Junio 2004 Vol. 9 • Nº 1

ASOCIACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

REVISTA ASEBIR

ACTUALIDAD

ARTÍCULOS

- MUC-1 e IL16: Posibles Marcadores de Fertilidad en Reproducción Humana
- Recursos Físicos en el Laboratorio de Reproducción Asistida. Análisis Comparativo de *Guidelines* de Sociedades Científicas
- El Futuro del Número de Embriones a Transferir en un Programa de Reproducción Asistida

DEBATES

- La Investigación, el Destino de Algunos Preembriones Criopreservados
- De Embriones Sobrantes a Ovocitos Sobrantes
- La Investigación con Embriones Criopreservados

FORMACIÓN CONTINUADA

- Desarrollo Embrionario y Anomalías Congénitas que Afectan a la Reproducción

NOTICIAS

AGENDA

IMÁGENES PARA EL RECUERDO

BOLETÍN DE INSCRIPCIÓN

TELSTAR INDUSTRIAL

Cabinas de flujo laminar vertical y horizontal termostatadas

Criocongeladores programables PLANER (-180°C)

Tanques criogénicos (-196°C) para almacenaje de muestras en seco

Tanques de almacenaje de muestras en nitrógeno líquido o en fase vapor

Tanques de almacenaje de muestras en nitrógeno líquido o en fase vapor de gran capacidad

Líderes en criocongelación

La División de Equipos de Laboratorio de TELSTAR INDUSTRIAL concentra su actividad en la tecnología necesaria para llevar a cabo el trabajo de los laboratorios de investigación, control de calidad y análisis, y se beneficia de este background tecnológico que sólo puede ofrecer un potente grupo de empresas.

Líderes en el campo de la criogenia, nuestra experiencia y know-how nos ha llevado actualmente a participar en proyectos de gran envergadura en criocongelación y criopreservación de muestras biológicas.

TELSTAR INDUSTRIAL, S.L.
Josep Tapiolas, 120
08226 TERRASSA (España)
Tel. +34 937 36 16 00
Fax +34 937 85 93 42
E-mail: telstar@etelstar.com

DELEGACIÓN MADRID
Santibáñez de Béjar, 2
28042 MADRID (España)
Tel. +34 913 71 75 25
Fax +34 913 71 79 41
E-mail: telstarm@etelstar.com

LLOYD'S REGISTER QUALITY ASSURANCE ISO9001

eTELSTAR.com
www.etelstar.com

Junio 2004 Vol. 9 • Nº1

ASEBIR

ASOCIACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

SUMARIO PÁG

EDITORIAL 4
Antonio L. González Utor

ACTUALIDAD 6
P.J. Femenía, Y. Gómez, F. Abellán, F. Lledó

ARTÍCULOS:

MUC-1 E IL6: POSIBLES MARCADORES DE FERTILIDAD EN REPRODUCCIÓN HUMANA. REVISIÓN 12
J. A. Martínez-Conejero, N. Garrido, C. Simón, A. Pellicer, J. Remohí, M. Meseguer

RECURSOS FÍSICOS EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA ANÁLISIS COMPARATIVO DE *GUIDELINES* DE SOCIEDADES CIENTÍFICAS 24
J. Aguilar, J. A. Castilla, R. Magán, R. Ortiz, E. González, J.R. Ortiz Galisteo, L. Peralta

EL FUTURO DEL NÚMERO DE EMBRIONES A TRANSFERIR EN UN PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA 27
M. Moreno, N. López, I. Palomo, J. Ordás

DEBATES:

INTRODUCCIÓN A DEBATE 32

LA INVESTIGACIÓN, EL DESTINO DE ALGUNOS PREEMBRIONES CRIOPRESERVADOS 32
Juan Manuel Moreno

DE EMBRIONES SOBRANTES A OVOCITOS SOBRANTES 34
J.R. Ortiz-Galisteo, J.A. Castilla, R. Magán, A. Ortiz, E. González, J. Aguila L. Peralta y L. Martínez

LA INVESTIGACIÓN CON EMBRIONES CRIOPRESERVADOS 35
J. M. Cuadros

FORMACIÓN CONTINUADA: 38
DESARROLLO EMBRIONARIO Y ANOMALÍAS CONGÉNITAS QUE AFECTAN A LA REPRODUCCIÓN
Albert Fortuny

NOTICIAS: 54

AGENDA 56

IMÁGENES PARA EL RECUERDO 58

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES Y NORMAS DE PUBLICACIÓN 60

BOLETÍN DE INSCRIPCIÓN 61

IMÁGENES DE PORTADA.
Vista panorámica de la zona de pósters en el magnífico *hall* del Palacio de Congresos de Granada
La relevancia científico-social de algunos ponentes despertó el interés de la prensa. En la imagen el Dr. B. Soria y la Dra. A. Veiga ante los medios de comunicación.

Vol. 9 • Nº 1 • Junio 2004

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

JUNTA DIRECTIVA.
Presidente: *Antonio L. Gónzalez Utor*
Secretaria: *Begoña Arán*
Tesorero: *Manuel ardoy*
Vocales: *Rocío Núñez, Carmen Ochoa, Nieves Cremades, Esther Fernández, Mark Grossmann, Mª V. Hurtado de Mendoza, Jorge Cuadros, Juan Manuel Moreno y Mª José de los Santos*

COORDINACIÓN DE LA REVISTA.
Nieves Cremades
Mark Grossmann
Mª Victoria Hurtado de Mendoza
Juan Manuel Moreno

PUBLICIDAD Y COLABORACIONES.
ASEBIR
Secretaría ASEBIR:
c/ Fdez. Caro, 44 - 28027 MADRID
Tel. 91 367 89 94 - Fax 91 377 49 65

DISEÑO, MAQUETACIÓN e IMPRESIÓN.
RECCO Imagen y Desarrollo, S.L.L.
c/ Albarracín, 56 - 28037 Madrid
Tel. 91 754 00 26 - Fax 91 754 16 05
E-mail: juanmanuel@recco-sll.com

Depósito Legal: M-18873-1996
ISSN: 1136-4424
Soporte Válido: 78-R-CM

Desde hace medio año, me encuentro presidiendo nuestra asociación, y creo que es el momento de describir como desde la perspectiva de la Junta Directiva contemplamos el futuro de ASEBIR. Sin embargo, no sería justo comenzar sin agradecer a todos los compañeros que han participado de una forma significativa en las muchas actividades de la asociación desde su creación hasta el día de hoy. Así, en primer lugar, debo de agradecer a los impulsores de la idea primigenia del asociacionismo entre los profesionales que desarrollábamos nuestro trabajo en el área de la Biología de la Reproducción, tanto en el ámbito de embriología clínica aplicada como de investigación básica. Esta idea se materializó con la firma del acta fundacional el 22 de enero de 1993, constituyéndose la primera Asamblea General en noviembre del mismo año.

Desde hace seis años he tenido y tengo el placer de trabajar con compañeros, muchos de ellos fundadores de la asociación, en la Junta Directiva. A todos ellos quisiera agradecer todos los esfuerzos realizados en pro de ASEBIR. Además, este reconocimiento lo quisiera hacer extensible a todos aquellos que de algún modo han ayudado con su trabajo, desde la ayuda en la organización de diversos eventos hasta la publicación de cualquier tipo de manuscrito en nuestra revista. Y en general, quisiera dar las gracias a los 375 socios que hoy formamos la sociedad. Muchas gracias a todos por llegar a conseguir que ASEBIR tenga una fuerte y dinámica personalidad dentro del campo de la Biología de la Reproducción.

Esta cualidad viene avalada por el trabajo presentado durante estos más de diez años de actividad. Así, me gustaría resumir brevemente la charla que para tal fin tenía prevista exponer nuestra ex-presidente (aunque para mí seguirá siendo nuestra presidente) Anna Veiga en el anterior Congreso de Granada. Entre las diferentes actividades realizadas destacaré las siguientes:

- *Organización de siete reuniones científicas y un seminario, entre los años 1994 a 2000, en las cuales han participado científicos de alto prestigio, destacando a los Drs. J. Egozcue, Y. Ménézo, K. Elder, M. Sousa y H.M. Picton.*

- *Organización de dos Congresos Nacionales en los años 2001 y 2003. En el primero, en Murcia, donde se inscribieron 210 personas, se expusieron 8 ponencias y se presentaron 70 trabajos. En el segundo, en Granada, donde se inscribieron 236 personas, se expusieron 13 ponencias y se presentaron 103 trabajos.*

- *Publicación de dieciséis números de la revista ASEBIR con 43 trabajos científicos y 72 participaciones en debates, amén de las colaboraciones en los apartados de Editorial, Actualidad y Formación Continuada.*

- *Creación y mantenimiento de la página web de la asociación, intentando desde su inicio, mantener un máximo de dinamismo para la mayor comunicación entre la asociación y los asociados.*

- *Implantación de una secretaría propia y con total independencia.*

- *Creación conjuntamente con la Sociedad Española de Fertilidad y la Asociación Española de Andrología la Federación de Asociaciones para el Estudio de la Reproducción.*

- *Y un sin fin más de actividades incluida la de ser miembro de la CNRHA, colaborar con el COB en el desarrollo del reglamento para la cualificación de especialista en reproducción humana asistida, publicar un programa propio de formación de embriólogo clínico,...*

Visto todo este acumulo de trabajo realizado, personalmente pienso que sólo continuar con lo ya establecido será una tarea ardua y difícil para el desempeño de mi labor como presidente. Sin embargo, creo que esto no será así, pues sé que me encuentro rodeado en la Junta Directiva, por unos maravillosos compañeros, con muchas ganas y muy capacitados para desempeñar las funciones que se nos puedan exigir. Es por ello, que además de lo establecido ya, deseamos inicialmente activar, modificar o en algunos casos crear, diferentes líneas de trabajo. Entre otras posibles, destacaríamos las siguientes:

1. *- Reformar las elecciones/renovaciones de la Junta Directiva, manteniendo el espíritu inicial de consenso de conservar listas abiertas.*

2. *- Relanzar los registros del laboratorio de Reproducción Asistida y actualizar nuestra base de datos. Para ello, potenciaremos la distribución/recepción de datos a través de la página web.*

3. *- Implantar directrices de ASEBIR para el trabajo en el laboratorio similares a las de otras organizaciones internacionales. Así, se ha dado un primer paso, al presentar una encuesta donde se valorará los recursos físicos que contamos en nuestros laboratorios.*

4. *- Restablecer el contacto con el colegio de biólogos, tanto a nivel del órgano intercolegial como en el ámbito de los diferentes colegios territoriales independientes, para intentar nuevamente reactivar el título especialista en reproducción humana asistida que el antiguo COB elaboró.*

5. *- Presentar nuestra asociación a los estamentos estatales oportunos, con el ánimo de darles a conocer la falta de reconocimiento profesional de nuestra especialidad.*

6. *- Establecer contactos con diferentes asociaciones internacionales de nuestro mismo ámbito profesional (ALPHA, ACE, BLEFCO, SIERR, ...)*

En fin, parece que quizás trabajo no faltará. Sólo espero que todas las expectativas que los asociados hayan puesto en mí o en la Junta Directiva se cumplan. Por mi parte, y creo poder hablar por todos mis compañeros, expresaros nuestra intención de trabajar por y para ASEBIR al máximo de nuestras capacidades.

Antonio L. González Utor
Presidente de ASEBIR

En esta ocasión, dada la gran incertidumbre creada por la aparición de la modificación de la Ley de Reproducción Asistida, hemos creído interesante conocer la opinión desde el punto de vista jurídico. Para ello, se planteó a cuatro juristas la pregunta: **¿Qué interpretación se puede hacer de Ley RA: Art.4 Apdo. 3 "Se fecundará un máximo de 3 ovocitos que puedan ser transferidos a la mujer en el mismo ciclo,...?".** Agradecemos su amable colaboración y estas son sus consideraciones.

ARTÍCULO 4.3 DE LA LEY 35/1988 DE 22 DE NOVIEMBRE, SOBRE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA, MODIFICADO POR LEY 45/2003, DE 21 DE NOVIEMBRE.

«Se fecundará un máximo de tres ovocitos que puedan ser transferidos a la mujer en el mismo ciclo, salvo en los casos en los que lo impida la patología de base de los progenitores».

Pedro J. Femenía López.
Profesor Titular del Departamento de Derecho Civil de la Universidad de Alicante.

Desde su implantación y desarrollo en España, y su regulación por medio de las leyes de 1988, uno de los principales problemas que ha planteado la aplicación de las Técnicas de Reproducción Asistida, tanto en el plano ético como en el jurídico, ha sido el destino que hubiera de darse a los embriones «sobrantes» de una fecundación *in vitro.*

Vaya por delante que, en mi opinión personal, dicho problema podría haberse evitado desde el principio con una medida similar a la introducida por la Ley 45/2003 de 21 de Noviembre, es decir, limitando el número de embriones que evitado desde el principio con una medida similar a la introducida por la Ley pueden ser fecundados para ser transferidos a la mujer en el mismo ciclo, tal y como hizo la Ley alemana de 1990 y la reciente Ley italiana de Marzo de 2004.

La Ley española de 1988 únicamente limitaba el número de embriones a implantar, pero no aquellos que hubieran de fecundarse, lo que unido a la práctica médica habitual de fecundar *in vitro* más embriones de los que efectivamente han de ser implantados provocó el «excedente» embrionario.

¿Con qué finalidad? Durante mucho tiempo la respuesta estuvo basada en una razón técnica y en otra de tipo social: la primera era la necesaria e inevitable producción de embriones «sobrantes»; la segunda, evitar a la mujer someterse a reiteradas intervenciones cada vez que viera frustrado un intento anterior.

Sin embargo, ambas motivaciones escondían un argumento falaz: la primera por cuanto que, si bien es cierto, que en el proceso de estimulación ovárica se extraerán mas óvulos de los que van definitivamente a implantarse, también es cierto que pueden fecundarse únicamente aquellos que definitivamente vayan a ser transferidos al útero materno, desechando el resto de óvulos o, en el estado actual de la técnica, manteniéndolos congelados sin fecundar; la segunda, por cuanto que las circunstancias médicas, económicas y emotivas que rodean la realización de una fecundación in vitro demuestran que el tiempo que transcurre entre un proceso y otro aconsejan no utilizar los embriones congelados sino fecundar otros nuevos.

La verdadera utilidad de dichos embriones ha aparecido años después cuando se han propuesto y aprobado líneas de investigación con células madre embrionarias que pueden resultar eficaces en el tratamiento de enfermedades hasta ahora incurables. Y, desde luego, resulta más conveniente permitir dicha utilización ante la única alternativa posible al destino de los embriones «sobrantes», esto es, su destrucción.

Por ello, considero acertada la limitación que establece la Ley 45/2003 en cuanto al número de embriones que pueden fecundarse ya que ello contribuirá a evitar la producción de más embriones «sobrantes», al mismo tiempo que favorecerá el desarrollo de líneas de investigación alternativas a la utilización de células madre embrionarias.

SOBRE EL ARTÍCULO 4, APARTADOS 2 Y 3, DE LA LEY 45/2003, DE 21 DE NOVIEMBRE, POR LA QUE SE MODIFICA LA LEY 35/1988, DE 22 DE NOVIEMBRE, SOBRE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.

Yolanda Gómez Sánchez.
Catedrática de Derecho Constitucional. Universidad de Educación a Distancia

Artículo 4.2 y 3 de la Ley 45/2003, de 21 de Noviembre:

"2. Sólo se autoriza la transferencia de un máximo de tres preembriones en una mujer en cada ciclo.

3. Se fecundará un máximo de tres ovocitos que pueda ser transferidos a la mujer en el mismo ciclo, salvo en los casos en los que lo impida la patología de base de los progenitores.

Las tipologías fisiopatológicas de estos casos en los que se permita fecundar un número mayor de ovocitos, siempre que sea asumible por la pareja dentro de su proyecto reproductivo, serán especificadas en un protocolo elaborado por el Ministerio de Sanidad y Consumo con el asesoramiento e informe previo de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida".

La duda parece presentarse en relación con el primer párrafo del apartado 3, del artículo 4 de la Ley 45/2003, en la medida en la que la redacción dada a este precepto podría generar, en principio, dos interpretaciones distintas:

a) Que sólo pueden fecundarse un máximo de tres ovocitos por ciclo y mujer; o

b) Que pueden fecundarse más de tres ovocitos por ciclo y mujer siempre que, como máximo, tres preembriones puedan ser transferidos a la mujer en cada ciclo.

En mi opinión, la interpretación jurídicamente correcta del precepto cuestionado es la posibilidad b); opinión que baso en los siguientes argumentos:

1. Interpretación favorable a la mayor libertad y extensión del derecho. La Ley 45/2003, de 21 de Noviembre, como ya hiciera la Ley 35/1988, de 22 de Noviembre, regula, entre aspectos técnicos de la aplicación de las Técnicas de Reproducción Asistida y de la investigación con preembriones, incorpora verdaderos derechos de las mujeres y de las parejas que acuden a estas técnicas (en este caso el derecho de recibir unas técnicas que les permitan ejercer su derecho a la reproducción), por tanto, resulta obligado, como reiterada jurisprudencia del Tribunal Constitucional ya ha señalado, realizar una interpretación de la norma conforme al principio favor libertatis, buscando la mayor efectividad del derecho y permitiendo la manifestación de la fuerza expansiva del mismo. Estos principios obligarían, en todo caso, a suscribir la interpretación más favorable al derecho de la mujer y de las parejas que fuera compatible con la propia redacción del precepto y, en su caso, con los demás preceptos concordantes de esta Ley 45/2003 y/o de la Ley 35/1988. Por otro lado, la interpretación de un precepto debe ser acorde con el fin de la norma, en este caso, con la aplicación de técnicas que permitan la reproducción, debiendo rechazarse aquellas interpretaciones que, de facto, impidan o dificulten más allá de lo razonable el cumplimiento del fin perseguido por la norma.

2. Por otro lado, la interpretación de las normas debe realizarse desde la literalidad de las mismas no siendo relevante, como igualmente ha señalado el Tribunal Constitucional, la "intención" del legislador que no se haya plasmado expresamente en la propia norma.

3. Conforme a los criterios anteriores, en este caso, debe hacerse una interpretación sistemática de los apartados 2 y 3 del artículo 4 de la Ley 45/2003. El apartado 2 fija tajantemente en tres el número máximo de preembriones que pueden ser transferidos a una mujer en cada ciclo. Este apartado, pues, establece el número máximo de preembriones por transferencia pero no se refiere al número de fecundaciones que hayan sido necesarias para obtener estos tres preembriones transferibles.

4. El apartado 3 del artículo 4 regula el proceso de fecundación previo a la transferencia de los tres preembriones que cómo máximos pueden ser alojados en el seno de la mujer. Establece este apartado que "se fecundará un máximo de tres ovocitos que puedan ser transferidos a la mujer en el mismo ciclo", salvo las excepciones derivadas de la patología de base de la mujer o de la pareja.

La palabra realmente clave para la interpretación de este precepto es "puedan", que denota que el precepto no está regulando el proceso inicial (la fecundación de los ovocitos) sino el resultado final (que, como máximo, se obtengan tres preembriones "que puedan" transferirse). Es decir, en un mismo proceso y respecto de una única mujer la ley no obliga a fecundar exclusivamente tres ovocitos, pues podría ocurrir que ninguno de ellos fuera apto para su transferencia al útero, en cuyo caso había que entender agotado el ciclo sin ninguna transferencia. Estimo que la Ley permite obtener más de tres ovocitos de cada mujer en cada ciclo, ovocitos que pueden ser fecundados hasta obtener un máximo de tres preembriones que "puedan" ser transferidos a la mujer. El equipo biomédico tiene la responsabilidad de decidir cuándo se da el presupuesto jurídico (la existencia de tres preembriones transferibles), decisión técnica en la que debe tomarse en consideración lo establecido en los artículos 6.2, 19,2 de la Ley 35/1988 y especialmente la prohibición, sancionada como falta grave en el artículo 20.2 B) i) de esta misma Ley, de transferir al útero gametos o preembriones sin las exigibles garantías biológicas o de viabilidad.

La dificultad técnica -que no jurídica- puede ser de tiempo y procedimiento en el propio laboratorio, puesto que el artículo 4.2 y 3 que comentamos no establecen ningún plazo para realizar el ciclo que se describe (fecundación y transferencia). Opino, que dentro de este proceso único -un ciclo- los equipos médicos pueden fecundar más de tres ovocitos siempre que al final de dicho proceso queden, como máximo, tres preembriones que puedan transferirse. Son los equipos biomédicos los que podrán, en su caso, establecer las pautas temporales -seguramente, caso por caso, según las circunstancias médicas de la mujer- para llevar a cabo el proceso aludido en el artículo 4.2 y 3 que comentamos.

Un ciclo no puede generar preembriones sobrantes (salvo en los casos excepcionales previstos en la ley); pero la ley no establece la duración de cada ciclo; ni regula obviamente cada una de las fases biomédicas del mismo ni su duración. Uno de los fines de la reforma introducida por la Ley 45/2003 es, sin duda, el de reducir drásticamente la generación de embriones sobrantes pero ello no puede hacerse con sacrificio total del principio de eficacia y eficiencia en la aplicación de las técnicas de reproducción asistida, pues tal cosa iría en contra de la finalidad principal de la legislación sobre esta materia: permitir la reproducción.

La opinión que mantengo se confirma en el artículo 4.3, párrafo segundo, y en el artículo 11.3 párrafo primero de la Ley 45/2003, que aluden a los casos excepcionales en los que se fecunden más de tres ovocitos por ciclo con la intención precisa de generar embriones sobrantes para sucesivos ciclos, pudiendo, en estos casos, ser crioconservados "durante un plazo equivalente a la vida fértil de la mujer".

Conclusión: Sólo en el ámbito de cada ciclo podrían fecundarse más de tres ovocitos con un único fin: obtener tres preembriones que pudieran transferirse. La evaluación de los preembriones transferibles es competencia del equipo biomédico en el marco de su responsabilidad general y según lo establecido también en los artículos 6.2, 19,2 y 20.2 B) i) de la Ley 35 /1988, de 22 de Noviembre.

CONSIDERACIONES JURÍDICAS SOBRE LA LIMITACIÓN DE FECUNDACIÓN DE TRES OVOCITOS

Fernando Abellán.
Profesor del Master en Derecho Sanitario de la Universidad Complutense de Madrid.

I.- Planteamiento general de la reforma y objetivos que persigue

La reforma de la ley sobre Técnicas de Reproducción Asistida de 1988, llevada a efecto por la Ley 41/2003, de 21 de Noviembre, tiene dos objetivos básicos: por un lado, limitar la generación de embriones supernumerarios y, por otro, dar salida a los existentes con anterioridad a la propia reforma que permanecen criopreservados en los bancos correspondientes.

Con respecto al primero de los fines indicados, el de la limitación de nuevos embriones sobrantes, el planteamiento que subyace en la nueva norma es el de que, a partir de la misma, no se producirán ya más embriones que no vayan a ser necesariamente utilizados para la procreación de la propia pareja progenitora o, en su caso, de otra distinta (o de una mujer sola) que los reciba en donación.

De esta forma, el nuevo artículo 4.3 de la Ley dispone que "se fecundará un máximo de tres ovocitos que puedan ser transferidos a la mujer en el mismo ciclo, salvo en los casos en los que lo impida la patología de base de los progenitores", de acuerdo con una serie de tipologías fisiopatológicas que habrán de ser especificadas en un protocolo elaborado por el Ministerio de Sanidad y Consumo con el asesoramiento e informe previo de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.

Al mismo tiempo, para que puedan generarse excepcionalmente estos embriones de más, será preciso que la pareja suscriba un "compromiso de responsabilidad" sobre los mismos consistente en un documento de consentimiento informado en el que se obliguen a utilizarlos para su propia reproducción en el futuro, siempre antes de que finalice la vida fértil de la mujer, y en el que se incluya también una cláusula por la que otorguen anticipadamente su consentimiento a que, si no se le hubieran transferido en ese plazo a la mujer, los embriones habrán de ser donados con fines reproductivos como única alternativa.

En definitiva, si en todos los casos se cumple la previsión normativa que estamos comentando, la teoría es que desaparecerían por completo los embriones huérfanos, ya que todos tendrían necesariamente un destino reproductivo.

Por esta razón, el segundo de los puntos clave de la reforma legislativa está referido a la búsqueda de una salida para los embriones supernumerarios criopreservados antes de su aplicación, y que agotaron el plazo máximo de conservación con arreglo a la norma anterior (5 años), estableciendo a tal efecto una serie de opciones para la pareja de la que proceden (reproducción propia, donación a otras parejas para su reproducción, cesión para investigación y descongelación), pero sólo, como se ha aclarado, exclusivamente respecto de los existentes en esa situación con anterioridad a la entrada en vigor de la Ley (antes del 23-11-03). No se alude en ningún momento en este apartado de la norma a los huérfanos que puedan generarse a partir de su entrada en vigor pues se entiende, simple y llanamente, que no van a existir, salvo caso de mala praxis médica (supuesto en el que tampoco se dice cómo debe procederse).

II.- Confrontación de la norma con la realidad asistencial. Derechos de los usuarios en conflicto

A juicio de una parte importante de los profesionales que se dedican habitualmente al campo de la Reproducción Humana, la situación que se ha descrito en el apartado anterior colisiona en cierta medida con la mecánica propia de las técnicas, en el sentido de que, según los estudios realizados sobre el particular (fuente: laboratorio CEHISPRA), las tasas de fecundación de ovocitos varían de un equipo a otro entre el 60-80%, lo que supone que deben inseminarse o microinyectarse cinco óvulos (es decir, hay que hacer cinco intentos) para conseguir que se fecunden tres óvulos.

Lógicamente, con esta forma de proceder no siempre se produce el resultado deseado, sucediendo en ocasiones que el número de óvulos fecundados que se obtiene es menor o mayor al de los tres permitidos. En estos casos, teniendo en cuenta que la ley (art. 4.2) sólo autoriza la transferencia de un máximo de tres embriones en una mujer en cada ciclo (lo que

coincide con el sentir general de los especialistas sobre lo que debe entenderse por un actuar correcto) nos encontramos con que debe procederse a la congelación de los que superen ese número si se quiere evitar su destrucción.

Cuando lo anterior ocurre en un supuesto en el que no está admitido legalmente superar el número de tres fecundaciones (por inexistencia de una patología de base de los progenitores que lo justifique), la situación que se produce es la de contravención abierta del literal de la Ley en este aspecto concreto ("se fecundará un máximo de tres ovocitos..."), es decir, en un asunto para el que la misma contempla (art. 11.6), nada menos que la posibilidad de suspensión temporal o pérdida de la autorización como centro de reproducción asistida.

Para evitar un escenario como el referido cabría teóricamente que los equipos sólo llevaran a cabo tres intentos de fecundación, y ello a sabiendas de que en la mayoría de los casos no podrían obtenerse tres óvulos fecundados. Ahora bien, lo cierto es que también podría argumentarse en este caso que, entonces, se estaría privando a las parejas de un derecho que les confiere la Ley como es el de poder utilizar hasta tres embriones en el mismo ciclo, con el consiguiente perjuicio para ellas en orden a pérdida de oportunidad para conseguir un hijo e incremento de los padecimientos físicos (nueva hiperestimulación ovárica, punción, etc.) y psíquicos (desazón, frustración de expectativas, etc.) del tratamiento por tener que repetir todo el proceso para optar a un segundo ciclo.

Consecuentemente, puede afirmarse que la prohibición legal en esta materia de la limitación de las tres fecundaciones no tiene en cuenta las particularidades de carácter científico y biomédico de la aplicación de las técnicas y que, en cierta manera, resulta contradictoria con otro de sus postulados, concretamente con el que reconoce a las parejas la posibilidad de realizar tres transferencias de embriones en un mismo ciclo, puesto que, al incluir al mismo tiempo la Ley una limitación como la indicada (la de las tres fecundaciones) impide en la práctica el ejercicio pleno del derecho anterior en la mayoría de los casos.

III.- El incumplimiento de la norma. Situación de los embriones supernumerarios que se generen contraviniendo lo dispuesto en la Ley

Sin perjuicio de que el cambio político en el Gobierno de España, operado en las últimas elecciones generales, puede dar lugar a una nueva modificación de la Ley de reproducción, en un sentido más flexible respecto del asunto que estamos comentando y de que, por esa misma razón, en estos momentos las autoridades sanitarias puedan ser reacias a promover ningún expediente sancionador por la vulneración de la norma de las tres fecundaciones, la realidad es que, en tanto no se produzca una variación legislativa, no puede decirse sino que continua vigente la amenaza de la posible suspensión o cierre del centro, a la que se ha aludido más arriba.

Ahora bien, con independencia de las consecuencias sancionadoras pertinentes, en caso de que proceda su depuración, la Ley guarda silencio respecto a la forma de proceder con los embriones supernumerarios que se generen contraviniendo sus prohibiciones, es decir, con aquéllos procedentes de parejas que no se encuentran concernidas por las tipologías fisiopatológicas que habilitan legalmente a fecundar un número mayor de tres ovocitos. A mi juicio, el hecho de que la Ley prohíba el surgimiento de estos embriones adicionales no debería haber impedido que se pronunciara sobre lo que debe hacerse en caso de su existencia.

En principio, los dos caminos posibles que contempla la Ley 45/2003 les estarían vedados a estos embriones. En efecto, por un lado, su encauzamiento a través del "compromiso de responsabilidad de los progenitores", con el fin de que siguieran crioconservados para asegurar la reproducción de los mismos en el futuro hasta que concluya el plazo equivalente a la edad fértil de la mujer (o sean donados a otra pareja a los mismos fines indicados), no sería posible, en cuanto que la Ley (art. 11.3) lo limita expresamente a 'los casos excepcionales' en los que concurra la patología de base de los progenitores, que son los únicos en que, en pura teoría, pueden darse estos embriones adicionales.

