

REVISTA

# ASEBIR

## Actualidad

La Ética en Nuestro Trabajo:  
Reflexiones Bioéticas en Relación al Diagnóstico  
Genético Preimplantatorio

## Artículos

- ▶ Nuevas Perspectivas para el Embriólogo:  
Papel en el Banco de Líneas  
Celulares de Andalucía
- ▶ Aumento de la Fragmentación del DNA  
Espermático en los Fumadores tras  
la Capacitación Mediante SWIM-UP

## Debates

- ▶ La Ética en la Medicina Reproductiva
- ▶ El Charlatán en la Ciencia y los Medios de  
Comunicación
- ▶ Ética y Técnicas de Reproducción Asistida
- ▶ Ética Profesional del Embriólogo Clínico en  
los Programas de Reproducción Asistida
- ▶ Bioética y Reproducción Asistida Humana
- ▶ Ética en el Laboratorio de Reproducción Asistida
- ▶ Ética Moral en Reproducción Asistida
- ▶ El Diagnóstico Genético Preimplantacional a  
Debate

## Formación Continuada

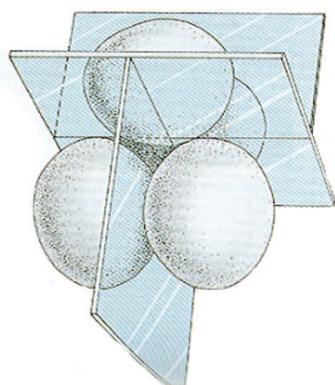
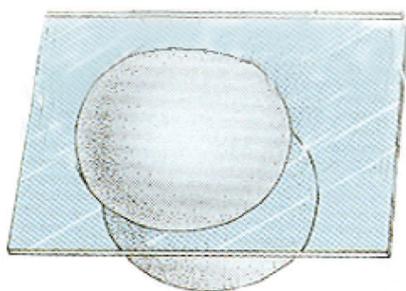
Polaridad Durante el Desarrollo  
Embrionario Inicial

## Noticias

## Agenda

## Información a los Autores

## Boletín de Inscripción





# VITRIFICACIÓN

- \* Congelación celular **ULTRARÁPIDA**, sin seeding ni rampa
- \* Menor estrés osmótico = menor daño celular
- \* Sin necesidad de equipos especiales

EL MISMO KIT PARA OOCITOS, EMBRIONES Y BLASTOS  
**CRYOTIPS™**: SISTEMA CERRADO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS



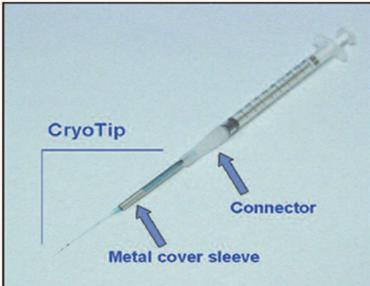
## VIT KIT-FREEZE:

VITRIFICACIÓN: 7 (2PN) - 17 min (blastos)



## VIT KIT-THAW:

DESVITRIFICACIÓN: 15 min



## CRYOTIPS™:

sistema herméticamente cerrado de conservación de muestras: pajuela termosellada

Publicaciones recientes:

**Kuwayama et al.** Highly Efficient Vitrification of Human Oocytes. RBM Online 11:300-308, 2005

**Stehlik et al.** Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. RBM Online 11:53-57, 2005

**Kuwayama et al.** Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. RBM Online 11: 608-614, 2005



Consultas: 902.20.30.70  
 irvine@izasa.es  
 Pedidos: 902.20.30.90



# ASEBIR

ASOCIACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

SUMARIO	Pág.
<b>EDITORIAL</b> .....	5
<i>M. Boada</i>	
<b>ACTUALIDAD</b>	
<b>La ética en nuestro trabajo: reflexiones bioéticas en relación al diagnóstico genético preimplantatorio</b> .....	7
<i>Fernando Abellán</i>	
<b>ARTÍCULOS</b>	
<b>Nuevas perspectivas para el embriólogo: papel en el banco de líneas celulares de Andalucía (nodo central banco nacional de líneas celulares)</b> .....	11
<i>J. L. Cortés, F. Cobo, C. Cabrera, A.H. Barnie, P. Catalina, A. Nieto, R. Montes, A. Barroso, A. Concha</i>	
<b>Aumento de la fragmentación del DNA Espermático en los fumadores tras la capacitación mediante SWIM-UP</b> .....	15
<i>T. Vitoria, N. Garrido, J. L. Fernández, J. Remohí, A. Pellicer, L. Muriel, M. Meseguer</i>	
<b>DEBATES</b>	
<b>Introducción al debate</b> .....	23
<b>La ética en la medicina reproductiva</b> .....	23
<i>Ernesto Veiga</i>	
<b>El charlatán en la ciencia y los medios de comunicación</b> .....	26
<i>Rafael Bernabeu, Jorge Ten.</i>	
<b>Ética y técnicas de reproducción asistida</b> .....	27
<i>Cristina Camprubí, Joan Blanco.</i>	
<b>Ética profesional del embriólogo clínico en los programas de reproducción asistida</b> .....	27
<i>Mª Carmen Gonzalvo, Ana Clavero, Antonio Garrido, María Sánchez, Sonia Calderón, Ana Sánchez, Ana Gallego, Marta Pérez, José Antonio Castilla.</i>	
<b>Bioética y reproducción asistida humana</b> .....	28
<i>Carmen Ochoa.</i>	
<b>Ética en el laboratorio de reproducción asistida</b> .....	30
<i>Carolina Roméu</i>	
<b>Ética y moral en reproducción asistida</b> .....	31
<i>Miguel Ruiz</i>	
<b>El diagnóstico genético preimplantacional a debate</b> .....	32
<i>Esther Velilla</i>	
<b>FORMACIÓN CONTINUADA</b>	
<b>Polaridad durante el desarrollo embrionario inicial</b> .....	35
<i>I. Santiago Álvarez-Miguel, E. María Miguel -Lasobras, F. Javier Martín - Romero, J. A. Domínguez - Arroyo, E. González Carrera</i>	
<b>NOTICIAS</b>	
<b>Carta e invitación al IV Congreso ASEBIR</b> .....	46
<b>Fe de erratas</b> .....	48
<b>AGENDA</b> .....	48
<b>INFORMACIÓN A LOS AUTORES</b> .....	50
<b>BOLETÍN DE INSCRIPCIÓN</b> .....	51

## IMAGEN DE PORTADA:

Secuencia de divisiones que sistemáticamente se llevan a cabo para dar origen al embrión de 4 células. Los esquemas se basan en modelos similares de Gilbert, 2003. Imágenes del Instituto Extremeño de Reproducción Asistida (IERA) y Grupo de Investigación en Reproducción y Desarrollo Embrionario (REDES). Universidad de Extremadura. Badajoz

Vol. 11 • Nº 2 • Diciembre 2006

## EDITA.

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

## JUNTA DIRECTIVA.

*Presidente: Antonio L. González-Utor*  
*Vicepresidenta: Carmen Ochoa*  
*Secretaria: Begoña Arán*  
*Tesorero: Manuel Ardoy*  
*Vocales: Nieves Cremades, Mark Grossmann, Mª Victoria Hurtado de Mendoza, Jorge Cuadros, Juan Manuel Moreno, Mª José de los Santos, Fernando Marina y Jorge Ten.*

## COORDINACIÓN

### DE LA REVISTA.

*Nieves Cremades*

*Mark Grossmann*

*Mª Victoria Hurtado de Mendoza*

## PUBLICIDAD Y COLABORACIONES.

### ASEBIR

#### Secretaría ASEBIR:

c/ Cronos , nº 20, Bloque 4 Planta 1º

Nº 6 28037 Madrid

asebir@asebir.com

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: recco@recco-sll.com

Depósito Legal: M-18873-1996

ISSN: 1136-4424

Soporte Válido: 78-R-CM



# La nueva ley de Reproducción Asistida

Montse Boada

## Jefe de la Sección de Biología del Institut Universitari Dexeus. Vocal de la Comisión Nacional de Reproducción Asistida como representante del Colegio Oficial de Biólogos

*El pasado 11 de Mayo, el Congreso de los diputados aprobó finalmente la nueva ley de reproducción asistida (Ley 14/2006). El gran debate social que generan algunos aspectos éticamente controvertidos de las técnicas de reproducción asistida (TRAs) hizo que hasta consensarse el nuevo texto de la ley fuera necesaria la elaboración de distintos borradores, la revisión de varios proyectos y el debate de múltiples enmiendas propuestas por los distintos partidos políticos. A tenor de los cambios normativos acontecidos en los últimos años, era casi impensable esperar una ley como la que se ha publicado. La preocupación generada tras la promulgación de la Ley 45/2003 tanto en los profesionales que nos dedicamos a las TRAs como en el colectivo de usuarias que veían como disminuían sus probabilidades de éxito como consecuencia de las restricciones impuestas por dicha ley, parecía conducirnos a un callejón sin salida. Desde la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida (CNRHA) se trabajó con rapidez y eficacia consiguiendo en un periodo record, la publicación del Real Decreto 1720/2004 y su gran lista de excepciones que permitió solucionar una parte importante del problema. Sin embargo, seguían coexistiendo dos leyes (Ley 35/1988 y Ley 45/2003) que requerían ser revisadas de acuerdo a las necesidades actuales y modificadas con el fin de resolver los puntos controvertidos y algunos “vacíos legales” existentes.*

*La nueva ley elimina definitivamente la tan discutida limitación a fecundar únicamente tres ovocitos y modifica el período máximo de congelación de embriones dejándolo a criterio médico sin un límite fijo. También otorga a las parejas la facultad de decidir el futuro de sus embriones congelados dándoles por fin las mismas opciones a todas por igual, independientemente de la fecha en que se haya realizado la congelación. La posibilidad de destinar los embriones sobrantes (congelados o no) a proyectos de investigación permitirá que puedan desarrollarse líneas propias de investigación tanto para la mejora de las TRAs como en el ámbito de las células madre.*

*La Ley 14/2006 introduce nuevas opciones terapéuticas como la congelación de ovocitos y tejido ovárico con fines reproductivos y el Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP) en combinación con determinación de antígenos de histocompatibilidad con fines terapéuticos para terceros. La utilización de ovocitos congelados podrá ya realizarse fuera de las experiencias controladas reguladas por el Real Decreto 120/2003, aunque con autorización expresa de las autoridades sanitarias correspondientes. En el caso del DGP con HLA matching se requerirá la revisión caso a caso por la CNRHA y la autorización de las autoridades competentes. Esta ley refuerza el papel asesor de la Comisión Nacional de Reproducción Asistida que probablemente deberá variar su composición y estatutos para poder adecuarse a sus nuevas atribuciones. Así mismo, introduce a las comisiones homólogas de las Comunidades Autónomas como comisiones de soporte y referencia de la CNRHA permitiendo que colaboren con ésta en el ejercicio de sus funciones.*

*La nueva ley incorpora distintas sanciones administrativas para los casos de incumplimiento de la norma. Sigue prohibiendo la selección de sexo sin indicación terapéutica, la maternidad por sustitución y la clonación reproductiva. Por fin se establece un tratamiento diferencial entre la clonación reproductiva y la clonación terapéutica o transferencia nuclear, dando paso así a que la futura ley de investigación biomédica autorice esta última. Se amplía el período de utilización post mortem del material reproductivo de seis a doce meses y se considera otorgado el consentimiento por parte del varón cuando el proceso de transferencia embrionaria se hubiera iniciado con anterioridad a su fallecimiento. En cuanto a las donaciones, se sigue manteniendo el carácter anónimo, altruista y gratuito, pero se reconoce por primera vez el derecho a la compensación económica por las molestias físicas, gastos de desplazamiento y laborales de los donantes.*

*Uno de los retos importantes de la Ley 14/2006 es la puesta en marcha de un Registro de Actividad que recoja los resultados de los distintos centros de reproducción asistida así como del Registro de Donantes cuya creación ya se postulaba en la primera ley de TRA del año 1988 pero que en la actualidad, aun no se ha creado. La ley actual responsabiliza a los centros de comprobar la identidad de los donantes y de las consecuencias de sus posibles donaciones anteriores. Parece totalmente imposible que los centros puedan gestionar este nuevo imperativo legal sin que el Ministerio de Sanidad ponga a su alcance las herramientas necesarias para ello por lo que la creación del Registro de Donantes se convierte en un proyecto totalmente necesario.*

*Algunos aspectos de la Ley han generado incertidumbre y controversia. La revisión del anexo en el que se detallan las técnicas autorizadas y en el que la microinyección espermática de espermatozoides testiculares ha quedado excluida como por arte de magia, es uno de los puntos principales que requieren una urgente revisión. También es imprescindible desarrollar los requerimientos necesarios para proceder a la destrucción de embriones cuando este ha sido el destino elegido por los progenitores, o precisar las posibilidades de utilización de los embriones congelados por parte del cónyuge en situaciones especiales como por ejemplo tras el fallecimiento de la mujer o en el caso de parejas compuestas por dos mujeres.*

*La publicación de la nueva ley de reproducción asistida se ha valorado muy satisfactoriamente por toda la comunidad médico-científica relacionada con las TRAs sin embargo, se espera que en el transcurso de unos meses se produzca el desarrollo normativo necesario para que puedan dilucidarse entre otros, algunos de los aspectos señalados que ya precisan ser revisados. Así mismo se espera que con el paso del tiempo, la nueva ley pueda irse adecuando a las necesidades que vayan surgiendo sin que los cambios políticos que puedan producirse en un futuro lleguen a modificar sustancialmente el espíritu de la recién estrenada “Ley sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida”.*

# Instrumentación para FECUNDACIÓN IN VITRO

## Incubadores de CO<sub>2</sub>:

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

## Heracell 150/240

**Data Control opcional**



## Cabinas de flujo laminar para FIV:

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

## Sterile SS / AI

Cabina con  
preparación para  
FECUNDACIÓN  
IN VITRO



## Centrífugas:

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

## Multifuge 1

**Novedad**

Centrífuga  
Multifuge I



## Autoclaves:

- ✓ Modelos de sobremesa
- ✓ Capacidad: 75 / 135 litros
- ✓ Sistema de chaqueta para generación del vapor separada de cámara principal

## H+P Compact

Autoclaves H+P



## Otros equipos relacionados



Baños



Balanzas  
analíticas



Agitadores



Conservadores +4°C  
Congeladores -85°C  
Cryoconservadores -150°C



Estufas de cultivo /  
secado / esterilización



Mobiliario  
técnico de  
laboratorio

**Controltecnica Instrumentación Científica S.L.**  
C/ Artesanos, 7 (Prado del Espino) 28660 Boadilla - Madrid  
Tel. 91 728 08 10 Fax. 91 729 44 54

BARCELONA: 93 486 46 60  
VALENCIA: 679 20 85 37  
GALICIA: 616 42 70 94

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

ANDALUCÍA: 679 21 02 33  
MURCIA: 686 93 68 31

**SORVALL®**  
**Heracell**

**CONTROLTECNICA**  
instruments

## LA ÉTICA EN NUESTRO TRABAJO: REFLEXIONES BIOÉTICAS EN RELACIÓN AL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTATORIO

Fernando Abellán

Derecho Sanitario Asesores. e-mail: dchosanitario@wanadoo.es

Una reciente encuesta dirigida por el *Genetics and Public Policy Center* de Estados Unidos, y realizada en un número importante de clínicas de fertilidad existentes en dicho país, revela que entre el 4 y el 6 por ciento de todos los ciclos de FIV incluyen ya Diagnóstico Genético Preimplantatorio (DGP). Al mismo tiempo, indica que el 28 por ciento de las clínicas que realizan esta técnica la han proporcionado para evitar enfermedades que se manifiestan en la edad adulta, como corea de Huntington, cáncer de mama hereditario o Alzheimer (Baruch et al., 2006).

La encuesta realiza asimismo un sondeo acerca de cómo piensan las clínicas que evolucionará el DGP en el futuro, encontrándose de acuerdo un 77 por ciento en que los cambios en la tecnología permitirán que se lleve a cabo un análisis completo del genoma del embrión, como una actuación rutinaria que formará parte de la FIV.

Se constata de esta forma que el DGP está entrando en una nueva fase de expansión, en la que, a las habituales aplicaciones para detectar cromosopatías o enfermedades monogénicas, se le añaden otras utilidades cada vez más prometedoras en el campo de la detección de enfermedades de aparición tardía, multifactoriales y/o de expresión fenotípica variable.

Lo anterior va a suponer que el profesional sanitario adquirirá a medio plazo herramientas diagnósticas más potentes, con las que va a poder ayudar a las parejas a evitar hijos con graves enfermedades. Pero, al mismo tiempo, hay que decir que las ventajas de tipo médico y científico que ello comporta no le deben hacer olvidar la repercusión social de su trabajo y, en este sentido, que técnicas como el DGP no son ajenas a una gran controversia

ética (Abellán, 2006).

En efecto, el DGP conlleva la utilización de las técnicas de reproducción asistida y requiere la manipulación y selección de embriones por motivos genéticos, así como el descarte de los que se consideren no aptos, con lo que en cierta medida estamos marcando indirectamente unos estándares de corrección genética de los individuos. Hay que tener en cuenta además que, contrariamente a lo que trasciende algunas veces a los medios de comunicación, la técnica de DGP no permite evitar hijos libres de enfermedades eliminando la patología del embrión, sino que a lo que faculta realmente es a separar los sanos de los que no lo son, descartando a estos últimos para la transferencia al útero materno. En definitiva, se seleccionan embriones que ya son sanos de por sí y no se cura a ninguno de los enfermos.

Aunque las consideraciones referidas, y otras posturas muy críticas con la técnica de que estamos hablando, no tengan que suponer en modo alguno un freno para el avance médico en este campo, sí considero que deben hacernos reflexionar sobre el hecho de que nuestro trabajo tiene un contenido ético indudable, al que no debemos ser insensibles si no queremos incurrir en la denominada omnipotencia tecnocientífica, que se olvida con frecuencia de la máxima bioética de que todo lo que es científicamente posible no tiene por qué ser necesariamente éticamente admisible. Veamos a continuación algunos casos clínicos reales de DGP que plantean dudas éticas.

El primero de ellos guarda relación con la patología conocida como poliposis adenomatosa familiar, que consiste en un trastorno hereditario caracterizado por el desarrollo de abundantes pólipos en el colon, que comienza al final

de la adolescencia o al principio de la edad adulta y que, si no se trata, puede terminar en cáncer de colon (Doyma, 1996). La formulación de este caso fue del siguiente tenor: "Pareja sin antecedentes de infertilidad que acude por DGP debido a riesgo genético de poliposis adenomatosa familiar. A priori, el 50 % de la descendencia heredará el gen que les hará susceptibles de padecer numerosos tumores que deberán ser tratados quirúrgicamente para no desarrollar cáncer" (simposium FIV-Extreme, 2004).

Un individuo que padezca esta enfermedad, autosómica dominante, tendrá que sufrir múltiples adenomas colorrectales a partir de la adolescencia y durante toda su vida habrá de ser tratado periódicamente.

Si no se realiza profilaxis existe una probabilidad muy alta de que su dolencia degenera en cáncer de colon a la edad de cuarenta años.

Al estudiar este caso vemos, por tanto, que se trata de un supuesto en el que el futuro hijo, si recibe el gen mutado, va a tener un riesgo alto de padecer problemas de salud a partir de la adolescencia, que le van a implicar molestias importantes pues le obligará a hacerse revisiones cada dos años como mínimo y también a extirparse quirúrgicamente los adenomas con la frecuencia necesaria.

Sin embargo, al mismo tiempo, puede decirse que si finalmente padece la enfermedad pero realiza los cuidados pertinentes, no necesariamente habrá de padecer cáncer de colon y que, además, se ignora por completo en este momento el avance de la ciencia médica en los próximos veinte años, que será cuando surja realmente el problema. A partir de aquí ¿justifica esta situación la realización de un DGP a los

progenitores para seleccionar unos embriones en los que esté descartada la transmisión de esta patología a sus futuros hijos? La Autoridad británica de Fertilidad y Embriología Humana ha entendido que sí al permitir expresamente el DGP en este caso concreto (HFEA).

Otro caso clínico interesante sería el de la Neurofibromatosis, patología de expresión fenotípica variable, expuesto así: "De entre las consultas recibidas solicitando DGP de enfermedades monogénicas, algunas de ellas se deben a enfermedades con expresión fenotípica variable. Ni siquiera el contexto familiar puede predecir los síntomas de la futura descendencia en caso de heredar el gen alterado. Es el caso de una pareja que acude por antecedentes familiares de Neurofibromatosis de tipo 1 en la familia del varón (padre afectado, dos hermanos también afectados, uno fallecido por la enfermedad). La pareja tiene un hijo sano de un primer embarazo y ha pasado recientemente por dos interrupciones voluntarias de embarazo consecutivas. Acuden a la clínica de reproducción solicitando DGP ¿Debemos ofrecer DGP aún sabiendo que no podemos predecir los futuros síntomas de los embriones que hereden la mutación, pero sabiendo que algunos padecerán síntomas graves y otros, un número importante, no verán reducida su calidad de vida significativamente?" (simposium FIV-Extreme, 2004).

La Neurofibromatosis es un trastorno congénito caracterizado por numerosos fibromas en nervios y piel, manchas de café con leche en la piel y, en algunos casos, anomalías del desarrollo de músculos, huesos y vísceras.

Como puede observarse, el paciente afectado de Neurofibromatosis tiene la particularidad de que, además de no ser seguro el padecimiento de la enfermedad por la descendencia, en el supuesto de desarrollar su sintomatología podrá ser grave o no, dependiendo también de factores multifactoriales que influirán a lo largo de su vida (la HFEA autoriza el DGP en el caso de la Neurofibromatosis tipo 2, pero no en la de tipo 1, como el analizado aquí).

Por último, citamos un caso clínico de una paciente con antecedentes familiares de cáncer de mama, que desea utilizar el DGP para la detección de un oncogén predisponente a dicha enfermedad y descartar a los embriones que presenten dicha alteración. El caso se describe así: "Tenemos una paciente cuya familia tiene antecedentes de cáncer, ya que la mayoría de los miembros son portadores de un oncogén y muchos de ellos han desarrollado la enfermedad.

Dado que nuestra paciente quiere someterse a un tratamiento de fertilidad, la consulta jurídica que hacemos es si se pueden someter los embriones a un DGP para transferir aquel o aquellos que no sean portadores del oncogén. La duda surge porque la paciente no tiene la enfermedad, sólo el gen. En caso de poder realizar el DGP, ¿es necesario alguna autorización especial o únicamente comunicárselo a la autoridad sanitaria a final de año?" (Fundación Salud 2000 & Derecho Sanitario Asesores, septiembre, 2006).

Aquí hay que tener en cuenta que no hablamos de la posible transmisión de una enfermedad hereditaria (el cáncer como tal no se hereda), sino de la transmisión de una predisposición a padecerla, lo que hace más incierto todavía si afectará o no el problema al futuro hijo, ya que además se ignora igualmente el estado de la ciencia cuando el hijo se convierta en un adulto.

