et al. Preparation by differential gradient centrifugation is better than swim-up in selecting sperm with normal morphology (strict criteria). *Fertility and Sterility* 1998; vol. 69, 4:722-726.

Ricci G, Perticarari S, Boscolo R, Montico M, Guaschino S, Presani G. Semen preparation methods and sperm apoptosis: swim-up versus gradient-density centrifugation technique. *Fertility and Sterility* 2009; vol. 91, 2:632-638.

Soler C, Gassner P, Nieschlag E, de Montserrat J, Gutiérrez R, Sancho M, et al. Utilización del Integrated Semen Analysis System (ISAS) para el análisis morfométrico espermático humano y su significado en las técnicas de reproducción asistida. *Revista Internacional de Andrología* 2005; vol. 3, 3:112-119.

Van der Zwalmen P, Bertin-Segal G, Geerts L, Debauche C, Schoysman R. Sperm morphology and IVF pregnancy rate: comparison between Percoll gradient centrifugation and swim-up procedures. *Human Reproduction (Oxford, England)* 1991; vol. 6, 4:581-588.

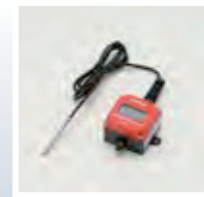
Van Waart J, Kruger TF, Lombard CJ, Ombelet W. Predictive value of normal sperm morphology in intrauterine insemination (IUI): a structured literature review. *Human Reproduction* 2001; vol. 7, 5:495-500.

Wainer R, Albert M, Dorion A, Bailly M, Bergere M, Lombroso R, et al. Influence of the number of motile spermatozoa inseminated and of their morphology on the success of intrauterine insemination. *Human Reproduction (Oxford, England)* 2004; vol. 19, 9:2060-2065.

Zapardiel Gutiérrez I, De La Fuente Valero J, Álvarez Álvarez P, Martínez-Lara A, Herrero Gámiz S. Sperm morphology, female age and hormonal levels as successful predictors in intrauterine insemination. *Revista Iberoamericana de Fertilidad* 2007; vol. 24, no. 6.

Zini A, Finelli A, Phang D, Jarvi, K. Influence of semen processing technique on human sperm DNA integrity. *Urology* 2000; vol. 56, 6:1081-1084.





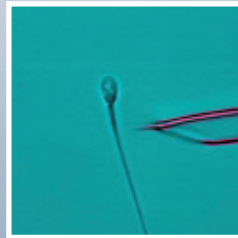
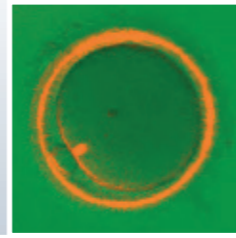
Alarma



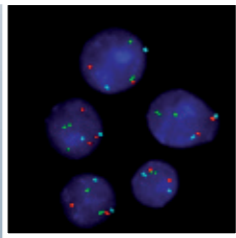
Time-lapse



Polarización



IMSI



FISH



Biopsia TFE

# EmbryoScope™

## El Sistema líder de Time-Lapse



El sistema de Time-Lapse más usado en todo el mundo

50 instalaciones en la Península Ibérica  
400 instalaciones en todo el mundo  
Más de 100.000 tratamientos

# Think Quality

## Herramientas de precisión

Sistemas de microscopía para observación y micromanipulación

## Control permanente de parámetros

Condiciones de cultivo estables en un entorno controlado

## Selección de los mejores candidatos

Evaluación de la calidad oocitaria y del espermatozoides, y selección de los mejores embriones

## Mejores decisiones

Haga un mejor análisis teniendo toda la información

# OLYMPUS

Your Vision, Our Future

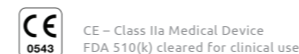
Olympus Iberia S.A.U • [informacion.micro@olympus.es](mailto:informacion.micro@olympus.es) • [www.olympus.es](http://www.olympus.es)

## Sistema de Time-Lapse EmbryoScope™:

- El único incubador de sobremesa con marcaje CE para IVD y aprobación de la FDA
- La mejor calidad de imagen
- Las herramientas de análisis más desarrolladas para asistir en la selección embrionaria y posibilidad de creación de modelos de selección propios del laboratorio
- Incremento de las tasas de embarazo superior al 10%\*
- Fiabilidad demostrada desde 2009

Más información en:

[www.fertilitech.com](http://www.fertilitech.com)  
[info@fertilitech.com](mailto:info@fertilitech.com)



\* Meseguer, M., Rubio, I. Cruz, M., Basile, N., Marcos, J. and Requena, A. (2012) "Embryo incubation and selection in a time-lapse monitoring system improves pregnancy outcome in comparison with a standard incubator; a retrospective cohort study" *Fertility & Sterility* Vol. 98 (6): 1481-1489. e 10

\* Barrie, A et al. (2013) "Treatment outcome and early pregnancy loss - a comparison of conventional and EmbryoScope® systems" *Fertility & Sterility* Vol. 100 (3): p. S248



## EPIGENÉTICA EN TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA: RAZONES Y EVIDENCIAS PARA UNA REFLEXIÓN

Ariadna Brotons <sup>1,2\*</sup>, Ana A. Fernández-Peinado <sup>1</sup>, Antonio Moya <sup>1</sup>, Paz Ibañez <sup>1</sup>, Francisco J. Vidal-Iglesias <sup>2</sup>, José Solla-Gullón <sup>2</sup>, Jesús Iniesta <sup>2</sup>

<sup>1</sup>In Vitam Centro de Medicina Reproductiva, Avenida Universidad, 24, 03202, Elche, Alicante, España.

<sup>2</sup>Instituto Universitario de Electroquímica, Universidad de Alicante, Carretera de San Vicente del Raspeig s/n, 03080, Alicante, España.

[ariadna@inivitam.es](mailto:ariadna@inivitam.es)

**Resumen:** Los procesos epigenéticos producen cambios covalentes en la cadena de ADN sin alteración en la secuencia de bases nitrogenadas. Una de las modificaciones epigenéticas más relevantes es el proceso de metilación de citosina. Este proceso es de vital importancia para mantener el silenciamiento génico en el desarrollo normal, la impronta genómica y la inactivación del cromosoma X. Así, por ejemplo, cuando se producen alteraciones en la impronta, estos pueden desencadenar enfermedades, especialmente aquellas relacionadas con defectos en el desarrollo embrionario y el proceso neoplásico. En los últimos años se ha visto que mediante el uso de técnicas de reproducción asistida (TRAs), se pueden ver aumentados los desórdenes de este tipo, motivación suficiente por la que creemos que resulta de interés un mayor conocimiento de las modificaciones epigenéticas y su relación con numerosas enfermedades y disfunciones tras el uso de TRAs, con notables consecuencias sobre el manejo, tratamiento y prevención en el futuro de enfermedades en recién nacidos. En este trabajo, se describen los mecanismos de las modificaciones epigenéticas, más concretamente la metilación de citosina, las implicaciones que tiene dicha metilación de ADN sobre disfunciones y desarrollo de enfermedades en recién nacidos, los factores implicados en TRAs causantes y/o transmisión de la metilación de ADN y, finalmente, las metodologías analíticas para la determinación del grado de metilación en ADN.

**Palabras clave:** Impronta, epigenética, metilación de citosina, ADN, FIV, ICSI

**Abstract:** Epigenetic events lead to covalent modifications at the DNA chain without mutagenic alterations in the DNA sequence. One of the most relevant epigenetic modifications corresponds to the methylation process of cytosine. The above process is of outstanding importance to keep the gene silencing of normal development, genomic imprinting and inactivation of chromosome X. Thus, for instance, when the genomic imprinting suffers alterations, it can trigger the appearance of diseases, mainly those related to defects during the embryonic development or in neoplastic processes. Over the last few years, it has been observed that via the use of assisted reproductive techniques (ARTs) a number of the above disorders and dysfunctions can be proliferated, reason enough for which we strongly demand a more profound knowledge about the epigenetic modifications and their relationships with a wide number of diseases and dysfunctions after ARTs, with notable consequences in the management, treatment and prevention of diseases in newborn babies. In this work, the authors describe the mechanisms involved in epigenetic modifications -more particularly cytosine methylation-, the implications of cytosine methylation at DNA upon dysfunctions and development of diseases in newborn babies, causal factors implicated in ARTs and/or transmission of DNA methylation and, finally, the analytical methodologies used for the determination of methylation grade in DNA.

**Key words:** Imprinting, epigenetics, DNA methylation of cytosine, IVF, ICSI

### INTRODUCCIÓN

Entre un 10 y un 15% de la población de la sociedad moderna padece problemas de esterilidad/infertilidad, por lo que cada vez son más utilizadas las técnicas de reproducción asistida (TRA), y el número de niños nacidos gracias a ellas ha aumentado. Son muchos los estudios que aseguran que, tras el empleo de estas técnicas, existe un incremento del riesgo de crecimiento intrauterino restringido, parto pretérmino (Oakes CC et al., 2007), muerte fetal intrauterina (Ziller MJ et al., 2011), alteraciones

de los cromosomas sexuales (Li JY et al., 2004), cardiopatías (Hata K et al., 2002), síndrome de Beckwith-Wiedemann (Davis TL et al., 2000) y síndrome de Angelman (Ludwig M et al., 2005), aunque también existen autores que aseguran que aún no son suficientes las evidencias que confirmen una estrecha relación de las TRA con estos dos síndromes (Li JY et al., 2004). Las posibles causas del incremento de estas patologías, en comparación con los recién nacidos procedentes de embarazos espontáneos, parecen estar asociadas a alteraciones ya existentes en los

gametos de los padres o, por otra parte, a factores directamente derivados de las TRA. A lo largo de los años las causas cromosómicas se han estudiado ampliamente, sin embargo, las modificaciones en la expresión de genes que no se encuentran en la secuencia del ADN, conocidas como modificaciones epigenéticas (herencia epigenética) han sido menos estudiadas. En este artículo intentaremos ampliar este concepto y analizar en detalle las posibles consecuencias que estas alteraciones del ADN pueden producir en los futuros niños nacidos gracias a las TRA.

