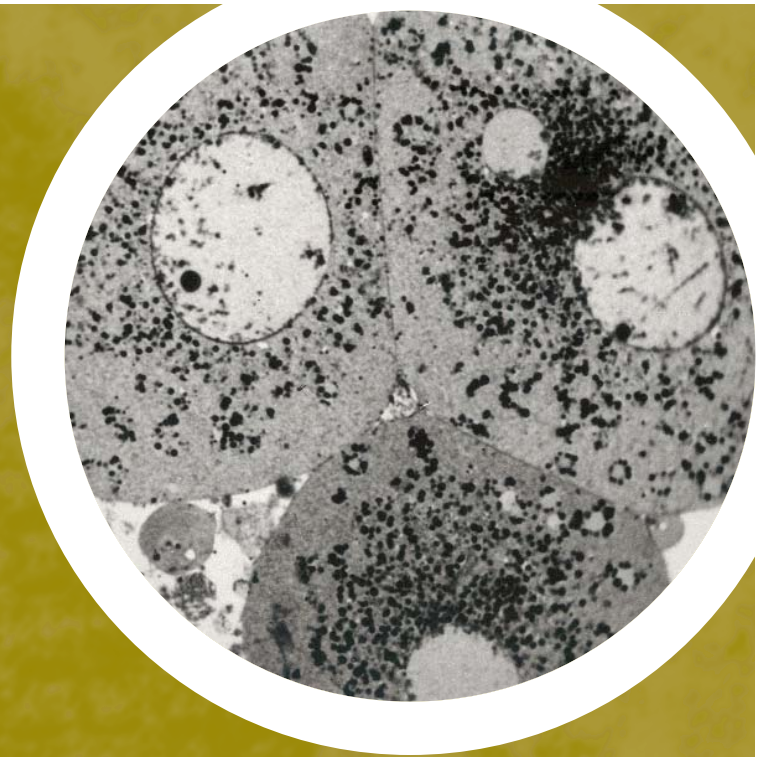


REVISTA

ASEBIR



ACTUALIDAD

La Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida

ARTICULOS

Cariotipo 47, XY, + Mar e implicaciones en la esterilidad masculina

Reducción de la variabilidad interobservador en la evaluación embrionaria tras sesión de consenso entre expertos

AULA JOVEN

Valoración de los resultados del programa de FIV/ICSI tras la reforma del laboratorio

FORMACIÓN CONTINUADA

Características Morfológicas y Ultraestructurales de cigotos y embriones anormales tras FIV / ICSI

NUEVOS ESTATUTOS ASEBIR / NOTICIAS / AGENDA / BOLETÍN DE INSCRIPCIÓN

IrvineScientific: VIT-KIT FREEZE / VIT-KIT THAW

Un mismo kit para la VITRIFICACIÓN de oocitos, embriones y blastocitos

PROCESO DE VITRIFICACION:



Solución de Equilibrio

Solución de Vitrificación

Embriones desvitrificados: división en día +4

PACIENTE 1



PACIENTE 2



** Imágenes cedidas por CREA (Valencia)



PROCESO	MEDIOS	MEDIOS CON PROTEINA	CRIOPRESERVACIÓN
Recuperación de oocitos	mHTF		Vit-kit Freeze / Vit-kit Thaw
Preparación de semen	mHTF	Sperm Washing Medium Isolate	Freezing M.-Test Yolk Buffer Refrigeration M.-Test Yolk Buffer
Preincubación de gametos	HTF P-1 / ECM	- Complete P-1 / Complete ECM	
Fertilización, y cultivo D1-D3	HTF P-1 / ECM SSM	- Complete P-1 / Complete ECM -	Vit-kit Freeze / Vit-kit Thaw Embryo Freeze / Embryo thaw
Cultivo D3-D6	MBM SSM	Complete MBM -	Vit-kit Freeze / Vit-kit Thaw Blastocyst Freeze / Blastocyst Thaw
ICSI	mHTF	PVP	
PGD	Tyrode's	Embryo Biopsy Medium	

SSM: SINGLE STEP MEDIUM

IZASA, S.A.
C/ Aragó 90
Barcelona 080015

Consultas: irvine@izasa.es
DAC: 902.20.30.70

ASEBIR

SUMARIO

SUMARIO Pág.

EDITORIAL 3

Mark Grossmann i Camps y M. Victoria Hurtado de Mendoza y Acosta.

ACTUALIDAD 4

La Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.
Javier Rey del Castillo

ARTÍCULOS 8

Cariotipo 47, XY, + Mar e implicaciones en la esterilidad masculina.
Dorado, M; Rodríguez, A; Hebles, M; Sánchez, P; Migueles, B;
González, M; Aguilera, L; Cruz, N; Sánchez, F.

Reducción de la variabilidad interobservador en la evaluación embrionaria tras sesión de consenso entre expertos.

Ruiz de Assín, R; Gonzalvo, M^a del Carmen; Clavero, A; Zamora, S;
Fernández, A; Roldán, M; Rabelo, B; Ramírez, Juan Pablo;
Moreno, Juan Manuel; Castilla, Jose Antonio.

AULA JOVEN 15

Valoración de los resultados del programa de FIV/ICSI tras la reforma del laboratorio.

Fernández Reig, M; Hugas, M; Carrera Rotllan, J; Sarquella-Ventura, J.

DEBATE 19

¿Y ahora que?

Antonio Urries López. Reproducción Asistida Quirón Zaragoza.

Un biólogo acreditado.

Esther Fernández García. ESHRE Senior Clinical Embryologist.

Certificación de Embriología Clínica de la ESHRE.

Joan Sarquella i Ventura. ESHRE Senior Clinical Embryologist.

¿Cuál es vuestra opinión acerca del procedimiento y criterios de Certificación en Embriología Clínica puesto en marcha por la ESHRE?

Manuel Ardoy.

¿Cuál es vuestra opinión acerca del procedimiento y criterios de Certificación en Embriología Clínica puesto en marcha por la ESHRE?

Antonio L. González Utor. Cehispra. Sevilla.

FORMACIÓN CONTINUADA 27

Características Morfológicas y Ultraestructurales de cigotos y embriones anormales tras FIV / ICSI.

M.Boada y M. Ponsá.

NUEVOS ESTATUTOS ASEBIR 39

NOTICIAS 45

AGENDA 46

BOLETÍN DE INSCRIPCIÓN 48

FE DE ERRATAS:

En el número anterior, el volumen de publicación era el 13 en vez del 14 como apareció impreso.

Diciembre 2008 Vol. 13 • N°2

EDITA

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

JUNTA DIRECTIVA

Presidente: Mark Grossmann i Camps.

Vicepresidenta: M^a Victoria Hurtado de Mendoza.

Secretaría: Nieves Cremades Fernández

Tesorero: Manuel Ardoy Vilches

Vocalía de Docencia y Formación: Jorge Martín Cuadros Fernández, Montserrat Boada Palá.

Vocalía del Sitio Web: Jorge Ten Morro, Fernando Marina Rugero.

Vocalía de Publicaciones: María Bonada Sanjaume, Antonio Urries López.

Vocalía de Congresos: M^a José de los Santos Molina, Begoña Arán Corbella, Nieves Cremades Fernández.

Vocalía de Relaciones Públicas: Fernando Marina Rugero, Jorge Ten Morro.

COORDINACIÓN

María Bonada Sanjaume,
Antonio Urries López.

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, MAQUETACIÓN E IMPRESIÓN

GÓBALO

Gráfica · Web · Multimedia · Consultoría

C/ Nogal 1, 1º Pta.31

28250 · Torreldones · Madrid

Tfno - Fax.: 91 859 57 22

www.gobalo.es · info@gobalo.es

Depósito legal: M-18873-1996

ISSN: 1136-4424

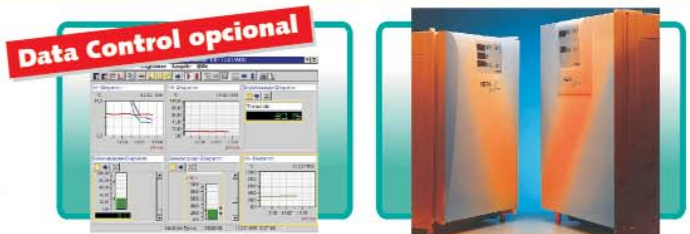
Soporte válido: 78-R-CM

Instrumentación para **FECUNDACIÓN IN VITRO**

Incubadores de CO₂:

- ✓ Volumen recinto interior: 150 / 240 litros
- ✓ Sistema patentado de esterilización automática por vapor a 90 °C **Contracon**
- ✓ Sistema de alarma del nivel de agua
- ✓ Interface RS232
- ✓ Sistema **Data Control** opcional para control de todos los parámetros de varios equipos simultáneamente

Heracell 150/240



Cabinas de flujo laminar para FIV:

- ✓ Cabinas de flujo laminar para técnicas de Fecundación In Vitro, con mesa de acero inoxidable calefactada por agua o mesa de aluminio calefactada eléctricamente
- ✓ Anchos disponibles: 90 / 120 / 150 / 180 cm
- ✓ Gran variedad de accesorios

Sterile SS / AI



Centrífugas:

- ✓ Capacidad: 4 x 400 ml / 32 x 15 ml / 20 x 25 ml / 12 x 50 ml
- ✓ Velocidad máxima: 6.000 rpm
- ✓ FCR máx.: 6.842 xg
- ✓ Disponible versión refrigerada

Multifuge 1



Autoclaves:

- ✓ Modelos verticales y horizontales
- ✓ Varias capacidades
- ✓ Generador de vapor integrado y completamente independiente de la cámara de esterilización

Systemc



Otros equipos relacionados



Controltecnica Instrumentación Científica S.L.

C/ Artesanos, 7 (Prado del Espino)

Tel. 902 431 408

BARCELONA: 93 486 46 60

VALENCIA: 679 20 85 37

LA RIOJA: 648 09 27 09

www.controltecnica.com

28660 Boadilla - Madrid

Fax. 91 729 44 54

ANDALUCÍA: 679 21 02 33

618 73 78 48

MURCIA: 686 93 68 31

SORVALL®
Heraeus

CONTROLTECNICA
instruments

GESTIONES

Cuando tengáis en vuestras manos este nuevo número de la revista ASEBIR, la Junta Directiva elegida en el congreso de Bilbao habrá traspasado el ecuador de su excepcionalmente corto mandato, de manera que ya estaremos aproximándonos al congreso de Valencia, donde tendremos nuevas elecciones, esta vez por el sistema de candidaturas cerradas. Junto a este número recibiréis una copia de los Estatutos vigentes y es importante que los releáis, ya que son muchas las modificaciones respecto del proceso electoral que seguiremos.

Nuestro congreso es el evento más relevante de nuestra sociedad y el mejor momento para explicar vivencias el sénior y para compartir sueños los *júniors*. ¡Reservad las fechas de noviembre y hagamos del congreso nuestra fiesta!

ASEBIR es hoy una sociedad consolidada que goza de muy buena salud. Por lo tanto, en un período de estabilidad no se esperan grandes cambios; y en ausencia de grandes decisiones estratégicas... toca gestión, principalmente con el Ministerio de Sanidad y Consumo.

Desde la Junta Directiva continuamos los contactos para conseguir el reconocimiento de la *embriología clínica* dentro de las especialidades sanitarias. En este capítulo no podemos comunicaros avances significativos, pero tampoco retrocesos. Seguimos y aún pensamos que los conseguiremos.

Y hacemos frente común con la Sociedad *Española de Fertilidad* para reclamar 1) que, de una vez por todas, tengamos un registro de actividad, 2) que se deje de considerar, por parte de la CNRHA, el DGP-HLA como un protocolo experimental, y también 3) que se nombre el/la representante de la Administración para la implementación del Real Decreto 1301/2006. No parece que sea tan difícil ¿verdad? Pues ahí estamos, insistiendo, y ya van dos años.

Como a menudo recibimos consultas sobre el funcionamiento o las competencias la *Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida*, solicitamos al Sr. Javier Rey, secretario de la misma, un artículo sobre el funcionamiento de la Comisión ¿quién mejor que el propio secretario para explicárnoslo?

Y si reclamamos a la Administración un registro, en justa compensación deberíamos mantener el nuestro al día. Por eso os animamos a colaborar con el Grupo de Interés en Diagnóstico Genético Preimplantacional y a comunicarles vuestros datos de DGP.

Por otra parte, seguro que ya sabéis que en 2009 organizaremos la 1a Jornada ASEBIR de formación. Estamos satisfechos de hacer realidad una de las demandas emanadas de la Asamblea General. Y estamos entusiasmados con el formato que van a tener, interactivas y dirigidas a los embriólogos *júnior*. Somos conscientes que realizar una Jornada el mismo año del congreso es un esfuerzo extra, tanto para nosotros mismos por lo que significa de desplazamientos en días de trabajo, como para las casas comerciales que nos ayudan, y a las que de nuevo agradecemos su colaboración. Esperamos que la Jornada, en sus tres ediciones, sea un éxito rotundo y prevemos organizarla en años alternos con el congreso.

Además de estas dos actividades, Jornada y Congreso, en el 2009 se celebrará el congreso ESHRE en Ámsterdam. Por segunda vez habrá convocatoria de exámenes para las acreditaciones en embriología clínica, y aunque eso es muy importante, el congreso de Ámsterdam donde Anna Veiga será presentada, a propuesta del Comité Ejecutivo, como presidenta-electa de ESHRE (propuesta que deberá ratificar la Asamblea General). Comprenderéis que personalmente e institucionalmente estamos muy orgullosos de tal nombramiento y ofrecemos a Anna todo nuestro apoyo.

Finalmente deseamos, en nuestro nombre y el de toda la Junta Directiva un feliz y próspero año 2009. Por nuestra parte pedimos a Sus Majestades los Reyes Magos que nos traigan una nueva página Web (y esperamos poderla presentar a primeros de año).

Mark Grossmann i Camps | Presidente

M. Victoria Hurtado de Mendoza y Acosta | Vice-presidenta



LA COMISIÓN NACIONAL DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

Algunas explicaciones necesarias para quien tiene que relacionarse con ella.

I.- ESTRUCTURA, COMPOSICIÓN Y FUNCIONES DE LA COMISIÓN.

Hace ya veinte años que una Ley, la 35/1988, la primera norma española sobre técnicas de reproducción humana asistida, que se adelantó con ella en la regulación de estas cuestiones a la mayoría de los países de nuestro entorno económico y social, estableció que se debía constituir esta Comisión.

La promulgación de esa Ley, debida a una iniciativa parlamentaria, y no del Gobierno de entonces, en la que confluyeron diputados de diferentes partidos que constituyeron una comisión específica con ese fin, no se acompañó, sin embargo, tal vez por esos mismos orígenes, de un compromiso decidido por parte de sucesivos gobiernos para su aplicación. Quizás el mejor ejemplo de ello es que el desarrollo reglamentario que hizo posible la constitución de la Comisión no tuvo lugar hasta nueve años más tarde, y para entonces con un Gobierno de un color político diferente al que había previsto su creación. Aunque, todo hay que decirlo, con un diseño que había comenzado ya a prepararse a la vez que, en el último año de gobierno del Partido Socialista en aquella fase, se desarrollaron otras normas de desarrollo de la Ley anterior; en concreto los Reales Decretos que establecieron condiciones para la autorización de centros y técnicas de reproducción asistida, así como la constitución de los registros en esta materia (de centros, de actividad, de donantes). De estos últimos hay que decir también que, siendo un instrumento imprescindible para ejercer las responsabilidades públicas en materia de reproducción asistida en términos de garantías de seguridad y calidad a los pacientes potenciales usuarios de estas técnicas, todavía no se han llegado a constituir de manera eficaz. Todo lo cual constituye un reflejo evidente de un vicio que afecta a las administraciones españolas, como es el de regular mediante normas las cuestiones más diversas sin preocuparse después de su aplicación.

No fue ése el caso, sin embargo, de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida: el Real Decreto 415/1997, por el que se creó la Comisión, es del mes de marzo, y se publicó en el Boletín Oficial del Estado el 22 de ese mismo mes. Pocos meses más tarde, en el de noviembre, se celebró la primera reunión de la Comisión. Para su inicio hubo que recabar la designación de representantes por parte de las CCAA, que designaron en el Consejo Interterritorial a cinco de ellos, cuatro de tres ministerios distintos, cuatro por diferentes sociedades científicas del ámbito de las especialidades y profesiones relacionadas con las materias propias de la Comisión y con la bioética, y diez de diferentes instituciones, entidades, asociaciones ciudadanas y de pacientes de estas técnicas y colegios profesionales, hasta completar un total de veintitrés vocales, que constituyeron el núcleo inicial de la Comisión.

Hay que comenzar por afirmar que la composición de la Comisión se atuvo, como no podía ser de otra manera, a lo previsto en la Ley, diez años anterior al Decreto y promulgada por un gobierno distinto al que la desarrolló en este aspecto, dado que esa ley no había sido modificada. De la misma manera, el Decreto constitutivo de la Comisión no cambió el carácter de ésta previsto en la Ley, de carácter esencialmente asesor *“dirigido a orientar sobre la utilización de estas técnicas, a colaborar con la Administración en cuanto a la recopilación y actualización de conocimientos científicos y técnicos, o en la elaboración de criterios de funcionamiento de los Centros y Servicios donde se realizan las técnicas de Reproducción Asistida, a fin de facilitar su mejor utilización”*.

Por otra parte, hay que considerar que tal carácter asesor está íntimamente relacionado con la propia composición establecida: en el ámbito del Derecho propio de los países latinos, el ejercicio de funciones ejecutivas propias de los poderes públicos no está abierto en ningún caso a personas o entidades que no forman parte de una u otra manera de las administraciones públicas; incluso la figura de la *“encomienda de gestión”* o

“delegación” de esas funciones en algunos casos está reservada a corporaciones o entidades incluidas en el ámbito de lo público, aunque estén sometidas al derecho privado (caso, por ejemplo, de los colegios profesionales, por mucho que en su funcionamiento real disten responder a lo que de ellos cabría exigir).

Esta situación, distinta a la de los países anglosajones, diferencia netamente nuestra Comisión de la Autoridad Sanitaria en Fertilidad y Embriología del Reino Unido (HFEA según sus siglas inglesas), una entidad con estructura propia y autoridad ejecutiva que constituye el modelo o el objeto de deseo de muchos profesionales españoles que trabajan en este campo. A los que, en todo caso, hay que disuadir de que un modelo como ése pudiera ser aplicable en nuestro país sin modificar la composición de la Comisión y convertirlo por la vía de esa modificación en una parte más de una u otra Administración a la que dotar de autoridad ejecutiva, por más que esta pudiera dotarse luego de un órgano asesor similar o no en su composición a la de la actual Comisión.

Es cierto que la posibilidad de una cierta delegación de funciones en la Comisión estaba prevista en la Ley 35/1988: su artículo 21, apartado 2, establecía que *“la Comisión Nacional de Reproducción Asistida podrá tener funciones delegadas, a falta de la normativa oportuna, para autorizar proyectos científicos, diagnósticos, terapéuticos, de investigación o de experimentación”*. Ignoro por qué razones tal previsión estaba incluida en aquella primera Ley, cuyo origen ya se ha descrito. Lo cierto es que, a mi juicio, tal delegación resultaba no congruente con nuestro ordenamiento jurídico y con la forma de constitución de las administraciones públicas españolas y que, desde otro punto de vista, la atribución de la facultad de autorización, de haberse hecho efectiva, y si quería ser coherente, debería haberse acompañado de la dotación de facultades y medios de control del desarrollo de lo autorizado a la propia Comisión.

Ni la propia delegación ni la dotación de medios complementarios para llevar a cabo ese control tuvieron nunca lugar, y lo que el Decreto de creación de la Comisión previó, en su artículo 4, fue, además de otras funciones todas ellas de carácter asesor, la emisión por aquélla de informes en diferentes casos, entre ellos los de *“proyectos de investigación y experimentación con gametos, preembriones y fetos humanos”*. Disposición que se ha mantenido en la última Ley sobre técnicas de reproducción humana asistida, la 14/2006, a la que se le ha añadido la emisión de informes, que se especifica son *“preceptivos”*, es decir, obligados, en diferentes casos, incluidos algunos de diagnóstico genético preimplantacional, que se pormenorizan en el apartado ocho del artículo único del Real Decreto 906/2007, de 6 de Julio, por el que se modifican la composición y funciones de la propia Comisión.

La emisión de tales informes, por su parte, va dirigida a las diferentes administraciones autonómicas, cada una de las cuales es la competente en su territorio para proceder a la autorización o denegación de la realización de cualquier procedimiento de reproducción asistida o de investigación que requiera de una autorización expresa. Son esas mismas administraciones, por otra parte, las que deben recibir las solicitudes de autorización en esos casos, y son ellas mismas las que deben solicitar el informe de la Comisión, sin el que, sin infringir la ley, no pueden dictar su resolución positiva o denegatoria en los casos en que tal informe esté establecido como preceptivo u obligatorio. La solicitud de los informes a través de las CCAA es en todo caso obligada, pues la capacidad de dictar la resolución final correspondiente no se le resta a las CCAA, pese a que pueda estar condicionada en determinados casos por los informes negativos de la Comisión, y cada administración autonómica es soberana para decidir de antemano si con arreglo a sus propios criterios procede tramitar cada solicitud (que exigiría en ese caso pedir el informe) o si, por el contrario, y con arreglo a esos mismos criterios propios, debe rechazarse de antemano alguna de las solicitudes. Este criterio no debe interferirse por el que, en sentido general, pueda mantener en cada caso la Comisión en su informe.

Por otra parte, en la emisión de esos informes la Comisión *“Nacional”*, que tiene atribuida esa responsabilidad por la Ley, no puede ser sustituida por ninguna otra de carácter autonómico. La imposibilidad no radica en este caso en que esa delegación, que debería en todo caso llevarse a cabo mediante una norma que atribuyese a las Comisiones autonómicas la función que está ahora atribuida a la Comisión Nacional, o prever siquiera en una norma del mismo rango tal posibilidad de delegación, sea por sí misma imposible. Pero la misma no se ha llevado a cabo en ningún caso ni situación hasta ahora. Y, lo mismo que puede pensarse que no se delegaron funciones ejecutivas en la Comisión en razón de la descentralización de la capacidad de decisión a las CCAA que se produjo, hay también razones para pensar que una delegación descentralizadora de las responsabilidades de la Comisión en las de algunas CCAA no se llevará a cabo en el futuro: en materia de reproducción asistida, como en otros muchos, el *“mercado”* español es un mercado único, en el que pacientes, procedimientos y hasta muestras biológicas se mueven sin distinción ni fronteras entre territorios autonómicos, a la vez que están todos ellos sometidos a la misma regulación. Un buen ejemplo de ello lo constituyen los 25 primeros casos de selección embrionaria con DGP+HLA que se sometieron desde un único centro de una sola Comunidad Autónoma a informe de la Comisión. Esos 25 casos procedían, en términos de residencia de los progenitores, de 10 CCAA diferentes, de cuyo proceso de selección embrionaria y en su caso tratamiento posterior a la misma, este último a desarrollar en muchos de ellos en la propia CA de origen, las autoridades sanitarias de aquéllas carecían de cualquier información.

En esa situación, no parece adecuado que pudiera darse siquiera la oportunidad de decisiones o criterios contradictorios en materias principales como las que las normas reservan al informe preceptivo de la Comisión. La consideración de los criterios de cada uno en la formación de un criterio común en situaciones concretas en esta materia parece, por el contrario, garantizado por la presencia en la Comisión de un amplio número de vocales designados por el conjunto de

las CCAA. De esta manera la Comisión actúa como asesora única de cada una de las Administraciones autonómicas en las materias que le están reservadas. Frente a esos criterios asesores ejercidos de manera obligada en cada caso de los previstos, los criterios de las Comisiones que puedan existir a nivel autonómico no pasan de ser opiniones legítimas, que, por el contrario, carecen del valor preceptivo (y vinculante en sentido negativo) de los informes que en esas materias precisas sólo le está atribuido a la Comisión Nacional.

II.- EL FUNCIONAMIENTO DE LA COMISIÓN EN ALGUNOS CASOS Y SITUACIONES CONCRETAS.

Los principios generales enunciados en el apartado anterior resultan globalmente de aplicación a diferentes situaciones, a algunas de las cuales se ha hecho referencia en ese mismo apartado.

Es el caso, por ejemplo, de las solicitudes de selección embrionaria con fines terapéuticos para terceros con DGP+HLA a las que he hecho mención.

En esas situaciones, como en el resto de los casos concretos en los que hay una regulación expresa del papel de la Comisión, tal regulación contiene también una referencia explícita a las condiciones en las que se deben llevar a cabo los informes por parte de la Comisión y, como consecuencia, de esas condiciones se deduce el valor general o particular de dichos informes.

Así, por ejemplo, el apartado 2 del artículo 12 de la Ley 14/2006 establece que los informes de la Comisión en los casos de DGP que no caben en los supuestos previstos en el apartado 1 del mismo artículo, así como en los de selección embrionaria con fines terapéuticos para terceros, deben hacerse *“caso a caso”*, y teniendo en cuenta *“las características clínicas, terapéuticas y sociales”* de cada uno de ellos. No cabe, en consecuencia, la consideración de que en esos casos un informe favorable para un caso concreto sirva para dar por informado con el mismo carácter otro caso distinto, aunque se trate de la misma enfermedad.

Otra cosa distinta es la autorización general para la práctica de determinada técnica que se pueda hacer por parte de una Comunidad Autónoma. En esos casos, lo que la Ley prevé es solamente la comunicación de su realización a la Comunidad Autónoma correspondiente. Para ello el instrumento adecuado será en un futuro próximo el registro de actividad previsto en la Ley, o la comunicación periódica de lo llevado a cabo en el caso de ciertas técnicas, como el DGP, igualmente prevista en el apartado 5 del artículo 20 de la misma norma legal. Cabe decir que esta última información, y en lo correspondiente a 2007, se requirió de las CCAA en los primeros meses de este año. Una vez elaborada se va a presentar a una próxima reunión de la Comisión, que, a su vez, al hacerla pública, la acompañará de su propia valoración.