De los casos relatados se deduce fácilmente que la utilización del DGP para la prevención de enfermedades genéticas de aparición tardía o multifactoriales es objeto de especial debate desde el punto de vista bioético, ya que a la postre plantea el problema de determinar cuándo una vida es digna de ser vivida y, en consecuencia, dónde poner los límites a la selección genética de embriones. Lógicamente, en la medida en que es más remota la posibilidad de que los hijos padezcan una enfermedad grave pierde contundencia también la decisión proclive a la uti-

lización del DGP para llevar a cabo una selección genética de los embriones. Lo cierto es que en los casos clínicos analizados podríamos establecer una graduación de situaciones en función de su gravedad, siendo más factible el consenso favorable a la realización de la selección embrionaria en aquellos de aparición de la enfermedad más probable y con consecuencias más leves para la salud.

En principio, cabría pensar que el DGP debe emplearse en el diagnóstico de enfermedades hereditarias graves, pero ¿qué es una enfermedad grave? o ¿cómo definiríamos lo que es la salud? Aunque hay algunas propuestas doctrinales para arrojar luz en esta materia, lo cierto es que se trata de una cuestión compleja. Hay quienes piensan que la decisión final sobre el DGP ha de recaer en los progenitores, ya que quién mejor que ellos para conocer la trascendencia de cualquier padecimiento de origen familiar; otros consideran que ha de existir un control público estricto en esta materia, estableciéndose normativamente un listado cerrado de patologías autorizadas; no faltan tampoco quienes abogan por proteger a ultranza la identidad genética de los individuos.

Lo cierto es que la corriente que se va imponiendo hoy día en países como Francia o Reino Unido, y que ha quedado introducida en España a raíz de la ley de reproducción asistida (Ley 14/2006 de 26 de Mayo), sería aquella que se apoya, no tanto en contemplar situaciones genéricas sino casos concretos y en que, con independencia del control último de la autoridad administrativa, intervengan comités éticos multidisciplinares que estudien la problemática particular (personal, familiar) que subyace respecto de cada solicitud de DGP sobre patologías del tipo de las que nos estamos refiriendo. Sería una perspectiva ecléctica respecto de las anteriores citadas que pretende combinar un control público con el análisis bioético por menorizado de cada situación.

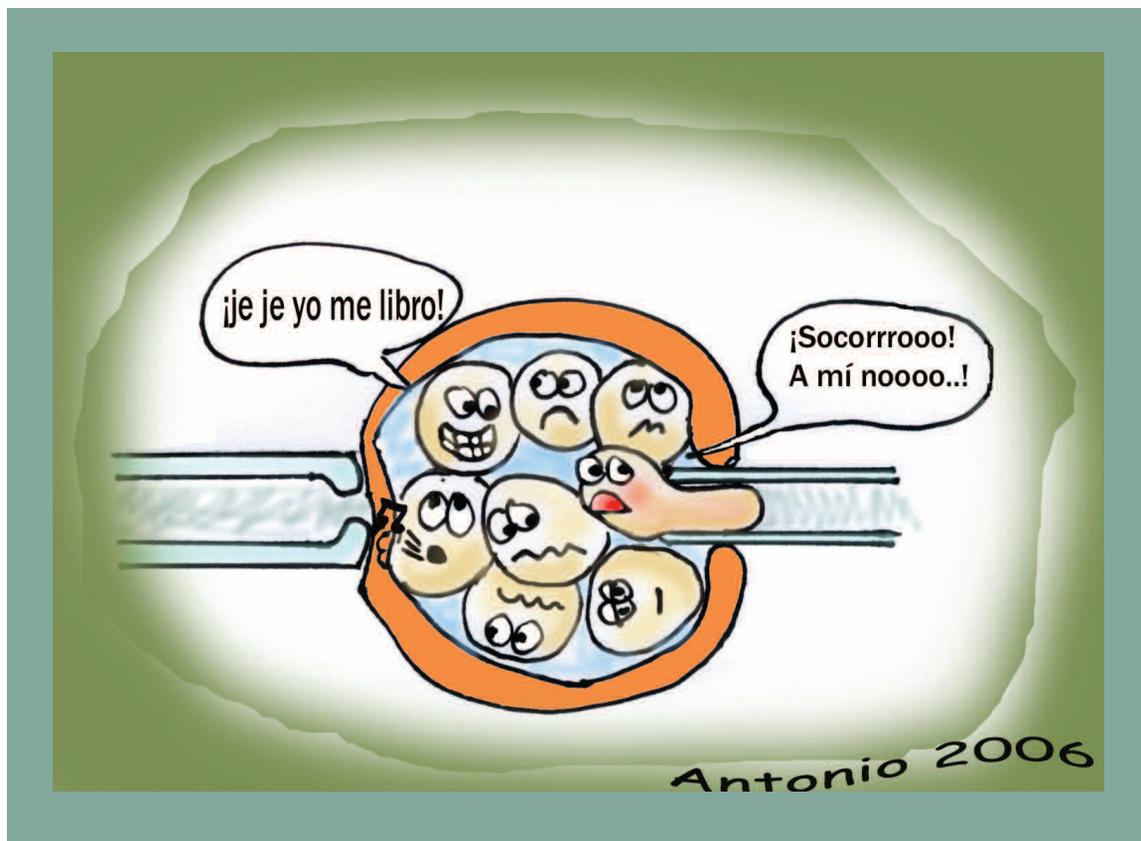
**BIBLIOGRAFÍA**

Baruch S, Kaufman D, Hudson KL. Genetic testing of embryos: practises and perspectives of U.S. IVF clinics. *Fertility and Sterility* 2006 [en prensa].

Abellán, F Aspectos bioéticos y legales del diagnóstico genético preimplantatorio (DGP). *Revista Iberoamericana de Infertilidad*, 2006; Vol. 23, nº. 2:123-130.

Doyma. *Diccionario Mosby de la Salud*, 1996. *Simposium FIV-EXTREME* «Foro de debate científico, ético y legal a partir de casos clínicos. ¿Hasta dónde podemos llegar en Técnicas de Reproducción Asistida?», Reus, 12-14 de Noviembre de 2004.

The Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA) [www.hfea.gov.uk](http://www.hfea.gov.uk) (Home>How we Regulate>Policy>Policy reviews).





# MediCult

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



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](mailto:diagnosticos@leti.com)

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

## NUEVAS PERSPECTIVAS PARA EL EMBRIÓLOGO: PAPEL EN EL BANCO DE LÍNEAS CELULARES DE ANDALUCÍA (NODO CENTRAL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES)

### *New perspectives for the embryologist: role in the Andalusian Stem Cell Bank (Spanish Central Node)*

José Luis Cortés\*, Fernando Cobo, Carmen Cabrera, Angela Helen Barnie, Purificación Catalina, Ana Nieto, Rosa Montes, Alicia Barroso, Ángel Concha

Banco de Líneas Celulares de Andalucía (Nodo Central Banco Nacional de Líneas Celulares).

\* Banco de Líneas Celulares de Andalucía. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Avda Fuerzas Armadas 2, 18014 Granada. E-mail: josel.cortes.sspa@jun tadeandalucia.es

**RESUMEN:** Un banco de líneas celulares troncales tiene como funciones la elaboración, el almacenamiento, la conservación y la gestión de líneas celulares de diverso tipo, de acuerdo con las normas y estándares que determina la legislación nacional e internacional. Dentro de los tipos de líneas celulares se encuentran las de origen embrionario, obtenidas a partir de la masa celular interna de blastocistos procedentes de preembriones sobrantes de ciclos de FIV, donde la figura de un embriólogo que manipule los preembriones es necesaria. Para poder definir aspectos en cuanto al perfil de este tipo de profesional, debemos buscar las similitudes con los centros de reproducción asistida. Mediante este trabajo se pretenden describir las funciones de un embriólogo dedicado a la derivación de líneas celulares embrionarias humanas dentro del Banco de Líneas Celulares de Andalucía.

**PALABRAS CLAVE:** Banco de líneas celulares troncales, blastocisto, célula troncal embrionaria, embriólogo, FIV, masa celular interna.

**SUMMARY:** The functions of a stem cell bank are the elaboration, storage, conservation and management of all the cell line types, according to national and international regulations currently in force. One of these cell lines is the embryonic stem cell line, which is obtained from the inner cell mass of blastocysts of IVF spare embryos, where the figure of an embryologist who manipulates the embryos is necessary. To be able to define some aspects about the profile of this type of professional, we must look for the similarities with the Assisted Reproduction Centres. A description of the functions of the embryologist who derives human embryonic stem cell lines in the Andalusian Stem Cell Bank has been carried out.

**KEY WORDS:** Stem cell bank, blastocyst, embryonic stem cell, embryologist, IVF, inner cell mass.

**INTRODUCCIÓN**

La creación de bancos de líneas celulares troncales públicas es un hecho reciente en Europa (aproximadamente 5 años), siendo España pionera en este sentido, con la inauguración del Banco de Líneas Celulares de Andalucía (BLCA), en Granada, el 23 de Enero de 2004. Tanto la derogada reforma de la Ley 35/1988 (Ley 45/2003, de 21 de Noviembre), como la actual Ley 14/2006, de 26 de Mayo, sobre Técnicas de Reproducción Asistida, así como la Directiva Europea (European Union, 2004), permiten a los bancos de líneas celulares españoles derivar líneas celulares embrionarias humanas (siglas inglesas hESCs human embryonic stem cells) a partir de preembriones sobrantes de ciclos de FIV, siempre bajo el consentimiento informado de los progenitores.

Algo novedoso en la Ley es la eliminación de las diferencias en la consideración de los preembriones criopreservados con anterioridad a la entrada en vigor de la Ley 45/2003, y los que pudieran generarse posteriormente, en cuanto a sus posibles destinos, siempre supeditados a la voluntad de los progenitores. Es decir, cualquier preembrion criopreservado, sea cual fuere su tiempo de criopreservación, podría ser utilizado para fines de investigación siempre y cuando los progenitores firmen el consentimiento y estén asociados a un proyecto concreto que deberán autorizar posteriormente los Comités Éticos correspondientes.

**PERFIL Y FUNCIONES DEL EMBRIÓLOGO**

Aunque no es aún un título oficial, el embriólogo es aquel Licenciado en Ciencias Biomédicas (Medicina, Veterinaria, Farmacia, Biología o Química) con experiencia en Biología de la Reproducción. Según el R.D. 413/1996, de 1 de Marzo, para que un centro esté autorizado en la aplicación de las técnicas de reproducción asistida deberá estar dotado de una persona que cumpla los requisitos anteriores. Hasta ahora, la figura del embriólogo ha estado siempre relacionada con las clínicas de reproducción asistida, pero con el descubrimiento del

poder regenerativo de las células troncales embrionarias, numerosos centros de investigación han iniciado proyectos de derivación de hESCs, donde la figura del embriólogo adquiere otra perspectiva.

Aún así, para poder definir aspectos referentes a la figura del embriólogo en un centro de investigación debemos buscar las "homologías" con el papel desempeñado en los centros de reproducción asistida.

ASEBIR ha publicado en el año 2006, dentro del programa de Cuadernos de Embriología Clínica, unas Recomendaciones sobre Recursos Humanos y Físicos para el Laboratorio de Reproducción Asistida Humana. En estas recomendaciones, el embriólogo sería el encargado de tomar las decisiones clínicas dentro del laboratorio de acuerdo con los protocolos establecidos, y realizaría la mayor parte de la labor asistencial del laboratorio de andrología y embriología.

Respecto a la formación del embriólogo, éste deberá haber obtenido el grado de Licenciado en Ciencias Biomédicas, como hemos expuesto anteriormente, poseer conocimientos de fisiología humana, endocrinología reproductiva, genética, técnicas de laboratorio de andrología y embriología, y conocimientos de cultivo celular. Además deberá poseer una experiencia de al menos 2 años y acreditar la realización de 100 ciclos de FIV con ICSI y 200 preparaciones de semen para inseminación artificial, supervisados por el coordinador del laboratorio en cuestión, o por otro embriólogo

ya formado.

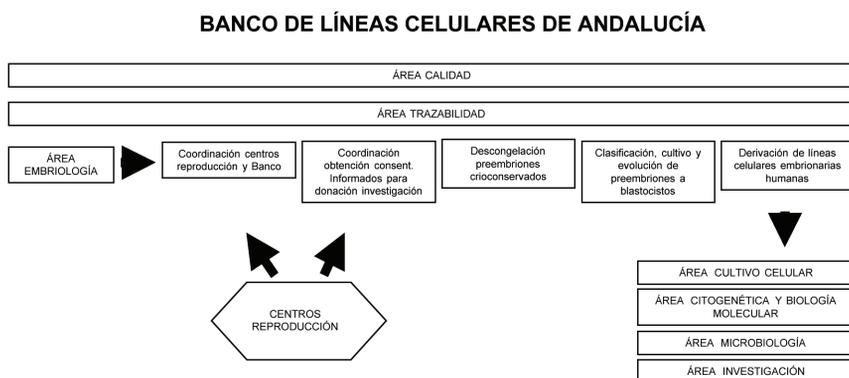
La ASMR 2004, en la guía para laboratorios de embriología y andrología, enumera los servicios que ofrecen en concreto los laboratorios de embriología clínica:

- Preparación de los medios de cultivo y control de calidad
- Identificación de ovocitos mediante examen del líquido folicular
- Evaluación de la madurez y calidad ovocitaria
- Preparación del esperma: recolección y análisis del semen, lavado y capacitación espermática
- Inseminación de los ovocitos
- Determinación de la fertilización y evaluación de la calidad del cigoto
- Cultivo embrionario y evolución de la calidad embrionaria
- Transferencia embrionaria
- Criopreservación, almacenaje y descongelación de esperma, ovocitos y embriones
- Micromanipulación de ovocitos humanos y/o embriones

Es obvio que en los centros de investigación en los que se deriven hESCs, la función del embriólogo será diferente a las descritas anteriormente, pero pensamos que la persona encargada de derivar estas líneas sí debe de haber adquirido anteriormente una amplia experiencia en este campo, lo que le otorgará propiedad a la hora de manipular los preembriones destinados a generar una línea celular.

De esta manera, las funciones del profesional responsable del Área de Embriología dentro del BLCA son (Figura 1):

Figura 1. Funciones del Área de Embriología dentro del organigrama del Banco de Líneas Celulares de Andalucía.



- *Descongelación de preembriones crioconservados. Como los preembriones provienen de distintos centros, es competencia de esta área el conocimiento de todos los protocolos de congelación/descongelación utilizados para optimizar los resultados en cuanto a la obtención de hESCs.*

- *Clasificación de preembriones crioconservados descongelados, siguiendo criterios morfológicos (Calderón et al., 2002):*

- o Ritmo de división de las blastómeras
- o Apariencia del citoplasma de las blastómeras
- o Contacto entre las blastómeras
- o Aspecto de la zona pelúcida
- o Fragmentación de las blastómeras
- o Multinucleación de las blastómeras
- o Evaluación de la calidad blastocitaria

Aunque algunos autores no relacionan la calidad embrionaria y blastocitaria con la tasa de obtención de líneas celulares (Mitalipova et al., 2004), desde nuestro centro pensamos que esta clasificación sí es importante a la hora de elegir el método de aislamiento de la masa celular interna (MCI) y posterior derivación de la línea celular (Ver abajo).

- *Cultivo y evolución de los preembriones hasta estadio de blastocisto, donde se encuentra la MCI, compuesta por las células troncales, que darán lugar a las hESCs. Para evaluar la calidad blastocitaria atendemos al modelo propuesto por el Instituto Cornell (Veeck and Zaninovic, 2004), donde se valora el grado de expansión del blastocisto, así como el aspecto del trofoectodermo y la MCI, quedando establecidas tres categorías:*

- o Blastocistos de buena calidad con una MCI bastante distinguible y con tamaño adecuado.
- o Blastocistos con una pequeña pero distinguible MCI.
- o Blastocistos de mala calidad con una MCI poco definida.
- *Derivación de hESCs. Existen va-*

*rios métodos que consisten en el aislamiento de la MCI y la eliminación de las células del trofoectodermo de los blastocistos. En nuestro centro hemos experimentado dos métodos para realizar el aislamiento de la MCI dependiendo de la calidad blastocitaria. Por un lado, un método mecánico, bien por micro-manipulación o por empleo del di-selector láser, cuando los blastocistos son de buena calidad con una MCI bastante distinguible y con tamaño adecuado.*

*El empleo del láser es un nuevo método de aislamiento de la MCI probado en modelo murino por varios grupos, dando buenas tasas de derivación de líneas celulares embrionarias murinas (mESCs) (Tanaka et al., 2006; Cortés et al., 2006). Consiste en ir aplicando el láser a las células del trofoectodermo destruyéndolas, siendo solamente las células de la MCI las que se adhieren a la superficie de cultivo elegida (Fibroblastos murinos y humanos, Matrigel™).*

*Para los blastocistos con una pequeña o nada visible MCI, utilizamos el método de cultivo directo del blastocisto sobre la superficie de cultivo elegida (Kim et al., 2005). Así, tanto las células del trofoectodermo, como las de la MCI se adhieren a dicha superficie. Pasados unos días, los dos tipos celulares sufren un crecimiento, y mecánicamente se separa la MCI. Aparte existe otro método de aislamiento de la MCI mediante inmunocirugía (Solter and Knowles, 1975), pero que está en desuso debido a que los medios utilizados contienen productos de origen animal, con el riesgo de contaminación cruzada.*

- *Coordinador entre los centros de reproducción y el banco para la perfecta interlocución en la donación de preembriones para fines científicos.*
- *Coordinador de la labor de obtención de los consentimientos informados. La Guía para la Investigación y Terapia con Células Troncales propuesta por la Indian Council of*

*Medical Research (ICMR-DBT, 2006) expone que el profesional que realice el tratamiento de fertilidad y el investigador que derive la línea celular o que trabaje con ellas no sean la misma persona. Además explica que la decisión sobre el destino de los preembriones debe estar libre de la influencia de los investigadores que podrían alentar a los progenitores hacia su uso con fines de investigación.*

*En cambio, nosotros pensamos que el embriólogo del banco de células troncales sí debe ser parte activa en el proceso de entrevista, explicación y firma del consentimiento informado por parte de la pareja, o la mujer en su caso, estando disponible para realizar las entrevistas cuando sea necesario, ya que es experto en cuanto a cualquiera de los destinos propuestos por la Ley española (Ley 14/2006).*

*El BLCA es un centro multidisciplinario donde varias áreas interaccionan para una adecuada coordinación, con el objetivo de elaborar, almacenar, conservar y gestionar todos los tipos de líneas celulares, de acuerdo a las actuales normativas nacionales e internacionales. Estas áreas o secciones son las siguientes (Figura 1): Área de calidad; área de trazabilidad; área de embriología; área de cultivo celular; área de citogenética y biología molecular; área de microbiología y área de investigación.*

## CONCLUSIÓN

*En el BLCA pensamos que existe una nueva figura de embriólogo investigador especializado en la manipulación de preembriones humanos destinados a generar nuevas hESCs. Este embriólogo debe haber acreditado experiencia previa en embriología clínica, y debe de estar en contacto con las clínicas de reproducción para la perfecta coordinación en la donación de preembriones con fines de investigación. Además, el área de embriología al que estará integrado el embriólogo*

José Luis Cortés. Nuevas Perspectivas...

14

formará parte del Banco de Células Troncales, con un stock propio de líneas celulares embrionarias, para su distribución a centros de investigación que las puedan utilizar para investigación básica y futuras aplicaciones clínicas.

### AGRADECIMIENTO

Al Dr. José Antonio Castilla por su asesoramiento en la elaboración de este artículo.

### BIBLIOGRAFÍA

- ASEBIR, Recomendaciones sobre recursos humanos y físicos para el laboratorio de reproducción. Cuadernos de Embriología Clínica. Ed. Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción, 2006.
- ASRM. American Society for Reproductive Medicine. Reviewed guidelines for human embryology and andrology laboratories. 2004. [www.asrm.org](http://www.asrm.org).
- Calderón G, Prados N, Caligara C, Mantuana E, Navarro J, Pellicer A, Remohí J. Calidad embrionaria. Indicadores predictivos de vitalidad. En: Remohí J, Pellicer A, Simón C, Navarro J, editors. Reproducción Humana. 2º ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España; 2002. p. 463-468.
- Cortés JL, Cobo F, Catalina P, Cabrera CM, Nieto A, Montes RM, Sánchez L, et al. Comparación de dos métodos de aislamiento de la masa celular interna en blastocistos de ratón para obtención de células troncales embrionarias: cultivo directo vs. láser. IX Congreso de la Asociación Española de Bancos de Tejidos; 2006 May 17-19; Oviedo, España. P. 73-4.
- European Union 2004. Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage, and distribution of human tissues and cells. Official Journal of the European Union, L 102/48.
- ICMR-DBT. Indian Council of Medical Research. Guidelines for Stem Cell Research and Therapy. 2006. [www.icmr.nic.in](http://www.icmr.nic.in).
- Kim HS, Oh SK, Park YB, Anh HJ, Sung KC, Kang MJ, et al. Methods for derivation of human embryonic stem cells. Stem Cells 2005;23:1228-1233.
- 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 núm 280:41458-41463.
- Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida. BOE núm 126: 19947-19956.
- Mitalipova M, Calhoun J, Shin S, Wininger D, Schulz T, Noggle S, et al. Human Embryonic Stem Cell Lines derived from discarded embryos. Stem Cells 2003;21:521-526. Real Decreto 413/1996, de 1 de marzo, por el que se establecen los requisitos técnicos y funcionales precisos para la autorización y homologación de los centros y servicios sanitarios relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida. BOE núm 72: 11256-11260.
- Solter D, Knowles BB. Immunosurgery of mouse blastocysts. Proc Natl Acad Sci USA 1975;72:5099-5102.
- Tanaka N, Takeuchi T, Neri QV, Sills ES, Palermo GD. Laser-assisted blastocyst dissection and subsequent cultivation of embryonic stem cells in a serum/cell free culture system: applications and preliminary results in a murine model. J Transl Med. 2006. In press DOI:10.1186/1479-5876-4-20.
- Veck, LL, Zaninovic N. Human blastocyst in vitro. En Veck LL, Zaninovic N, editors. An atlas of human blastocysts. New York: The Parthenon Publishing Group; 2003. p. 99-137.

Figura 1. Funciones del Área de Embriología dentro del organigrama del Banco de Líneas Celulares de Andalucía.

## AUMENTO DE LA FRAGMENTACIÓN DEL DNA ESPERMÁTICO EN LOS FUMADORES TRAS LA CAPACITACIÓN MEDIANTE SWIM-UP.

***Sperm selection by swim-up in terms of DNA fragmentation as measured by the Sperm Chromatin Dispersion test (SCD) is altered in heavy smokers.***

Thamara Viloría,<sup>1</sup> Nicolás Garrido,<sup>1</sup> José Luis Fernández,<sup>2</sup> José Remohí,<sup>3</sup> Antonio Pellicer,<sup>1</sup> Lourdes Muriel,<sup>1</sup> Márcos Meseguer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IVI Valencia, Universidad de Valencia. <sup>2</sup>Sección de Genética y Unidad de Investigación, Hospital "Teresa Herrera," Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo, A Coruña, España. <sup>3</sup>Departamento de Obstetricia y Ginecología Hospital Dr. Peset, Valencia, España.

Peticiones de reimpresión: Dr. Thamara Viloría, IVI Valencia - Universidad de Valencia, e-mail: tviloría@ivi.es.

**Resumen:** los hábitos tóxicos y su relación con la infertilidad masculina, ha sido objeto de investigación en los últimos años y dentro de los hábitos tóxicos más comunes dentro de la población está fumar el cigarrillo. Por otro lado, la fragmentación del DNA espermático ha sido relacionada con la infertilidad y disminución de la calidad embrionaria en trabajos previos. Este estudio se ha llevado a cabo con la finalidad de investigar la asociación entre el tabaco y la fragmentación del DNA espermático en muestras de semen fresco y capacitado en hombres infértiles que asisten para un tratamiento de reproducción.