### EPIGENÉTICA

Los cambios epigenéticos son modificaciones covalentes de la cadena de ADN que no originan cambios en la secuencia de bases nitrogenadas (Wolffe AP y Matzke MA, 1999). La epigenética, por ejemplo, nos permite explicar la diferencia existente entre el ser humano y el chimpancé a pesar de compartir el 99% de los genes. Los tres principales tipos de información epigenética son: modificación de histonas, metilación de la citosina e impronta genética.

### MODIFICACIÓN DE HISTONAS

Las histonas pueden ser modificadas tras la traducción, lo que cambia sus propiedades de unión al ADN y a proteínas nucleares. Estas modificaciones, que pueden ser heredadas, influyen en la expresión génica y cambian la arquitectura local de la cromatina. Entre las modificaciones covalentes más importantes que pueden sufrir las histonas encontramos la acetilación, la metilación y la fosforilación. Hoy en día parece claro que determinados patrones de modificación de histonas

conducen a determinadas patologías entre las que podrían encontrarse, además de patologías tumorales, patologías inflamatorias de localización broncopulmonar como el asma.

### METILACIÓN DE ADN

La metilación, descrita por primera vez en los años 70 (Holliday R y Pugh JE, 1975), es una modificación del ADN, en la que un grupo metilo es transferido desde la S-adenosilmetionina a una posición C-5 de citosina por una ADN-5 metiltransferasa (DNMT) (Laird PW, 2003) dando lugar a la formación de la metilcitosina (mC), como se muestra en la Figura 1.

En las células somáticas humanas, las mC constituyen el 1% del total de las bases del ADN y en la mayoría de los casos se presentan en forma de dinucleótidos -CpG-. Estos dinucleótidos no están distribuidos de forma uniforme, sino que en el 98% del genoma los CpG están presentes en un promedio de uno por cada 80 dinucleótidos, existiendo regiones de 200 pb a varias kilobases

que tienen una frecuencia cinco veces mayor de dinucleótidos CpG, llamadas "islas CpG". En general, estas islas se localizan en la región central del promotor y el sitio de inicio de la transcripción, observándose represión en la expresión del gen cuando se encuentran hipermetiladas (Rodríguez-Dorantes M et al., 2004). En los últimos años también se ha observado metilación de las citosinas en células embrionarias en dinucleótidos CpA y CpT (Lister R y Ecker JR, 2009, Ziller MJ et al., 2011).

Existen dos tipos de metilación. La primera corresponde a la metilación de mantenimiento, que añade grupos metilo a cadenas de ADN en lugares opuestos a los metilados en la cadena madre, provocando que las moléculas hijas de ADN mantengan un patrón de metilación después de la división celular. La segunda corresponde a la metilación de novo, que añade grupos metilo en posiciones totalmente nuevas, pudiendo cambiar el patrón de metilación en una región localizada del genoma.

Inicialmente se pensó que las células normales estaban sin metilar, a

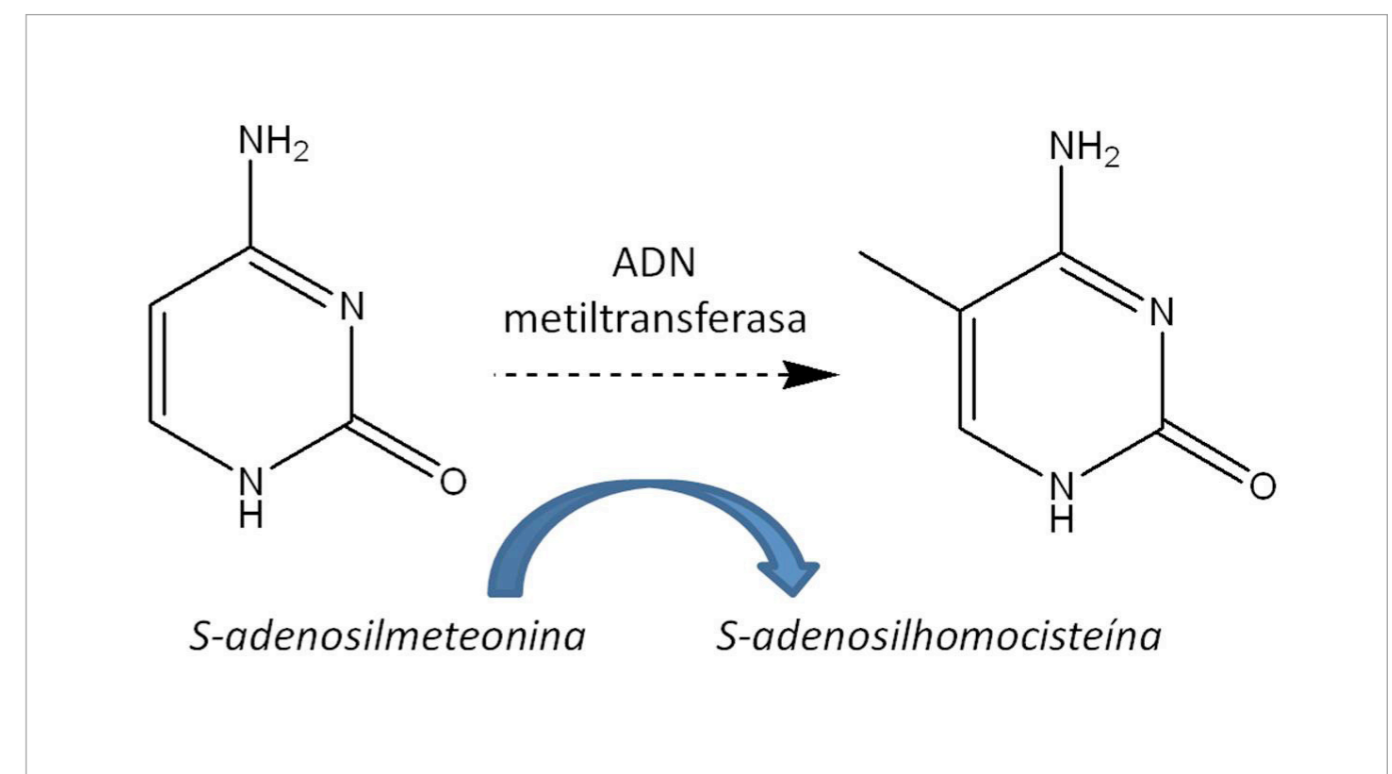


Figura 1: Proceso de metilación de la citosina.



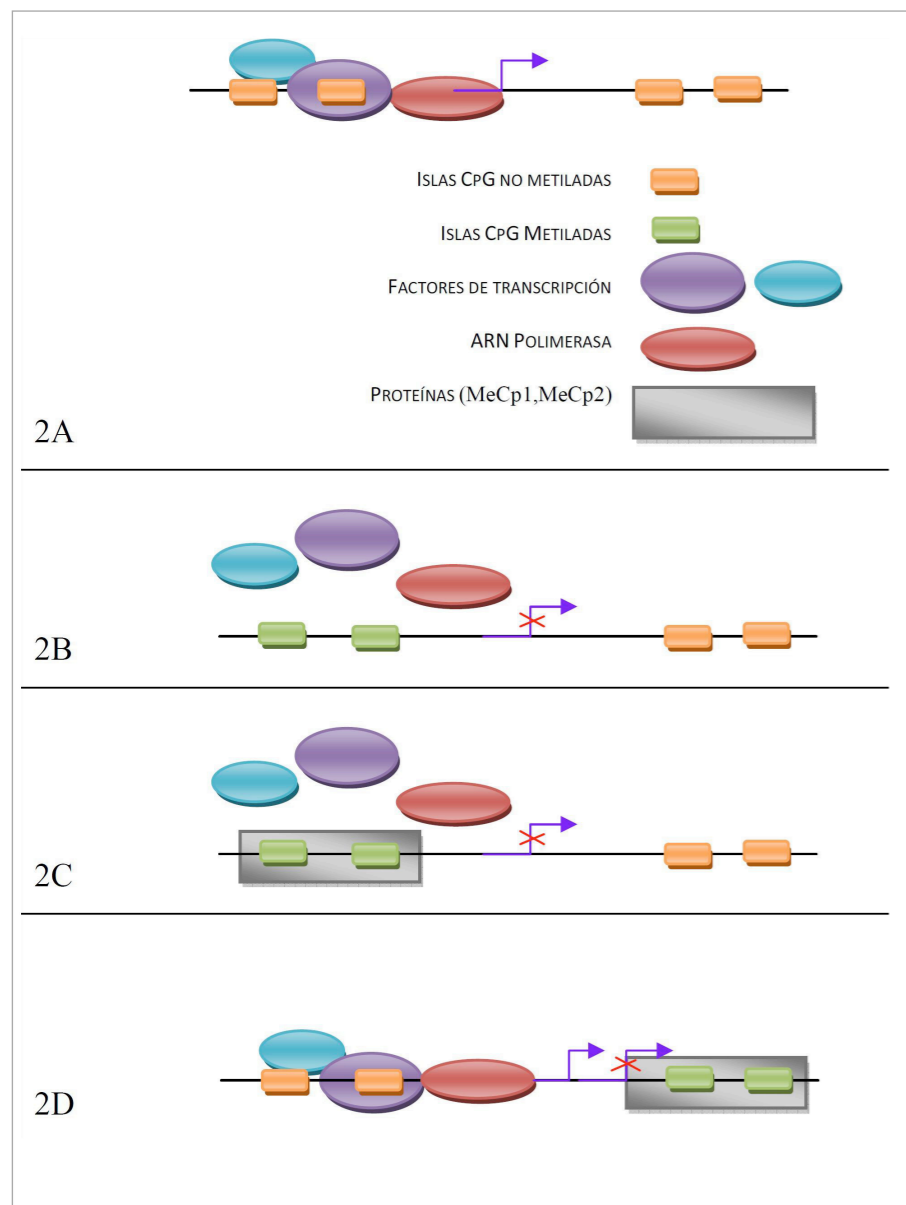


Figura 2: Inicio de la transcripción y posibles bloqueos a consecuencia de la metilación.