Sin embargo, tales autorizaciones sólo permiten la aplicación de la misma a

aquellos casos en los que no es necesaria la autorización, previo informe, caso a caso. En lo que se refiere al DGP, esta posibilidad sólo incluiría aquellos casos de enfermedades que caben sin lugar a dudas en el apartado 1 del artículo 12 de la Ley 14/2006. Los restantes, sean por estar incluidos en el apartado 2 del artículo 12 o presentar dudas respecto a su posible inclusión en lo dispuesto en uno u otro de los apartados del dicho artículo, deben ser objeto de solicitud a la CA correspondiente e informe previo por parte de la Comisión. Y sólo en el caso de que la Comisión informase que determinada enfermedad se encuentra entre los supuestos del apartado 1 del artículo 12, y como tal no precisa la autorización e informe caso a caso el mismo criterio sería susceptible de generalización sin consulta o informe posterior.

A diferencia del papel de la Comisión claramente establecido en esos casos, en

el ejercicio de otras funciones por parte de la Comisión su actuación no está definida de manera tan precisa. Es el caso de la respuesta a las consultas o peticiones de informe dirigidas a la Comisión para la interpretación de algunos preceptos de la ley cuyo sentido resulte dudoso para quien quiere formular la consulta.

Lo único que esta (falta el acento en la a) claramente regulado al respecto es que cuando tales consultas o peticiones de informe se formulen desde *"los centros o servicios sanitarios en los que se apliquen las técnicas de reproducción asistida"* *"sobre cuestiones relacionadas con dicha aplicación...deberán solicitarse a través de la autoridad sanitaria que haya autorizado la aplicación de las técnicas de reproducción asistida por el centro o servicio correspondiente"*. Con ello se trata sin duda una vez más de evitar el planteamiento de situaciones de posible

MediCult es una empresa especializada en el desarrollo y fabricación de medios de cultivo para Técnicas de Reproducción Asistida. Ofrece productos y medios para la recuperación de ovocitos, tratamiento del esperma, cultivo de embriones, criopreservación y Maduración In Vitro de ovocitos.

MediCult le ofrece calidad de producto, servicio e innovación.



MediCult España S.L.

Gran Via Corts Catalanes 184, 7 · 08038 Barcelona · Spain

Tel.: +34 93 394 53 91 · Fax: +34 93 394 53 80

www.medicult.com



MediCult

Innovation with Care

contradicción entre la actividad asesora de la Comisión y el criterio de quien tiene finalmente en cada caso y para cada centro la capacidad final de autorización o denegación.

En las respuestas a estas solicitudes de consulta o informe genérico, y no de casos concretos, la Comisión ha pretendido combinar siempre hasta ahora el cumplimiento del papel asesor que la ley le atribuye con las cautelas que deben establecerse para evitar que los criterios de la Comisión se consideren la única interpretación de la Ley posible. A la vez, y cuando se trate de cuestiones que pueden interesar a la mayoría de las administraciones o centros de reproducción, la Comisión ha difundido ya en algún caso a la totalidad de las administraciones autonómicas, para su traslado si lo consideran oportuno a los centros dependientes de cada una de ellas, la respuesta dada a

alguna de esas consultas: es el caso, por ejemplo, de la práctica de la congelación de ovocitos y la posibilidad de utilizar para ello la técnica de la vitrificación. Lo mismo es previsible que ocurra en fecha próxima con la contestación dada recientemente a una consulta formulada desde la Generalitat de Cataluña sobre la interpretación de los términos "grave", "aparición precoz" y "susceptible de tratamiento curativo posnatal con arreglo a los conocimientos científicos actuales" con los que la Ley limita la práctica del DGP en las condiciones previstas en el apartado 1 del artículo 12 de la Ley, a los que ya he hecho mención. La Comisión está estudiando también la posibilidad de que las respuestas a consultas de interés general puedan igualmente difundirse mediante su publicación en la página web del Ministerio en el apartado sobre estas materias, que en el futuro debe recoger también y hacer públicos los datos

actualizados de los registros de centros y actividad, de próxima constitución.

Con todo ello la Comisión, formada en buena parte por personas que representan a asociaciones, entidades o grupos con actividad en este campo, pretende dar cada día mejor cumplimiento a las funciones asesoras que la Ley le ha atribuido. Su desarrollo, como quedó reflejado de manera expresa en su primer informe y puede deducirse de su propia historia, no ha sido siempre sencillo, pero para lograrlo la demanda de respuestas desde el propio sector ha sido siempre el principal motor. **Javier Rey del Castillo**

Sistemas Genómicos compañía líder en análisis de ADN

Servicio integral de Genética aplicado a la Medicina

- Experiencia y capacidad tecnológica para el abordaje diagnóstico de cualquier enfermedad de base genética conocida
- Centro de referencia internacional para el diagnóstico de enfermedades genéticas

GENÉTICA MÉDICA

Nuevas herramientas diagnósticas para la mejora de su práctica clínica

CONSEJO GENÉTICO

DIAGNÓSTICO GENÉTICO

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRENATAL

ENFERMEDADES RARAS

CÁNCER HEREDITARIO

GENÉTICA ONCOHEMATOLÓGICA

ESTUDIOS GENÉTICOS A MEDIDA

GENÉTICA REPRODUCTIVA

Una manera sencilla de ofrecer DGP a sus pacientes

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (DGP)

Detección de aneuploidías
Determinación del sexo embrionario
Anomalías cromosómicas estructurales
Enfermedades monogénicas
Tipaje HLA

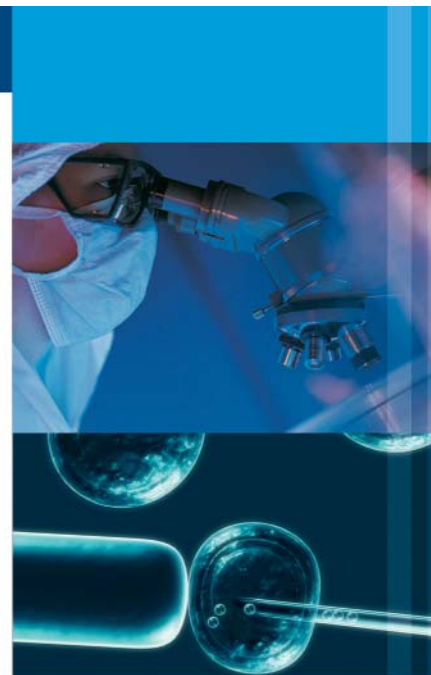
INFERTILIDAD GENÉTICA

ESTUDIOS GENÉTICOS PARA DONANTES DE GAMETOS Y EMBRIONES

CONSEJO GENÉTICO REPRODUCTIVO

sistemas genómicos
BIOMÉDICA

Parque Tecnológico de Valencia
Ronda G. Marconi, 6
46980 PATERNA (Valencia)
Tel. 902 364 669 · Fax 902 364 670
info@sistemasgenomicos.com
www.sistemasgenomicos.com



Solicite nuestro catálogo
902 364 669

CARIOTIPO 47, XY, + MAR E IMPLICACIONES EN LA ESTERILIDAD MASCULINA

CARIOTYPE 47 XY, +MAR IMPLICATIONS IN MALE FERTILITY

Dorado, M. (1); Rodríguez, A. (2); Hebles, M. (2); Sánchez, P. (2); Migueles, B. (1); González, M. (1); Aguilera, L. (1); Cruz, N. (2); Sánchez, F. (2) (1) Fundación Guadalquivir de Investigación Médica. Sevilla. 41010. España (2) Clínica Ginemed, Sevilla, 41010 España. Sevilla Dra. Mónica Dorado Silva • c/ Farmacéutico Murillo Herrera nº 3 • 41010 SEVILLA. mdorado@ginemed.es • 17/09/08

RESUMEN

El cromosoma marcador es un pequeño fragmento cromosómico indeterminado que podemos encontrar al realizar un cariotipo. Para poder asesorar al paciente es importante conocer su origen y su identificación.

En el caso que nos ocupa la pareja se realizó el cariotipo, entre otras pruebas, al entrar en estudio por esterilidad. El seminograma resultó severamente alterado. El cariotipo del varón presentó la existencia de un pequeño cromosoma marcador, el cual aparecía también en el padre, descartando así la aparición de novo. La pareja realizó un ciclo de FIV con resultados negativos.

Los marcadores cromosómicos heredados se asocian mayoritariamente a fenotipo normal. Se transmiten habitualmente por vía materna, lo que sugiere una fertilidad reducida en los varones. En nuestro caso el paciente lo había heredado del padre, el cual no parecía tener una fertilidad reducida al tener 3 hijos y ningún aborto. El hecho de que el paciente sí tuviera alterado el seminograma podría deberse a que los marcadores son muy heterogéneos y se pueden comportar diferente de una generación a otra.

Palabras clave: Cromosoma marcador, mar, esterilidad, cariotipo.

SUMMARY

The marker chromosome is a small part of an unknown chromosome that we can find doing a karyotype. In order to assess the patient it is important to know their origin and identification.

In this case a couple was asked for a karyotype as a routine in a fertility study. The semen analysis was found to have a high degree of abnormalities. The man's karyotype had a marker chromosome. In the family study the man's father had the same chromosome so we reject the possibility of "de novo" origin. The IVF cycle resulted in no pregnancy.

The hereditary marker chromosomes mostly are associated with normal phenotype. Usually it is maternally transmitted and is expected to reduce fertility in males. In our case the patient inherited from his father, who had three sons with no miscarriages, so it was not suspected that he had any problem in fertility. The fact that the patient has an abnormal semen analysis may be because the markers are heterogeneous and can express in a different way from one generation to other.

Key words: marker chromosome, mar, sterility, cariotype

INTRODUCCIÓN

El cromosoma marcador es un pequeño fragmento cromosómico. Para realizar un asesoramiento genético adecuado es importante conocer su origen y su identificación. La incidencia en la población varía de 0.14 a 0.72 por cada 1000 nacidos (Tânia M. Vulcani-Freitas *et al.*, 2006). Aproximadamente el 40% tienen un origen familiar. Los más frecuentes corresponden al grupo de pequeños marcadores derivados de cromosomas acrocéntricos: der (15) y der (22) (Cristina Hernando Davalillo *et al.*, 2005).

Pareja que acude a nuestro centro por esterilidad primaria de tres años. La mujer, de 35 años, presenta una exploración ginecológica y una analítica hormonal normales. En la exploración del varón, de 28 años, observamos un pequeño varicocele bilateral y un seminograma alterado en concentración, movilidad y morfología. No refiere historial de paperas. Aporta un informe de malformación vascular cerebral con accidente vascular cerebral (AVC). Informa además de la existencia de un sobrino con malformación vascular cardíaca.

Se realiza estudio cromosómico de ambos miembros de la pareja. El diagnóstico cromosómico se lleva a cabo a través del cultivo de linfocitos de sangre periférica, en medio PB max, los cuales estuvieron en cultivo 72 horas a 37 °C. Transcurrido este tiempo se agregaron 350 microlitros de colchicina durante 90 minutos, posteriormente se trató con solución hipotónica KCl (0.075 M), y se fijaron con solución 3:1 de metanol: acético. Se realizaron las extensiones sobre portaobjetos, se tiñeron con Giemsa y se realizó el estudio cromosómico con la técnica de bandas G. Se analizaron 20 metafases de

cada paciente. La paciente obtuvo un cariotipo normal 46, XX. El paciente presentó un cariotipo 47,XY, +mar bisatelitar en todas las metafases (figura 1).

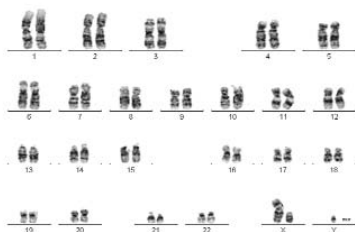


Figura 1: Cariotipo del paciente 47,XY,+mar

Se solicitó sangre periférica de los padres del varón para realizar el estudio cromosómico. La madre obtuvo un cariotipo normal mientras que el padre presentó igualmente un cromosoma marcador.

Debido a los problemas de malformación vascular cerebral sufridos por el paciente se decide profundizar en el cromosoma marcador. Realizamos FISH en sangre periférica con las sondas CEP 15, CEP 13/21 y CEP 14/22 para la determinación del cromosoma marcador. Se observó hibridación normal para las sondas CEP 15 y CEP 13/21. Se observaron 5 señales de hibridación para la CEP 14/22 (figura 2). Concluimos que el cromosoma marcador estaba constituido por al menos el centrómero de los cromosomas 14 y 22. A su vez realizamos un cariotipo a la hermana del paciente, que tiene un hijo con malformación vascular cardíaca. Éste fue normal, por lo que descartamos que los problemas sufridos por el sobrino estuvieran relacionados con el cromosoma marcador.

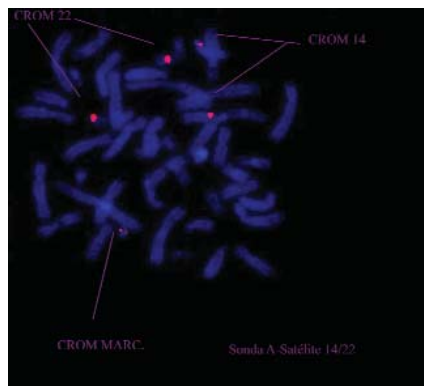


Figura 2: FISH sonda A-Satélite 14/22

Llegados a este punto los pacientes deciden no seguir el estudio para saber si el cromosoma marcador es solo la región centromérica o si participa material procedente del brazo q de alguno de los cromosomas.

La pareja entra en ciclo de reproducción asistida (ICSI) por factor masculino severo. La paciente es estimulada mediante protocolo largo con agonistas. El día de la punción se obtienen 10 ovocitos. Los 5 embriones obtenidos fueron de mala calidad y se bloquearon en día +2 a +3. La transferencia se realizó en día +3 no obteniéndose un resultado positivo.

DISCUSIÓN

Los fenotipos asociados a los cromosomas marcadores son muy heterogéneos (Urioste M et al., 1994) y tan sólo el 33,8% están correlacionados con síndromes clínicos definidos (Liehr T et al., 2004). Este efecto fenotípico depende de diversos factores: tamaño del cromosoma marcador, presencia o ausencia de eucromatina y satélites, grado de mosaicismo, origen de novo o familiar y posibilidad de disomía uniparental. Por tanto realizar un asesoramiento genético es muy complicado.

En nuestro caso el paciente había heredado el cromosoma extra por vía paterna, el cual presentaba un fenotipo normal al igual que nuestro paciente. La diferencia encontrada corresponde a la infertilidad que sufre nuestro paciente, muy dañada, lo que hace muy difícil la reproducción por vía natural. Consecuencia que no sufre el parental puesto que tuvo 3 hijos de forma natural. Con respecto a los problemas vasculares sufridos tanto por el paciente como por el sobrino parecen no estar relacionados con dicho cromosoma extra, pues la hermana del paciente presentó un cariotipo normal.

Un marcador cromosómico con satélites tiene un mejor pronóstico que uno sin satélites (10,9% vs 14,7%; Djalali M et al., 1990), que es el caso de nuestro paciente (presenta un cromosoma marcador bisatelitar).

En nuestro paciente el cromosoma extra está compuesto por el centrómero de los cromosomas 14 y 22 como ya habíamos

comentado. Según Crolla (Crolla JA et al., 1998) en el 16% de los casos que derivan del 14 cursan con infertilidad (Crolla JA et al., 1998) y retraso en el desarrollo. Con respecto al 22 presenta fenotipos muy heterogéneos y el riesgo es más elevado (Viersbach R et al., 1998 y George AM et al., 2002), sobre todo en los casos de novo.

BIBLIOGRAFÍA

Cristina Hernando Davalillo. Caracterización de anomalías cromosómicas en diagnóstico prenatal y postnatal mediante técnicas de citogenéticas molecular [Tesis doctoral] 2005

Crolla JA, Long F. FISH and molecular studies of autosomal supernumerary marker chromosomes excluding those derived from chromosome 15 and 22: Results of 26 new cases; *Am J Med Genet* 1998;75:355-66

Djalali M. The significance of accessory bisatellited marker chromosomes in amniotic fluid cell cultures. *Ann Genet* 1990; 33:141-5

George AM, Hallan L, Olei P, McGaughran J. Prenatal diagnosis of partial tetrasomy 14: a case study. *Prenat Diagn* 2002;22(2):127-3

Liehr T, Starke H: Small supernumerary marker chromosome (sSMC) in human. *Cytogenet Genome Res* 2004;107: 55-67

Tânia M. Vulcani-Freitas, Vera L. Gil-da-Silva-Lopes, Marileila Varella-Garcia, Andréa T. Maciel-Guerra. Infertility and marker chromosomes: Application of molecular cytogenetic techniques in case of inv dup(15). *J Appl Genet* 2006;47:89-1

Urioste M, Vicedo G, Sanchis C, Villa A, Ludeña P, Hortigüela JL, Martínez-Frías ML, Fernández-Piqueras J. Dynamic mosaicism involving an instable supernumerary der(22) chromosome in cat eye syndrome. *Am J Med Genet* 1994;49: 77-2

Viersbach R, Engels H, Gamerding U, Hansmann M. Delineation of supernumerary marker chromosomes in 38 patients. *Am J Med Genet* 1998;76(4):351-8

REDUCCIÓN DE LA VARIABILIDAD INTEROBSERVADOR EN LA EVALUACIÓN EMBRIONARIA TRAS SESIÓN DE CONSENSO ENTRE EXPERTOS

Reduction of the inter-observer variability in the embryo evaluation after consensus session among experts

Rafael Ruiz de Assín (1), Maria del Carmen Gonzalvo (1), Ana Clavero (1), Sandra Zamora (1), Ana Fernández (1), María Roldán (1), Belén Rabelo (1), Juan Pablo Ramírez (2)(3), Juan Manuel Moreno (4), José Antonio Castilla (1)(2)(3). (1) Unidad de Reproducción Humana, Hospital Universitario "Virgen de las Nieves", Granada. (2) Banco de Semen CEIFER, Granada. (3) Programa de Control de Calidad Externo para el Laboratorio de Reproducción de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR), Madrid. (4) Unidad de Reproducción, Clínica Vistahermosa, Alicante. Para contacto: José Antonio Castilla Alcalá: Unidad de Reproducción. C/ Dr. Azpitarte S/N Edificio de consultas externas Hospital Materno- Infantil CP.18014 • josea.castilla.sspa@juntadeandalucia

RESUMEN

La variabilidad interobservador es muy importante cuando pretendemos hablar de calidad embrionaria, diversos autores han demostrado que existen diferencias entre distintos laboratorios al evaluar videos de embriones, la participación en programas de control de calidad externo puede disminuir estas diferencias. Por otro lado se presenta la necesidad de que las imágenes enviadas sean evaluadas por un consenso de expertos para compararlo con los resultados de los laboratorios.

El objetivo de este estudio es ver si tras una sesión de consenso aumenta el acuerdo entre expertos en la evaluación de embriones.

Para ello empleamos imágenes de embriones en Día 2 y Día 3, que son evaluadas por un grupo de cinco expertos, antes y después de una sesión de consenso. Nuestros resultados demuestran que las sesiones de consenso entre expertos son útiles para disminuir la variabilidad entre observadores en la clasificación embrionaria y decisión clínica, y que podrían ser utilizadas para asignar valores de referencia a las imágenes de embriones que se envían en programas de control de calidad externa de evaluación embrionaria.

Palabras clave: Evaluación embrionaria, sesión de consenso, fecundación in vitro.

SUMMARY

The inter-observer variability is very important when we talk about embryo quality, various authors have demonstrated that a difference exists between distinct laboratories upon evaluation of the embryonic videos; participation in quality control programs can reduce these differences. On the other hand the need arises to send the images to a consensus of experts to be evaluated to compare laboratory results.

The objective of the study is to see if a consensus meeting will increase agreement between experts of embryo evaluation.

To facilitate this we use images of embryos in the 2nd and 3rd day, which are evaluated by a group of 5 experts, before and after a consensus session. Our results demonstrate that the consensus sessions of experts are useful to diminish the variability between embryo classification and clinical decision. Also, could be utilized to assign values of reference to the embryonic images that are sent to an external quality control program of embryo evaluation.

Key words: Embryo evaluation, session of consensus, in vitro fertilization.

INTRODUCCIÓN

La capacidad de implantación de un embrión, y por tanto, la consecución de un embarazo está relacionada con diversos factores, entre otros la calidad

embrionaria (Sharpe-Timms *et al.*, 2000; Fisch *et al.*, 2001; De Placido *et al.*, 2002; Holte *et al.*, 2007), por lo que la valoración de ésta es una parte clave en los tratamientos de FIV/ICSI. Entre los factores que pueden afectar la

valoración de la calidad embrionaria, se encuentran los diferentes sistemas de clasificación de embriones y las diferencias intra e interobservador (Keck *et al.*, 2004; Arce *et al.*, 2006; Baxter *et al.*, 2006).

La variabilidad interobservador es la variación a la hora de asignar un grado a un mismo embrión cuando es evaluado por varios embriólogos, la variabilidad intraobservador es la variación al establecer el grado de un embrión cuando es evaluado por un mismo embriólogo en más de una ocasión. El problema de la variabilidad inter e intraobservador ha sido descrito ya en muchas disciplinas (Miglior *et al.*, 2004; Al-Aynati *et al.*, 2003). En el contexto de la reproducción ha sido descrito ampliamente por diferentes investigadores, en lo que al análisis de semen se refiere (Álvarez *et al.*, 2005), y diversos estudios han demostrado cómo tras sesiones de entrenamiento se pueden disminuir mucho estas diferencias (Björndahl *et al.*, 2002; Franken and Kruger, 2006). En cuanto a la evaluación embrionaria se ha observado una importante variabilidad entre observadores, tanto a la hora de clasificar un embrión (Arce *et al.* 2006; Baxter *et al.* 2006) como de decidir que hacer con él (Matson, 1998); pero no tanto dentro de un mismo observador, la cual es relativamente baja (Arce *et al.* 2006; Baxter *et al.* 2006). Varios autores han acentuado la importancia del correcto entrenamiento de los miembros del equipo para disminuir las diferencias dentro de un mismo laboratorio (Keck *et al.*, 2004).

La participación en programas de control de calidad externo para la evaluación embrionaria es recomendado por diversas sociedades científicas (The Practice Committee of the ASRM and the Practice Committee of the SART, 2006; Magli *et al.*, 2008; ASEBIR, 2008); habiéndose demostrado que la incorporación de los centros en este tipo de programas disminuye las diferencias entre laboratorios (Castilla *et al.*, 2003; Hurtado de Mendoza *et al.*, 2008).

La falta general de la estandarización de criterios de evaluación es otro de los grandes problemas con los que se enfrenta un embriólogo a la hora de decidir si un embrión es de buena o mala calidad. Diferentes autores defienden el sistema de scoring (Desai *et al.*, 2000; Sharpe-Timms *et al.*, 2000; Fisch *et al.*, 2001; De Placido *et al.*, 2002; Holte *et al.*, 2007), mientras que otros prefieren clasificarlos en categorías (Sharpe-

Timms *et al.*, 2000, Baxter *et al.*, 2006). Estas discrepancias hacen que sea controvertido establecer valores de referencia en los programas de control de calidad externo de evaluación embrionaria que utiliza imágenes de embriones.

El objetivo de este estudio fue investigar el efecto de una reunión de consenso entre expertos en las diferencias interobservador para la clasificación de embriones y la posible utilidad de estas reuniones en programas de control de calidad externo de evaluación embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para esta experiencia se utilizaron 140 videos de embriones en diferentes estadios (cigotos, embriones en Día 2 y embriones en Día 3) divididas en 28 bloques de 5 vídeos cada uno.

Los cinco miembros participantes fueron escogidos debido a su calidad de expertos en el ámbito de la embriología humana en España, y son miembros del grupo de trabajo de calidad embrionaria de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR). Estos cinco expertos fueron reunidos en Madrid en el Hospital Gregorio Marañón, y esta reunión se dividió en tres partes.

En primer lugar se les realizó un test pre-sesión en el que tenían que evaluar cinco bloques con cinco videos de embriones cada uno en diferentes estadios de división, en el primer bloque se incluían cinco videos de cigotos, el segundo y tercer bloque se componía de cinco videos cada uno con embriones en Día 2, y el cuarto y quinto bloque se correspondía con cinco videos cada uno con embriones en Día 3. De cada uno de los bloques debían decidir de manera individual cual era la calidad de cada uno de los embriones (Buena, Regular, Mala) y decidir que decisión clínica tomar con esos embriones, suponiendo que cada bloque perteneciera a una punción diferente y que las parejas quisieran que se mantuviesen tan solo dos cigotos en cultivo (en el caso de los cigotos) y que se transfirieran dos embriones (en el caso de los embriones en Día 2 y 3), con el resto de cigotos y embriones en Día 2 y 3 se debería decidir si congelarlos o desecharlos.

La segunda parte de la reunión consistió en una sesión de consenso, en la que en primer lugar se mostraron los resultados obtenidos durante el test pre-sesión, así como los videos, que fueron discutidos por los cinco expertos. Tras esto se incluyó la evaluación de 19 bloques de 5 embriones cada uno, sumando un total de 95 embriones. Estos 95 embriones fueron evaluados de manera consensuada, discutiendo uno por uno sobre su calidad y de cada uno de los 19 bloques, decidir qué dos embriones mantener en cultivo (en el caso de los cigotos) o transferir (en el caso de los embriones en Día 2 y 3), y de los otros 3 embriones del bloque decidir cuales se congelarían y cuales se desecharían. Durante esta fase de la reunión, los expertos pudieron consultar las recomendaciones del II Cuaderno de Embriología Clínica de ASEBIR (ASEBIR, 2008).

Por último, la tercera parte de la reunión consistió en un test post-sesión, en el que se evaluaron 4 bloques de cinco embriones cada uno (dos bloques de embriones en Día 2 y dos bloques de embriones en Día 3). Los videos de estos 20 embriones no fueron mostrados durante el test pre-sesión ni durante la sesión de consenso para que no se viera afectada tanto a la clasificación como a la decisión clínica tomada sobre los mismos.

En los resultados fueron evaluadas de manera separada la clasificación y la decisión clínica de cada uno de los embriones.