Un total de 99 pacientes proporcionaron una muestra de semen; se descartaron previamente otras causas de fragmentación del DNA mediante un cuestionario y se establecieron 3 grupos de acuerdo al consumo de tabaco: no fumadores, fumadores moderados (1-19 cigarrillos/día) y muy fumadores ( $\geq 20$  cigarrillos/día). El análisis de la fragmentación se llevó a cabo mediante la prueba de la Dispersión de la Cromatina (SCD) antes y después del *swim-up*. No se observaron diferencias significativas en cuanto a la fragmentación del DNA según el hábito de fumar en las muestras en fresco; sin embargo, hubo un incremento significativo de células espermáticas con el DNA fragmentado en los hombres fumadores respecto a los no fumadores en las muestras luego del *swim-up*. Por lo que podemos concluir que el análisis de la fragmentación del DNA espermático después del capacitado es el que puede realmente detectar el efecto perjudicial producido por el tabaco sobre el espermatozoide. Este efecto nocivo altera el proceso de selección del *swim-up* en los fumadores, sin embargo, las bases moleculares y celulares de este fenómeno no han sido elucidadas, por tanto es recomendable que los hombres que buscan descendencia eviten el consumo de tabaco.

**Palabras clave:** Fragmentación del DNA / Prueba de Dispersión de la Cromatina (SCD) / fertilización in vitro / cigarrillo/ espermatozoide

**Abstract:** Toxic habits and its relation with male infertility has been a matter of investigation in the recent years and smoking is one of the commonest life-style toxic exposures to harmful substances. Sperm DNA fragmentation has been previously linked to infertility and low embryo quality in several works. This cross-sectional study was carried out to investigate the association between cigarette smoking and sperm DNA fragmentation in raw and capacitated sperm from infertile males undergoing assisted reproduction treatments (ART).

A total number of 99 infertile males provided one semen sample, other causes of DNA fragmentation was discarded by a previous questionnaire and three groups were established according to the cigarette consumption: non-smokers, light smokers (1-19 cigarettes/day) and heavy smokers ( $\geq 20$  cigarettes/day), then analyses of the sperm DNA fragmentation was carried out by the Sperm Chromatin Dispersion (SCD) test before and after *swim-up* treatment. We could observed no differences in the sperm DNA fragmentation in the raw semen samples regardless the smoking habits; nevertheless there is a significant increase in the incidence of sperm cells with DNA strand breaks in male smokers compare to non smokers after the evaluation of post *swim-up* samples. And we concluded that the analysis of sperm DNA fragmentation after capacitation can really detect the detrimental effect produced by tobacco. This deleterious effect alters the sperm *swim-up* selective process in smokers but molecular and cellular basis of this phenomenon remain to be elucidated, but based on these evidences, leaving smoking is advisable in males attending to reach parenthood.

**Key words:** DNA fragmentation / sperm chromatin dispersion test (SCD) / In vitro Fertilization / cigarette smoking / sperm

Thamara Vilorio et al. Aumento de la Fragmentación del DNA...

16

## INTRODUCCIÓN

El término "Infertilidad" se define como la incapacidad de una pareja de conseguir un embarazo luego de relaciones sexuales regulares no protegidas. Aproximadamente un 15% de las parejas con deseo de gestación tienen dificultad de concebir tras este período. El factor masculino es por sí solo el causante de esa infertilidad en un 20% de los casos y contribuye en otro 30-40%, siendo las alteraciones en el semen el origen de la misma (Rodríguez et al., 2005).

El sistema reproductivo es bastante complejo, sin embargo, los diseños experimentales de pruebas *in vitro* e *in vivo* nos pueden ser útiles para detectar algunas alteraciones. Por tanto, la reproducción asistida nos brinda un espacio ideal para estudiar algunos factores que podrían estar afectando la calidad seminal y sus implicaciones a nivel reproductivo.

A lo largo de los años, muchos han sido los factores relacionados a la infertilidad masculina, como: infecciones, varicocele (Pomerol, 2002), obstrucciones y alteraciones en la producción espermática (Ballescá, 2002), causas genéticas (Egozcue, 2002) y muchas veces la causa es desconocida y pueden afectar en mayor o menor medida a la calidad seminal. Sin embargo, su relación con los hábitos tóxicos ha sido motivo de investigación en los últimos años, de sus resultados se han descrito algunos agentes ambientales tóxicos que pueden deteriorar la espermatogénesis, ejerciendo efectos nocivos a nivel pre-testicular, testicular o post-testicular (Oliva et al., 2001; Pflieger-Bruss et al., 2004). Uno de estos agentes es el consumo del tabaco; el cual está ampliamente reconocido como un problema de salud pública y una de las mayores causas de muertes prevenibles. Aproximadamente una tercera parte de la población mundial mayor de 15 años es fumadora (World Health Organization, 1997). Así mismo, el tabaco afecta la salud reproductiva.

El cigarrillo contiene algunos cientos de compuestos (Dube and Green,

1982). El tabaco consiste en su mayoría de carbohidratos y proteínas (aprox 50%). Otro constituyente significativo son alcaloides (0,5-5%) con la nicotina como compuesto predominante (90-95% de los alcaloides totales), polifenoles (0,5-4,5%), fitosteroles (0,1-2,5%), ácidos carboxílicos (0,1-0,7%), hidrocarburos aromáticos, aldehídos, cetonas, aminas, pesticidas, etc (0,01-5%) y más de 30 compuestos metálicos (Wynder and Hoffmann, 1967; Internacional Agency for Research on Cancer, 1986).

La nicotina, el principal alcaloide del tabaco, está presente en los cigarrillos en una cantidad que varía desde 0,8-1,8 mg/cigarrillo, dependiendo de la marca y tamaño del mismo (Benowitz et al., 1983; Rosa et al., 1992). Tanto como 1mg de nicotina puede ser absorbido al fumar 1 solo cigarrillo. Este es un alcaloide muy tóxico que se absorbe rápidamente por el tracto respiratorio, la mucosa bucal y la piel (Gandini et al., 1997).

La cotinina, su mayor metabolito, es un compuesto más estable que la nicotina, con un tiempo de vida media de aproximadamente 20h (la vida media de la nicotina es de unas 2h) y su concentración no se ve influenciada por otros factores como por ejemplo la dieta. En el hombre, la nicotina y/o cotinina ha sido detectada en plasma seminal de acuerdo al consumo de cigarrillos (Pacifi et al., 1993, 1995; Vine et al., 1993; Zenzes et al., 1999), lo que indica el paso de estos metabolitos a través de la barrera hemato-testicular.

Esto sugiere que ciertos componentes del tabaco interactúan, directa o indirectamente, afectando la función y viabilidad de los gametos; y el mecanismo que envuelve este resultado aún necesita ser elucidado.

El incipiente incremento del interés público respecto al declive del potencial fértil masculino, y sobre todo, el deseo de conocer el efecto que tienen los componentes medioambientales y ocupacionales, y los hábitos de la sociedad actual, hacen necesarios estu-

dios serios, objetivos y completos que revelen la acción que estos ejercen en el espermatozoide, principalmente en población con deseos de gestación.

Con este fin, hemos aprovechado el conocimiento ganado en los tratamientos de reproducción asistida (TRA) después de la introducción de diversos análisis como la prueba de la Dispersión de la Cromatina (SCD) para estudiar el efecto del tabaco sobre la integridad del DNA de los espermatozoides antes y después del swim-up en parejas que consultan por infertilidad.

Este estudio introduce nuevos avances respecto a las consecuencias del tabaco en la reproducción humana.

### Fragmentación del DNA y tabaco:

Se estima que un 25% de las causas de infertilidad son de origen idiopático y la etiología de algunas de estas causas podría estar relacionada con daño en el DNA de los espermatozoides.

La fragmentación de DNA en el espermatozoide está siendo cada vez más reconocida como una importante causa de infertilidad, y aunque el origen del daño a nivel del DNA no es claro (Muratori et al., 2000; Sergerie et al., 2005), se han propuesto algunos mecanismos como: defectos en la compactación de la cromatina durante la espermiogénesis, inducción de la apoptosis durante el proceso de espermatogénesis e inducción de daño de DNA en espermatozoides diferenciados maduros por espermatozoides inmaduros que producen niveles elevados de radicales libres (ROS) (Garrido et al., 2004).

Una causa potencial de la fragmentación de DNA es la exposición a toxinas ambientales; sin embargo, pocos datos apoyan el concepto de un impacto negativo extenso de contaminantes ambientales en los resultados del análisis del semen (Sun et al., 1997). Algunas de estas toxinas se podían relacionar con el consumo de tabaco.

La relación entre el cigarrillo y la fragmentación del DNA del espermatozoide ha sido establecida por algunos autores (Sun et al., 1997; Muratori et al., 2000; Zenzes, 2000). No obstante, Sergerie et al. (2005) han reportado una no asociación en hombres sanos fumadores y no fumadores; y Belcheva et al. encontraron que el daño en el DNA de los espermatozoides de los fumadores estaba incrementado con respecto al de los no fumadores, pero esta diferencia no resultaba estadísticamente significativa.

Uno de los mecanismos sugeridos podría estar relacionado con la interacción nicotínica sobre la organización de la membrana espermática y por lo tanto en la reacción acrosómica (Arabi, 2004) inducida por ZP3, una proteína de la zona pelúcida que desempeña un papel fundamental durante la fertilización, funcionando como un receptor específico para el espermatozoide (Hinsch et al., 2005).

El propósito en este estudio es investigar la asociación entre el tabaquismo y la fragmentación de DNA del espermatozoide en parejas infértiles sometidas a tratamientos de reproducción asistida, utilizando el SCD antes y después del procedimiento de swim-up como técnica de capacitación espermática en hombres fumadores y no fumadores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Población:** La población objeto de estudio son pacientes infértiles que asisten a tratamientos de reproducción asistida en nuestro centro, del cual se seleccionaron aleatoriamente las muestras de semen de los maridos de parejas que asisten al laboratorio de andrología del IVI para un tratamiento de infertilidad con previo consentimiento de los pacientes, ya que son pruebas que no se realizan de rutina en el laboratorio. Un total de 99 hombres proporcionaron 99 muestras de semen para ser analizadas. El rango de edad fue de 26 a 49 años, con una media de 36.

Se les realizó el test de SCD, sin conocer, si eran fumadores o no. Posteriormente a los análisis, se procedió a hacer una encuesta a los pacientes acerca de sus hábitos tabáquicos en el momento en el cuál fue realizado el ciclo y los 3 meses anteriores. Se estipularon tres grupos según el consumo diario de cigarrillo en los varones: no fumadores (n= 51), fumadores moderados: de 1-19 cigarrillos por día (n= 21) y varones muy fumadores: más de 19 cigarrillos por día (n= 27); y se analizaron los datos.

Aquellos pacientes que hubieran consumido drogas o alcohol en los 3 meses previos a la realización del estudio, fueron incluidos. También éstos fueron excluidos, si tenían historia reciente de fiebre o exposición a gonadotoxinas como quimioterapia, radioterapia, pesticidas o exposición ocupacional a metales pesados. Además, se investigó acerca de la presencia de varicocele, torsión testicular, etc., para no incluirlos en los mismos.

## Fragmentación del DNA espermático. Prueba de Dispersión de la Cromatina (SCD)

El SCD (Halosperm® kit, INDAS laboratories, España) es una prueba desarrollada recientemente, descrita por Fernández et al., (2003), basada en el hecho de que en los espermatozoides con las cadenas de DNA intactas se produce una descompactación de los bucles de DNA, empaquetados en la matriz nuclear, tras haber sido expuesto a un tratamiento ácido, seguido a un tratamiento con agentes reductores y detergentes. Esta descompactación produce un halo alrededor de la matriz nuclear que se puede visualizar por microscopía de campo claro usando tinciones habituales como el Diff-Quick. Por el contrario, si una de las cadenas de DNA está dañada, no se produce halo, observándose núcleos condensados.

Para el análisis de las muestras se realizó el estudio macro y microscópico del semen según lo descrito anteriormente. Todas las muestras fueron procesadas por swim-up.

Posteriormente, el sobrenadante (0,1-0,5ml) fue separado en otro tubo. Luego, para la determinación de la fragmentación del DNA se tomaron alícuotas (entre 10 y 100µl) con concentraciones entre 5-10 millones de spz/ml de cada muestra de semen antes y después del swim-up para ser procesadas como describe Fernández et al. (2003).

Se establecieron 5 patrones de SCD: a) Células espermáticas de halo grande (CHG): su anchura es similar o más grande que el diámetro menor del nucleóide; b) Células espermáticas de halo mediano (CHM): su halo está entre aquellos con halo grande y halo muy pequeño. Células espermáticas sanas (CS): este subgrupo incluye las HG y HM, es decir, aquellas sin fragmentación de DNA; c) Células espermáticas de halo muy pequeño (CHP): su espesor es similar o más pequeño que la tercera parte (1/3) del diámetro menor del nucleóide; d) Células espermáticas sin halo (CSH); e) Células espermáticas degradadas (CD): son similares al grupo "d", pero además están débilmente o irregularmente teñidas. Las células espermáticas de halo pequeño, sin halo y degradadas contienen DNA fragmentado. Finalmente los nucleóides que no corresponden a células espermáticas fueron separados del recuento.

**Análisis estadístico:** Las comparaciones de la fragmentación del DNA con respecto a los 3 grupos estudiados antes y después del swim-up, se realizaron por la prueba de análisis de varianzas (ANOVA) cuando los datos seguían una distribución normal, mientras que cuando estas seguían una distribución anormal se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis (prueba no paramétrica). El análisis estadístico fue llevado a cabo usando el Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). La significancia estadística se ha definido como  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

Los resultados de la fragmentación del DNA de espermatozoides en las

muestras de los pacientes antes de ser procesadas por swim-up de acuerdo al número de cigarrillos fumados por los varones, no revelaron diferencias significativas entre los 3 grupos estudiados dependiendo de la cantidad de cigarrillos por día. Hombres no fumadores, fumadores moderados y muy fumadores, tuvieron similar patrón de distribución entre las diferentes categorías de acuerdo al tamaño del halo luego de hacer el SCD, es decir, porcentajes de células con CHG, CHM, CS, CHP, CSH y CD (Figura 1a y 2a).

Las Figuras 1b y 2b, muestran los resultados de la fragmentación del DNA de espermatozoides en las muestras luego de ser procesadas por swim-up de acuerdo al número de cigarrillos fumados.

Comparaciones entre esos grupos muestran diferencias significativas en las CHP. Los porcentajes de CHP en los fumadores moderados se incrementaron respecto a aquellos que no fumaban (15,0 IC 95% [6,4-46,0] y 12,2 IC 95% [0,0-32,7]) ( $P_{ab}=0,020$ ), al igual que en los hombres muy fumadores comparado con el grupo de los no fumadores (19,2 IC 95% [0,9-46,0] y 12,2 IC 95% [0,0-32,7]) ( $P_{ac}=0,013$ ), demostrándose así un daño en la calidad del DNA entre fumadores en general (moderados y muy fumadores) y no fumadores. Además, los porcentajes de CHG y CS se vieron disminuidos en los dos grupos de hombres fumadores comparados con aquellos que no fumaban, aunque estas diferencias no llegaron a ser signi-

ficativas.

De igual forma, en los porcentajes de CSH y CD se observó que los daños en el DNA de los espermatozoides de los fumadores moderados estaban incrementados, pero las diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

Posteriores comparaciones múltiples entre la fragmentación del DNA de las muestras de semen antes y después del swim-up de acuerdo al número de cigarrillos fumados (comparaciones entre figuras 1a con 1b y 2a con 2b respectivamente), mostraron que en los hombres muy fumadores hubo una disminución significativa (aproximadamente del 50%: 72,8 IC 95% [23,8-67,3] y 47,3 IC 95% [9,4-97,4]) de las CHG ( $P_{de}=0,020$ ), luego del swim-up.

No se encontraron diferencias significativas en las CHM entre los grupos antes y después de la capacitación. También, en los hombres muy fumadores se encontró una disminución muy marcada en las CS (que son el total de las células no fragmentadas) luego del swim-up ( $P_{fg}<0,001$ ) (78,7 IC 95% [44,4-95,3] y 60,0 IC 95% [15,4-98,7]); adicionalmente, se observó un incremento de este tipo de células espermáticas (CS) en el grupo de hombres muy fumadores luego del procesamiento por swim-up, pero este no fue significativo.

Por otra parte, en el mismo gráfico se puede observar, desde otro punto de vista que, las CHP incrementaron sig-

nificativamente luego del swim-up en los fumadores moderados y muy fumadores ( $P_{hb}=0,001$  y  $P_{ic}<0,001$  respectivamente) en comparación con aquellos hombres sin este hábito, lo que indica una positiva selección de espermatozoides con DNA fragmentado luego de la capacitación en los hombres fumadores. Particularmente en los hombres muy fumadores este incremento fue de más del 100%.

Incluso, en los hombres no fumadores se observó una gran disminución de las CSH y CD ( $P_{jk}=0,007$  y  $P_{lm}=0,006$  respectivamente), lo cual supone una reducción de espermatozoides con DNA fragmentado luego del swim-up en este grupo, sin embargo esta disminución no fue significativa.

Por tanto, estos hallazgos en las alícuotas post swim-up sugieren que el tabaco altera selectivamente la habilidad del proceso de selección espermática en los hombres fumadores.

Figura 1a

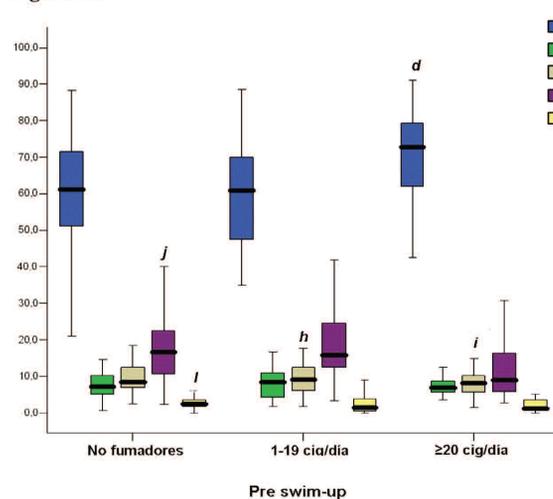
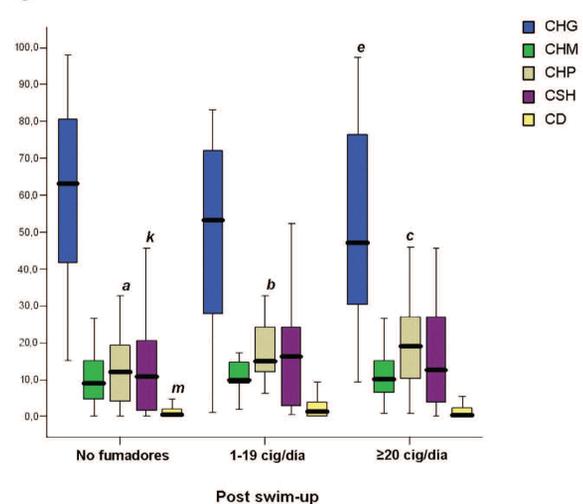


Figura 1b



Prueba de ANOVA ó Kruskal-Wallis según tipo de distribución:  $P^{ab}=0,020$ ;  $P^{ac}=0,013$ ;  $P^{de}=0,020$ ;  $P^{hb}=0,001$ ;  $P^{ic}<0,001$ ;  $P^{jk}=0,007$ ;  $P^{lm}=0,006$

Figura 1 Resultados de la fragmentación del DNA en muestras de semen antes y después del swim-up de acuerdo a la cantidad de cigarrillos fumados.

Figura 2a

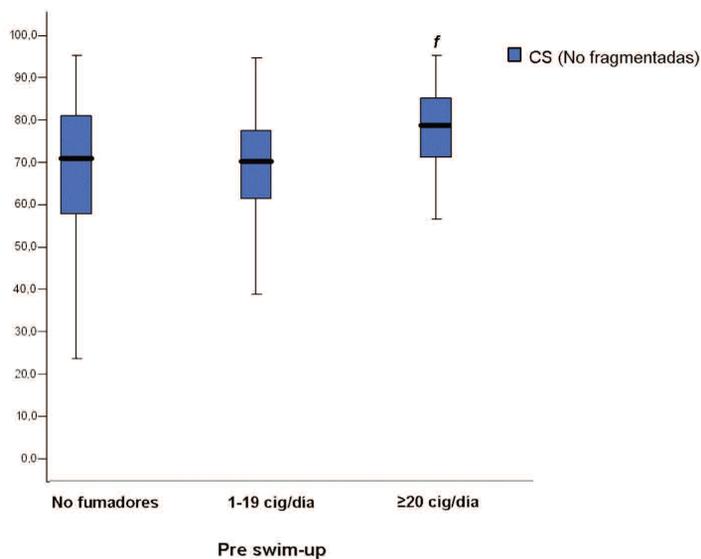
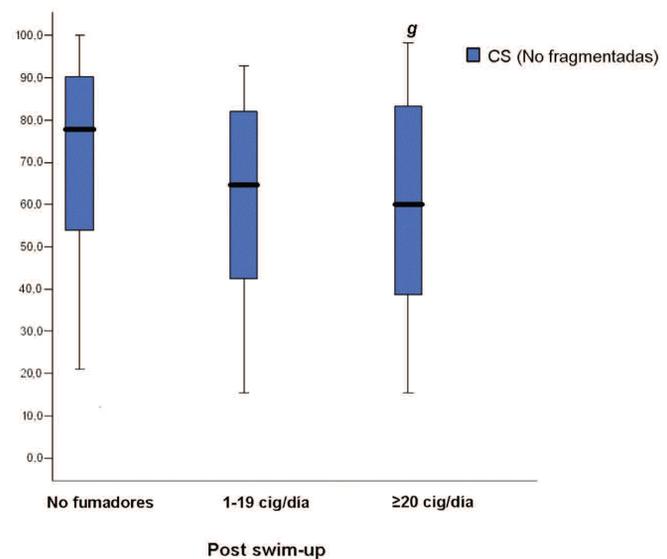


Figura 2b)



Prueba de ANOVA ó Kruskal-Wallis según tipo de distribución:  $P^g < 0,001$

Figura 2 Representación del total de células sanas (no fragmentadas) en muestras de semen antes y después del swim-up de acuerdo a la cantidad de cigarrillos fumados.

## DISCUSIÓN

Aunque muchos trabajos sugieren que existen agentes físicos y químicos en el ambiente, muchos de ellos han sido introducidos y propagados por la actividad humana, pudiendo afectar la fertilidad masculina (Oliva et al., 2001), sin embargo, el impacto del consumo de tabaco en la fertilidad masculina resulta un tema controvertido (Vine et al., 1996).

Los resultados de este estudio sostienen que: (i) no hay diferencias en la fragmentación del DNA de los espermatozoides en las muestras de semen en fresco a pesar de los hábitos tabáquicos; y (ii) hay un incremento significativo en la incidencia de células espermáticas con las hebras de DNA rotas en los hombres fumadores luego de evaluar las muestras procesadas por swim-up.

Primero se realizó la prueba de SCD en las muestras de semen en fresco y el resultado de la fragmentación del DNA en los 3 grupos de hombres estudiados, de acuerdo al consumo de cigarrillos por día, fue comparable.