Y, por otro, la posibilidad de conferir a la pareja las opciones previstas para los embriones criopreservados con anterioridad a la entrada en vigor de la reforma, tampoco parece aplicable en este caso por ser posteriores a ese momento y porque (aunque no lo dice expresamente la Ley en su disposición final primera) el citado régimen se entiende referido a embriones con más de cinco años de congelación. De otra forma, quedaría habilitada, por ejemplo, la decisión para la pareja de ceder estos nuevos embriones directamente para la investigación o decidir su descongelación, lo que es contrario al sentido de fondo de la reforma legislativa que aboga porque, a partir de la misma, todos los embriones que se generen sirvan para la reproducción humana.

No obstante la imposibilidad formal de remitir a estos embriones "ilegales" a cualquiera de las dos vías referidas, no puede obviarse aquí que el propósito declarado del legislador es, como se ha dicho al principio de estas líneas, el de evitar la generación de nuevos embriones huérfanos que queden indefinidamente criopreservados en los bancos, sin un destino reproductivo asegurado.

En este sentido, y a pesar de las dificultades expuestas, pienso que una medida atenuadora de la hipotética responsabilidad que, en su caso, pudiera derivarse del no cumplimiento estricto de la limitación de las tres fecundaciones, sería desde luego la de exigir a las parejas la suscripción del mencionado "compromiso de responsabilidad" previsto en la Ley, para su aplicación también respecto de estos embriones adicionales "no permitidos" que pudieran generarse de forma no intencionada. De esta forma, se estaría respetando el fin último que persigue la ley, pues estos embriones complementarios tendrían siempre un destino para la reproducción de la propia pareja o, en su defecto, de otra pareja o mujer sola que los recibiría en donación.

Ahora bien, no se quiere decir con lo anterior que con el citado "compromiso de responsabilidad", que supone un consentimiento de la pareja a la criopreservación de sus embriones sobrantes, se haga desaparecer por si misma (en cuanto supone una aceptación de la situación por los usuarios) la responsabilidad del centro o de los equipos por el posible incumplimiento de la prohibición legal de superar el límite de los tres óvulos fecundados. Evidentemente, en Derecho no es válido un consentimiento sobre algo expresamente prohibido por ley y que, por tanto, escapa del poder de disposición de los afectados.

Lejos de lo anterior, lo que quiero significar con este planteamiento es que, a mi juicio, la utilización del mencionado compromiso en estos casos es la mejor solución posible para afrontar la realidad de los citados "embriones prohibidos", ya que permite salvaguardar de forma bastante satisfactoria el bien jurídico protegido en última instancia por la norma, que no es otro que la protección adecuada del embrión exigida en nuestro ordenamiento y, dentro del mismo, de forma primordial, en el Convenio relativo a los Derechos Humanos y la Biomedicina de 1997 (Convenio de Oviedo), fuente iluminadora de primer orden de la reforma legislativa llevada a efecto en este campo.

REFERENCIAS LEGISLATIVAS

- *Ley 35/1988, sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida*
- *Ley 45/2003, de 21 de Noviembre, por la que se modifica la anterior*
- *Real Decreto 176/2004, de 30 de Enero, por el que se aprueba el Estatuto del Centro Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa*
- *Convenio relativo a los derechos humanos y la biomedicina, de 4 de Abril de 1997*

ALGUNAS REFLEXIONES JURÍDICAS EN TORNO A LA INTERPRETACIÓN DEL ARTÍCULO 4 APARTADO 3 (LEY 45/2003 DE 21 DE NOVIEMBRE)

Francisco Lledó Yagüe.
Catedrático de Derecho Civil.
(Jurista convocado en la Comisión especial de expertos constituida en el Congreso de Diputados para la redacción de la Ley de Reproducción humana asistida)

El estado de la cuestión y la pregunta clave que se formula los expertos en medicina reproductiva es si en base al citado precepto: ¿Existe una obligación a "inseminar" solo tres óvulos, para obtener como máximo tres embriones?

En mi opinión en dicho precepto tan sólo se formula una limitación relativa al máximo de embriones transferibles en el mismo ciclo a la paciente PERO NO SE PROHIBE la fecundación de un mayor número que observando dicha restricción puedan transferirse en ciclos sucesivos con la limitación en la implantación de tres embriones, salvo como excepcionales.

En mi opinión, el citado artículo 4 expresa incorrectamente conceptos técnicos científicos, esto es, confusión en los vocablos inseminación, fecundación, o implantación.

Así cabe distinguir, al respecto, dos procesos. El primero es la "producción del embrión", que exige una iniciación desencadenante, consistente en la acción de inseminar, y que a causa de su eficiencia o inutilidad, puede resultar fructífera o fallida. El segundo, es la perfección constitutiva el embrión, (según que la inseminación de o no lugar a la fecundación).

En la inteligencia realmente poco probable que sería el siguiente: se inseminan tres óvulos, se fecundan los tres, y se producen sólo tres "embriones" que son los que con posteridad se transfieren al útero materno.

Sentado lo anterior debemos concluir que esta hipótesis es poco previsible dado que cuando se inseminan tres óvulos, NECESARIAMENTE NO TIENE POR QUE PRODUCIRSE SÓLO TRES EMBRIONES, SINÓ QUE ES POSIBLE QUE CONSECUENCIA DE LA INSEMINACIÓN DE LOS TRES ÓVULOS, LA CONSECUENCIA DE ESA FECUNDACIÓN SE DESARROLLEN MÁS DE TRES EMBRIONES. En este sentido corrobora esta reflexión que apuntamos el propio artículo 2, 2 de la citada ley, cuando reconoce la posibilidad del excedente de embriones.

El carácter excepcional con que –ignorando la probabilidad estadística o mayoritaria de que sistemáticamente se formen más de tres embriones- discurre el legislador, le conduce inexorablemente a tener que acomodar la dicción de la norma a una realidad fisiológica que no ha tenido en cuenta y en la cual se muestra disconforme.

En mi opinión, se aconseja una reformulación que se condiga con esa naturaleza.

En conclusión, razonando conforme al espíritu y finalidad de la norma, la posibilidad de implantar más de tres embriones, lejos de revestir carácter excepcional dependerá en cada caso, de las condiciones básicas o circunstancias particulares –no imprescindiblemente patológicas- de los progenitores, porque mal cabe denominar patológico o anómalo a lo que puede ocurrir con una frecuencia previsible.

Que lo que decimos, es legalmente posible se expresa literalmente en el citado párrafo tercero del artículo 4 "salvo en los casos en los que lo impida la patología de base de los progenitores". Además, en el propio texto imperativa ya que expresamente se dice "que puedan ser transferidos, y no dice deberán...".

A mayor abundamiento, el propio legislador exige del equipo médico un "estudio de su proyecto reproductivo". Es por ello, que aquel equipo médico debe (como expresan los expertos, por todos Carmen Ochoa) adjuntarse a cada ciclo de tratamiento un informe en el que se resuma la situación de cada pareja y lo que se pretende hacer en cuanto a estimulación ovárica, número de ovocitos a inseminar, número de embriones a transferir, si se desea congelación de embriones o no, y la intención que tienen los pacientes, en el supuesto de que existan embriones sobrantes, con ellos). Creo que este informe es conveniente para entender y justificar el procedimiento empleado. El propio texto del artículo 4, lo está implícitamente requiriendo, cuando se dice que "se analizará la situación con carácter previo", "teniendo en cuenta el proyecto reproductivo de la pareja", "ajustar aspectos del tratamiento...", "se tendrán en cuenta las circunstancias particulares de la mujer...", etc.

En conclusión, el tenor de ese informe además de condicionar la práctica de una experimentación que, en su defecto, está privada de eficacia jurídica y relieve científico, facilita si se procede en el rigor y detención que su emisión requiere, la prueba preconstituida de que el tratamiento se ha racionalizado y desenvuelto con la diligencia profesional conveniente a las particularidades y a los objetivos de la investigación pretendida. Facilita asimismo uno de los elementos de convicción que constitucionalmente cabe utilizar para defender en juicio el respeto a las normas de la especialidad con que han debido conducirse los facultativos que intervienen en el tratamiento.

Un Sistema

Un sistema comprobado, que incluye los productos disponibles más avanzados técnicamente y con mejores controles de calidad, los cuales han demostrado que generan de manera consistente altos porcentajes de embarazo en las clínicas líderes de todo el mundo.

Cook España
Telf: 93 363 88 40
Fax: 93 419 71 23

COOK®
www.cookgroup.com

Productos para Infertilidad, Ginecología y Obstetricia

MUC-1 E IL6: Posibles Marcadores de Fertilidad en Reproducción Humana. Revisión

MUC1 and IL6: possible markers of fertility in human reproduction. Review

J.A. Martínez-Conejero[1,2], N. Garrido[2,3], C. Simón[1,2,3], A. Pellicer[1,2,3,4], J. Remohí[1,3], M. Meseguer[2,3].
[1] Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina de Valencia, España.
[2] Fundación IVI. [3] Instituto Valenciano de Infertilidad. [4] Hospital Dr. Peset.

Correspondencia: José Antonio Martínez-Conejero. Laboratorio de Andrología y Banco de Semen. Instituto Valenciano de Infertilidad. E-mail: jomarco@postal.uv.es

Resumen: Con esta revisión pretendemos recopilar los datos existentes hasta la fecha en la literatura científica respecto a dos potenciales marcadores moleculares de fertilidad masculina y femenina, la interleuquina 6 (IL-6) y la mucina 1 (MUC-1), de los cuales existe un amplio conjunto de trabajos que los implican en diferentes pasos del proceso reproductivo.
Además, se han hallado ligados a ciertas situaciones patológicas que comprometen el potencial fértil, aunque no existe un consenso generalizado al respecto. A pesar de todos los esfuerzos realizados hasta la fecha, la información recopilada acerca de estas moléculas resulta insuficiente para establecer un diagnostico y aplicar una terapia en el caso de que existiera relación con la infertilidad de causa desconocida, por lo que se requieren todavía más investigaciones al respecto.

Palabras clave: marcadores moleculares, infertilidad, factor masculino, factor femenino, MUC-1, IL-6.

Summary: With this review, we aimed to collect the existing data to date in scientific literature about two potential molecular markers in male and female fertility, the interleukin 6 (IL-6) and the mucin 1 (MUC1), of which exist a large set of works that imply them in different steps of the reproductive process.

In addition, they have been related to certain pathogenic situations that they jeopardize the fertile potential, although a generalized consensus does not exit on this issue. Despite all the efforts made to date, the information compiled about these molecules is still insufficient to establish a diagnose and to apply a therapy just in case of a demonstrated relationship with unknown origin infertility, reason why more investigations are still required on the matter.
Key words: molecular markers, infertility, male factor, female factor, MUC1, IL-6.

INTRODUCCIÓN

La imposibilidad de concebir hijos o infertilidad, cada vez afecta a más parejas, y a pesar de que los avances de la ciencia permiten disponer de nuevas prácticas para solucionar tan singular inconveniente, no existe una solución definitiva para todas y cada una de las causas de infertilidad, así como tampoco se conocen todos los factores implicados que la provocan, motivo por el cual se complica más, si cabe, el tratamiento sin tener que recurrir a gametos de donantes, sobre todo en los casos más extremos.

Dichos problemas de esterilidad han sido atribuidos, tradicional y culturalmente, a la mujer. No obstante, últimamente ha venido cobrando cada vez más fuerza el factor masculino como responsable entre las posibles causas de incapacidad a la hora de tener descendencia, situándose aproximadamente en torno a un 80% o más el número de casos en los que existe alguna alteración del semen entre las parejas que acuden a un Centro de Reproducción Asistida (Garrido et al., 2001)

En los últimos años, ha ido aumentando la preocupación de la opinión pública con respecto al descenso de la fertilidad masculina. Diferentes estudios (Carlsen et al., 1992; Auger et al., 1995) basados principalmente en el examen de los análisis microscópicos de las muestras de semen según lo indicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (WHO, 1999), parecen reforzar estas afirmaciones.

No obstante esta hipótesis sigue siendo polémica, y la carencia de un consenso generalizado mantiene la discusión abierta. Sin embargo en un porcentaje significativo de los varones (siguiendo los criterios de la OMS) son incapaces de embarazar a una mujer, incluso cuando la exploración de la mujer es aparentemente normal. La cuestión es que a pesar de esto, se continúa estudiando en menor proporción, haciendo mayor hincapié en las causas femeninas.

En el caso de alteración del factor masculino, existen diferentes técnicas terapéuticas capaces de mejorar las probabilidades de iniciar una gestación, como la inseminación artificial, la fecundación *in vitro* (FIV) o la inyección intracitoplasmática entre otras (Garrido et al., 2002), todas ellas para resolver diversas patologías seminales como oligospermia, teratospermia, astenospermia, infección en glándulas accesorias o combinaciones de ellas que derivan en la infertilidad masculina (Garrido et al., 2001). Frecuentemente la causa de infertilidad es totalmente desconocida, e individuos con un espermiograma aparentemente normal, según los parámetros de la OMS (WHO, 1999), sufren infertilidad. De ahí que sean muchos los esfuerzos por encontrar marcadores moleculares que se puedan utilizar como indicadores clínicos en circunstancias de infertilidad desconocida y para tener un mayor conocimiento de esta insuficiencia.

Los estudios básicos que conduzcan a la determinación de dichos indicadores deben pasar por una serie de etapas sucesivas. Inicialmente deben encontrarse moléculas que se hallen en el plasma seminal, en la superficie de los espermatozoides o incluso en células germinales, aunque en estos últimos, es más compleja y laboriosa la aplicación clínica. Posteriormente deben estudiarse sus posibles papeles en la fertilidad y hacer comparativas con diversos parámetros del semen y entre individuos fértiles e infértiles o con ciertas anomalías comunes en el eyaculado.

En el caso de la esterilidad femenina o factor femenino, a pesar de tener clara la influencia de distintos factores en la posibilidad de tener descendencia, como son: edad, desajustes hormonales, diferentes patologías (como por ejemplo la endometriosis) o alteraciones ovocitarias como cargas genómicas anormales o errores en alguna de las múltiples moléculas de la superficie endometrial (como la MUC-1), que pueden traer consigo problemas de implantación (Horne et al., 2001, Meseguer et al., 2001), todavía carecemos de marcadores moleculares que predigan la capacidad de una mujer de quedar embarazada.

Centrándonos en el ámbito proteico, se extrae de diversos estudios información respecto de la influencia de la expresión de ciertas moléculas, a nivel ovárico y endometrial, así como de su papel en la fisiología de la reproducción femenina. Por lo tanto, la molécula MUC-1 y otras han de ser estudiadas en detalle para poder comprender mejor la infertilidad y establecer métodos más exactos y fiables para el diagnóstico y para ofrecer con garantías de éxito, embarazos que lleguen a término sin problemas asociados.

La IL-6 y la MUC-1, son proteínas candidatas a estar implicadas, a distintos niveles, en diferentes etapas de la reproducción como la implantación embrionaria o en las propiedades fecundantes de los espermatozoides o incluso estar relacionadas entre si. Nuestro grupo posee una amplia experiencia en el estudio de estas proteínas en diferentes aspectos de la reproducción humana.

La primera es una molécula soluble del sistema inmune, con amplio espectro de actuación y presencia en el resto de tejidos del organismo, incluido en el aparato reproductor, donde ya ha sido descrita en diferentes trabajos. Y la MUC-1 que también ha sido descrita en ambos aparatos reproductores pese a que inicialmente se caracterizó como una proteína de membrana de los diferentes epitelios.

Nuestra intención mediante esta revisión es recopilar toda la información disponible de estos dos posibles marcadores moleculares de infertilidad masculina, haciendo un repaso a aspectos bioquímicos de dichas moléculas y lo que de ellas se conoce en el campo de la reproducción.

IL-6

Estructura y función

Las citoquinas son proteínas de bajo peso molecular, monoméricas y generalmente glicosiladas, cuya primera función caracterizada fue como molécula para la comunicación entre células del sistema inmunitario. Suelen ser sintetizadas en respuesta a patógenos o sus productos y señales relacionadas, y modulan las respuestas inflamatoria e inmunitaria. Poseen pleiotropismo, luego pueden ser sintetizadas por un amplio abanico de células, además de que presentan redundancia funcional entre ellas, es decir, pueden afectar a la actividad de otras citoquinas de forma antagónica o sinérgica, y a pesar de su corta vida media, su actividad es muy potente debido a la altísima afinidad con sus receptores (Hibi et al., 1996)

Dentro de este amplio grupo de proteínas se engloban las interleuquinas, denominadas así, porque genéricamente son producidas por leucocitos y actúan también sobre ellos. Aunque en la actualidad está ampliamente aceptado que otros tipos celulares son capaces de producirlas, y actúan sobre un vasto abanico de células, jugando un importante papel en hematopoyesis, en el hígado, en regeneración neuronal, en desarrollo embrionario y en fertilidad, entre otros aspectos (Heinrich et al., 2003)

Entre ellas encontramos a la IL-6 que originalmente fue descrita como un factor de diferenciación de células B, que inducían su maduración hasta células plasmáticas productoras de anticuerpos (Hirano et al., 1986), aunque se ha visto que también influye en placenta, hepatocitos, neuronas, células cardíacas, macrófagos y en células de la granulosa (Keck et al., 1998), etc.

Esta interleuquina es de tipo alfa: perteneciente a la superfamilia de citoquinas con cuatro hélices alfa agrupadas de cadena larga (Hibi et al., 1996). Sus funciones generales dentro del sistema inmune serían las de producir fiebre sistémica, activar expresión de moléculas de adhesión por parte del endotelio, activar a linfocitos B y T, activar expresión de proteínas de fase aguda en el hepatocito, producir la síntesis de quimioquinas que reclutan a la zona a leucocitos circulantes, inducción del desarrollo de células plasmáticas y efectos pro y anti-inflamatorios, para atajar una posible invasión de microorganismos (Van Snick et al., 1990; Barton, 1997; Tilg et al., 1997)

Estructuralmente es una proteína de 184 aminoácidos que presenta glicosilados los residuos 73 y 172, aunque previamente es traducida como una molécula de 212 aminoácidos incluyendo el péptido señal de 28 residuos (Hirano et al., 1986). Según el tipo celular presenta micro heterogeneidad en el extremo amino terminal, por esto su peso molecular varia entre 21.5 y 28 kDa. Su gen se encuentra mapeado en 7p21-p14, se extiende unas 5 kb y presenta 4 intrones. En su promotor hay muchas secuencias reguladoras por varios estímulos (Ray et al., 1989). Los estímulos fisiológicos que desencadenan la síntesis de IL-6 son IL-1, glucocorticoides, cAMP, oncostatina M, endotoxinas bacterianas, PDGF y TNF, además de que ella puede ejercer modulación sobre si misma según el tipo de células.

Sus funciones, descritas anteriormente, las ejerce uniéndose a su receptor (IL-6R o CD 126), que es una proteína fuertemente glicosilada de 80 kDa con 449 aminoácidos (Yamasaki et al., 1988), mapeado en 1q21 en humanos. En la parte extracelular presenta un dominio amino terminal del tipo de las inmunoglobulinas. Son generalmente varias subunidades, que a menudo están compartidas por más de un receptor, entre ellas la gp130 que estaría implicada en la transducción de la señal (Kishimoto et al., 1995). También participa de la transducción una proteína quinasa C y una adenilato ciclasa, implicadas en transducir las señales de activación al interior celular. Además ha sido descrita la existencia de un receptor soluble (sIL-6R), que también interactúa con la gp130, pero que parece estar implicado en la regulación fisiológica de la actividad de la IL-6 o bien inhibiendo la unión de esta con el receptor de membrana o actuando como transportador de la interleuquina hasta el receptor de membrana (Kishimoto et al., 1995).

En reproducción

Aspectos femeninos

En los últimos años se han venido acumulando gran cantidad de evidencias que sugieren que el sistema inmune toma parte como regulador de la función reproductiva, principalmente mediante las citoquinas, que se hallan presentes en los fluidos y células implicados en reproducción.

En el tracto reproductor femenino, veíamos que se hallaba en células de placenta, en macrófagos de la zona y en células de la granulosa (Keck et al., 1998).

En el caso del ovario, se ha encontrado que está asociada a funciones neoangiogénicas (Motro et al., 1990) y a otros aspectos como la regulación de la producción de progesterona observada en ratas (Gorospe et al., 1992) y actuando de forma autocrina en las células de la granulosa (Keck et al., 1998).

Además, una mala regulación de su producción podría estar afectando el ambiente folicular reduciendo la calidad del ovocito y del embrión, alterando su capacidad de implantación (Pellicer et al., 1998; Garrido et al., 2000), y por lo tanto podría estar comprometiendo la fertilidad de la mujer.

En situaciones patológicas como la endometriosis se han realizado estudios comparativos entre mujeres con y sin la enfermedad, y no se detectaban diferencias significativas ni en cantidad de la proteína ni de su mRNA en las células de la granulosa luteinizadas obtenidas de ciclos de reproducción asistida, estudiada con diferentes técnicas (Garrido et al., 2001). En estudios preeliminares de nuestro grupo donde se estudiaban mujeres con y sin la enfermedad sometidas a FIV, se veían claras diferencias en la concentración de la citoquina entre líquido folicular y suero de las pacientes (Pellicer et al., 1999), siendo mayor en las pacientes con endometriosis; sin embargo en otros estudios posteriores se mostraba una disconformidad con lo anterior, es decir no hallaron diferencias, debido a la forma de purificar las células de la granulosa (Garrido et al., 2001), quedando posiblemente en el trabajo previo macrófagos y células blancas del ovario, que contribuían a la producción de IL-6.

En otra situación patológica en la que también ha sido estudiada ha sido en el síndrome de hiperestimulación ovárica

(SHO), viendo que hormonas, como la hCG, producen la liberación de VEGF y al cabo del tiempo de IL-6, pudiendo estar ambos implicados en la patofisiología del SHO, ya que la IL-6 tiene propiedades vaso-activas, se encuentra en células de la granulosa y en líquido folicular, y está aumentada en mujeres que desarrollan el SHO (Albert et al., 2002).

Además, en pacientes de edad más avanzada (mayores de 37 años) el estado endocrino, paracrino y autocrino es diferente que en las jóvenes, sugiriendo que las citoquinas, especialmente las IL-6, podría estar implicada en los cambios observados durante la senescencia ovárica (Pellicer et al., 1999).

Aspectos masculinos

En cuanto a su presencia en testículo y tracto genital masculino se ha descrito la presencia o síntesis de IL-6 y/o su receptor por parte de prácticamente todas las células: Leydig, Sertoli, glándulas accesorias, células del epitelio seminífero (Kontogeorgos et al., 2002), células germinales y como veremos más adelante, en los propios espermatozoides también se producen (Huleihel et al., 2000a).

En este entorno, las citoquinas están implicadas en la regulación de células de los compartimentos tubular y endocrino (Schlatt et al., 1997). La función natural de la IL-6 podría ser la de regular y controlar la función de las células del túbulo seminífero. De hecho, en todo el túbulo seminífero existe una intricada regulación y control de la función por parte de dicha proteína (Jegou et al., 2000). Si bien, la relevancia de su síntesis y de la del receptor no han sido descritas en cuanto a la espermatogénesis, funcionalidad motora del espermatozoide o capacidad fecundante (Eggert-Kruse et al., 2001).

En cuanto a su papel en fertilidad, parece haber relación entre infección en glándulas accesorias y descenso del número, concentración y movilidad de los espermatozoides. Dicho descenso parece ser atribuible a la presencia de lipopolisacárido (LPS), que traería consigo un aumento de diversas citoquinas (IL-6 entre ellas), que inhibirían por su parte la esteroidogénesis en las células de Leydig (con IL-6 no demostrado), motivo por el cual se reduciría la producción de testosterona (Dimier et al. 2003). Por otro lado, se sabe que los andrógenos son necesarios para la correcta función reproductiva del testículo (Sharpe et al., 1994; Hales et al., 1999), el mantenimiento de la espermatogénesis (Sharpe et al., 1994; de Krester et al., 1998) y el desarrollo funcional de los espermatozoides (Chen et al., 1994; Singh et al., 1995). Se provocaría pues un descenso en la espermatogénesis y en los espermatozoides funcionales, como ilustran Diemier et al. (2003) en su revisión. En conclusión, estos polipéptidos están directamente implicados en la función testicular, bien como reguladores de la producción hormonal, bien por acción directa sobre la espermatogénesis (Rutanen et al., 1993).

Por lo tanto, en presencia de LPS, y esto viene a ocurrir cuando hay infección por bacterias Gram negativas, se produciría un aumento de IL-6 como ya hemos visto. Es decir, cuando hay infección de las glándulas accesorias, se produciría el incremento de la interleuquina y de los efectos asociados a ella, los ya mencionados, y además, se ha visto que IL-6 es un regulador paracrino específico de etapa, que actúa sobre el epitelio seminífero inhibiendo la síntesis de DNA meiótico en el preleptoteno de espermatocitos y en espermatogonias avanzadas (Hakovirta et al., 1995).

En semen

Plasma seminal

Las interleuquinas en semen son producidas por las células del sistema inmune presentes en el eyaculado, principalmente macrófagos cuando existe una infección. Podría darse, entonces, el caso de que dicho aumento en la producción de IL-6 por causa de la infección, provocase infertilidad masculina por el mero hecho de la acumulación de esta y otras citoquinas que perjudicarían el potencial fértil. Este efecto que podría ser producido por efectos auto o paracrino sobre diferentes células encargadas de controlar la espermatogénesis, o sobre los propios espermatozoides (Figura 1).

La gran mayoría de estudios realizados hasta la fecha, se han dedicado a comparar los niveles de esta y otras citoquinas en el plasma seminal, entre individuos fértiles e infértiles y con diversos parámetros relacionados con la calidad seminal (concentración, movilidad y morfología principalmente) propuestos por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1999). Dichos estudios han ido encaminados a dilucidar si estas citoquinas se podrían usar como marcadores de infertilidad en el análisis de rutina del semen.

Sin embargo, el consenso entre resultados no existe, debido a los tipos de estudios realizados. La IL-6 ha sido correlacionada significativamente con algunos parámetros del semen como velocidad y linealidad de las carreras espermáticas y en ensayos de penetración espermática (Naz and Kaplan, 1994; Gruschwitz et al., 1996); también se ha encontrado una correlación positiva con el número de leucocitos en estudios de leucospermias (Shimoya et al., 1994; Sikorski et al., 2001; Egger-Kruse et al., 2001), y además del receptor (sIL-6R)

con el grado de infección de las glándulas accesorias (Matalliotakis et al., 2000), con la peroxidación lipídica que sufren los espermatozoides y que podrían afectar a su funcionalidad (Camejo et al., 2001) o con proteínas del complemento como C3 (Egger-Kruse et al., 2001). Estando únicamente de acuerdo en los mayores niveles de IL-6 en los casos de infertilidad.

Otros son incapaces de confirmar dicha correlación con los parámetros habituales (morfología, concentración y movilidad) (Huleihel et al., 1996; Matalliotakis et al., 1998), ni relación con la fructosa del plasma, ni con la cantidad de anticuerpos (Egger-Kruse et al., 2001), o simplemente no aportarían la suficiente información para ser empleados como marcadores (Dousset et al., 1997). Incluso en estudios de su receptor tampoco se observaba diferencia (Huleihel et al., 1999) entre individuos fértiles y/o afectados por infertilidad. Pero sí han sido documentados altos niveles de esta citoquina en individuos con infección en las glándulas accesorias, observándose en dicha relación un alto grado de significatividad.

El estudio más completo al respecto es el realizado por Eggert-Kruse et al. en 2001, donde hace una comparativa de los distintos parámetros del semen y su calidad con las cantidades medidas de IL-6 e IL-8. Los pacientes infértiles no presentaban síntomas de infección en el tracto genital y se excluyeron a los azoospérmicos. Los resultados fueron: correlación entre ambas citoquinas pero la IL-6 en niveles más bajos; correlación positiva y significativa *(P<0,05)* con el pH, con número de leucocitos en plasma seminal, con niveles de proteína del complemento C3; ausencia de correlación *(P>0,05)* con disminución de movilidad de los espermatozoides y con test postcoital, y sin correlación con cantidad, morfología o viabilidad de los espermatozoides; ni con cantidad de fructosa en el plasma; pruebas de moco cervical de donante o pareja propia; ni con infecciones genitales, estrés, edad. Falla además al intentarlo correlacionar con la cantidad de receptor soluble (sIL-6R) (Eggert-Kruse et al., 2001).

En espermatozoides

Otros estudios han demostrado la capacidad de los espermatozoides para producir proteínas e incluso secretarlas, como exponen Huleihel et al. (2000b), con la citoquina IL-1, que los espermatozoides generan de forma constitutiva. En dicho estudio no se demuestran diferencias en cuanto a la producción entre individuos fértiles e individuos con oligoteratoastenospermia y ni siquiera se produce una inducción mediada por LPS, por lo que asumen además que no quedan leucocitos en el cultivo después del swim-up. Lo que sí son capaces de ver es que las proteínas producidas poseen bioactividad y que son liberadas al medio. Presuponiendo que dichas proteínas podrían poseer efectos de tipo paracrino sobre células de Sertoli e influir en espermatogénesis y efectos de tipo autocrino estimulando la síntesis de DNA en las fases meiótica y mitótica de las células espermatogénicas (Huleihel et al., 2000).