Fue considerado que había acuerdo sobre un embrión en su clasificación o decisión clínica cuando los cinco miembros participantes realizaban la misma elección, y fue considerado como desacuerdo cuando al menos uno de los participantes discrepaba del resto.

Para la comparación de las diferentes variables analizadas se utilizó el test de 2 con una significación del 5%.

RESULTADOS

De los 20 embriones evaluados durante el post-training test hubo uno (en Día 3) que no se pudo evaluar debido a la mala calidad del video mostrado, por lo que lo excluimos de los resultados.

CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA

En la Tabla I se observan los resultados de la clasificación embrionaria del test pre-sesión comparada con los resultados de la clasificación del test post-consenso, observando diferencias significativas ($p < 0.05$) en el porcentaje de embriones en los que se obtenían acuerdo antes y después de la sesión de consenso (36.0% vs. 73.7%).

En el test pre-sesión se alcanzó acuerdo en 9/25 (36.0%) embriones, de los cuales 2/5 (40.0%) fue en estadio de cigoto, 4/10 (40.0%) fue en embriones en Día 2, y 3/10 (30.0%) fue en embriones de Día 3. De los 9 videos en los que se alcanzó acuerdo, 3 fueron clasificados como Buenos, 3 como Regular y 3 como Malos.

En el test post-sesión se observó acuerdo en 14/19 (73.7%), de los cuales 6/10 (60.0%) fue en embriones de Día 2, y 8/9 (88.9%) fue en embriones de Día 3. De los 14 videos en los que se alcanzó acuerdo, 8 fueron clasificados como Buenos, 5 como Regular y 1 como Malo.

Tabla I: Porcentaje de embriones sobre los que existió acuerdo entre los embriólogos expertos antes y después de la sesión de consenso.

	Test pre-sesión	Test post-sesión	P
Clasificación	36.0 % (9/25)	73.7 % (14/19)	< 0.05
Decisión Clínica	36.0 % (9/25)	84.2 % (16/19)	< 0.005

DECISIÓN CLÍNICA

En la Tabla I se observan los resultados de la decisión clínica del test pre-sesión comparada con los resultados de la clasificación del test post-sesión, observando diferencias significativas ($p < 0.005$) en el acuerdo antes y después de la sesión de consenso (36.0% vs. 84.2%).

En el test pre-consenso se alcanzó acuerdo en 9/25 (36.0%) embriones, de los cuales 3/5 (60.0%) fue en estadio de cigoto, 4/10 (40.0%) fue en embriones en Día 2, y 2/10 (20.0%) fue en embriones de Día 3.

En el test post-sesión se observó acuerdo en 16/19 (84.2%), de los cuales 7/10 (70.0%) fue en embriones

de Día 2, y 9/9 (100%) fue en embriones de Día 3.

DISCUSIÓN

De estos resultados se deriva que tras una sesión de consenso y puesta en común, se produce un aumento significativo del acuerdo entre expertos, tanto en la clasificación como en la decisión clínica tomada, al observar videos de embriones en diferentes estadios. Resultados similares se han observado en la evaluación de semen (Björndahl *et al.*, 2002; Franken and Kruger, 2006).

Aunque no se alcanzan diferencias significativas, es de destacar que el grado de acuerdo se incrementó más en embriones de Día 3 que de Día 2, tanto en clasificación embrionaria como en decisión clínica. Esto nos sugiere que los embriólogos pueden asimilar más fácilmente las modificaciones de criterios de Día 3 que Día 2, manteniéndose más firmes en sus criterios de Día 2. Dado que Arce *et al.* (2006) observan mayor variabilidad interobservador en la evaluación en Día

3 que en Día 2, consideramos este hallazgo significativo, pues supone que las reuniones de consenso tienen más efecto sobre el día en que más variabilidad interobservador se ha descrito.

Se observa un mayor aumento del acuerdo en la decisión clínica (de 36.0% a 84.2%) que en la evaluación embrionaria (de 36.0% a 73.7%), lo cual creemos de mucha utilidad, pues es la decisión clínica la que realmente afectará al resultado de la técnica.

Está claro que este estudio presenta una serie de limitaciones como la utilización de un video, que cuenta con un tiempo limitado de grabación y los embriones no fueron rodados para observarlos desde diferentes ángulos, presentando

un ambiente artificial en el que el embriólogo no tiene el control. Sin embargo Arce *et al.* (2006) han demostrado la validez de un sistema de imagen digital similar al nuestro para la comparación entre embriólogos. Tampoco sabemos si este aumento en el acuerdo entre los cinco expertos tras sesión de consenso se mantendrá en el tiempo o cada cuanto tiempo habría que realizar nuevas sesiones de consenso para disminuir las diferencias entre embriólogos a la hora de evaluar un embrión. Por otro lado este estudio se ha realizado con expertos, y desconocemos si estos resultados podrían ser extrapolados a grupos de embriólogos que no posean este nivel de experiencia. Estudios previos de nuestro grupo (Castilla *et al.*, 2003; Hurtado de Mendoza *et al.*, 2008), demuestran que en programas de control de calidad externa donde participan laboratorios con diferentes niveles de actividad, existe una tendencia al aumento en el grado de acuerdo entre laboratorios, cuando se participa en programas de control de calidad externo en los que se incluye evaluación de embriones mediante videos.

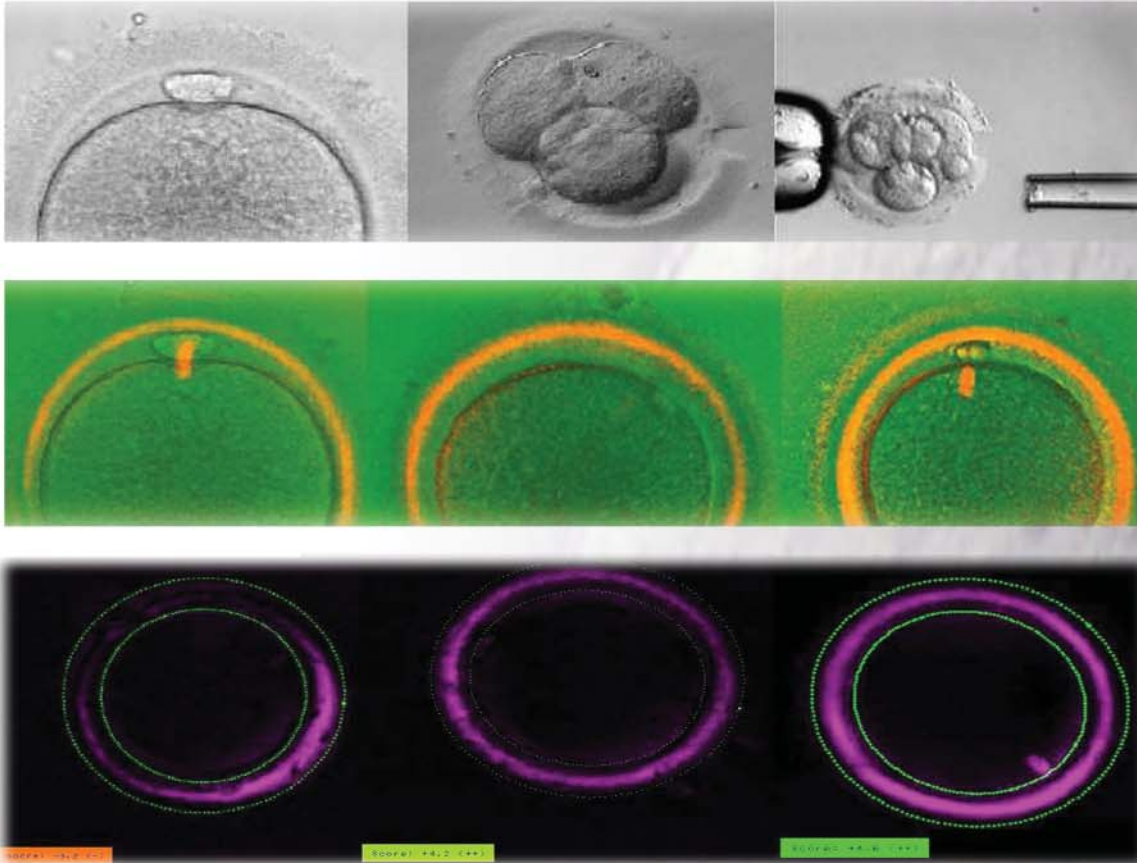
Nuestros resultados demuestran que las sesiones de consenso entre expertos son útiles para disminuir la variabilidad entre observadores en la clasificación embrionaria y decisión clínica, y que podrían ser utilizadas para asignar valores de referencia a las imágenes de embriones que se envían en programas de control de calidad externa de evaluación embrionaria.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecen a los miembros del grupo de trabajo de calidad embrionaria de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR): Manuel Ardoy (U Reproducción, Hospital Gregorio Marañón, Madrid), Jorge Cuadros (FIV Madrid, Madrid), María José Torelló (Clínica Quirón, Barcelona), Gema Arroyo (IU Dexeus, Barcelona) y Luz Rodríguez (Fundación Jiménez Díaz, Madrid) la confianza depositada en los autores y su colaboración en este trabajo, sin la cual no hubiera sido posible su realización.

BIBLIOGRAFÍA

- Al-Aynati M, Chen V, Salama S, Shuhaibar H, Treleaven D, Vincic L. Interobserver and intraobserver variability using the Furman grading system for renal cell carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:593-596.
- Álvarez C, Castilla JA, Ramírez JP, Vergara F, Yoldi A, Fernández A, *et al.* External quality control program for semen analysis: Spanish experience. *J Assist Reprod Genet.* 2005;22:379-387.
- Arce JC, Ziebe S, Lundin K, Janssens R, Helmgard L, Sorensen P. Interobserver agreement and intraobserver reproducibility of embryo quality assessments. *Hum Reprod* 2006;21:2141-2148.
- ASEBIR, II. Criterios de valoración morfológicos de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos. Cuadernos de Embriología Clínica. 2007.
- Baxter AE, Mayer JF, Shipley SK, Catherino WH. Interobserver and intraobserver variation in day 3 embryo grading. *Fertil Steril* 2006;86:1608-1615.
- Björndahl L, Barratt CLR, Fraser LR, Kvist U, Mortimer D. ESHRE basic semen analysis courses 1995-1999: immediate beneficial effects of standardized training. *Hum Reprod* 2002;17:1299-1305.
- Castilla JA, Ortiz A, Magán R, Ortiz-Galisteo JR, González E, Aguilar J, *et al.* Resultados de un ensayo piloto para un Programa Nacional de Control de Calidad Externo de Laboratorio de FIV. *ASEBIR* 2003;8:40-45.
- Desai NN, Goldstein J, Rowland DY, Goldfarb JM. Morphological evaluation of human embryos and derivation of an embryo quality scoring system specific for day 3 embryos: a preliminary study. *Hum Reprod* 2000;15:2190-2196.
- De Placido G, Wilding M, Strina I, Alviggi E, Alviggi C, Mollo A, *et al.* High outcome predictability after IVF using a combined score for zygote and embryo morphology and growth rate. *Hum Reprod* 2002;17:2402-2409.
- Fisch JD, Rodriguez H, Ross R, Overby G, Sher G. The graduated embryo score (GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage-stage embryos. *Hum Reprod* 2001;16:1970-1975.
- Franken DR, Kruger TF. Lessons learned from a sperm morphology quality control programme. *Andrología* 2006;38:225-229.
- Holte J, Berglund L, Milton K, Garello C, Gennarelli G, Revelli A, *et al.* Construction of an evidence-based integrated morphology cleavage embryo score for implantation potential of embryos scored and transferred on day 2 after oocyte retrieval. *Hum Reprod* 2007;22:548-557.
- Hurtado de Mendoza V, Ruiz de Assín R, Vergara F, Moyano C, Gonzalvo MC, Clavero A, *et al.* Five years of external quality control for embryology laboratory: Spanish experience. *Hum Reprod* 2008;23(Suppl1):160.
- Keck C, Fischer R, Baukloh V, Alper M. Quality management in reproductive medicine. In: Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shohan Z. *Textbook of Assisted Reproductive Techniques. Laboratory and clinical perspectives.* 2nd edition. London and New York: Taylor and Francis 2004;477-494.
- Magli MC, Van den Abbeel E, Lundin K, Royere D, Van der Elst J, Gianaroli L; Committee of the Special Interest Group on Embryology. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories. *Hum Reprod* 2008;23:1256-1262.
- Matson PL. Internal and external quality assurance in the IVF laboratory. *Hum Reprod* 1998;13:156-165.
- Miglior S, Albe E, Guareschi M, Mandelli G, Gomasasco S, Orzales N. Intraobserver and interobserver reproducibility in the evaluation of ultrasonic pachymetry measurements of central corneal thickness. *Br J Ophthalmol* 2004;88:174-177.
- Sharpe-Timms KL, Zimmer RL. Oocyte and pre-embryo classification. In: Kal BA, May JV, De Jonge CI. *Handbook of the assisted reproduction laboratory.* 1st edition. United States of America: CRC; 2000;179-196.
- The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Revised guidelines for human embryology and andrology laboratories. *Fertil Steril* 2006;86(Suppl 4):57-72.



Descubra qué puede ofrecerle la tecnología de OCTAX...

OCTAX EyeWare™

Captura y almacenamiento de datos. Mediciones. Generación de informes.

OCTAX EyeWare™ MX

Grabación de vídeos.

OCTAX Laser Shot™

Perforación de la zona pelúcida. Biopsias. Inmovilización de espermatozoides asistida por láser.

OCTAX Polar AIDE™

Visualización de la orientación del huso meiótico. Puntuación automática de la calidad de los oocitos.



VALORACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROGRAMA DE FIV/ICSI TRAS LA REFORMA DEL LABORATORIO.

Fernández Reig, M. (1); Hugas, M. (1); Carrera Rotllan, J. (1)(2); Sarquella-Ventura, J. (1). (1) GIROFIV . Unitat de Reproducció Humana i Diagnòstic Genètic. Clínica Girona. (Girona) labfiv@girofiv.com. (2) Unitat d'Endocrinologia Ginecològica. Clínica de Vic. (Vic)

RESUMEN

Objetivo: Valorar qué grado de afectación tiene sobre varios parámetros, la reforma y acondicionamiento de nuestro Laboratorio de Biología.

Ubicación: Unitat de Reproducció Humana i Diagnòstic Genètic. Clínica Girona. Girona.

Material: 200 ciclos de FIV/ICSI de nuestro programa de Reproducción Asistida. Se han seleccionado los ciclos en que toda la parte clínica del proceso ha sido realizada por el mismo ginecólogo.

Diseño: La reforma del laboratorio se realizó entre los meses de agosto y octubre del 2005. Se han separado estos ciclos de FIV/ICSI en dos grupos en función del momento en que se realizaron. Se han tomado estas fechas para delimitar ambos grupos.

Grupo 1: ciclos comprendidos entre enero del 2002 y agosto del 2005. Estos ciclos se realizaron en el laboratorio antes de ser reformado, por lo que le llamaremos laboratorio "antiguo".

Grupo 2: ciclos comprendidos entre octubre del 2005 hasta diciembre del 2007. Estos ciclos se realizaron una vez reformado el laboratorio, por lo tanto pertenecen al grupo del laboratorio "nuevo".

Medidas principales: De cada grupo de pacientes se ha calculado la media de las siguientes variables: edad de la paciente, ovocitos recuperados, MII, 2PN, tasa de fecundación, embriones transferidos, embriones congelados y tasa de embarazo.

Conclusión: Existen diferencias significativas respecto al número de 2PN, embriones transferidos, embriones congelados y tasa de gestación.

Palabras clave: FIV/ICSI, reforma del laboratorio, tasa de embarazo.

ABSTRACT

Aim: To study what kind of affectation has on several parameters, the reform and conditioning of our Laboratory of Biology.

Location: Unitat de Reproducció Humana i Diagnòstic Genètic. Clinica Girona. Girona.

Material: 200 IVF/ICSI's cycles of our Assisted Reproduction program. There have been selected the cycles in which the whole clinical part of the process was realized by the same gynaecologist.

Design: The reform of the laboratory had been realized between August and October, 2005. These IVF/ICSI's cycles have been separated in two groups depending on the moment they were realized. These dates have been taken to delimit both groups.

Group 1: cycles included between January 2002 and August 2005. It will be called "ancient" laboratory.

Group 2: cycles included between October 2005 until December 2007. It will be called "new" laboratory.

Principal measures: On every group of patients there has been calculated the average of the following variables: age of the patient, oocytes recovered, oocytes MII, 2PN, fertilization rate, transferred embryos, frozen embryos and pregnancy rate.

Conclusion: Significant differences exist with regard to the number of 2PN, transferred embryos, frozen embryos and pregnancy rate.

Key words: IVF-ICSI, reform of the laboratory, pregnancy rate.

INTRODUCCIÓN

Un laboratorio especializado en técnicas de reproducción asistida requiere una serie de recursos humanos y físicos específicos para poder llevar a cabo sus tareas correctamente.

Los avances tecnológicos y del conocimiento permiten adecuar continuamente los equipamientos y protocolos del laboratorio para poder conseguir unas condiciones óptimas y estables de trabajo. De tal forma que han de reflejarse en la mejora de los

resultados y en la identificación rápida de los problemas que puedan aparecer durante los procesos. No obstante, tiempo atrás estos conceptos no estaban del todo homogenizados ni protocolizados.

Así, por el mismo interés de seguir las recomendaciones y experiencias referidas en la bibliografía y, por una necesidad de disponer de mayor espacio, durante los meses de agosto y octubre del año 2005 nuestro laboratorio fue sometido a una serie de reformas, reordenación de espacios y renovación de tecnología.

En este estudio queremos aprovechar este hecho para valorar si efectivamente estos cambios físicos del laboratorio supusieron una variación en los resultados de nuestro programa de FIV/ICSI.

Si bien no entraremos en detalle de los requisitos que necesita un laboratorio de RA, haremos hincapié en las reformas que se llevaron a cabo en nuestro laboratorio:

Compartimentación del laboratorio. Separación física de: zona de procesado de muestras de semen, zona de embriología y zona de criobiología.

Se trasladó el laboratorio de Citogenética de nuestra Unidad a otra parte de la Clínica, ya que antes estaban muy próximos e incluso compartían cierto aparataje. De esta manera pudimos reubicar el espacio y la zona de embriología pasó de tener unos 6 m² a unos 12 m², superficie mínima recomendada.

Mayor restricción del control de accesos al laboratorio.

Instalación de un sistema de filtrado especial del aire acondicionado constituido por un prefiltro EU-9, EU-4 y un filtro absoluto EU-12 con una presión que renueva 40 veces/hora el aire de la sala de embriología.

Instalación del sistema de filtración para compuestos volátiles CODA AERO, (EMB. Barcelona).

Para la manipulación de material biológico dentro de la zona de embriología se cuenta con una estación de trabajo K-Systems con las superficies termocauterizadas y dos lupas.

En todo momento de la reforma se utilizaron materiales y pinturas no tóxicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio retrospectivo en el que se presentan los resultados obtenidos en 200 ciclos de FIV/ICSI de pacientes, en las cuales: el estudio de esterilidad, aplicación de las pautas de estimulación ovárica, controles, recuperación ovocitaria, transferencia embrionaria y soporte de la fase lútea fueron realizados por el mismo ginecólogo y con los mismos protocolos, por tanto, no han sufrido modificación apreciable antes y después de la reforma del laboratorio.

La estimulación se ha realizado con análogos de la GnRH y gonadotropinas recombinantes.

Los protocolos de laboratorio, medios y condiciones de cultivo, criterios de calidad embrionaria y equipo de biólogos no presentaron ninguna modificación.

El periodo se sitúa entre el año 2002 y el 2007.

Estos ciclos son divididos en dos grupos en función de los años en el que fueron realizados, quedando dos grupos de 100 ciclos cada uno. El punto de corte es entre agosto y octubre del 2005, que es cuando se realizaron las reformas en el laboratorio antes mencionadas.

diciembre del 2007. Estos ciclos se realizaron una vez reformado el laboratorio, por lo tanto pertenecen al grupo del laboratorio "nuevo".

Nuestro objetivo es comparar los resultados de FIV/ICSI de los dos grupos y ver si existen diferencias significativas, con lo que demostraríamos que las reformas hechas en el laboratorio pueden repercutir de manera positiva en los resultados finales.

El estudio estadístico se ha realizado con el programa SPSS vs 11.5 para Windows, empleándose el estadístico chi-cuadrado, considerando significación estadística una p<0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para poder realizar el estudio se han seleccionado las variables más representativas y comunes de todos los ciclos y se ha calculado la media de cada una de éstas. Estas variables representan la edad de la paciente, los ovocitos recuperados, ovocitos en estadio de metafase II (MII), 2PN, tasa de fecundación, embriones transferidos y embriones congelados.

Como mencionamos antes, el grupo 1 corresponde al laboratorio "viejo" y el grupo 2 al "nuevo". Los resultados de la comparativa de medias están representados en la tabla 1.

	GRUPO 1 (N =100)	GRUPO 2 (N=100)	
EDAD	35,24 ± 2,99	35,35 ± 3.29	NS
OVOCITOS RECUPERADOS	8.07 ± 2.62	7.80 ± 2.58	NS
MII	6.04 ± 2.04	6.24 ± 2.21	NS
2 PN	3.97 ± 1.54	5.04 ± 1.98	P<0.05
EMBRIONES TRANSFERIDOS	2.29 ± 0.60	2.09 ± 0.57	P<0.05
EMBRIONES CONGELADOS	1.53 ± 1.39	2.24 ± 1.62	P<0.05

Tabla 1 Comparativa de medias

Grupo 1 (n = 100): ciclos comprendidos entre enero del 2002 y agosto del 2005. Estos ciclos se realizaron en el laboratorio antes de ser reformado, por lo que le llamaremos laboratorio "antiguo".

Grupo 2 (n = 100): ciclos comprendidos entre el octubre del 2005 hasta

Las variables que presentan diferencias significativas con una p<0.05 entre ambos grupos son el número de 2PN, embriones transferidos y embriones congelados.

Como se puede observar, si comparamos la media de edad entre ambos grupos,

aunque no existen diferencias significativas, resulta que es un poco mayor en el laboratorio nuevo.

Por lo que respecta a la variable de ovocitos recuperados el valor del laboratorio nuevo es inferior (8.07 vs 7.80); no obstante, tanto el número de ovocitos en estadio de metafase II (MII) (6.04 vs 6.24) como el de cigotos (3.97 vs 5.04) son significativamente superiores.

Así, podemos añadir que la tasa de fecundación, que corresponde al valor resultante de la división entre 2PN y MII, del laboratorio nuevo es superior (65.7 vs 80.7)

Otra variable a mencionar sería la media de los embriones transferidos por ciclo. Cabe destacar que actualmente la tendencia de los grupos es transferir un número menor de embriones, pero con una calidad embrionaria superior que permite mantener o incrementar la tasa de embarazo. Así pues, es lógico observar esta ligera disminución significativa del número de embriones transferidos en el laboratorio nuevo. (2.29 vs 2.09).

Por último, señalar que el número de embriones congelados por ciclo ha aumentado como consecuencia de los aspectos referidos anteriormente. (1.53 vs 2.24)

Para estudiar si todos estos cambios han tenido repercusión sobre la tasa de embarazo y, obviamente, para ver si existen diferencias significativas entre ambos grupos hemos utilizado el estadístico chi-cuadrado; los valores resultantes se pueden observar en la tabla 2 que se detalla a continuación:

Se considera embarazo una beta-HCG positiva. Se comparan el número de embarazos obtenidos en cada grupo. Se obtuvieron 30 embarazos en el grupo 1 y 44 en el grupo 2; con una $p < 0.05$, existiendo así diferencias significativas.

Con estos resultados demostramos que las reformas hechas en nuestro laboratorio de biología parecen tener una relación directa con la mejora de los resultados de los ciclos de FIV/ICSI.

Así hemos corroborado que, para un funcionamiento óptimo de un laboratorio de TRA es tan necesario el equipo de personal especializado y cualificado como la aplicación de una serie de recursos físicos, equipamientos y protocolos de actuación que permitan el trabajo diario en buenas condiciones; así como un control de todos los procedimientos. La correcta combinación de todos estos parámetros es indispensable para conseguir resultados satisfactorios.

BIBLIOGRAFÍA

Recomendaciones sobre Recursos Humanos y Físicos para el Laboratorio de Reproducción Asistida Humana.

Cuadernos de Embriología Humana. ASEBIR.

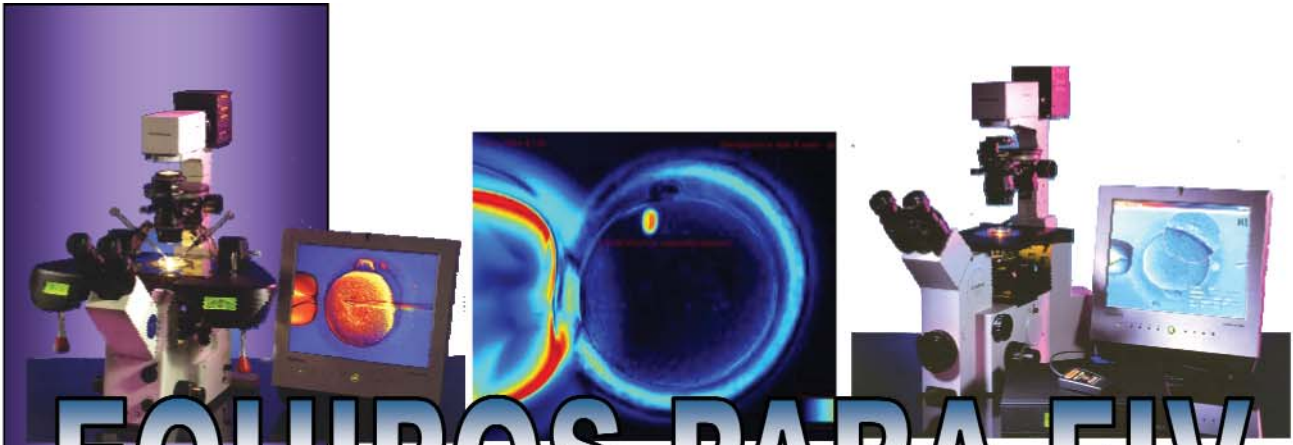
Revised guidelines for good practice in IVF laboratories

M. Cristina Magli, Etienne Van den Abbeel, Kersti Lundin, Dominique Royere, Josiane Van der Elst, and Luca Gianaroli for Committee of the Special Interest Group on Embryology .