Sergerie et al. (2005), describieron la no asociación entre tabaco y fragmentación de DNA espermático en muestras de semen en fresco de hombres sanos (no infértiles); y Saleh et al. (2002), estudiaron esta asociación en hombres infértiles y reportaron que las diferencias entre fumadores y no fumadores no era estadísticamente significativa.

No obstante, encontraron que las muestras de semen de los hombres infértiles fumadores tenían altos niveles de estrés oxidativo (OS) que en los no fumadores. Esto fortalece los resultados del presente trabajo y refuerza la hipótesis que el efecto ejercido por algunos factores perjudiciales, que afectan los gametos masculinos, podrían estar encubiertos en el eyaculado, siendo los mismos apreciables solo en la selección de espermatozoides por swim-up.

Se debe recalcar que las muestras empleadas en cualquier TRA están previamente procesada en el laboratorio con la finalidad de eliminar las células no espermáticas y seleccionar

los mejores espermatozoides (mejor movilidad y morfología), imitando así los procesos que ocurren en el tracto reproductor femenino en condiciones naturales. Muratori et al., (2000) describieron que hasta cierto punto la fragmentación del DNA estaba positivamente relacionada con una morfología anormal en el espermatozoide y asociada con defectos en la cola; pero encontraron una correlación negativa entre DNA roto y movilidad progresiva.

Basándonos en trabajos previos, donde se encontró que las tasas de fecundación y algunos indicadores de calidad embrionaria estaban relacionados con el alcance de la fragmentación del DNA espermático post swim-up (Muriel et al., 2006); éstos en conjunto con los resultados del actual estudio, se puede concluir que la vía para determinar la fragmentación del DNA parece evidente que debería ser evaluando las alícuotas tras el procesamiento por swim-up.

Con el fin de perfeccionar estos hallazgos, se hicieron comparaciones

Thamara Vilorio et al. Aumento de la Fragmentación del DNA...

20

múltiples entre los 3 grupos estudiados y los resultados antes y después del swim-up; y diferencias significativas indican que los hombres fumadores moderados y muy fumadores presentan un número significativamente mayor de células espermáticas con DNA dañado luego del capacitado que los no fumadores. Es más, los hombres no fumadores tuvieron una disminución significativa de células espermáticas degradadas (CD) y en general menos espermatozoides con DNA deteriorado.

Estudios previos sobre fragmentación del DNA espermático y consumo de tabaco, han sido realizados en semen en fresco (Sergerie et al., 2000; Saleh et al., 2002) o semen capacitado (Sun et al., 1997; Younglai et al., 2001; Belcheva et al., 2004) independientemente, pero no se ha estudiado un diseño como el de este trabajo donde se han comparado las muestras antes y después del capacitado e introduciendo un factor externo.

Respecto al procesamiento en el laboratorio, algunos estudios han analizado la relevancia de la preparación del semen en el porcentaje de células con DNA fragmentado.

La técnica de swim-up para el capacitado de espermatozoides móviles ha sido estudiada por Younglai et al. (2001), en hombres que asisten a una clínica de infertilidad, con el fin de determinar si este procedimiento puede ocasionar efectos perjudiciales en el DNA espermático; y encontraron que no existían diferencias significativas entre la fragmentación del DNA en la muestra fresca y en la procesada por swim-up y por el método de swim-up directo (sin centrifugar); pero en el mismo, no se estudió ningún factor perjudicial externo como por ejemplo el consumo de tabaco

Al igual que en este estudio, Sun et al. (1997) describieron un incremento en la fragmentación del DNA

espermático entre hombres infértiles (fumadores y no fumadores) luego del procesamiento por swim-up que pudiera sugerir un posible vínculo con las toxinas ambientales. Otros estudios llevados a cabo por Belcheva et al. (2004), en donantes normozoospermicos antes de la capacitación por Percoll, concluyeron que la fragmentación del DNA en espermatozoides de donantes sanos (no infértiles) fumadores permanecía dentro del rango normal. Sin embargo, ellos observaron que el fumar cigarrillos inducía un deterioro en la membrana plasmática de las células espermáticas.

En conclusión, el análisis de la fragmentación del DNA en las muestras de eyaculado (en fresco) oculta el efecto perjudicial real del tabaco, ya que no se han encontrado diferencias con respecto al consumo de tabaco, que apuntarían a la conclusión "errónea" que el mismo no influye en la fragmentación del DNA.

Pero es luego del capacitado, donde realmente se puede detectar el efecto perjudicial producido por el tabaco. Este efecto deletéreo está afectando la selección espermática por la interferencia en el proceso del swim-up, demostrando que el tabaco, altera selectivamente la capacitación del semen por swim-up en los hombres fumadores. Las bases celulares y moleculares de este fenómeno quedan aún por elucidar; pero se pueden plantear algunas posibles opciones, como: a) que la fragmentación del DNA (como proceso continuo) se produzca también luego del eyaculado, estando incrementado en los pacientes fumadores y subsecuentemente las células que están algo fragmentadas (halo mediano) terminen fragmentándose completamente tras la incubación durante 1 hora aproximadamente en el proceso de capacitado; b) además esta observación luego del capacitado no significa que este proceso esté aumentando los espermatozoides fragmentadas en

los fumadores, pero posiblemente si esté seleccionando mejor los espermatozoides no fragmentados en los no fumadores.

La suma de ambos efectos se traduce en esa diferencia significativa luego del swim-up. Basándonos en estas evidencias, es aconsejable que los hombres que son atendidos por infertilidad en TRA o que buscan descendencia eviten el consumo de tabaco.

#### BIBLIOGRAFÍA

Ballescá JL. "Estudio del varón estéril". En: *Reproducción Humana 2ª ed.* McGraw-Hill Interamericana. Madrid 2002; 279-286.

Belcheva A, Ivanova-Kicheva M, Tzvetkova P, Marinov M. Effects of cigarette smoking on sperm plasma membrane integrity and DNA fragmentation. *Int J Androl* 2004;27(5):296-300.

Benowitz NL, Kuyt F, Jacob P III and Jones RT. Cotinine disposition and effects. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1983. 34, 604-611.

De Jonge C. The clinical value of sperm nuclear DNA assessment. *Fertil Steril.* 2002;5:51-53.

Dube MF and Green CR. Methods of collection of smoke for analytical purposes. *Recent Adv. Tobacco Sci.* 1982, 8, 42-102.

Egozcue J. "Esterilidad masculina de causa genética". En: *Reproducción Humana 2ª ed.* McGraw-Hill Interamericana. Madrid 2002; 309-312.

Fernandez JL, Muriel L, Rivero MT, Goyanes V, Vazquez R, Alvarez JG. The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation. *J Androl* 2003; 24(1):59-66.

Gandini L, Lombardo F, Lenzi A et al. The in-vitro effects of nicotina and cotinine on sperm motility. *Hum. Reprod.* 1997, 12, 727-733

Garrido N, Meseguer M, Álvarez JG, Simón C, Pellicer A, Remohí J



*Relationship among standard semen parameters, glutathione peroxidase/glutathione reductase activity and mRNA expression and reduced glutathione content in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile men. Fertil Steril 2004; 82 Suppl 3:1059-66 b.*

Hinsch E, Aires VA, Hedrich F, Oehninger S, Hinsch KD. A synthetic decapeptide from a conserved ZP3 protein domain induces the G protein-regulated acrosome reaction in bovine spermatozoa. *Theriogenology 2005; 63(6): 1682-94.*

Muratori M, Piomboni P, Baldi E, Filimberti E, Pecchioli P, Moretti E et al. Functional and ultrastructural features of DNA-fragmented human sperm. *J Androl 2000; 21(6):903-12.*

Muriel L, Garrido N, Fernández JL, Remohí J, Pellicer A, De los Santos MJ et al. Value of the sperm DNA fragmentation level, measured by the Sperm Chromatin Dispersion (SCD) test, in the IVF and ICSI outcome. *Fertil Steril 2006; 85:371-383.*

Oliva A, Spira A, Multigner L. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Hum Reprod 2001;16(8):1768-76.*

Pacifi R, Altieri I, Gandini L et al. Nicotine, cotinine and trans-3-cotinine levels in seminal plasma of smokers: effects of sperm parameters. *Ther. Drug. Monit. 1993. 15, 358-363.*

Pflieger-Bruss S, Schuppe HC, Schill WB.

*The male reproductive system and its susceptibility to endocrine disrupting chemicals. Andrologia 2004; 36(6):337-45.*

Pomerol J. "Varicocele e infertilidad". En: *Reproducción Humana 2ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid 2002; 303-308.*

Rodríguez M, Gil-Salom M, Castellón G and Remohí J. Diagnóstico y conducta a seguir en el varón. En: *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Mc Graw-Hill Interamericana. 2005; Primera parte, cap 6:67*

Rosa M, Pacifi R, Altieri I et al. How the steady-state cotinine concentration in cigarette smokers is directly related to nicotine intake. *Pharmacol. Epidemiol. Drug Util. 1992. 52, 324-329.*

Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ Jr. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril 2002; 78(3):491-9.*

Sergerie M, Bleau G, Teule R, Daudin M, Bujan L. Sperm DNA integrity as diagnosis and prognosis element of male fertility. *Gynecol Obstet Fertil 2005; 33(3):89-101.*

Sun JG, Jurisicova A, Casper RF. Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm: correlation with fertilization in vitro. *Biol Reprod 1997;56(3):602-7.*

Vine MF, Hulka BS, Margolin BH et al. Cotinine concentrations in semen, urine and blood of smokers and nonsmokers. *Am. J. Public. Health. 1993. 83, 1335-1338*

Vine MF, Tse CK, Hu P, Truong KY. Cigarette smoking and semen quality. *Fertil Steril 1996; 65:835-842.*

World Health Organization. *Tobacco or Health. A Global Status Report. WHO, Geneva, Switzerland. 1997*

Younglai EV, Holt D, Brown P, Jurisicova A, Casper RF. Sperm swim-up techniques and DNA fragmentation. *Hum Reprod 2001;16(9):1950-3.*

Zenzes MT, Bielecki R and Reed TE. Detection of benzo (a) pyrene diol epoxide-DNA adducts in sperm of men exposed to cigarette smoke. *Fertil. Steril. 1999. 72, 330-335.*

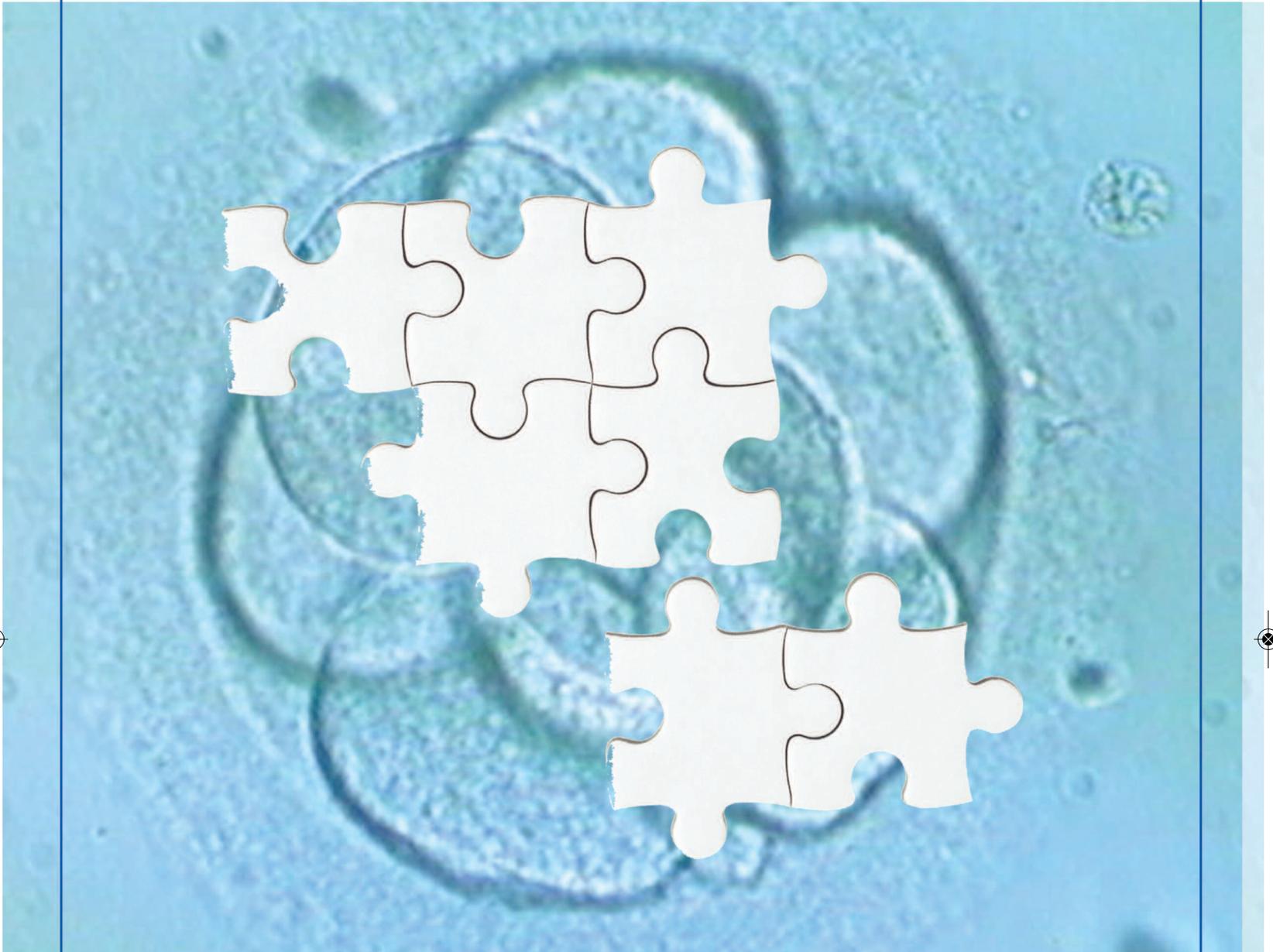
Zenzes MT. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. *Hum Reprod Update. 2000. 6,122-131.*





**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](mailto:informacion.micro@olympus-europa.com)



## INTRODUCCIÓN A DEBATE

*En esta ocasión queremos comenzar agradeciendo la alta participación de nuestros socios/as en este Debate tan apasionante sobre "La ética en los tratamientos de Reproducción Asistida". Esperamos que en los siguientes números todos os vayáis animando a colaborar.*

*Para el próximo número el tema planteado es: "¿Estamos realizando ciclos de ICSI y de DGP más allá de sus indicaciones contrastadas?" Os recordamos que esta sección de la revista está abierta a todos y que de todos depende que sea una herramienta actual e interesante. ¡Desde la vocalía de publicaciones os invitamos a participar!*

## LA ÉTICA EN LA MEDICINA REPRODUCTIVA

Ernesto Veiga

INRA (Instituto de Reproducción Asistida de Galicia), Santiago de Compostela

*La Medicina Reproductiva es una ciencia biomédica, por lo que podemos entenderla como una ciencia médica a favor de la vida.*

*En la actualidad, cada vez aumenta más el número de niños nacidos gracias a la Reproducción asistida, lo cual ha abierto un debate moral sobre estos actos. Por ello la bioética (bios -vida- + ética) ha de aplicarse también a esta rama de la Medicina. Teniendo en cuenta que la bioética es la ciencia que estudia la vida a partir de los principios universales morales, debemos establecer criterios y límites entre lo lícito y lo ilícito en Reproducción Asistida.*

*Por Reproducción Asistida entendemos todo proceso técnico científico en el que el uso de la ciencia y la tecnología permiten la reproducción de los seres vivos de forma artificial. De esta manera, el hombre interviene en procesos que deberían ser naturales.*

*La intervención del hombre se ha desarrollado en técnicas que implican la reproducción posterior intracorpórea (inseminación artificial), en aquellas que implican la reproducción asistida in vitro o extracorpórea y posterior transferencia del embrión al útero de la mujer (Fecundación In Vitro / ICSI), y recientemente la clonación con fines reproductivos o terapéuticos. Fuera de la concepción de la Reproducción Asistida, dejaría a la subrogación uterina.*

*En cualquiera de sus acepciones, la Reproducción Asistida puede ser homóloga o heteróloga, en función de si los gametos son aportados por los*

*miembros de la pareja o la mujer soltera o con compañera del mismo sexo, o bien, por donantes anónimos/as o conocidos/as. Para la preparación, puesta en contacto y análisis genético de los gametos, cigotos y embriones, se utilizan múltiples técnicas. Los actos desarrollados por el equipo biomédico con el consentimiento expreso de los usuarios/as, para el desarrollo de las mismas, serán actos cuya moralidad debe salvaguardar los principios y fundamentos de la persona.*

*La Reproducción Asistida desvirtúa la naturaleza del acto conyugal, entendiendo el mismo como el acto sexual por un lado y el carácter procreativo por otro. El hecho de que este último se logre eliminando el otro, no debe ser moralmente ilícito. Ahora bien, en el caso de la maternidad de sustitución, las obligaciones del amor materno, la fidelidad conyugal y de la maternidad responsable, son "puenteadas" sin preocuparnos de si la dignidad y el derecho del hijo a ser concebido y traído al mundo son ofendidos. Este tipo de maternidad es privada de toda carga afectiva que se establece durante el embarazo entre el vientre de la futura madre y el niño, pero que si se da en la madre de alquiler y a la cual posteriormente se le priva de la afectividad establecida. No podemos olvidar tampoco las implicaciones económicas de la "profesión" de las madres de alquiler.*

*La ética y la moral no deben estar peleadas con la ciencia y la técnica, en todo caso, reconocerse entre ellas como una manera loable de mejorar las condiciones de las personas que optan por las*

*ciencias médicas en favor de la vida.*

*Desde un punto de vista no procreativo, la unión de los gametos de forma artificial desvirtúa la naturaleza del acto conyugal en su totalidad.*

*Es por ello que la clonación terapéutica se desvincula de la propia naturaleza para la que fueron diseñados los gametos. Ahora bien, toda medida científica terapéutica, es decir, que pueda remediar algún malestar humano, debería ser aplicada siempre que sea posible. Esto mismo lo podríamos aplicar a la técnica de Diagnóstico Genético Preimplantacional en combinación con la determinación de los antígenos de histocompatibilidad de los embriones in vitro, empleada como ayuda para salvar la vida de un familiar enfermo.*

*El uso de células madre embrionarias para la posible curación de enfermedades humanas, hace que debamos ver al embrión como una realidad biológica carente de dignidad humana ya que no es vida humana propiamente. Ahora bien, esto no quita que no debamos de respetar la visión proteccionista del embrión que defienden varios países de centro-Europa, donde está prohibida la clonación de cualquier tipo.*

*No debemos tampoco olvidarnos del potencial terapéutico de las células madre no embrionarias.*





Rafael Bernabeu, Jorge Ten. *El Charlatán en la Ciencia y los...*

26

## EL CHARLATÁN EN LA CIENCIA Y LOS MEDIOS DE COMUNICACIÓN

Rafael Bernabeu, Jorge Ten  
Instituto Bernabeu, Alicante

*No es la finalidad del auténtico científico ser motivo de atención de los medios de comunicación. Es su trabajo paciente y silencioso el que llama la atención de los medios cuando las aplicaciones del mismo resultan en un avance provechoso para la humanidad.*

*No obstante, hay ciertas áreas de la Medicina que despiertan gran interés en los medios de comunicación por las repercusiones que tienen en la sociedad. Uno de esos campos "estrella" es la Medicina de la Reproducción. Hoy oímos por la calle palabras como embriones, células madres y clonación, que eran patrimonio del especialista, y que ahora suscitan en todos un enorme interés que justifica la difusión de estos temas por parte de los medios de comunicación.*

*Sin embargo, este interés da lugar a intoxicaciones informativas. En efecto, en estos últimos tiempos hemos asistido a comunicados de logros espectaculares: clonación de seres humanos, obtención de células reproductivas de forma casi automática a partir de otras células del organismo, etc. En resumen, vanas palabrerías que no son más que rotundas mentiras.*

*Por lo general, las sociedades científicas son reacias a manifiestos públicos y, por ello, recientemente se pudo asistir a un hecho inusual. La Royal Society de Medicina de Inglaterra emitió en el año 2004 un comunicado en el que se mostraba rotundamente en contra de tales maniobras informativas. Preocupados por la manipulación que desde los medios de comunicación se estaba haciendo, pedía que se distinguiera entre buena y mala tecnología y solicitaba a los medios que no dieran cobertura a pseudocientíficos que sólo buscaban captar el interés informativo y no dudaban en dar noticias rimbombantes, falsas y no comprobadas con tal de obtener notoriedad. Sujetos que hablan de brillantes experimentos que*

*los han conducido a milagrosos resultados, a avances espectaculares, y que cuando se les piden pruebas de lo que afirman, resulta que nada los respalda, porque todo lo que afirman es una farsa.*

*Así, ante el anuncio de una nueva clonación en humanos, el presidente de la Royal Society, nos recuerda que la clonación en primates es mucho más compleja que en otras especies y que en absoluto se tiene la certeza que sea viable en humanos.*

*Asimismo un grupo de investigadores británicos, también ha enviado una carta de apelación a los editores de medios de comunicación para que den menos publicidad a experimentos de esta índole y que "cualquier declaración futura sea tratada con escepticismo hasta que se presenten evidencias convincentes" y se haya comprobado la verdad de la afirmación.*

*Duele ver como la idiotez del que se otorga un falso descubrimiento innovador, causa dolor y engaño en quienes necesitan tratar la incapacidad para tener un hijo.*

*Duele tener que desesperanzarlos, sencillamente porque han creído en las afirmaciones de quienes bajo la cobertura informativa, buscan fines inconfesables: notoriedad, dinero,... alejados del buen quehacer médico. En ocasiones es difícil sacarlos del error a que han sido conducidos, sin que se violenten.*

*Duele ver como estos enfermizos personajillos, que apenas poseen un fino barniz de conocimientos, ensucian el digno trabajo de tantos y tantos discretamente empeñados en la lucha por conocer, haciendo caer a la figura del hombre de ciencia a la altura de los fantechos que aparecen en programas basura de TV.*

*El camino del saber científico no es*

*rectilíneo. Verdades aceptadas, se ven puestas en entredicho y a menudo abandonadas por evidencias contrarias de mayor peso. Y esos necesarios vaivenes en la ciencia son fructíferos, en ellos se fundamenta el conocimiento humano. No hay axiomas, sino pruebas que consideradas objetivamente arrojen luz sobre los problemas. Por eso, no es de extrañar que recientemente leyéramos que los autores de una prometedora teoría sobre el tratamiento del SIDA, difundida hace aproximadamente 3 años, reconocieran después su error. Este tipo de rectificaciones es saludable y se reciben con satisfacción por el hombre de ciencia responsable.*

*Por ello, aún resulta más insultante la arrogancia necia de quien sin siquiera tener resultados preliminares comprobables, afirma haber logrado éxitos espectaculares. ¿Cuántos tratamientos milagrosos sobre el cáncer, sobre el SIDA, sobre la esterilidad, se han llegado a anunciar? Tales afirmaciones son perversas, pues llevan al enfermo y a sus familiares a manos de desaprensivos, fracturando la confianza de la sociedad en sus científicos y en quienes honestamente se dedican al quehacer médico. Tristemente, una titulación universitaria o una bata blanca, no garantiza la honestidad de quien la ostenta.*

*La Medicina Reproductiva, en cuanto formidable generadora de expectación y esperanzas, es campo abonado para estas prácticas de charlatanería y ruindad. Sería, pues, deseable que existiera una fluida comunicación entre medios y ciencia, para que se divulguen los avances biomédicos de manera veraz. Sólo así, se dignificaría tanto la prensa como la ciencia. La sociedad, destinataria final de ambas actividades tendría algo menos de lo que preocuparse, lo que dado los tiempos que corren no es poco.*

## ÉTICA Y TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Cristina Camprubí, Joan Blanco.

Unitat de Biologia Cel·lular. Facultat de Biociències. Universitat Autònoma de Barcelona

En el diccionario de la Real Academia Española se define la ética como la parte de la filosofía que trata de la moral y de las obligaciones del hombre. Moral presenta más acepciones, quizás la que más nos interesa es la que sigue: Ciencia que trata del bien en general, y de las acciones humanas en orden a su bondad o malicia.