Siguiendo el mismo criterio, el espermatozoide podría producir también otras proteínas, entre ellas la IL-6. De hecho, otro estudio del mismo autor (Huleihel et al., 2000a) indica que al igual que con la IL-1, la IL-6 es secretada por parte de los espermatozoides y comparando entre individuos fértiles e individuos infértiles con oligoasteno-teratospermia no se muestran diferencias en los niveles basales de expresión, es decir poseen expresión constitutiva y no hay diferencias entre grupos. Sin embargo, al contrario que con la IL-1, aquí si se encuentra un in-

F I G U R A 1

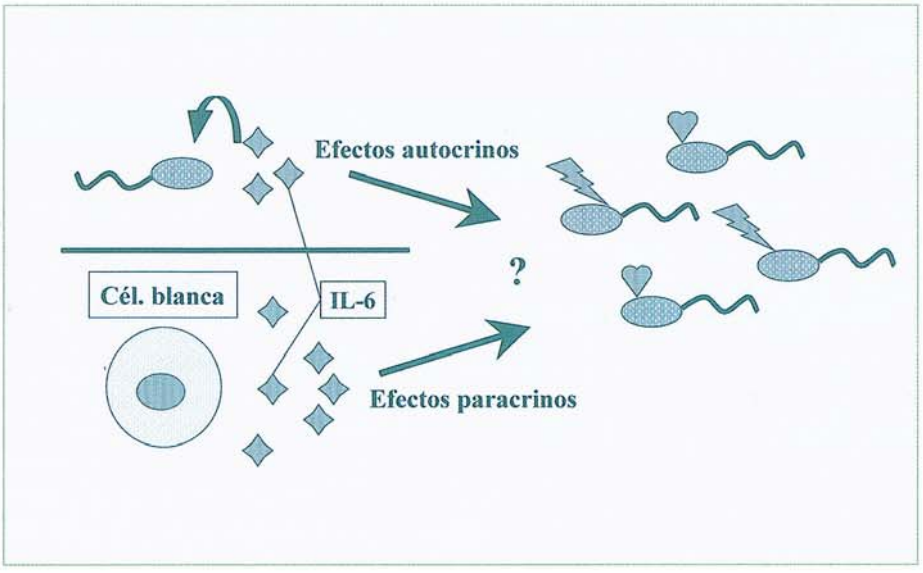


Figura 1. La liberación de interleuquinas por parte de las células blancas del semen podrían actuar de forma paracrina sobre los espermatozoides afectando al potencial fértil del varón, incluso la producción de estas por parte del espermatozoide actuando de forma autocrina. La alteración sería entendida o como merma de la movilidad y la calidad en general o, por el contrario, como mejora de la capacidad de realizar la reacción acrosómica

cremento en la producción cuando en el medio se añade LPS, lo que implicaría que cuando aparece una infección se eleva el nivel de esta citoquina, pudiendo tener efectos paracrinos para atajar la infección, y además podría estar implicada en la fisiología y patofisiología de las funciones espermáticas, pudiendo incluso alterar la fertilidad masculina.

De hecho, la adición exógena de IL-6 a los espermatozoides mejora la capacidad de realizar la reacción acrosómica y de fecundar (Naz and Kaplan., 1994).

MUC-1

Estructura y función

Las mucinas son una familia de proteínas de elevado peso molecular (250-500 kDa) que están altamente glicosiladas y que se encuentran presentes en la superficie de los epitelios formando el glicocálix, aunque en ocasiones se encuentran en células no epiteliales como células tumorales y células germinales. Poseen una estructura no globular, por sus abundantes residuos de prolina, alanina y glicina; y está altamente o-glicosilada, sobre todo en sus cuantiosos residuos de treonina y serina. Los oligosacáridos que se le unen se componen de N-acetil glucosamina, N-acetil galactosamina, galactosa, fructosa y ácido siálico (Devine and MacKenzie, 1992). Contienen un importante número de repeticiones en tándem que varían en número y la longitud de la unidad de repetición según la mucina, aunque también existen diferencias entre individuos en el número de repeticiones.

MUC-1 en concreto, está en el cromosoma 1 (1q21) (Gendler et al., 1990a), posee 7 exones, pero su tamaño varía de 4 a 7 kb dependiendo del número de repeticiones en tándem que posea el exón 2.

Esta proteína consta de tres partes bien diferenciadas: el amino terminal que posee una secuencia señal hidrofóbica de 13 aminoácidos, detrás de otra de 7 y delante de repeticiones en tándem degeneradas; una región central formada por las repeticiones en tándem de aminoácidos bien conservados (20 aminoácidos de 21 a 125 veces) y la región carboxilo terminal que posee repeticiones en tándem degeneradas, la secuencia transmembrana y la cola citoplasmática, que puede estar fosforilada y que se asocia al citoesqueleto (Gendler et al., 1990a; Lan et al., 1990; Ligtenberg et al., 1990 y 1992; Aplin et al., 1994).

Es una proteína importantemente o-glicosilada, sobre todo en las repeticiones en tándem, ya que posee gran cantidad de serinas y treoninas. Dichas cadenas de azúcares proceden del aparato de Golgi y podrían representar hasta un 50% del peso total (Gendler et al., 1990b).

Además de todo esto, encontramos distintas isoformas de la mucina MUC-1, que se pueden explicar por dos mecanismos diferentes: el primero sería por la existencia de un sitio de corte para alguna proteasa, en una región extracelular próxima a la membrana. Este corte se produciría en el retículo endoplasmático, pero no se produce proteína secretada porque se establecerían uniones no covalentes entre ambos fragmentos que impedirían la secreción como forma libre (Ligtenberg et al., 1992; Hilkens and Boer, 1998; Parry et al., 2001). Esta es la forma mayoritaria, y las otras isoformas se producirían por *splicing* alternativo, entre intrón 2 y exón 3, que podría sufrir el mRNA y que generaría dos péptidos, uno que sería secretado (MUC-1/SEC) (Hey et al., 2003), por carecer del dominio transmembrana, que actuaría como ligando, y otro que quedaría en la membrana (MUC-1/Y), que carecería de las repeticiones en tándem y del amino terminal (Zrihan-Licht et al., 1994), actuando como receptor de membrana del anterior (Barutch et al., 1999).

Dicha mucina sobresale unos 200-500 nm de la superficie de las células, mientras que las proteínas típicas del glicocálix apenas alcanzan los 10 nm que parece indicar que juegan un papel en fenómenos de antiadhesión entre glicoproteínas de células próximas (Hilkens et al., 1992). Haciendo referencia a este hecho se ha visto, a través de deleciones, que las mucinas han de sobresalir de la superficie celular al menos entre 50 y 200 nm para ejercer su función correctamente (Wesseling et al., 1996; Komatsu et al., 1997) (Figura 2).

Las funciones que se les ha atribuido son: lubricación de mucosas y acumulación de agua para la hidratación de los tejidos, protección de las células frente a proteolisis y ataques o colonización microbiana, inhibición de funciones de células inmunes, además de posibles marcadores en algunos tipos de tumores.

Cabe destacar además, la gran capacidad antigénica que posee dicha proteína, debida sin duda al alto grado y diversidad en la glicosilación, y aunque esto *a priori* facilitaría su estudio por la existencia de gran cantidad de anticuerpos, la realidad es que no existen anticuerpos capaces de reconocer el amplio espectro de variantes existentes entre individuos, por lo tanto, en la práctica es complejo el estudio de esta proteína.

F I G U R A 2

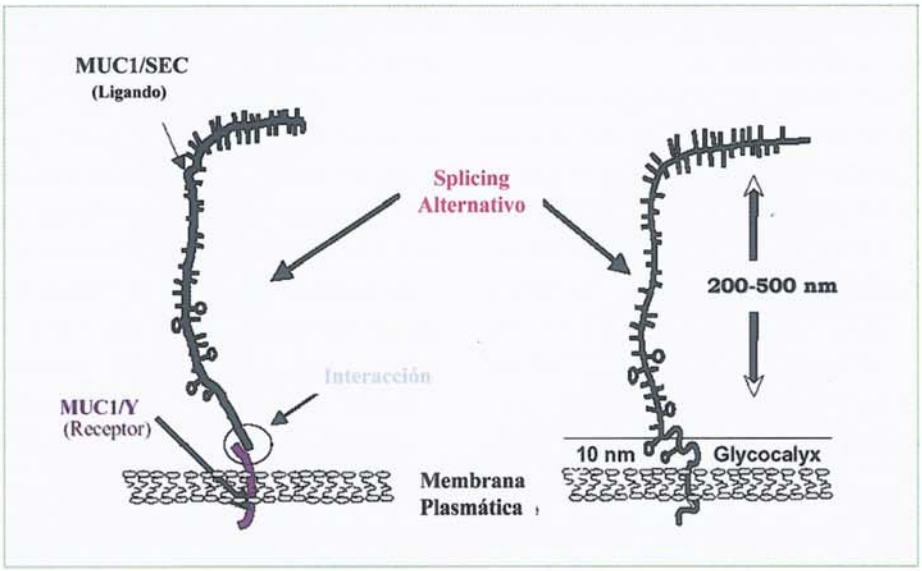


Figura 2. Representación estructural de la isoforma completa de MUC-1 y sus correspondientes dos isoformas originadas por splicing alternativo. La isoforma secretada (MUC-1/SEC) carece del dominio transmembrana y de la cola citoplasmática (Hey et al., 2003). La corta isoforma transmembrana (MUC-1/Y) (que también es originada por splicing alternativo) carece del dominio extracelular que comprende las repeticiones en tándem. MUC-1/SEC se une e interactúa con el dominio extracelular de MUC-1/Y (Barutch et al., 1999).

En reproducción

Aspectos femeninos

La MUC-1 ha sido descrita en ambos aparatos reproductores, mientras que es considerablemente mayor el número de estudios que se han dedicado a su estudio en el tracto femenino como muestra la revisión de Meseguer et al. (1998), en la que hacen un repaso a todo el ciclo menstrual y a la etapa de implantación embrionaria en relación con la MUC-1; en el masculino ha quedado relegado a un segundo plano. Además, ha sido descrita en el embrión humano (Meseguer et al., 2001).

Como ya hemos visto, una de las funciones de las mucinas en general y de MUC-1 en particular sería la de evitar los fenómenos de adhesión fuera de lugar (Meseguer et al., 2000) debido a su longitud y rigidez, a su carencia de cisteinas y a la presencia de ácido siálico que confiere cargas negativas y la consiguiente repulsión eléctrica entre mucinas (Hilkens et al., 1992; Aplin et al., 1994).

Además de todo esto, dicha proteína evitaría la interacción entre el embrión y el epitelio materno en el proceso de la implantación, debido a la imposibilidad estérica, ejercida por la MUC-1, de encontrarse las proteínas de unión del endometrio con las del embrión. En ratones, ha sido descrita la desaparición de la MUC-1 en el endometrio en una ventana del ciclo (Aplin et al., 1997) permitiendo la implantación, sin embargo, esto sólo no sería suficiente para explicarla (Paria et al., 1993; Surveyor et al., 1995). No obstante, en humanos no se da dicha reducción durante esa ventana (Meseguer et al., 2000), lo cual representa una contradicción, aunque podría ser que gracias a otras proteínas, tipo lectinas o cadherinas, se estableciesen interacciones y así se facilitase la implantación (Meseguer et al., 1999). El papel que cabría atribuir a la MUC-1 sería el de evitar en la medida de lo posible la implantación de los embriones, dificultando en mayor grado a los que posean algún tipo de anomalía, y evitar el desarrollo de embriones anormales y el consumo de tiempo y energía que ello conlleva. Por lo tanto, esta barrera jugaría un papel de selección natural entre los posibles embriones (Hustin et al., 1990; Aplin et al., 2002).

Los embriones, asimismo provocarían durante la fase de adhesión al endometrio una reducción en la expresión de MUC-1, además de un corte proteolítico de las ya existentes, en el epitelio endometrial, acción que ejercería de forma paracrina y muy localizada en el sitio exacto de implantación. Asimismo, el propio blastocisto actuaría de forma autocrina provocándose dicho efecto, para facilitar la implantación por reducción de dicha barrera antiadhesión (Meseguer et al., 2001).

Por otro lado, la expresión de MUC-1 y su estado de glicosilación, parece jugar un papel en el tránsito de ovocitos y de espermatozoides por el tracto genital femenino (Lagow et al., 1999) (Figura 3). De hecho en el estudio de Eriksen et al. (1998), llegan a la conclusión de que gracias a las mucinas del moco cervical del tracto reproductor femenino, aumenta significativamente el porcentaje de espermatozoides móviles progresivos, principalmente traducido como un aumento de la linealidad de las carreras y de la velocidad, y además se ve reducido el porcentaje de hiperactivación (Eriksen et al., 1998).

Otra función ya mencionada es la protección frente a microorganismos. En ratones en los que se ha eliminado la MUC-1 del tracto reproductivo, que es donde normalmente quedan

FIGURA 3

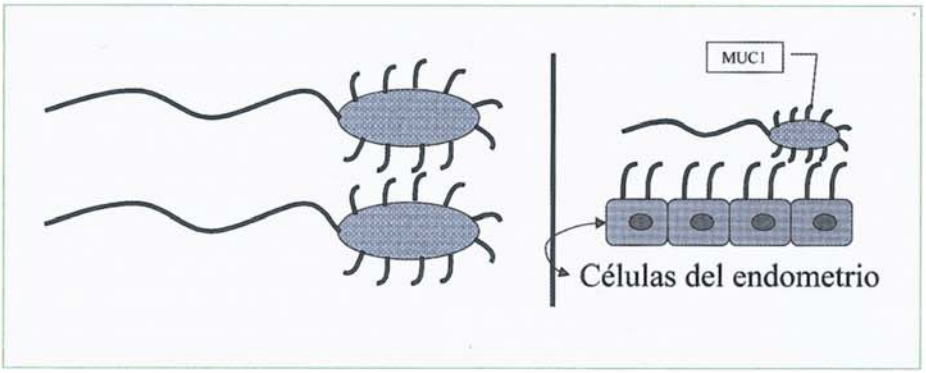


Figura 3. La rigidez de la MUC1 le confiere propiedades de antiadhesión entre otras. Dicha cualidad actuaría evitando la agregación de los espermatozoides manteniéndolos como unidades individuales, pero además evitando la unión el epitelio endometrial, favoreciendo por tanto el transito de los espermatozoides hasta alcanzar el ovocito en las trompas de Falopio.

atrapados los microorganismos, se ha visto que se incrementa el número de infecciones, aunque se reducen las infecciones dependientes de mucinas, como Micoplasma sp. o virus común de los roedores (DeSouza et al., 1999).

Y no solamente la MUC-1 como tal ha sido descrita, sino que las diferentes isoformas se ha visto que forman parte de las trompas de Falopio y del endometrio en general, donde se expresa la forma de membrana y la secretada en sus diferentes alternativas (Meseguer et al., 2000; Hey et al., 2003).

Aspectos masculinos

En el tracto masculino, poco es lo estudiado hasta el momento sobre expresión de esta mucina pero parece ser que su presencia en diversas células germinales podría contribuir a aumentar el espacio entre células de Sertoli y células germinales, facilitando la separación de células anormales o retrasadas en el proceso de maduración. Además, podría servir como un seguro para que las células germinales madurasen en su momento exacto, protegiendo el epitelio germinal de defectos meióticos ocasionales y de retenciones de células mal diferenciadas (Franke et al., 2001). Incluso, se tienen datos de su expresión en la próstata (Ho et al., 1993), en el epidídimo (Zotter et al., 1988) e incluso en células germinales donde podemos comparar y ver la espermatogénesis (Franke et al., 2001).

Franke et al. (2001), en lo que podría ser una relación directa con fertilidad o infertilidad, detectan por diferentes técnicas la presencia de dos alelos de la proteína en el testículo adulto, sólo en espermatocitos en fase de paquiteno, en espermatocitos en fase de arresto y espermátidas, y no en células de Leydig. No se encontraron diferencias en el patrón de expresión entre individuos con espermatogénesis normal o alterada, pero la variante reconocida por el anticuerpo HMFG1 aparecía en mayor proporción en espermatocitos arrestados, o sometidos a radiación o en tubos seminíferos que estaban sometidos a degeneración por la proximidad de tumores en las células de la línea germinal, por lo que esta variante podría dar una idea de alteraciones en la espermatogénesis, ya que los espermatocitos son más frecuente e intensamente marcados con HMFG1 en túbulos con espermatogénesis alterada, debido a la mayor frecuencia de la variante de MUC-1 reconocida por ese anticuerpo.

En espermatozoide

Muy poco se conoce de esta proteína en el espermatozoide. Empleando una amplia batería de anticuerpos en ensayos de aglutinación de espermatozoides se encontraron resultados positivos en distintos grados de eficiencia, observando que la aglutinación de espermatozoides móviles ocurría entre cabezas, pero además entre piezas medias, formando como resultado rosetas de espermatozoides agregados (D'Cruz et al., 1996) (Figura 4).

Podría ser que la MUC-1 expresada en espermátida, contribuyese al glicocálix de la superficie de los espermatozoides, pudiendo además, estar implicada en fenómenos de antiadhesión entre ellos y con los tractos reproductores, al igual que ocurre con la MUC-8, o podría estar también implicada en la maduración y transporte de los espermatozoides y en el reconocimiento del óvulo por parte del espermatozoide (Franke et al., 2001) (Figura 3).

CONCLUSIONES

Las técnicas de diagnóstico actuales no son lo suficientemente sensibles como para evaluar el problema en el varón y en consecuencia plantear una adecuada solución terapéutica o una apropiada técnica de reproducción asistida capaz de solucionar el problema. El descubrimiento de nuevas moléculas directamente relacionadas con la fertilidad

FIGURA 4

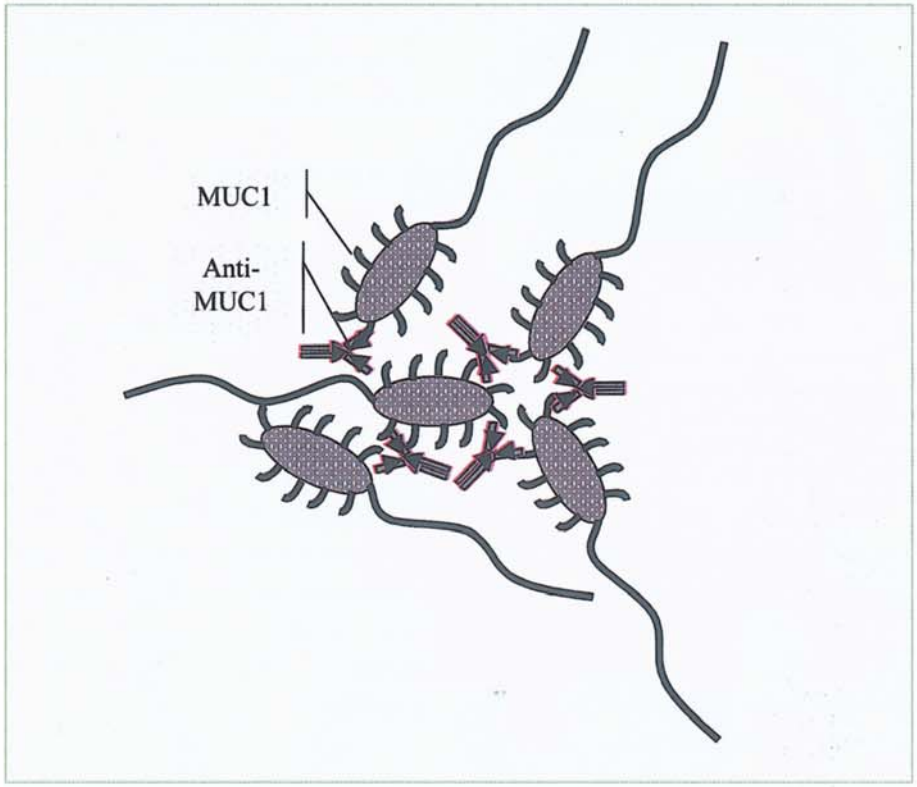


Figura 4. Aglutinación de los espermatozoides observada en el trabajo de D'Cruz al incorporar anticuerpos frente a la mucina traqueal. La agregación se producía cabeza con cabeza y pieza media con pieza media (D'Cruz et al., 1996).

masculina nos puede ayudar no sólo a mejorar el diagnóstico y el tratamiento, sino también a plantear nuevas terapias conceptivas y anticonceptivas masculinas. La existencia cada vez mayor de grupos de investigación dedicados al estudio del varón infértil nos están permitiendo comprender que el análisis de la calidad seminal no puede estar sólo basado en un estudio muy somero de la situación como es el análisis básico del semen. Los puntos desarrollados en esta revisión intentan resumir las evidencias actuales que convierten a MUC-1 y a IL-6 en marcadores de infertilidad masculina. MUC-1 porque es una proteína de membrana que por sus características especiales podría desempañar un papel muy importante en las interacciones del espermatozoide consigo mismo y con otros epitelios del tracto genital masculino y femenino así como con el propio óvulo. IL-6 por ser una interleuquina pleitrópica que como tal puede mediar en los procesos de fecundación y de interacción entre espermatozoides y otros tipos celulares del sistema inmune que podrían mediar en los procesos de transporte y quimiotactismo del propio óvulo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la beca de Formación de Profesorado Universitario (FPU) concedida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte a JA Martínez-Conejero y al FISss nº 01/0177 concedido a los investigadores N Garrido, M Meseguer y J Remohí y al Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI) por ofrecer sus instalaciones y equipos.

BIBLIOGRAFÍA

Albert C, Garrido N, Mercader A, Rao CV, Remohí J, Simón C, et al. The role of the endothelium in the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. Mol Hum Reprod. 2002; 8:409-18.

Aplin JD, Seif MW, Graham RA, Hey NA, Bezhad F, Campbell S. The endometrial surface and implantation. Expression of the polymorphic mucin MUC-1 and adhesion molecules during the endometrial cycle. Ann New York Acad Sci. 1994; 734:103-21.

Aplin JD. Adhesion molecules in implantation. J Reprod Fertility 1997; 2:84-93.

Aplin JD, Meseguer M, Simon C, Croxatto, Jones, C. MUC-1, glycans and the cell-surface barrier to embryo implantation Biochemical Society Transactions. 2001; 29(2):153-56.

Auger J, Kuntsman JM, Czyglick F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. N Engl J Med. 1995;332:281-5.

Barton BE. IL-6: insights into novel biological activities. Clin Immunol Immunopathol 1997;85(1):16-20.

Baruch A, Hartmann M, Yoeli M, Adereth Y, Greenstein S, Stadler Y, et al. The breast cancer-associated MUC-1 gene generates both a receptor and its cognate binding protein. Can Res. 1999;59:1552-61.

Camejo MI, Segnini A, Provervio F. Interleukin-6 (IL-6) in seminal plasma of infertile men, and lipid peroxidation of their sperm. Arch Androl. 2001;47:97-101.

Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. Br Med J. 1992; 305:609-13.

Chen H, Chandrashekar V, Zirkin BR. Can spermatogenesis be maintained quantitatively in intact adult rats with exogenously administered dihydrotestosterone? J Androl. 1994;15:132-8.

D'Cruz OJ, Dunn TS, Pichan P, Hass GG Jr, Sachdev GP. Antigenic cross-reactivity of human tracheal mucin with human sperm and trophoblasts correlates with the expression of mucin 8 gene messenger ribonucleic acid in reproductive tract tissues. Fertil Steril. 1996; 66:316-26.

de Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, Simorangkir D, Wreford N. Spermatogenesis. Hum Reprod. 1998;13(Suppl. 1):1-8.

DeSouza, M.M. et al. (1999) MUC-1 Episialin: A critical barrier in the female reproductive tract. J Reprod Immunol. [in press].

Devine P y Mackenzie IFC. Mucins: structure, function and association with malignancy. Bioassays. 1992; 14:619-25.

Diemer T, Hales DB y Weidner W. Inmune-endocrine interactions and Leydig cell function: the role of cytokines. Andrologia. 2003; 35:55-63.

Dousset B, Hussenet F, Daudin M, Bujan L, Foliguet B y Nabet P. Seminal cytokine concentrations (IL-1_, IL-2, IL-6 sR IL-2, sR IL-6), semen parameters and hormonal status in male infertility. Hum Reprod.1997; 12(7):1476-9.

Eggert-Kruse W, Boit R, Rohr G, Aufenanger J, Hund M y Strowitzki T. Relationship of seminal plasma interleukin (IL) -8 and IL-6 with semen quality. Hum Reprod. 2001; 16(3):517-28.

Eriksen GV, Carlstedt I, Uldbjerg N, Ernst Erik. Cervical mucins affect the motility of human spermatozoa in vitro. Fertil Steril. 1998; 70(2):350-4.

Franke FE, Kraus S, Eiermann C, Pauls K, Lalani E, Bergmann M. MUC-1 in normal and impaired spermatogenesis. Mol Hum Reprod. 2001; 7(6):505-12.

Garrido N, Albert C, Krüssel JS, O'Connor JE, Remohí J, Simón C et al. Expression, production, and secretion of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 by granulosa cells is comparable in women with and without endometriosis. Fertil Steril. 2001; 76(3):568-75.

Garrido N, Meseguer M, Gámiz P, Simón C, Pellicer A, Remohí J., Male factor and assisted reproduction techniques. ASEBIR. 2002; 7(1):10-24.

Garrido N, Meseguer M, Gil-Salom M, Pellicer A, Remohí J. Patología seminal en las parejas infértiles en un centro de reproducción asistida. X Congreso Nacional de Andrologia. Actualidad Andrológica. 2001; Abr28-30, Alicante, España. Libro de Abstracts Suplemento.

Garrido N, Navarro J, Remohí J, Simón C y Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. Hum Reprod Upd. 2000; 6(1):67-74.

Gendler SJ, Cohen EP, Craston A, Duhing T, Johnstone G, Barnes D. The locus of the polymorphic epithelial mucin (PEM) tumour antigen on chromosome 1q21 shows a high frequency of alteration in primary human breast tumours. Int J Cancer. 1990a; 45(3):431-5.

Gendler SJ, Lancaster CA, Taylor-Papadimitriou J, Duhig T, Peat T, Burchell J, et al. Molecular cloning and expression of human tumour associated polymorphic epithelial mucin. J Biol Chem. 1990b; 265:15286-93.

Gorospe WC, Hughes FM Jr, Spangelo BL. Interleukin-6: effects on and production by rat granulosa cells in vitro. Endocr. 1992; 130(3):1750-2.

Gruschwitz MS, Brezinschek R, Brezinschek HP. Cytokine levels in the seminal plasma of infertile males. J Androl. 1996; 17(2):158-63.

Hakovirta H, Syed V, Jegou B, Parvinen M. Function of interleukin-6 as an inhibitor of meiotic DANN synthesis in the rat seminiferous epithelium. Mol Cell Endocrinol. 1995;108:193-8.

Hales DB, Diemer T, Hales KH. Role of cytokines in testicular function. Endocrine. 1999; 10(3):201-17.

Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Muller-Newen G, Schaper F. Principles of IL-6-type cytokine signalling and its regulation. Biochem J. 2003; [pendiente de publicar].

Hey NA, Meseguer M, Simón C, Smorodinsky NI, Wreschner DH, Ortiz ME, et al. Transmembrane and truncated (SEC) isoforms of MUC-1 in the human endometrium and Fallopian tube. Reprod Biol Endocrinol. 2003; 1(1):2.

Hibi M, Nakajima K, Hirano T. IL-6 cytokine family and signal transduction: a model of the cytokine system. J Mol Med. 1996; 74(1):1-12.

Hilkens J and Boer M. Monoclonal antibodies against the non-mucin domain of MUC-1/episialin. Tumour Biol. 1998; 19:67-70.

Hilkens J, Ligtenberg MJL, Vos HL y Litvinov SV. Cell membrane-associated mucins and their adhesion modulating property. Trends Biochem Sci. 1992; 17:359-63.

Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. Nature. 1986; 324(6092):73-6.

Ho SB, Niehans GA, Lyftogt C, Yan PS, Cherwitz DL, Gum ET, et al. Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues. Cancer Res. 1993; 53:641-51.

Horne AW, White JO, Margara RA, Williams R, Winston RM, Lalani E. MUC-1: a genetic susceptibility to infertility? Lancet. 2001; 357(9265):1336-7.

Huleihel M, Lunenfeld E, Horowitz S, Levy A, Potashnik G, Glezerman M. Production of interleukin-1-like molecules by human sperm cells. Fertil Steril. 2000; 73(6):1132-7.

Huleihel M, Lunenfeld E, Horowitz S, Levy A, Potashnik G, Mazor M, et al. Involvement of serum and lipopolysaccharide in the production of interleuki-1- and interleukin-6-like molecules by human sperm cells. Am J Reprod Immunol. 2000a; 43(1):41-6.

Huleihel M, Lunenfeld E, Horowitz S, Levy A, Potashnik G, Mazor M, et al. Expression of IL-12, IL-10, PGE2, sIL-2R and sIL-6R in seminal plasma of fertile and infertile men. Andrologia. 1999; 31(5):283-88.

Huleihel M, Lunenfeld E, Levy A, Potashnik G y Glezerman M. Distinct expression levels of cytokines and soluble cytokine receptors in seminal plasma of fertile and infertile men. Fertil Steril. 1996; 66(1):135-9.

Hustin J, Jauniaux E y Schaaps JP. Histological study of materno embryonic interface in the spontaneous abortion. Placenta. 1990; 11:477-86.

Keck C, Rajabi Z, Pfeifer K, Bettendorf H, Brandstetter T y Breckwoldt M. Expression of interleukin-6 and interleukin-6 receptors in human granulosa lutein cells. Mol Hum Reprod. 1998; 4(11):1071-6.

Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. Blood. 1995; 86(4):1243-54.

Komatsu M, Carraway CA, Fregien NL, Carraway KL. Reversible disruption of cell-matrix and cell-cell interactions by overexpression of sialomucin complex. J Biol Chem. 1997; 272(52):33245-54.

Kontogeorgos G, Messini I, Kyrodimou E, Giannikaki L, Zois E, Koukoulis G, et al. Endocrine. 2002; 17(2):135-40.

Lagow E, DeSouza M, DD Carson. Mammalian reproductive tract mucins. Hum Reprod Upd. 1999; 5(4):280-92.

Lan MS, Batra SK, Qi WN, Metzgar RS, Hollingsworth MA. Cloning and sequencing of the human pancreatic tumour mucin cDNA. J Biol Chem. 1990; 265:15286-93.

Ligtenberg MJ, Kruisharr L, Buijs F, van Meijer M, Litvinov SM and Hilkens J. Cell associated episialin is a complex containing two proteins derived for a common precursor. J Biol Chem. 1992; 267:6171-7.

Ligtenberg MJ, Vos HL, Gennissen AMC, Hilkens J. Epsilin, a carcinoma-associated mucin, is generated by a polymorphic gene encoding splice variants with alternative amino termini. J Biol Chem. 1990; 265:5573-8.

Matalliotakis I, Goumenou A, Fragouli Y, Matalliotakis G, Kyriakou D, Koumantakis E. Soluble IL-6 receptor levels in the seminal plasma of infertile patients with accessory gland infection. Arch Androl. 2000; 44(3):237-42.