Hum. Reprod. 2008 23: 1253-1262;

	GRUPO 1 (N=100)	GRUPO 2 (N=100)	
EDAD	35,24 ± 2,99	35,35 ± 3.29	NS
OVOCITOS RECUPERADOS	8.07 ± 2.62	7.80 ± 2.58	NS
MII	6.04 ± 2.04	6.24 ± 2.21	NS
2 PN	3.97 ± 1.54	5.04 ± 1.98	P<0.05
EMBRIONES TRANSFERIDOS	2.29 ± 0.60	2.09 ± 0.57	P<0.05
EMBRIONES CONGELADOS	1.53 ± 1.39	2.24 ± 1.62	P<0.05

Tabla 2



EQUIPOS PARA FIV

Micromanipuladores, Laser, Oosight (Visu. Huso Meiotico)...



CONTROL DE CALIDAD

Medidores de PH, Volatiles, Particulas, Termómetros...



Quermed, s.a.

T 902102163 / F 915040440

quermed@quermed.com

www.quermed.com



MEDIOS DE CULTIVO

HTF, Vitricificación, Aceite...

INTRODUCCIÓN A DEBATE

En éste número el tema propuesto es: *“¿Cuál es vuestra opinión acerca del procedimiento y criterios de Certificación en Embriología Clínica puesto en marcha por la ESHRE?”*

Para la siguiente revista el tema que proponemos es: *“Turismo reproductivo”*.

Igualmente queremos abrir esta sección no sólo para debatir sobre este tema, sino como vía de opinión sobre cualquier

asunto que consideréis de vuestro interés. Os animamos por ello para que plasméis inquietudes, dudas, comentarios... que os puedan surgir en el desarrollo de vuestra actividad.

¿Y AHORA QUE?

Antonio Urries López. Reproducción Asistida Quirón Zaragoza.

De entrada debo expresar que por principios me parece estupenda cualquier iniciativa que conlleve un acercamiento al reconocimiento “institucional/legal” de nuestra especialidad, independientemente de que pueda considerar más o menos acertado el procedimiento que se ha llevado a cabo.

Lo que no debemos olvidar es que únicamente es eso, un paso más, otra posible herramienta que permita que en un futuro se nos conceda el título de “especialistas” que con tanto anhelo buscamos y con tanta frecuencia estamos “acreditando”.

¿Y ahora que? Se me ocurren tres puntos importantes que deberían impedir que iniciativas como esta acaben muriendo en el olvido o como un papel más colgado en nuestros laboratorios.

El primero hace referencia al nivel de participación en esta Certificación en Embriología Clínica. Creo que podemos estar contentos de la alta respuesta que ha habido entre los “viejos senior” (como nos llama mi amigo Joan Sarquella). Algo que no es de extrañar ya que llevamos años luchando por este tema y cabezudos somos, pero no podemos quedarnos en eso, ahora debemos empujar a los jóvenes a que se suban a este carro. Es obligación nuestra (de los senior) transmitirles la importancia de esto y ayudarles a vencer la pereza y/o miedo que puede suponerles el tener que someterse a otro (uno más) examen. No se trata únicamente de un (otro más) examen. Se trata de nuestra especialidad y de nuestro reconocimiento profesional.

El segundo punto queda en manos de ASEBIR principalmente. Se basa en la

instrumentalización que debe hacerse de esta iniciativa (sin olvidarnos de otras iniciativas pasadas) como argumento de peso en el Ministerio de turno, hacia ese reconocimiento “institucional/legal” que mencionaba al principio. No debemos olvidar que se trata de una iniciativa europea promovida por una sociedad científica importante con más de 4.000 miembros y con presencia en más de 100 países. Me consta la importancia que tiene todo ello en la actual Junta Directiva de Asebir así como la que ha ido teniendo en las anteriores desde el momento de la creación de nuestra Asociación. Espero que las siguientes sigan por el mismo camino.

Y el tercer y último punto es un poco más...especial. Se trata de nosotros mismos. Licenciados superiores, acreditados o en proceso de acreditación (me da igual), con una formación altamente especializada en Reproducción Asistida Humana.

Posiblemente no haya otra especialidad clínica (reconocida o no) que exija a sus componentes una formación tan completa como la que se pretende con la de Embriología Clínica, que aúna conocimientos en Biología, Fisiología, Endocrinología,...De hecho, la denominación de Embriólogo Clínico parece que queda hasta insuficiente, pero eso es lo de menos, es sólo cuestión de nomenclatura.

Pero ¿realmente cuál es nuestro trabajo? ¿Se corresponden los conocimientos exigidos con las tareas que estamos realizando en nuestro día a día?

Hacer una prueba, leer la nueva edición del cuaderno de Embriología Clínica

de ASEBIR: “Recomendaciones sobre recursos humanos y físicos para el laboratorio de reproducción”. Capítulo II. Recursos Humanos. ¿Se corresponde con vuestra situación personal? ¿Quién toma las decisiones técnicas? (el hacer o no una ICSI es una decisión técnica, por ejemplo) ¿Quién realiza en vuestro laboratorio las tareas asignadas al Director del mismo? ¿Quién informa y asesora a los pacientes sobre aspectos biológicos y de laboratorio referentes a su caso? ¿Quién decide si se puede o no realizar un trabajo de investigación? (“¿Qué los pacientes son de quien...?”). Y ahora responder: ¿Somos licenciados superiores altamente especializados o meros operarios en manos de otros especialistas posiblemente menos cualificados?

Quizá sería interesante realizar una encuesta entre todas las Unidades de Reproducción Asistida para conocer el papel real que actualmente desempeñamos y si estamos contentos con ello.

De los tres puntos tratados, está claro que “técnicamente” los dos primeros son los más importantes de cara a conseguir nuestro objetivo de dejar de ser “acreditados” y empezar a ser “especialistas”, pero que queréis que os diga, me pasa al contrario que a la mujer del Cesar: además de parecerlo yo quiero serlo.

Animo a todos y adelante. Y, quizá en un futuro, podremos ver a un Embriólogo Clínico no ya como Director Técnico de un Laboratorio sino incluso como Jefe de Servicio de una Unidad de Reproducción Asistida de un Hospital Público. (esto va por ti Manuel).

Esther Fernández García. ESHRE Senior Clinical Embryologist.

20

UN BIÓLOGO ACREDITADO

Esther Fernández García. ESHRE Senior Clinical Embryologist.

Todos sabemos que estamos viviendo la era de la **calidad** y de la **acreditación**, términos que no sólo son utilizados de rutina en un Laboratorio de Fecundación in vitro, sino que acompañan al científico a lo largo de su carrera profesional. La diferencia es que ahora es la ley la que obliga a todos por igual a cumplir unos estándares de calidad y es cuando paradójicamente el embriólogo, que siempre ha estado en ese camino, debe demostrar más que nadie su valía, sólo porque no tiene una especialidad reconocida.

Cuando terminé mi carrera de Biología allá por el siglo pasado, tenía claro que mi profesión sería la investigación en el campo de la genética humana. Nunca decidí hacer a propósito una carrera profesional que no estuviera reconocida como “especialidad”, simplemente era lo que había. Al salir de la facultad me presenté al examen de BIR, ese año salían 8 plazas para biólogos en toda España, preferiría no decir el puesto que obtuve, sin embargo puedo asegurarnos que fueron muy pocos los afortunados. Una vez agotada la opción Institucional pasé a la otra opción, la de ofrecerme como “asistente voluntario” en un Laboratorio de Genética por los distintos hospitales de Madrid. En pocos meses estaba trabajando y en unos años pude leer mi tesis doctoral en genética humana.

Ya tenía mi primer título después de la licenciatura que **acreditaba** mi experiencia en el laboratorio como “genetista”. Fue entonces cuando dejé mi etapa de becario de investigación, para pasar a formar parte, como facultativo, del equipo de Reproducción

Asistida en el mismo centro de Madrid, y me volvió a pasar, sin querer volví a elegir una profesión que tampoco tenía especialidad, la de biólogo de reproducción o como ahora todos conocemos la de “embriólogo”.

Es en este momento, cuando estoy desarrollando mi labor en el sector sanitario, que soy consciente de que los biólogos (esas 8 plazas de BIR) que tenían la posibilidad de adquirir una formación especializada siguiendo los mismos programas formativos que los establecidos para médicos y farmacéuticos, no obtuvieron un título oficial de especialista hasta la publicación del Real Decreto 1163/2002, de 8 de noviembre, por el que se crean y regulan las especialidades sanitarias para químicos, biólogos y bioquímicos. En un intento por **acreditar** nuestra labor, la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción, ASEBIR, y el COB decidieron conjuntamente otorgar una cualificación de especialista en reproducción asistida. Cumpliendo con los requisitos se me otorgó el segundo Título, esta vez se **acreditaba** mi experiencia como “embrióloga”. De la misma manera la Asociación Española de Genética Humana, AEGH, decidió otorgar una **acreditación** en genética humana, con el fin de poder definir un grupo de “especialistas” en un área que, como la nuestra, no puede hacerlo de manera institucional. Pues bien este era mi tercer título que me **acreditaba** como especialista en Genética Humana. Como podéis ver me convertí en un **acreditado biólogo embriólogo genetista**, todo esto en la friolera de 20 años de profesión. Muchos de nosotros,

aconsejados por nuestras asociaciones científicas y colegios oficiales, pensamos que este era un buen momento para que se nos reconociera como especialistas; sería la Comisión Nacional de la Especialidad de Análisis Clínicos para Químicos, Biólogos y Bioquímicos quien evaluaría nuestra trayectoria profesional, sin embargo nuestros expedientes fueron archivados.

Volvemos a poner los pies en el suelo, estas **acreditaciones** sólo tienen “valor” entre los profesionales de genética y embriología y en el ámbito de nuestro país, todos sabemos que somos Europeos y es aquí donde tenemos que medirnos. Como no podía ser de otra manera, me presenté con mi CV debajo del brazo al Senior Clinical Embryologist Certification, otorgado por el Comité Ejecutivo de European Society for Human Reproduction & Embryology (ESHRE). Pues bien, este cuarto título me **acredita** como embriólogo también en el resto de Europa.

Todos sabemos en el fondo que si nuestra profesión fuera una especialidad reconocida, no hubiera sido necesario haber pasado tantos tribunales de evaluación, para demostrar que estamos **acreditados**.

El ejemplo más claro lo tenemos cuando vemos a nuestros compañeros de profesión, los Ginecólogos, que trabajan día a día con nosotros, ellos son médicos especialistas y por ello se les presume acreditados. ¿Cuándo lo estaremos nosotros? O dicho de otra forma ¿Cuándo empezaremos nosotros mismos a considerarnos acreditados?

CERTIFICACIÓN DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA DE LA ESHRE

Joan Sarquella i Ventura ESHRE. Senior Clinical Embryologist.

Después de los portazos del Ministerio a la hora de reconocer nuestra profesión con una Especialidad, aplauso para el proyecto multiestatal impulsado por la ESHRE para conseguir una Certificación

en Embriología Clínica que reconozca un trabajo, unos méritos y una especialización de un considerable colectivo de profesionales.

Soy muy consciente que cuando se pone en marcha un nuevo proyecto siempre surgen problemas. Existen diversas situaciones y evidentemente diversos puntos de vista. Y más aún

cuando no se cuenta con un respaldo legislativo.

Personalmente he pasado por el inicio del proceso de acreditación que culminó con el 1er examen celebrado en el Congreso de la ESHRE de Barcelona.

Es mi intención exponer mi experiencia, mis sensaciones y mi opinión de todo ello. Con ánimo de construcción sin lugar a dudas.

El proceso comenzó con la posibilidad de conseguir la certificación por la vía rápida: Fast Track.

Los criterios para ello eran:

Ser Director de Laboratorio, tener más de 10 años de experiencia y tener un Master o Doctorado.

Se han creado situaciones "curiosas". No solo en mi caso sino en el de varios compañeros con 20 años de experiencia pero sin doctorado ni Master, que no fuimos admitidos en el Fast-Track por ello. Y tampoco podíamos presentarnos a la primera convocatoria de Certificación ya que se mantenían las condiciones de Master y Doctorado además de superar un examen.

En los años en que inicié mi actividad profesional, la formación se hacía con estancias en diferentes laboratorios en España y en el extranjero.

Cuando se crearon los primeros Masters cuando se llevábamos 10 años de experiencia.

Y yo pregunto, ¿10 años de experiencia, incluso en algunos casos como Director de Laboratorio, no equivalen a un Master? Mi opinión es que sí.

Considero que (sin desmerecer a nadie evidentemente):

Se podía haber definido más el temario de Masters y Tesis doctorales para aceptarlos dentro del proceso Fast-Track de acuerdo con el carácter de Embriología Clínica para el cual se acreditaba.

Se podía haber encontrado la forma de valorar los "sin master ni doctorado" pero con amplia experiencia. En este caso, por ejemplo, se podía haber ampliado la experiencia a 15 años.

Y si no hubiese sido posible aceptarlos, permitir la presentación al examen de Barcelona de entrada. Bien es cierto que después de las alegaciones recibidas, la ESHRE creó un procedimiento extraordinario. Creo que se hubiera tenido que considerar más de inicio esta situación.

Otro requisito era la presentación de un log-book. Se necesitaba acreditar 50 casos de cada procedimiento. Considero una cifra baja, teniendo en cuenta que ASEBIR recomienda para la formación del coordinador de laboratorio (comparable con el senior) 300 ciclos de FIV/ICSI y 600 preparaciones de semen.

A mi entender también ha habido un retraso en la comunicación; desde el momento en que se cerró el plazo de

solicitud de presentación al examen hasta la comunicación por parte de la ESHRE de la aceptación, pasaron casi 2 meses.

Temario del examen: He echado de menos aspectos de organización y gestión del laboratorio que entiendo que en la rutina diaria de muchos seniors es una necesidad.

El nivel del examen creo que fue el correcto si bien el tiempo para su resolución un poco escaso. Se intentaba valorar conocimientos no velocidad en responder a las preguntas, 120 minutos para 100 preguntas test para mi fue muy justo. (Quizás es que ya he pasado de senior a viejo....)

La participación masiva de aspirantes en el examen demuestra claramente el interés de todos por este proceso.

Finalmente comentar que me pareció una indiscreción por parte de la ESHRE que, a través de su web, se hicieran públicos los resultados del examen con nombre y notas. Creo que se tendría que haber hecho, tal y como se dijo al principio, de forma individualizada.

El espíritu de mis comentarios es totalmente constructivo. Y también agradecer a la ESHRE los buenos ratos que me han hecho pasar sintiendo una vuelta a los orígenes al repasar materias de Biología Básica que me han recordado la razón por la cual estudié Biología.

¿CUÁL ES VUESTRA OPINIÓN ACERCA DEL PROCEDIMIENTO Y CRITERIOS DE CERTIFICACIÓN EN EMBRIOLOGÍA CLÍNICA PUESTO EN MARCHA POR LA ESHRE?

Manuel Ardoy

Se me ocurren varias críticas a este proceso, pero creo que a la pregunta previa le falta pedirnos la opinión sobre las intenciones. Este apartado me parece tan relevante como lo consultado.

Si bien la ESHRE no menciona directamente sus intenciones, la

introducción a la Certificación expuesta en la página web me parece acertada. A nadie se le escapa la *self-education* mencionada en el documento, ni la enorme importancia del laboratorio que forma a un embriólogo como sello de confianza en sus conocimientos o habilidades, ni la heterogeneidad

formativa en los que ejercen en este campo, ni la frecuente "intrusión" de personas sin formación suficiente en embriología que incluso ocupan cargos de responsabilidad en nuestros laboratorios, ni... Es obvia la necesidad de solventar este panorama.

En cuanto a los criterios, el proceso de la ESHRE que nos ocupa no es ni el primero ni, posiblemente, el mejor, pero en el ámbito europeo ha sido el más relevante. Y no sólo en el reconocimiento particular de embriólogos aislados, hay más. Si la Embriología aspira a ser un grupo homogéneo en Europa (esto sería una necesidad fundamental), uno de los primeros pasos es elaborar un listado de conocimientos y habilidades comunes que pueda servir de base en cada país. El proceso de Certificación de la ESHRE lo incluye con el aval de una sociedad científica de incuestionable importancia.

Junto con todo lo dicho, creo que sí, que se puede y debe criticar el procedimiento y los criterios de la ESHRE, pero críticas en positivo ¿Cómo mejorarlo? *A priori* me gustaría aportar varias ideas aunque va a ser difícil que la ESHRE pueda emitir Certificaciones con más relevancia vinculante de la ya alcanzada porque su competencia legal es hoy limitada.

Los requerimientos para cada categoría creo que son algo carentes en el campo de conocimientos o habilidades técnicas, y un poco elevados en la valoración que le da a los años

trabajados en un laboratorio. Por ejemplo, no es lo mismo la situación de alguien que trabaja como director de un laboratorio donde sólo trabaja él, que el de otro que trabaja junto a varios más en un laboratorio en el que le sea difícil alcanzar el cargo de director.

También se puede discutir la diferencia que se ha establecido entre un licenciado frente al que posee un máster o doctorado, con esto no quiero menospreciar estos últimos, pero se podrían hacer razonamientos parecidos al apartado anterior.

En cuanto al examen, yo estuve allí, se puede criticar el propio sistema, también las preguntas realizadas, los temas tratados,... en fin, no sé si lo preguntado evaluaba lo que se quería valorar. Conozco algunos que no lo han aprobado, y por contacto frecuente con su saber profesional debo decir que la evaluación realizada ha fallado. En este punto veo uno de los principales errores del sistema.

Habría más críticas, pero el que haya leído hasta aquí seguro que podrá decir que éstas son razonables en cualquier proceso de evaluación y certificación profesional, incluso en el más

consensuado y con vinculación legal que se quiera comentar. Pero, aún así, creo que es mejorable ¿Cómo no lo iba a ser!? Es la versión 1.1 de un intento a nivel internacional de países con una enorme heterogeneidad legal y formativa en cuanto al profesional del Laboratorio de Embriología. En estos países hay sociedades que ya han establecido criterios para niveles en el profesional de embriología, ASEBIR entre ellas. Incluso abordajes para la ubicación legal dentro del mapa profesional sanitario y de su sistema de formación. Como botón de muestra, ASEBIR también ha establecido un Programa de Formación de Embriólogo Clínico que incluye los conocimientos y habilidades que ha de poseer un Embriólogo, compatible con lo establecido por la ESHRE, y que incluso lo corrige al alza. Pero junto a nuestra situación en España, otros países llegan a este proceso casi sin mención legal alguna sobre quién ejerce en estos laboratorios.

Partiendo de que cualquier ejercicio mental de mejora ha de partir de una fase de evaluación y crítica, con lo que he expuesto considero que lo establecido por la ESHRE es positivo y necesariamente mejorable.

“¿CUÁL ES VUESTRA OPINIÓN ACERCA DEL PROCEDIMIENTO Y CRITERIOS DE CERTIFICACIÓN EN EMBRIOLOGÍA CLÍNICA PUESTO EN MARCHA POR LA ESHRE?”

Antonio L. González Utor. CEHISPPA. Sevilla.

La certificación de ESHRE para los Embriólogos Clínicos (EC) suscitó, desde la notificación en 2006 donde se expuso la primera directriz por el Comité Ejecutivo, una gran expectación en nuestro colectivo. Hoy, podemos apreciar fácilmente que la certificación ha sido acogida con gran interés y de manera muy positiva por los EC españoles. Así, España es el país con mayor número de profesionales acreditados (137 de 442 acreditaciones, 31%). Sin embargo, esto podría ser engañoso si no ajustamos este porcentaje al número de EC que trabajamos en TRA en los diferentes

países europeos. Para ello, podemos tener una visión más objetiva, si extravasamos estos números y los relacionamos con los registros de actividad de la ESHRE.

Si relacionamos la actividad de TRA a nivel europeo vemos que países de nuestro entorno con un número de ciclos en 2004 similar o superior a España, como Inglaterra, Francia o Alemania, la acreditación ha tenido una menor repercusión (aprox. 5%, 12% y 6% de certificaciones, respectivamente). Esta menor valoración de los profesionales hacia la certificación, es comprensible

en Inglaterra y Alemania, al igual que Holanda, ya que poseen su propia acreditación nacional. No es nada comprensible en Francia o incluso Italia, donde la tasa de acreditados es significativamente baja con respecto al número de ciclos realizados. Este bajo impacto de acreditaciones también es destacable en los países nórdicos, donde con una suma total de ciclos realizados en 2004 semejante a España, su porcentaje no supera el 8%.

Por otro lado, vemos países como Bélgica, Austria, Grecia o Suiza, que en su conjunto efectuaron un número similar de

ciclos realizados a los datos españoles, el porcentaje de acreditaciones es del 18%. Quizás sea en estos países donde se ha mostrado un mayor interés de los EC por la acreditación ESHRE.

Visto estos datos, creo que se puede concluir que España es el país de Europa donde la acreditación de ESHRE ha tenido un mayor impacto entre el colectivo de EC. Esto lo que muestra no es que seamos ni mejores ni peores al adquirir la acreditación, sino que tenemos un mayor interés en ella, quizás incrementado por la ventaja de realizar el primer examen en idioma castellano. De todas formas, desde el punto de vista nacional y tomando el número de socios de ASEBIR, veríamos que más del 25% de las personas que trabajamos en los laboratorios de TRA estamos acreditados como EC Seniors.

Por tanto, a la pregunta sobre ¿Cuál es nuestra opinión sobre el procedimiento y criterios seguidos por ESHRE para la

certificación? Se podría responder de manera general como buena, aunque particularmente podamos tener ciertas reticencias. No obstante, es obvio que ESHRE tenía que comenzar este proceso de alguna forma. El primer paso era acreditar a los profesionales que llevamos años trabajando en EC. Para esto tomaron dos opciones para certificar a los EC seniors: la vía especial y la ordinaria con el examen en el pasado Congreso ESHRE de Barcelona. Esta forma de acreditación, a grandes rasgos, es similar a la utilizada en diversos ámbitos, como el otorgamiento de especialidades sanitarias a diferentes colectivos en España (MESTO, FESTO,...), o dentro de nuestro campo la certificación que se obtiene por ACE o HPC en Inglaterra. Además ahora está contemplada la certificación para profesionales que bien hace pocos años han comenzado o están comenzando su recorrido en Embriología Clínica.

Este conjunto de criterios, hace pensar que ESHRE ha actuado pensando en

todos los colectivos de EC, aunque es obvio que sus criterios y proceder son propios, sin que haya intervenido otras asociaciones científicas europeas, como ASEBIR, aunque haya existido alguna colaboración. Por tanto, creo que esta certificación además de ser muy importante, pues conlleva un reconocimiento a nuestra labor profesional, se ha llevado dentro de unos criterios aceptables. Además, esta certificación, aunque no es mandataria para la UE, puede ser un paso muy importante a corto o medio plazo en el ámbito de la Embriología Clínica en España.

*A veces
sirven 9 meses*

a BioCare
E u r o p e

*solo 24/48
horas*

*“Calidad y eficiencia
para laboratorios
de Fiv”*



www.biocareeurope.com
info@biocareeurope.com
Tel. +39.06.44.24.03.41
Fax +39.06.44.24.03.58

Introducing the G5 Series.™

Optimising embryo development
in a protective in vitro environment.



The G5 Series.™
Helping nature succeed.



www.embiol.com

Vitrolife 
Innovative Cell and Tissue Technology

Vitrolife distributor: Equipos Médico-Biológicos, C/Can Ràbia 13, 08017 Barcelona, Tel: 934 123 721, Fax: 934 122 192, Email: barcelona@embiol.com, www.embiol.com
Vitrolife Sweden AB, Faktorvägen 13, SE-434 37 Kungälv, Sweden. Tel: +46-31-721 80 00, Fax: +46-31-721 80 90, E-mail: fertility@vitrolife.com



CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y ULTRAESTRUCTURALES DE CIGOTOS Y EMBRIONES ANORMALES TRAS FIV / ICSI

Morphological and ultrastructural characteristics of abnormal zygotes and cleavage embryos after IVF / ICSI

M.Boada (1), M. Ponsà (2) (1) Servicio de Medicina de la Reproducción. Departamento de Obstetricia y Ginecología. Institut Universitari Dexeus (2) Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Universitat Autònoma de Barcelona. Dirección para correspondencia: Montserrat Boada Servicio de Medicina de la Reproducción. Institut Universitari Dexeus Gran Vía Carlos III, 71-75 08028 Barcelona monboa@dexeus.com

RESUMEN

La presencia de dos pronúcleos y dos corpúsculos polares a las 16-22 horas post inseminación *in vitro* mediante FIV/ICSI, se considera signo inequívoco de una correcta fecundación. Al realizar la valoración de la fecundación otros estados pueden observarse como consecuencia de un fallo de fecundación, una fecundación anómala o un desarrollo incorrecto. En este trabajo se describen las distintas situaciones anómalas que pueden observarse en las primeras fases de desarrollo embrionario: 3PN+2CP, 3PN+1CP, 2PN+1CP, 1PN+1CP, 1PN+2CP y No PN+2CP en D+1, así como los embriones parados en 2PN+2CP, embriones fragmentados y embriones multinucleados en D+2 o D+3. Se detallan las características morfológicas y ultraestructurales de cada caso y se describen los posibles orígenes y su posible viabilidad para la transferencia uterina.

Palabras clave: Ultraestructura / Desarrollo embrionario / Embriones humanos anormales / Polispermia / Fragmentación celular / Multinucleación.

SUMMARY

The presence of two pronuclei and two polar bodies 16-22 hours after *in vitro* insemination (IVF/ICSI) is considered as the unequivocal sign of correct fertilization. When fertilization is being evaluated, other stages can be observed as a consequence of a fertilization failure, an anomalous fertilization or an abnormal development. In this paper we describe the different anomalous situations that can be detected at the first stages of embryo development: 3PN+2PB, 3PN+1PB, 2PN+1PB, 1PN+1PB, 1PN+2PB and No PN+2PB at D+1, as well as embryos arrested at stage 2PN+2PB, fragmented embryos and multinucleated embryos at D+2 or D+3. The morphological and ultrastructural characteristics of each case are described, together with their possible origins and viability for uterine transfer.