La bondad y la malicia, el bien y el mal son palabras contundentes, subjetivas al individuo, a la sociedad, al tiempo; palabras mutantes. Las técnicas de reproducción asistida (TRAs) se enmarcan dentro de las acciones humanas. Partimos de la creencia de la bondad de las TRAs que fueron creadas para solu-

cionar problemas de infertilidad y actualmente, útiles en la prevención y tratamiento de enfermedades de origen genético, siendo conscientes que no es una creencia compartida por algunos sectores de la sociedad.

Esa inclinación a hacer el bien puede tener diferentes interpretaciones, entre otras implica garantizar la seguridad de progenitores y descendencia. Para alcanzar este objetivo se deben cumplir dos premisas: la participación de profesionales cualificados y la investigación.

La investigación implica conocimiento y éste es la única herramienta que nos permite realizar un juicio objetivo. La Ley

enjuicia lo que está bien y lo que está mal dentro de una coyuntura social. La Ley intenta reflejar la percepción del bien y el mal de una sociedad y por tanto refleja una ética social limitando en algunas ocasiones la ética individual del paciente y la del profesional.

Al final debemos plantearnos si creemos en una ética social o en una ética individual. Nosotros creemos en la autorregulación considerando que lo aceptable o inaceptable forma parte de las creencias y valores personales, a pesar que puede conllevar situaciones difícilmente aceptables por el conjunto de la sociedad.

## ÉTICA PROFESIONAL DEL EMBRIÓLOGO CLÍNICO EN LOS PROGRAMAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

M<sup>a</sup> Carmen Gonzalvo, Ana Clavero, Antonio Garrido, María Sánchez, Sonia Calderón, Ana Sánchez, Ana Gallego, Marta Pérez, José Antonio Castilla.

U. Reproducción, HU Virgen de las Nieves, Granada.

Por Ética se entiende aquella "ciencia que estudia la bondad o maldad de los actos humanos" y por profesión "la actividad personal, puesta de una manera estable y honrada al servicio de los demás y en beneficio propio, a impulsos de la propia vocación y con la dignidad que corresponde a la persona humana".

El embriólogo clínico ocupa una posición que le confiere deberes y derechos especiales, que emanan de las definiciones anteriores. Así, y dado que dentro de la finalidad de su profesión se encuentra el bien común, la capacitación que se requiere para ejercer este trabajo, está siempre orientada a un mejor rendimiento dentro de las actividades especializadas para el beneficio de la sociedad. Sin este horizonte y finalidad, nuestra profesión se convertiría en un medio de lucro o de honor, o simplemente, en el instrumento de la degradación moral del propio sujeto.

Un embriólogo debe tener una pre-

paración especial en triple sentido: capacidad intelectual, capacidad moral y capacidad física. La capacidad intelectual consiste en el conjunto de conocimientos que dentro de su profesión, lo hacen apto para desarrollar trabajos especializados. Estos conocimientos se adquieren básicamente durante la licenciatura y posterior especialización, pero se deben actualizar mediante una adecuada formación continuada. Dentro de estos conocimientos hablamos no solo de científicos y técnicos, sino también en materia de seguridad biológica y laboral. Aunque la gestión y organización de la salud y seguridad en el medio laboral recae fundamentalmente en el empresario, el éxito en la implantación de cualquier acción en este sentido precisa de la intervención de los trabajadores, en este caso del embriólogo. La capacidad moral es el valor del profesional como persona, lo cual dota de dignidad, seriedad y nobleza a su trabajo, digna del aprecio de

todo el que encuentra. Abarca no sólo la honestidad en el trato, si no también en el sentido de responsabilidad en el cumplimiento de lo pactado. Y por último, la capacidad física se refiere principalmente a la salud y a las cualidades corpóreas, que siempre es necesario cultivar, como buenos instrumentos de la actividad humana.

Otras obligaciones profesionales serían: de información, obteniendo el consentimiento informado (CI) y emitiendo informes y certificados; y de confidencialidad, acreditando una correcta cadena de custodia. En cuanto a la obligación de resultados que se considera en otros niveles de la asistencia sanitaria (cirugía estética) hay que aclarar que cada día se contempla con más frecuencia esta obligación de resultado sobre todo en aquellas actividades profesionales en las que el deber de diligencia exigible es superior en razón de

la especialidad médica que se realiza, como puede ser el caso de técnicas diagnósticas (por ejemplo: análisis de semen) de cuyo resultado e interpretación posterior pueden derivarse importantes repercusiones diagnósticas y terapéuticas.

Por otra parte, otra finalidad del ejercicio profesional es el beneficio propio. En muchos tratados de ética profesional no se insiste en este beneficio porque en general todo el mundo se decanta por naturaleza a la consideración de su provecho personal.

Pero en el caso del embriólogo clíni-

co no está de más recordar el sacrificio que entraña nuestra profesión, debido a los horarios en festivos y fines de semana, o la alta responsabilidad que se adquieren en la técnicas de reproducción asistida. Nuestra profesión también gracias a esos mismos trabajos, deja, al final de cuentas, una de las satisfacciones más profundas.

Por último, creemos que cualquier profesional debe ser solidario, propiciando la asociación de los miembros de su especialidad. La solidaridad es uno de los medios más eficaces para incrementar la calidad del nivel intelectual y moral de los asociados.

tual y moral de los asociados.

El embriólogo debe actuar según la moral establecida, por lo que debe evitar defender causas injustas, usar sus conocimientos como instrumento de crimen y del vicio, producir artículos o dar servicios de mala calidad, proporcionar informes falsos, etc.

Un embriólogo que actúe según lo comentado anteriormente generará confianza y prestigio, que a su vez serán estímulos que lo impulsarán en el recto ejercicio de su profesión.

## BIOÉTICA Y REPRODUCCIÓN ASISTIDA HUMANA

Carmen Ochoa.

Clinica Euskalduna, Bilbao

Resulta difícil hablar de ética, máxime cuando no hemos recibido en nuestras formaciones universitarias ninguna docencia sobre como estructuramos los juicios éticos.

En ocasiones, durante algunas conversaciones, he escuchado que no es necesario formarse en estos conceptos, dado que el sentido común y la honradez profesional son suficientes para resolver de manera exitosa la gran mayoría de las dudas éticas que se nos puedan plantear en nuestro quehacer diario. La verdad es que discrepo, cuando menos parcialmente de esta idea, porque entiendo que no es suficiente. En primer lugar, el sentido común no es tan común entre los humanos, si nos referimos a su frecuencia de aparición. Y en segundo lugar, la honradez profesional no es un concepto ni universal ni homogéneo para todas las personas, y por supuesto tampoco para nosotros, profesionales de la Reproducción Humana. No es universal, porque por desgracia no todo el mundo es honrado y no es homogéneo, porque, determinados comportamientos se van permitiendo con el paso del tiempo, en función de su frecuencia de uso.

Aunque, es cierto que, cuando alguien tiene sentido común y honradez, tiene mucho camino ganado.

Los acontecimientos científicos de los últimos años nos obligan a tener que posicionarnos ante situaciones que además de responder a fundamentos jurídicos, deben hacerlo a fundamentos éticos.

Es fácil pensar que aquello que nos atañe directamente a nosotros debemos resolverlo sólo nosotros. Pero esto, produce inevitablemente una respuesta sesgada de dicha situación. Es fácil pensar que el límite ante la permisividad o no de un procedimiento está dentro de los articulados de las normas legales. No existen normas éticas escritas a modo de leyes de obligado cumplimiento: eso sería fácil de cumplir...ó de incumplir.

Necesitamos aprender cómo se estructura el razonamiento ético y cómo deliberar sobre lo que se debe y no se debe hacer, argumentando, escuchando, incorporando otros puntos de vista. Necesitamos saber qué partes deben estar razonablemente implicadas.

Necesitamos saber qué y a quién podemos preguntar.

Hacemos juicios éticos cotidianamente y decidimos actuar según ellos: qué está bien, qué está mal, qué es lo bueno para mí, qué es lo correcto en este caso, qué dice la ley al respecto, cómo actúan mis colegas, etc. Sin embargo, nos resultaría muy difícil exponer en qué fundamentamos nuestras decisiones y qué método utilizamos para llegar a ellas. Esto es el trasunto de la actual bioética: ¿de esto va!

Nuestra sociedad avanza científica y tecnológicamente a gran velocidad. Mientras no se nos generen nuevos problemas nuestro hábito de tomar decisiones continuamente, junto a las normas jurídicas y a nuestra experiencia acumulada son herramientas suficientes. Pero cuando en este continuo devenir de conocimientos y técnicas se generan nuevos problemas morales - ¿qué debemos hacer? ¿qué es lo bueno? ¿qué es lo correcto?- ¿no deberíamos estar mejor preparados para afrontar nuestras responsabilidades? Cada vez será más frecuente acudir a los Comités de Ética y será más frecuente

# TODO LO QUE NECESITA DESDE LA PUNCION....

Agujas



Una gran variedad de agujas de alta calidad especialmente diseñadas para la aspiración de ovocitos. Sólomente UNA razón: Optimizar su posibilidad de éxito.

Bomba de aspiración



Pipetas



Medios de cultivo



Mini-incubador



## ...HASTA LA TRANSFERENCIA

La variedad perfecta de catéteres de transferencia para finalizar el "Arte del Cultivo de Embriones" con el éxito de un BEBÉ.

Para más información contacte con su representante de COOK Women's Health o con nuestro Servicio de Atención al Cliente: 91 270 26 71.

Catéteres



**COOK**<sup>®</sup>  
Women's Health

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

Carmen Ochoa. *Bioética y Reproducción.*

30

*participar en ellos, pero su existencia no supondrá una exención en nuestra responsabilidad formativa, sino todo lo contrario, nos exigirá un mayor grado de conocimientos sobre la ética en el comportamiento humano.*

*En palabras de la Dra. Mabel Marijuan, profesora de bioética de la universidad del País Vasco (UPV), relacionando el Derecho con la bioética en la Reproducción Asistida, me comentaba que el derecho, en una sociedad democrática, nace de la ética intersubjetiva. De aquello que como ciudadanos hemos decidido convertir en ley, con la intención de dejar bajo el amparo del estado de derecho a todos. Surgiendo así los derechos y deberes.*

*Transformándose en generalización social lo que consideramos aceptable y en prohibición lo que consideramos inaceptable.*

*En el caso de la Reproducción Asistida este mismo razonamiento a veces se basa más en “temores imprecisos” que en pruebas ó razonamientos, de ahí la necesidad de que los profesionales nos involucremos con la intención de disipar temores, argumentando beneficios para las personas sin ocultar nunca los riesgos.*

*Cuando aparece una nueva posibilidad técnica y hay candidatos a optar por ella, debemos pensar, deliberar las consecuencias para toda la sociedad y*

*si esto genera posibilidades de vidas más plenas o por el contrario generará nuevas esclavitudes. Cuando, dentro de las inevitables incertidumbres humanas, se pueda argumentar.*

*El paso siguiente será, sin duda, convertirlo en norma... hasta la próxima vuelta de tuerca de la tecnología, en la que todo volvería a empezar.*

*Lo que nos obliga a los profesionales de la Reproducción Asistida a aprender de las conclusiones de la deliberación ética, no sólo para hacer bien nuestro trabajo, sino para mejorar la vida de los ciudadanos, desde el lugar que nos ocupa.*

## ÉTICA EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Carolina Roméu  
Reproducción Asistida Quirón Zaragoza.

*La ética es la parte de la filosofía que trata de la moral y de las obligaciones del hombre: sería la reflexión sobre las razones que convierten en válidos los comportamientos. Cuando hablamos de Técnicas de Reproducción Asistida (TRAs) la palabra ética alcanza su máximo nivel de ambigüedad ya que una determinada técnica o decisión puede resultarnos moralmente aceptable dependiendo de nuestro contexto social y cultural.*

**1.** *El primer problema ético se presenta en la propia materia prima de las TRAs: el embrión, o siendo científicamente correctos, el preembrión. Es bien conocida la postura de ciertos sectores de la sociedad que defienden el respeto a la vida humana desde el momento de la fecundación, tratando al embrión como persona y concediéndole los mismos derechos que a cualquier otra. Sin embargo, la comunidad científica tiende a primar los hechos biológicos que ven al embrión como un proceso de desarrollo continuo sobre el que debe establecerse una protección progresiva y que únicamente tiene sentido dentro de un*

*proyecto reproductivo pero ¿resulta ética esta postura de protección gradual del embrión? En un principio, creo que nos serviría de gran ayuda establecer unas pautas sobre qué consideramos: vida humana, ser humano y persona humana para de este modo, poder dotar al embrión de unos derechos adaptados a su estatus que como he comentado, irían aumentando de forma progresiva con respecto su propio desarrollo.*

*La vida humana comenzaría en el mismo momento en que se produce la fecundación, con el cigoto, el embrión preimplantacional esta formado por un agregado de células vivas, células humanas que deberían gozar de un estatus de mayor significación que la que pueda tener la sangre o cualquier otro órgano o tejido humano aislado.*

*El ser humano aparecería cuando el aglomerado de células inicia la expresión de factores de diferenciación celular (día 14 post-fecundación), desencadenando la formación de la notocorda que será el inicio del sistema nervioso del embrión, es a partir de*

*este momento cuando el preembrión pasa a denominarse embrión, convirtiéndose en una pequeña persona en potencia.*

*Con respecto a qué consideramos persona humana, se pueden establecer dos niveles: persona física, que correspondería al momento en el que el embrión comienza a adquirir forma humana (denominándose feto) y persona social, que aparecería tras el nacimiento, cuando el bebé comienza a interactuar con la sociedad y viceversa. De hecho, el artículo 30 del Código Civil español dice que para los efectos civiles, sólo se reputará nacido (persona) el feto que tuviere figura humana y viviere 24 horas enteramente desprendido del seno materno.*

**2.** *El segundo problema ético radica en los fracasos de fecundación y/ o implantación embrionaria.*

*Se nos podría plantear la duda sobre la moralidad de generar vida humana sabiendo que existe cierto porcentaje de extinción de la misma, aunque indudablemente podríamos*

alegar que lo que pretenden las TRA es justamente lo contrario, de lo que trata es de apostar por la vida y los fracasos tanto en fecundación como en la posterior implantación del embrión son resultados no deseados.

**3.** La tercera cuestión ética podría presentarse en el momento de seleccionar los embriones a transferir ¿por qué elegimos unos y no otros? ¿estamos discriminando ilógicamente pre-embriones que darían lugar a futuros bebés? En absoluto, la finalidad de la selección embrionaria se fundamenta en lograr transferir aquellos embriones óptimos para su implantación y posterior desarrollo en el vientre materno, no es una selección indiscriminada sino dirigida a potenciar las probabilidades de embarazo.

**4.** Y con respecto a los embriones sobrantes ¿qué hacemos con ellos? ¿qué es lo más correcto? ¿qué es ético? Actualmente las opciones son varias: mantenerlos crioconservados para el uso de la propios cónyuges, donarlos a otras parejas, derivarlos a investigación o simplemente desecharlos. La decisión debe ser tomada única y exclusivamente por la pareja que se somete al proceso reproductivo aunque, sin lugar a dudas, eliminar los embriones sobrantes sería una gran equivocación. Donarlos a otras parejas es una posible solución basada en la propia finalidad de las

TRA, la procreación humana. Por otro lado, nos podrían achacar que la crioconservación afecta a la dignidad del preembrión al quedar este en un estado de sometimiento, frenando su desarrollo vital. Sin embargo, dicha afirmación sería totalmente errónea puesto que lo que se pretende con el almacenaje no es detener su desarrollo sino lograr el futuro embarazo de la pareja mediante el uso de dichos embriones crioconservados. La donación de los embriones sobrantes para investigación es un tema que ha generado y genera mucha polémica, hasta hace poco sólo se permitía la caracterización genética de los embriones con finalidad terapéutica y/o preventiva mediante diagnósticos pre-implantacionales (DGPs).

**5.** Otra duda ética muy de moda actualmente es la investigación y experimentación con células madres embrionarias, procedentes de la ICM del blastocisto, investigación que se presenta como una de las grandes apuestas del futuro; las células pluripotentes del tejido preembriionario pueden utilizarse para producir líneas celulares cuya finalidad es la regeneración de tejidos o, hipotéticamente, órganos para transplantes. ¿Es esta experimentación lícita? ¿sería ético generar embriones cuya finalidad fuera la investigación? La reciente Ley de Reproducción Asistida, Ley 14/2006, contempla la posibilidad de destinar

embriones sobrantes de un ciclo de TRA a investigación con células madre, siempre y cuando se cuente con el consentimiento de la pareja y esta conozca el tipo de experimentación a la que se van a ser destinados sus embriones. Por lo tanto, si la pareja está de acuerdo y vamos a tener la oportunidad de utilizar un material altamentepreciado que de lo contrario se limitaría a permanecer de por vida en un tanque de nitrógeno por qué no adentrarnos en un campo apasionante que puede aportar grandes beneficios a la humanidad.

Un gran maestro me brindó un día la frase perfecta, escueta pero llena de contenido: Hay que creer en el futuro (2). En efecto, la Ciencia no es nociva, lo será el mal uso que hagamos de ella, no debemos temerla e impedir su avance sino someterla a un debate constante, a un control legislativo y a una concienciación ciudadana adecuada.

(1) Código Civil español, Del nacimiento y la extinción de la personalidad civil, Cap.1º, artículo 30

(2) Entrevista al Dr. Egozcue, Mayo 2004

## ÉTICA Y MORAL EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Miguel Ruiz

CREA (Centro Médico de Reproducción Asistida), Valencia

Según el diccionario, la ética se define como aquella parte de la filosofía que se ocupa de la moral, de las obligaciones y de las normas que rigen la conducta humana, de lo que está bien hacer y de lo que no. Dentro de la ética, la bioética surge como aquella disciplina que se ocupa de la aplicación de la ética a los temas de la vida, de los problemas morales relacionados

con los avances en el campo de la biología, de la genética, de la tecnología.

Las nuevas leyes de Reproducción Asistida y de Investigación Biomédica, así como la creación del Comité de Bioética de España, ofrecerán sin duda la posibilidad de avanzar en el tratamiento de muchas enfermedades, pero la autorización de la clona-

ción terapéutica, la utilización de embriones humanos con fines no reproductivos y la selección genética de embriones con fines terapéuticos para terceros, abren sin duda un debate moral en nuestra sociedad.

Nosotros, que somos profesionales de este campo de la medicina, somos simples clínicos y por tanto nuestra

Miguel Ruiz. *Ética y Moral en Reproducción...*

32

misión es hacer aquello que consideremos más adecuado para intentar dar solución a una enfermedad. Pero sinceramente pienso que, aun no siendo filósofos, teólogos, moralistas ni políticos, no debemos cerrar los ojos e ignorar este debate moral.

Deberíamos tener la certeza de que los avances científicos vienen acompañados de un fundamento moral, aunque sólo sea por nuestra propia tranquilidad a la hora de aplicarlos. En pocas ocasiones se valora el progreso como el éxito de algo ético y moral. Lo habitual es valorarlo solo como un logro tecnológico. En los últimos años hemos progresado muchísimo desde el punto de vista tecnológico, pero ¿también desde el punto de vista moral? Uno de los fundamentos de la ética médica es el de *primum non nocere* y la duda moral ante estos tratamientos es si estamos sacrificando a un ser humano con el fin de salvar a otro.

Si este fuera el caso, desde luego el fin no justificaría los medios. ¿Debemos considerar al preembrión como un ser humano? La única forma de responder a este dilema sería conocer exactamente el momento en que empieza esa vida y quizá el momento en que el

embrión adquiere su alma.

¿En el momento en que se fecunda?  
 ¿En el momento en que se divide?  
 ¿En el momento en que se diferencia?  
 ¿En el momento en que se implanta?  
 ¿En el momento en que se forma el encéfalo?

Santo Tomás de Aquino afirmaba, en el 1.200, que no somos seres humanos hasta el octavo mes de embarazo. En el siglo XVII, Thomas Willis, médico inglés profundamente católico, afirmó por primera vez que la imaginación, las emociones, la memoria, los sentimientos... lo que nos diferencia de los animales, no están ubicados en el corazón, sino en el cerebro y estas afirmaciones parecen ser ahora confirmadas por la neurología gracias a la tecnología actual.

Algunos defienden que el preembrión no tiene alma. Que el alma sólo existe si existe el pensamiento y que la sede del pensamiento es el cerebro, y que el cerebro, comienza a desarrollarse dos semanas después de la implantación en el útero materno y que por tanto, antes, "el embrión está desalmado".

Para nosotros, simples clínicos, conocer este hecho (en qué momento debemos considerar al embrión ya un ser humano y no un simple grupo de células) debería ser definitivo, porque diferenciaría de forma tajante entre el hecho de llevar a cabo un tratamiento absolutamente ético o por el contrario, poder tener la sensación de estar sacrificando a un ser humano con el fin de salvar a otro.

Hasta que tengamos este conocimiento, que solo alcanzaremos cuando se desarrolle y perfeccione el "Almímetro Embrionario" (un sistema de lentes especial que se acopla al microscopio invertido y que emite una señal en el momento en que el preembrión adquiere el alma, si es que en algún momento la adquiere), me temo que tendremos que conformarnos con seguir siendo simples clínicos, convencidos de que estamos haciendo un bien para evitar una enfermedad y de que cualquiera de nosotros hubiera estado encantado de haber sido creado para poder salvar la vida a nuestro hermano, e ignorar, no el debate moral, pero sí a quienes nos critican diciendo que nos creemos dioses.

## EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL A DEBATE

Esther Velilla

Centro de Medicina Embrionaria, Madrid

Las técnicas de Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP) de reciente extensión y aplicación en los centros de reproducción asistida no carecen de controversia. Aparecen palabras como 'producción' y 'selección', ya que implican la 'producción' de un número mayor de embriones y la 'selección' de aquellos que estén exentos de una enfermedad hereditaria o síndrome cromosómico. Hay una serie de preguntas que están en debate en muchos sectores de la sociedad ¿Qué es un embrión y que derechos tiene? Para los que nos dedicamos a la reproducción asistida

parece fácil contestar a esta serie de preguntas, consideramos básicamente que un embrión no tiene ente propio, no debe tratarse como 'persona' y por tanto no tiene los derechos legales de ésta.

Ahora bien para ciertos colectivos no es así, y el mero hecho de descartar un embrión preimplantacional por ser portador de alguna enfermedad hereditaria o síndrome cromosómico se considera equivalente a un aborto electivo. Está claro que los embriones que se descartan en su mayoría no terminarán

su desarrollo fetal y los que nacen presentan una vida media muy corta.