Matalliotakis I, Kiriakou D, Fragouli I, Sifakis S, Eliopoulos G, Koumantakis E. Interleukin-6 in seminal plasma of fertile and infertile men. Arch Androl. 1998; 41(1):43-50.

Meseguer M, Aplin JD, Caballero-Campo P, O'Connor JE, Martin JC, Remohí J, et al. Human endometrial mucin MUC-1 is up-regulated by progesterone and down-regulated in vitro by the human blastocyst. Biol Reprod. 2001; 64:590-601.

Meseguer M, Caballero-Campo P, O'Connor JE, Galán A, Martín JC, Remohí J, et al. Embryonic regulation of MUC-1 in human uterine epithelial cells. J Soc Gynecol Invest; 1999 Mar10-13; Atlanta, EEUU. 6(Suppl. 1).

Meseguer M, Martín J, Galán A, Remohí J, Pellicer A, Simón C. MUC-1 actúa como barrera selectiva. XXIII Congreso Nacional SEF; 2000 May-Jun; vol XVII, nº 3.

Meseguer M, Pellicer A y Simón C. MUC-1 and endometrial receptivity. Mol Hum Reprod. 1998; 4(12):1089-98.

Meseguer M, Simón C, Wreschner DH, Hey NA, Aplin JD. The alternatively spliced MUC-1 isoform SEC is associated with the apical surface of human endometrial epithelial cells. J Soc Gynecol Investig 2000; Mar21-25; Chicago, USA. 7(1 Suppl):211A.

Motro B, Itin A, Sachs L, Keshet E. Pattern of Interleukin-6 expression in vivo suggests a role for this cytokine in neoangiogenesis. Proc Natl Acad Scien USA. 1990; 87:3092-6.

Naz RK, Kaplan P. Increased levels of interleukin-6 in seminal plasma of infertile men. J Androl. 1994; 15(3):220-7.

Naz RK, Kaplan P. Interleukin-6 enhances the fertilizing capacity of human sperm by increasing capacitation and acrosome reaction. J Androl. 1994; 15(3):228-33.

Paria BC, Das SK, Andrews GK, Dey SK. Expression of the epidermal growth factor receptor gene is regulated in mouse blastocysts during delayed implantation. Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90:55-9.

Parry S, Silverman HS, McDermott K, Willis A, Hollingsworth MA, Harris A. Identification of MUC-1 proteolytic cleavage sites in vivo. Biochem Biophys Res Commun. 2001; 283:715-20.

Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. Fertil Steril. 1998; 70(3):425-31.

Pellicer A, Garrido N, Albert C, Navarro J, Remohí J y Simón C. Cytokines in older patients undergoing in vitro fertilization: The relationship to the response to controlled ovarian hyperstimulation. J Assist Reprod Genet. 1999; 16(5):247-52.

Ray A, Sassone-Corsi P, Sehgal PB. A multiple cytokine-responsive and 2nd messenger-responsive element in the enhancer of the human interleukin-6 gene: similarities with v-fos gene regulation. Mol Cell Biol. 1989; 9:5537-47.

Rutanen EM. Cytokines in reproduction. Ann Med. 1993; 25:343-7.

Schlatt S, Meinhardt A, Nieschlag E. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. Eur J Endocrinol. 1997; 137(2):107-17.

Sharpe RM. Regulation of spermatogenesis. In: The Physiology of Reproduction. Knobil E, Neill JD (eds). Raven Press, New York, pp. 1363-1434.

Shimoya K, Matsuzaki N, Ida N, Okada T, Taniguchi T, Sawai K, et al. Detection of monocyte chemotactic and activating factor (MCAF) and interleukin (IL)-6 in human seminal plasma and effect of leukospermia on these cytokine levels. Am J Reprod Immunol. 1995; 34(5):311-16.

Sikorski R, Kapec E, Krzeminski A, Zaleska W. Levels of proinflammatory cytokines (Il-1 alpha, Il-6, TNF-alpha) in the semen plasma of male partners of infertile couples. Ginekol Pol. 2001; 72(12A):1325-8.

Singh J, O'Neill C, Handelsman DJ. Induction of spermatogenesis by androgens in gonadotropin-deficient (hpg) mice. Endocrinology. 1995; 136:5311-21.

Surveyor GA, Gendler SJ, Pemberton L, Das SK, Chakraborty I, Julian J, et al. Expression and steroid hormonal control of MUC-1 in the mouse uterus. Endocrinology. 1995; 136:3639-47.

Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. Immunol Today 1997; 18(9):428-32.

Van Snick J. Interleukin-6: an overview. Annu Rev Immunol. 1990; 8:253-78.

Wesseling J, van der Valk SW, Hilkens J. A mechanism for inhibition of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion by the membrane-associated mucin episialin/MUC-1. Mol Biol Cell. 1996; 7:565-77.

World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interction. Cambridge: Cambridge University Press 1999, Fourth edition.

Yamasaki K, Taga T, Hirata Y, Yawata H, Kawanishi Y, Seed B, et al. Cloning and expression of the human interleukin-6 (BSF2/IFN beta 2) receptor. Science. 1988; 241(4867):825-8.

Zotter S, Hagerman PC, Lossnitzer A et al. Tissue and tumour distribution of human polymorphic epithelial mucin. Cancer Rev. 1988; 11-12:55-101.

Zrihan-Licht S, Vos HL, Baruch A, Elroy-Stein O, Sagiv D, Keydar I, et al. characterization and molecular cloning of a novel MUC1 protein, devoid of tandem repeats, expressed in human breast cancer tissue. Eur J Biochem. 1994a; 224:787-95.

MediCult

Medios de cultivo para FIV, ICSI, congelación y descongelación de blastocistos, esperma...

leti diagnósticos

Distribuido por: **C.B.F. LETI, S.A.**

Gran Vía Corts Catalanes, 184
08038 BARCELONA
Tel. 93 394 53 91 Fax: 93 394 53 80
E-Mail: diagnosticos@leti.com

Sol, 5
28760 TRES CANTOS (Madrid)
Tel. 91 803 59 60
Fax: 91 804 09 19

Recursos Físicos en el Laboratorio de Reproducción Asistida. Análisis Comparativo de *Guidelines* de Sociedades Científicas

Physical Requirements in Assisted Reproduction Laboratory. Comparative analysis of Guidelines of Different Scientific Societies

Aguilar J, Castilla JA, Magán R, Ortiz A, González E, Ortiz-Galisteo JR, Peralta L.

Unidad de Reproducción. Hospital Universitario "Virgen de las Nieves" Granada. E-mail: josea.castilla.sspa@juntadeandalucia.es

Resumen: Las distintas sociedades científicas establecen una serie de recomendaciones de buenas prácticas *(guidelines)* en cuanto a la distribución física de un Laboratorio de FIV así como el equipamiento mínimo necesario para llevar a cabo las distintas Técnicas de Reproducción Asistida. Mediante este trabajo se pretende realizar un análisis comparativo de los contenidos, que establecen las distintas sociedades científicas respecto a la asignación del espacio físico necesario para cada proceso realizado en un Laboratorio de FIV y el equipamiento mínimo del laboratorio.

Palabras Clave: Equipamiento, Recursos Físicos, Laboratorio de Reproducción Asistida, Fecundación in Vitro.

Summary: A series of guidelines in order to the physical distribution of an IVF laboratory as well as necessary minimum equipment to carry on the different assisted reproduction techniques have been published by some scientific societies. A comparative analysis of the contents established by different guidelines about the necessary physical space for each process made in an IVF laboratory and the laboratory minimal equipment have been carried out.

Key words: Equipment, Physical Requirement, Assisted Reproduction Laboratory, in vitro fertilization.

INTRODUCCIÓN

Actualmente las Técnicas de Reproducción Asistida realizadas en los distintos laboratorios, deben cumplir una serie de normas de seguridad (Castilla and Magán, 2003) y seguir unos estrictos protocolos de trabajo. Todo lo anterior debe complementarse con una adecuada distribución (espacio físico) de las tareas realizadas en el laboratorio y la utilización de un equipamiento mínimo adecuado que permita la manipulación de gametos y/o embriones. Las distintas sociedades científicas establecen una serie de recomendaciones de buenas prácticas *(guidelines)* en cuanto a la distribución física de un Laboratorio de FIV así como el equipamiento mínimo necesario para llevar a cabo las distintas Técnicas de Reproducción Asistida. Mediante este trabajo pretendemos realizar un análisis comparativo de los contenidos, que establecen las distintas sociedades científicas respecto a la asignación del espacio físico necesario para cada proceso realizado en un Laboratorio de FIV y el equipamiento mínimo del laboratorio.

Espacio físico

En la tabla I se describen las distintas zonas de trabajo y distribución física que recomiendan las guías de buenas prácticas estudiadas. Casi todas las guías (ASRM, 2002; ESHRE, 2000; ACE, 2003; NAMSI, 2002; FSA, 2001; CAP, 2002; NFS, 2002) coinciden y hacen referencia a la localización del laboratorio próximo a la zona de recuperación de ovocitos, además algunas *guidelines* (ASRM, 2002; FSA, 2001) consideran que el laboratorio debe estar situado en una zona de escaso tránsito y separado de otras actividades que puedan interferir en la actividad del laboratorio, así como acceso restringido al propio laboratorio. También la mayoría de sociedades, coinciden en la asignación de una zona exclusiva independiente del Laboratorio de FIV para la manipulación de semen, siendo AFS (1992) y la ABA (2004) las únicas sociedades científicas que han publicado una *guideline* para los Laboratorios de Andrología Humana. Todas las *guidelines* no dudan en resaltar una zona administrativa para la toma de registros y zona de archivo independiente del Laboratorio de FIV. Otra área independiente del Laboratorio de FIV y necesaria para un adecuado nivel de seguridad biológica, son las llamadas "zonas húmedas", donde se lleva a cabo la preparación de medios y esterilización de material. Algunas *guidelines* (ACE, 2003; NAMSI, 2002; NFS, 2002) señalan la necesidad de disponer de una zona adecuada para la obtención y recepción de muestras de semen que garanticen con ello una adecuada intimidad así como un área de almacén de materiales y vestuarios adecuados para el personal del laboratorio (ACE, 2003; CAP, 2002).

Equipamiento del laboratorio

Es fundamental que dentro de las características del suelo, las paredes y el mobiliario del Laboratorio de Reproducción Asistida puedan limpiarse y desinfectarse fácilmente. Las condiciones de esterilidad en el Laboratorio de FIV son una medida indispensable para disminuir el riesgo de contaminación del material biológico reproductivo, ya sea por la presencia de partículas biológicas infectivas, como por las sustancias orgánicas volátiles. Para ello las distintas sociedades establecen y recomiendan un adecuado equipamiento de filtrado de aire, tanto a nivel de la zona donde se lleva a cabo las distintas Técnicas de Reproducción como en el interior de los propios incubadores de CO_2 de cultivo embrionario. Sólo la ESHRE establece y recomienda la necesidad de un mínimo de dos incubadores de CO_2 (Tabla I).

La totalidad de las *guidelines* de las diferentes sociedades consultadas, establecen que los incubadores deberán presentar sistemas de alarma, así como calibradores de CO_2 y temperatura con los que realizar un exhaustivo seguimiento de los parámetros del incubador.

En cuanto al tipo de cabina de flujo laminar a emplear en el laboratorio, únicamente la ESHRE aconseja el empleo de cabina de flujo laminar vertical, mientras que otras sociedades como LARA (1998), NAMSI (2002) y NFS (2002) aconsejan el empleo de cabinas de flujo laminar horizontal. El resto de sociedades consultadas no se pronuncian al respecto. Sin embargo, a la hora de trabajar con pacientes con enfermedades infecciosas transmisibles, se recomienda que, en el caso de trabajar con una cabina de flujo laminar horizontal, ésta permanezca apagada, para evitar la formación de aerosoles que puedan comprometer la seguridad del personal de laboratorio (ACE, 2003; Seguridad Biológica en el Laboratorio de Reproducción Asistida, 2003).

Como ya se ha comentado, es conveniente que el Laboratorio de FIV se encuentre próximo al lugar donde se reali-

T A B L A I

	ASRM (2002)	ESHRE (2002)	ACE (2003)	NAMSI (2002)	FSA (2002)	CAP (2002)	NFS (2002)	LARA (1998)
ESPACIO FÍSICO MÍNIMO								
Laboratorio próximo a la recuperación de ovocitos	X	X	X	X	X	X	X	
Laboratorio localizado en área de acceso restringido	X				X			
Zona administrativa o de registro independiente (bibliografía, archivo)	X	X	X	X	X	X	X	
Área húmeda (preparación de medios, zona de esterilización)	X	X	X	X	X		X	
Laboratorio de Andrología independiente de FIV	X	X		X	X		X	
Zona de obtención y recepción de muestras de semen			X	X			X	
Zona de almacén y vestuario del personal de laboratorio			X	X		X		
EQUIPAMIENTO MÍNIMO								
Equipos de filtrado de aire apropiados	X	X	X	X	X	X	X	X
Microscopios adecuados en la manipulación de ovocitos y/o embriones	X	X	X	X	X	X	X	X
Incubadores de CO_2 con controles de alarma por control remoto	X	X(min. 2)	X	X	X	X	X	
Estufa para mantener la temperatura de medios y gametos	X	X	X	X	X	X		
Sistema CASA						X		
Controladores de temperatura	X	X	X	X	X	X	X	X
Campanas de flujo laminar horizontal				X			X	X
Campanas de flujo laminar vertical		X						
Equipos móviles de transporte de ovocitos y/o embriones	X	X	X		X	X		
Placa/as calefactada/as	X	X	X	X	X	X	X	
Pipeteadores automáticos		X			X	X	X	
Calibradores de CO_2 y temperatura de incubadores (digitales y químicos)	X	X	X	X	X	X	X	X
Balanzas, pH-metros y osmómetros (fácil acceso)	X	X	X	X	X	X	X	
Centrífuga	X	X	X	X	X	X	X	
Frigorífico	X	X	X	X	X	X	X	
Contenedores de N_2 líquido	X	X	X	X	X	X	X	
Bombonas de N_2 líquido	X	X	X	X	X	X	X	
Sistemas de criocongelación con sistema de alarma	X	X	X	X	X	X	X	
Generador de energía de emergencia		X	X	X		X		
Equipos de micromanipulación con sistemas de control de temperatura	X	X	X	X	X	X	X	

Tabla I. Análisis comparativo de distintas *guidelines* sobre recursos físicos en los Laboratorios de Reproducción Asistida.

za la recuperación de ovocitos. No obstante, no se encuentra esa unanimidad en las *guidelines* a la hora de recomendar un equipo móvil de transporte de ovocitos y embriones, de modo que son ASRM (2002), CAP (2002), ACE (2003), ESHRE (2000) y FSA (2001) las que recomiendan su utilización independientemente de la distancia del laboratorio a la zona de extracción de ovocitos, y del posible tránsito entre ambos.

La mayoría de *guidelines,* recomiendan la utilización de pipeteadores automáticos. Si bien, es llamativo que aunque otras sociedades (ASRM, 2002) no hacen una referencia explícita al uso de los mismos, no aconsejan, en la medida de lo posible, su utilización a la hora de tratar pacientes de riesgo.

El control de la temperatura es una constante en el Laboratorio de Embriología, de ahí que todas las *guidelines* consultadas recomienden el empleo de controladores de temperatura, así como calibradores de temperatura en los incubadores y sistemas de control en los equipos de micromanipulación de los microscopios.

La existencia de un sistema de provisión de energía en el caso de una emergencia o un fallo en la red, es una cuestión que sociedades como la ACE (2003), ESHRE (2000), CAP (2002) y NAMSI (2002), apuntan en sus *guidelines* para minimizar los riesgos por un fallo de energía, al tiempo que otras sociedades no reflejan este punto.

Análisis de los Recursos Físicos en los Laboratorios de Reproducción Asistida: Encuesta Nacional

Actualmente existen varios trabajos sobre recursos humanos (Bassas, 2001; Núñez et al., 2002) y costes (Ardoy et al., 2001; Expósito et al., 2000; Matorras et al., 2001) en los Laboratorios de Reproducción Asistida Nacionales. Sin embargo desconocemos cual es el nivel de recursos físicos de nuestros laboratorios y creemos interesante determinar la situación actual de los mismos en los Laboratorios de Reproducción Asistida de nuestro entorno. Esta aproximación podría ser un primer paso para establecer unos estándares mínimos de recursos físicos por número de ciclos, al igual que se ha hecho previamente con los recursos humanos en los Laboratorios de Reproducción Asistida (Núñez et al., 2002).

Con este objetivo queremos desarrollar a través de ASEBIR una encuesta a nivel nacional sobre recursos físicos en los Laboratorios de Reproducción Asistida. Dicha encuesta se encuentra en la página WEB de nuestra Asociación (www.asebir.com) en la sección "Comisiones" que una vez rellenada se debe remitir a josea.castilla.sspa@juntadeandalucia.es

BIBLIOGRAFÍA

ABA. Association of Biomedical Andrologists. 2004.

ACE, Association of Clinical Embryologists. Accreditation Standards and Guidelines for IVF Laboratories. 2003. http://ace.ivf.net/ace/training.php.

AFS. American Fertility Society. Fertil Steril. 1992: 58 suppl 1

Ardoy M, Marcos M, Ortiz n, Molina M, Cuadrado C, García I, Sánchez F. Rentabilidad de la prestación de FIV por el sistema Sanitario Público Español. Rev Iber Fert 2001; 18:326-7.

ASRM, American Society for Reproductive Medicine. Revised minimum standards for in vitro fertilization, gamete intrafallopian transfer, and related procedures. A Practice Committee Report. Guidelines and Minimum Standards. 2002. www.asrm.org.

Bassas Ll. La organización del Laboratorio de Reproducción Asistida. ASEBIR 2001; 6:36-9.

CAP, College of American Pathologist. Laboratory Improvement. 2002. www.cap.org.

Castilla JA, Magán R. Seguridad Biológica en el Laboratorio de Reproducción Asistida. Aula de Formación en Embriología Clínica nº4. Gráficas Fernando. Granada. 2003.

ESHRE. European Society of Human Reproduction and Embryology. guidelines for good practice in IVF laboratories.2000. www.eshre.com/

Expósito A, Castilla JA, Suárez I, Mendoza N, Castaño JL, Fontes J, Martínez L. Aproximación a un análisis de costes por proceso y coste- efectividad en la Unidad de Reproducción del H.U. " Virgen de las Nieves" de Granada. Rev Iber Fert 2000; 17:267-76.

FSA. The Fertility Society of Australia Reproductive Technology Accreditation Committee (RTAC), Code of practice for centres using assisted reproductive technology. April 2002. www.fsa.au.com/rtac/

LARA. Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. Manual de procedimientos laboratorio de reproducción asistida.1998. www.redlara.com/esp/pec_database.asp

Magán R, Castilla JA, García-Peña ML, Mendoza JL, González E, Ortiz-Galisteo JR, Mendoza N, Clavero A. Recomendaciones de Seguridad en el Laboratorio de Reproducción Asistida en Seguridad Biológica en el Laboratorio de Reproducción Asistida. Aula de Formación en Embriología Clínica nº4. Castilla J.A, Magán R.(eds). Gráficas Fernando. Granada. 2003. pp. 49-69.

Matorras R, Valladolid A, Rodríguez-Escudero FJ. El coste de las técnicas de reproducción asistida en el sistema público de salud. Experiencia en el Hospital de Cruces. Rev Iber Fert 2001; 18:146-50.

NAMSI. National Academy of Medical Sciences of India. National Guidelines for accreditation, supervision and regulation of ART clinics in India.2002. www.icmr.nic.in

NFS. Nordic Fertility Society.2002. www.nordicfs.org

Núñez AI, García ML, Blanco M, Fernández A, Ardoy M, Bassas Ll, Castilla JA. Organización y recursos humanos de los laboratorios de FIV de los centros del SNS. ASEBIR 2002; 7:25-30.

Junio 2004 Vol. 9 • Nº1

El Futuro del Número de Embriones a Transferir en un Programa de Reproducción Asistida

The Future of the Number of Embryo to Transfer to a Program of Assisted Reproduction

M Moreno, N López , I Palomo, J Ordás.
Instituto de Ginecología y Medicina de la Reproducción Dres Ordás y Palomo. dresordasypalomo@ctv.es

Resumen: El propósito de este estudio es el de relacionar la tasa de gestación según el número de embriones transferidos, edad de las pacientes y número de ciclos realizados, y estudiar si estos parámetros nos permiten sacar conclusiones a la hora de seleccionar el número de embriones a transferir, y así evitar las gestaciones múltiples.

En este estudio se analizaron retrospectivamente 317 ciclos de pacientes a las que se les transfirieron 3 embriones frente a 281 ciclos de pacientes a las que se les transfirieron 2 embriones, en un periodo comprendido entre Marzo del 2000 y Diciembre del 2003. No se observan diferencias significativas estadísticamente tanto si se transfieren 2 embriones como si se transfieren 3 embriones en los distintos grupos de edad seleccionados (80,6% versus 81%). En pacientes menores de 30 años las transferencias de tres embriones conducen a un tercio de los embarazos múltiples. Las tasas de embarazo gemelar fueron estadísticamente significativas en caso de transferencias de 3 embriones en pacientes mayores de 40 años (21,70% frente a un 4,30%). Con excepción del primer ciclo, la tasa de gestación aumenta en ciclos sucesivos si se transfieren tres embriones, aunque no hay significación estadística.

Palabras clave: Fertilización *in vitro*, transferencia de embriones, tasa de gestación, gestación múltiple.

Summary: The objective of this study is that of relating the results of gestations to the number of embryos transferred, the age of the patient, and the number of cycles involved, and to study if these parameters permit us to reach conclusions at the moment of selecting the number of embryos transferred, avoiding in this way multiple gestations.

During this study, 317 cycles of patients who had had 3 embryos transferred, analysed retrospectively, were compared with the 281 cycles of patients who had 2 embryos transferred, within the period between March 2000 and December 2003. Statistically, no significant differences can be seen, both when 2 embryos were transferred, as when 3 were, in the different age groups selected (80,6% versus 81%). In patients under thirty years the transfers of three embryos results in one third of the multiple gestations. The results of twin pregnancies were statistically significant in the case of 3 embryos in patients over 40 (21,70% against 4,30%). With exception of the first cycle, the rate of gestation increase in successive cycles, if one transfer three embryos although this is not statistically significant.

Key words: *In Vitro* Fertilization, embryo to transfer, gestation rate, multiple pregnancies

INTRODUCCIÓN

Entre los grupos que nos dedicamos a la Medicina de la Reproducción estamos asistiendo durante los últimos años a una tendencia cada vez más firme que trata de limitar los riesgos de las Técnicas de Reproducción Asistida. Ya antes de que se publicase la reforma de la Ley de Reproducción Asistida en Noviembre del 2003 era tendencia universal limitar el número de embriones a transferir y suavizar las estimulaciones ováricas con el fin de evitar las gestaciones múltiples y disminuir la congelación de embriones, todo ello sin alterar las tasas de gestación.

La mejora de los medios de cultivo y de los materiales y equipos empleados en el Laboratorio de Reproducción, así como el mejor conocimiento de la Fisiología de los gametos y del embrión en sus primeras etapas, nos ha permitido llegar a un punto de eficacia y eficiencia en las Técnicas de Reproducción Asistida (TRAs) que se imagina difícil de superar en el futuro.

Un paso importante para conseguir disminuir el riesgo de embarazos múltiples sin alterar la tasa total de embarazos ha sido la adecuada selección de los embriones a transferir, basándose en criterios de morfología general y en las características de los pronúcleos (Scott and Smith, 1998; Moreno et al., 2003), teniendo siempre en cuenta la edad de la paciente y el número de ciclos previos fracasados (Roseboom et al., 1995).

El objetivo del presente trabajo es analizar el modo en que se ven afectadas las tasas de gestación global y las tasas de embarazo múltiple según el número de embriones transferidos y la calidad de los mismos, correlacionándolas con la edad de las pacientes y del número de ciclos llevados a cabo en cada caso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudian retrospectivamente 598 ciclos de Fecundación *In Vitro* llevados a cabo en nuestro Instituto de Ginecología y

	Nº de transferencias de 3 embriones	de 2 embriones
< 30 años	39	28
30-35 años	113	92
36-40 años	105	95
> 40 años	60	66

TABLA I. Casuística de las transferencias de tres y dos embriones por grupos de edad.

	Nº de transferencias de 3 embriones	de 2 embriones	
Nº de transferencias totales	317	281	
Nº de gestaciones totales	138	98	
Nº de transferencias con embriones GI-GII	255	208	
Nº de transferencias con embriones GIII-GIV	62	73	
Nº de gestaciones con transferencias de embriones GI-GII	112 (81% de las gestaciones)	79 (80,6% de las gestaciones)	ns
Nº de gestaciones en transferencias con embriones GIII-GIV gestaciones)	26 (18,8% de las gestaciones)	19 (19,4% de las	ns

TABLA II. Resultados globales entre las transferencias de tres y dos embriones.

Medicina de la Reproducción (Madrid) entre Marzo del año 2000 y Diciembre del 2003. La media de edad de las pacientes fue de 36,1 años.

Se seleccionaron los ciclos que tenían protocolos de estimulación ovárica similares mediante desensibilización con análogos de GnRH y estímulo con FSH recombinante. La ovulación fue inducida con 10.000 unidades de hCG cuando los folículos alcanzaban o superaban los 18 mm de diámetro y los niveles de estradiol plasmático se situaban entre 150 y 300 pg/ml por cada folículo igual o mayor de 18 mm.

La punción folicular se realizó por via transvaginal ecoguiada a las 36 horas post inyección de hCG. La fase lútea se apoyó con progesterona por vía vaginal u oral desde el día de la punción. La existencia de gestación se comprobó mediante determinación de subunidad beta de hCG y ecografía transvaginal para determinar el número de sacos gestacionales.

Los ovocitos obtenidos fueron indistintamente inseminados o microinyectados dependiendo de la historia clínica de la pareja. Tras la inseminación o microinyección se mantienen en cultivo, valorándose a las 18 horas la existencia o ausencia de fertilización. Las transferencias se llevaron a cabo en D+2 ó D+3 de forma aleatoria mediante catéter Gynétics (Gynétics Medical Products, Hamont-Achel, Bélgica), bajo control ecográfico y por la misma persona.

Las pacientes se dividieron por grupos de edades (menos de 30 años, de 30 a 35, de 36 a 40 y mayores de 40 años) y dentro de estos grupos se hicieron dos subgrupos según recibieran dos o tres embriones. Se estudió el número de gestaciones por ciclo sucesivo hasta un máximo de cuatro ciclos.

Para el estudio estadístico se empleó un Test de F exacta de Fisher teniendo nivel de significación estadística para $P<0,05$.

RESULTADOS

1. Edades de las pacientes y distribución de la muestra: Quedan reflejadas en la Tabla I y divididas en los dos grupos de transferencias de 2 ó 3 embriones.

2. Tasas de embarazo según número de embriones transferidos y calidad de los mismos: Se llevaron a cabo 317 transferencias de tres embriones y 281 de dos. Cuando se valora la tasa de gestaciones con embriones de buena calidad (GI y GII) respecto a los de peor calidad (GIII y GIV) las diferencias globales de embarazos son altamente significativas, como se aprecia en la Tabla II, pero no se encuentran diferencias estadísticamente significativas al transferir dos o tres embriones (80,6% versus 81%).

3. Tasas de gestación y edad de las pacientes: Tal y como queda expuesto en la

	Gestaciones en Transferencias de 3 embriones	Gestaciones en Transferencias de 2 embriones
<30 años	17 (44%) ns	9 (32,14%)
30-35 años	65 (48,8%) ns	41 (37,3%)
36-40 años	33 (38,8%) ns	25 (32,4%)
>40 años	23 (38%) ns	23 (35%)

TABLA III. Tasas de gestación según nº de embriones transferidos y grupos de edad de las pacientes.

T A B L A IV			
	Gestaciones en Transferencias de 3 embriones	Gestaciones en Transferencias de 2 embriones	
Gestaciones múltiples	**Gemelares**	**Gemelares**	**Triples**
< 30 años	22,2%	11,8%	23,5%
30-35 años	16,6%	16%	7,1%
36-40 años	10%	19%	4,7%
>40 años	4,3%	21,7%	4,3%

TABLA IV. Resultados de gestaciones múltiples según el nº de embriones transferidos y grupos de edad.

T A B L A V			
	Gestaciones en Transferencias de 3 embriones	Gestaciones en Transferencias de 2 embriones	
1º ciclo	59 (60%)	63 (46%)**	s
2º ciclo	27 (28%)	47 (34%)	ns
3º ciclo	8 (8%)	19 (14%)	ns
4º ciclo	4 (4%)	9 (7%)	ns

**Esto se debe a que sólo se transfieren 3 embriones en el primer ciclo si son embriones de baja calidad.

TABLA V. Tasas de gestación según el nº de embriones transferidos y el nº de ciclo.

Tabla III, no existen diferencias significativas entre los grupos de edades, ni entre los grupos de transferencia de dos o de tres embriones, si bien se aprecia la tendencia a un menor número de embarazos cuando se transfieren dos embriones.

4. Incidencia de embarazos gemelares y triples por grupos de edad según que se transfieran dos o tres embriones: En pacientes menores de 30 años la incidencia de embarazo triple fue de un 23,5%, mientras que la de gemelares fue de un 11,8% cuando se transferían tres embriones. Ello hace una tasa global de múltiples del 35,3% en este grupo de edad. Contrasta con el 22,2% de gemelares cuando se transfieren dos embriones.

En los demás grupos de edades no se aprecian diferencias estadísticamente significativas como se aprecia en la Tabla IV, salvo en el caso del grupo de más de 40 años, en el que las diferencias alcanzan casi la significación estadística.

5. Embarazos en ciclos sucesivos según se transfieran dos o tres embriones: En el primer ciclo se obtienen tasas de gestación del 60% cuando se transfieren dos embriones y de un 46% cuando se transfieren tres *(P<0,05)*, esto es, porque en un primer intento de FIV las transferencias de tres embriones son por baja calidad embrionaria. Para los demás ciclos, las diferencias no son estadísticamente significativas, tal y como exponemos en la Tabla V.