Key words: Ultrastructure/ Embryo development/ Abnormal human embryos/ Polyspermy/ Cell fragmentation/ Multinucleation

La valoración de los ovocitos inseminados *in vitro* a las 16-22 horas post inseminación es el procedimiento comúnmente aceptado para evaluar la fecundación. No obstante, en ovocitos inseminados por microinyección espermática (ICSI) la formación de pronúcleos acostumbra a ser más rápida por lo que este periodo suele restringirse a las 16-19 horas post inseminación para evitar una observación excesivamente tardía en la que los pronúcleos ya hayan empezado a desaparecer (ASEBIR, 2008).

Si bien la observación de dos pronúcleos más o menos centrados en el interior del citoplasma y dos

corpúsculos polares en el espacio perivitelino (2PN+2CP), al día siguiente de la inseminación (D+1), se considera el estado correspondiente a una correcta fecundación, existen otras situaciones con las que podemos encontrarnos generalmente como consecuencia de procesos erróneos. Una activación partenogenética del ovocito, la polipenetración por parte de más de un espermatozoide o una reactivación anómala de la meiosis que comporte alteraciones en los procesos de formación de los pronúcleos y/o en la extrusión del segundo corpúsculo polar pueden originar situaciones que en la mayoría de los casos se consideran anómalas y en consecuencia, cigotos

y/o embriones no transferibles que deben ser descartados (ASEBIR, 2008).

CIGOTOS ANORMALES (D+1) 3PN+2CP

Generalmente el estado de 3PN+2CP se produce en la inseminación mediante FIV convencional y el origen suele ser masculino (diándrico) como consecuencia de la fecundación por parte de dos espermatozoides (dispermia). La polipenetración por más de dos espermatozoides es menos frecuente pero también puede producirse cuando el fallo en el bloqueo contra la polispermia ha sido mayor (>3PN+2CP). Las causas de la polipenetración tanto pueden ser por

inmadurez como por hipermadurez de los ovocitos tras inseminaciones con co-incubaciones largas. También se ha relacionado la polipenetración con la presencia de alteraciones de la zona pelúcida ya sean naturales o producidas durante la manipulación, con una incompleta reacción cortical, con la edad de la paciente, con el protocolo de estimulación y con la concentración de espermatozoides utilizada en la inseminación (Austin, 1974; Sathananthan and Trounson, 1982; Trounson et al., 1982; Ducibella 1996).

En la inseminación por ICSI en la que ciertamente se ha introducido un solo espermatozoide, la presencia de más de dos pronúcleos suele ser de origen femenino (digínico) y la observación de 3PN+2CP generalmente corresponde a una no extrusión del 2º corpúsculo polar y fragmentación o división del 1er corpúsculo polar que se ha confundido con la presencia de dos corpúsculos polares. En realidad sería 3PN+1CP.

La extrusión del 2º CP suele producirse muy cerca de donde se encuentra el 1er CP que corresponde al polo animal del ovocito (Antezak and Van Blerkom, 1999). El primer corpúsculo polar se diferencia del segundo corpúsculo polar por presentar gránulos corticales (GC), microtúbulos y material nuclear en forma de cromosomas en su interior (Fig. 1). Los orgánulos citoplasmáticos

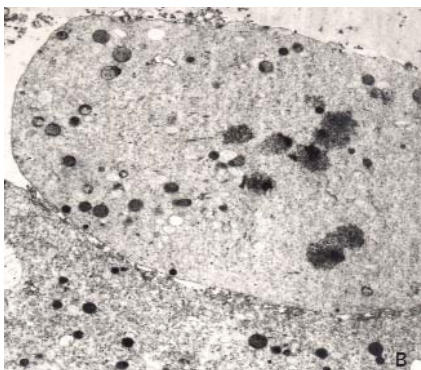


Figura 1. Detalle del primer corpúsculo polar de un cigoto parado en 2PN+2CP en el que se ven cromosomas y algunos gránulos corticales (5.000X).

que presenta son los mismos que se encuentran en el citoplasma del ovocito. Frecuentemente se observa dividido o

fragmentado. En el segundo corpúsculo polar se observan los mismos orgánulos citoplasmáticos que en el primero pero no suelen observarse GC y el material nuclear se presente envuelto por membrana nuclear en forma de núcleo o micronúcleos.

En los ovocitos 3PN fruto de una polispermia, se observan esporádicamente algunos gránulos corticales residuales en la periferia del citoplasma. Si la inseminación de los ovocitos se ha realizado precozmente (ovocitos inmaduros) es frecuente observar los gránulos corticales en regiones más internas del citoplasma formando pequeñas agrupaciones (Fig. 2). En el ovocito maduro los GC se

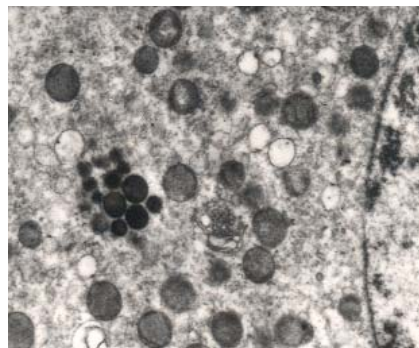


Figura 2. Detalle del citoplasma de un cigoto 3PN+2CP en el que se observa una agrupación de gránulos corticales situada cerca de los pronúcleos (20.000X).

encuentran dispuestos en la periferia debajo de la membrana plasmática. La formación de los GC ocurre en los primeros estadios de la maduración de los ovocitos aunque el momento varía según las especies (Berg and Wessel, 1997). Se originan a partir del complejo de Golgi que se hipertrofia formándose unas vesículas de contenido electrodensito que migran hacia la periferia de la célula gracias a la red de microfilamentos citoplasmáticos (Dimaggio et al., 1997, Wessel et al., 2002). La migración de los GC y la maduración del ovocito son procesos paralelos en la mayoría de las especies. Como consecuencia de la fecundación del ovocito por parte de un espermatozoide, se produce normalmente la reacción cortical para evitar la polispermia. Durante la reacción cortical, la membrana que

limita los GC se fusiona con la membrana plasmática (oolema) y el contenido de los gránulos se vierte al espacio perivitelino iniciándose las reacciones químicas que provocan el endurecimiento de la zona pelúcida (ZP) haciéndola menos vulnerable a los enzimas proteolíticos del acrosoma espermático. Los cambios producidos en la matriz extracelular producen una separación tanto física como bioquímica entre la célula y los espermatozoides externos. Actualmente, observaciones de microscopía electrónica y estudios citoquímicos utilizando lectinas parecen indicar que en el oocito humano existen diferentes tipos de GC (Jimenez-Movilla et al., 2004) que podrían desempeñar distintas funciones: modificación de la ZP para evitar la reacción acrosómica, modificación de la membrana del ovocito evitando la fusión con la membrana de otros espermatozoides, e incluso podrían estar relacionados con procesos previos a la fusión de membranas (Liu et al., 2003). Del contenido de los GC se conoce que varía según las especies demostrándose la presencia de determinados carbohidratos reactivos a las Lectinas y tipo N-glycanos en los GC de la especie humana (Jimenez-Movilla et al., 2004).

La falta o escasez de GC adyacentes a la membrana en los ovocitos polipenetrados, indica que la reacción cortical ya se ha realizado cuando se procede a la fijación de la muestra para su estudio ultraestructural. Generalmente se observan los dos corpúsculos polares en el espacio perivitelino más o menos degenerados y/o fragmentados en función del tiempo transcurrido antes de su fijación. En el citoplasma, se observa una mayor concentración de orgánulos citoplasmáticos alrededor de los pronúcleos. Los orgánulos más abundantes son las mitocondrias que son redondas o ligeramente ovales y con pocas crestas, y las vesículas de retículo endoplasmático liso (REL). Igual que en los ovocitos y otros cigotos no evolutivos es frecuente observar asociaciones de grandes vesículas de REL con mitocondrias redondas dispuestas a su alrededor. También se observan de forma esporádica, agrupaciones de gran

tamaño de pequeñas vesículas de retículo endoplasmático liso (AREL) (Fig. 3) que algunos autores relacionan con

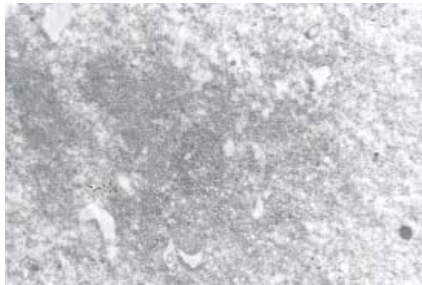


Figura 3. Detalle del citoplasma de un cigoto 3PN+2CP en el que se observa una agrupación de pequeñas vesículas de retículo endoplasmático liso (AREL) (12.000X).

ovocitos envejecidos (Sathananthan and Gunasheela, 2007). Al microscopio óptico, las AREL parecen grandes vacuolas aunque difieren de estas por su aspecto translúcido y según se ha visto al microscopio electrónico de transmisión (MET), por carecer de membrana que las delimite. Según su tamaño y posición, pueden llegarse a confundir con un pronúcleo. La existencia de AREL podría ser consecuencia de niveles elevados de estradiol en el día de administración de la hCG y su presencia se ha relacionado con bajas tasas de embarazo (Otsuki et al., 2004). Estos autores sugieren que un patrón anormal en la formación y distribución de REL podría comportar anomalías en el mecanismo de regulación del Ca^{2+} y por tanto llegar a afectar el desarrollo embrionario. Alteraciones en el mecanismo regulador del calcio que modifiquen las oscilaciones que regulan la expresión del RNAm del ovocito pueden afectar la correcta formación y funcionamiento de los pronúcleos en el cigoto, comprometiendo la activación de la síntesis de RNA nuclear, la primera síntesis de DNA durante la fase S y la posterior unión de los dos genomas en un único genoma embrionario (Tesarik et al., 2007).

En el interior de los pronúcleos, se observan pequeños grumos de cromatina y precursores nucleolares densos y compactos, polarizados hacia la zona que convergen los tres pronúcleos (Fig. 4). Los paquetes de láminas anilladas citoplasmáticas están presentes

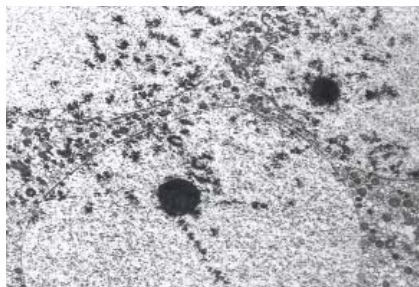


Figura 4. Imagen ultraestructural de un cigoto 3PN+2CP en la que se observan los tres pronúcleos con las estructuras intranucleares polarizadas hacia la región donde convergen los pronúcleos (6.000X).

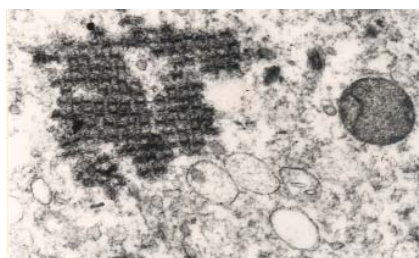


Figura 5. Paquete de láminas anilladas citoplasmáticas dispuestas paralelamente y situadas junto a una mitocondria (26.000X).

también en los cigotos (Fig. 5). Tienen unas características ultraestructurales como las de la envoltura nuclear observándose en sus cisternas numerosos poros complejos. También pueden encontrarse en el interior del núcleo en forma de fragmentos simples, preferentemente convergiendo hacia la zona de confluencia de los pronúcleos. Esta característica se considera como un signo de apoptosis igual que una baja concentración de poros en la membrana nuclear, típico de estados no evolutivos (Rawe et al., 2003). La presencia de pequeños complejos de Golgi indica que ya hay actividad puesto que en los ovocitos maduros parados en metafase II, es raro observar vesículas o cisternas de Golgi. Realizando un estudio secuencial de todo el cigoto y tras una observación minuciosa del citoplasma, se pueden observar restos de los axonemas espermáticos con los nueve pares de microtúbulos, los dos microtúbulos centrales y las nueve fibras densas, mientras que no es posible identificar las mitocondrias procedentes de las piezas intermedias. Generalmente, los restos espermáticos se encuentran muy cerca de los PN (Fig. 6) y raras veces se han descrito observaciones que permitan asegurar

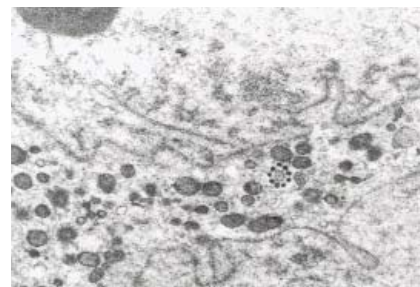


Figura 6. Restos del flagelo de un espermatozoide en la región del citoplasma próxima a los PN de un cigoto 3PN+2CP. En los pronúcleos se observan invaginaciones de la membrana nuclear, precursores nucleolares y fragmentos simples de láminas anilladas (12.000X).

que hay restos de distintos espermatozoides aunque algunas imágenes parecen sugerirlo (Van Blerkom et al., 1984; Boada and Ponsá 1987; Boada 1992; Sathananthan et al., 1999). La presencia de más de un centrosoma espermático, estructura de gran importancia en las primeras divisiones mitóticas por actuar como centro organizador de los microtúbulos y encargado de dirigir la organización de la placa metafásica y del citoesqueleto, puede comportar una segregación tripolar o una segregación totalmente desorganizada con dispersión de los cromosomas. En los 3PN+2CP que pasan a dos células tras una división aparentemente normal, pero cromosómicamente anormal, la explicación más probable es que se haya producido una segregación bipolar quedando uno de los dos centrosomas espermáticos excluido del proceso (Sathananthan et al., 1999).

La mayoría de los embriones con tres pronúcleos no evolucionan, observándose en su interior, signos estructurales típicos de degeneración como son: fragmentación citoplasmática, aumento de vesículas de REL que evolucionan hacia vacuolas con mitocondrias asociadas y posición excéntrica de los pronúcleos. Su capacidad de división es inferior a la de los cigotos correctamente fecundados pero si se dividen, los cambios que ocurren no se distinguen de los que se producen en los cigotos 2PN: migración de los PN, interdigitación de las envolturas nucleares y posición convergente de la cromatina, precursores nucleolares y demás estructuras nucleares. Cuando se

bloquean y no se dividen, las características morfológicas son equivalentes a las de los cigotos parados en estado de 2PN que no avanzan en el desarrollo embrionario. El *timing* de división de los cigotos con tres pronúcleos suele verse alterado (Van Blerkom, 1989), observándose normalmente retrasos (Sathananthan et al., 1999). La división de cigotos 3PN genera frecuentemente blastómeros multinucleados. Se ha visto que los cigotos 3PN pueden llegar al estado de blastocisto pudiendo incluso llegar a implantar ya que se conocen tanto fetos como recién nacidos triploides (69XXX o 69XXY) (Edwards, 1986). Los estudios citogenéticos de embriones polipenetrados demuestran que en muchos casos se trata de mosaicos en los que coexisten blastómeros normales y blastómeros con un número anómalo de cromosomas (Munné and Cohen, 1998; Sathananthan et al., 1999)

Es importante destacar que las observaciones al estereomicroscopio o al microscopio invertido si no se realizan con suficiente detenimiento, pueden en ocasiones llevar a confusiones. Un cigoto fecundado normalmente (2PN+2CP) que además presente grandes AREL, o una o más vesículas de tamaño similar al de los pronúcleos, puede interpretarse como un cigoto con tres o más PN. En estos casos, una observación más precisa o por un embriólogo más experimentado permitiría distinguir el pseudopronúcleo (PPN) de los verdaderos pronúcleos. Los PPN se distinguen fácilmente de los PN por no presentar precursores nucleolares ni las modificaciones típicas de la membrana en las regiones de convergencia de los pronúcleos (Van Blerkom, 1987). Es importante una observación detallada y responsable ya que a diferencia de los 3PN, el desarrollo de los cigotos con 2PN y un pseudopronúcleo debería ser normal.

3PN+1CP

La explicación de esta situación suele ser la no segregación del 2º corpúsculo polar. Se presenta más frecuentemente en casos de ICSI aunque también puede darse en la FIV convencional. En estos casos correspondería también a una

fecundación correcta por parte de un solo espermatozoide y la no extrusión del segundo corpúsculo polar que formaría un segundo pronúcleo de origen femenino (digínia). Las características ultraestructurales de los 3PN+1CP son parecidas a los 3PN+2CP a diferencia de que en estos casos sólo podrían encontrarse restos de un espermatozoide en el interior del ovocito. Igual que los anteriores, estos cigotos pueden dividirse normalmente y llegar a término por lo que deben descartarse desde un principio para su utilización clínica.

2PN+1CP

Puede tratarse de una activación partenogenética sin extrusión del segundo corpúsculo polar y formación de dos pronúcleos femeninos (Kaufan, 1983), o bien ser el producto de una fecundación normal por parte de un espermatozoide pero con la no extrusión del segundo corpúsculo polar por lo que el pronúcleo femenino tendría dotación diploide y el cariotipo fetal correspondería a una triploidía. Los fetos triploides de origen digínico suelen presentar retraso del crecimiento, macrocefalia y placenta no quística (Carceller et al., 2004). Únicamente el estudio cromosómico o molecular del material nuclear permitiría establecer el origen de estos casos que bajo ninguna circunstancia deberían ser transferidos por el riesgo de patologías fetales que pueden comportar. Es importante realizar una observación detallada antes de descartar dichos cigotos con el fin de confirmar la existencia de un solo corpúsculo polar único y bien diferenciado.

En el análisis ultraestructural al MET, la visualización de restos espermáticos en el interior del citoplasma constituiría la prueba irrefutable del origen no partenogenético de estos cigotos.

1PN+1CP

Generalmente se trata de una activación partenogenética sin extrusión del segundo corpúsculo polar y formación de un solo pronúcleo femenino (Kaufman, 1983). Otras explicaciones como la fecundación normal por parte de un

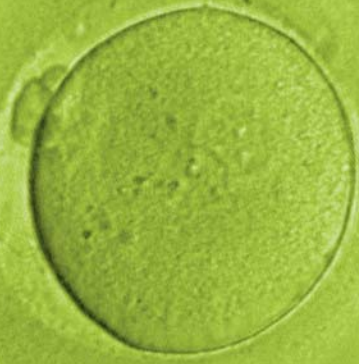
espermatozoide pero con ausencia de formación de uno de los dos pronúcleos y no extrusión del segundo corpúsculo polar son menos probables. Igual que en el caso anterior, únicamente la observación de restos espermáticos o el estudio del material nuclear puede esclarecer el origen de dichos cigotos que no deben considerarse para la transferencia uterina a pesar de que generalmente no evolucionan más allá del estado de 6-8 células (Sathananthan and Gunasheela, 2007).

1PN+2CP

La viabilidad de los cigotos 1PN +2CP varía según su origen. Mientras que los procedentes de FIV con inseminación convencional acostumbran a tener una dotación cromosómica diploide y en consecuencia son considerados generalmente como embriones transferibles, los procedentes de ICSI se ha visto que solamente son cromosómicamente normales el 14-28% de los casos (Staessen and Van Steirteghem, 1997; Balaban et al., 2004) por lo que suelen considerarse como no aptos para uso reproductivo.

Otsu y colaboradores (2004) postulan que cuando el pronúcleo mide 29 µm o más, lo más probable es que sea diploide mientras que si el tamaño de éste es inferior, el cigoto es cromosómicamente anormal en la mayoría de los casos. Generalmente, los 1PN+2CP de ICSI son producto de una activación partenogenética (Kaufman, 1983; Balakier et al 1993) y raras veces (7%) consiguen llegar a estado de blastocisto (Campos et al., 2007). Su composición genética acostumbra a ser haploide (31-47%) (Balaban et al., 2004; Sultan et al., 1995) sin embargo en los embriones que derivan de estas estructuras también pueden encontrarse aneuploidías simples o complejas e incluso mosaicos y embriones caóticos (Campos et al., 2007).

En general, la existencia de embriones diploides procedentes de cigotos 1PN+2CP, fenómeno mucho más frecuente en FIV convencional que en ICSI, puede tener distintos orígenes y suele interpretarse como consecuencia de una fecundación normal pero con asincronía en la formación de los dos



Somos los primeros
en conocerte ...

www.centromedicinaembrionaria.com

SERVICIOS

Servicio de diagnóstico genético preimplantacional

Estudio de aneuploidías
Estudio de reorganizaciones cromosómicas
Estudio de enfermedades monogénicas
Formación en las técnicas de biopsia y fijación

Servicio de biopsia testicular y estudio de meiosis

Realización de la biopsia testicular
Asesoramiento sobre la técnica de biopsia testicular
Valoración y asesoría de los resultados del estudio de meiosis

FISH en espermatozoides

Fragmentación del DNA

Consejo genético

Álvarez de Baena, 4 · 28006 Madrid · Tf. 91 411 50 80
Trias i Pujol, 5 · 08034 Barcelona · Tf. 666 582 141

Servicio de Diagnóstico Genético Preimplantacional

Esther Velilla García, PhD
María Oter Renom
Mercedes García Bermúdez, PhD
Silvia Fernández Fernández
Estefanía Toro Toro
Sara Corral Bermúdez

Servicio de Andrología

Ferran García José, MD

Asesor Científico

Juan G.Álvarez, PhD, MD



centro de medicina
embrionaria

www.centromedicinaembrionaria.com
pgd@pgdcem.com

... y sabemos que
crecerás sano



pronúcleos que dificulta visualizarlos simultáneamente (Sultan et al., 1995; Payne et al., 1997) o como consecuencia de la fusión del pronúcleo masculino y femenino dando lugar a un único pronúcleo diploide de gran tamaño (Levron et al., 1995). La posibilidad de una diploidización temprana de cigotos haploides es la explicación menos probable.

En FIV convencional, la observación de cigotos con solo 1PN+2CP suele considerarse normal y se interpreta como una asincronía en la aparición de los dos pronúcleos. Payne et al (1997) observa sincronización en la formación de los dos pronúcleos en un 63% de los casos. Para la formación del pronúcleo masculino es necesario que se descondense la cromatina espermática, altamente compactada gracias a las protaminas nucleares, mediante la acción de histonas ovocitarias. Una disponibilidad insuficiente de histonas puede comportar un retraso en la transformación del núcleo espermático en pronúcleo masculino y con ello, una asincronía de los pronúcleos.

Para detectar los posibles casos de asincronía, en los cigotos 1PN+2CP se recomienda la realización de una segunda observación para constatar la presencia o ausencia del segundo pronúcleo. Staessen et al (1993) observan que el 25% de estos cigotos forman un segundo pronúcleo asincrónico al cabo de 4-6 horas.

A pesar de que se haya demostrado que un gran número de los cigotos 1PN+2CP son cromosómicamente normales, si las observaciones se han realizado en el *timing* adecuado y no se observaron los 2PN+2CP, debe tenerse en cuenta que únicamente con microscopía óptica no puede descartarse un posible origen partenogenético por lo que en igualdad de *score* embrionario, preferentemente se seleccionarán para la transferencia embriones en los que se hayan observado los dos pronúcleos. Tan solo la observación ultraestructural de restos espermáticos en el interior del citoplasma del cigoto o el estudio del material nuclear puede esclarecer definitivamente el origen de dichos casos.

No PN+2CP

La no observación de pronúcleos pero con presencia de dos corpúsculos polares frecuentemente se mal cataloga como "no fecundado" (NF+2CP). Este estado es susceptible de distintas interpretaciones aunque estudios genéticos han demostrado que en un 40% de los casos se trata de cigotos diploides con una tasa de blastocisto de hasta el 56% lo que parece indicar que podría tratarse de embriones con una velocidad de división distinta (Campos et al., 2007). Para esclarecer la situación, en estos casos se requiere una segunda observación al cabo de unas horas. Pasado este tiempo, si siguen sin observarse estructuras nucleares, se aconseja repetir la observación a las 25-27 horas post inseminación para valorar la división temprana o *early cleavage* (EC).

En caso de observarse división, la explicación más probable es que la fecundación hubiera sido muy temprana y/o la velocidad de división muy rápida por lo que en el momento de valorar la fecundación, los pronúcleos ya no fueran visibles y el cigoto se estuviera preparando para la primera división embrionaria. Si por el contrario, a las 25-27 horas post inseminación se observan por primera vez los dos pronúcleos correspondería a una fecundación tardía.

Cuando las observaciones se han realizado en el *timing* adecuado y en ningún momento se han observado los dos PN y dos CP, no se puede excluir un posible origen partenogenético por lo que preferentemente se escogerán para la transferencia uterina, aquellos embriones en los que se hayan observado los dos pronúcleos.

Si no se observa división ni a las 25-27h post inseminación (EC D+1) ni al día siguiente (D+2), la explicación más probable es la no fecundación del ovocito con división o fragmentación del 1er CP o un paro muy precoz en el correcto desarrollo hacia el estado de cigoto, justo después de la extrusión del 2º CP pero antes de la formación de los PN, lo que se conoce como una fecundación silenciada. En estos casos, el estudio ultraestructural permite

observar estructuras espermáticas en el interior del ovocito que confirman la penetración del espermatozoide. Generalmente se observa la cromatina espermática más o menos descompactada y restos de la estructura axonemática del flagelo. También es posible observar fragmentos de membrana nuclear alrededor de los cromosomas del ovocito y/o de la cromatina espermática, dispuestos desordenadamente indicando deficiencias en la formación de la membrana nuclear (Fig. 7).

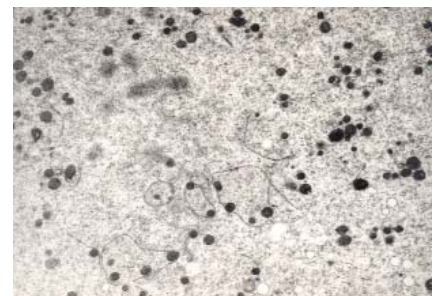


Figura 7.- Detalle de la región del citoplasma donde se encuentran los cromosomas de un ovocito en el que no se han visualizado pronúcleos (No PN+2CP), y en la que se observan fragmentos de membrana nuclear dispuestos de forma anómala. (8.000X).