Existen tres actuaciones a debate: la selección de embriones histocompatibles con un hijo enfermo, la selección de embriones no portadores de alguna enfermedad hereditaria de aparición tardía y el sexado.

La selección de embriones histocompatibles con un hijo enfermo, técnica actualmente permitida con la nueva ley de reproducción asistida, implica la producción de un número elevado de

embriones ya que se requiere una doble selección: por una parte aquellos embriones libres de la enfermedad genética de la cual son portadores los progenitores y por otra parte aquellos que presenten los mismos antígenos de histocompatibilidad del hijo enfermo.

En este caso estamos hablando de que un determinado número de embriones libres de la enfermedad genética, o sea sanos, serán descartados por el simple hecho de no presentar los antígenos de histocompatibilidad del hermano. Aquí pues se entra en la polémica de la selección negativa de embriones sanos. Por otro lado, los sectores más puristas critican que la creación de un ser vivo debe darse por la voluntad de los padres a tener un hijo y no por la necesidad de curar a uno ya existente. La mayoría de parejas en esta situación así lo alegan pero esta voluntad de otro hijo ¿es una voluntad real o bien es voluntad indirecta por la necesidad de curar al hijo enfermo?, ¿como se puede discernir entre una y otra? A mi parecer es prácticamente imposible ya que la situación real que viven estas parejas impide poder racionalizar y separar estos dos conceptos.

¿Podemos dar la responsabilidad de una vida a un niño? La práctica habitual en un centro de reproducción asistida que se enfrenta a un posible caso de DGP es ofrecer un servicio de soporte psicológico el cual debe certificar la idoneidad de la pareja y ofrecer un buen consejo genético en el cual se informe de las opciones alternativas que ésta presenta, del estado actual de la ley de reproducción asistida y de las opciones reales de éxito. La realidad es bastante dura, las perspectivas de éxito son bajas, 3 de cada 4 embriones serán sanos o 1 de cada 2 embriones serán libres de la enfermedad (en el mejor y en el peor de los casos) y 3 de 16 serán histocompatibles así que se estima que se requieren 20 embriones para tener 1-2 embriones para transferir.

Esto sin tener en cuenta que nos encontramos en la mayoría de ocasiones con que la mujer presenta una edad avanzada, reproductivamente hablando, con lo que nos disminuye la respuesta ovárica y aumenta la posibilidad de generar embriones afectados de algún síndrome cromosómico compatible o no con la vida. Según sea el caso se les debe informar también de la posibilidad de tener que realizar varios ciclos de FIV para acumular embriones para el DGP y de la posibilidad de presentar anomalías cromosómicas relacionadas con la edad materna.

El segundo paso es informarles de la necesidad de la realización de un estudio de informatividad previo de la pareja, estudio que tiene una duración de 3 a 6 meses dependiendo de la dificultad técnica que presente la enfermedad a estudiar. El tercer paso es informar del estado actual de la legislación en este aspecto donde se describe que 'requerirá autorización expresa, caso a caso, de la autoridad sanitaria correspondiente previo informe de la CNRHA (comisión nacional de reproducción humana asistida)'. Tras la aprobación de la Ley 14/2006 de 26 de Mayo es estrictamente necesario el pedir informe escrito de la CNRHA para la realización de un DGP para determinados casos y al no ser un órgano con una actividad diaria hace la aplicación de la ley bastante invariable.

Se debe emitir un informe a la consejería de sanidad de la comunidad autónoma que pertenezca, la cual remite el informe al ministerio de sanidad al cual pertenece la CNRHA, el cual convoca a la CNRHA para que se reúna, estudie el caso e emita un informe de aprobación o negación del caso. Una de las preguntas más frecuentes que realizan los pacientes es ¿Cuanto tiempo va a tardar este proceso? y la respuesta siempre es la misma 'no se sabe, es bastante variable' y es que la CNRHA no es en la actualidad un órgano con una actividad diaria sino que se reúne 2-3 veces al año (¿no debería adaptar-

se también a la ley?). Debemos tener en cuenta que en estos casos es una carrera contrarreloj, estamos hablando de que el hijo enfermo presenta una esperanza de vida corta de 1-2 años como mucho.

En este tiempo se tiene que pedir informe a la CNRHA, que se reúna y lo apruebe (3 meses en el mejor de los casos), realizar el estudio de informatividad previo (4 meses), iniciar el ciclo de DGP (2-3 meses si se requiere mas de un ciclo de FIV) obtener embriones sanos e histocompatibles, conseguir un embarazo y los 9 meses de embarazo. El panorama es bastante desalentador, en muchos casos se apuesta al todo o nada ya que prácticamente sólo se puede realizar un intento.

En los casos de enfermedad hereditaria de aparición tardía entramos otra vez en la necesidad de pedir informe a la CNRHA y lo que esto implica. Ahora bien, ¿qué entendemos por 'enfermedad'? Fernando Abellán (2006) en la Revista Iberoamericana de Fertilidad comenta el informe de Hastings Center de Nueva York y cita 'La salud se define como ausencia de males de consideración y, por tanto, la capacidad de una persona de seguir sus metas vitales y desenvolverse adecuadamente en su contexto social y laboral habituales'. Si seguimos esta definición para la aplicación del DGP podemos entrar en eugenesia, ¿dónde poner el límite? Por una parte, para lo que a una persona representaría una minusvalía menor para otra le puede comprometer seriamente su forma de vida, me refiero a que una minusvalía física en nuestra sociedad puede ser fácilmente solventable y esa persona puede tras un proceso de adaptación seguir con su entorno familiar, social y profesional mientras que esa misma minusvalía en una sociedad menos avanzada puede implicar un rechazo completo por parte de la sociedad, imposibilitarle la actividad diaria y producirle la muerte.

Por otra parte, hablamos de enferme-

dades de expresión tardía, algunas empiezan a desarrollarse en la vida adulta (algunas a partir de los 50 años), y de expresión variable. Hasta hace poco vivíamos una media de 60 años y en ciertos lugares aún se mantiene, quiere esto decir ¿qué no existe el derecho a vivir 50 años en plena salud? ¿Quién nos dice que esa persona no morirá antes de expresar la enfermedad por otra causa? ¿Qué pasa con el derecho de los padres a no condenar a su hijo a una cierta dolencia? Si es de expresión variable, ¿quien nos dice que aún manifestando la enfermedad no podrá tener una calidad de vida razonable?

Lo cierto es que en determinados casos no podemos predecir el futuro de esa persona y por tanto es difícil poner el límite. Hubo un caso de DGP por enanismo aceptado judicialmente, alegaron que su 'dolencia' les imposibilitaba la actividad diaria y la aceptación en la sociedad ¿es esta una buena razón para la realización de un DGP o bien es el principio de la selección a la carta? Con el DGP no sólo podríamos selec-

cionar niños no afectados sino que se podría llegar a eliminar por completo la enfermedad de la historia familiar, ¿que hay de malo en ello?

Y finalmente, otra aplicación del DGP es la selección de sexo. La mayoría de países coinciden en la selección del sexo para aquellos casos de enfermedades hereditarias ligadas al sexo pero no es este tipo de selección a la que me refiero, es a la 'selección por selección', al querer someterse a técnicas de FIV con DGP no por ser estériles y requerirlas sino por el mero hecho de querer tener un 'niño' o una 'niña'.

En España la ley no lo permite mientras que en otros países sí. Tenemos que tener en cuenta en que sociedad vivimos, en nuestra sociedad la selección de sexo no implicaría un desequilibrio ya que tanto se requerirían niños como niñas. Hay quien apuesta por la selección del sexo sólo en casos de balance familiar, pero en todos los casos estaríamos descartando embriones sanos simplemente por el hecho de no ser

del sexo deseado ¿Podríamos vincular la aceptación del sexado a la condición inamovible de donar los embriones del sexo no deseado a parejas estériles?

Esta a primera vista sería una buena condición pero las parejas deben presentar los requerimientos legales para que un embrión sea donable lo que reduce enormemente los casos.

Tenemos que tener presente que la legislación siempre va por detrás de los avances de la sociedad, y que estamos delante de una metodología con grandes perspectivas. Debemos ser conservadores en cuanto a su aplicación, dejar madurar la sociedad y que la CNRHA actúe como ente regulador para discernir entre lo que se debe o no hacer.



## POLARIDAD DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO INICIAL

### *Polarity during early embryo development*

Ignacio Santiago Álvarez-Miguel;<sup>1,2</sup> Eva María Miguel-Lasobras; Francisco Javier Martín-Romero; José Antonio Domínguez-Arroyo, Ernesto<sup>1</sup> González-Carrera

<sup>1</sup>Instituto Extremeño de Reproducción Asistida (IERA). Badajoz. <sup>2</sup>Grupo de Investigación en Reproducción y Desarrollo (REDES). Departamento de Biología Celular. Universidad de Extremadura. Badajoz.

Correspondencia: Ignacio Santiago Álvarez Miguel: isalvarez@iera.es

**RESUMEN:** La visión más aceptada del desarrollo embrionario inicial de los mamíferos es que las células que se originan son equivalentes y que por lo tanto no hay diferencias entre unas zonas y otras del embrión antes de la implantación. Sin embargo, muchos organismos establecen polaridad, es decir diferencias entre zonas distintas del embrión, desde etapas muy tempranas del desarrollo e incluso en el huevo antes de la fecundación. En este trabajo revisamos las evidencias que se han ido acumulando que abogan por una polarización inicial de los embriones de mamíferos, analizando también las hipótesis que explican el origen de esta polaridad y el significado que puede tener sobre los procesos de fecundación in vitro.

**PALABRAS CLAVE:** Ejes embrionarios, blastocisto, segmentación, determinación celular, fecundación, genes maternos, reproducción asistida.

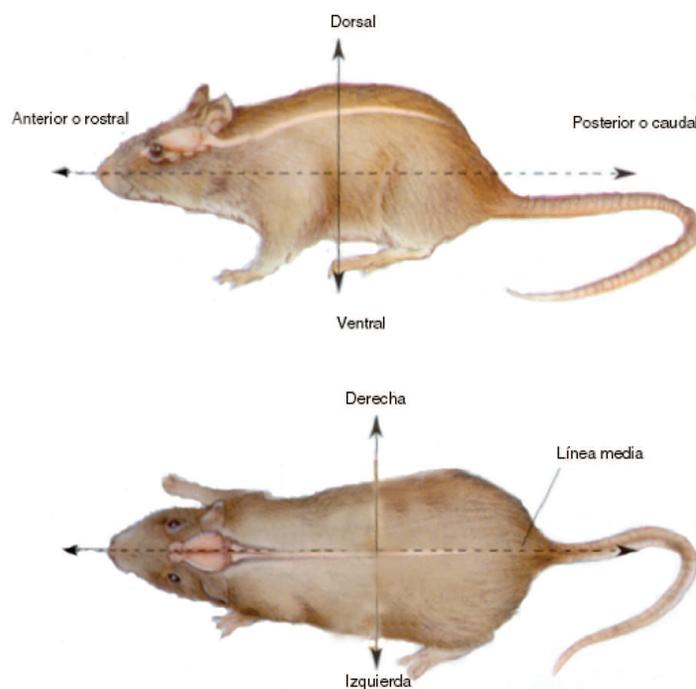
**ABSTRACT:** The accepted view of the early mammalian embryo development is that all the cells are similar and no differences can be found among regions of the embryo before implantation. Nevertheless, most of the animals are polarized from very early stages of development, even in the egg before fertilization. In this review we pretend to show the evidences in favor of an initial polarity in the mammalian embryo, dealing also with the hypothesis about its origin and the significance on in vitro fertilization processes.

**KEY WORDS:** Embryonic axis, blastocyst, cleavage, cell differentiation, fertilization, maternal genes, assisted reproduction.

### 1. Polaridad y ejes embrionarios

Todos los organismos durante su desarrollo establecen polaridad, es decir crean diferencias entre polos opuestos del embrión. Los mecanismos de desarrollo que conllevan la formación de un organismo van a necesitar de estos puntos de referencia para establecer diferencias en el destino de las células según la posición que ocupen con respecto a estos polos.

La polaridad es necesaria principalmente para el establecimiento de los tres ejes corporales que definen la anatomía de la mayoría de los animales y que se corresponden con el eje antero-posterior (A-P), el dorso-ventral (D-V) y el eje de simetría bilateral de izquierda-derecha (I-D) (Figura 1).



**Figura 1.** Dibujo de un roedor donde se han representado los principales ejes espaciales que conforman la anatomía corporal.

Ignacio Santiago Álvarez-Miguel et al. Polaridad Durante el Desarrollo ...

36

Los mecanismos subyacentes a la formación de estos ejes han sido motivo de estudio con profundidad en la mayoría de los grupos animales. Sin embargo existe una gran controversia con respecto al momento del inicio de su formación en el embrión y por lo tanto en el comienzo de la polaridad embrionaria. Un buen ejemplo es el caso de la localización de los órganos según el eje izquierda-derecha. Indudablemente, la posición del corazón, hígado, intestino e incluso del cerebro se ajusta a este eje con unos órganos situados en un lado y otros en el contrario. No se conocía el momento del inicio de esta disposición asimétrica hasta que estudios recientes en embriones de ratón y de gallina han comprobado que la adquisición de diferencias entre la izquierda y derecha se produce en las fases iniciales de la gastrulación y gracias a una señalización compleja (Stern and Wolpert, 2002; Wood, 2005).

En la mayoría de los invertebrados, los primeros síntomas de polaridad y por lo tanto el establecimiento de los

ejes embrionarios ocurre antes de la fecundación (Roth, 2003). El caso más estudiado es, sin duda, el de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. En estos organismos la disposición de ciertas proteínas e incluso de RNAm en el huevo presenta ya una polarización debido a que estos materiales se depositan por las células de soporte del ovario de manera desigual entre un polo y el opuesto del huevo durante su formación.

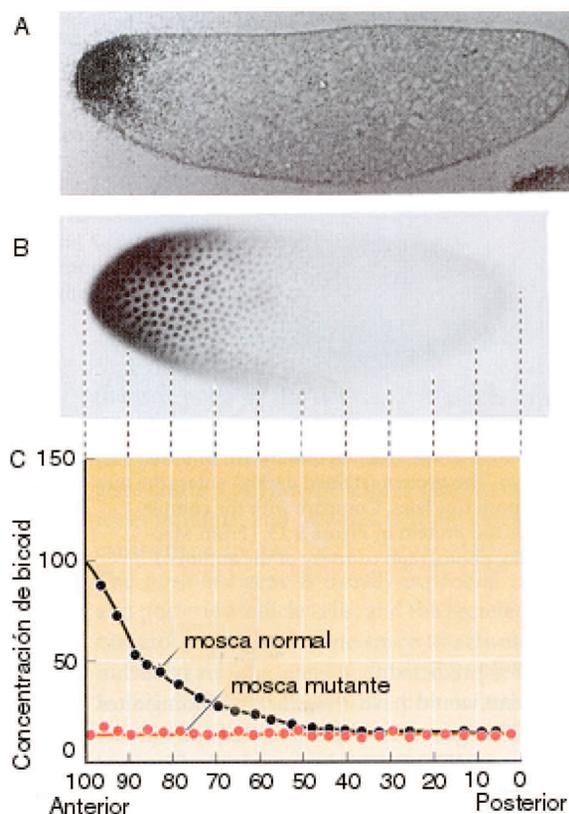
Este es el caso del RNA mensajero que codifica para la proteína denominada bicoid, un factor de transcripción que regula la expresión de otros genes y que se deposita en un gradiente entre un polo y el opuesto del huevo de la mosca (Gurdon, 1992). Las células que posteriormente se originan en la zona del huevo con mayor concentración de bicoid darán lugar a la zona anterior de la mosca (cabeza) y las que derivan del polo opuesto con poca cantidad de bicoid darán lugar a la región posterior del organismo (cola). El papel del gen bicoid en el establecimiento del eje A-P

queda comprobado por la existencia de mutantes defectivos en este gen y que por lo tanto producen huevos de mosca que no poseen bicoid. El resultado de esta mutación son embriones que no son capaces de formar cabezas y que dan lugar a larvas de moscas con dos colas (de ahí el nombre de bicoid).

Este caso no es único, y el número de moléculas que provenientes de la madre actúan en las primeras fases del desarrollo son muy numerosas y reciben en conjunto el nombre de genes o factores maternos.

Muchas de estas moléculas presentan ya un grado de polaridad en el huevo antes de la fecundación y en *Drosophila* explican la formación del eje A-P y también del eje D-V, además de otros procesos de desarrollo como la organización de la larva en segmentos corporales o la formación de las células de la línea germinal en el extremo posterior del embrión (Leptin, 2004).

Por lo tanto, la distribución asimétri-



**Figura 2.** Gen maternal bicoid en el desarrollo de la mosca *Drosophila*. Mediante técnicas inmunocitoquímicas se ha podido comprobar que esta proteína se concentra en un extremo o polo del huevo (A) y que va a ser heredada por las células que se forman en ese polo anterior (B). La cuantificación de los niveles de proteína tanto en moscas silvestres como en mutantes (C) pone de manifiesto que los embriones defectivos en este gen y que producen larvas con dos colas no forman estos gradientes de concentración de bicoid entre los polos anterior y posterior. Modificado de Gilbert, 2003.

ca de ciertas moléculas entre polos opuestos del huevo se transformará en diferentes destinos celulares porque las células adquieren determinantes distintos dependiendo del citoplasma que hereden durante las divisiones celulares. Este mecanismo de desarrollo podemos denominarlo mosaicismo y significa que desde el comienzo de la segmentación las células están predestinadas y no son por tanto equivalentes (el embrión es un mosaico de células con composición citoplasmática distinta). Además de los invertebrados algunos vertebrados, como es el caso bien estudiado de los anfibios, presentan también este tipo de genes maternas y establecen diferencias entre distintos polos del huevo antes de la fecundación (Zhang et al., 1998).

Sin embargo, en los anfibios los determinantes maternas especifican un eje que en el desarrollo no se corresponde exactamente con el futuro eje antero-posterior, sino más bien con el futuro eje dorso-ventral y a este eje embrionario inicial se le denomina eje animal-vegetal, con diferencias claras en tamaño y destino futuro de las células entre una zona y otra (formando blastómeros animales y vegetales).

En contrapartida se piensa que la mayoría de los vertebrados, incluidos todos los mamíferos, no dependen de estos efectores maternas y el desarrollo de los ejes embrionarios depende de interacciones celulares que se producen durante el desarrollo mucho después de la fecundación.

En estos casos se asume que tanto el huevo (óvulo) como el embrión durante las primeras divisiones embrionarias, no poseen ningún signo de polaridad. Posiblemente esta es la idea que se nos ha enseñado a la mayoría de los profesionales que trabajamos en reproducción durante nuestra formación académica. Este mecanismo de desarrollo puede denominarse regulativo (en contrapartida al modelo de mosaico) ya que el destino de las células que se van originando no está fijado y puede modificarse durante el desarrollo. Parece ser por tanto que durante la evolución los grupos de animales que denominamos superiores, han perdido la capacidad de establecer una polaridad en el huevo o en las fases iniciales del desarrollo

y que el proceso de establecimiento de los ejes se produce mediante mecanismos distintos a los que utilizan los denominados vertebrados inferiores y los invertebrados. Según este modelo, la visión aceptada del desarrollo inicial en mamíferos y por tanto en la especie humana, es que las células conseguidas durante las primeras etapas del desarrollo embrionario son todas equivalentes y que los primeros signos de polaridad no aparecen hasta la formación del blastocisto (o incluso más adelante). Además, los ejes embrionarios no se establecen hasta el proceso de gastrulación en el epiplasto embrionario derivado de la masa celular interna (MCI) y mediante interacciones celulares complejas (Stern, 2006). Las evidencias más firmes que siguen soportando este modelo regulativo se basan en la plasticidad o potencialidad que poseen las células de los mamíferos antes de la implantación (Zernicka-Goetz, 2006). Es conocido que las blastómeros producidas por las primeras divisiones pueden ser reemplazadas entre sí o incluso se pueden eliminar sin que aparentemente se altere el desarrollo embrionario y por lo tanto son equivalentes (sin polaridad).

Actualmente, la teoría regulativa es mantenida por muchos investigadores (Motosugi et al., 2005), pero se acumulan evidencias experimentales que sugieren una diferencia (polaridad) entre las distintas zonas del embrión en la etapa de blastocisto, mórula e incluso a partir de la primera división mitótica del cigoto. Si estas evidencias experimentales se van confirmando, implicaría que las blastómeros poseen ya una determinación para producir unas ciertas regiones del futuro embrión. Esta nueva visión obligaría a reevaluar el impacto que algunas técnicas parejas a la fecundación in vitro (FIV), como es el caso del diagnóstico genético preimplantacional (DGP), pueden suponer sobre el desarrollo embrionario y el éxito de la reproducción asistida. A continuación se revisarán las evidencias que ponen de manifiesto la existencia de polaridad en las fases previas a la implantación en los embriones de mamíferos, centrándonos en los roedores como modelo experimental más utilizado y haciendo referencia a los datos conocidos y confirmados en humanos.

Como secuencia lógica se utilizará una cronología retrospectiva desde la fase de blastocisto hasta el huevo (óvulo). Por último se comentarán los datos existentes sobre los posibles mecanismos que establecen esta polaridad inicial y su significado embrionario.

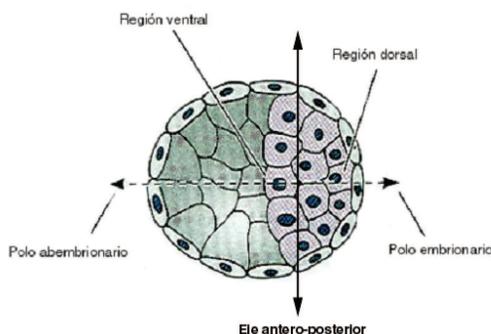
## 2. Polaridad embrionaria antes de la implantación

### 2a. Blastocisto

Como se ha mencionado anteriormente, los tres ejes principales del organismo se establecen después de la implantación embrionaria durante la gastrulación. Indudablemente en la gastrulación se inicia la formación de estructuras equiparables a las del organismo definitivo (sistema nervioso, tubo digestivo, corazón, etc.) y por lo tanto los ejes embrionarios son identificables. No es cuestión de tratar aquí la importancia de la gastrulación pues queda fuera del objeto de este trabajo, pero sí que hay que resaltar que cualquier polaridad previa a este momento ha de ser culminada por el embrión durante la gastrulación (Ang and Constam, 2004). De hecho esta fase se considera como el momento en el que la estructura definitiva del organismo se establece y por lo tanto uno de los momentos más trascendentales del desarrollo embrionario (Stern, 2006). Sin embargo, durante la segmentación celular y la formación de la blástula es decir, durante las etapas pre-implantatorias, se pueden distinguir una serie de asimetrías (polaridad) que pueden finalmente corresponderse o no con los futuros ejes corporales (Rossant, 2004).