excepción de los genes asociados a genes improntados y genes en el cromosoma X inactivados. Actualmente, se sabe que algunos de estos islotes están metilados en células normales y que este mecanismo tiene un importante papel en la regulación de la expresión del gen. En general, un gen metilado es inactivo y los genes que se transcriben activamente poseen islotes CpG sin metilar (o hipometilados), por lo que la metilación de la citosina puede desempeñar un papel en la regulación de la expresión génica.

En genes cuyos islotes CpG no están metilados, la transcripción se inicia libremente en presencia de los

factores adecuados (Figura 2A), pero la metilación puede inactivar la transcripción por varios mecanismos: impidiendo la unión de factores de transcripción (Figura 2B), o siendo reconocidos por proteínas (MeCp1, MeCp2) que se unen bloqueando la unión de los factores de transcripción (Figura 2C) o la acción de la polimerasa (Figura 2D).

La metilación en algunas de las islas CpG en tejidos no malignos aumenta con la edad (Ahuja N et al., 1998), pero el grado de metilación en contenido total del genoma disminuye (Hoal-van Helden EG y van Helden PD, 1989). Cuando la metilación de novo se da en células somáticas adultas

(debido al envejecimiento o a procesos neoplásicos) ocurre de forma muy lenta. No obstante, se ha observado que hay patrones de metilación anormales en muchos tipos de cáncer, los cuales producen principalmente inactivación de genes supresores de tumores e inestabilidad del genoma (Bird AP y Wolffe AP, 1999). Aunque no tenemos que olvidar que los patrones de metilación son vitales para el desarrollo normal de los vertebrados (Li E et al., 1992, Okano M et al., 1999), tanto el aumento como el defecto de metilación pueden ocasionar problemas graves.

### IMPRONTA GENÉTICA

También llamada impronta genómica o gamética, se manifiesta en la minoría de genes en los mamíferos (0.1-1%). Los organismos diploides poseen dos copias de cada gen autosómico, cada uno de ellos proveniente de cada parental. La mayoría de los genes autosómicos expresan de forma simultánea ambos alelos, pero en un grupo pequeño de genes, uno de los alelos es silenciado por un proceso de imprinting (Manipalviratn S et al., 2009), es decir que los genomas maternos y paternos no son funcionalmente equivalentes en estos loci (Pérez Jurado LA, 2004). Parece ser que existe un mecanismo celular que de algún modo "marca" o deja una impronta sobre todos los genes "improntables" de acuerdo al sexo del individuo. De momento se conocen unos 80 genes improntados en los mamíferos y se han confirmado unos 40 en los humanos (Morison IM et al., 2005). Estos genes tienen funciones en el control del desarrollo embrionario placentario y en la supresión de tumores (Moll AC et al., 2003) y ya se han detectado 10 síndromes causados por errores en la impronta. (Manipalviratn S et al., 2009).

En el caso de la impronta, la metilación se establece en la línea germinal durante la gametogénesis y se mantiene sin cambios a lo largo del desarrollo embrionario y postnatal. El establecimiento de estos patrones de metilación contrastantes provoca

que, tras la fecundación, ciertos genes sean activos en uno de los cromosomas parentales, pero no en el otro. La consecuencia a nivel genético es la presencia de un único alelo para el gen improntado, lo cual tiene implicaciones clínicas cuando hay fallos en la impronta. De hecho, esta diferencia en la metilación de los pronúcleos femenino o masculino hace que sea imposible obtener cigotos a partir de los pronúcleos, ya que esto daría lugar a la ausencia de alelos activos para determinados genes (Barton SC et al., 1984).

Aunque no se conoce a fondo, se sabe que el proceso mediante el

cual estos genes adquieren impronta genómica es muy parecido al proceso de borrado y regrabación de cualquier soporte de memoria. Este proceso de regrabado es extremadamente importante, ya que las improntas han de transmitirse a la siguiente generación. Todos contamos con un juego de cromosomas con improntas procedentes del padre y otro juego de cromosomas procedentes de la madre. Pasar estos cromosomas a la siguiente generación implica reprogramar totalmente las improntas en la línea germinal para formar gametos, ya que los gametos masculinos deberán aportar únicamente improntas masculinas y para los femeninos

deberá ocurrir lo mismo. Por lo tanto, durante la formación de los gametos, habrá que hacer una limpieza de improntas del sexo contrario.

La reprogramación transcurre de la siguiente manera, de acuerdo con la

Figura 3. En primer lugar, en la línea germinal se eliminan las metilaciones parentales, que se completa durante los días 12-13 en células de ratón, tanto de hembras como de machos (Reik W y Dean W, 2001). Tras el borrado de las marcas de imprinting, se reestablecen las marcas de novo de acuerdo con el sexo. El proceso de restablecimiento comienza en las

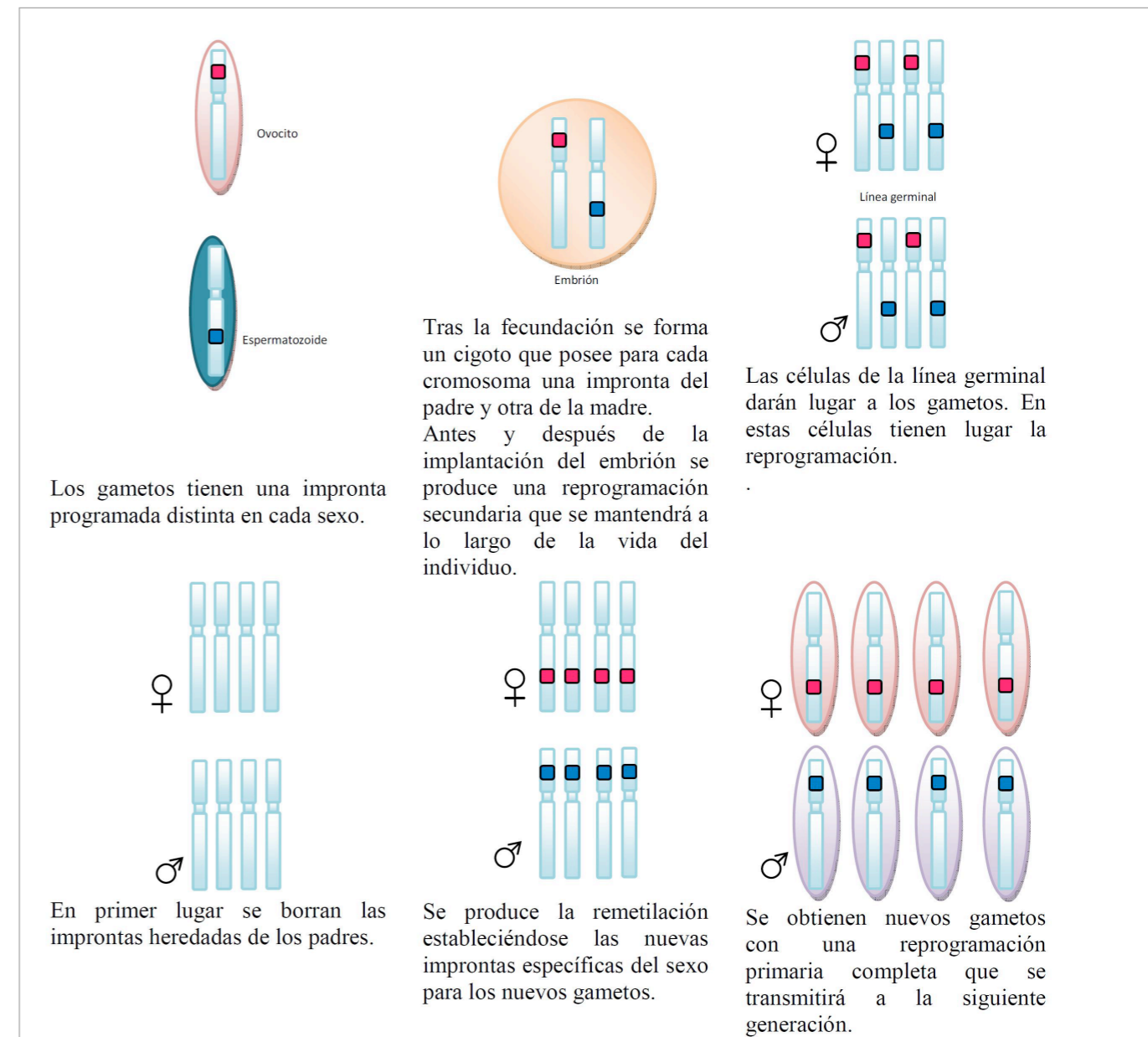


Figura 3: Herencia de la impronta genética.