EMBRIONES ANORMALES EN ESTADOS PRECOCES DE DIVISIÓN (D+2 /D+3)

La valoración de las primeras divisiones embrionarias debe realizarse a las 44-47 horas post inseminación en D+2 o a las 67-71 horas en D+3. Los criterios para evaluar el desarrollo embrionario incluyen la valoración del número de células o blastómeros, simetría, presencia de núcleos y grado de fragmentación, como parámetros más significativos (ASEBIR, 2008). El número y la semejanza de tamaño de los blastómeros se consideran unos de los parámetros más importantes ya que la coexistencia de blastómeros de distinta medida se relaciona con elevadas tasas de aneuploidía y multinucleación (Hardarson et al., 2001).

Existen distintos métodos para la clasificación y selección de los embriones de mejor pronóstico basándose en la observación de dichos parámetros existiendo unanimidad en considerar embriones de mal pronóstico los que presentan una tasa

de fragmentación superior al 25% y/o multinucleación en alguna de sus células.

En D+2, el embrión debería estar en estado de cuatro células o blastómeros similares, fruto de dos divisiones mitóticas. En D+3, una nueva división debería haberse producido en todas sus células dando lugar a un embrión de ocho células. Embriones con un *timing* de división lento o excesivamente rápido se consideran embriones de mal pronóstico. Estados distintos suelen ser debidos a una mayor o menor velocidad de división de las células así como a una asincronía entre ellas que origina la coexistencia de blastómeros de distinto tamaño, procedentes de distintas divisiones o ciclos celulares.

EMBRIONES PARADOS EN 2PN+2CP EN D+2

La ausencia de división es un fenómeno que se produce ocasionalmente y corresponde a una interrupción del desarrollo en la transición entre la primera interfase y la primera mitosis. En estos casos, la condensación del DNA en cromosomas, la rotura de la membrana nuclear y la formación del huso mitótico bipolar no se producen (Asch et al., 1995). Algunos autores correlacionan este fenómeno con cigotos con pronúcleos separados que no consiguen disponerse en aposición (Tesarik et al., 2007). Estudios de epifluorescencia lo asocian con fenómenos de condensación anómala y fragmentación del DNA no visibles con microscopía óptica (Rawe et al., 2003).

Estudios ultraestructurales de estos cigotos parados muestran un mayor número de paquetes de láminas anilladas citoplasmáticas cerca de los pronúcleos en comparación con los cigotos evolutivos, menor número de poros en la membrana de los pronúcleos, fragmentos de láminas anilladas atrapadas en el interior de los pronúcleos y presencia de numerosas mitocondrias con inclusiones. Dichas observaciones sugieren una comunicación núcleo-citoplasma comprometida que podría ser la responsable de la interrupción del desarrollo embrionario y de la ausencia de las primeras divisiones mitóticas

(Rawe et al., 2003). Entre las dos capas de la membrana nuclear de los embriones parados en fase de pronúcleos se observan frecuentemente pequeños cuerpos ovales, electrodensos y con membrana propia que los delimita. Se encuentran preferentemente en la zona donde convergen los pronúcleos igual que los fragmentos de láminas anilladas y otras estructuras nucleares. Son de 0,15-0,30 μm y parece que se proyectan del núcleo hacia el citoplasma ya que es la lámina externa de la membrana la que se encuentra dilatada hacia el citoplasma (Fig. 8) (Boada,1992). La

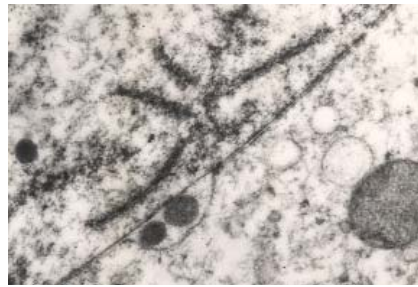


Figura 8.- Detalle de la membrana de uno de los pronúcleos de un ovocito fecundado parado en 2PN+2CP, en el que se pueden ver láminas anilladas intranucleares y la presencia de cuerpos ovales que se proyectan hacia el citoplasma entre las dos capas de la membrana nuclear (28.000X).

presencia de estas vesículas o cuerpos ovales intermembrana también se ha observado en cigotos polispermicos y en embriones tempranos, y su función y contenido sigue estando por determinar.

EMBRIONES DIVIDIDOS

El estudio ultraestructural de embriones humanos en D+2/ D+3 nos muestra la presencia de blastómeros de forma oval o redondeada de 75-85 μm de diámetro máximo y 50-60 μm de diámetro mínimo. La membrana citoplasmática es prácticamente lisa. Se observan pocos *microvilli* en la región de la membrana correspondiente a la parte del blastómero que queda libre mientras que en la región que se encuentra en contacto con los otros blastómeros presenta más *microvilli* frecuentemente interconectados entre sí, uniones celulares primitivas y pequeñas vesículas o fragmentos citoplasmáticos de distinta electrodensidad. Generalmente, las uniones intercelulares son más abundantes en D+3 que en D+2 y se observan como un engrosamiento de la

membrana de mayor electrodensidad. Uniones celulares más complejas, *gap* y *tigh junction*, no empiezan a aparecer hasta estadios más avanzados (Lopata et al.,1983). La comunicación intercelular juega un papel importante en la diferenciación celular. Parece comúnmente aceptado que la polarización y diferenciación celular de los embriones se produce bajo control genético sin embargo, queda mucho por conocer sobre los efectos de los distintos productos génicos que intervienen en dichos procesos (Scott, 2000). Tanoue y Takeichi (2004) describen la existencia de determinadas proteínas responsables de regular la organización del citoesqueleto de la periferia de las células, modulando así los contactos entre blastómeros y la polaridad. Estudios recientes en bovino sugieren que la diferencia de longitud en los puntos de contacto intercelulares podría estar relacionada con el comportamiento de los blastómeros al inicio de la diferenciación celular (Bhojwani et al., 2007).

Los orgánulos suelen distribuirse por todo el citoplasma aunque se observa un ligero incremento alrededor del núcleo y en algunos casos, una menor distribución en la región periférica de los blastómeros más externos en contacto con la zona pelúcida, pero no visible en la región del córtex citoplasmático que se encuentra en aposición con otros blastómeros. Las mitocondrias siguen siendo preferentemente redondas, de matriz muy electrodensa con inclusiones y pocas crestas normalmente aplanadas. Se observan también algunas mitocondrias alargadas y con crestas transversales, típicas de estadios más avanzados con mayor actividad tras la diferenciación celular. Las mitocondrias pueden presentarse libres o formando complejos con vesículas de retículo endoplasmático. El retículo endoplasmático se presenta exclusivamente en forma de retículo liso. Se observan vesículas de distintos tamaños (50-500 nm) distribuidas por todo el citoplasma. Además de los complejos vesícula-mitocondrias, también se observa REL asociado a las uniones intercelulares y a paquetes de láminas anilladas, formando

continuidad con éstas. La frecuencia de láminas anilladas es mucho menor en los embriones que en los ovocitos o cigotos. Se observan también algunos complejos de Golgi en forma de pequeñas asociaciones de túbulos que se presentan de forma esporádica y aislada en el citoplasma de estos embriones. Puntualmente se observa la presencia de algún lisosoma secundario en forma de cuerpo multivesiculado. En la periferia del citoplasma se puede encontrar aisladamente algún gránulo cortical y paquetes de microtúbulos (40 o más) dispuestos paralelamente entre sí y con la membrana citoplasmática. La presencia de microtúbulos en la periferia de los blastómeros se relaciona con el importante papel que éstos desempeñan durante la división celular. En el citoplasma de los embriones de pocas células empiezan a observarse también algunos ribosomas aunque la concentración de estos orgánulos en forma libre o de polisomas incrementa a medida que transcurren las primeras divisiones embrionarias siendo muy abundantes en embriones de 14-16 células (Lopata et al., 1983). La presencia de ribosomas al tercer día de desarrollo coincide con la activación del genoma. En la especie humana, la activación del genoma embrionario empieza en el estadio de cuatro células con la activación de la síntesis de RNA nuclear y justo a continuación, entre cuatro y ocho células, empiezan a aparecer los primeros signos bioquímicos y morfológicos de la expresión génica embrionaria (Tesarik et al., 2007). Si bien durante los primeros tres días el embrión sobrevive mayoritariamente gracias a las reservas ovocitarias y según estudios recientes, también a los RNAm que aporta el espermatozoide (Ostermeier et al., 2004; Ambartsumyan y Clark, 2008), a partir de este momento debe iniciarse la actividad transcripcional del DNA del propio embrión.

El núcleo de los blastómeros es poco electrodenso, tiene forma esférica (20-25µm) y suele estar en el centro de la célula. La membrana nuclear es doble con numerosos poros y dilataciones de la membrana externa en las que se encuentran pequeños cuerpos ovoides (Dvorak et al., 1982; Sathananthan, 1984; Boada, 1992). En

el interior del núcleo se encuentran distintos precursores nucleolares de aproximadamente 2µm de diámetro próximos a la membrana nuclear. En embriones de 2-4 células, tienen forma esférica y son extremadamente densos y compactos similares a los que se observan en los pronúcleos de los cigotos. En estadios posteriores (8-16 células), los nucleolos ya presentan un aspecto granular y reticulado, menos compacto y con menor electrodensidad indicativo de actividad nucleolar tras la activación de la expresión del genoma embrionario (Lopata et al., 1983; Sathananthan, 1993). En el interior del núcleo se observan también pequeños agregados de heterocromatina de forma dispersa y en ocasiones, algún fragmento simple de láminas anilladas intranucleares.

EMBRIONES FRAGMENTADOS

La presencia abundante de fragmentos citoplasmáticos puede llegar a comprometer la viabilidad y potencial implantatorio del embrión. Dependiendo del tamaño y distribución de los fragmentos, la existencia de fragmentación puede tener distinto pronóstico (Alikani and Cohen, 1995; Alikani et al., 2000). Se ha sugerido que algunos patrones de fragmentación conllevarían la pérdida total o parcial de algunas proteínas reguladoras específicas de los blastómeros lo que podría comportar consecuencias negativas para el desarrollo embrionario tanto de los blastómeros fragmentados como del embrión en su totalidad (Antezak and Van Blerkom, 1999).

Algunos autores relacionan la fragmentación con fenómenos apoptóticos (Jurisicova et al., 1996) aunque la existencia de dicha relación sigue siendo controvertida. Estudios realizados con Anexina V, proteína calcio-dependiente con gran afinidad por los fosfolípidos internos de la membrana citoplasmática, parecen indicar que no existe correlación (Antezak and Van Blerkom, 1999). Según un estudio de Spanos y colaboradores (2002) en el que evalúan la capacidad fagocitaria de los blastómeros, los fenómenos apoptóticos se encuentran inhibidos

durante las primeras fases de desarrollo embrionario y no se inician hasta después de la fase de compactación. Sin embargo, estudios más recientes demuestran que la fragmentación podría estar regulada por ciertos componentes del programa genético de la apoptosis como el gen Caspase-3, inductor de la muerte celular (Jurisicova et al., 2003).

Algunos autores atribuyen la reducida viabilidad de los embriones fragmentados a la presencia de fragmentos *per se*, sin embargo, los beneficios de efectuar una extracción de los fragmentos previamente a la transferencia embrionaria parecen limitados. Según Alikani (2007), únicamente se observa un aumento de la tasa de implantación tras la aplicación de esta técnica en los embriones con 15-35% de fragmentos. En los embriones con <15% o >35% de fragmentos la influencia es menor en la mayoría de los casos ya sea por que la fragmentación es muy leve y apenas comporta consecuencias negativas para el embrión o bien por que el daño es excesivo y probablemente irreversible.

Trabajos con video-filmaciones han demostrado que en algunos embriones la fragmentación puede considerarse como un episodio temporal que puede reducirse o incluso desaparecer al cabo de algunas divisiones celulares. También se ha constatado que los embriones mitóticamente inactivos no se fragmentan por lo que el proceso de fragmentación se relaciona únicamente con las células en división (Alikani, 2007).

Los fragmentos son de origen citoplasmático y están delimitados por membrana citoplasmática lisa en la que prácticamente no se observan *microvilli*. Tampoco se observan uniones que los conecten entre sí ni con los blastómeros. Según su tamaño pueden llegarse a confundir con un blastómero o con los corpúsculos polares aunque se distinguen de ellos por ser anucleados y por presentar formas variadas. Por lo general, los fragmentos no presentan ningún tipo de material nuclear en su interior y el citoplasma contiene los mismos orgánulos citoplasmáticos que el de los blastómeros aunque la

distribución suele ser distinta. Los orgánulos se concentran en determinadas zonas de los fragmentos dejando regiones sin orgánulos que se observan como regiones más claras que en ocasiones pueden tener forma de anillo y abarcar toda la región periférica del fragmento, similar al anillo acitoplasmático que se observa en los blastómeros en procesos degenerativos (Veeck, 1999), o incluso ocupar prácticamente todo el fragmento (fragmentos de aspecto vacío). La electrodensidad de los fragmentos suele ser variable pudiéndose encontrar en un mismo embrión, fragmentos más oscuros que otros que en cortes semifinos se observan con diferente grado de tinción (Fig. 9).

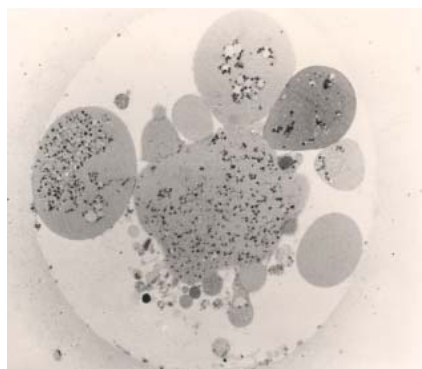


Figura 9.- Corte semifino de un embrión fragmentado en el que se observa una distribución variable de los orgánulos y diferente grado de tinción entre los fragmentos.

EMBRIONES MULTINUCLEADOS

A pesar de que algunos autores habían sugerido que la multinucleación podría ser un fenómeno temporal y reversible de la división celular (Staessen and Van Steirteghem, 1998), la presencia de multinucleación se correlaciona directamente con un incremento en la tasa de aneuploidias y mosaicismo (Sathananthan et al., 1999; Hardarson et al., 2001) por lo que los embriones que la presentan se consideran de mal pronóstico y existe consenso en considerarlos como no transferibles por lo que deberían excluirse para la transferencia uterina a menos que no exista ningún otro embrión de mejor pronóstico (Gil et al., 2007)

En muchas ocasiones la multinucleación se presenta asociada a otros fenómenos

anómalos como la polispermia (Van Blerkom et al., 1984) fruto de una segregación anómala (Kola and Trounson, 1989, Sathananthan et al., 1999), el cese del desarrollo embrionario o la fragmentación citoplasmática (Van Royen et al., 2003). También puede detectarse en embriones sin ningún otro signo de anomalía morfológica (Fig. 10).

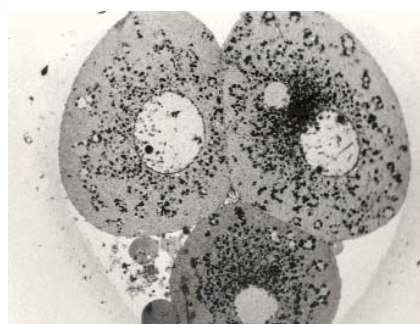


Figura 10.- Corte semifino de un embrión multinucleado en estado de cuatro células procedente de un cigoto 2PN+2CP. En la imagen se observan tres blastómeros, uno de ellos con dos núcleos.

Distintos estudios han reportado una incidencia variable de blastómeros multinucleados de hasta el 74% en embriones de D+2/D+3 procedentes de cigotos 2PN+2CP (Gil et al., 2007).

Mayoritariamente, la multinucleación se considera fruto de la ausencia de división citoplasmática (citocinesis) tras una replicación mitótica del material nuclear, división nuclear (cariocinesis) o fragmentación del núcleo (Lopata et al., 1983, Hardy et al., 1993). Según Tesarik et al., (1987), este fenómeno se produce por una migración deficiente de los cromosomas durante la anafase mitótica que comportaría la aparición de grupos aislados de cromosomas que posteriormente quedarían individualmente envueltos por membrana nuclear formando distintos núcleos o micronúcleos. La presencia de blastómeros multinucleados puede tener distintos orígenes siendo los más probables los defectos en el citoesqueleto o en la placa metafásica del ovocito o blastómero y las anomalías en el centrosoma espermático. Se han relacionado con el fenómeno de la multinucleación: las condiciones no adecuadas de cultivo

embrionario como por ejemplo cambios en la temperatura (Winston et al., 1991), determinados medios de cultivo (Pickering et al., 1995) o incluso los fármacos empleados en la estimulación del ciclo ovulatorio (De Vincentiis et al., 2005).

Existen distintos patrones de multinucleación que tienen en cuenta el número de células afectadas, el número de núcleos que se observan y el día de desarrollo en el que se detecta la anomalía. Según el patrón de multinucleación, el pronóstico del embrión será distinto. Meriano et al (2004) distingue dos fenotipos embrionarios distintos según presenten blastómeros binucleados o multinucleados y encuentra mayor tasa de embarazo transfiriendo embriones con blastómeros binucleados (48%) en comparación con los multinucleados (15.4%).

La observación de la división temprana (EC) en la tarde del D+1 permite detectar los primeros blastómeros multinucleados. Kligman y colaboradores (1996) describen que el 70% de las células con multinucleación en D+2/D+3 presentan tres o más núcleos mientras que en estadios más avanzados (D+4) suelen ser binucleadas. Dichos autores postulan que la multinucleación en D+2/D+3 produce mayoritariamente embriones cromosómicamente anormales mientras que si se observa en D+4 o estadios posteriores, la mayoría de los embriones serán cromosómicamente normales.

También se han descrito embriones multinucleados en los primeros estadios de desarrollo embrionario que posteriormente son mononucleados (Gil et al., 2007) y distintos autores han reportado el nacimiento de niños sanos a partir de la transferencia de embriones multinucleados (Balakier and Cadesky, 1997; Jackson et al., 1998; Pelinck et al., 1998). La explicación a este fenómeno de reparación o corrección de la multinucleación también es muy variada e incluye distintas hipótesis como la recuperación en divisiones posteriores de la citocinesis, la fusión posterior de los núcleos derivados inicialmente de un mismo núcleo

(Kligman et al., 1996) y la relegación al trofotodermo de las células cromosómicamente anormales (Mottla et al., 1995).

El volumen de los blastómeros multinucleados es significativamente mayor que el de sus blastómeros hermanos. Los análisis morfométricos demuestran que los blastómeros mononucleados de embriones multinucleados son menores que los mononucleados de embriones normales (Hnida and Ziebe, 2007).

Los núcleos de las células multinucleadas suelen ser de menor tamaño que los de las células mononucleadas (Lopata et al., 1983) aunque frecuentemente se observan núcleos de distinto tamaño en un mismo blastómero. Los núcleos suelen ser redondos aunque a veces pueden ser ovales e incluso lobulados. La membrana nuclear presenta múltiples poros y la presencia de pequeños cuerpos ovales entre las dos capas de la membrana que en ocasiones son de mayor tamaño y menor electrodensidad que los observados en los pronúcleos. Una característica particular de los blastómeros multinucleados es la ausencia de polarización de las estructuras nucleares. A diferencia de la polarización observada en las estructuras nucleares de los pronúcleos de los cigotos hacia la zona de convergencia de estos, las estructuras nucleares de los distintos núcleos de un mismo blastómero no presentan esta tendencia a polarizarse de forma convergente (Fig. 11) (Boada, 1992).

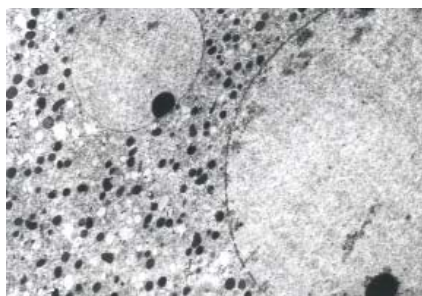


Figura 11.- Imagen ultraestructural en la que se observa la distribución no polarizada de las estructuras intranucleares en los núcleos de un blastómero multinucleado (6.000X).

BIBLIOGRAFÍA

Alikani M, Cohen J. Patterns of cell fragmentation in the human embryo. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:285.

Alikani M, Calderón G, Tomkin G, Garrisi J, Kokot M, Cohen J. Cleavage anomalies in early human embryos and survival after prolonged culture in-vitro. *Hum Reprod* 2000;15:2634-2643.

Alikani M. The origins and consequences of fragmentation in mammalian eggs and embryos. En: Elder K, Cohen J, editors. *Human preimplantation embryo selection*. London: Informa Healthcare; 2007. p. 51-77.

Ambartsumyan G, Clark AT. Aneuploidy and early human embryo development. *Hum Mol Genet* 2008;17(R1):R10-5.

Antezak M, Van Blerkom J. Temporal and spatial aspects of fragmentation in early human embryos: possible effect on developmental competence and association with the differential elimination of regulatory proteins from polarised domains *Hum Reprod* 1999;14:429-447.

Asch R, Simerly CS, Ord T, Ord VA, Schatten G. The stages at which human fertilization arrests: microtubule and chromosome configurations in inseminated oocytes which fail to complete fertilization and development in humans. *Hum Reprod* 1995;10:1897-1906.

ASEBIR. Cuadernos de embriología clínica. II Criterios ASEBIR de valoración morfológica de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos. 2ª edición. 2008.

Austin, CR. Fertilization. En: Lash J, Whittaker JR editors. *Concepts of Development*. Stanford: Sinauer Associates; 1974. p. 48-75

Balaban B, Yakikn K, Urman B, Isiklar A, Tesarik J. Pronuclear morphology predicts embryo development and chromosome constitution. *Reprod BioMed Online* 2004;8:695-700.

Balakier H, Squire J, Casper RF. Characterization of abnormal pronuclear human oocytes by morphology, cytogenetics and in-situ hybridization. *Hum Reprod* 1993;8:402-408.

Balakier H, Cadesky K. The frequency and developmental capability of human embryos containing multinucleated blastomeres. *Hum Reprod* 1997;12:800-804.

Berg LK, Wessel GM. Cortical granules of

the sea urchin translocate early in oocyte maturation. *Development* 1997;124:1845-1850.

Bhojwani S, Tomek W, Jonas L, Becker F, Alm H, Torner H, et al. Ultrastructural analysis reveals differences of intracellular contact lengths in bovine embryos produced in vivo, in vitro and by somatic cell nuclear transfer. *Mol Reprod Dev* 2007;74:775-784.

Boada M. Ultraestructura d'oòcits humans inseminats in vitro. Tesis Doctoral. Universidad Autònoma de Barcelona. 1992.

Boada M, Ponsà M. Ultrastructural studies of human zygotes. En: Egozcue J, Barberá-Guillem E, editors. *Cellular aspects of in vitro fertilization*. Cell Biology Reviews. Leioa-Vizcaya: Springer International; 1987. p. 32-38.

Campos G, Parriego M, Vidal F, Coroleu V, Veiga A. Anàlisis cromosòmic y potencial de desarrollo de cigotos monopronucleares y apronucleares. *Rev Iberoam Fertilidad* 2007;24:29-34.

Carceller R, Saenz I, Gracia E, Bassecourt M, Ureña T, Garcia-Dihinx J, et al. Triploidia completa 69 XXY. Carta al director. *An Pediatr (Barc)* 2004;61:562-564.

De Vincentiis S, Nodar F, Lavolpe M, Fiszbajn G, Rawe V, Brugo Olmedo S. Embryo multinucleation (MNC) and clinical outcome: Its relationship with the use of agonists and antagonists of GnRH in ART and the cellular events associated with this nuclear alteration. *Fertil Steril* 2005;84(supl 1), P373:S284.

Dimaggio AJ, Lonergan TA, Stewart-Savage J. Cortical granule exocytosis in hamster eggs requires microfilaments. *Mol Reprod Dev* 1997;47:334-340.

Ducibella T. The cortical reaction and development of activation competence in mammalian oocytes. *Hum Reprod Update* 1996;1:29-42.

Dvorak M, Tesarik J, Ladislav P, Travnik P. Fine structure of human two cell ova fertilized and cleaved in vitro. *Fertil Steril* 1982;37:661-667.

Edwards RG. Causes of early embryonic loss in human pregnancy. *Hum Reprod* 1986;1:185-198.