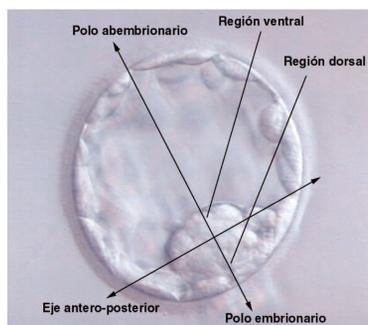
El blastocisto de mamíferos presenta claramente un eje entre la zona donde se encuentra la masa celular interna (MCI) y la zona opuesta sin MCI. A estas zonas del blastocisto se les denomina polo embrionario (Em) y polo abembrionario (Ab) respectivamente y es claramente el primer eje de polaridad embrionaria que puede distinguirse claramente en el embrión de mamíferos (Gardner, 1997; Motosugi et al., 2005). Este eje divide a las células del trofoectodermo en dos grupos, las cercanas a la MCI (trofoectodermo polar) y las alejadas de la misma (trofoectodermo mural) que tendrán destinos diferentes en el

organismo. Algunos autores han analizando con más detalle la disposición de la MCI y han descrito que presenta ya una cierta asimetría que la hace asemejarse a un balón de fútbol americano (oval y aplanado). Aunque no existen pruebas concluyentes se ha establecido una correlación entre esta asimetría de la masa celular interna con la formación del futuro eje antero-posterior en el embrión. Esto se debe a que el eje alargado de la MCI coincide aproximadamente con el eje del cilindro embrionario que se forma después de la implantación y que es a su vez un antecedente



del futuro eje antero-posterior (Weber et al., 1999).

Además, con respecto a la disposición de las células de la MCI, pueden identificarse células más cercanas a la cavidad o blastocelo y otras en contacto o cercanas al trofoectodermo. De nuevo existen evidencias que esta disposición se corresponde con el futuro eje D-V, siendo las células que limitan la cavidad del blastocisto las futuras células endodérmicas (ventrales) del embrión (Weber et al., 1999). Por lo tanto, aunque la formación del eje antero pos-



terior (y el resto de los ejes embrionarios) se produce por complejas interacciones celulares y moleculares después de la implantación parece que pueden ser delineados retrospectivamente a la fase de blastocisto (Figura 3).

Una cuestión importante que puede plantearse con respecto a esta polaridad es si estos ejes observables en el blastocisto se producen de forma aleatoria con respecto a las células de la mórula o si por el contrario están pre-dispuestos desde etapas previas del

**Figura 3.** Representación e imagen real equivalente de los ejes de polaridad que pueden identificarse claramente en un blastocisto. Se indica también su posible correspondencia con los futuros ejes espaciales del organismo definitivo. Esquema modificado de Gilbert 2003.

desarrollo. Como se verá más adelante el eje Em-Ab puede verse reflejado en la estructura embrionaria e incluso puede trazarse retrospectivamente al cigoto y el óvulo por lo que la polaridad embrionaria ha de ser analizada desde etapas previas a la formación del blastocisto.

## 2b. Polaridad durante la segmentación

Aunque existen trabajos recientes que abogan por un destino azaroso de las blastómeras iniciales con respecto al blastocisto (Alarcón and Marikawa, 2003) y por lo tanto que el embrión en fase de mórula no presenta ninguna polaridad (Tarkowski and Wroblewska, 1967; Motosugi et al., 2005), las evidencias que se acumulan a favor de una predisposición inicial desde las primeras divisiones celulares son tan numerosas que actualmente no podemos negar que los embriones de mamíferos antes de la formación del blastocisto presentan una cierta polaridad.

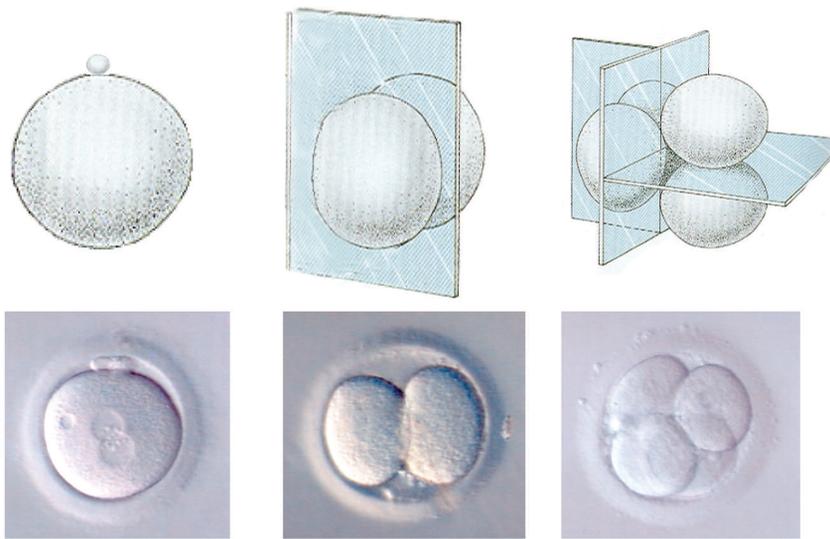
Las primeras aportaciones a este concepto se deben a observaciones puramente morfológicas que claramente in-

dican una regularidad en el proceso de formación y distribución de las cuatro primeras blastómeras producidas durante el desarrollo y que no puede ser justificada por mero azar.

Esta disposición ortogonal con tres células en un plano y otra desplazada ha de ser explicada a su vez por una disposición ordenada y secuencial de los planos de división celular que se producen después de la fecundación (Edwards and Hansis, 2005). Esta orientación particular de los planos de división y la colocación de las blastómeras ha sido muy estudiada en embriones de ratón y humanos (Gardner, 2002). Estos planos de división se producen y definen con respecto a la posición del corpúsculo polar (CP) y por analogía con otros grupos de animales se define a este eje entre el polo del cigoto que posee el corpúsculo y el opuesto como el eje animal-vegetal (A-V) del embrión. Podemos por tanto asignar planos de división meridionales si corresponden a una división que coincide con este eje embrionario o planos ecuatoriales si se dispone en sentido perpendicular.

Sistemáticamente la primera división se produce de forma meridional y produce dos blastómeras simétricas y equivalentes en su contenido de citoplasma animal y vegetal. La segunda división se produce con el mismo eje en una de las blastómeras (generalmente la primera que se divide) creando de nuevo dos células equivalentes en cuanto a su contenido citoplasmático animal-vegetal, pero la otra blastómera realiza una división ecuatorial creando dos células, una con contenido citoplasmático exclusivamente animal (célula superior) y otra con contenido exclusivamente vegetal (Figura 4). Esta disposición ordenada es constante y esta provocada por la orquestación de los planos de división en las primeras divisiones mitóticas (Gardner, 2002).

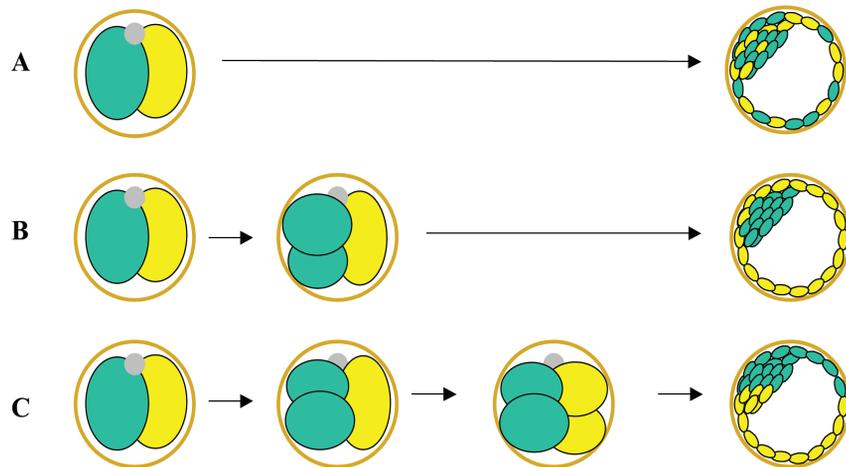
Después de estas tres divisiones, las células siguen produciéndose de forma ordenada y van disponiéndose en capas internas y externas pero con procedencias distintas. Se acepta que las células que se quedan situadas en la periferia darán lugar al trofoectodermo, mientras que las que quedan en el interior darán lugar a la MCI (Piotrowska-



**Figura 4.** Secuencia de divisiones que sistemáticamente se llevan a cabo para dar origen al embrión de 4 células. La primera división se produce según el eje meridional (animal-vegetal) y origina dos células equivalentes. La segunda división en una de estas blastómeras sigue el mismo patrón, pero en la otra el plano de división es perpendicular (ecuatorial), denotando un comportamiento distinto y por tanto una asimetría entre las dos primeras blastómeras que se producen en el desarrollo. En la parte inferior se muestran fotografías de nuestro laboratorio con embriones equivalentes a los mostrados en los dibujos. Los esquemas se basan en modelos similares de Gilbert, 2003.

Nitsche and Zernicka-Goetz 2005). Esta teoría denominada dentro-fuera ha sido utilizada como modelo para explicar la diferenciación de las células hacia blastocisto dependiendo de su posición azarosa en la mórula sin intervención de la procedencia (la herencia) de cada célula (Chroscicka et al., 2004; y ver esquema A en la figura 5).

Este mecanismo de desarrollo ha sido cuestionado por trabajos en los que se pone de manifiesto que las células están determinadas a formar las zonas del blastocisto más por su origen según las primeras divisiones que por su disposición azarosa en la blástula (Plusa et al., 2005). Las evidencias de esta segunda teoría denominada gobierno por división se basan en los estudios de linaje celular.



**Figura 5.** Representaciones esquemáticas de las posibles teorías sobre el origen de las células del blastocisto con respecto al embrión de dos células. A: Modelo regulativo en el que la disposición final de las células no depende de su origen y por lo tanto se localizan en el blastocisto de una manera aleatoria. B: Modelo totalmente determinado en el que existe una correlación entre las primeras blastómeras y el tipo celular que se formará en el blastocisto. En esta ocasión se ha representado que la célula con división meridional dará origen a la MCI y la otra al trofoectodermo, aunque la situación podría ser la contraria. C: Situación que engloba la mayoría de los casos en los que se ha marcado experimentalmente las células para seguir su linaje. Como puede apreciarse (aunque se produce variabilidad) existe una tendencia clara a una disposición prefijada de los descendientes de las blastómeras iniciales en el blastocisto (descrita en el texto), aunque esta disposición no se corresponde exactamente con ninguno de los ejes descritos para el blastocisto.

Estos estudios consisten en analizar la posición final que ocuparan los descendientes de cada una de las células del embrión inicial en el futuro blastocisto e incluso en el embrión post-implantatorio. Por razones lógicas de experimentación los resultados que se describen a continuación corresponden casi exclusivamente a embriones de ratón pero podemos asumir que debido a la similitud de la segmentación son aplicables también al desarrollo en humanos.

Como se ha dicho, la forma experimental de comprobar que existe un destino predefinido para las blastómeras ha sido mediante el marcaje celular con sustancias vitales que no interfieren en el desarrollo y que pueden ser seguidas a lo largo del desarrollo. Se han utilizado colorantes vitales, marcas de aceite en las blastómeras, e incluso los restos de la cola del espermatozoide (Davies and Gardner, 2002), para seguir a lo largo del tiempo el destino de estas células.

Los análisis de marcaje siempre presentan objeciones técnicas por el abordaje experimental que conlleva, con un gran intervencionismo sobre el embrión (manipulación, introducción de sustancias extrañas, métodos de observación del marcaje como la fluorescencia, etc) y por lo tanto resultan controvertidos. Quizá debido a esto hay que mencionar que existen publicaciones recientes que abogan por un destino azaroso de las blastómeras (Hiiragi and Solter, 2004; Gardner, 2006) sin relación alguna con el eje animal-vegetal del óvulo o el futuro eje embrionario-abembrionario del blastocisto. Sin embargo, la mayoría de las evidencias muestran que aunque no hay un destino fijo de las células en las etapas iniciales del desarrollo, existe una tendencia clara a que los descendientes de ciertas blastómeras ocupen regiones determinadas del blastocisto (y por ende del embrión).

Esto significaría que existe una predisposición o polaridad desde las etapas más iniciales del desarrollo y el modelo de mosaicismo tiene cada vez más evidencias en embriones de mamíferos (Edwards and Hansis, 2005).

El destino más sugerido por su correla-

ción ideal con la estructura del blastocisto es que las dos células con contenido animal y vegetal (segunda división meridional) darán lugar mayoritariamente a la MCI, la célula que se origina en el polo animal (célula superior en la segunda división ecuatorial) tiende a formar la mayoría del trofoectodermo y la que mantiene únicamente citoplasma de origen vegetal contribuirá a la línea germinal (Piotrowska et al., 2001; Piotrowska-Nitsche et al., 2005; y ver esquema B en la figura 5). Sin embargo, a pesar de esta tendencia, estos mismos estudios de linaje ponen de manifiesto que existe una contribución parcial de cualquier blastómera tanto a la MCI como al trofoectodermo y por lo tanto son interpretados por muchos autores como una evidencia del modelo de desarrollo regulativo, sin una predisposición de las células durante la segmentación.

La controversia sobre el destino de las blastómeras iniciales en embriones de mamíferos ha sido parcialmente zanjada por los numerosos y elegantes estudios de linaje celular realizados principalmente por el grupo de Zernicka-Goetz en Londres (para revisiones recientes vease Zernicka-Goetz 2002 y 2004). En sus trabajos se muestra que la disposición de las blastómeras condiciona el destino final de las células, pero que la relación entre el eje animal-vegetal con el eje embrionario-abembrionario del blastocisto es más sutil de lo que se pensaba (Zernicka-Goetz, 2006). Estos estudios han sido capaces de establecer que tan pronto como en el estadio de dos células cada blastómera tiene una contribución fijada al futuro blastocisto (Piotrowska et al., 2001).

Así, la blastómera que se divide meridionalmente va a dar lugar a la mayoría de la MCI y el trofoectodermo polar mientras que la otra (ecuatorial) va a dar lugar al trofoectodermo mural y parte de las células de la MCI, especialmente gran parte de las que limitan la cavidad del blastocisto (Esquema C en la figura 5). Este mapa de destino explica además porque algunos autores encuentran células descendientes de las 2 o 4 primeras blastómeras en ambas estructuras (MCI y trofoectodermo). Por lo tanto los estudios de linaje presentan una evidencia muy clara a favor del modelo de

mosaico, estando determinadas las células por su posición a contribuir a distintas regiones del blastocisto posiblemente desde la primera división embrionaria (Gardner, 2001).

## 2c. Polaridad en el cigoto y óvulo

Si desde la primera división mitótica las células tienen un destino prefijado hay que plantear que el cigoto ha de tener ya un grado importante de polaridad que facilite este comportamiento sistemático de las blastómeras y que posiblemente haya heredado a su vez de algún tipo de asimetría en el óvulo (Piotrowska et al., 2001). Tanto en el óvulo como en el cigoto, la posición del corpúsculo(s) polar(s) ya denota una polaridad y como se ha mencionado define el eje animal-vegetal (Gardner and Davies, 2006). Este eje coincide en la orientación del primer plano de división (Cooke et al., 2003) y finalmente con el destino de las células en el blastocisto (Ciemerych et al., 2000). En confirmación de esta relación entre el eje animal-vegetal y el eje embrionario-abembrionario del blastocisto, hay que mencionar que la polaridad descrita en el blastocisto y la simetría en la MCI puede ser predicha con anticipación por la disposición del corpúsculo polar, ya que en ratones se ha realizado un seguimiento experimental del mismo y su localización en la mayoría de los casos sirve como marca en uno de los extremos del disco de la MCI (Gardner, 1997; Ciemerych et al., 2000).

Como ya se ha mencionado en la introducción, se considera que los mamíferos no dependen de componentes citoplasmáticos y por lo tanto que el óvulo y el cigoto son homogéneos. Sin embargo, es evidente que deben existir diferencias en la membrana plasmática (MP) del óvulo ya que en condiciones fisiológicas el espermatozoide no puede penetrar en las cercanías del corpúsculo polar. Se ha comprobado que la zona de MP presenta zonas con una composición lipídica que impide los desplazamientos y que se denominan islas de rigidez y que los espermatozoides serían incapaces de utilizar como punto de entrada (Evans et al., 2000; Johnson, 2001).

Otra característica del óvulo y final-

mente del cigoto es que la disposición de la placa metafísica y la extrusión de los corpúsculos polares se realiza sistemáticamente en las cercanías de estas islas de rigidez y esta circunstancia implica que han de existir corrientes corticales y entramados de microtúbulos espacialmente dispuestos para que la localización del primer y segundo corpúsculo sea la correcta (Gardner and Davies, 2006). Finalmente otros componentes del óvulo como las mitocondrias e incluso la actividad metabólica podrían también presentar dife-

rencias (Van Berklon, 2004)

Por lo tanto, aunque no es observable en el interior del gameto y del cigoto, ha de existir una polaridad estructural con respecto al futuro eje animal-vegetal. Por último, llevando la situación al extremo de que la localización del corpúsculo polar viene determinada por los movimientos que el núcleo realiza en la fase de vesícula germinal (Albertini and Barrett, 2004) y que posiblemente estén relaciona-

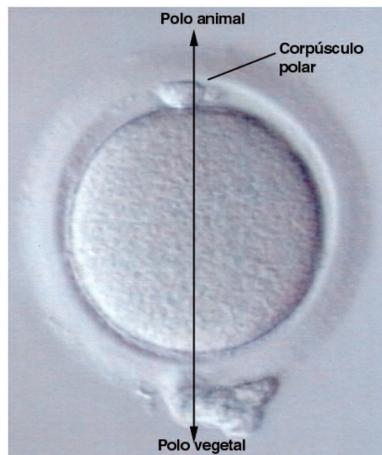
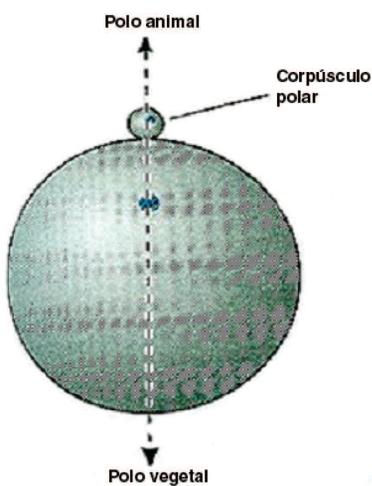
dos con la maduración ovocitaria y con las interacciones entre el ovocito y las células foliculares del ovario (Cecconi et al., 2004). La presencia de células que se mantienen más fuertemente unidas al polo vegetal después de la decumulación podría implicar también una relación entre la polaridad ovocitaria y el proceso de maduración en el ovario (observaciones propias sin publicar) (Figura 6).

### 3. Mecanismos que establecen la polaridad inicial

Con todo lo descrito anteriormente, puede decirse que existe una polaridad embrionaria durante las primeras fases del desarrollo de los mamíferos y que esta polaridad puede tener algunos signos ya en el óvulo antes del proceso de fecundación. Esta polaridad queda confirmada y definida después de la primera división mitótica cuando se forman las dos primeras células, ya que las mismas van a tener destinos diferentes (Plusa et al., 2005). Debe existir algún tipo de condicionamiento que origine esta diferencia de comportamiento entre una célula y otra y, por lo tanto, un mecanismo que inicie la polaridad.

Las asimetrías que se han descrito en el óvulo con respecto al CP posiblemente no justifiquen una asimetría en el comportamiento de las células hijas pues como se ha mencionado el primer plano de división coincide con el eje animal-vegetal y por lo tanto, otros mecanismos están siendo evaluados actualmente (Gray et al., 2004).

Un mecanismo generalmente establecido en otros animales para definir la polaridad es la presencia en gradientes de genes o factores maternos en el huevo. Aunque el número de genes maternos que se descubren en los mamíferos está creciendo rápi-



**Figura 6.** A: Ilustración del polo animal-vegetal de un ovocito humano. B: Fotografías de un ovocito en metafase II que mantiene células foliculares adheridas en su polo vegetal y de un ovocito en el momento de realizar ICSI. Esquema modificado de Gilbert, 2003

damente (Antczak and Van Blerkom, 1997; Tong et al., 2002; Wallingford and Habas, 2005), las evidencias de una distribución desigual entre las blastómeras hijas son muy vagas (Torres-Padilla et al., 2006). Solamente un trabajo muy reciente y que necesita ser confirmado implica al factor materno *Cdx2* como responsable de la polaridad inicial del embrión (Deb et al., 2006).

Este factor está presente en el ovocito y según los autores se reparte de manera desigual entre las dos blastómeras que se generan a partir del cigoto. En última instancia esta molécula por mecanismos no descritos en el trabajo, sería la responsable de que la segunda división celular no sea equivalente y se genere la asimetría descrita previamente. La posibilidad de que exista un gen materno en mamíferos con un gradiente en el óvulo y que es trasladado a la primera división mitótica supondría una interesante conservación de los mecanismos de polaridad embrionaria a lo largo de la evolución e implicaría que las blastómeras iniciales no son equivalentes en contenido citoplasmático.

La otra posibilidad que parece va tomando importancia como inicio de la polaridad es que sea una consecuencia directa del proceso de fecundación. La hipótesis consiste en que la polaridad embrionaria se establece por el sitio de entrada del espermatozoide en el óvulo (Piotrowska et al., 2002). Como base experimental a esta teoría, se ha comprobado que el lugar de entrada del espermatozoide marca, junto con el corpúsculo polar, la orientación del plano de las primeras divisiones (Bennett, 1982; Piotrowska and Zernicka-Goetz, 2001). Además, la célula que hereda el sitio de entrada del espermatozoide (SEP) distinguible por la presencia del llamado cono de fertilización, tiene tendencia a ser la primera que se divide en la segunda división embrionaria (Gardner, 2001; Piotrowska and

Zernicka-Goetz, 2001). De hecho es conocido desde hace tiempo que la inyección de compuestos orgánicos y otros materiales supuestamente inertes en oocitos y cigotos de ratón afecta a la división celular, generalmente acelerándola (Dyce et al., 1978). Por último, existen también evidencias que el SEP marca el borde entre la zona embrionaria y abembrionaria del blastocisto (Zernicka, 2002) y que la blastómera que mantiene los restos del espermatozoide sistemáticamente termina formando parte de la MCI (Plusa et al., 2002).

Aunque la relación entre fecundación y polaridad es aún especulativa y esta en fase de comprobación experimental cabría mencionar que de nuevo sería un mecanismo de desarrollo conservado a lo largo de la evolución. De hecho, en organismos tan diversos como el gusano *C. elegans* o los embriones de anfibios, la polaridad inicial en el huevo es recolocada mediante mecanismos de desplazamiento citoplasmático con respecto al punto de entrada del espermatozoide (Gerhart, 1991).

#### 4. Significado de la polaridad embrionaria

Según todo lo expuesto anteriormente existe una clara no-equivalencia al menos en el destino de las células desde la primera división mitótica.

Este hecho parece estar en contra de la gran capacidad regulativa que se ha descrito en los embriones de mamíferos (McLaren, 1976; Papaioannou and Ebert, 1986). Son muchos los estudios ya clásicos que indican que la eliminación y/o sustitución de blastómeras en las etapas iniciales del desarrollo tiene escasas consecuencias en el desarrollo embrionario y que el embrión es capaz de regular la pérdida o sustitución de esta célula mediante robustos mecanismos de desarrollo que aun están por aclarar (Johnson et al., 2006).

Sin embargo, experimentos recientes que reevalúan la capacidad regulativa del embrión y la equivalencia de las blastómeras ponen argumentos a favor de la existencia de una polaridad embrionaria desde las fases iniciales del desarrollo (Zernicka-Goetz, 2006). Quimeras realizadas con células equivalentes en la localización dentro del embrión tienen un alto grado de supervivencia e implantación embrionaria, mientras que si se sustituyen blastómeras no correspondientes (por ejemplo una célula destinada a formar trofoectodermo por una blastómera que dará la MCI, el resultado es que aunque el embrión completa la blastulación y un número pueden llegar a implantarse y nacer, la proporción de embriones que fracasan es mayoritaria (Tarkowski et al., 2001; Zernicka-Goetz, 2002). Por motivos obvios, estos experimentos, al igual que los de marcaje que abogan a la polaridad embrionaria, no han podido ser corroborados en humanos.