líneas germinales de ambos sexos en los estadios fetales tardíos y continúa hasta el nacimiento (Thonneau P et al., 1991). En las células germinales femeninas (ovocitos), el restablecimiento del imprinting se produce durante el crecimiento y no se termina hasta la ovulación de cada ciclo menstrual, repitiéndose durante toda la vida reproductiva de la mujer (Boissonnas CC et al., 2013). En el caso de las células germinales masculinas se termina el proceso de imprinting durante la gametogénesis y durante el estadio de espermatide (De Kretser DM, 1997). En el modelo de ratón, se produce una desmetilación entre los días 8 y 13.5 post coito, provocando el borrado de todas las marcas de metilación (Hajkova P et al., 2008). La remetilación comienza antes del nacimiento (15.5-18.5 días postcoito) tanto en las hembras como en los machos, pero no se completa hasta el nacimiento (Li JY et al., 2004) Por el contrario, la metilación de novo se completa durante la fase final de maduración, justo antes o durante la ovulación de los ovocitos (Dohle GR et al., 2002, Simoni M et al., 1997).

Casi todo el conocimiento que tenemos sobre el imprinting de células germinales es en el modelo de ratón, siendo escasos los estudios en células germinales humanas. Existen dos estudios que confirman la metilación del H19 de forma diferencial entre las espermatogonias y los espermatocitos tipo I (Joana Marques C et al., 2011). Hasta ahora se ha considerado que en el modelo humano pasa algo parecido al de ratón, de modo que las marcas de metilación se deben adquirir antes de entrar en meiosis, pero no se sabe si esto ocurre durante el desarrollo fetal, en el periodo perinatal y/o durante la pubertad.

## RELACIÓN ENTRE LAS ALTERACIONES EPIGENÉTICAS Y LAS TRAS

Aunque el papel de la metilación del ADN no está totalmente entendido, sabemos que una de sus funciones principales es el control de la expresión genética y la protección del organismo frente a la expresión

de secuencias indeseadas (Havlis J y Trbusek M, 2002). Sin embargo, la hipermetilación de las islas CpG está asociada a algunas enfermedades. Por ejemplo, está asociada con la inactivación de la transcripción del gen supresor de tumores, lo cual observamos en carcinomas (Parry L y Clarke AR, 2011), leucemia (Chen J et al., 2010), cáncer de pulmón (Belinsky SA et al., 1998), tiroides (Russo D et al., 2011) páncreas (Delpu Y et al., 2011) y próstata (Donkena KV et al., 2010), entre otros muchos. También encontramos fallos de metilación en casos de esterilidad masculina (Navarro-Costa P et al., 2010, Wu W et al., 2010) y en algunos desórdenes como los síndromes Beckwith-Wiedemann y Angelman en recién nacidos concebidos mediante TRA (Maher ER et al., 2003, Owen CM y Segars JH, Jr., 2009). Esto puede ser debido a la manipulación existente en muchas de las etapas de la fecundación, incluyendo: utilización de hormonas para la estimulación ovárica, maduración in vitro de ovocitos, uso de espermatozoides inmaduros, microinyección de espermatozoides, cultivo in vitro de embriones, crioconservación de gametos y crioconservación de embriones. Cualquiera de estos procesos puede alterar el imprinting, pero debido a los problemas éticos que supone trabajar con embriones humanos, la mayor parte de los datos que se poseen provienen de modelos animales. Algunas de las evidencias existentes entre la relación de los desórdenes de la impronta y las TRA las enumeramos a continuación:

### ESTERILIDAD MASCULINA

En el caso de las causas de esterilidad masculina, durante años se han estudiado diferentes aspectos como las anomalías en el cariotipo (Dohle GR et al., 2002) y microdeleciones del cromosoma Y (Simoni M et al., 1997), pero las causas epigenéticas se han mantenido al margen en los estudios, y se desconocen aún sus consecuencias, aunque ya existen evidencias en la bibliografía que relacionan los marcadores epigenéticos y la

fertilidad masculina. En estudios realizados con ratones a los cuales se les administró un agente desmetilante (5-aza-2'-deoxycytidine), se observó una disminución en la producción de esperma, tamaño del teste, epidídimo y aumento de mortalidad neonatal (Doerksen T y Trasler JM, 1996, Kelly TLJ et al., 2003). También se han relacionado niveles altos de metilación en el ADN espermático con tasas altas de embarazo y los defectos de metilación con infertilidad (Benchaib M et al., 2005). Otros trabajos ven en las muestras de baja calidad un elevado grado de metilación en genes imprintados y no imprintados (Houshdaran S et al., 2007). Por tanto, se ha propuesto que el elevado grado de metilación se debe al borrado incompleto de las marcas de metilación en casos de oligoastenoteratozoospermia, más que debido a errores en la metilación de novo. Además, se han asociado defectos de metilación espermática con la fertilidad (Aston KI et al., 2012). Otros autores han comparado los genes H19DMR metilado y MESTDMR no metilado en espermatozoides de varones fértiles e infértiles y relacionaron una pérdida de metilación del H19 DMR con oligoastenoteratozoospermia (OTA) (Marques CJ et al., 2004). También se ha asociado la pérdida de metilación en H19, GTL2 y cambios en el patrón de metilación en PEG1, LIT1, ZAC, PEG3 y SNRPN con oligozoospermia severa (Kobayashi H et al., 2007).

### EMBRIOGÉNESIS

La embriogénesis no se puede dar de forma adecuada sin el mecanismo correcto de regulación epigenética. Se han realizado experimentos con ratón y se ha observado que se producen abortos cuando se bloquea la expresión de la metiltransferasa o se modifican las histonas (Benchaib M et al., 2005, Bourc'His D y Bestor TH, 2004, Hata K et al., 2002, Kerjean A et al., 2000, Li E et al., 1992, Okano M et al., 1999). También se ha visto que utilizando el modelo de ratón es necesaria tanto la contribución cromosómica materna como paterna para el desarrollo normal (McGrath J

y Solter D, 1984, Surani MAH et al., 1984).

### CULTIVO EMBRIONARIO

Un estudio reciente ha confirmado que los embriones de ratón en dos células tienen un grado de metilación superior a los desarrollados in vivo. En el mismo estudio se apreció un mayor grado de desmetilación en los pronúcleos masculinos de los embriones cultivados in vitro comparado con aquéllos in vivo, mientras que en los pronúcleos femeninos no se encontraron diferencias (Zaitseva I et al., 2007). Este hallazgo soporta la hipótesis de que el cultivo embrionario puede ser el responsable de la hipermetilación hallada en los embriones (Niemann H y Wrenzycki C, 2000). Otro estudio en ratones ha demostrado una expresión diferencial y un imprinting distinto en el gen H19 usando dos medios de cultivo diferentes, a pesar de que la ADN metiltransferasa y la distribución de la proteína DNMT1 era similar en ambos grupos (Doherty AS et al., 2000). Por el contrario, en otro estudio también en ratón, se muestra un grado distinto de expresión en distintos genes imprintados, incluyendo H19, IGF2, GRB10 y GRB7 en embriones cultivados in vivo, ex vivo en medio M16 y ex vivo en medio M6 mas suero bovino fetal (Khosla S et al., 2001). También se ha observado que los embriones en 2 células poseen menos alteraciones de la metilación que los blastocistos, aumentándose las aberraciones en un mayor número de genes y observándose tanto en tejido embrionario como extraembrionario (Rivera RM et al., 2008). Todos estos estudios parecen reforzar la hipótesis de que el medio de cultivo afecta a la impronta. Algunos mecanismos por los cuales los medios de cultivo pueden afectar en la impronta son: (1) fallo del movimiento de la DNMT1 hacia el interior del núcleo en el estadio correcto del desarrollo embrionario (Thompson JR y Williams CJ, 2005), (2) alteración de la expresión de la DNMT y otras proteínas que intervienen en el imprinting (Thompson JR y Williams CJ, 2005),

(3) alteración del ciclo celular en el momento de la reprogramación epigenética (De Rycke M et al., 2002, Thompson JR y Williams CJ, 2005) e (4) interacción del grupo metilo con el medio de cultivo (De Rycke M et al., 2002).

### ESTIMULACIÓN OVÁRICA

Siguiendo con el modelo en ratón, se ha observado que los embriones obtenidos de ovocitos tras estimulación hormonal presentan más alteraciones de la metilación comparados con los obtenidos sin estimulación (Shi W y Haaf T, 2002). Para evitar esto, algunos autores han propuesto el uso de la maduración in vitro de ovocitos, pero en estudios con ovocitos bovinos se han encontrado también alteraciones de la metilación tras maduración in vitro (Hiendleder S et al., 2006). El número de ovocitos estudiados es muy pequeño, pero parece que los defectos de metilación son menores cuando se utiliza esta técnica (de un estudio de 20 ovocitos, se encontraron defectos en sólo 5) (Borghol N et al., 2006).

### ABORTOS

Existen trabajos que relacionan abortos espontáneos con las mismas alteraciones de metilación que se encuentran en los espermatozoides tras la utilización de TRA (Kobayashi H et al., 2009, Kobayashi H et al., 2007).