Cuando desglosamos estos datos de embarazos en ciclos sucesivos por grupos de edad, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas como se expone en la Tabla VI.

DISCUSIÓN

En los momentos actuales, y con una legislación restrictiva en vigor, resulta de capital importancia conseguir la optimización de los resultados de las técnicas de FIV de modo que, con un mínimo de riesgos para la paciente, se mantengan las tasas de gestaciones. El riesgo fundamental reside en la producción de embarazos múltiples (sin contar el riesgo de hiperestimulación ovárica aneja a aquellos), que suponen una alta incidencia de prematuridad, abortos, hemorragias, patología asociada y propia del embarazo y elevada mortalidad perinatal (ESHRE Workshop, 2000 Templeton, 2000). Además, se debe de considerar el alto coste económico y social que estos procesos llevan anejos tanto para la pareja como para el sistema sanitario.

Para conseguir disminuir ese riesgo es imprescindible reducir el número de embriones transferidos, lo que parece que debe de conducir a una disminución de la tasa de gestaciones (Gerris et al., 2000). Sin embargo, se hace preciso caracterizar aquellas situaciones en las que se deben de transferir tres embriones sin que se incremente el riesgo de multifetación con el fin de garantizar un mínimo de éxito a aquellas parejas con menos posibilidades biológicas de gestación (edad avanzada, fracasos en ciclos anteriores) (Hu et al.,1998).

Como se puede apreciar en este trabajo la calidad embrionaria y el estado de los pronúcleos (haciendo abstracción de otros datos) parece la característica fundamental a considerar en el momento de decidir cuantos embriones vamos a transferir. En efecto, la tasa de embarazo fue similar cuando se transferían dos o tres embriones de buena calidad (GI, GII) con tasas de 80,6 y 81% (Tabla II). Sin embargo, cuando los embriones eran de mala calidad (GIII y GIV) las tasas de embarazo descendieron a 19,4 y 18,8%. Es evidente que la tasa global de embarazos no mejora por poner más de dos embriones sean estos de buena o mala calidad. Lo que si empeora es la tasa de embarazos múltiples cuando se ponen tres embriones, llegando a sumar un inaceptable 33,5% en pacientes meno-

TABLA VI

		Gestaciones con Transferencias de 2 embriones	Gestaciones con Transferencias de 3 embriones	
< 30 AÑOS	1° ciclo	29,4%	44,4%	ns
	2° ciclo	42,8%	50%	ns
	3° ciclo	50%		
	4° ciclo		13%	
30-35 AÑOS	1° ciclo	49%	51%	ns
	2° ciclo	39%	63,3%	ns
	3° ciclo		25%	
	4° ciclo	8%	14%	ns
36-40 AÑOS	1° ciclo	34,7%	42,8%	ns
	2° ciclo	43%	44%	ns
	3° ciclo	21,4%	30,0%	ns
	4° ciclo		27%	
>40 AÑOS	1° ciclo	34%	26,3%	ns
	2° ciclo	36,8%	32%	ns
	3° ciclo	36,3%	55,5%	ns
	4° ciclo	29%	23%	ns

TABLA VI. Tasas de gestación según el nº de embriones transferidos, edad y nº de ciclo.

res de 30 años (Tabla IV). Un grupo de especial consideración lo constituyen las pacientes mayores de 40 años. En éstas, la tasa de embarazo es muy similar independientemente de que se pongan dos o tres embriones (38 versus 35%), pero lo que resulta muy sorprendente es la alta tasa de embarazos gemelares cuando se transfieren tres embriones (21,7%), frente a la normal de 4,3% cuando se transfieren dos.

La edad de la paciente es el segundo factor a considerar a la hora de decidir la transferencia de dos o tres embriones. Como se expresa en la Tabla IV, la incidencia de embarazos dobles y triples es muy elevada en pacientes menores de 30 años cuando se transfiere tres embriones (que además suelen ser las pacientes con embriones de mejor calidad). Se puede concluir que vamos a alcanzar un tercio de gestaciones múltiples en estas pacientes si transferimos tres embriones, mientras que tendremos un 22% de gemelaridad transfiriendo dos embriones (Salha et al., 2000).

Resulta aún más sorprendente la elevada cifra de gemelares que se obtienen en pacientes mayores de 40 años cuando se transfieren tres embriones de buena calidad (21,7%) frente a la relativa baja incidencia de triples (4,3%). Las tasas de gemelares son de 4,3% cuando se transfieren dos embriones. Es por ello que se ha de ser muy cuidadoso en la transferencia de tres embriones en mujeres mayores de 40 años y hacerlo tan sólo en casos en que la calidad embrionaria no sea excelente. La justificación reside en que a estas edades los riesgos derivados del embarazo son considerablemente mayores que en mujeres jóvenes.

Cuando se considera la influencia de los sucesivos ciclos fracasados en las probabilidades de embarazo según se transfieran dos o tres embriones, resulta evidente que, con la excepción del primer ciclo, las tasas de embarazo mejoran en los ciclos sucesivos si se transfieren tres embriones, sin embargo las diferencias no son estadísticamente significativas y es este un aumento que se hace a expensas de un aumento de la tasa de múltiples (Tabla V).

En vista de los resultados obtenidos la tendencia en nuestro centro es a transferir dos embriones frente a tres, teniendo en cuenta para esta elección la calidad embrionaria. En el caso de parejas con menos posibilidades de gestación se analizaría la posibilidad de transferir tres embriones, pero siempre teniendo en cuenta la calidad embrionaria, la edad de la paciente y el número de ciclo.

BIBLIOGRAFÍA

ESHRE Capri Workshop Group.Multiple gestation pregnancy.Hum Reprod, 2000;15(7):1856-64.

Gerris J, De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E, Van de Meerssche M, Valkenbur M. Prevention of twin pregnancy after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria:a prospective randomized clinical trial. Hum Reprod. 1999; 14:2581-7.

Hu Y , Maxon SM, Hoffman DI, Ory S, Eager S, Dupre J et al. Maximizing pregnancy rates and limiting higher-order multiple pregnancy conceptions by determining the optimal number of embryos to transfer based on quality. Fertil Steril. 1998;69:650-7.

Moreno M, López N, Palomo I, Ordás J. Embryonic quality related to the pronuclear morphology. Revista Iberoamericana de fertilidad, 2003; 20 número 2:109-15.

Roseboom TJ, Vermeiden JPW, Schoutte E, Lens Jw, Schas R.The probability pregnancy after embryo transfer is affected by the age of the patient, cause of infertility, number of embryos transferred the average morphology score, as revealed by multiple logistic regression analysis. Hum Reprod. 1995; 10:3035-41.

Salha O, Dada T, Levett S, Allgar V, Sharma V. The influence of supernumerary embryos on the clinical outcome of IVF cycle. J Assist Reprod. Genet. 2000; 17 (6): 335-43.

Scott LA and Smith S. The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval. Hum Reprod. 1998; 13:1003-13.

Templeton A. Avoiding multiple pregnancies in ART. Human Reprod. 2000; 15 (8):1662.

IZASA
Tecnología y servicio

Productos para REPRODUCCIÓN ASISTIDA

IrvineScientific

Medios de cultivo

Manipulación de gametos

ISOLATE
TEST YOLK BUFFER
PVP
mHTF
HIALURONIDASA
Kit de Vitrificación de Oocitos

Fertilización y Cultivo de Embriones

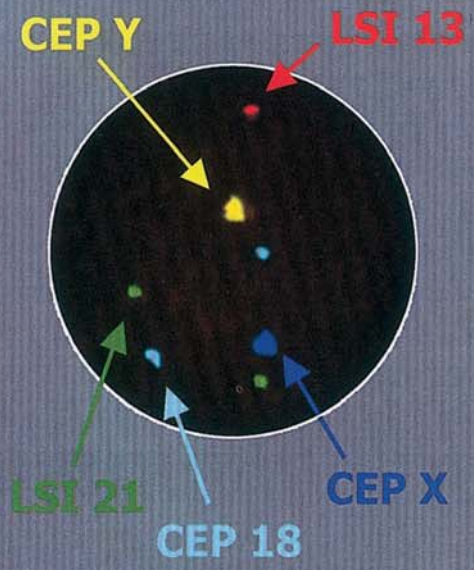
medios HTF, P-1, BLASTOCYST
medios completos, con 10% SSS
criopreservación de embriones y blastos
medio para biopsia
solución de TYRODE'S

VYSIS

Diagnóstico preimplantación

MultiVysion PGT y MultiVysion PB:
Sondas FISH para la enumeración de cromosomas en blastómero y corpúsculo polar.

Otras sondas:
centroméricas, loci específicas y subteloméricas



CONSULTAS: irvine@izasa.es , DPTO. ATENCIÓN AL CLIENTE: 902.20.30.70, PEDIDOS: 902.20.30.90

INTRODUCCIÓN A DEBATE

El tema propuesto para este número es "Investigación con Embriones Criopreservados". Además, incluimos comentarios sobre el tema abierto: "Criopreservación de Ovocitos sobrantes" En esta sección, os animamos a expresar vuestra opinión (individual o de cada centro) sobre el tema elegido o los debatidos en números anteriores, siendo imprescindible que os ajustéis a las normas de publicación.

Para el próximo número el tema que proponemos es: "La modificación de la Ley de Reproducción Asistida ¿cómo nos afecta?".

¡Animaros a colaborar, de todos depende que nuestra revista sea actual e interesante!

La Investigación, el Destino de Algunos Preembriones Criopreservados

Juan Manuel Moreno García
Unidad de Reproducción. Clínica Vistahermosa, Alicante

Durante los 15 años de vigencia de la ley 35/1988, de 22 de Noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida, se ha producido una importante acumulación de preembriones sobrantes de procesos de FIV que, al no ser reclamados por sus progenitores ni donados a otras parejas con fines reproductivos en el plazo autorizado, se han quedado sin destino. Esta situación, ha generado para los Centros de Reproducción Asistida un problema no sólo de gran vacío legal, sino también, desde el punto de vista organizativo y ético, al no saber que hacer con ellos.

El 25 de julio de 2003, el Consejo de Ministros aprobó el Anteproyecto de Ley por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de Noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida, para tratar de "resolver el problema grave y urgente de la acumulación de preembriones humanos sobrantes, cuyo destino no está determinado". Dicho anteproyecto fue aprobado como Proyecto de Ley por el Gobierno, el 1 de agosto, y por el Congreso de los Diputados, el 16 de octubre del mismo año.

El 22 de Noviembre de 2003, fue publicada en el Boletín Oficial del Estado la Ley 45/2003 que modifica los artículos 4 y 11 de la Ley 35/1988, se crea en su disposición adicional única el Centro Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa, y se regula en su disposición final primera el destino de los preembriones crioconservados con anterioridad a la entrada en vigor de esta ley.

En el primer punto, de la disposición final primera, se hace referencia a la pareja progenitora, o a la mujer en su caso, que determinarán mediante consentimiento informado el destino de sus preembriones criopreservados, pudiendo elegir entre las siguientes opciones: mantenerlos crioconservados hasta que le sean transferidos de acuerdo con lo establecido con el artículo 11 de la Ley 35/1988; donarlos con fines reproductivos a otras parejas que lo soliciten según lo previsto en los artículos 5, 7, 8 y 9 de la Ley 35/1988; utilizarlos con fines de investigación tras la descongelación; o descongelarlos sin otros fines.

Referente a su utilización en investigación, existe una contradicción interna entre la Ley 35/1988 y la Ley 45/2003. Por un lado, en el apartado 2 del artículo 15 de la Ley 35/1988, sólo se permite investigar con preembriones viables si se trata de una investigación aplicada de carácter diagnóstico y con fines terapéuticos o preventivos para el propio embrión. Por otro lado, en el apartado 3 del mismo artículo, se autoriza cualquier investigación que se realice con otros fines si se trata de preembriones no viables. Dado que la Ley 45/2003, en su disposición final primera, permite la investigación en preembriones crioconservados, si éstos fueron crioconservados por ser biológicamente viables, ¿sólo se podrá aplicar en ellos investigación de carácter diagnóstico o debería haberse modificado el apartado 2 y 3 del artículo 15 para no caer en dicha contradicción?

Además, en la Ley 45/2003 se refleja una doble moral al autorizar, por un lado, la investigación de los preembriones criopreservados anteriormente a esta ley, mientras que, por otro lado, se prohíbe su utilización posterior. ¿Es que los preembriones que se están crioconservando actualmente han adquirido un status jurídico superior y por ello se merecen la reproducción como única alternativa?

En cuanto al consentimiento, éste deberá estar firmado por los dos progenitores o por la mujer en su caso. ¿Pero qué hacer en el caso de que uno de los miembros de la pareja haya fallecido o quede incapacitado para tomar decisiones? ¿Tendrán estos preembriones como único destino la investigación al no poder firmar ambos progenitores el consentimiento? ¿Y en el caso de un divorcio o separación de la pareja sin que haya consenso? ¿Es posible autorizar destinos diferentes o también su destino quedará limitado a la investigación?

Pero el problema se puede acentuar si la pareja progenitora, o la mujer en su caso, determinan un destino diferente para cada uno de sus preembriones criopreservados. En la Ley no se refleja que la opción elegida sea para el conjunto de sus preembriones crioconservados, por tanto ¿podrán elegir una opción diferente para cada uno de ellos? Como bien sabemos, esto en la práctica es imposible de realizar, ya que la mayoría de los preembriones sobrantes de un ciclo de FIV se encuentran en el mismo envase criogénico, pero considero que según la Ley los progenitores estarían en su derecho de solicitarlo.

En cualquier caso, según se establece en el segundo párrafo del punto 1 de la disposición final primera de la Ley 45/2003 "el Gobierno, mediante Real Decreto y en el plazo de cuatro meses, desarrollará cada una de las opciones anteriores y establecerá el procedimiento mediante el cual los centros de reproducción humana asistida que tengan preembriones que hayan sido crioconservados con anterioridad a la entrada en vigor de esta ley, deberán solicitar el consentimiento informado a las parejas progenitoras o a la mujer en su caso, con el objeto de determinar el destino de sus preembriones ...".

En la fecha en la que se redactó este texto, el plazo para elaborar dicho Real Decreto ya se había cumplido. Por tanto, aprovecho la ocasión para transmitir mi respeto a la Ley, pero es necesario que ésta sea transparente y que elimine las paradojas existentes en la actualidad para poder aplicarla correctamente.

BIBLIOGRAFÍA

Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. BOE 24 Noviembre 1988, núm. 282, (pág. 33373); rect. BOE 26 Noviembre 1988, núm. 284 (pág. 33598).

Ley 45/2003, de 21 de Noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de Noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. BOE 22 Noviembre 2003, núm. 280 pág. 41458-41463.

Lacadena, J. R. 2003. La amarga victoria o la dulce derrota.
http://www.cnice.mecd.es/tematicas/genetica/2003_09/2003_09_00.html

De Embriones Sobrantes a Ovocitos Sobrantes

Ortiz-Galisteo J.R., Castilla, J.A., Magán R., Ortiz A., González E., Aguilar J., Peralta L. y Martínez L.
Universidad de Reproducción. Hospital Universitario "Virgen de las Nieves". Granada

El espíritu de la Ley 45/2003 no es otro que solucionar el problema de los embriones crioconservados sobrantes de FIV en nuestros laboratorios. Este exceso de embriones se ha producido, no sólo por la nefasta Ley de Reproducción Asistida que no determinaba claramente el destino de dichos embriones, sino también por una política equivocada de gestión de dichos *stocks*. Prueba de ello es la alta variabilidad en el número de embriones congelados en los distintos centros, ya que centros con similar actividad presentan un número muy diferente de embriones crioconservados. En los centros donde se haya congelado cualquier ovocito dividido o no se haya tenido una política activa de donación de embriones tendrán muchos más embriones congelados que aquellos centros que hayan penalizado económicamente el tiempo de almacenamiento, que hayan sido estrictos en sus criterios de congelación o que hayan promovido la donación de dichos embriones. Sería interesante saber públicamente los centros con ese alto número de embriones crioconservados. Consideramos que las sociedades científicas españolas tampoco hicieron nada en su momento para evitar esta situación. Ellas podrían haber diseñado protocolos o recomendaciones con criterios estrictos de congelación o programas invitando a la donación de embriones, que hubieran servido de respaldo a la actuación de muchos centros que no compartían la idea de almacenar por almacenar.

En cuanto a lo pasado no podemos hacer nada, pero si mirar al futuro. La Ley 45/2003 traerá un excedente de ovocitos en nuestros centros y son muchos los que se apresuran a sugerir alegremente la creación de programas de donación de ovocitos compartidos. Creemos que es el momento de no cometer errores como los del pasado y que dentro de unos años tengamos leyes como la de Gran Bretaña o Italia que dificulten la donación de gametos, como consecuencia de la mala gestión de los ovocitos sobrantes.

El RD 412/1996 establece los requisitos de los donantes de gametos y entre estos se encuentra una limitación de edad que en el caso de ovocitos es de 35 años y "un reconocimiento médico, que se reflejará en una historia clínica, con inclusión de antecedentes personales y familiares, así como un examen físico, que como mínimo deberá contener los datos que en el anexo del presente Real Decreto se relacionan". Evidentemente no se establece unos criterios claros de aceptación o rechazo de los donantes. Por esto creemos que es el momento de que se dicten directrices desde las diferentes sociedades científicas en este sentido, pues de lo contrario y ante el nerviosismo que nos suele producir tirar ovocitos, estaremos tentados de bajar los criterios de aceptación de donantes de ovocitos.

En este sentido nos gustaría repasar algunos puntos. En dicho anexo se puede leer que entre otros habrá que valorar los antecedentes reproductivos (infertilidad). Todas nuestras nuevas posibles donantes van a ser de parejas infértiles, por lo que creemos, junto con BFS (2000), que sólo deberíamos aceptar como donantes a mujeres sometidas a FIV/ICSI por esterilidad masculina.

En el comentado Real Decreto 412/96 se establece una serie de *screening* de obligado cumplimiento, pero después de 8 años de la publicación de dicho Real Decreto creemos que deben realizarse otros estudios a cualquier donante de gametos, tal como se sugiere por diversos autores, sociedades científicas u organismos oficiales: cariotipo (Selva, 1990; Wallerstein et al., 1998; Marina et al., 1999; RCOG, 2000; HEFA, 2003), estudio de Fibrosis quística (Wallerstein et al., 1998; RCOG, 2000; Garrido et al., 2002; HFEA, 2003), *screening* de Síndrome de X- Frágil (Ahuja et al., 1996), rasgo talasémico (Wallerstein et al., 1998; Marina et al., 1999; HFEA, 2003) y alteraciones hereditarias de la coagulación (Marina et al., 1999).

También deberemos procurar realizar durante el ciclo de estimulación de la donante, estudio de carga viral de VIH. Todos estos puntos deberían ser aconsejados y promovidos por las diferentes sociedades científicas.

Sólo adoptando criterios científicos en el manejo de los ovocitos sobrantes evitaremos que en el futuro aparezcan leyes tan perjudiciales para nuestro quehacer diario como la Ley 45/2003. Si hace 10 ó 15 años hubiéramos tomado alguna de las medidas comentadas para evitar el almacenamiento de embriones sobrantes, posiblemente no tendríamos ahora la Ley 45/2003. Lo que si sabemos es que si la donación de gametos no se realiza de acuerdo a unas normas de seguridad clínica y biológica actualizadas, probablemente en breve tengamos "sucesos" que lleven a los legisladores a promulgar leyes restrictivas.

BIBLIOGRAFÍA

Ahuja KK, Simons EG, Fiamanya W, Dalton M, Armar NA, Kirkpatrick P, et al. Egg-sharing in assisted conception: ethical and practical considerations. Hum Reprod 1996; 11:1126-31.

BFS, British Fertility Society. Recommendations For Good Practice On The Screening Of Egg And Embryo Donors. Hum Fertil 2000; 3:162-5.

Garrido N, Zuzuarregui JL, Meseguer M, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Sperm and oocyte donor selection and management: experience of a 10 year follow-up of more than 2100 candidates. Hum Reprod 2002; 17:3142-48.

HFEA, Human Fertilisation and Embryology Authority. Code of Practice. Sixth Edition 2003. http://www.hfea.gov.uk/HFEAPublications/CodeofPractice

http://britishfertilitysociety.org.uk/practicepolicy/documents/screeningegg.html

http://www.nelh.nhs.uk/guidelinesdb/html/downloads/infertility_tertiary_care.pdf

Marina S, Expósito R, Marina F, Nadal J, Masramón M, Vergés A. Oocyte donor selection from 554 candidates. Hum Reprod 1999; 14:1770-2776.

RCOG, The Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The Management of Infertility In Tertiary Care. Evidence-Based Clinical Guideline No. 6. January 2000.

Selva J. La donneuse-le donneur. Bilan du controle genetique propose par la Federation CECOS. Contracept Fertil Sex 1990; 18: 510-2.

Wallerstein R, Cansen V, Grifo JA, Berkeley AS, Noyes N, Licker J, et al. Genetic screening of prospective oocyte donors. Fertil Steril 1998; 70:52-5.

La Investigación con Embriones Criopreservados

Jorge M. Cuadros Fernández
Clínica FIV-Madrid

La ley 45/2003, que modifica los artículos 4º y 11º de la ley sobre Técnicas de Reproducción Asistida 35/1988, ha realizado una serie de cambios significativos que dificultan el trabajo en la clínica y que afectan de manera importante las expectativas de embarazo de los pacientes. Además de las consecuencias negativas evidentes de "fecundar sólo 3", sin que la Administración haya acatado su propia ley dando el protocolo de excepciones, y de "transferir un máximo de 3", cuando ahora sabemos que en mujeres jóvenes y receptoras no deberíamos transferir más de 2 embriones para evitar los embarazos múltiples, las modificaciones respecto de los embriones criopreservados también demuestran un alarde de desconocimiento. Es verdad que hacía falta adaptar la norma legal para permitir la utilización en la investigación de los embriones criopreservados abandonados; pero la modificación realizada comete varios errores. En primer lugar, penaliza directamente la congelación de embriones, como si fuera algo negativo. Lo malo no es congelar embriones, lo malo es acumular embriones congelados. Esto sí ha sido un problema en los últimos años, pero justo ahora tenemos la posibilidad de evitarlo, seleccionando para la congelación sólo los embriones que tienen una probabilidad aceptable de sobrevivir al proceso y dar lugar al nacimiento de niños sanos. Congelar embriones da a las parejas otra posibilidad de embarazo sin tener que recurrir a una nueva estimulación y, con la optimización de los protocolos de criopreservación, la probabilidad de éxito está alrededor del 25%. En segundo lugar, la Administración y los medios de comunicación han subrayado la importancia de haber abierto las puertas a la investigación, cuando realmente lo que se ha abierto no es más que una rendija. Da igual que los embriones criopreservados antes de la modificación de la ley sean 40.000 ó 200.000. ¿Cuántos de esos embriones van a ser donados por las parejas para la investigación, que es una de las condiciones?; y sí, habrá embriones abandonados, pero la mayoría de esos embriones probablemente no sobrevivan a la descongelación, ya que los resultados óptimos de la criopreservación son relativamente recientes. Y de los que sobrevivan, ¿cuántos de ellos podrán generar células madre y líneas celulares útiles para la investigación?; ¿cómo hará el centro de investigaciones correspondiente para descongelar los embriones de 2PN, día +2 o día +3 para llevarlos hasta el día +5 "sin reanimarlos"?

Para terminar, la modificación de la ley no ha cambiado la prohibición de la ley 35/1988 de investigar con embriones viables, pero la Disposición adicional primera de la 45/2003 ha establecido dos categorías de embriones, los de antes y los de después de su promulgación, de tal manera que la rendija que se ha abierto para la investigación se cerrará cuando se acaben los embriones congelados antes de la ley. Parece que la administración en funciones ha dicho que los embriones que hay durarán 20 años; ojalá duren 2. De todas maneras, lo que hace unos meses hubiera sido impensable, como es un cambio de política gubernamental, con una adaptación de la norma a la realidad, ahora podría ser factible. Sería deseable que el nuevo gobierno comenzara por acatar la ley tal como está, y sacara de inmediato el protocolo de excepciones a la norma de "sólo 3 fecundados", para terminar con el grave perjuicio que están sufriendo, por ejemplo, las mujeres mayores de 39 años. A continuación, debería corregir los graves defectos de la ley 45/2003, simplemente prestando atención, pero de verdad, a los que sí conocen los problemas de la Reproducción Asistida y saben cómo resolverlos.

EMIB GRUPO

EQUIPOS MEDICO-BIOLOGICOS

TÉCNICAS PARA LA REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA
PRODUCTOS PARA LA GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

Equipos Médico-Biológicos, S.A.

Central y Delegación Barcelona

C/ Can Rabia, 13 locales 3 y 4
08017 Barcelona
Tel.: 93 412 37 21 • Fax: 93 412 21 92
E-mail: **barcelona@embiol.com**
http://**www.embiol.com**

Delegación Valencia

C/ Aben al Abbar, 4, 2º - pta. 13
46021 Valencia
Tel.: 96 369 35 74 • Fax: 96 389 00 97
E-mail: **valencia@embiol.com**

Delegación Bilbao

Plaza Amézola, 2, entreplanta
mano derecha, puerta izquierda
48012 Bilbao
Tel.: 94 410 50 09 • Fax: 94 410 29 70

Equipos Médico-Biológicos de Baleares, S.L.

C/ Bartomeu Ferrà, 3, 2º 1ª
07002 Palma de Mallorca (Baleares)
Tel.: 971 227 313 • Fax: 971 714 181
E-mail: **baleares@embiol.com**

Equipos Médico-Biológicos de Andalucía, S.L.

C/ Maestro Cebrián, Local 6 (edificio Atalaya)
18003 Granada
Tel.: 958 28 05 63 • Fax: 958 20 76 47
E-mail: **andalucía@embiol.com**

Equipos Médico-Biológicos del Noroeste, S.L.

C/ Pígara 16, Bajos
15679 El Temple-Cambre (La Coruña)
Tel.: 981 63 89 66 • Fax: 981 63 89 89
E-mail: **noroeste@embiol.com**

Equipos Médico-Biológicos de Castilla, S.L.

C/ Carretas, 14, 8F
28012 Madrid
Tel.: 91 521 76 02 • Fax: 91 521 77 30
E-mail: **madrid@embiol.com**

EMUB GRUPO

EQUIPOS MEDICO-BIOLOGICOS

TÉCNICAS PARA LA REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA
PRODUCTOS PARA LA GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

DISTRIBUCIONES EN EXCLUSIVA

Labotect	Agujas de punción folicular • Aspiradores de ovocitos • Incubadores de CO_2 y Tª • Catéteres transferencia embriones • Equipos para transporte de material biológico • Láser para hatching asistido
Rocketmedical	Agujas de punción folicular • Aspiradores de ovocitos • Catéteres transferencia embriones • Instrumental de ginecología • Material desechable de ginecología
GYNÉTICS® Gynétics Medical Products n.v.	Catéteres de inseminación intrauterina • Catéteres transferencia embriones • Cánulas de biopsia endometrial • Cepillos citológicos • Cánulas de aspiración uterina • Dispositivos intrauterinos (DIU)
wallace	Catéteres transferencia embriones • Catéteres de inseminación intrauterina • Agujas de punción folicular • Agujas amniocentesis • Pesarios
CooperSurgical	Equipos para conización. Leep-1000 • Manipulador uterino. Equipo de colpotomía • Colposcopios
HUMAGEN™	Micropipetas para ICSI • Micropipetas para biopsia blastómero • Micropipetas para HATCHING asistido
Vitrolife	Medios de cultivo celular para FIV e ICSI • Medios de criopreservación Medios tratamiento semen
Nidacon International AB	Medios para tratamiento de semen
K SYSTEMS	Cabinas de flujo laminar adaptadas para laboratorios de F.I.V. Incubadores de CO_2 para transporte • Mesas antivibratorias
FALCON®	Material plástico para cultivo celular • Pipeteadores
Cryo Bio System I.M.V. Division	Termoselladoras de pajuelas • Pajuelas de congelación de embriones / semen
<genX> international	Filtros coda: Sistemas de filtración de aire para laboratorios de FIV Unidades de filtración para interior de incubador
MedSYS	Equipo de conización uterina • Instrumental Protegido • Manipulador laparoscópico • Asas de Conización • Instrumental general de Ginecología
TOKAI HIT Co., Ltd.	Sistemas de termocontrol automático para platinas de microscopios
MidAtlantic DIAGNOSTICS, INC	Pipetas de precisión con capilares para denudación y manipulación de células y embriones
L'AIR LIQUIDE	Congeladores biológicos • Recipientes almacenamiento material biológico
NARISHIGE JAPAN NARISHIGE INTERNATIONAL LIMITED	Equipos para micromanipulación (ICSI)
LEISEGANG	Colposcopios

Desarrollo Embrionario y Anomalías Congénitas que Afectan a la Reproducción

Albert Fortuny
Unitat de Diagnòstic Prenatal. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer. Universitat de Barcelona. Hospital Clínic. Facultat de Medicina. Departament d'Obstetrícia i Ginecologia. c/Villarroel 170. 08036 Barcelona

INTRODUCCIÓN

Las anomalías congénitas que afectan la capacidad reproductora de la mujer responden a distintas causas que de algún modo afectan a elementos esenciales para completar el proceso reproductor. Aunque aisladamente no son frecuentes, en conjunto su impacto es importante y en algunos casos de difícil precisión en su origen.

El término congénito, en la práctica, se interpreta como presente en el nacimiento. Sin embargo no es infrecuente que la manifestación de determinadas anomalías no se haga evidente hasta la adolescencia, desarrollo puberal o edad adulta ante el intento reproductor.

Los términos congénito, genético y hereditario o transmisible no deben considerarse sinónimos. Una anomalía congénita puede no ser necesariamente genética ni hereditaria sino por efecto ambiental esporádico o multifactorial por coincidencia de factores genéticos y ambientales.