- Gil M, D'Ommar G, Póo M, Sosa A, Piras M, Piras R, et al. Insights on blastomere nuclearity. *J Assist Reprod Genet* 2007; 24:17-22.
- Hardarson T, Hanson C, Sjögren A, Lundin K. Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Hum Reprod* 2001;16:313-318.
- Hardy K, Winston R, Handyside A. Binucleated blastomeres in preimplantation human embryos in vitro: Failure of cytokinesis during early cleavage. *J Reprod Fertil* 1993;98:549-558.
- Hnida C, Ziebe S. Morphometric análisis of human embryos En: Elder K, Cohen J, editors. *Human preimplantation embryo selection*. London: Informa Healthcare; 2007. p. 89-99.
- Jackson KV, Ginsburg ES, Hornstein MD, Rein MS, Clarke RN. Multinucleation in normally fertilized embryos is associated with an accelerated ovulation induction response and lower implantation and pregnancy rates in in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 1998;70:60-66.
- Jiménez-Movilla M, Avilés M, Gómez-Torres MJ, Fernández-Colom PJ, Castells MT, de Juan J, et al. Carbohydrate analysis of the zona pellucida and cortical granules of human oocytes by means of ultrastructural cytochemistry. *Hum Reprod* 2004;19:1842-1855.
- Juriscova A, Varmuza S, Casper RF. Programmed cell death and human embryo fragmentation. *Mol Hum Reprod* 1996;2:93-98.
- Juriscova A, Antenos M, Varmuza S, Tilly JL, Casper RF. Expression of apoptosis-related genes during human preimplantation embryo development: potential roles for the Harakiri gene product and Caspase-3 in blastomere fragmentation. *Mol Hum Reprod* 2003;9:133-141.
- Kaufman MH. Mammalian parthenogenesis: background to experimental studies, terminology and pathways of development. En: Kaufman MH, editors. *Early mammalian development. Parthenogenetic studies*. Cambridge: Cambridge University Press; 1983. p. 1-259.
- Kligman I, Benadiva C, Alikani M, Munné S. The presence of multinucleated blastomeres in human embryos is correlated with chromosomal abnormalities. *Hum Reprod* 1996;11:1492-1498.
- Kola I, Trounson A. Dispermic human fertilization: Violation of expected cell behaviour. En: Schattently Schatten G, editor. *The cell biology of fertilization*. San Diego: Academic Press. Inc; 1989. p. 277-293.
- Levron J, Munné S, Willadsen S, Rosenwaks Z, Cohen J. Male and female genomes associated in a single pronúcleos in human zygotes. *Biol Reprod* 1995;52:653-657.
- Liu M, Sims D, Calarco P, Talbot P. Biochemical heterogeneity, migration, and pre-fertilization release of mouse oocyte cortical granules *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1:77.
- Lopata A, Kohlman D, Johnston J. The fine structure of normal and abnormal human embryos developed in culture. En: Beier H, Lindener H, editors. *Fertilization of human eggs in vitro*. Heidelberg: Springer Verlag; 1983. p.189-210.
- Merino J, Clark C, Cadesky K, Laskin CA. Binucleated and micronucleated blastomeres in embryos derived from human assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online* 2004;9:511-520.
- Mottla GL, Adelman MR, Hall JL, Gindorff PR, Stillman RJ, Johnson KE. Lineage tracing demonstrates that blastomeres of early cleavage-stage human pre-embryos contribute to both trophectoderm and inner cell mass. *Hum Reprod* 1995;10:384-391.
- Munné S, Cohen J. Chromosome abnormalities in human embryos. *Hum Reprod Update* 1998;4:842-855.
- Ostermeier GC, Millar D, Huntriss JD, Diamond MP, Krawetz SA. Reproductive biology:delivering spermatozoan RNA to the oocyte. *Nature* 2004;6988:154.
- Otsu E, Sato A, Nagaki M, Araki Y, Utsunomiya T. Developmental potential and chromosomal constitution of embryos derived from larger single pronuclei in human zygotes used in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004;81:723-724.
- Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y, Kubo H. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod* 2004;19:1591-1597.
- Payne D, Flaherty SP, Barry MF, Matthews CD. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear formation in human oocytes using time-lapse cinematography. *Hum Reprod* 1997;12:532-541.
- Pelinck MJ, De Vos M, Dekens M, Van Der Elst J, De Sutter P, Dhont M. Embryos cultured in vitro with multinucleated blastomeres have poor implantation potential in human in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998;13:960-963.
- Pikering S, Taylor A, Johnson M, Braude P. An analysis of multinucleated blastomere formation in human embryos. *Hum Reprod* 1995;10:1912-1922.
- Rawe VY, Brugo Olmedo S, Nodar FN, Ponzio R, Sutovsky P. Abnormal assembly of annulate lamellae and nuclear pore complexes coincides with fertilization arrest at the pronuclear stage of human zygotic development. *Hum Reprod* 2003;18:576-582.
- Sathananthan AH, Trounson AO. Ultrastructure of cortical granule release and zona reaction in monospermic and polyspermic human ova fertilized in vitro. *Gamete Res* 1982;6:225-334.
- Sathananthan AH. Ultrastructural morphology of fertilization and early cleavage in the human. En: Trounson A, Wood C, editors. *In vitro fertilization and embryo transfer*. Edinburgh. Churchill Livingstone; 1984. p. 131-158.
- Sathananthan AH. Ultrastructure in fertilization and embryo development. En: Trounson A, Gardner D, editors. *Handbook of In vitro fertilization*. Florida: CRC Press; 1993. p. 237-261.
- Sathananthan AH, Tarin JJ, Gianaroli L, Ng CS, Dharmawardena V, Magli MC, et al. Development of the human dispermic embryo. *Hum Reprod Update* 1999;5:553-560.
- Sathananthan AH, Gunasheela G. Human oocytes and embryo assessment for ART. En: Elder K, Cohen J, editors. *Human preimplantation embryo selection*. London: Informa Healthcare; 2007. p. 1-14.

Scott L. Oocyte and embryo polarity. *Semin Reproductive Med* 2000;14:171-183.

Spanos S, Rice S, Karagiannis P, Taylor D, Becker DL, Winston RM, Hardy K. Caspase activity and expression of cell death genes during development of human preimplantation embryos. *Reproduction* 2002;124:353-363.

Staessen C, Janssenwillen C, Devroey P, Van Steirteghem A. Cytogenetic and morphological observations of single pronucleated human oocytes after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1993;8:221-223.

Staessen C, Van Steirteghem A. The chromosomal constitution of embryos developing from abnormally fertilized oocytes after intracytoplasmic sperm injection and conventional in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1997;12:321-327.

Staessen C, Van Steirteghem A. The genetic constitution of multinuclear blastomeres and their derivative daughter blastomeres. *Hum Reprod* 1998;13:1625-1631.

Sultan KM, Munné S, Palermo GD, Alikani M, Cohen J. Ploidy assessment of embryos derived from single-pronucleated human zygotes obtained by regular IVF and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Hum Reprod* 1995;10:132-136.

Tanoue T, Takeichi M. Mammalian Fat1 cadherin regulates actin dynamics and cell-cell contact. *J Cell Biol* 2004;165:517-528.

Tesarik J, Kopečný V, Plachot M, Mandelbaum J. Ultrastructural and autoradiographic observations on multinucleated blastomeres of human cleaving embryos obtained by in vitro fertilization. *Hum Reprod* 1987;2:127-136.

Tesarik J, Mendoza-Tesarik R, Greco E, Mendoza C. Morphology and kinetics of human pronuclei. En: Elder K, Cohen J, editors. *Human preimplantation embryo selection*. London: Informa Healthcare; 2007. p. 21-29.

Trounson A, Mohr LR, Wood C, Leeton JF. Effect of delayed insemination on in vitro fertilization, culture and transfer of human embryos. *J Reprod Fertil* 1982;64:285-294.

Van Blerkom J, Henry G, Porreco R. Preimplantation human embryonic development from polypronuclear eggs after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1984;41:686-696.

Van Blerkom J, Bell H, Henry G. The occurrence, recognition and developmental fate of pseudo-multinucleated eggs after in vitro fertilization of human oocytes. *Hum Reprod* 1987;2:217-225.

Van Blerkom J. Developmental failure in human reproduction associated with preovulatory oogenesis and preimplantation embryogenesis. En: Van Blerkom J, Motta PM, editors. *Ultrastructure of human gametogenesis and early embryogenesis*. Kluwer Academic Publishers; 1989. p.125-180.

Van Royen E, Mangelschots K, Vercruyssen M, De Neuburg D, Valkenburg M, Ryckaert G, et al. Multinucleation in cleavage stage embryos. *Hum Reprod* 2003;18:1062-1069.

Veeck LL. *An atlas of human gametes and conceptuses. An illustrated reference for assisted reproductive technology*. New York: The Parthenon Publishing Group Inc; 1999.

Wessel GM, Conner SD, Berg L. Cortical granule translocation is microfilament mediated and linked to meiotic maturation in the sea urchin oocyte. *Development* 2002;129:4315-4325.

Winston NJ, Braude P, Pickering S, George M, Cant A, Currie J, et al. The incidence of abnormal morphology and nucleocytoplasmic ratios in 2-3 and 5 day human pre-embryos. *Hum Reprod* 1991;6:17-24.

COMPROMETIDOS CON LA INNOVACIÓN EN DGP

REALIZAMOS

Test de aneuploidías
Reorganizaciones cromosómicas y
enfermedades monogénicas

OFRECEMOS

Programación inmediata
Alta experiencia
Continúa innovación tecnológica

EXPERIENCIA

>12.000 ciclos (Enero 2008)



REPROGENETICS

DIRECTORES CIENTÍFICOS

USA Santiago Munné - Jacques Cohen

SPAIN Mireia Sandalinas - Carles Giménez

UK Dagan Wells

www.reprogeneticsspain.com

ESTATUTOS ASOCIATIVOS ASEBİR

CAPÍTULO I - DENOMINACIÓN, DOMICILIO, ÁMBITO DE ACTUACIÓN, DURACIÓN Y FINES DE LA ASOCIACIÓN.

ARTÍCULO 1.- Denominación.

ARTÍCULO 2.- Domicilio.

ARTÍCULO 3.- Ámbito de actuación y duración

ARTÍCULO 4.- Fines de la asociación

CAPITULO II - DE LOS ASOCIADOS: DERECHOS Y OBLIGACIONES

ARTÍCULO 5.- Modalidades de asociados y requisitos para ser asociado

ARTÍCULO 6.- Asociados numerarios fundadores

ARTÍCULO 7.- Asociados numerarios

ARTÍCULO 8.- Asociados honoríficos.

ARTÍCULO 9.- Asociados de mérito.

ARTÍCULO 10.- Patrocinadores económicos

ARTÍCULO 11.- Derechos de los asociados

ARTÍCULO 12.- Obligaciones de los asociados

ARTÍCULO 13.- Pérdida de la condición de asociado

ARTÍCULO 14.- Responsabilidad de los asociados

CAPITULO III - ÓRGANOS DE LA ASOCIACIÓN

APARTADO 1º.- DE LA JUNTA DIRECTIVA

ARTÍCULO 15.- Los cargos de la Junta Directiva

ARTÍCULO 16.- Duración de los cargos de la Junta, renovación y gratuidad de los mismos

ARTÍCULO 17.- Adopción de acuerdos y obligaciones de la Junta Directiva

ARTÍCULO 18.- Memoria Anual

APARTADO 2º.- DE LA ASAMBLEA GENERAL

ARTÍCULO 19.- Órgano de gobierno

ARTÍCULO 20.- Atribuciones de la Asamblea General

ARTÍCULO 21.- Funcionamiento de la Asamblea

APARTADO 3º.- OTROS ÓRGANOS DE LA ASOCIACIÓN

ARTÍCULO 22.- Grupos de Interés Científico

ARTÍCULO 23.- Comités Delegados

ARTÍCULO 24.- Delegados autonómicos

CAPITULO IV - ACTIVIDADES CIENTÍFICAS

ARTÍCULO 25.- Organización de reuniones científicas

ARTÍCULO 26.- Congresos y reuniones

ARTÍCULO 27.- Publicaciones

CAPITULO V - RECURSOS ECONOMICOS DE LA ASOCIACIÓN

ARTÍCULO 28.- Los recursos económicos

ARTÍCULO 29.- Administración económica

ARTÍCULO 30.- Régimen documental

CAPITULO VI - DE LA DISOLUCIÓN DE LA ASOCIACIÓN

ARTÍCULO 31.- Causas de disolución

CAPITULO VII - REFORMA DE LOS ESTATUTOS

ARTÍCULO 32.- Procedimiento y mayoría

CAPITULO I DENOMINACIÓN, DOMICILIO, ÁMBITO DE ACTUACIÓN, DURACIÓN Y FINES DE LA ASOCIACIÓN

ARTÍCULO 1.- Denominación

Con el nombre de 'ASOCIACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN' se designa una asociación de carácter científico e independiente, sin ánimo de lucro, cuyos fines promueven el interés general, y que se rige por los presentes Estatutos, por los acuerdos válidamente adoptados por la Asamblea General y la Junta Directiva en el ámbito de su respectiva competencia y, en todo caso, por la Ley Orgánica 1/2002, de 22 de marzo, reguladora del Derecho de Asociación.

ARTÍCULO 2.- Domicilio

El domicilio de la asociación se encuentra establecido en Madrid, Calle

Cronos, 20, Bloque 4, 1º Piso, Puerta 6, (CP. 28037).

La Asamblea General podrá acordar el cambio de domicilio y el establecimiento de delegaciones.

ARTÍCULO 3.- Ámbito de actuación y duración

El ámbito territorial en que la asociación realiza principalmente su actividad es nacional, si bien podrá llevar a efecto actividades en un ámbito exclusivamente autonómico o municipal. Además, estará abierta para su posible integración en federaciones o uniones estatales o internacionales.

La duración de la asociación es indefinida.

ARTÍCULO 4.- Fines de la asociación

a) Agrupar a los titulados universitarios (título oficial de Licenciado, Grado, Master o Doctor) que trabajan en el

ámbito de la Biología de Reproducción, es decir, en el desarrollo y aplicación de técnicas de reproducción y de caracterización genética, incluyendo tanto a los profesionales en Embriología Clínica que se dedican a tareas de aplicación humana, como a los procedentes de áreas de investigación básica en especialidades afines.

b) Fomentar el estudio, desarrollo y difusión de las distintas especialidades que comprende la Biología de la Reproducción, poniendo en común los conocimientos y líneas de investigación de cada equipo y redactando aquellos protocolos que se puedan estandarizar.

c) Establecer programas de aprendizaje de las técnicas y de formación, así como determinar criterios de acreditación de los centros y de los profesionales promoviendo el acceso a cuantos títulos de especialistas abarque en su día el Laboratorio de Biología de la Reproducción.

d) Establecer intercambios y promover estudios multicéntricos y multidisciplinarios, fomentando de este modo la relación y colaboración entre sus miembros.

e) Mantener colaboración con las otras asociaciones científicas y profesionales tanto nacionales como extranjeras de especialidades afines, así como con organismos universitarios y autoridades sanitarias y educativas de todos los niveles de la Administración.

CAPITULO II DE LOS ASOCIADOS: DERECHOS Y OBLIGACIONES

ARTÍCULO 5.- Modalidades de asociados y requisitos para ser asociado

Los miembros que integran la asociación son los siguientes: 1) asociados numerarios fundadores, 2) asociados numerarios, 3) asociados honoríficos y 4) asociados de mérito. Para ser asociado de alguna de las modalidades referidas es necesario estar en posesión de un título oficial de Licenciado, Grado, Master o Doctor en disciplinas afines al ámbito de la Biología de Reproducción.

No obstante, se podrán aceptar también como asociados numerarios, aunque de forma excepcional, a otros profesionales que estén desarrollando actividades en el campo de la reproducción asistida, y que se obliguen a respetar los fines de la asociación definidos en el artículo 4 de los Estatutos.

ARTÍCULO 6.- Asociados numerarios fundadores

Son considerados asociados numerarios fundadores aquellos asociados numerarios que se integraron en la asociación en los tres primeros meses que siguieron a su constitución.

ARTÍCULO 7.- Asociados numerarios

Son asociados numerarios las personas relacionadas con la Biología de la Reproducción que soliciten pertenecer a la asociación, se comprometan a respetar y cumplir sus fines, y sean admitidos por reunir los requisitos referidos en el artículo 5 de estos Estatutos.

La solicitud deberá ser avalada por un asociado, siendo la Junta Directiva quien decidirá en cada caso su admisión.

ARTÍCULO 8.- Asociados honoríficos

Son asociados honoríficos aquellos que, por sus méritos científicos o profesionales, sean merecedores de tal distinción a propuesta de la Junta Directiva y con aprobación de la Asamblea General.

Los asociados honoríficos están exentos del pago de cuotas, si bien tendrán los mismos derechos que los asociados numerarios.

ARTÍCULO 9.- Asociados de mérito

Son asociados de mérito aquellos asociados numerarios fundadores o numerarios que hayan cumplido la edad de jubilación.

Tendrán todos los derechos de los asociados numerarios y podrán ser eximidos del pago de cuotas, siempre que tengan una antigüedad mínima en la asociación de cinco años y se encuentren al corriente de sus obligaciones como asociados.

ARTÍCULO 10.- Patrocinadores económicos

Sin que técnicamente reúnan la condición de asociados, se establece la categoría de patrocinadores económicos para aquellas personas o entidades que, deseando contribuir al mantenimiento y desarrollo de la asociación y a la promoción de sus fines, sean aceptadas por la Junta Directiva, la cual determinará la cuota mínima de participación económica que en ningún caso será inferior a diez veces la cuota de un asociado numerario.

Podrán participar en las actividades de la asociación y recibirán todas las informaciones y publicaciones de la misma.

Podrán participar igualmente con voz pero sin voto en las Asambleas Generales.

ARTÍCULO 11.- Derechos de los asociados

Los derechos de los asociados son los siguientes:

a) Ser electores y elegibles para cualquier cargo de la Junta Directiva.

b) Intervenir con voz y voto en las deliberaciones y acuerdos de las Asambleas Generales.

c) Examinar las cuentas y documentos sociales en las fechas y durante el tiempo que señale la Junta Directiva.

d) Disponer de cuanta información científica y profesional reciba la asociación para el desarrollo de sus fines así como de las publicaciones que realice.

e) Participar en las actividades de la asociación y en los órganos de gobierno y representación.

f) Ser informado acerca de la composición de los órganos de gobierno y representación de la asociación, de su estado de cuentas y del desarrollo de la actividad.

g) Ser oído con carácter previo a la adopción de medidas disciplinarias contra él y ser informado de los hechos que den lugar a tales medidas, debiendo ser motivado el acuerdo que, en su caso, imponga la sanción.

h) Impugnar los acuerdos de los órganos de la asociación que estime contrarios a la Ley o a los Estatutos.

i) Recibir sin cargo las revistas o boletines de la asociación.

ARTÍCULO 12.- Obligaciones de los asociados

Asimismo, las obligaciones de los asociados son las que a continuación se indican:

a) Cumplir los presentes Estatutos y los acuerdos emanados de la Asamblea General y de la Junta Directiva.

b) Comprometerse a ejecutar cuantas misiones y encargos reciba de la Junta Directiva en relación con los fines de la asociación.

c) Aceptar y desempeñar los cargos directivos para los que fuera estatutariamente elegido, salvo razón justificada.

d) Abonar las cuotas, derramas y otras aportaciones que, con arreglo a los Estatutos, puedan corresponder a cada asociado, y se establezcan en la Asamblea General a propuesta de la Junta Directiva.

e) Compartir las finalidades de la asociación y colaborar para la consecución de las mismas.

f) Acatar y cumplir los acuerdos válidamente adoptados por los órganos de gobierno y representación de la asociación.

ARTÍCULO 13.- Pérdida de la condición de asociado

La condición de asociado podrá perderse por alguno de los siguientes motivos:

a) A petición propia previa notificación a la Junta Directiva.

b) Dejar de cumplir reiteradamente sus obligaciones de asociado.

c) Por falta de pago de la cuota durante dos años. El cese por impago irá precedido de una notificación o advertencia por parte del Tesorero a la dirección de contacto que conste en la ficha del asociado. El abono de todas las cuotas pendientes de pago rehabilitará al interesado en todos sus derechos.

d) Por expulsión acordada por la Asamblea General, a propuesta de la Junta Directiva, que previamente habrá incoado el oportuno expediente de expulsión del asociado, a quién se le dará la debida audiencia en el mismo. Contra lo resuelto por la Junta Directiva cabe recurso de alzada ante la Asamblea General.

ARTÍCULO 14.- Responsabilidad de los asociados

Los asociados, cualquiera que sea su modalidad, no incurrirán en ninguna responsabilidad personal en relación con los compromisos o deudas de la asociación.

Estos compromisos únicamente podrán ser garantizados con los bienes de la asociación.

CAPÍTULO III

ÓRGANOS DE LA ASOCIACIÓN

APARTADO 1º.- DE LA JUNTA DIRECTIVA

ARTÍCULO 15.- Los cargos de la Junta Directiva

La Junta Directiva es el órgano rector de la asociación y estará constituida por los siguientes cargos:

EL PRESIDENTE.- El Presidente de la asociación será quien ostente la representación legal de la misma y actúe en su nombre ejecutando los acuerdos de la Junta Directiva y, en su caso, de la Asamblea General. Le corresponde, asimismo, la máxima responsabilidad en la administración y gobierno de la asociación. Entre sus competencias específicas se establecen expresamente las que a continuación se indican:

a) Convocar a la Asamblea General y a la Junta Directiva, fijando el orden del día de sus sesiones y presidirlas.

b) Proponer e impulsar el plan de actividades de la asociación.

c) Autorizar con su firma la ejecución y cumplimiento de los acuerdos de la asociación y ordenar los pagos.

d) Autorizar con su visto bueno las actas de la Asamblea General y de la Junta Directiva, las certificaciones y cuantos documentos públicos o privados sean extendidos por la asociación.

e) Otorgar los poderes que sean necesarios, incluso de orden procesal.

f) Tramitar y resolver, cuando motivos de urgencia lo requieran, los asuntos propios de la Junta Directiva, a la que deberá informar preceptivamente.

g) Las demás atribuciones inherentes al cargo bien por disposiciones de los presentes Estatutos y otras normas que los desarrollen o por los preceptos legales vigentes que le sean de aplicación.

EL VICEPRESIDENTE.- El Vicepresidente asumirá las funciones atribuidas al Presidente en caso de ausencia, vacante o enfermedad de éste, o bien por delegación.

Además, en caso de que cesara el Presidente antes de finalizar su mandato, el Vicepresidente se hará cargo de la presidencia durante el plazo que restara para cumplir dicho mandato, sin perjuicio de poder decidir también, previo acuerdo de la Junta Directiva, la convocatoria de nuevas elecciones.

EL TESORERO.- El Tesorero será el responsable de la gestión económica de la asociación. Como tal deberá presentar a la Asamblea General, para su aprobación, un presupuesto anual de ingresos y gastos, así como la Memoria del estado económico de la asociación y el balance final a treinta y uno de diciembre de cada año, que será la fecha de cierre del ejercicio asociativo.

EL SECRETARIO.- El Secretario de la Junta Directiva tendrá las siguientes funciones:

a) Redacción de las actas de las reuniones de la Junta Directiva.

b) Custodia de todos los libros oficiales de la asociación certificando sobre lo que en ellos se contenga, de oficio o a petición de parte legitimada.

c) Bajo la dependencia del Presidente, ejecutar todos los acuerdos adoptados por la Junta Directiva.

d) Desempeñar la Jefatura de la organización administrativa y desarrollar las competencias específicas de la jefatura de personal.

e) Todas las que puedan delegarle la Junta Directiva.

VOCALES- A parte de los cuatro cargos anteriores formarán la Junta Directiva ocho vocales más que ocuparán las distintas vocalías.

ARTÍCULO 16.- Duración de los cargos de la Junta, renovación y gratuidad de los mismos

La Junta Directiva se elegirá por la Asamblea General mediante sufragio libre y secreto de los asociados. Sólo podrán formar parte de la Junta Directiva quienes lleven por lo menos dos años de asociación ininterrumpida, estén al corriente de pago de cuotas y no

se hallen en proceso sancionador dentro de la asociación (artículo 13).

La Junta Directiva está formada por 12 personas y se estructura en los cargos de presidencia, vicepresidencia, secretaría, tesorería, y 8 vocalías que deberán ocuparse como mínimo de las áreas de publicaciones, docencia, formación continuada, congresos, página Web y relaciones públicas.

Los cargos dentro de la Junta Directiva serán voluntarios y no remunerados.

El período de mandato de la Junta Directiva será de cuatro años, renovables por un único período consecutivo más. Una misma persona no puede permanecer durante más de 4 mandatos consecutivos como miembro de Junta Directiva.

Los asociados interesados deberán integrarse en alguna candidatura (lista cerrada de 12 miembros) que cubra todos los cargos de la Junta Directiva. Cada candidatura necesariamente deberá especificar qué cargo ocupará cada uno de los miembros, deberá ser avalada por otros 30 asociados como mínimo, y deberá presentar por escrito un programa de actuaciones que la secretaría de ASEBIR enviará a todos los asociados con suficiente antelación.

Las elecciones se convocarán con dos meses de antelación y el plazo de presentación de candidaturas en la secretaría de ASEBIR finalizará 30 días naturales antes de las elecciones.

Si sólo se presentase una única candidatura su proclamación sería automática, sin necesidad de celebrar elecciones, y tendrá vigencia desde el día siguiente al que estuviesen convocadas las elecciones.

En caso de empate en el número de votos recibidos por dos o más candidaturas se usará para el desempate el criterio de mayor antigüedad, primero de los presidentes respectivos, y si aún fuese necesario también la antigüedad de los vicepresidentes, de los secretarios y de los tesoreros.

En caso de que quedase vacante el cargo de presidente, quien ostente la

vicepresidencia puede ocupar también la presidencia, de forma interina y por el tiempo que reste de mandato, debiendo someterse a su ratificación por la Asamblea General, tan pronto como ésta se reúna. Si el presidente interino no obtuviese la ratificación por parte de la Asamblea General deberán convocarse elecciones anticipadas.

También deberán convocarse elecciones anticipadas en el caso que quedasen vacantes los cargos de presidente y vicepresidente simultáneamente.

Para el resto de cargos de la Junta Directiva, en caso de producirse vacantes, la propia Junta designará de entre los asociados elegibles, a los miembros necesarios para cubrirlos interinamente por el tiempo que reste de mandato, debiendo someterse dicha designación a su ratificación por la Asamblea General, tan pronto como ésta se reúna.

ARTÍCULO 17.- Adopción de acuerdos y obligaciones de la Junta Directiva

Para tomar acuerdos ejecutivos se precisará la presencia por lo menos de la mitad de los miembros de la Junta Directiva debidamente convocada.

Los acuerdos se tomarán por mayoría de los miembros presentes siendo decisivo en caso de empate el voto del Presidente o de quien estatutariamente le sustituya.

Las deliberaciones de la Junta Directiva son confidenciales, no así sus conclusiones.

Para su funcionamiento podrá designar la Junta Directiva Comisiones Ejecutivas, que estarán integradas por los miembros de la Junta que, en cada caso, se determinen por esta última.

Igualmente, son obligaciones de la Junta Directiva, además de la de reunirse por lo menos una vez al año, las siguientes:

a) Convocar la Asamblea General, que deberá reunirse por lo menos una vez al año para aprobar las cuentas de la asociación. La Junta Directiva podrá convocar también asambleas generales extraordinarias cuando alguna

circunstancia lo haga necesario o a petición de veinte asociados formulada por escrito y haciendo constar el asunto a tratar en la Asamblea.

b) Convocar y preparar las reuniones científicas, una de las cuales debe coincidir con la Asamblea General.

c) Administrar los bienes de la asociación.

d) Llevar un libro registro actualizado de asociados.

e) Resolver las solicitudes de admisión de nuevos asociados.

f) Proponer el nombramiento de asociados honoríficos.

g) Proponer la expulsión de asociados a la Asamblea General, si hubiere lugar.

h) Representar a la asociación.

i) Desarrollar e impulsar los fines de la asociación.