### CONSECUENCIAS DE LAS ALTERACIONES EPIGENÉTICAS TRAS TRAS

A continuación citamos algunos síndromes que están asociados con el mayor o menor grado de metilación en genes humanos y animales y de los que se ha observado un aumento en niños nacidos tras TRA.

#### SÍNDROME DE LA CRÍA GRANDE (LARGE OFFSPRING SYNDROME)

Este síndrome se caracteriza por sobrepeso en el nacimiento, distrés respiratorio, hiperplasia de los órganos, anomalías esqueléticas, y

un aumento de muerte súbita (Young LE et al., 1998). Se relaciona con una disminución de la metilación y de la expresión del gen IGF2R, lo cual ocurre en ovejas tras TRA con cocultivo de células de la granulosa y/o suero (Young LE et al., 2001).

#### SÍNDROME DE BECKWITH-WIEDEMANN

El síndrome de Beckwith-Wiedemann es un desorden congénito que implica crecimiento exagerado hiperplasia-hipertrofica. Los primeros indicios de la enfermedad son macrosomía (elevado peso al nacer), macroglosia (lengua grande), defectos de la pared media abdominal como onfalocela (los pacientes presentan de forma típica vísceras fuera de la zona abdominal) y predisposición a cáncer embrionario (DeBaun MR et al., 2003). Este síndrome está causado por mutaciones en los genes reguladores del crecimiento situados en el cromosoma 11 (en la región 11p15.5) o por errores en impronta genómica. La zona imprintada del cromosoma 11 incluye dos subdominios: uno más centromérico que incluye en p57KIP2, LIT, TSSC3 y TSSC5 y otro más telomérico que incluye IGF2 y H19 (Lee J et al., 2002). Existen diversas publicaciones donde se confirma el aumento de casos de niños nacidos con este síndrome cuando se utilizan TRA (Gicquel C et al., 2003, Halliday J et al., 2004, Maher ER et al., 2003) (de un 1.2% de la población general a un 4% en los nacidos tras TRA (Maher ER et al., 2003)).

#### SÍNDROME DE ANGELMAN

El síndrome de Angelman se caracteriza por un retraso en el desarrollo cognitivo, una capacidad lingüística reducida o nula, escasa receptividad comunicativa, escasa coordinación motriz, con problemas de equilibrio y movimiento, ataxia, estado aparente permanentemente de alegría, con risas y sonrisas en todo momento, siendo fácilmente excitables, hipermotricidad y déficit de atención. Es un ejemplo clásico de enfermedad con herencia epigenética, dado que las mutaciones y defectos que lo causan podrían



estar implicadas en el desarrollo de la enfermedad en función de si la copia del gen alterado proviene del padre o de la madre. La zona donde se encuentran estas mutaciones está en el cromosoma 15, en el loci 15q11-q13 (Cox GF et al., 2002). Desafortunadamente, no hay datos claros sobre cuál es el aumento de este síndrome en niños nacidos por TRA, pero sí que se ha podido observar que el 20% de niños con este síndrome proceden de parejas subfértiles (Ludwig M et al., 2005).

## RETINOBLASTOMA

El retinoblastoma es un cáncer de la retina causado por una mutación en la proteína Rb, codificada por un gen supresor tumoral denominado RB1, en el cromosoma 13q14. En algunos casos este gen se silencia epigenéticamente mediante la hipermetilación del promotor situado en el exón 1 (Greger V et al., 1989). Este tumor se produce fundamentalmente en niños pequeños y representa el 3% de los cánceres en menores de quince años. Constituye la primera causa de malignidad intraocular primaria en los niños, por lo que la incidencia anual estimada es del 1-1.5% de la población; sin embargo, entre los nacidos mediante TRA esta cifra asciende y ronda el 4.9 y 7.2 %.

## DETERMINACIÓN DE LA METILACIÓN DEL ADN

La importancia en la determinación del grado de metilación del ADN ha hecho que se pongan a punto diversas técnicas con dicho fin como el Bisulfito (Frommer M et al., 1992), PCR (Kane MF et al., 1997), MSP (Methylation-specific PCR) (Herman JG et al., 1996), MS-SNuPE (methylation-sensitive single nucleotide primer extension) (Kuppuswamy MN et al., 1991), y microarrays (Adorján P et al., 2002), entre otras. Las metodologías citadas anteriormente son potentes para el estudio de la metilación del ADN pero técnicamente laboriosas, largas, poco sensibles, caras y no lo suficientemente reproducibles. En los últimos años se están desarrollando diferentes

biosensores electroquímicos (Brett AMO et al., 2000, Brotons A et al., 2013, Kato D et al., 2011) que permiten realizar diferentes ensayos más sencillos, baratos y rápidos, con el fin de implantarlos en los laboratorios de FIV con aplicaciones diagnósticas. La bibliografía en este campo es numerosa, por lo que no es el objeto de este artículo una revisión exhaustiva de las diferentes líneas de investigación sobre el uso de biosensores electroquímicos para la determinación del grado de metilación en ADN.

## CONCLUSIONES

El conocimiento de las modificaciones epigenéticas que ocurren en las enfermedades humanas es de vital importancia para abordar el tratamiento de las mismas en el futuro. Los cambios en los patrones de metilación podrán ser empleados como biomarcadores en cáncer y en reproducción asistida, entre otras enfermedades o disfunciones. El estado potencialmente reversible de este proceso constituye un blanco ideal para crear estrategias terapéuticas que impliquen la reactivación o el re-silenciamiento de genes específicos, por lo que debemos seguir investigando en este campo y desarrollando técnicas que faciliten la detección y análisis del grado de avance de dichas alteraciones.

## BIBLIOGRAFÍA

Adorján P, Distler J, Lipscher E, Model F, Müller J, Pelet C, et al. Tumour class prediction and discovery by microarray-based DNA methylation analysis. *Nucleic Acids Res* 2002; 30:e21

Ahuja N, Li Q, Mohan AL, Baylin SB y Issa JJP. Aging and DNA methylation in colorectal mucosa and cancer. *Cancer Res* 1998; 58:5489-5494

Aston KI, Punj V, Liu L y Carrell DT. Genome-wide sperm deoxyribonucleic acid methylation is altered in some men with abnormal chromatin packaging or poor in vitro fertilization embryogenesis. *Fertil Steril* 2012; 97:285-292.e284

Barton SC, Surani MAH y Norris ML. Role of paternal and maternal genomes in mouse development. *Nature* 1984; 311:374-376

Belinsky SA, Nikula KJ, Palmisano WA, Michels R, Saccomanno G, Gabrielson E, et al. Aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95:11891-11896

Benchaib M, Braun V, Ressenkoff D, Lornage J, Durand P, Niveleau A, et al. Influence of global sperm DNA methylation on IVF results. *Hum Reprod* 2005; 20:768-773

Bird AP y Wolffe AP. Methylation-induced repression—belts, braces, and chromatin. *Cell* 1999; 99:451-454

Boissonnas CC, Jouannet P y Jammes H. Epigenetic disorders and male subfertility. *Fertil Steril* 2013; 99:624-631

Borghol N, Lornage J, Blachère T, Sophie Garret A y Lefèvre A. Epigenetic status of the H19 locus in human oocytes following in vitro maturation. *Genomics* 2006; 87:417-426

Bourc'His D y Bestor TH. Meiotic catastrophe and retrotransposon reactivation in male germ cells lacking Dnmt3L. *Nature* 2004; 430:96-99

Brett AMO, Piedade JAP y Serrano SHP. Electrochemical oxidation of 8-oxoguanine. *Electroanalysis* 2000; 12:969-973

Brotons A, Mas LA, Metters JP, Banks CE y Iniesta J. Voltammetric behaviour of free DNA bases, methylcytosine and oligonucleotides at disposable screen printed graphite electrode platforms. *Analyst* 2013; 138:5239-5249

Cox GF, Bürger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, et al. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002; 71:162-164

Chen J, Odenike O y Rowley JD. Leukaemogenesis: more than mutant genes *Nat Rev Cancer* 2010; 10:23

Davis TL, Yang GJ, McCarrey JR y Bartolomei MS. The H19 methylation imprint is erased and re-established differentially on the parental alleles during male germ cell development. *Hum Mol Genet* 2000; 9:2885-2894

De Kretser DM. Male infertility. *Lancet* 1997; 349:787-790

De Rycke M, Liebaers I y Van Steirteghem A. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: Risk analysis and epigenetic inheritance. *Hum Reprod* 2002; 17:2487-2494

DeBaun MR, Niemitz EL y Feinberg AP. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet* 2003; 72:156-160

Delpu Y, Hanoun N, Lulka H, Sicard F, Selves J, Buscail L, et al. Genetic and Epigenetic Alterations in Pancreatic Carcinogenesis. *Curr Genet* 2011; 12:15-24

Doerksen T y Trasler JM. Developmental exposure of male germ cells to 5-azacytidine results in abnormal preimplantation development in rats. *Biol Reprod* 1996; 55:1155-1162

Doherty AS, Mann MRW, Tremblay KD, Bartolomei MS y Schultz RM. Differential effects of culture on imprinted H19 expression in the preimplantation mouse embryo. *Biol Reprod* 2000; 62:1526-1535

Dohle GR, Halley DJJ, Van Hemel JO, Van Den Ouwel AMW, Pieters MHEC, Weber RFA, et al. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. *Hum Reprod* 2002; 17:13-16