En condiciones normales el proceso de formación del sistema reproductor se realiza a través de una secuencia bien programada y armónica de la determinación sexual, diferenciación de órganos y estructuras e integración de funciones. Cualquiera de estas etapas es susceptible de errores o interferencias que pueden conducir a incapacidad reproductora.

Existen, por otra parte errores metabólicos o enzimáticos congénitos que, sin afectar directamente a órganos y estructuras propiamente genitales, son capaces de interferir en el funcionalismo reproductor normal (Adrenal, Tiroideo, Metabolopatías, etc.).

DESARROLLO EMBRIONARIO NORMAL. DETERMINACIÓN Y DIFERENCIACIÓN SEXUAL

Determinación sexual

En la especie humana la determinación del sexo se establece en el momento de la fecundación. Los mecanismos que intervienen son esencialmente genéticos y vienen determinados por la distribución de los cromosomas X e Y en el embrión.

En el embrión 46,XX uno de los cromosomas X es precozmente inactivado en su mayor parte en la fase de implantación o quizás antes. Este cromosoma aparece como corpúsculo de Barr o cromatina sexual en las células somáticas en interfase. La inactivación no tiene lugar en las células germinales por lo que en los ovocitos ambos cromosomas permanecen activos.

La inactivación del cromosoma X depende de un gen localizado en el brazo largo del cromosoma X (Xq13), en la zona próxima al centrómero Xic (X inactivation center) y cuyo producto se denomina XIST (Avner and Heard, 2001). La inactivación de uno de los cromosomas X en cada célula es totalmente aleatoria, siempre que ambos cromosomas X sean normales, pudiendo afectar al cromosoma de origen paterno o materno pero, una vez inactivado, todas las células derivadas mantienen el mismo patrón de inactivación es decir, el Xpat. o el Xmat. Puesto que ello se produce cuando el embrión tiene unos centenares de células, las mujeres normales tienen dos poblaciones celulares, unas con Xpat. y otras con Xmat., tratándose por tanto de mosaicos con relación al cromosoma X activo. En algunos tejidos extra-embrionarios la inactivación no es aleatoria sino que es dictada por el origen paterno o materno, como es el caso de la placenta en la que el cromosoma X activo es siempre el de origen paterno.

En la especie humana, algunos de los loci del cromosoma X inactivado (heterocromático) permanecen sin embargo activos, particularmente en la parte distal del brazo corto (Xp) y brazo largo (Xq). Exceptuando los determinantes denominados de "mantenimiento ovárico", la mayoría de genes no inactivados tienen poco o nada que ver con el desarrollo reproductor.

Diferenciación gonadal

Las células germinales primordiales, aparecen en la 4ª semana de desarrollo en el endodermo del saco vitelino, migrando posteriormente a la cresta genital para inducir la formación de las gónadas indiferentes. No está bien

establecido si las células somáticas de la gónada se originan en el epitelio celómico o en el mesonefros. En cualquier caso se produce una proliferación que da como resultado la formación de los cordones sexuales primitivos y la gónada indiferente.

Las gónadas indiferentes se desarrollan como testículo si el embrión, o más probablemente el estroma gonadal, posee la dotación cromosómica XY. Este proceso se inicia alrededor de 43 días después de la concepción, y el testículo aparece morfológicamente identificable 7-8 semanas después de la concepción (9-10 semanas después de la última menstruación).

Bases genéticas de la diferenciación ovárica

En ausencia de cromosoma Y la dirección inherente de diferenciación gonadal es en sentido ovárico. La presencia de un sólo cromosoma X (monosomía X clínicamente traducida como síndrome de Turner) no parece interferir en el proceso de migración germinal en la vida fetal aunque la progresión ulterior normal del desarrollo ovárico exige la presencia de dos cromosomas X. La transformación en ovario se inicia entre los 50 y 55 días de desarrollo embrionario.

La dotación del ovario en células germinales (ovogonias) se expande por mitosis durante la vida fetal hasta el inicio del proceso de meiosis. Éste se interrumpe en la profase de meiosis I (ovocitos) rodeándose de una línea especializada de células del estroma (células pre-granulosa) para formar los folículos primordiales. Ello marca el fin de la producción de células germinales y los ovocitos no van a reanudar la meiosis hasta después de la ovulación y fertilización en la vida adulta.

La mayor parte de células germinales producidas durante la ovogénesis mueren espontáneamente antes o poco después del nacimiento, de modo que de los 7 millones de células germinales del ovario fetal a las 20 semanas, permanecen sólo 1 ó 2 millones de ovocitos viables en el periodo neonatal.

Este declive de la dotación germinal continua en la vida post-natal por un proceso continuo de atresia folicular de modo que en la pubertad la dotación queda reducida a alrededor de 300.000, y sólo 400 de los ovocitos presentes en la pubertad sobreviven lo suficiente para completar el desarrollo y ser liberados para su potencial fecundación.

Este proceso de eliminación germinal se interpreta actualmente como un fenómeno de muerte celular programada (apoptosis) aunque la única evidencia es de carácter experimental y procede de la ratona en la que se ha identificado el gen Bax como inductor de lesión mitocondrial y mediador de la muerte celular de los ovocitos (Pru and Till, 2001). En la monosomía X (45,X, síndrome de Turner) las células germinales se forman pero no pueden persistir y los folículos ováricos han degenerado ya en la vida postnatal. Por ello el segundo cromosoma X se considera importante para el mantenimiento pero no para la diferenciación ovárica.

Persiste la cuestión de sí es suficiente para la diferenciación ovárica la ausencia de SRY (ver más adelante), es decir por defecto, o requiere un gen específico. Se ha propuesto el gen DAX1 localizado en Xp que, cuando esta duplicado, puede re-dirigir embriones 46,XY hacia la diferenciación femenina, especulando si esta región DAX1 (Xp21) pudiese jugar un papel primario en la diferenciación ovárica. La evidencia actual, sin embargo, apunta a que la diferenciación ovárica es por defecto o pasiva, aunque deben existir "genes de mantenimiento" ovárico en distintas localizaciones, tanto en Xp como en Xq (Figura 1).

Cromosoma Y en la diferenciación testicular

El cromosoma Y contiene regiones de DNA características. Los cromosomas sexuales humanos X e Y se origi-

FIGURA 1

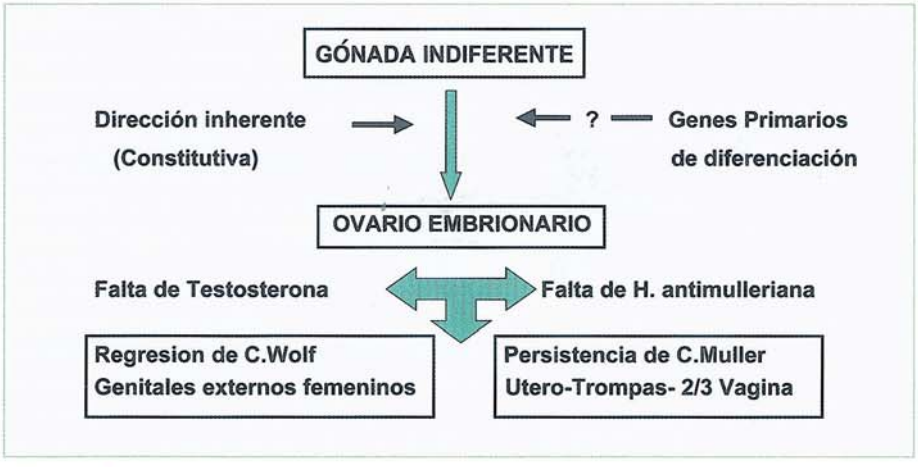


Figura 1. Esquema secuencial del desarrollo embrionario femenino.

nan hace algunos cientos de millones de años de un autosoma ancestral (no sexual) en el proceso evolutivo de la determinación sexual, divergiendo en las secuencias a lo largo de los milenios (Ohno, 1967). En el cromosoma Y actual existen regiones relativamente cortas a ambos extremos del cromosoma Y idénticas a las correspondientes en regiones del cromosoma X, reflejando el frecuente intercambio de DNA entre estas regiones (recombinación) que tiene lugar durante la espermatogénesis (Burgoyne, 1982).

Mientras las regiones distales de los cromosomas X e Y intercambian secuencias durante la producción de espermatozoides, el resto de secuencias de los cromosomas sexuales no lo hacen. Sin embargo, más del 95% del cromosoma Y (alrededor de 23 millones de pares de bases o Mb de eucromatina) es especifico del sexo masculino, y una porción variable de heterocromatina (consistente en secuencias altamente repetitivas de DNA), son consideradas como no funcionales.

Recientemente, ha sido descifrada la secuencia del segmento eucromatico del cromosoma Y, designando a este segmento como MSY (región masculino-específica de Y) (Skaletsky et al., 2003). El 10-15% de la región MSY consiste en secuencias que se trasladaron desde el cromosoma X en los últimos millones de años de evolución y son idénticas en el 99% a las secuencias presentes en el cromosoma X.

Hace más de dos décadas, se dedujo que el determinante genético esencial en la diferenciación testicular, actualmente denominado TDF (Factor testículo-determinante) se localizaba en el brazo corto del cromosoma Y (Yp). El gen clave es actualmente conocido como SRY (región testículo determinante de Y) (Figuras 2- 4), se localiza en una de las regiones con homología X-Y. (Región Pseudo Autosómica o PAR).

Aproximadamente el 10-15% de casos esporádicos de disgenesia gonadal XY (hembras XY) muestran mutaciones del gen SRY. Sin embargo, la mayoría de hembras XY no muestran mutaciones en el gen SRY lo que sugiere que otros genes son necesarios para la determinación testicular. La función exacta del gen SRY al nivel celular en la diferenciación testicular no está claramente establecida en cuanto a su posible papel transcripcional o de interacción de productos del gen.

Existe actualmente cierta evidencia en experimentación animal (ratón) que sugiere una mayor complejidad del proceso, con intervención de genes como el DAX1 (en el cromosoma X y presumiblemente capaz de dirigir la diferenciación en sentido ovárico) y cuya du-

FIGURA 2

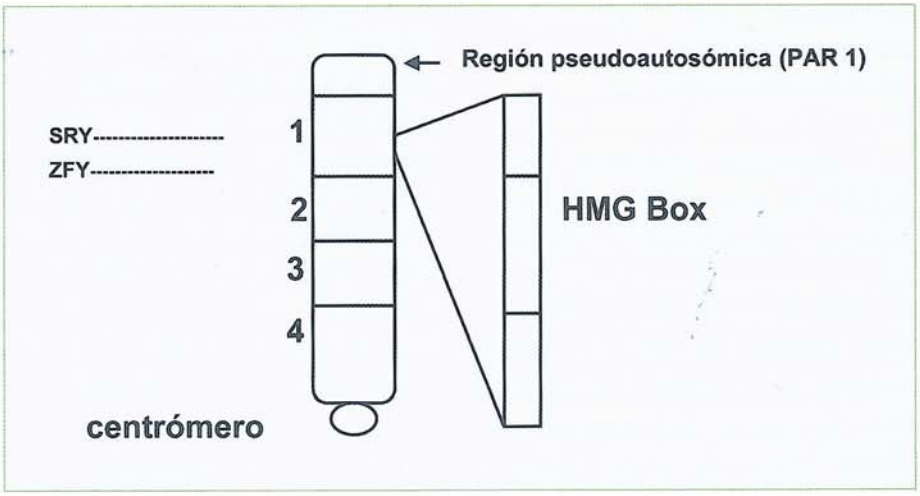


Figura 2. Representación esquemática del brazo corto del cromosoma Y.

FIGURA 3

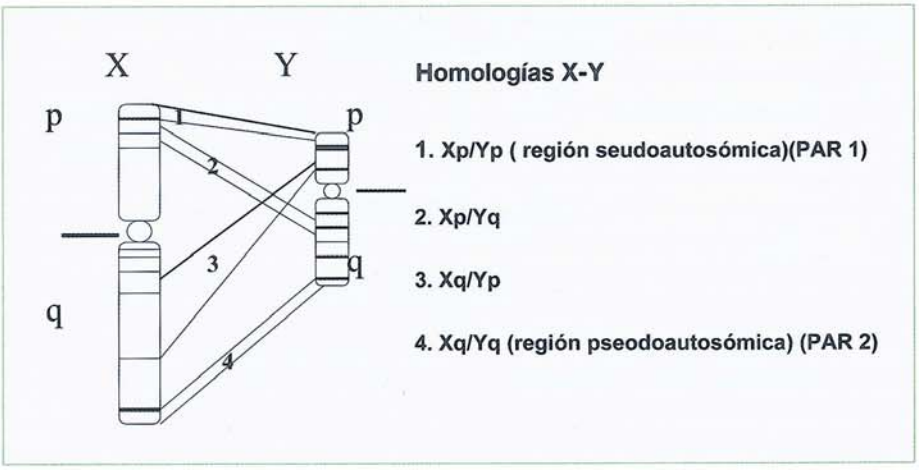


Figura 3. Regiones de homología entre los cromosomas X e Y.

FIGURA 4

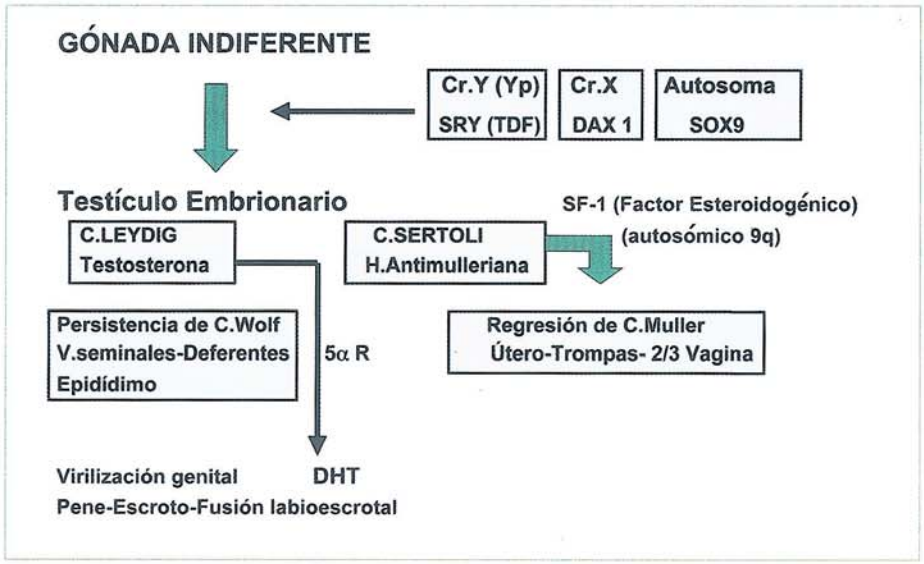


Figura 4. Esquema secuencial del desarrollo embrionario masculino.

plicación podría frenar la acción del gen SRY en la inducción testicular (Meeks et al., 2003). Otras regiones autosómicas podrían ser importantes en la diferenciación testicular, aunque su relación con SRY es todavía menos clara, como es el caso del gen SOX9 en el cromosoma 17q, cuya delección es responsable de la disgenesia gonadal XY (reversión sexual) asociada a displasia campomélica y, en contraste, su duplicación da como resultado un individuo 46,XX con gónadas escrotales bilaterales, microfalo y orificio uretral perineal (un varón XX incompleto) (Huang et al., 1999).

Cromosoma Y y espermatogéneis

El brazo largo del cromosoma Y (Yq) en la región próxima al centrómero, contiene genes importantes para la espermatogénesis. Alrededor del 15% de varones azoospérmicos y 5-10% de oligospérmicos presentan pequeñas deleciones. El modelo actualmente más aceptado establece tres localizaciones de genes responsables de la espermatogénesis (genes AZF-a, b y c). La deleción de AZF-a es la menos común y se asocia a ausencia de espermatogonias. La deleción de AZF-b resulta en interrupción de maduración espermática. El gen AZF-c contiene el locus DAZ *(deleted in azoospermia)* y su deleción produce azoospermia u oligospermia, aunque los varones con oligospermia severa pueden actualmente conseguir gestaciones mediante inyección intracitoplásmica de espermatozoide (ICSI).

Diferenciación de conductos genitales

Las estructuras embriológicas primordiales durante el estadio indiferente consisten en dos pares de conductos, mesonéfricos (conductos de Wolf) y paramesonéfricos (conductos de Müller) que coexisten en estado indiferente durante las primeras semanas (Skaletsky et al., 2003; Meeks et al., 2003; Huang et al., 1999; ASRM, 1988).

Los conductos de Müller se originan como invariaciones longitudinales del epitelio celómico en la cresta genital cuyas partes caudales contactan y se fusionan para formar el primordio uterovaginal y contactan a su vez con la pared posterior del seno urogenital. En ausencia de factor inhibidor mulleriano (MIF o AMH), producido por las células de Sertoli, los conductos forman el útero, trompas y probablemente la parte superior de la vagina.

Los genitales externos inician su desarrollo durante la 4ª semana a partir de células del mesénquima que migran hacia la membrana cloacal formando los pliegues denominados eminencias labioescrotales.

Mientras el efecto gonadal en los conductos es de tipo local, como se demostró en los clásicos experimentos de Jost, el efecto en los genitales externos depende de las substancias hormonales que alcancen estas estructuras y de la presencia de receptores específicos. En el embrión hembra la ausencia de testosterona y MIF permite que los conductos de Wolff regresen, y no se masculinizen los genitales externos indiferentes, dando lugar a los labios mayores y menores, y el clítoris a partir del tubérculo genital.

El extremo caudal o distal de los conductos de Müller fusionados contacta con el seno urogenital causando proliferación de los bulbos del seno endodérmico que, a través de una evaginación formará la placa vaginal. Esta proliferación continua en ambos sentidos, craneal y caudal, aumentando la distancia entre el útero en desarrollo y el seno urogenital (semana 13) y alrededor de la semana 17-18 se forma una cavidad entre el tubérculo del seno urogenital y los conductos de Müller fusionados. Se

TABLA I

	Varón	Mujer
Gónada	Testículo	Ovario
Túbulos Mesonéfricos	Ductos eferentes	Epo y Paraoforon
C. Wolff (C.Mesonéfricos)	Epidídimo	C.Garthner
	Deferentes-V.Seminales	Parte uretra
C.Müller(C.Paramesonéfricos)	Parte Utrículo Próstata	Trompas-Útero
		Parte Vagina
Seno Urogenital	Vejiga- Uretra	Vejiga-Uretra
	Gl. Prostáticas	Gl.parauretrales
	Uretra esponjosa	Vestíbulo
		Parte de vagina
Tubérculo genital	Pene	Clítoris
Eminencias genitales	Escroto	Labios mayores
Plieges uretrales	Base Uretra esponjosa	Labios menores
Gubernaculum	Gub. Testis	Ligs.redondos

Tabla I. Derivados embrionarios de estructuras primordiales del sistema urogenital.

TABLA II

Estructura primordial	Estructura adulta	Derivados anómalos
Gónada indiferente	Ovario	Disgenesia gonadal
C. Wolff	C.Garthner	Quiste
Túbulos mesonéfricos	Epooforon-Paraooforon	Quiste paraovario
C.Müller	Trompas	Agenesia -disgenesia tubárica
	Útero	Fusión anómala-Septos
	Cérvix	Atresia
	Vagina	Ausencia congénita
Cloaca ventral	Vejiga-Uretra	Extrofia vesical
Seno Urogenital	Uretra	Quistes
	Gl.Parauretrales	
	Vestíbulo	
Pliegues genitales	Labios menores	
Tubérculo genital	Clítoris	Agenesia de clítoris
Em. Labioescrotales	Labios mayores	
Tubérculo sinusal	Himen	Imperforación

Tabla II. Estructuras primordiales y derivados embrionarios anómalos.

acepta que a los 5 meses de gestación la vagina esta completamente canalizada, siendo su parte alta (fornix) derivada de los conductos de Müller y la parte baja del seno urogenital. El himen separa el seno urogenital de la vagina y consiste en una capa de células vaginales y una capa de células epiteliales del seno urogenital (Tablas I-II).

Los conductos de Müller crecen paralela y externamente a los conductos de Wolff hasta cruzarlos anteriormente y encontrarse en la línea media para fusionarse y eventualmente canalizarse.

La parte más cefálica de los conductos de Müller da lugar a las trompas. La íntima relación entre los conductos de Müller y de Wolff (mesonefros y conductos mesonéfricos) explica la frecuente asociación de anomalías mullerianas y renales (mesonéfricas), estimada entre 20-30%, particularmente la asociación de útero unicorne y agenesia renal unilateral. Por ello se recomienda la evaluación urológica sistemática.

Anomalías en el desarrollo del sistema reproductor femenino

La mayoría de anomalías observadas clínicamente responden a la interrupción en el desarrollo de las estructuras primordiales mullerianas uterovaginales alrededor de la 8ª semana de desarrollo, ya sean defectos de fusión o migración que generan anomalías estructurales de trompa, útero y 2/3 superiores de la vagina (Tabla III).

Existen, sin embargo, excepciones en las que no se trata simplemente de interrupción en una fase normal del desarrollo como es el caso de la presencia de dos úteros y dos cuellos uterinos

La prevalencia global de anomalías estructurales mullerianas se estima entre 2 y 3%, y su incidencia real en mu-

TABLA III

Aplasia Uterina : Falta de progreso caudal suficiente de los conductos de Müller
Útero Unicorne: fallo del desarrollo de uno de los conductos de Müller
Útero Bicorne-bicollis (didelfis). Los conductes mantienen su dualidad
Útero Bicorne-unicollis: Igual que el anterior con un cérvix. Defecto Fusión
Útero Arcuado: Defecto de fusión externa limitada a fundo uterino
Útero Septo: retención del septo medio en la fusión de C.Müller
Útero sub-septo: persistencia parcial del septo.
Agenesia vaginal: ausencia o atresia de la luz vaginal por fallo de canalización
Vagina septa: fallo parcial de canalización
Himen imperforado: falta de permeación del pliegue entre vagina y seno urogenital

Tabla III. Malformaciones congénitas del canal útero-vaginal.

jeres en edad reproductora es difícil de estimar, dado que su identificación depende de los métodos de diagnóstico utilizados y sólo el 25% plantean problemas de fertilidad. La aplicación reciente de técnicas de imagen con mayor poder de definición ha permitido aumentar el diagnóstico en anomalías que de otro modo pasarían desapercibidas al examen clínico.

La etiología de la mayoría de estas anomalías es desconocida aunque por su baja frecuencia individual y carácter esporádico, sugieren mecanismos poligénicos o multifactoriales, y en algunos casos se ha demostrado un factor ambiental como el efecto del dietilestilbestrol o la thalidomida. La mayoría de malformaciones uterinas congénitas muestran, sin embargo, un cariotipo 46,XX.

Existen distintas anomalías del sistema ductal femenino (Tabla III) cuya clasificación ha sido confusa aceptándose actualmente la revisada por la ASRM (ASRM, 1988) (Tabla IV).

Las anomalías aisladas del desarrollo embrionario del cuello uterino son raras. La agenesia y atresia cervical aisladas se interpretan como fallos segmentarios de canalización del primordio uterovaginal. Lo mismo ocurre con las anomalías de las trompas cuya agenesia parcial o total, uni o bilateral, son de rara observación (Lin et al., 2002).

La ausencia congénita de vagina y otras estructuras mullerianas, con cariotipo, gónada y caracteres sexuales normales, a veces con formas de duplicidad uterina, son características del síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser.

La atresia parcial de vagina y tabiques o septos vaginales transversos son

TABLA IV

1. **Agenesia: Vagina, cervix, fondo uterino, trompa, o combinaciones**
2. **Útero Unicorne: Conectado o no, con o sin cavidad.**
3. **Útero Didelfo**
4. **Útero Bicorne (Completo, Parcial o arcuado)**
5. **Útero Septo (Completo o parcial)**
6. **Útero en T (Resultado de la acción de dietilestilbestrol)**

Tabla IV. Anomalías del sistema ductal femenino (ASRM).

defectos parciales de canalización, o fallo de los conductos de Müller fusionados en contactar con el seno urogenital. La falta de unión del primordio vaginal (endodérmico) con el conducto de Müller (mesodérmico) puede ocurrir a cualquier nivel del canal vaginal, aunque es más frecuente en el tercio medio y superior. En contraste, los septos vaginales longitudinales, son el resultado de la fusión caudal incompleta de los conductos de Müller y pueden ser comunicantes u obstruidos.

El himen imperforado no es de origen mulleriano sino que deriva del tubérculo del seno urogenital y representa el límite entre ambas estructuras embrionarias.

Disgenesias gonadales

El concepto genérico de disgenesia gonadal incluye distintas formas que tienen en común el desarrollo gonadal anómalo. Se trata, por tanto, de anomalías en la diferenciación gonadal.

Su clasificación es, sin embargo, compleja dado que, con frecuencia, se asocian factores genéticos y consecuencias hormonales que conducen a manifestaciones fenotípicas de ambigüedad genital diversas y por ello se las incluye en el concepto de estado intersexual o intersexo. Es por ello importante destacar que disgenesia gonadal e intersexo son conceptos distintos y serán por tanto tratados separadamente, aunque en ocasiones pueden coincidir en un determinado individuo.

La Academia Internacional de Patología establece una clasificación útil ya que introduce los epígrafes de dotación cromosómica sexual que incluye los seudohermafroditismos, y en la dotación cromosómica sexual anormal distingue la ausencia o presencia de ambigüedad sexual (Tabla V).

DISGENESIA GONADAL Y FALLO OVÁRICO PRIMARIO

Monosomía X

Actualmente el término "disgenesia gonadal" se aplica convencionalmente a las mujeres que presentan rudimentos gonadales descritos como "cintillas ováricas" *(streak gonad).* El epónimo síndrome de Turner se aplica a los casos que muestran estatura baja asociada a otras anomalías somáticas (estigmas Turner). La presencia de estigmas Turner no siempre implican la presencia de cintilla gonadal, por lo que el síndrome de Turner se limita a individuos con disgenesia gonadal, estigmas Turner y cariotipo 45,X (monosomía) o deleciones parciales del cromosoma X , es decir monosomías parciales.

TABLA V

Cromosomas sexuales anormales:

a) Sin ambigüedad sexual: S.Klinefelter
S.Turner
Disgenesia gonadal pura

b) Con ambigüedad sexual: Disgenesia gonadal mixta
Hermafroditismo verdadero

Cromosomas sexuales normales

a) Exceso androgénico en la mujer (Seudohermafroditismo femenino)
- Hiperplasia adrenal congénita
- Otras causas de exceso androgénico

b) Virilización deficiente del varón (Seudohermafroditismo masculino)
- Anomalías gonadrotróficas-células de Leydig
- Regresión testicular
- Déficits enzimáticos de esteroidogénesis
- Síndromes de insensibilidad androgénica
- Déficit de 5α Reductasa
- Persistencia de estructuras mullerianas en varón.

Tabla V. Clasificación de alteraciones en el desarrollo gonadal y de órganos sexuales secundarios. Academia Internacional de Patología (Scully RB. En Pathology of Reproductive Failure. International Academy of Pthology Monograph., Damjanov and Kaufman. Edits. Kraus. Williams and Wilkins. USA. 1991).

En el 80% de casos 45,X el cromosoma X es de origen materno (Xm) y el 20% de origen paterno (Xp). La disgenesia gonadal en la monosomía X no es un defecto en la formación de células germinales, que de hecho existen normalmente en el feto hembra hasta prácticamente la mitad de la gestación, sino de un proceso acelerado de atresia folicular, y por tanto un defecto de mantenimiento ovárico que conduce, en la vida postnatal, a la desdotación germinal con sólo la presencia de tejido fibroso análogo al estroma ovárico.

El patrón hormonal es, en consecuencia, de hipogonadismo hipergonadotrófico, y las manifestaciones en los caracteres sexuales secundarias derivadas del déficit de esteroides ováricos.

Aunque se han descrito algunos casos de 45,X que inician menstruación espontanea, lo más plausible es la existencia de líneas celulares 46,XX no detectadas en el estudio citogenético.

La terapia de la infertilidad en pacientes 45,X conlleva soporte hormonal para crear las condiciones uterinas esenciales, fecundación asistida con donante de óvulos y transferencia embrionaria al útero hormonalmente sincronizado. El éxito en obtener una gestación clínica es de alrededor del 20% aunque el índice de abortos espontáneos es elevado (más del 50%) (Foudila et al., 1999). Este elevado índice de aborto refleja probablemente más causas hormonales o uterinas que la transmisión de gametos aneuploides.

La región o regiones del cromosoma X responsables de evitar los estigmas Turner no están bien esclarecidas, pero no necesariamente coinciden con la región de mantenimiento ovárico, y la parte distal de Xp ha sido particularmente implicada (Figura 5). Los genes candidatos en Xp o Xq que podrían ser importantes para las repercusiones ováricas y somáticas han sido consideradas por Bione y Toniolo (2000). Los fetos 45,X tienen bajo peso al nacer, el índice de crecimiento antes de la pubertad se sitúa alrededor del percentil 10 -15 y la talla media adulta oscila entre 140-146 cm. Se han propuesto diversos tratamientos para la

FIGURA 5

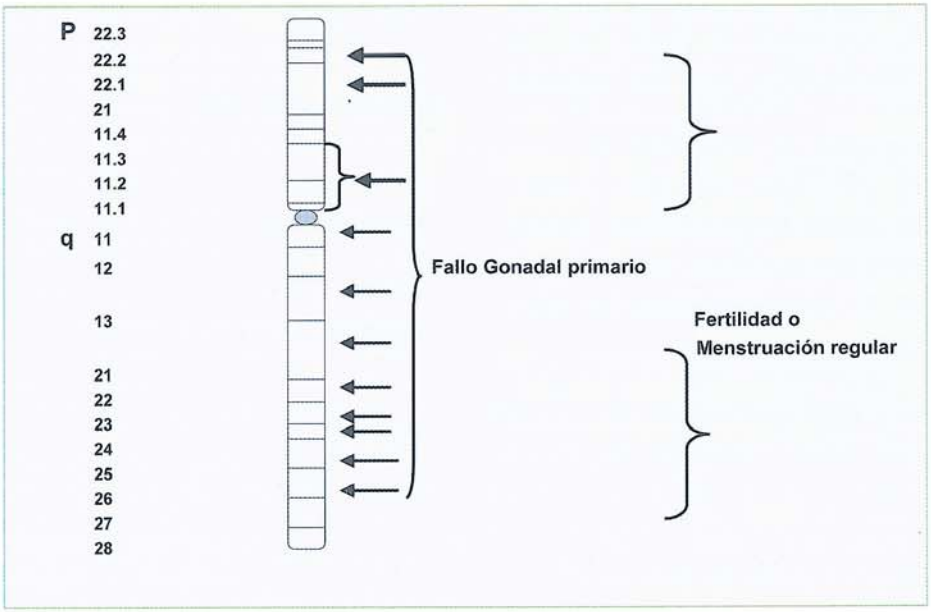


Figura 5. Asociación de distintas deleciones del cromosoma X y función ovárica (Modificado de Simpson y Rajkivic. Am.J.Hum.Gent. 1999).

baja estatura (esteroides anabólicos, hormona de crecimiento, estrógenos a dosis baja) todos ellos con beneficio observable particularmente poco después de iniciar el tratamiento y, aunque el resultado final es menos ostensible, se consiguen incrementos entre 6-8 cm (Rosenfeld and Grumbach, 1990). Los resultados más favorables parecen obtenerse con la hormona de crecimiento derivada de DNA recombinante humano (Rosenfeld et al., 1998).