ARTÍCULO 18.- Memoria Anual

El Secretario y el Tesorero deberán presentar a la Asamblea General una memoria anual sobre las actividades de la asociación y su desarrollo económico.

APARTADO 2º.- DE LA ASAMBLEA GENERAL

ARTÍCULO 19.- Órgano de gobierno

La Asamblea General constituye el órgano supremo de gobierno de la asociación, integrado por los asociados, y que adopta sus acuerdos por el principio mayoritario o de democracia interna.

Los acuerdos de la Asamblea General obligan a todos los asociados.

La asociación celebrará Asamblea General Ordinaria una vez al año, para aprobar las cuentas de la misma, coincidiendo con una reunión científica y, además, podrá ser convocada por la Junta Directiva en sesión extraordinaria conforme a lo indicado más arriba.

ARTÍCULO 20.- Atribuciones de la Asamblea General

Son atribuciones de la Asamblea

General:

- a) Elección de componentes de la Junta Directiva.
- b) Aprobar la memoria anual presentada por el Secretario y el Tesorero.
- c) Aprobar y examinar los proyectos de reuniones científicas.
- d) Fijar el importe de las cuotas anuales.
- e) Tratar y decidir sobre cualquier otro asunto propuesto por la Junta Directiva presentado de manera reglamentaria.
- f) Tratar y decidir sobre cualquier otro asunto, incluido el voto de censura a la Junta Directiva, que reglamentariamente se haya presentado por escrito y cuente con el aval mínimo del 10% de los asociados.

ARTÍCULO 21.- Funcionamiento de la Asamblea

La Asamblea General será presidida por el Presidente y, en su defecto, por el Vicepresidente y actuará como Secretario el de la Junta Directiva y, en su ausencia, el Vocal más antiguo.

El Presidente conducirá los debates, regulará el uso de la palabra y someterá a votación las propuestas. Asimismo, resolverá las cuestiones de orden y procedimiento que pudieran plantearse.

El voto en la Asamblea General podrá realizarse, siempre y cuando se esté al corriente del pago de las cuotas, de forma personal y presencial o mediante voto delegado en un asociado que sí este presente en la asamblea y que cuente con la autorización debidamente acreditada, de la persona que representa.

En las elecciones para renovar la Junta Directiva, además de las dos formas anteriores de voto también se podrá emitir el voto por correo.

El voto por correo deberá solicitarse a la secretaría de ASEBIR y dicha solicitud invalida el voto presencial o el voto delegado presencial. Quienes opten por el voto por correo recibirán con tiempo suficiente las candidaturas y aquella que elijan la deberán enviar a la secretaría de

ASEBIR, en sobre cerrado dentro de otro sobre con la fotocopia del DNI o pasaporte.

Todos los votos emitidos y recibidos se escrutarán en el mismo acto, ante la presencia del secretario/a de la Junta Directiva.

La Asamblea General se convocará al menos con quince días de antelación a la fecha fijada para la misma, indicándose en la convocatoria la fecha, hora, local y asunto a tratar en la misma.

La Asamblea General se reunirá en primera convocatoria en el lugar y fecha fijados, cuando estén presentes o representados (mediante autorización por escrito) al menos las dos terceras partes de los asociados. Se reunirá en segunda convocatoria cualquiera que sea el número de asociados presentes o representados.

Los acuerdos de la Asamblea General se tomarán por mayoría simple de los asociados presentes y representados. En caso de empate será decisivo el voto del Presidente de la asociación o de quien estatutariamente lo sustituya.

APARTADO 3º.- OTROS ÓRGANOS DE LA ASOCIACIÓN

ARTÍCULO 22.- Grupos de Interés Científico

La petición de constitución de un Grupo de Interés deberá presentarse por escrito ante la Junta Directiva, y deberá contar con el aval de, al menos, 15 asociados que deberán aportar un programa definido de objetivos, actuaciones y costes, y una lista de 3 personas que ocupen los cargos de presidencia, secretaría y tesorería del Grupo de Interés y que se encarguen de dinamizar los trabajos del Grupo de Interés.

Una vez aprobado por la Junta Directiva, cada Grupo de Interés dispondrá libremente de los fondos anuales asignados y deberá enviar una memoria anual de actividades, donde figuren el resumen de las actividades realizadas, las conclusiones a las que se haya llegado y la justificación de gastos. La entrega de dicha memoria habrá de ser entregada antes del fin de enero del año posterior al ejercicio que resume dicha

memoria. Los fondos anuales que no hubieran sido gastados serán reembolsados a ASEBIR, o servirán para la renovación de los concedidos para el año siguiente.

La Junta Directiva presentará dicha memoria en la Asamblea Ordinaria.

Todos los derechos por la publicación de los trabajos que se realicen en los Grupos de Interés, pertenecerán a ASEBIR, que se reserva el derecho de su publicación.

La Junta Directiva podrá decidir la finalización de un Grupo de Interés en cualquier momento.

ARTÍCULO 23.- Comités Delegados

A instancia de la Junta Directiva, y para el mejor funcionamiento de los fines sociales, se podrán crear comités temporales, cuyos miembros serán designados por la Junta Directiva. Entre sus funciones se encontrarán revisiones sistemáticas del conocimiento, elaboración de proyectos para documentos de consenso, planes de calidad y evaluación de programas de formación, así como la propuesta y diseño de estudios multicéntricos.

Artículo 24.- Delegados autonómicos

Cuando se considere oportuno se podrán nombrar "delegados autonómicos".

Pueden ser delegados autonómicos los asociados que cumplan los requisitos del Artículo 5º de los presentes estatutos y que acepten responsabilizarse de tratar, en el ámbito territorial autonómico donde residan o trabajen, de los asuntos que les confíe la Junta Directiva.

Los delegados autonómicos sólo podrán ejercer funciones delegadas que les serán solicitadas por escrito. Serán nominados directamente por la Junta Directiva y finalizarán su actuación cuando concluya el asunto que se les haya asignado, o cuando finalice el mandato de la Junta Directiva que los haya nombrado (aunque pueden ser confirmados nuevamente por la siguiente Junta), o en cualquier momento que la Junta Directiva lo considere oportuno.

La lista de delegados autonómicos será difundida convenientemente a través de la página web de ASEBIR, e independientemente de la comunicación personal del nombramiento por escrito que reciba cada delegado.

CAPITULO IV ACTIVIDADES CIENTÍFICAS

ARTÍCULO 25.- Organización de reuniones científicas

Al objeto de cumplir los fines de la asociación ésta deberá organizar actividades científicas con la periodicidad que la Asamblea General determine.

ARTÍCULO 26.- Congresos y reuniones

La asociación podrá organizar reuniones y congresos de carácter nacional e internacional, así como prestar su colaboración a otras asociaciones para el desarrollo de reuniones o congresos nacionales o internacionales.

ARTÍCULO 27.- Publicaciones

La asociación podrá realizar publicaciones genéricas o monográficas, así como organizar cursillos para el mejor desarrollo de su labor formativa.

CAPITULO V RECURSOS ECONOMICOS DE LA ASOCIACIÓN

ARTÍCULO 28.- Los recursos económicos

Los recursos económicos de la asociación estarán constituidos por:

- La cuota de los asociados obligados al pago que establezca la Asamblea General.
- Las aportaciones de los patrocinadores económicos.
- Las subvenciones y aportaciones concedidas a la asociación por entidades oficiales y particulares.
- Los recursos que puedan generar las publicaciones y actividades científicas que organice la asociación.

ARTÍCULO 29.- Administración económica

Los recursos económicos de la asociación

serán administrados por la Junta Directiva que informará periódicamente a la Asamblea General del estado de cuentas y presupuestos.

La asociación llevará su contabilidad conforme a las normas específicas que le resulten de aplicación.

El año económico comenzará el 1 de enero y se cerrará el 31 de diciembre siguiente. Por excepción, el primer ejercicio comenzó el día del otorgamiento del Acta fundacional y terminó el 31 de diciembre del mismo año.

Las cuentas de la asociación se aprobarán anualmente por la Asamblea General.

La administración económica de la asociación se llevará a cabo con publicidad suficiente, a fin de que los asociados puedan tener conocimiento periódico del destino de los fondos.

Las cuotas serán abonadas por los asociados anualmente.

ARTÍCULO 30.- Régimen documental

Integrarán el régimen documental y contable de la asociación:

- El libro-registro de asociados.
- Libro de actas.
- Libro de contabilidad.
- El balance de situación y las cuentas de ingresos.

CAPITULO VI DE LA DISOLUCIÓN DE LA ASOCIACIÓN

ARTÍCULO 31.- Causas de disolución

La asociación se disolverá por la voluntad de sus miembros, expresada por el voto favorable de dos tercios de los asistentes a la Asamblea General reunida en sesión extraordinaria; asimismo, se disolverá por las causas previstas en los Estatutos sociales, las descritas en el artículo 39 del Código Civil y por sentencia judicial firme.

Acordada la disolución de la asociación, la Junta Directiva de la misma,

incrementada en tres socios de los más antiguos, se constituirá en Comisión Liquidadora y como tal procederá a reclamar todas las cantidades pendientes de cobro y pagar todo lo que se debiera.

El haber social, si lo hubiere, será destinado a un centro de utilidad pública.

CAPITULO VII REFORMA DE LOS ESTATUTOS

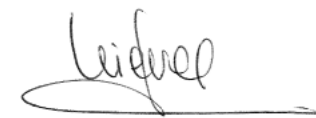
ARTÍCULO 32.- Procedimiento y mayoría

Toda revisión o modificación de los presentes Estatutos deberá ser aprobada, previo acuerdo de la Junta Directiva, por las dos terceras partes de los asociados asistentes o representados en la Asamblea General que se constituya reglamentariamente, y que habrá de ser convocada específicamente con tal objeto.

Vº. Bº. El Presidente
D. Mark Grossmann Camps



Vº. Bº. La Secretaria
Dª. Mª Nieves Cremades Hernández




20 ANIVERSARIO EMB

EMB (Equipos Médico Biológicos SA) celebró el pasado 21 de Noviembre su **20º** aniversario. Felicitamos a Sergio Oliveró, director general, y a toda la compañía, y agradecemos una vez más su soporte continuado a las actividades de ASEBIR.

ANNA VEIGA PRESIDENTA-ELECTA DE LA ESHRE

En el próximo el congreso ESHRE a celebrar en Amsterdam (Julio 2009), Anna Veiga será presentada como presidenta-electa de esa sociedad a propuesta del Comité Ejecutivo,

propuesta que deberá ratificar la Asamblea General. Felicitamos a Anna Veiga por la nominación y, desde ya, le brindamos toda nuestra colaboración.

ÍNDICE MÉDICO ESPAÑOL

Se han iniciado contactos con responsables del Índice Médico Español (Biomedicina) (IME) con la intención de que se incluya nuestra revista en dicho index. Os iremos informando de los avances en este tema

1ª JORNADA ASEBIR DE FORMACIÓN

Presentamos la *1ª Jornada ASEBIR de formación*, una actividad orientada a

embriólogos júnior con el objetivo de que los participantes se conozcan y aprendan. El programa se basa en tres temas y tres ponentes: Fernando Abellán (legislación), Mario Sousa (andrología) y José Antonio Castilla (embriología). Estructura: una jornada de 1 día, con sesiones participativas de unos 75' más 30' más de discusiones con los ponentes. Comida todos juntos. Abundante documentación para los asistentes y trabajo on-line. Esta Jornada formativa se repetirá en tres ciudades distintas, Barcelona, Madrid y Sevilla los viernes 6 de Marzo, 17 de Abril y 15 de Mayo, y en Enero de 2009 se enviará la información completa. Plazas limitadas.

CANDIDATURA ASEBIR 2011

SEDE DEL VI CONGRESO ASEBIR 2011


El plazo de presentación de candidaturas para el próximo congreso, quedará abierto a partir del 1 de abril de 2009 y se prolongará hasta el día 1 de Septiembre de 2009.

Los interesados en la organización del próximo congreso de ASEBIR a celebrar en el año 2011, deberán mandar a la secretaría de ASEBIR, a la atención de la Vocalía de Congresos, la siguiente documentación:

- *Datos de la persona responsable de la solicitud, incluido centro de trabajo y comité organizador local.*
- *Memoria con la trayectoria de la actividad en Biología de la Reproducción del comité organizador solicitante.*
- *Ciudad que representa la candidatura, especificando comunicaciones y disponibilidad de alojamiento.*
- *Sede del Congreso (especificar ubicación, espacio disponible, etc.).*

Si son varias las candidaturas presentadas la elección de la nueva sede se votará en la próxima Asamblea General Ordinaria del día 27 de Noviembre del 2009 dentro del marco del V Congreso Nacional ASEBIR en Valencia.

En caso de que se presente una única candidatura, esta será aprobada por la



Estimados compañeros/as.

Como quien dice ya comienza la cuenta atrás para la V edición de nuestro congreso ASEBIR.

El programa científico ya esta finalizado, y el resto de aspectos del congreso van tomando forma.


Hemos intentando recopilar temas de actualidad e interés para la gran mayoría de la familia ASEBIR. Como es lógico quedan muchos temas por tratar, pero seguro que tendremos oportunidad de abordarlos en futuras ediciones.

Tanto el Comité Organizador Local, como la Vocalía de Congresos, la Junta Directiva de ASEBIR y nuestros inestimables patrocinadores, están siendo pilares muy importantes para que el congreso adquiera su forma definitiva y salga lo mejor posible. Transmitiros que se está haciendo con mucha ilusión y cariño.


Para aquellos que tengáis pensado presentaros como candidatos para futuros congresos, deciros que es una experiencia muy positiva y sobre todo necesaria para que ASEBIR siga cumpliendo sus principales objetivos.

Sin más y agradeciendo de antemano vuestra valiosa participación.

Un fuerte abrazo,
¡Os esperamos en Valencia!



Mº José de los Santos Molina
Presidenta del Comité Organizador
V Congreso ASEBIR



Mark Grossmann
Presidente ASEBIR

Secretaría Técnica

Grupo Process (Betaprocess, S.L.) - C/ Cronos, nº 20, Edificio 4, 1º, 6º. 28037 Madrid - CIF: B-83293282
Tel. 913 771 423 - Fax. 913 774 965 - E-mail: Vcongreso@asebir.com

Junta Directiva y presentada en la Asamblea General Ordinaria del día 27.

RENOVACIÓN J. D. ASEBIR

RENOVACIÓN CARGOS DE LA JUNTA DIRECTIVA

Cumplido el plazo de los cargos de la Junta Directiva, se convoca a todos los socios interesados en pertenecer al órgano directivo a que propongan su candidatura para las próximas elecciones.

Según los estatutos de ASEBIR Capítulo III, Apartado 1º, artículo 16:

La Junta Directiva se elegirá por la Asamblea General mediante sufragio libre y secreto de los asociados. Sólo podrán formar parte de la Junta Directiva quienes lleven por lo menos dos años de asociación ininterrumpida, estén al corriente de pago de cuotas y no se hallen en proceso sancionador dentro de la asociación (artículo 13).

La Junta Directiva está formada por 12 personas y se estructura en los cargos de presidencia, vicepresidencia, secretaría, tesorería, y 8 vocalías que ocupan como mínimo las áreas de publicaciones, docencia, formación continuada, congresos, página Web y relaciones públicas.

Los cargos dentro de la Junta Directiva son voluntarios y no remunerados.

El período de mandato de la Junta Directiva es de cuatro años, renovables por un único período consecutivo más.

Una misma persona no puede permanecer durante más de 4 mandatos consecutivos como miembro de Junta Directiva.

Los asociados interesados deberán integrarse en alguna candidatura (lista cerrada de 12 miembros) que cubra todos los cargos de la Junta Directiva.

Cada candidatura necesariamente deberá especificar qué cargo ocupará cada uno de los miembros, deberá ser avalada por otros 30 asociados como mínimo, y deberá presentar por escrito un programa de actuaciones que la

secretaría de ASEBIR enviará a todos los asociados con suficiente antelación.

Las elecciones se convocarán con dos meses de antelación y el plazo de presentación de candidaturas en la secretaría de ASEBIR finalizará 30 días naturales antes de las elecciones.

El plazo de presentación de candidaturas quedará abierto a partir del 26 de septiembre de 2009 y se prolongará hasta el día 26 de octubre de 2009 a las 17:00 hrs.

Los asociados interesados en presentar su candidatura a la Junta Directiva ASEBIR deberán enviar a la secretaría de la asociación, a la atención de la Secretaria de la Junta, la siguiente documentación:

- Carta de presentación la candidatura.
- Candidatura
- Lista cerrada de 12 miembros.
- Debe cubrir todos los cargos de la Junta Directiva, especificando qué cargo ocupará cada uno de los miembros.
- Programa de actuación.
- Avals

Mínimo 30 socios con nombre completo, DNI y firma original de cada avalista.

Las votaciones se realizarán el día 26 de noviembre. La mesa electoral estará situada en el Hall de exposiciones del Palacio de Congresos de Valencia y permanecerá abierta entre las 09.00 y las 18:00 hrs. momento en que se cerrará para proceder al recuento de los votos.

Si algún socio tiene pensado no acudir al Congreso el día 26 de noviembre, deberá realizar su voto por correo o utilizar la modalidad de voto delegado.

Todos los formularios necesarios para realizar el voto se encuentran en la Web en formato PDF.

Se informará de los resultados de las votaciones y se presentará a la nueva Junta Directiva durante la Asamblea General Ordinaria del día 27 de noviembre de 2009.

MODALIDADES DE VOTO

Para realizar el voto es imprescindible estar al corriente del pago de las cuotas de socio.

VOTO POR CORREO

A partir del 2 de noviembre de 2009 queda abierto el plazo para votar por correo en las próximas elecciones. Los votos deberán ser enviados a la Secretaría de ASEBIR antes del 16 de noviembre de 2009.

Para poder realizar el voto por correo deberá Adjuntar:

- Fotocopia del DNI.
- Formulario de voto por correo debidamente cumplimentado.
- Boleto de candidatura elegida en sobre cerrado aparte.

VOTO DELEGADO

Para realizar el voto delegado es imprescindible:

- Fotocopia de DNI.
- Formulario de voto delegado, relleno y firmado.
- Solo se admitirán formularios con las firmas originales
- Boleto de candidatura elegida en sobre cerrado aparte.

VOTO PRESENCIAL

Imprescindible presentar el DNI.

Fertility 2009 7-9 Enero 2009

Edimburg, Reino Unido

The search for excellence in IVF laboratories: towards "the best". ESHRE campus 23-24 Enero 2009

Bologna, Italia

Basic training course for paramedics working in reproductive health. ESHRE campus 27-28 Febrero 2009

Manchester, Reino Unido

The patient friendly approach to ART. ESHRE campus 27-28 Febrero 2009

Maribor, Slovenia

13th World Congress on Human Reproduction 5-8 Marzo

Venecia, Italia

**9th International Congress of Andrology
XIV Congreso de la Sociedad Española de Andrología
XI Reunión Ibérica de Andrología
IV Reunión Iberoamericana de Andrología
7-11 Marzo 2009**

Barcelona, España

Satellite Symposium "Sperm DNA damage: from research to clinic" 11-13 Marzo 2009

Roma, Italia

8th Annual Meeting of Mediterranean Society for Reproductive Medicine 7-9 Mayo 2009

Florenca, Italia

3rd Congress International IVI Madrid 07-10 Mayo 2009

Madrid, España

5th International Workshop Molecular Andrology: Stem cells-Somatic cells-Germ cells 8-10 Mayo 2009

Giessen, Alemania

7th Annual Meeting International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 8-11 Julio 2009

Barcelona, España

The 7th Conference of Pacific Rim Society for Fertility and Sterility (PRFS) 11-13 Septiembre 2009

Taipei, Taiwan

3rd Asia-Pacific Forum on Andrology 10-13 Octubre 2009

Nanjing, China

V Congreso ASEBIR 25-27 Marzo

Valencia, España

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES - NORMAS DE PUBLICACIÓN

NORMAS DE PUBLICACIÓN

La revista ASEBIR es una publicación del ámbito de la Biología de la Reproducción abierta a considerar cuantos trabajos afines a esta área de conocimiento puedan adaptarse a uno de los siguientes apartados: Artículos Originales; Temas de Actualización o Debates. Además, la revista ASEBIR da cabida a la actualidad en sus secciones de Noticias y Agenda.

La revista ASEBIR se publica semestralmente por lo que es indispensable que los escritos para las secciones de Debates, Noticias y Agenda sean enviados antes del 30 de Abril para el primer número del año (Junio) y antes del 15 de Noviembre para el segundo número del año (Diciembre).

Los originales deben enviarse a:

Secretaría de ASEBIR, C/ Cronos 20, Edificio 4, 1º Piso, 6ª. 28037 (Madrid). Se recomienda utilizar sobres que protejan adecuadamente el contenido informático.

Manuscritos: Todos los trabajos remitidos deberán ser inéditos y se presentarán en un manuscrito original y dos copias impresas, a doble espacio en hojas din A4, así como también en soporte informático. Se acompañarán de una carta de presentación en la que se solicite su valoración y se indique la sección donde se desea su publicación. En esta carta debe constar claramente que el trabajo no ha sido publicado previamente y que todos los autores están de acuerdo en su contenido y ceden los derechos de su publicación a ASEBIR. Para la reproducción de material ya editado es necesaria la autorización expresa de los propietarios del copyright.

Para artículos originales y temas de actualización se sugiere una extensión no superior a las trece hojas din A4 a 30 líneas, con no más de seis figuras y seis tablas.

En la primera página de todos los trabajos se indicará, en el siguiente orden: título en castellano; título en inglés; nombre y un apellido de cada uno de los autores y nombre completo del centro, con la dirección para correspondencia, incluido correo electrónico. En la segunda página se incluirá un resumen y las palabras clave (ambos en castellano e inglés). La estructura de los manuscritos preferentemente deberá organizarse en los apartados de Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Bibliografía, Tablas y Gráficas. Las tablas se numerarán con números romanos y las figuras con números arábigos. Los pies de figura se imprimirán en hoja aparte y cada figura llevará escrito en el dorso su numeración.

Las citas bibliográficas deben ser directas, consignándose en el texto el nombre del autor o de los dos autores y el año (Ej.: Smith, 1993 o bien Smith and Michigan, 1997) y si son más de dos autores consignándose el primero seguido de "et al.," (Ej.: Smith et al., 1998). Para agrupar varias citas se encadenarán con ";" (Ej.: Smith and Michigan, 1997; Smith et al., 1998).

Las referencias bibliográficas se presentaran en la sección de Bibliografía por orden alfabético siguiendo las normas del International Committee of Medical Journal Editors 5th edition (dichas normas se pueden consultar en JAMA 1997; 277:927-934). Los nombres de las revistas se abreviarán de acuerdo con el estilo usado en el Index Medicus (que se puede consultar en la List of Journals Indexed que se incluye todos los años en el número de enero). A continuación se dan un ejemplo de formato de citas bibliográficas:

A) Artículo de revista con menos de 6 autores:

Lewis SE, Moohan JM, Thompson W. Effects of pentoxifylline on human sperm motility in normospermic individuals using computer-assisted

analysis. Fertil Steril 1993;59:418-423.

B) Artículo de revista con más de 6 autores:

Marrama P, Baraghini GF, Carani C, Celani MF, Giovenco P, Grandi F, et al. Further studies on the effect of pentoxifylline on sperm count and sperm motility in patients with idiopathic oligo-asthenozoospermia. Andrologia 1985;17:612-616.

C) Libro completo:

Colson JH, Armour WJ. Spermatogénesis. 2º ed. Londres: Delmar Publishers;1996.

D) Capítulo de libro:

Siracusa G, Felici M, Salustri A.

Meiotic maturation of the mammalian oocyte. En: Ach RH, Balmaceda JP, Johnston I, editors. Gamete Physiology. 2º ed. New York: Raven Press; 1990. p. 129-144.

E) Comunicación a congreso:

Bengston S, Solheim. Hatching assisted. XXII Meeting of European Society of Human Reproduction and Embriology; 1997 Jun20-23; Roma, Italia. p. 1561-2.

Para la sección de debate se aceptarán textos (de no más de dos hojas din A4 a 30 líneas, incluidas un máximo de cinco citas bibliográficas y dos figuras si las hubiere), que reflejen la opinión de

los diferentes firmantes sobre el tema de discusión que se propondrá en el número de la revista anterior.

Para las secciones de noticias y agenda se aceptarán escritos que informen de congresos u otros eventos relacionados con la Biología de la Reproducción o la actividad asociativa de ASEBIR siempre que identifiquen de manera clara los organizadores de los mismos.

BOLETÍN DE INSCRIPCIÓN

DATOS PERSONALES:

D./Dña.:

Domicilio:

Ciudad:

E-mail:

Formación básica (Médico, Biólogo, Farmacéutico, etc...):

Grado académico (Licenciado, Doctor, Especialista en ..., etc.):

Teléfono:

C.P.:

Móvil:

CENTRO DE TRABAJO:

Domicilio profesional

Calle:

Centro de trabajo:

Ciudad:

E-mail:

Departamento:

Teléfono.:

C.P.:

Fax.:

¿Desea pertenecer como miembro numerario a la asociación para el estudio de la biología de la reproducción, ASEBIR?

DATOS BANCARIOS:

Banco/Caja:

Agencia:

Nº de cuenta:

Provincia:

Desea recibir la correspondencia en:

Dirección particular

Dirección de trabajo

FIRMA

FECHA

Enviar a: Secretaría ASEBIR C/Cronos Nº20 Bloque 4, Planta 1ª, Nº6, 28037 Madrid.

HOJA DE ORDEN DE PAGO BANCARIO (EJEMPLAR PARA EL BANCO)

Sr. Director de la Agencia Nº:

C/

Ruego a Ud. se sirva cargar en:

Nº de cuenta:

Banco/Caja:

Provincia:

Los recibos que le presente al cobro la ASOCIACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

FIRMA

FECHA

Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción

ASEBİR

www.asebir.com · asebir@asebir.com