Donkena KV, Young CYF y Tindall DJ. Oxidative stress and DNA methylation in prostate cancer. *Obstet Gynecol* 2010; 2010:302051-302051

Frommer M, McDonald LE, Millar DS, Collis CM, Watt F, Grigg GW, et al. A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5- methylcytosine residues in individual DNA strands. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89:1827-1831

Gicquel C, Gaston V, Mandelbaum J,

Siffroi JP, Flahault A y Le Bouc Y. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCNQ10T gene [1]. *Am J Hum Genet* 2003; 72:1338-1341

Greger V, Passarge E, Hopping W, Messmer E y Horsthemke B. Epigenetic changes may contribute to the formation and spontaneous regression of retinoblastoma. *Hum Genet* 1989; 83:155-158

Hajkova P, Ancelin K, Waldmann T, Lacoste N, Lange UC, Cesari F, et al. Chromatin dynamics during epigenetic reprogramming in the mouse germ line. *Nature* 2008; 452:877-881

Halliday J, Oke K, Breheny S, Algar E y Amor DJ. Beckwith-Wiedemann syndrome and IVF: A case-control study [4]. *Am J Hum Genet* 2004; 75:526-528

Hata K, Okano M, Lei H y Li E. Dnmt3L cooperates with the Dnmt3 family of de novo DNA methyltransferases to establish maternal imprints in mice. *Development* 2002; 129:1983-1993

Havlis J y Trbusek M. 5-Methylcytosine as a marker for the monitoring of DNA methylation. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2002; 781:373-392

Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD y Baylin SB. Methylation-specific PCR: A novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; 93:9821-9826

Hiendleder S, Wirtz M, Mund C, Klempt M, Reichenbach HD, Stojkovic M, et al. Tissue-specific effects of in vitro fertilization procedures on genomic cytosine methylation levels in overgrown and normal sized bovine fetuses. *Biol Reprod* 2006; 75:17-23

Hoal-van Helden EG y van Helden PD. Age-related methylation changes in DNA may reflect the proliferative potential of organs. *Mutat Res* 1989; 219:263-266

Holliday R y Pugh JE. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Developmental clocks may depend on the enzymic modification*

of specific bases in repeated DNA sequences. *Science* 1975; 187:226-232

Houshdaran S, Cortessis VK, Siegmund K, Yang A, Laird PW y Sokol RZ. Widespread epigenetic abnormalities suggest a broad DNA methylation erasure defect in abnormal human sperm. *Plos One* 2007; 2:e1289

Joana Marques C, Pinho MJ, Carvalho F, Bièche I, Barros A y Sousa M. DNA methylation imprinting marks and DNA methyltransferase expression in human spermatogenic cell stages. *Epigenetics* 2011; 6:1354-1361

Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, et al. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997; 57:808-811

Kato D, Goto K, Fujii S-i, Takatsu A, Hirono S y Niwa O. Electrochemical DNA Methylation Detection for Enzymatically Digested CpG Oligonucleotides. *Anal Chem* 2011; 83:7595-7599

Kelly TLJ, Li E y Trasler JM. 5-Aza-2-Deoxycytidine Induces Alterations in Murine Spermatogenesis and Pregnancy Outcome. *J Androl* 2003; 24:822-830

Kerjean A, Dupont JM, Vasseur C, Le Tessier D, Cuisset L, Paldi A, et al. Establishment of the paternal methylation imprint of the human H19 and MEST/PEG1 genes during spermatogenesis. *Hum Mol Genet* 2000; 9:2183-2187

Khosla S, Dean W, Brown D, Reik W y Feil R. Culture of preimplantation mouse embryos affects fetal development and the expression of imprinted genes. *Biol Reprod* 2001; 64:918-926

Kobayashi H, Hiura H, John RM, Sato A, Otsu E, Kobayashi N, et al. DNA methylation errors at imprinted loci after assisted conception originate in the parental sperm. *Eur J Hum Genet* 2009; 17:1582-1591

Kobayashi H, Sato A, Otsu E, Hiura H, Tomatsu C, Utsunomiya T, et al. Aberrant

DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. *Hum Mol Genet* 2007; 16:2542-2551

Kuppuswamy MN, Hoffmann JW, Kasper CK, Spitzer SG, Groce SL y Bajaj SP. Single nucleotide primer extension to detect genetic diseases: Experimental application to hemophilia B (factor IX) and cystic fibrosis genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991; 88:1143-1147

Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer* 2003; 3:253-266

Lee J, Inoue K, Ono R, Ogonuki N, Kohda T, Kaneko-Ishino T, et al. Erasing genomic imprinting memory in mouse clone embryos produced from day 11.5 primordial germ cells. *Development* 2002; 129:1807-1817

Li E, Bestor TH y Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell* 1992; 69:915-926

Li JY, Lees-Murdock DJ, Xu GL y Walsh CP. Timing of establishment of paternal methylation imprints in the mouse. *Genomics* 2004; 84:952-960

Lister R y Ecker JR. Finding the fifth base: Genome-wide sequencing of cytosine methylation. *Genome Res* 2009; 19:959-966

Ludwig M, Katalinic A, Groß S, Sutcliffe A, Varon R y Horsthemke B. Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syndrome born to subfertile couples. *J Med Genet* 2005; 42:289-291

Maher ER, Afnan M y Barratt CL. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: Epigenetics, imprinting, ART and icebergs? *Hum Reprod* 2003; 18:2508-2511

Maher ER, Brueton LA, Bowdin SC, Luharia A, Cooper W, Cole TR, et al. Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART) [5]. *J Med Genet* 2003; 40:62-64

Manipalviratn S, DeCherney A y Segars J. Imprinting disorders and assisted

reproductive technology. *Fertil Steril* 2009; 91:305-315

Marques CJ, Carvalho F, Sousa M y Barros A. Genomic imprinting in disruptive spermatogenesis. *Lancet* 2004; 363:1700-1702

McGrath J y Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 1984; 37:179-183

Moll AC, Imhof SM, Cruysberg JRM, Schouten-van Meeteren AYN, Boers M y Van Leeuwen FE. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilisation. *Lancet* 2003; 361:309-310

Morison IM, Ramsay JP y Spencer HG. A census of mammalian imprinting. *Trends Genet* 2005; 21:457-465

Navarro-Costa P, Nogueira P, Carvalho M, Leal F, Cordeiro I, Calhaz-Jorge C, et al. Incorrect DNA methylation of the DAZL promoter CpG island associates with defective human sperm(dagger). *Hum Reprod* 2010; 25:2647-2654

Niemann H y Wrenzycki C. Alterations of expression of developmentally important genes in preimplantation bovine embryos by in vitro culture conditions: Implications for subsequent development. *Theriogenology* 2000; 53:21-34

Oakes CC, La Salle S, Smiraglia DJ, Robaire B y Trasler JM. Developmental acquisition of genome-wide DNA methylation occurs prior to meiosis in male germ cells. *Dev Biol* 2007; 307:368-379

Okano M, Bell DW, Haber DA y Li E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* 1999; 99:247-257

Owen CM y Segars JH, Jr. Imprinting Disorders and Assisted Reproductive Technology. *Semin Reprod Med* 2009; 27:417-428

Parry L y Clarke AR. The Roles of the Methyl-CpG Binding Proteins in Cancer. *Genes cancer* 2011; 2:618-630

Pérez Jurado LA. Genomic imprinting and endocrinology. *Impronta genómica y endocrinología* 2004; 60:49-54

Reik W y Dean W. DNA methylation and mammalian epigenetics. *Electrophoresis* 2001; 22:2838-2843

Rivera RM, Stein P, Weaver JR, Mager J, Schultz RM y Bartolomei MS. Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development. *Hum Mol Genet* 2008; 17:1-14

Rodríguez-Dorantes M, Téllez-Ascencio N, Cerbón MA, Lez M y Cervantes A. DNA methylation: An epigenetic process of medical importance. *Rev Invest Clin*. 2004; 56:56-71

Russo D, Damante G, Puxeddu E, Durante C y Filetti S. Epigenetics of thyroid cancer and novel therapeutic targets. *J Mol Endocrinol* 2011; 46:R73-R81

Shi W y Haaf T. Aberrant methylation patterns at the two-cell stage as an indicator of early developmental failure. *Mol Reprod Dev* 2002; 63:329-334

Simoni M, Gromoll J, Dworniczak B, Rolf C, Abshagen K, Kamischke A, et al. Screening for deletions of the Y chromosome involving the DAZ (Deleted in AZoospermia) gene in azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril* 1997; 67:542-547

Surani MAH, Barton SC y Norris ML. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 1984; 308:548-550

Thompson JR y Williams CJ. Genomic imprinting and assisted reproductive technology: Connections and potential risks. *Semin Reprod Med* 2005; 23:285-295

Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1 850 000) of three French regions (1988-1989). *Hum Reprod* 1991; 6:811-816

Wolffe AP y Matzke MA. Epigenetics: Regulation through repression. *Science* 1999; 286:481-486

Wu W, Shen O, Qin Y, Niu X, Lu C, Xia Y, et al. Idiopathic Male Infertility Is Strongly Associated with Aberrant Promoter Methylation of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR). *Plos One* 2010; 5:e13884

Young LE, Fernandes K, McEvoy TG, Butterwith SC, Gutierrez CG, Carolan C, et al. Epigenetic change in IGF2R is associated with fetal overgrowth after sheep embryo culture. *Nat Genet* 2001; 27:153-154

Young LE, Sinclair KD y Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Reprod* 1998; 3:155-163