Mosaicismos

El concepto de mosaicismo o mosaico implica la presencia en un mismo individuo de más de una línea celular procedente del mismo cigoto. Ello se produce por errores en la división, ya sea por no-disyunción o por retraso en anafase, y si ocurre en el cigoto o en el embrión puede aparecer más de una línea celular. El complemento cromosómico final depende del estadio de desarrollo en que se produjo el error y de la capacidad de supervivencia de las líneas celulares resultantes.

La habilidad en reconocer la presencia de mosaicos depende del número de células analizadas por tejido y del número de tejidos analizados. La práctica común de analizar 20 células por tejido conlleva una probabilidad del 12% de no detectar por lo menos una célula de una línea representada en el 10% de la población celular. La eficacia en detección aumenta con el porcentaje de la línea y con el número de células examinadas.

Los mosaicos más comúnmente observados asociados a la disgenesia gonadal son los 45,X/46,XX. Sin embargo, en estos casos, no es infrecuente que inicien menstruación espontanea y eventualmente fallo ovárico precoz indicando una dotación folicular reducida y/o atrésia acelerada. Menos común, pero fenotípicamente similar al mosaico 45,X/46,XX es el 45,X/ 47,XXX.

Cuando el mosaico incluye una línea celular 46,XY también puede mostrar cintilla gonadal bilateral, pero lo más común es la presencia de cintilla gonadal unilateral y testículo disgenético, recibiendo en tal caso el nombre de disgenesia gonadal mixta que, por presentar ambigüedad genital, se incluye como una forma de seudohermafroditismo.

Deleciones del brazo corto del cromosoma X y fallo gonadal

Estos casos muestran un fenotipo variable en función del segmento de brazo corto que permanece. El punto de rotura más frecuente es Xp 11.2-11.4 (Figura 5) permaneciendo sólo la parte proximal del brazo corto cerca del centrómero. La mitad de los casos 46,X, del (Xp) (p11) muestran amenorrea primaria y disgenesia gonadal, y el resto amenorrea secundaria.

Las deleciones terminales (p22.1 ó 22.2) todavía ven afectado el desarrollo ovárico, pero la deleción de la parte más distal (p22.3) no muestran amenorrea. Aunque se están llevando a cabo estudios moleculares para mayor precisión, hasta el momento la única conclusión es que la amplia zona Xp11.3-22.1 es, probablemente, la más importante para el desarrollo ovárico.

Isocromosoma X

Cuando la división del centrómero no es longitudinal sino transversal da lugar a un isocromosoma con duplicación de brazos largos [i(Xq)] o cortos [i(Xp)], aunque esta última forma se considera inexistente. El [i(Xq)] es la anomalía cromosómica estructural más común, aunque con frecuencia coexiste en mosaico con células 45,X. Presentan disgenesia gonadal y con frecuencia estigmas Turner.

Deleciones del brazo largo del cromosoma X

La región de "mantenimiento ovárico", mencionada previamente, se sitúa en Xq13 y no más allá de q21 (Figura 5). Las deleciones afectan zonas más distales no se presentan con amenorrea primaria sino por fallo ovárico prematuro, por lo que esta zona parece menos importante para el mantenimiento ovárico, aunque si pueda tener cierta participación sin que se haya todavía establecido una clara demarcación.

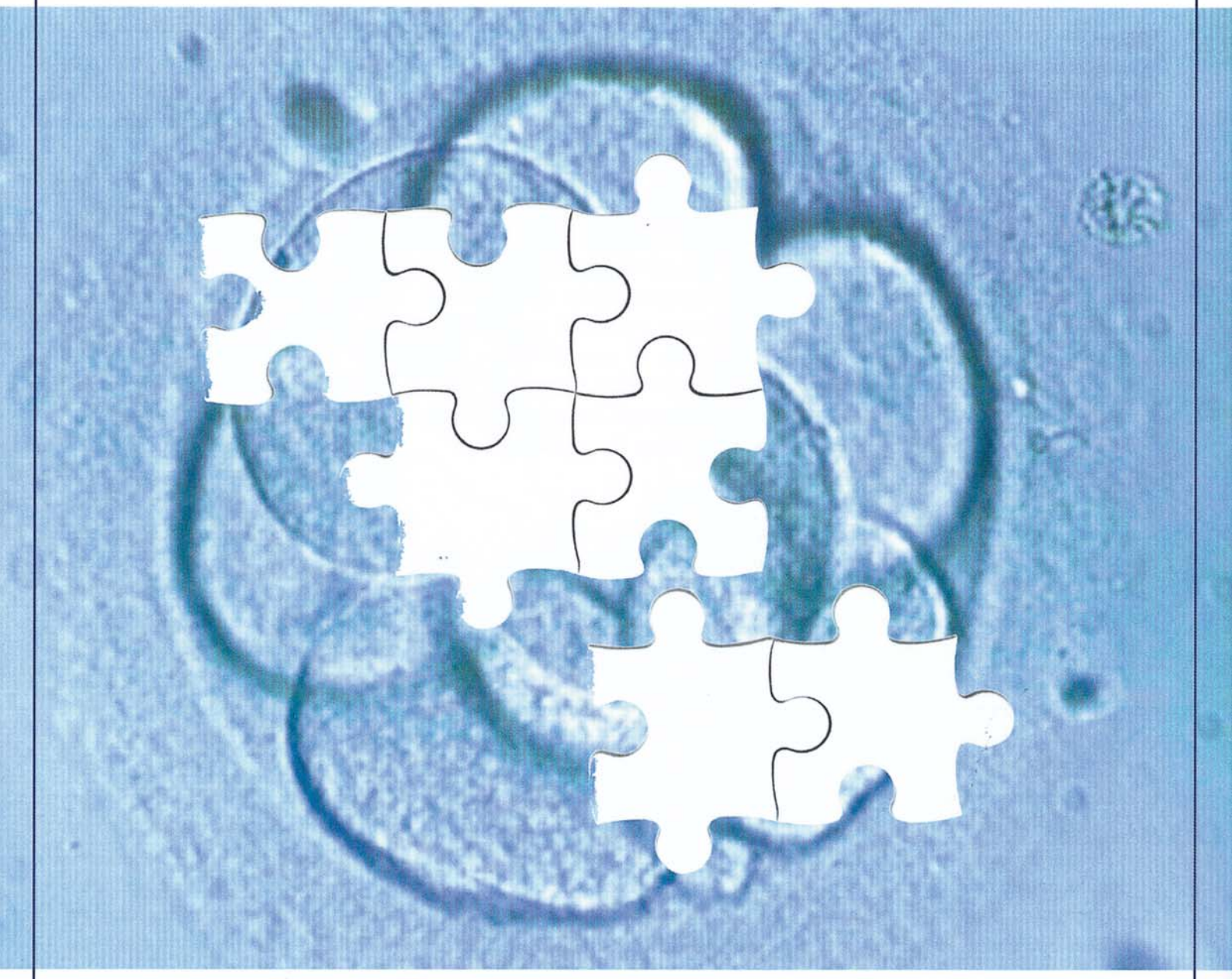
Polisomias del cromosoma X y fallo gonadal

La presencia de más de un cromosoma X en la mujer es relativamente frecuente (1:800-1000 nacidos vivos). Aunque invariablemente causan anomalías gonadales en individuos con cromosoma Y (47,XXY o síndrome de Klinefelter), sólo ocasionalmente lo hacen en mujeres 47,XXX (triple X) o en varones 47,XYY.

En la mujer 47,XXX el origen es comúnmente en la meiosis I materna, el fenotipo es normal y en la mayoría sin anomalías somáticas. Como grupo, existe mayor riesgo de retraso mental discreto y sólo el 5% muestran C.I. entre 45-70. La función gonadal puede verse afectada en forma de menarquia tardía y/o fallo gonadal prematuro (menopausia precoz). Se desconoce el ori-

OLYMPUS®

Your Vision, Our Future



TENEMOS LAS PIEZAS PARA SU NUEVO LABORATORIO.

Olympus España le ofrece
una solución global para su
laboratorio de Reproducción Asistida.

Para más información, contactar con
Olympus España
902 444 204
informacion.micro@olympus-europa.com

OLYMPUS ESPAÑA – DIVISIÓN MICROSCOPÍA

OLYMPUS

Your Vision, Our Future

Sistemas de micromanipulación

- Microscopios invertidos Olympus IX51/IX71
- Micromanipuladores Olympus-Narishige
- Microinyectores Narishige/Eppendorf
- Platinas termostatizadas Linkam/Tokay
- Sistemas de fotodocumentación
- Mesas antivibratorias Newport

Sistema láser para biopsia embrionaria OCTAX

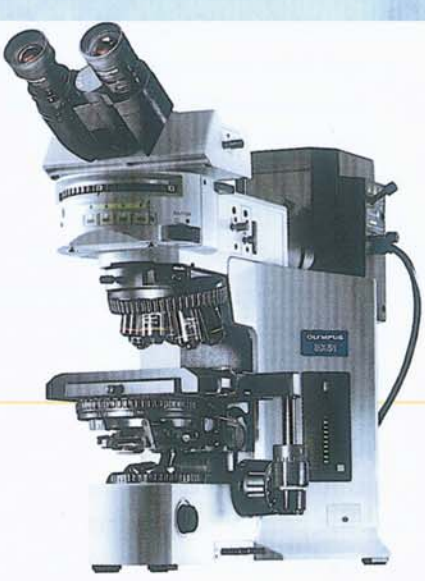
Nuevas lupas binoculares SZ2

Microscopios invertidos de rutina CKX31/CKX41

Microscopios biológicos de gama alta y rutina

Sistemas de análisis de imagen para genética

Complementos y accesorios para reproducción asistida



gen de la disfunción ovárica pero se presupone que el cromosoma X adicional interfiere en la segregación meiótica conduciendo secundariamente al cese de la ovogénesis, de igual modo como ocurre en el caso de 45,X, o en las trisomías autosómicas 13 y 18.

La mayoría de descendientes de mujeres 47,XXX son normales aunque se han observado algunas anomalías (Simpson, 1981). En la tetrasomia X (48,XXXX) se observa retraso mental manifiesto y disfunción ovárica. En las escasas observaciones de pentasomia X (49,XXXXX) la presencia de anomalías somáticas, particularmente faciales y extremidades, así como el retraso mental son prácticamente constantes.

Fallo ovárico de causa autosómica

Existen diferentes genes autosómicos capaces de producir fallo ovárico entre las que cabe citar:

1. Disgenesia gonadal 46,XX no asociada a alteraciones somáticas excepto por la afectación gonadal. Se considera que 2/3 de estas disgenesias tienen causa génica de tipo autosómico recesivo aunque los genes no han sido identificados. El resto, denominadas fenocopias, pueden ser debidas a causa ambiental (infección, necrosis, infiltración autoinmune).

2. Disgenesia gonadal XX asociada a sordera neurosensorial (síndrome de Perrault) transmitida en forma autosómica recesiva.

3. Disgenesia gonadal XX debida a mutación de receptor FSH, detectada predominantemente en Finlandia. En el brazo corto del cromosoma 2 (2p) se encuentran genes para los receptores de FSH y LH.

4. Mutación en el gen del receptor LH. Localizado en el cromosoma 2 (2p) puede causar oligomenorrea o con menor frecuencia amenorrea primaria. La gametogénesis prosigue hasta estadios pre-ovulatorios pero no existe ovulación.

5. Disgenesia gonadal XX y ataxia cerebelar es una forma heterogénea en la que es improbable que este involucrado un gen único.

6. Disgenesias gonadales XX asociadas a otros síndromes malformativos han sido descritas (Tabla VI).

Disgenesia gonadal en mujeres 46,XY

En individuos con cariotipo masculino aparentemente normal la pérdida o ausencia de tejido testicular antes de las semanas 7-8 produce el fenotipo previsible. El prototipo de mujer XY con disgenesia gonadal muestra genitales externos femeninos normales, vagina, útero y trompas, y en la pubertad no hay desarrollo de caracteres sexuales secundarios, la estatura es normal y no se observan anoma-

TABLA VI

Manifestaciones	Referencia	Etiología
Microcefalia, aracnodactilia	Skre, 1976; Amor 2001	Autos. Recesivo
Dermoides epibulbares	Quayle et al., 1991	Autos. Recesivo
Talla baja y acidosis metabólica	Hisama, 2001	Autos. Recesivo
Blefarofimosis, Epicantus	Crisponi, 2001	Autos. Recesivo
Cardiomiopatia, retraso mental	Malouf et al., 1985	Autos. Recesivo

Tabla VI. Disgenesia gonadal y síndromes malformativos.

TABLA VII

- Disgenesia XY sin anomalías somáticas
  - _ Alteraciones del SRY
  - _ Duplicación Xp (DAX1)
  - _ Forma recesiva ligada a X
  - _ Formas sin alteración molecular o patrón hereditario
- Disgenesia gonadal XY y displasia campomólica (SOX9)
- Disgenesia gonadal XY y aTalassemia (Gen Alfa Talassemia en cromosoma X o ATX)
- Disgenesia gonadal XY asociada a síndromes polimarfomativos.
- Disgenesia gonadal XY con deleciones autosómicas (2p), (9p),(10q)
- Disgenesia gonadal XY con duplicaciones autosómicas (1p+)
- Hipoplasia de células de Leydig
- Defectos de esteroidogenesis
  - _ Factor esteroidogenico 1 (SF1) (deficit de receptor LH)
  - _ Deficit 17ahidroxilasa / 17,20 desmolasa
  - _ Déficit 3b- ol deshidrogenasa / 3b hidroxisteroid deshidrogenasa
- Agonadia (46,XY)

Tabla VII. Mujeres XY. Espectro de formas de reversión sexual.

lías somáticas, por lo que el aspecto externo no difiere del de la disgenesia gonadal XX.

El riesgo de desarrollo tumoral antes de los 20 años (Disgerminoma, Gonadoblatoma) es elevado (20-30%) por lo que se recomienda la extirpación gonadal y la gestación es posible mediante reproducción asistida con donante de ovocitos o de embriones (Kahn et al., 1997). Existen una serie de situaciones, descritas como "reversión o inversión sexual", es decir mujeres XY asociadas a distintos síndromes. (Tabla VII).

En las formas que no presentan anomalías somáticas, la etiología puede residir en la mutación o deleción del gen SRY y ello se constata en alrededor del 15% (Figura 1). El resto correspondería a alguna de las formas descrita en la tabla y a las de causa no determinada.

En la hipoplasia de células de Leydig hay una insensibilidad completa a la LH (mutación del receptor LH) observándose testículos bilaterales desprovistos de células de Leydig, los genitales externos son femeninos pero no existe útero (por efecto del MIF, hormona antimulleriana que es operativa), sino deferentes y epidídimo. El gen de R-LH se localiza en el cromosoma 2 (Sultan and Lumbroso, 1998). Existen formas de insensibilidad o resistencia parcial que conducen a varones con pene hipoplásico o hipospadias.

En el déficit del factor esteroidogénico (SF-1) el gen (FTZ1) se localiza en el brazo largo del cromosoma 9 (9q33) (Figura 4) (Achermann, 1999). Muestran fallo suprarrenal, cariotipo 46,XY, cintillas gonadales, derivados mullerianos normales y genitales externos femeninos.

Disgenesia gonadal y trisomias autosómicas

Excepto la trisomía 21, los nacidos con trisomías se caracterizan por disgenesia ovárica. En las trisomías más comunes (cromosoma 18 y cromosoma 13) raramente se observan ovocitos, incluso en abortos de segundo trimestre. Ello se ha atribuido a alteraciones inespecíficas de la meiosis, aunque no se descarta que los cromosomas 13 y 18 puedan contener genes específicos para el control de la ovogénesis.

Agonadismo

La ausencia de gónada ocurre generalmente en individuos 46, XY, no existiendo ni siquiera rudimentos (cintillas) de la gónada. Los genitales externos son anormales pero de tipo femenino, con falo del tamaño de un clítoris, hipoplasia de labios mayores y fusión labio-escrotal y presencia sólo de rudimentos mullerianos o wolfianos. Por su presentación, entraría en el concepto de seudohermafroditismo masculino pero la ausencia de gónada no permite incluirlo en la clasificación clásica (ver estados intersexuales). Se presupone, la presencia transitoria de testículo *(vanishing testis),* suficiente para frenar el desarrollo mulleriano pero no para completar la diferenciación masculina.

Hipogonadismos hipogonadotróficos

Los defectos congénitos que impiden la producción de FSH y LH conducen a la falta de esteroides sexuales y gametogénesis incompleta, desarrollo puberal inadecuado, amenorrea primaria e infertilidad. La etiología es diversa reflejando alteraciones hipotalámicas (GnRH), hipofisarias (FSH-LH) o ambas.

Son formas de transmisión mendeliana recesiva, ya sea ligada al cromosoma X (síndrome de Kallmann) o formas autosómicas (déficit aislados de FSH o LH) (Tabla VIII).

La forma más frecuente de hipogonadismo hipogonadotrofico es el síndrome de Kallmann debida al gen KAL1 (en la parte distal del cromosoma X que no sufre inactivación) y produce una proteína (Anosmina) que forma el entramado por el que migran las neuronas GnRH y los nervios olfatorios hacia el hipotálamo durante la embriogénesis. El fallo de esta proteína impide la migración neuronal dando como resultado el defecto hipotalámico asociado a la anosmia.

Otras formas de causa hipotalámica pueden estar asociadas a anormalidades en la leptina o en sus receptores, asociándose comúnmente a obesidad (Montague et al., 1997). Los defectos

TABLA VIII

Gen	Locus	Clínica	Defecto	Herencia
KAL1	Xp22.3	Anosmia	Hipotálamo	Ligado a X
GNRHR	4q21.2		Hipófisis	Aut. Recesivo
LH-b	19q13.3	Def. LH	Hipófisis	Aut. Recesivo
FSH-b	11p13	Def. FSH	Hipófisis	Aut. Recesivo

Tabla VIII. Mutaciones identificadas como causa de hipogonadismo hipogonadotrófico.

aislados de FSH son menos comunes y pueden afectar tanto a varones como mujeres (Lyaman, 1999) pero los defectos aislados de LH sólo han sido descritos en el varón.

Estados intersexuales

El concepto clásico de "estado intersexual" lo define como la presencia en un mismo individuo de caracteres sexuales de ambos sexos, considerando dos tipos básicos, el seudohermafrodismo (o hermafroditismo verdadero) y los seudohermafroditismos.

Hermafroditismo verdadero

Viene definido por la coexistencia en un mismo individuo de tejido testicular y ovárico en cualquiera de sus variantes, uni o bilateral (testículo, ovario, u ovotestes), y su localización puede ser pélvica, inguinal o labioescrotal, aunque en testículo u ovotestes sólo raramente se observa espermatogénesis.

El complemento cromosómico sexual es 46,XX en el 60% de casos descritos y en el resto distintos mosaicismos, siempre incluyendo de alguna forma una línea con cromosoma Y.

La forma 46,XY/46,XX es comúnmente atribuible a quimerismo que, a diferencia del mosaicismo, es la presencia en un mismo individuo de dos o más líneas celulares derivadas de distintos cigotos.

En los casos 46,XX la explicación de la presencia de testículo en individuos que carecen de cromosoma Y incluye la translocación durante la meiosis paterna del gen SRY del cromosoma Y al cromosoma X, translocación de SRY a un autosoma, mosaicismo no detectado o genes autosómicos implicados en la reversión sexual que explicarían las formas de transmisión mendeliana (formas familiares) de hermafroditismo verdadero 46,XY.

Los genitales externos muestran diversos grados de ambigüedad o predominantemente femeninos. Se observa la presencia de útero aunque frecuentemente uni o bicorne, y la ausencia de un cuerno uterino indica la vecindad homolateral de testículo u ovotestes.

Se han descrito una docena de casos de gestación en casos 46,XX y sólo un caso en mosaico 46,XX/46,XY (Verp et al., 1992).

Pseudohermafroditismos

Estos casos incluyen individuos con concordancia en el complemento cromosómico sexual y la gónada, pero que presentan defectos de masculinización en el caso del varón, o virilización en la mujer. No se trata, por tanto, de alteración en la diferenciación gonadal, como en el caso del hermafroditismo verdadero, sino alteraciones manifiestas en los genitales externos y caracteres sexuales secundarios (Tabla V).

A. Seudohermafroditismo femenino

Definido por individuos 46,XX cuyas gónadas son ovarios y los genitales externos muestran cierta ambigüedad por masculinización.

La forma más común es la hiperplasia adrenal congénita como resultado del déficit de distintos enzimas necesarios para la esteroidogenesis (Figura 6): 21-hidroxilasa, 11β-hidroxilasa y 3βhidroxi-esteroideshidrogenasa (3β-HSD) y aromatasa. Estos defectos se transmiten con carácter autosómico recesivo y los genes se han localizado respectivamente en el cromosoma 6 (CYP21) (6p21), en el cromosoma 8 (CYP11B1) (8q22) y en el cromosoma 1. El diagnóstico molecular es posible, incluyendo el diagnóstico prenatal mediante biopsia corial y la terapéutica materna precoz con corticoides cuyo paso transplacentario es capaz de evitar o minimizar el efecto virilizante.

La patogenia común es el déficit de cortisol cuyo efecto de retro-alimentación *(feed-back)* negativo regula la producción de ACTH. La falta de inhibición en la secreción de ACTH conduce

FIGURA 6

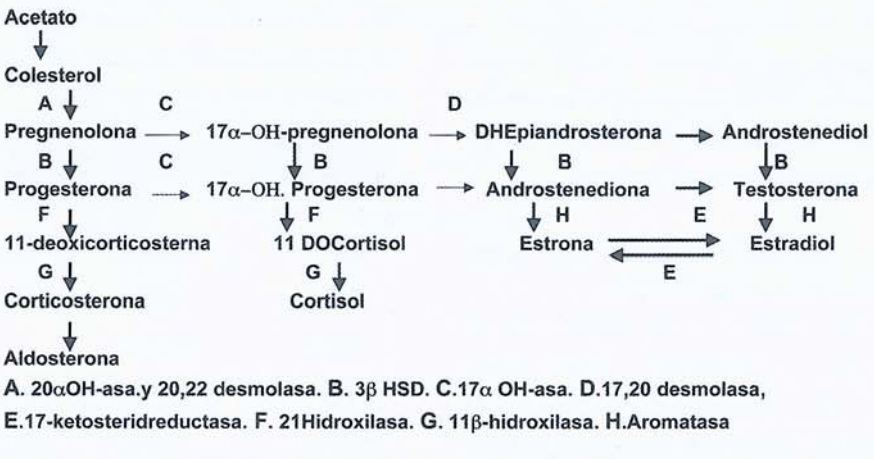


Figura 6. Esquema de enzimas involucrados en la biosíntesis de esteroides.

al aumento de los precursores esteroideos a partir de los cuales se sintetizan andrógenos cuyo aumento produce la virilización de fetos hembras.

El déficit de cortisol y corticosterona puede resultar en pérdida de sal con afectación severa al nacer en el 75% de casos de déficit de 21-hidroxilasa con virilización. En los casos sin perdida de sal se asume que el incremento de ACTH produce suficiente cortisol y aldosterona para evitar esta complicación.

La forma más común es el déficit de 21-hidroxilasa que convierte la 17α–hidroxiprogesterona (17α-OHP) a 11-deoxicortisol (DOC) con el incremento resultante de precursores (17α-OHP, androstendiona, estrona y testosterona). Existen formas de inicio tardío con descenso enzimático parcial (entre 20-50%) que se manifiestan por exceso androgénico, anovulación y ovarios de tipo poliquístico. El déficit de 11β-hidroxilasa impide el paso de 11-deoxicorticosterona a corticosterona y de 11-deoxicortisol a cortisol.

En el feto hembra ambas formas se manifiestan por hipertrofia de clítoris, fusión labioescrotal y desplazamiento del orificio uretral, aunque el grado de virilización puede variar entre individuos con el mismo déficit enzimático. Las estructuras mullerianas se desarrollan normalmente dado que no existe factor antimulleriano testicular. Estos déficit en varones no modifican los genitales externos, pero a partir de los 2 años pueden mostrar aumento genital, vello púbico y aumento prematuro de estatura (pubertad prematura isosexual).

En el déficit de 3β-HSD el principal andrógeno producido es la dehidroepiandrosterona (DHEA), de acción androgenica débil, que no puede transformarse a androstenediona o testosterona por lo que la virilización de fetos hembra es mucho menor. Cuando afecta al feto varón no se masculiniza completamente y se presenta como un seudohermafroditismo masculino. La forma de déficit completo resulta en severa perdida de sal.

Por último, el déficit de aromatasa, esencial para la conversión de andrógenos _Δ 4 _androstenediona) a estrógenos (estrona), conduce a un exceso de androstendiona capaz de virilizar al feto hembra. El gen ha sido identificado (CYP19).

Existen formas teratógenas de seudohermafroditismo femenino, aunque para interferir en la diferenciación genital deben actuar durante la organogénesis. El tubérculo genital se hace evidente alrededor de las 5 semanas post-fecundación (semana 7 de gestación) y si se administran teratógenos androgénicos antes de la semana 12 de gestación pueden producir fusión labioescrotal, hipertrofia del falo o desplazamientos en la invaginación urogenital. A partir de las 12 semanas la única manifestación androgénica genital es la hipertrofia de clítoris.

Los teratógenos andrógenicos incluyen la testosterona, etiniltestosterona y danazol. La nor-etindrona (19-nortestosterona) sólo se manifiesta a dosis elevadas de 10-20 mg/día por lo cual las dosis utilizadas en contraceptivos orales no conllevan riesgo de seudohermafroditismo.

Algunos tumores virilizantes en la gestante (Arrenoblastoma, Tumor de células de Leydig, luteomas) pueden virilizar el feto hembra, aunque son formas extremadamente raras coinciendo con la gestación porque tales tumores interfieren con la fertilidad.

B. Pseudohermafroditismo masculino

Clásicamente se definen como individuos con cariotipo 46,XY, presencia de testículos y manifestaciones de ambigüedad genital por deficiente masculinización.

Como una excepción a la del cariotipo 46,XY se consideran los casos de mosaico 45,X/46 XY que varían en su expresividad fenotípica, desde varones casi normales con criptorquidia o hipospadias a ambigüedad genital o fenotipo femenino normal. Se asume que la línea 45,X es el resultado de la pérdida de un cromosoma Y estructuralmente anormal que se pierde por su inestabilidad (Simpson, 1976; McDonough and Tho, 1983; Rosenberg et al., 1987). Se han descrito distintos tipos de alteraciones como causa de seudohermafroditismo masculino (Tabla V).

Déficits en la síntesis de testosterona

La patogenia común es la de niveles insuficientes de testosterona para virilizar los genitales externos. El déficit enzimático involucrado puede ser cualquiera de los necesarios pera llegar a la síntesis androgénica (A, B, C,E) (Figura 6) y se transmiten con carácter autosómico recesivo.

a. Hiperplasia adrenal de células lipoides

No es posible la conversión de colesterol a pregnenolona. Muestran genitales ambiguos o de tipo femenino, marcada pérdida salina y las suprarenales se caracterizan por la presencia de células espumosas llenas de colesterol. En humanos, es el resultado de la

alteración del gen que codifica una proteína (StAR o steroidogenic acute regulatory protein) que conduce a los precursores de colesterol para el clivaje de su cadena lateral). Este gen se localiza en el cromosoma 8 (8p11.2).

b. Déficit de 3b-HSD

La síntesis de andrógenos y estrógenos está reducida produciéndose sólo DHEA con débil acción andrógénica e incapaz de virilizar adecuadamente el feto varón y además se presenta pérdida de sal por déficit de cortisol y aldosterona. Se han identificado 5 genes relacionados de los que sólo el tipo II se expresa en la suprarrenal y la gónada.

c. Déficit de 17a-OH-asa y 17,20-desmolasa

Funciones asumidas por un único enzima, los afectados muestran genitales ambiguos o de tipo femenino, pero los derivados wolfianos y el desarrollo testicular son normales.

d. Déficit de 17b-HSD (17-cetosteroide Reductasa)

Conduce a la incapacidad de convertir DHEA a testosterona y los afectados muestran un desarrollo genital similar al anterior, pero en la pubertad muestran mayor virilización que en los casos anteriores por lo que el sexo social comúnmente se cambia a varón después de la pubertad (Morris and Mahesh, 1963). Esta mayor virilización puberal, que intrauterina se supone debida a la ausencia de la capacidad de aromatización de andrógenos (androstenediona a estrona) la placenta, impide la acumulación de androstenediona. Se han descrito 5 isoenzimas de los cuales sólo el tipo 3 es relevante, habiéndose encontrado el agregado más importantes en árabes de Gaza, Brasil y Holanda.

e. Déficit de 5α-Reductasa

Este enzima convierte la testosterona a dihidrotestosterona (DHT) al nivel celular y su déficit intracelular conduce a un patrón de virilización de los genitales internos que responden a la testosterona durante la embriogénesis, pero el déficit de conversión a DHT, comúnmente parcial, conduce a virilización incompleta de genitales externos. Existe un amplio espectro de manifestación fenotípica aunque es característica la notable virilización de genitales externos en la pubertad. Los testículos pueden ser abdominales, inguinales o escrotales, y el diagnóstico se basa en la relación T/DHT bajo estimulación con hCG (gonadotrofina coriónica con efecto LH), puesto que los niveles basales en la infancia son excesivamente bajos para ser discriminantes. Puede confirmarse el déficit enzimático de 5α -R celular mediante cultivo de fibroblastos procedentes de células de genitales externos.