Zaitseva I, Zaitsev S, Alenina N, Bader M y Krivokharchenko A. Dynamics of DNA-demethylation in early mouse and rat embryos developed in vivo and in vitro. *Mol Reprod Dev* 2007; 74:1255-1261

Ziller MJ, Müller F, Liao J, Zhang Y, Gu H, Bock C, et al. Genomic distribution and Inter-Sample variation of Non-CpG

methylation across human cell types. *PLoS Genetics* 2011; 7:e1002389

# EmbryoGen®

The first medium with rhGM-CSF cytokine

- A new IVF medium for cleavage-stage embryos containing a naturally occurring cytokine
- Supports the natural mother-embryo communication
- A novel treatment option for some of the most challenged patients



origio

a CooperSurgical Company



## 30 AÑOS DESDE EL PRIMER BEBÉ FIV EN ESPAÑA

Anna Veiga Lluch (Primera presidenta y socia de Honor de ASEBIR)  
Institut Universitari Dexeus, Barcelona

El 12 de julio de 1984 nació en el Institut Universitari Dexeus de Barcelona, Victoria Anna Perea Sánchez, el primer bebé conseguido mediante Fecundación

o para posponer la maternidad en mujeres jóvenes. Las tasas de embarazo actuales se sitúan en torno al 40% y se calcula que entre un 2 y un 5% de los



in vitro (FIV) en España. Hoy en día, se ha normalizado el uso de esta técnica para resolver problemas de fertilidad de distintos orígenes y se ha ampliado su uso para indicaciones como la preservación de la fertilidad ligada a enfermedades neoplásicas

nacimientos en los países desarrollados se obtiene mediante FIV, con más de 5 millones de niños nacidos en el mundo gracias a esta técnica.

La FIV se ha complementado a lo largo de los años con técnicas que

permiten preservar eficazmente ovocitos y embriones, destacando la vitrificación como técnica de elección. La metodología en el laboratorio de FIV se ha estandarizado y se dispone actualmente de instrumental altamente perfeccionado y de protocolos normalizados para el cultivo de gametos y embriones. La selección del embrión con mayor capacidad de implantación y la transferencia de un embrión único es la vía a seguir para disminuir la tasa de embarazo múltiple sin reducir la de embarazo evolutivo.

El diagnóstico genético preimplantacional permite la selección de embriones tanto para enfermedades monogénicas como para mejorar las tasas de éxito en pacientes de FIV con mal pronóstico. Parece que la biopsia en estadio de blastocisto y el análisis mediante *new generation sequencing* (NGS) representan la metodología a seguir para conseguir la optimización de los resultados.

Sociedades científicas como ASEBIR que fundamos unos pocos colegas entusiastas hace ahora 21 años se ha consolidado como la sociedad de referencia para los embriólogos clínicos y todos los que desarrollan su profesión en torno a la biología de la reproducción. ASEBIR juega un papel indispensable en la actividad que se lleva a cabo en Técnicas de Reproducción Asistida.

El nacimiento de un bebé sano es la finalidad única de los tratamientos que se llevan a cabo en los centros de Reproducción Asistida y debemos continuar mejorando nuestros resultados para conseguirlo. Victoria Anna abrió el camino, tan solo 30 años atrás!



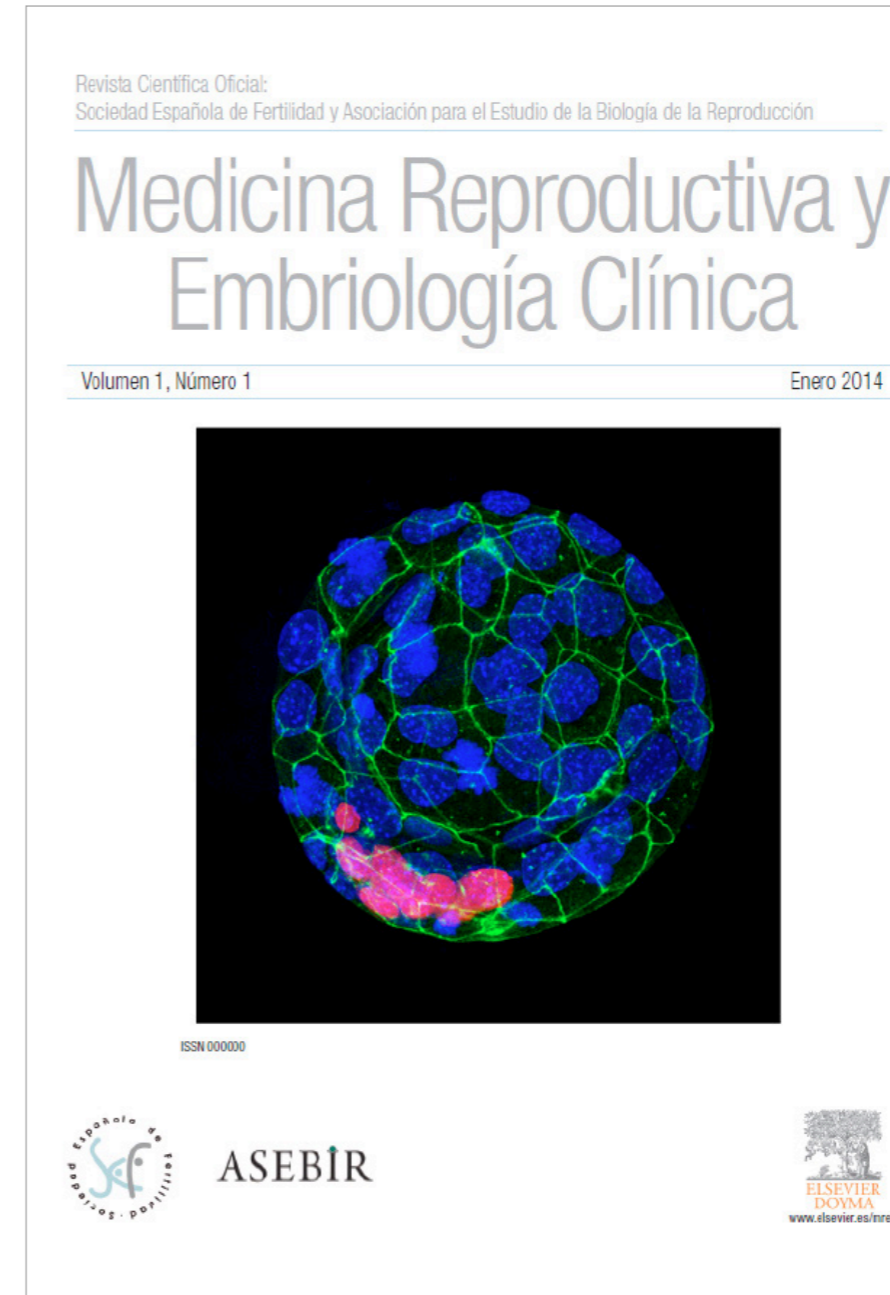
## NUEVA REVISTA MEDRE

Josep Santalò Pedro<sup>1</sup>, Eleuterio Hernandez<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>UAB, Bellaterra, Barcelona;  
<sup>2</sup>FIV Madrid-Madrid  
Presidentes del Comité Editorial Revista MEDRE

Estimados amigos, como Presidentes del Comité Editorial nos gustaría daros la bienvenida a la nueva revista que vamos a compartir los

de estos dos ámbitos del conocimiento surgió el nombre de la revista: Medicina Reproductiva y Embriología Clínica cuyo acrónimo propuesto por Elsevier

determinación y voluntad férrea de las juntas de ASEBIR y SEF bajo el liderazgo de Manuel Ardoy y Federico Pérez Milán, respectivamente.



MEDRE será una revista *on-line*, una característica que la hace acorde con los tiempos y con la voluntad de difusión a través de los potentes canales de comunicación que la tecnología pone a nuestra disposición. Será una publicación trimestral con artículos en Español y en Inglés, abierta a todos los profesionales que trabajen en el área de la reproducción clínica o básica y con una voluntad explícita de mantener unos estándares de originalidad y calidad que la conviertan en un instrumento útil para difundir el conocimiento en esta área. La revista incluirá editoriales sobre temas de actualidad o de relevancia científica, trabajos originales relacionados con cualquier aspecto de la investigación en el campo de la medicina de la reproducción y la embriología clínica, así como trabajos científicos de carácter más básico en materias relacionadas con éstas, revisiones de temas de interés general, documentos de consenso elaborados por expertos que recogen las opiniones o las guías de actuación sobre un determinado ámbito y cartas al editor que aportarán opiniones, observaciones o experiencias que, por sus características, puedan ser resumidas en un texto breve.

Finalmente lo más importante, aquello que hace de una publicación lo que en realidad es: los autores. Todos vosotros, que sin duda contribuiréis a hacer de MEDRE una revista de interés y de referencia en nuestro ámbito. Os animamos de todo corazón a que compartáis con nosotros el entusiasmo y la dedicación en este momento en que la aventura empieza, sin duda que con ellos el éxito estará asegurado.

Ginecólogos y Andrólogos relacionados con la Medicina de la Reproducción y los Embriólogos Clínicos y otros profesionales vinculados a la Biología de la Reproducción. De la conjunción

es MEDRE, un nombre que confiamos que, con el tiempo, nos sea cada vez más familiar. El llegar hasta aquí ha sido un arduo camino de negociaciones, todas superadas por la constancia,



## MANIFIESTO DE LAS SOCIEDADES CIENTÍFICAS SOBRE EL ANTEPROYECTO DE LA NUEVA LEY DEL ABORTO

ASEBIR se unió al “MANIFIESTO DE LAS SOCIEDADES CIENTÍFICAS SOBRE EL ANTEPROYECTO DE LA NUEVA LEY DEL ABORTO” emitido por la Sociedad Española de Contracepción.

ASEBIR cree que la vigente “Ley de Salud Sexual y Reproductiva e Interrupción Voluntaria del Embarazo” cumple con las necesidades actuales de la sociedad y considera que no existe una necesidad apremiante de cambiarla. Una ley más restrictiva no reducirá el número de abortos sino que para ello

se requiere una política que apoye la formación en materia de salud sexual y reproductiva y facilite el acceso a los métodos anticonceptivos eficaces y seguros.

Por todo ello y haciendo valer una vez más el valor que nos confiere la Federación de Asociaciones para el Estudio de la Reproducción que en su momento firmamos, ASEBIR, Sociedad para el Estudio de la Biología de la Reproducción manifestó su adhesión al manifiesto que desde la SEC, Sociedad Española de Contracepción

preparó en oposición al anteproyecto de la nueva ley del aborto. <http://www.asebir.com/documentos/archivos/20140123131936.PDF>

## PREMIOS FUNDACIÓN SALUD 2000

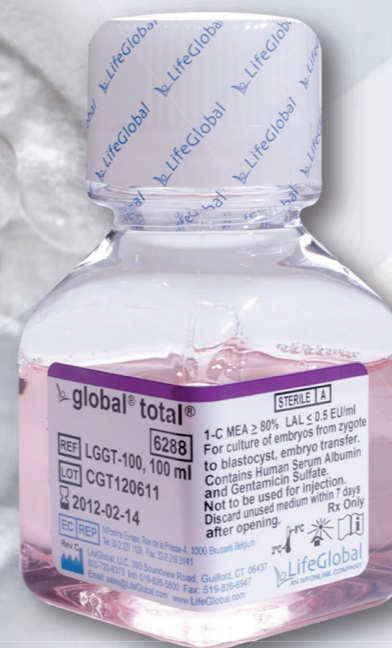
Un año más, ASEBIR ha formado parte del tribunal evaluador de los premios Fundación Salud 2000. El Área de Investigación Clínica en Fertilidad ha contado con 31 proyectos a valorar, de los cuales el jurado calificador acordó conceder por la Ayuda Merck Serono de Investigación

al proyecto “MicroRNA y Síndrome de Ovario Poliquístico – Búsqueda de biomarcadores para la mejora diagnóstica”, del que es investigador principal el Dr. Manuel Tena-Sempere del Instituto Maimónides de investigaciones Biomédica de Córdoba (IMIBIC).

El jurado ha estado compuesto por los doctores Federico Pérez Milán, Justo Callejo, Xavier Vendrell (ASEBIR), Rafael Prieto, Agustín Ballesteros, Roque Devesa y Francisco de Castro Pita.



IVFonline, LLC  
Innovation & Quality



### Global Total™ Medio Único

Ya es posible cultivar el Embrión hasta Blastocistos, sin cambio de medio. Más de 50 Estudios Clínicos publicados, a lo largo de 10 años, avalan los resultados.



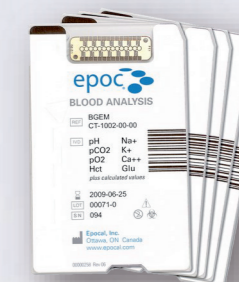
### Aceite LifeGuard Oil

Aceite de alta densidad, que permite proteger eficazmente al embrión, de los cambios de pH y Temperatura.



### Medidor de pH epoc®

- Equipo portátil para la medición del pH
- Calibración automática interna
- No requiere buffers de calibración
- Resultados de la medición en 30 segundos
- Batería interna recargable
- Posibilidad exportar o impresión bluetooth





## VOCALÍA DE DOCENCIA Y FORMACIÓN

Francisco Javier Vendrell Montón<sup>1</sup>, José Luis de Pablo Franco<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>SISTEMAS GENÓMICOS, S. L., Sueca, Valencia; <sup>2</sup>Clínica Quirón, Bilbao  
 Vocalía de Docencia y Formación ASEBIR

Uno de los objetivos de ASEBIR es ofrecer a los socios una oferta formativa adecuada. La motivación es doble, por un lado actualizar los conocimientos en algunos de los aspectos más relevantes de nuestra actividad y, por otra parte, ofrecer una formación personalizada a los miembros más jóvenes, para que puedan adquirir conocimientos específicos que les permita acceder al mercado laboral de forma competitiva. Algunos de los cursos son reediciones de años anteriores por el interés mostrado por los asociados o las altas valoraciones expresadas por los asistentes en las encuestas de satisfacción. Otros son de nueva edición y esperamos que cumplan con las expectativas.

Desde el punto de vista docente, ASEBIR realiza cursos propios teóricos o prácticos promovidos por los grupos de interés (GGII) ASEBIR y otros en colaboración con entidades externas y bajo la supervisión de los mismos.

ASEBIR cuenta con el Aula EMB-ASEBIR (<http://www.aulaembasebir.ccmiju.com/>) que representa un espacio particular dentro del Centro de Cirugía de Mínima Invasión "Jesús Usón" (CCMIJU). Este espacio reproduce las instalaciones de un laboratorio de embriología moderno. En esta aula ofrecemos cursos fundamentalmente prácticos (Practicum) ya sean básicos o avanzados y en ellos los alumnos tienen acceso directo a la tecnología más puntera. Este año 2014 reeditamos los practicum de ICSI y Assited Hatching, vitrificación y embriología clínica, y el curso teórico-práctico de congelación seminal. El grupo de interés (GI) de Genética y Reproducción reedita el curso de "aplicaciones de la Genética en Reproducción Asistida" en formato on-line y el GI de Embriología reedita el curso presencial de "actualización de la clasificación embrionaria" que tuvo gran éxito en la pasada edición.

Finalmente, ASEBIR colabora con otras entidades en iniciativas que pueden tener

un valor especial para nuestra asociación. En este sentido, este año se convocan dos cursos dirigidos a la aplicación de la nueva norma UNE ISO179007 diseñada especialmente para su implantación en los laboratorios de reproducción asistida. Los cursos se editan en formato presencial y on-line en colaboración con Ingecal y Ceifer calidad, respectivamente.

Desde la vocalía de formación y docencia estamos especialmente interesados en la promoción de la formación on-line. ASEBIR cuenta con una plataforma de e-learning especialmente diseñada para este fin. Esta modalidad nos permite una mejor adaptabilidad al horario de cada uno, considerando que es complicado cuadrar la carga diaria de trabajo con la formación. Por último, es importante destacar el papel de los GGII en la organización de los diferentes cursos. Desde la vocalía pensamos que los grupos de interés son claves en el manejo del conocimiento en los diferentes aspectos de nuestra especialidad. Tenemos la suerte de contar con grandes expertos y animamos a proponer nuevas acciones formativas.

Esperamos que esta oferta se adapte a las necesidades de los socios y miembros de otras sociedades afines, y que cumplan con el objetivo último de transmitir el conocimiento y ayudar a la actualización en nuestro campo de trabajo.

## CALENDARIO DE CURSOS DE FORMACIÓN ASEBIR 2014

### CURSOS PRÁCTICOS PRESENCIALES

#### III PRÁCTICUM ASEBIR DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA

**Director:** Laura Marqués  
**Fechas:** 14-15 Noviembre  
**Sede:** Centro de Cirugía de Mínima Invasión, Carretera Madrid-Trujillo, Km.41,8 - 10071 Cáceres)  
**Aforo:** limitado a 12 alumnos

### CURSOS TEÓRICOS PRESENCIALES

#### BIOPSIA EMBRIONARIA Y PROCESADO CELULAR

**Director:** Esther Velilla  
**Fechas:** 2-3 Octubre  
**Sede:** Aula EMB-ASEBIR Cáceres  
**Aforo:** Sin definir

#### ACTUALIZACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA

**Directores:** M<sup>a</sup> Victoria Hurtado de Mendoza y Fernando Cuadros  
**Fechas:** 3 Noviembre  
**Sede:** Auditorio Salud de la Mujer Dexeus, Barcelona  
**Aforo:** limitado a 35 alumnos

### CURSOS ON LINE

#### APLICACIONES DE LA GENÉTICA EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA. II EDICIÓN.

**Director:** Xavier Vendrell  
**Fechas:** Septiembre - Diciembre

#### LA NORMA UNE 179007 Y SU IMPLANTACIÓN EN LABORATORIOS DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA. II EDICIÓN

**Organizan:** Ceifer Calidad en colaboración con ASEBIR  
**Fechas:** Septiembre-Noviembre

## CALENDARIO CONGRESOS

**ASRM 2014**  
[www.asrm.org/ASRM2014/](http://www.asrm.org/ASRM2014/)  
 Honolulu (Hawaii) 18-22 Octubre 2014

**ANDRO 2014**  
[www.andro2014.com](http://www.andro2014.com)  
 Riviera Maya (México) 9-14 Diciembre 2014

**ASEBIR 2015**  
 San Sebastián 18-20 Noviembre 2015

**SEF 2016**  
 Málaga 19-21 Mayo 2016

REVISTA DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA Y BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

[www.asebir.com](http://www.asebir.com)

# ASEBIR

UNA APUESTA POR LA CALIDAD