Se han tipificado 2 genes (SRD5), el tipo I localizado en el cromosoma 5 (SRD5A1) y el tipo II (SRD5A2) en el cromosoma 2 (2p23), aunque sólo el tipo II es deficiente en el seudohermafroditismo masculino, existiendo distintas mutaciones según la etnia de origen (distribuidas en los 5 exones que constituyen el gen) (Figura 7).

Insensibilidad androgénica

La forma completa inicialmente descrita como "feminización testicular" o síndrome de Morris (Mendoca et al., 2000) se presenta en individuos 46,XY con testículo bilateral, ausencia de derivados mullerianos, genitales externos femeninos, vagina ciega y desarrollo mamario femenino. La patogenia común es el defecto en los receptores andrógenicos que interfiere con la respuesta a la testosterona. La presencia de MIF (hormona testicular antimulle-

FIGURA 7

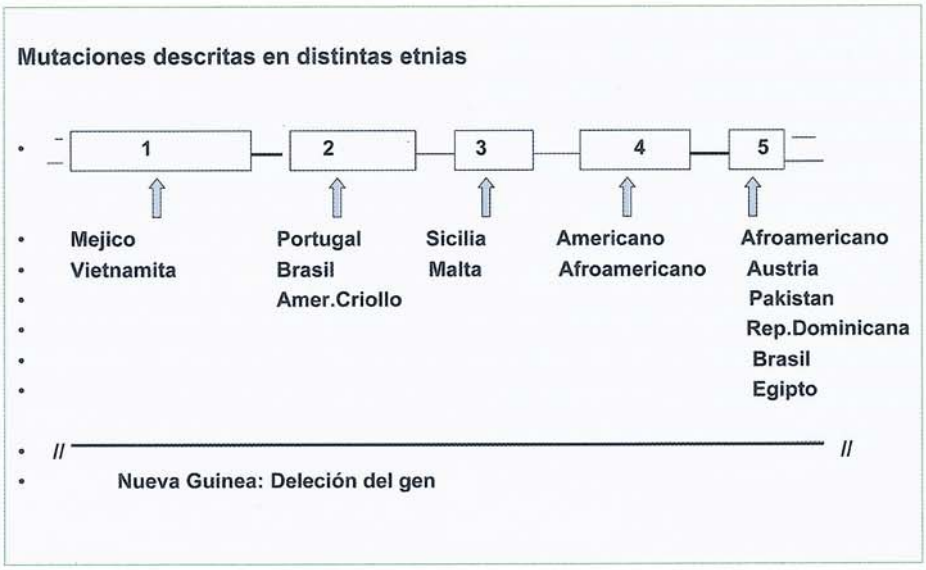


Figura 7. Genética del déficit de 5-alfa-reductasa. Mutaciones descritas y distribución en distintas etnias.

riana) justifica la ausencia de derivados mullerianos, pero el testículo sintetiza testosterona y estrógenos comparables al varón normal y se produce la feminización por falta del antagonismo andrógenico.

Algunos individuos con insensibilidad androgénica muestran hipertrofia de clítoris y fusión labio-escrotal, considerándose como formas incompletas o parciales del síndrome, y en el extremo del espectro se encuentran formas leves con sólo ginecomastia y oligo- o azospermia. Sin embargo, el patrón de transmisión es el mismo que en las formas completas. Alrededor del 30% se consideran casos esporádicos *de novo* y en el resto la madre, fenotipícamente normal, o con escaso vello púbico y retraso puberal, sería heterocigótica.

Se trata de una alteración recesiva ligada al cromosoma X, y el gen que codifica el receptor androgénico (AR) está constituido por 8 exones y se localiza en el brazo largo del cromosoma X (Xq11-12). Se han descrito muchas distintas mutaciones (Gottlieb et al., 1999) recopiladas en un registro internacional de la Universidad canadiense McGill. Las mutaciones más comunes están en los exones 5-8 que es el dominio de fijación androgénica, no existiendo una correlación entre las distintas mutaciones y su expresividad más o menos completa. Las diferencias al nivel celular de las formas parciales pueden residir en una reducción en el número o en la calidad de los receptores (Pinsky et al., 1987). Las formas previamente descritas como síndromes de Reifesntein o síndrome de Lubs se consideran actualmente como formas parciales de insensibilidad androgénica. La importancia clínica en estos casos reside en que debe identificarse antes de la asignación de sexo, pudiendo descartarse mediante la valoración de la respuesta a los andrógenos.

BIBLIOGRAFÍA

Achermann JC, Ito M, Hindmarsh PG, Jameson JL. A mutation in the gene encoding steroidogenic factor 1 causes XY sex reversal and adrenal failure in humans. Nat. Genetics. 1999; 22: 125-6.

ASRM. Clasification of adnexal adhesions,distal tubal oclusions, mullerian anomalies and intrauterine adhesions. Fertil.Steril.1988;49:944-55.

Avner P and Heard E. X-cromosome inactivation: counting, choice and initiation. Nat.Rev.Genet. 2001; 2: 59-67.

Bione S and Toniolo D. X chromosome genes and premature ovarian failure. Sem.Reprod. Med. 2000; 18:51-7.

Burgoyne PS. Genetic homology and crossing over in the X and Y chromosomes of Mammals. Human Genet. 1982; 61: 85-90.

Foudila T, Sonderstrom-Antila V, Hovatta O. Turner's syndrome and pregnancies afer oocyte donation. Hum. Reprod. 1999; 14:532-5.

Gottlieb B, Pinsky L, Beitel LK. Androgen insensitivity. Am.J.Med. Genet. 1999; 89: 210.

Huang B., Wang S, Ning Y .Autosomal XX sex reversal caused by duplication of SOX9. Am. J.Med Genet. 1999; 87:349.

Kahn AK, Abdalla HI, Oskarsson T. Two successful pregnancies in a 46,XY patient. Human Reprod. 1997;12:1434-5.

Layman LC. Genetics of human hypogonadotrofic hypogonadism. Am.J.Hum.Genet. 1999; 89:240-8.

Lin PC., Bhatnagar KP, Nettleton GS, Nakajima ST. Female genital anomalies affecting reproduction. Fertil.Steril. 2002; 78:899-915.

McDonough PG and Tho PT. The spectrum of 45,X/46,XY gonadal dysgenesis and its implication. Pedistr.Adolesc. Gynecol. 1983; 1: 1.

Meeks J, Weiss J, Jameson JL. Dax1 is required for testis determination. Nature Genetics. 2003;34: 32-33.

Mendonca BB, Inacio M,Arnohold IJ. Male seudohermafroditism due to 17b HDS deficiency. Diagnosis,psychological evaluation and Management. Medicine 2000. 79: 299-309.

Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ., et al.. Congenital leptin deficiency is associated with severe early onset obesity in humans. Nature. 1997; 387,903-8.

Morris JM. Mahesh VB. Further observations on the syndrome testicular feminization".Am.J.Obstet.Gynecol.1963; 87:731-48.

Ohno,S. Sex chromosomes and sex linked genes. Springer.Berlin.1967.

Pinsky L, Kaufman M, Levitsky LL. Partial androgen resistance due to a distinctive qualitative defect of the androgen receptor. Am.J.Med.Genet. 1987; 27: 459-66.

Pru JK y Tilly JL, Programmed cell death in the ovary. Insights and future prospects using genetic technologies. Mol. Endocrinol. 2001; 15: 845-53.

Rosenberg C, Frota-Pessoa O, Viana Morgante AM, Chu TH. Phenotypic spectrum of 45,X/46,XY individuals. Am.J.Med.Genet. 1987. 27,553-9.

Rosenfeld RG, Attie KM, Frane J, Brasel JA, Burstein S, Cara JF, et al. Growth hormone therapy of Turner's syndrome: beneficial effect on adult height. J.Pediatr. 1998, 132, 319-24.

Rosenfeld RG, Grumbach MM. Turner Syndrome. Ed. Marcel Dekker 1990. New York.

Simpson JL. Disorders of sexual diferentiation. NY Academic Press. 1976.

SimpsonJL. Pregnancies in women with chromosomal anomalies. En Genetic Diseases in pregnancy. 1981. New York. Academic Press.

Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG, et al. The male specific region of the human Y cromosome is a mosaic of discrete sequence classes. Nature;2003:423: 825-837.

Sultan LH and Lumbroso S. LH receptor defects. En Fertility and Reproductive Medicine. Proc. XVI Worl Congress on Fertility and Sterility. Elsevier. 1998. Amsterdam.

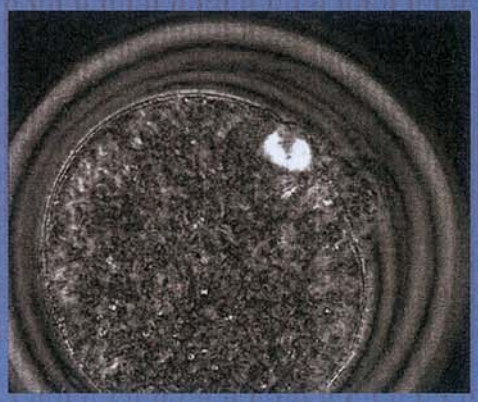
Verp MS, Harrison HH, Ober C, Oliveri D, Amarose AP, Lindgren V, et al. Chimerism as the etiology of a 46.XX/46,XY fertile true hermafrodite. Fertil. Steril; 1992,57:346-9.

Quermed,s.a.
electromedicina

NOVEDADES EN EL LABORATORIO DE F.I.V.

POLSCOPE

Sistema no invasivo para la observación "In Vivo" del HUSO MEIÓTICO, en los ovocitos



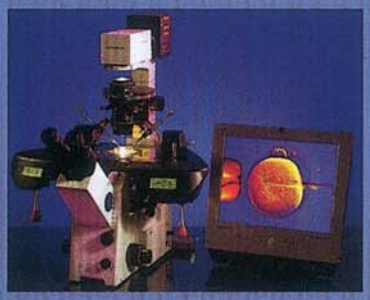
SATURN LASER

Equipo utilizado para la técnica "ASSISTED HATCHING" y la Biopsia Embrionaria PGD

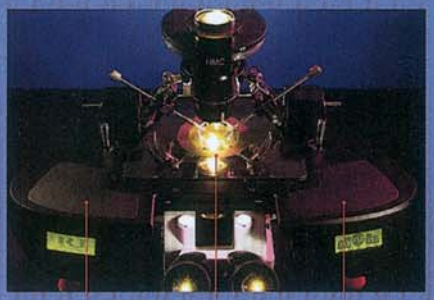
SATURN LASER con software "CRONUS"

CRONUS. Análisis morfológico del Embrión y el Ovocito

MICROMANIPULADOR INTEGRA TI



Sistema de Micromanipulación INTEGRA TI, con microscopio



Pantalla digital para el control de la temperatura

Quermed,s.a.
electromedicina

O'Donell, 32 • 28009 Madrid
Tel. 91 409 50 85 • 91 409 44 96
Fax. 91 504 04 40

www.ctv.es/quermed/
E-mail: quermed@quermed.com

ANDALUCÍA: Medica 2 Tel. 95 425 11 42
ARAGÓN Y EUSKADI: Suministros Clínicos Lanau S.L. Tel. 976 12 57 00
ASTURIAS Y CANTABRIA: Tecnomédica Tel. 985 25 88 22
CANARIAS: Tecmédica S.L. Tel. 928 24 96 11
CATALUÑA: Nirco S.A. Tel. 93 718 08 08
EXTREMADURA: Visaclinic S.L. Tel. 924 27 34 35
GALICIA: Boente, Material Médico y de Laboratorio Tel. 981 25 22 94
C. VALENCIANA Y MURCIA: Exclusivas Pascual y Furió S.A. Tel. 961 34 37 45

TAMBIÉN: Medios de cultivo, Reactivos para análisis seminal, Cánulas de inseminación, Catéteres de transferencia embrionaria, Agujas de punción de ovocitos, Pipetas para ICSI, PGD, etc., Congelador de semen y embriones, Material de criopreservación. **Solicite catálogos y bibliografía.**

global®

Un solo medio... sin necesidad de usar Medios Secuenciales

DÍA 1 → Blastocisto

Día **1**

Día **2**

Día **3**

Día **4**

Día **5**

" El embrión elige y toma del medio lo que necesita en cada momento,desarrollándose en un ambiente físico-químico estable, evitando los cambios osmóticos ", (Biggers 2002, Department of Cell Biology, Harvard Medical School, Boston USA).

Y además : HTF Plus, HTF, HTF Plus con Hepes, HTF con Hepes, LiteOil, Acido Tirodes, HSA, Medios de Congelación ..... etc.

Distribuidor en España:

Quermed,s.a.
División de Reproducción Humana

©2004 LifeGlobal

Noticias

II Congreso Asebir

Aunque han pasado algunos meses desde su celebración es importante destacar la ilusión, el esfuerzo y la dedicación por parte de muchas personas, que ha supuesto nuestro segundo Congreso.

Durante los días 11 y 12 de Diciembre de 2003 tuvo lugar en Granada el II Congreso de ASEBIR. Se contó con la participación de 289 inscritos, superando con creces la asistencia del congreso anterior, se presentaron 18 comunicaciones orales y 85 en forma de póster, con trabajos actuales de gran calidad científica y técnica.

Las dos jornadas de trabajo se dividieron en 5 secciones que abarcaron diferentes aspectos relacionados con nuestra especialidad: Diagnóstico Genético Preimplantacional (DPG), Avances de la Biología de la Reproducción Asistida, Organización del Laboratorio de Reproducción Asistida, Calidad Ovocitaria y Embriología, y Nuevas Técnicas de Laboratorio de Reproducción. Cada una de estas secciones se trató de forma individualizada, se organizó con un grupo de ponencias, un bloque de comunicaciones orales y un coloquio donde se pudo observar la activa participación de los asistentes. También contamos con dos ponencias magistrales en las que se abordaron los temas candentes: "Estado actual de investigación de las células madre", a cargo del Dr. Bernat Soria, y "Crioconservación de tejido ovárico y testicular para autotrasplante con fines reproductivos", expuesto por la Dra. Adela Miralles.

Dentro del marco del Congreso se desarrolló la II Reunión del Grupo de Interés de Diagnóstico Genético Preimplantacional (GIdgp), con gran afluencia de asistentes.

Dada la premura con la que se tuvo que finalizar el Acto de Clausura, no se pudo presentar la ponencia preparada por la Dra. Veiga titulada "10 años de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción" y se invitó a todos los interesados a leerla en nuestra página WEB (www.asebir.com). Por último, tuvimos la ocasión de homenajear al *alma mater* de ASEBIR en sus diez años de existencia, nuestra querida compañera y presidenta saliente Anna Veiga y dar la bienvenida a nuestro actual presidente Antonio L. González Utor. En una rápida pero ingeniosa y divertida intervención, nuestro compañero José Antonio Castilla nos hizo viajar desde la infancia de Anna hasta la llegada de Antonio al frente de ASEBIR. Él junto a antiguos compañeros de la Junta le hicieron entrega a Anna de un detalle en nombre de ASEBIR en reconocimiento a su magnifica labor.

Pero el congreso no sólo fue trabajo, sino que nos permitió disfrutar de una deliciosa gastronomía, conocer la magia y el encanto que envuelve a la Alhambra, y sumergirnos en la fascinante noche granadina.

Renovación de la Junta Directiva

Dentro del Congreso se celebró la última Asamblea General Ordinaria de ASEBIR donde se eligió la nueva Junta Directiva de la asociación, renovándose la mitad de sus miembros, según está establecido en nuestros estatutos. Se presentaron 8 candidaturas y fueron elegidos 6 candidatos. La distribución de los cargos en la nueva Junta es la siguiente:

Presidente:	Antonio L. González Utor (Sevilla)
Secretaria y Vocalía de Congresos:	Begoña Arán Corbella (Barcelona)
Tesorería:	Manuel Ardoy Vilches (Madrid)
Tesorería y Vocalía de Publicaciones:	Nieves Cremades Hernández (Alicante)
Vocalía de Congresos:	Mª José de los Santos Molina (Valencia)
	Rocío Núñez Calonge (Madrid)
Vocalía de Docencia y de Congresos:	Carmen Ochoa Marieta (Bilbao)
Vocalía de la Página Web:	Esther Fernández García (Madrid)
	Jorge Martín Cuadros Fernández (Madrid)
Vocalía de Publicaciones:	Mark Grossmann i Camps (Barcelona)
	Mª Victoria Hurtado de Mendoza y Acosta (Sevilla)
	Juan Manuel Moreno García (Alicante)

Premio EMB

El jurado para los premios EMB lo formaron las Dras. Esther Fernández, Carmen Ochoa, Amparo Ruiz y Begoña Arán y por parte de EMB D. Sergio Oliveró como observador. El premio ASEBIR-EMB a la mejor comunicación oral fue otorgado a la Dra. Sánchez y su equipo por su comunicación titulada: "Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) en espermatozoides mediante el uso de una nueva metodología de fijación con formaldehido".

Sede III Congreso ASEBIR

La candidatura de Zaragoza fue presentada a la asamblea por nuestro compañero Antonio Urries, y aunque hubo algunos problemas técnicos que le impidieron su presentación audiovisual, sí que hizo una invitación inexcusable a su ciudad histórica y nos animó a participar en el III Congreso ASEBIR que se celebrará en Zaragoza en el año 2005. Dada la trayectoria de los Congresos anteriores el Comité Organizador de Zaragoza-2005 tiene una ardua tarea por delante que seguro no nos defraudará.

Por último, sólo queda felicitar efusivamente al Comité organizador presidido por el Dr. Castilla, a las empresas EIP Gestión y Viajes Genil, a las Instituciones públicas, laboratorios y casas comerciales colaboradoras y sobre todo a los socios por su participación y apoyo.

Agenda

30th British Congress of Obstetrics and Gynaecology Scottish Exhibition and Conference Centre, Glasgow

7-9 July 2004 Full details of the congress are available from the congress website http://www.bcog2004.co.uk and a hard copy of the provisional programme and call for papers are available on request.
Michelle Kane info@bcog2004.co.uk

XVth Ovarian Workshop - The Ovary: Signaling Mechanisms Regulating Development and Dysfunction

July 29-31, 2004. Fax this form to: 1-402-559-5015, Attention, Chris Nystrom, Ovarian Workshop Awards. Or mail to: Chris Nystrom, Ovarian Workshop Awards, Department of Obstetrics and Gynecology, 983255 Nebraska Medical Center, Omaha, NE 68198-3255. Vancouver, BC Canada

From Oocyte to Embryo: A Pathway to Life
September 24-26, 2004. Stresa, Italy

Organizing Secretariat: Serono Symposia International. Via Casilina 125, 00176 Rome, Italy. Tel.: +39-06-70384 568, Fax: +39-06-70384 677.
E-mail: flaminia.masprone@serono.com. Website: http://www.seronosymposia.org/reproductive/event_descrip.ihtml?id=168

60th Meeting of ASRM 2004

October 16-21, 2004. Philadelphia, USA.
E-mail:asrm@asrm.org. Web site:
http://www.asrm.org

Gonadotropins from basic research to clinical practice
November 6-7, 2004. Munich, Germany.

Organizing Secretariat: Serono Symposia International. Via Casilina 125, 00176 Rome, Italy.
Tel.: +39-06-70384 568,
Fax: +39-06-70384 677.
E-mail: flaminia.masprone@serono.com. Website: http://www.seronosymposia.org/reproductive/event_descrip.ihtml?id=169

Fundacio Puigvert XII Course in Andrology
December 1-3, 2004. Health, Sexuality and Reproduction. Man of the new millenium.
Grand Marina Hotel Barcelona – Spain.

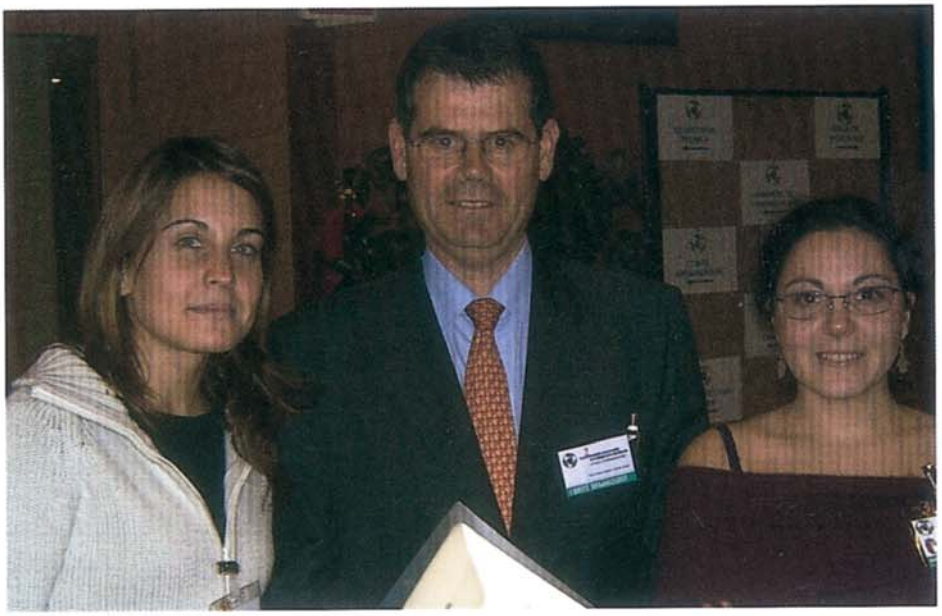
Informacion: Secretaría y Comunicación Fundació Puigvert, c/Cartagena, 340. 08025 Barcelona. Tel: 34 93 416 9732 Fax: 34 93 416 9730. E-mail: andro2004@fundacio-puigvert.es
website: www.fundacio-puigvert.es

Junio 2004 Vol. 9 • Nº1

Cursos

Título de Especialista Universitario en Biología de la Reproducción - 4ª Edición
Organizado por la División de Biología Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández y la Unidad de Reproducción de la Clínica Vistahermosa de Alicante.
Duración del curso: 260 horas (26 créditos) de noviembre de 2004 a junio de 2005.
Información y Secretaría: Departamento de Histología y Anatomía. Facultad de Medicina. Apdo. de correos 18. 03550 Campus de San Juan de Alicante.
Tel: 965919427 Fax: 965919434
e-mail: biologia.reproduccion@umh.es
website: http://biolreproduccion.umh.es

FIV-EXTREME ¿Hasta dónde podemos llegar en Técnicas de Reproducción Asistida?
Jornadas científicas conmemorativas del décimo aniversario del centro Conceptum en Reus (Tarragona). Unas jornadas de debate a partir de casos clínicos
11-14 Noviembre 2004
Más información en conceptum@teleline.es



J.A. Castilla, organizador del II Congreso de ASEBIR tenía un reto muy alto que superó con creces. Desde aquí vaya una vez más nuestras felicitaciones, así como a los esfuerzos realizados por la Vocalía de Congresos. ¡Enhorabuena!

Nada más llegar había que formalizar la recogida de credenciales y documentación.La asistencia de socios no defraudó, aunque el Presidente Electo también vocal de Congresos, A.L. González-Utor, (centro de imagen) estaba expectante.

La colaboración de un buen número de casas comerciales en nuestro Congreso pone de manifiesto la confianza depositada en nuestra sociedad.

Junio 2004 Vol. 9 • Nº1

El alto nivel científico fue evidente no sólo por la calidad de los ponentes sino por los trabajos presentados por los socios. En la imagen , aparecen los ponentes N. Cremades y A.L. Kierszenbaum respondiendo a las preguntas que suscitaron sus intervenciones sobre las Nuevas Técnicas en el Laboratorio de Reproducción Asistida.

Nuestra aprecidada anna Veiga, en su relevo como presidenta de ASEBIR recibió un detalle de manos de antiguos y nuevos miembros de la Junta Directiva, y todos los asistentes agradecieron su dedicación a la asociación durante estos 10 años.

No todo fue ciencia, también disfrutamos de momentos de ocio en el marco incomparable de Granada. En la imagen, nuevos miembros de la Junta Directiva de ASEBIR elegidos en las votaciones, reunidos con miembros de Juntas anteriores antes de la cena de clausura.

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/ Fernández Caro 44, Oficina 2. 28027 (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 bién 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 movility 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 movility in patients with idiopathic oligo-asthenozoospermia. Andrologia 1985;17:612-616.

C) Libro completo:

Colson JH, Armour WJ. Spermatogénesis. 2° 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. 2° 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

Don/Doña: .....

con Domicilio en C/ ..... CP:.....

Ciudad:..... Teléfono: .....Teléfono Móvil: .....

E-mail:.....

Formación Básica (Médico, Biólogo, Farmacéutico, etc.): .....Grado Académico (Licenciado, Doctor, Especialista en..., etc.).....

CENTRO DE TRABAJO

Domicilio profesional C/..... CP: .....

Centro de Trabajo: .....Departamento: .....

Ciudad:..... Teléfono:..... Fax:.....

E-mail:.....

DESEA PERTENECER COMO MIEMBRO NUMERARIO A LA ASOCIACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN, ASEBIR

DATOS BANCARIOS

BANCO/CAJA..... AGENCIA .....

Nº CUENTA ☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐ PROVINCIA .....

Desea recibir la correspondencia en: Dirección Particular ☐ Dirección de Trabajo ☐

FIRMA FECHA

ENVIAR A: **Secretaría ASEBIR** c/ Fernández Caro, 44. Oficina 2. 28027 MADRID

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

Sr. Director de la Agencia Nº:.....Banco/caja .....

C/..... Provincia .....

RUEGO A USTED SE SIRVA CARGAR EN.....

Nº CUENTA.....

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

FIRMA FECHA

A breakthrough in ART

EmbryoGlue®

Implantation promoting medium

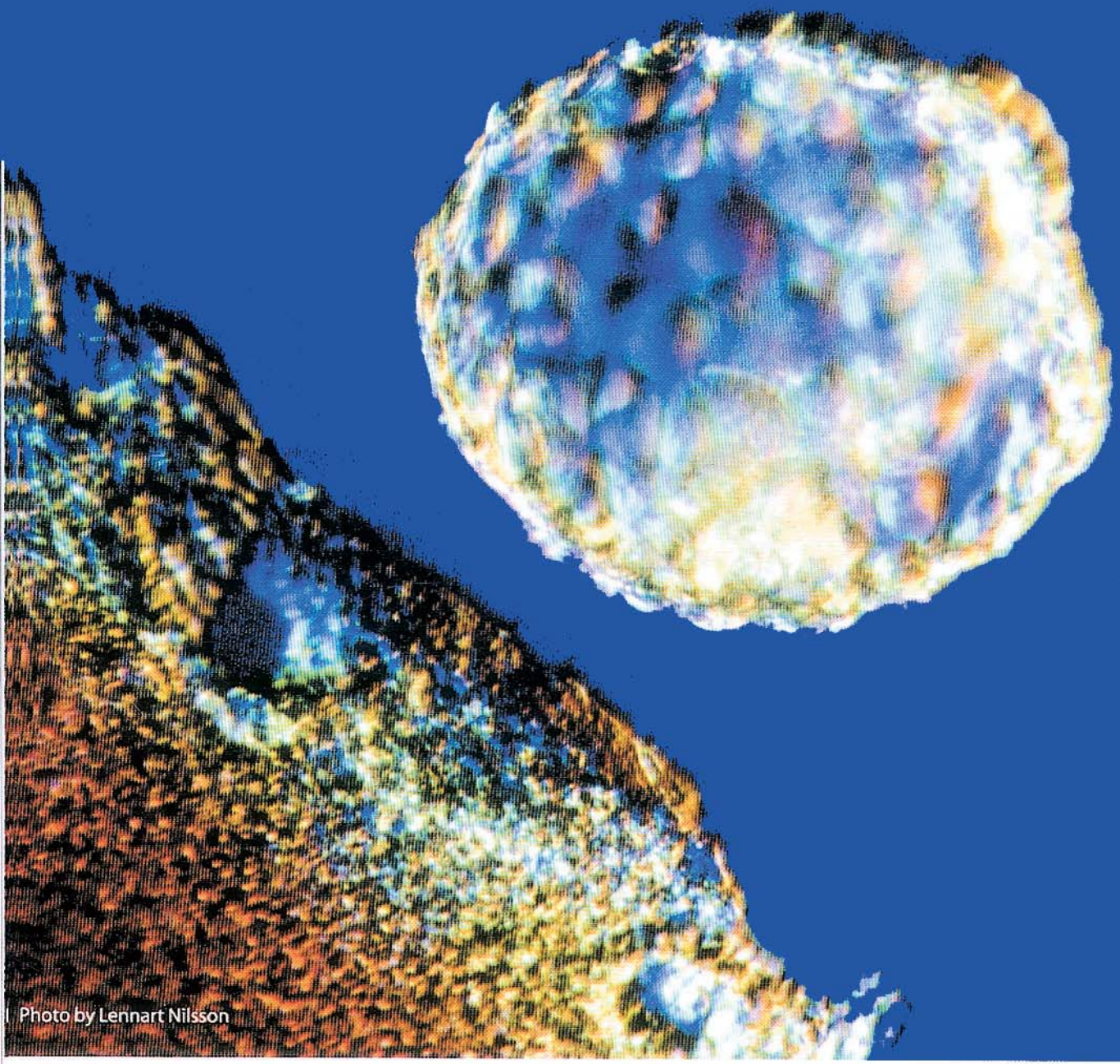


Photo by Lennart Nilsson

EMD GRUPO

Vitrolife

Innovative Cell and Tissue Technology