Hay que mencionar los experimentos clásicos realizados en anfibios y otros grupos animales que ponen de manifiesto la capacidad de compensar el desarrollo que tienen estos embriones a pesar de su clara polaridad previa al proceso de fecundación (Vincent and Gerhart, 1987; Bowerman and Shelton, 1999). De igual manera podría ser que los embriones de mamíferos posean una alta capacidad regulativa y que las diferencias en polaridad establecidas en las etapas iniciales pueden ser subsanadas si se interfiere el desarrollo mediante manipulación.

Por lo tanto, el escenario que se presenta es que existe un patrón en gran medida constante de destino para las blastómeras del embrión de mamífero y que se corresponde en etapas más avanzadas del desarrollo (e incluso en el organismo definitivo) con los ejes de polaridad (Zernicka-Goetz, 2002; Edwards and Hansis,

2005). Sin embargo durante el desarrollo también existe una cierta plasticidad y el mosaicismo no es tan invariable como se ha descrito en otros organismos ya que las células pueden reestablecer un orden cuando son alteradas de forma natural (gemelación por ejemplo) o artificial y por lo tanto se mantienen pluripotentes (Zernicka-Goetz, 2006; Stern, 2006).

### 5. Implicación en reproducción asistida e investigación

La polaridad embrionaria y ovocitaria y los mecanismos que establecen la misma han de ser tenidos en cuenta a la hora de realizar las técnicas de manipulación embrionaria en reproducción asistida. Sin ser el tema de este trabajo, no es difícil imaginar que de confirmarse esta nueva visión polarizada del ovocito y el embrión en las fases iniciales del desarrollo muchos procesos que se realizan en el laboratorio de embriología podrían ser más relevantes para el desarrollo de lo que se pensaba en un principio. Entre estos procesos destacaríamos el sitio de microinyección espermática (ICSI) (Figura 6) y la extracción de blastómeras para la realización del diagnóstico genético preimplantacional (DGP), ya que podrían tener unas implicaciones clínicas mayores de lo que se había pensado hasta ahora dependiendo de la(s) célula(s) elegida(s) para ser extraídas del embrión.

Además, nuevos factores predictivos del éxito del proceso de FIV podrían incorporarse al estudio del cigoto y de los embriones, como por ejemplo la morfología y viabilidad de ciertas blastómeras según su posición, la orientación y velocidad de las divisiones celulares según se ajusten a los modelos descritos, o la definición del eje embrionario-abembrionario en el blastocisto. Por último, aspectos relacionados con la investigación biomédica como la obtención de

células madre de embriones no viables tanto a partir de la MCI (Matalipova et al., 2003) como de embriones en fase de mórula (Strelchenko et al., 2004), la clonación terapéutica o la transferencia de citoplasma han de considerar igualmente la posibilidad de que los ovocitos y embriones de mamíferos presentan una polaridad y que no todas las regiones del citoplasma o no todas las blastómeras de un embrión sean equivalentes.

### 6. Consideraciones finales

Existen evidencias cada vez más firmes de que el embrión desde su inicio tiene una polaridad que se refleja en el patrón de formación de células en cada fase consecutiva del desarrollo, de tal forma que blastómeras particulares producen siempre los mismos tipos celulares.

Nosotros pensamos que este mecanismo predeterminado se ha establecido entre otros posibles patrones de desarrollo que resultaron ser menos eficaces aunque viables (situación que explica la plasticidad embrionaria) y el embrión ha ido utilizando las pistas que han sido útiles para conservar este patrón, como es la localización del corpúsculo polar o el sitio de entrada del esperma.

Dicho de otro modo, es lógico pensar que un mecanismo de formación embrionaria si es efectivo se va ir repitiendo durante el desarrollo casi con precisión de relojería (y no de forma azarosa) y quedará prefijado mediante pistas en las células que lo originan. Cualquier desviación de este mecanismo, sea natural o artificial, podría ser compensado de forma aun desconocida por el embrión, pero aun esta por conocerse las consecuencias en la implantación y naturaleza de los embriones conseguidos.

Hay que aclarar que aunque en esta trabajo se ha enfatizado sobre las evidencias de la hipótesis de la determinación y la polaridad inicial,

ambas hipótesis (mosaicismo y regulación) no han de ser completamente excluyentes y los nuevos datos que se van adquiriendo tienden hacia una reconciliación de ambas posibilidades. Sí que hay que destacar que en realidad los mamíferos y más concretamente los humanos, no somos tan diferentes a la hora de utilizar mecanismos para el desarrollo y parece que las mismas señales (genes maternales, espermatozoide, planos de división, etc.) van siendo reutilizados con variaciones a lo largo del desarrollo en todos los grupos animales.

Finalmente, las implicaciones de que muy posiblemente nuestro destino esta marcado desde el primer día de desarrollo están aun por determinar.

### Agradecimientos

Agradecemos el apoyo prestado por los miembros de IERA para la realización de este trabajo.

### BIBLIOGRAFÍA

- Alarcon VB, Marikawa Y. Deviation of the blastocyst axis from the first cleavage plane does not affect the quality of mouse postimplantation development. *Biol. Reprod.*, 2003; 69:1208-12.
- Albertini DF, Barrett SL. The developmental origins of mammalian oocyte polarity. *Sem. Cell Dev. Biol.*, 2004; 15:599-606.
- Ang, SL, Constam, DB. A gene network establishing polarity in the early mouse embryo. *Sem. Cell Dev. Biol.*, 2004; 15:555-61.
- Antczak M, Van Blerkom J. Oocyte influences on early development: the regulatory proteins leptin and STAT3 are polarized in mouse and human oocytes and differentially distributed within the cells of the preimplantation stage embryo. *Mol. Hum. Reprod.*, 1997; 3:1067-86.
- Bennett J. Sperm entry point is related to early division of mouse blastomeres. *J. Cell Biol.*, 1982; 95:163a.
- Bowerman B, Shelton, CA. Cell polarity in the early *Caenorhabditis elegans* embr-

- yo. *Curr. Opin. Genet. Dev*, 1999; 9:390-5.
- Chroscicka A., Komorowski S, Maleszewski M. Both blastomeres of the mouse 2-cell embryo contribute to the embryonic portion of the blastocyst. *Mol. Reprod. Dev*, 2004; 68:308-12.
- Ciemerych MA., Mesnard D, Zernicka-Goetz M. Animal and vegetal poles of the mouse egg predict the polarity of the embryonic axis, yet are nonessential for development. *Development*, 2000; 127:3467-74.
- Cooke S., Tyler S, Driscoll S. Meiotic spindle location and identification and its effect on embryonic cleavage plane and early development. *Hum. Reprod*, 2003; 18:2397-405.
- Davies TJ, Gardner RL. The plane of first cleavage is not related to the distribution of sperm components in the mouse. *Hum. Reprod*, 2002; 9:2368-79.
- Gardner RL, Davies TJ. An investigation of the origin and significance of bilateral symmetry of the pronuclear zygote in the mouse. *Hum. Reprod*, 2006; 21:492-502.
- Deb K, Sivaguru M, Yong HY, Roberts RM. *Cdx2* gene expression and trophoblast lineage specification in mouse embryos. *Science*, 2006; 311:992-6.
- Dyce J, George M, Goodall H, Fleming TP. Do trophoblast and inner cell mass cells in the mouse blastocyst maintain discrete lineages? *Development*, 1987; 100:685-98.
- Edwards R, Hansis C. Initial differentiation of blastomeres in 4-cell human embryos and its significance for early embryogenesis and implantation. *Rep. BioMed. Online*, 2005; 11:206-18.
- Evans JP, Foster JA, McAvey BA, Gerton GL, Kopf GS, Schultz RM. Effects of perturbation of cell polarity on molecular markers of sperm-egg binding sites on mouse eggs. *Biol. Reprod*, 2000; 62:76-84.
- Gardner RL. Experimental analysis of second cleavage in the mouse. *Hum. Reprod*, 2002; 17:3178-89.
- Gardner RL. The early blastocyst is bilaterally symmetrical and its axis of symmetry is aligned with the animal-vegetal axis of the zygote in the mouse. *Development*, 1997; 124:289-301.
- Gardner RL. Weaknesses in the case against pre patterning in the mouse. *Reprod Biomed Online*, 2006; 12:144-49.
- Gardner RL. Specification of embryonic axes begins before cleavage in normal mouse development. *Development*, 2001; 128:839-47.
- Gerhart J, Doniach T, Stewart R. En: Keller R, Clark WH, Griffin F, editors. *Gastrulation: Movements, Patterns and Molecules*. New York: Plenum; 1991. p. 57-76.
- Gray D, Plusa B, Piotrowska K, Na J, Tom B, Glover DM, Zernicka-Goetz M. First cleavage of the mouse embryos responds to change in egg shape at fertilisation. *Curr Biol*, 2004; 14:397-405.
- Gurdon JB. The generation of diversity and pattern in animal development. *Cell*, 1992; 68:185-99.
- Gilbert SF. *Developmental Biology*. 7th ed.. University of Pennsylvania Press. 2003. Hiiragi T, Solter D. First cleavage plane of the mouse egg is not predetermined but defined by the topology of the two apposing pronuclei. *Nature*, 2004; 430:360-64.
- Johnson MH. Mammalian development: axes in the egg? *Curr Biol*, 2001; 11:R281-R284.
- Johnson BV, Rathjen J, Rathjen PD. Transcriptional control of pluripotency: decisions in early development. *Curr. Opin. Gen. Dev*, 2006; 16:447-54.
- Leptin M. Gastrulation in *Drosophila*. En: Stern CD editor. *Gastrulation: From Cells to Embryo*. Cold Spring Harbor Press; 2004. p. 91-104.
- McLaren A. *Mammalian Chimaeras*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1976. Mitalipova M, Calhoun J, Shin S, et al. Human embryonic stem cells derived from discarded embryos. *Stem Cells*, 2003; 21:521-6.
- Motosugi N, Bauer T, Polanski Z, Solter D, Hiiragi T. Polarity of the mouse embryo is established at blastocyst and is not pre patterned. *Genes Dev*, 2005; 19:1081-92.
- Papaioannou VE, Ebert, KM. Comparative aspects of embryo manipulation in mammals. En: Rossant R, Pedersen RA. *Experimental Approaches to Mammalian Embryonic Development*. Cambridge: Cambridge University Press. 1986. p. 67-96.
- Piotrowska K, Wianny F, Pedersen RA, Zernicka-Goetz M. Blastomeres arising from the first cleavage division have distinguishable fates in normal mouse development. *Development*, 2001; 128:3739-48.
- Piotrowska K, Zernicka-Goetz M. Role for sperm in spatial patterning of early mouse embryos. *Nature*, 2001; 409:517-21.
- Piotrowska-Nitsche K, Perea-Gomez A, Haraguchi S, Zernicka-Goetz M. Four-cell stage mouse blastomeres have different developmental properties. *Development*, 2005; 132:479-90.
- Piotrowska-Nitsche, K. y Zernicka-Goetz, M. (2005). Spatial arrangement of individual 4-cell stage blastomeres and the order in which they are generated correlate with blastocyst pattern in the mouse embryo. *Mech. Dev*. 122:487-500.
- Plusa B, Piotrowska K, Zernicka-Goetz M. The first cleavage plane of the mouse zygote passes close by the sperm entry point defined by several labelling techniques. *Genesis*, 2002; 32:193-98.
- Plusa B, Hadjantonakis AK, Gray D, Piotrowska-Nitsche K, Jedrusik A, Papaioannou VE, Glover DM, Zernicka-Goetz M. The first cleavage of the mouse zygote predicts the blastocyst axis. *Nature*, 2005; 434:391-5.
- Rossant J. Lineage development and polar asymmetries in the peri-implantation mouse blastocyst. *Sem. Cell. Dev. Biol*, 2004; 15:573-81.
- Roth S. The origin of dorsoventral polarity in *Drosophila*. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 2003; 358:1317-29.
- Stern CD. Evolution of the mechanisms that establish the embryonic axes. *Curr. Opin. Gen. Dev*, 2006; 16:413-8.
- Stern CD, Wolpert L. Left-right asymmetry: all hands to the pump. *Curr. Biol*, 2002; 12:R802-R803.
- Strelchenko N, Verlinsky O, Kucharenko V. et al. Morula-derived human stem cell cells. *RBM Online*, 2004; 9:623-9.
- Tarkowski AK, Wroblewska J. Development of blastomeres of mouse eggs isolated at the 4- and 8-cell stage. *J. Embryol. Exp. Morphol*, 1967; 18:155-80.
- Tarkowski AK, Ozdzinski W, Czolowska R. Mouse singletons and twins developed from isolated diploid blastomeres supported with tetraploid blastomeres. *Int. J. Dev. Biol*, 2001; 45:591-6.
- Tong, Z-B, Bondy CA., Zhou J, Nelson

LM. A human homologue of mouse *Mater*, a maternal affect gene essential for early embryonic development. *Hum. Reprod*, 2002; 17:903-11.

Torres-Padilla ME, Bannister AJ, Hurd PJ, Kouzarides T, Zernicka-Goetz M. Dynamic distribution of the replacement histone variant H3.3 in the mouse oocyte and preimplantation embryos. *Int. J. Dev. Biol*, 2006; 50:455-61.

Van Berklen J. Mitochondria in human oogenesis and preimplantation embryogenesis: engines of metabolism, ionic regulation and developmental competence. *Reproduction*, 2004; 128:269-80.

Vincent, JP, Gerhart, JC. Subcortical rotation in *Xenopus* eggs: an early step in embryonic axis specification. *Dev. Biol*, 1987; 123:526-39.

Wallingford, JB, Habas, R. The developmental biology of *Dishevelled*: an enigmatic protein governing cell fate and cell polarity. *Development*, 2004; 132:4421-36.

Weber R, Wianny F, Evans M, Pedersen R, Zernicka-Goetz M. Polarity of the mouse embryo is anticipated before implantation. *Development*, 1999; 126:5591-8.

Wood, WB. The left-right polarity puzzle: determining embryonic handedness. *PLoS Biol*, 2005; 3:1348-51.

Zernicka-Goetz, M. Patterning of the embryo: the first spatial decisions in the life of a mouse. *Development*, 2002; 129:815-29.

Zernicka-Goetz M. Developmental cell biology: cleavage pattern and emerging asymmetry of the mouse embryo. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005; 6:919-28.

Zernicka-Goetz M. The first cell-fate decisions in the mouse embryo: destiny is a matter of both chance

Zhang, J, King, ML. *Xenopus* VegT RNA is localized to the vegetal cortex during oogenesis and encodes a novel T-box transcription factor involved in mesodermal patterning. *Development*, 1996; 122:4119-29.



El modo más sencillo, práctico y fiable de incorporar el Diagnóstico Genético Preimplantacional a su centro de FIV

**NUESTRA EXPERIENCIA EN DGP: 7.125 CICLOS (DIC 2005)**

**REALIZAMOS**  
Test de aneuploidías, reorganizaciones cromosómicas y enfermedades monogénicas

**OFRECEMOS**  
Programación inmediata - Alta experiencia - Continua innovación tecnológica

REPROGENETICS SPAIN  
TEL +34 935 814 455 - FAX +34 935 814 466

www.reprogeneticsspain.com  
pgdteam@reprogeneticsspain.com

CONTACTO USA: pgdteam@reprogenetics.com  
www.reprogenetics.com

## CARTA E INVITACIÓN AL IV CONGRESO ASEBIR

*Estimados compañeros(as) y amigos(as):*

*Nos dirigimos a vosotros con ánimo de invitaros a participar en el **IV CONGRESO** de nuestra asociación **ASEBIR**.*

*Aunque parece que queda mucho tiempo, es en esta época del año cuando se hace la previsión de los eventos científicos futuros a los que se desea acudir. Es por esto que, nos encantaría que anotarais en vuestras agendas la fecha del **21 al 23 de Noviembre de 2007**.*

*Alrededor de un programa científico de calidad se articulará la presencia este año, por primera vez, de dos grupos de interés: el de Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP), que algunos ya conocéis, y el de Calidad Embrionaria.*

*Pero lo más importante es vuestra colaboración activa, con la presentación de comunicaciones y pósters en los que reflejáis vuestras experiencias, conocimientos y trabajo diario. Os aseguro que esto, junto con las discusiones que se establecen tanto en la sala como fuera de ella, además de la sensación de formar parte de un colectivo profesional, merece la pena.*

*Y como todo no va a ser ciencia, comeremos bien, como se come en esta ciudad, **BILBAO**, visitaremos el Museo Guggenheim en una visita guiada privada, bailaremos etc.*

*Lo estamos preparando para vosotros, no olvidéis i.e. **IV CONGRESO de ASEBIR, del 21 al 23 de Noviembre en Bilbao.***

*¡Os esperamos!*



**Dra. Carmen OCHOA**  
Presidenta del Comité Organizador



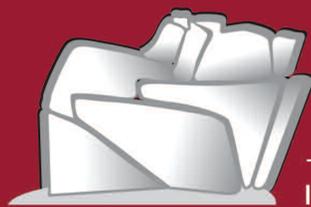
**Dr. Antonio Gonzalez-Utor**  
Presidente de ASEBIR



## CARTA E INVITACIÓN DE CONGRESO

# IV CONGRESO ASEBIR

21 AL 23 DE NOVIEMBRE DE 2007  
BILBAO. PALACIO EUSKALDUNA



**ASEBIR**

IV CONGRESO

BILBAO 2007

**ASOCIACIÓN PARA EL ESTUDIO  
DE LA BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN**

## FE DE ERRATAS

En el último número de la revista ASEBIR (Junio 2006, vol. 11), en la página 46 se hace balance del III congreso ASEBIR celebrado en Zaragoza, y se cometió un error al informar sobre el trabajo ganador del Premio EMB.

Pedimos encarecidamente disculpas a los autores implicados y a continuación publicamos la información correcta:

“Durante el III Congreso ASEBIR se entregó el Premio EMB a la mejor comunicación científica al trabajo:



### **ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DEL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO RUGOSO DE OVOCITOS Y EMBRIONES HUMANOS**

Mondéjar I., Jiménez-Movilla M.,  
Castells MT., Fernández-Colom PJ., Romeu A., Avilés M. y Ballesta J.  
Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad de  
Murcia, Unidad de Reproducción Asistida, Hospital Universitario La Fe,  
Valencia”

### **New Trends on the Diagnosis and Management of Early Pregnancy Failure**

-ESHRE Campus-  
December 15 – 16, 2006  
Poznan, Poland

<http://www.eshre.com/emc.asp?pageId=834>

### **Follicle culture, in vitro maturation and cryopreservation from basic research to clinical application**

-ESHRE campus-  
January 12 - 14, 2007.  
Luebeck, Germany

<http://www.eshre.com/emc.asp?pageId=812>

### **ISAR 2007 - 12TH National Congress on Assisted Reproduction Technology and Advances in Infertility Management**

February 8 - 11, 2007  
Bhargava Auditorium, Postgraduate Institute of Medical Education and  
Research, Chandigarh, India  
[www.isar2007.com](http://www.isar2007.com), [www.ivfchandigarh.com](http://www.ivfchandigarh.com)

### **Prevention of endometriosis**

-ESHRE Campus-  
February 15 –17, 2007  
Bordeaux, France

<http://www.eshre.com/emc.asp?pageId=833>

### **4th Symposium on Diabetes and Pregnancy**

March 29 – 31, 2007  
Istanbul, Turkey

<http://www.kenes.com/dip07>

### **ASA 32nd Annual Conference**

April 18 - 24, 2007  
Hyatt Regency Tampa, Florida, USA  
[www.tamparegency.hyatt.com](http://www.tamparegency.hyatt.com)

### **Adenomyosis: a Reproductive Disorder**

-ESHRE Campus -  
April 19 – 20, 2007  
Leuven, Belgium

<http://www.eshre.com/emc.asp?pageId=839>

### **IFFS Congress**

Durban, South Africa  
April 30 - May 5, 2007  
[www.iffs2007.org.za](http://www.iffs2007.org.za)

### **Assisted Reproduction Technology – a Masters level short course**

May 14 – 17, 2007  
University of Warwick, Coventry, UK  
Organizer contact name: Dr Steve Hicks  
Organizer e-mail: [s.j.hicks@warwick.ac.uk](mailto:s.j.hicks@warwick.ac.uk)  
<http://template.bio.warwick.ac.uk/shortcourses/ivf.pdf>



Somos los primeros  
en conocerte ...

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

## SERVICIOS

### Servicio de diagnóstico genético preimplantacional

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

### **Servicio de Diagnóstico Genético Preimplantacional**

Dra. Esther Velilla García  
Dra. María Oter Renom  
Dra. Mercedes García Bermúdez  
Dra. Silvia Fernández Fernández

### Servicio de biopsia testicular y estudio de meiosis

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

### **Servicio de Andrología**

Dr. Ferran García José  
Dra. Susana Egozcue Vilarasau

### FISH en espermatozoides

### Consejo genético

Álvarez de Baena, 4 · 28006 Madrid · Tf. 91 4115080  
Fax 91 411 50 81 · [dgpi@centromedicinaembrionaria.com](mailto:dgpi@centromedicinaembrionaria.com)



centro de medicina  
embrionaria

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

... y sabemos que  
crecerás sano



## 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 bien Smith and Michigan, 1997) y si son más de dos autores consignándose el primero seguido de "et al.", (ej.: Smith et al., 1998). Para agrupar varias citas se encadenarán con ";" (Ej: Smith and Michigan, 1997; Smith et al., 1998).

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

#### A) Artículo de revista con menos de 6 autores:

Lewis SE, Moohan JM, Thompson W. Effects of

pentoxifylline on human sperm motility in normospermic individuals using computer-assisted analysis. *Fertil Steril* 1993;59:418-423.

#### B) Artículo de revista con más de 6 autores:

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

#### C) Libro completo:

Colson JH, Armour WJ. *Spermatogénesis*. 2ª 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*. 2ª 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 Embryology; 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.

# global<sup>®</sup>

Un solo medio...sin necesidad de usar medios secuenciales

DIA I

Blastocito



Dia 1



Dia 2



Dia 3



Dia 4



Dia 5

CE



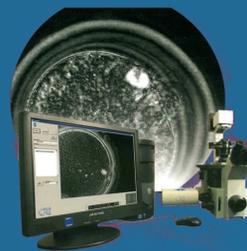
LifeGlobal  
THE ART MEDIA COMPANY



Quermed, s.a.  
electromedicina

## EQUIPOS

### PARA LABORATORIO DE F.I.V.



#### OOSIGHT

SISTEMA NO INVASIVO PARA LA OBSERVACIÓN "IN VIVO" DEL HUSO MEIOTICO, EN LOS OVOCITOS

#### SATURN LASER

EQUIPO UTILIZADO PARA LA TECNICA "ASSISTED HATCHING" Y LA BIOPSIA EMBRIONARIA PGD



#### MICROMANIPULADOR INTEGRATI

SISTEMA DE MICROMANIPULACION INTEGRATI, CON MICROSCOPIO



División de Reproduccion Humana  
Telf. 902102163 // Fax 915040440  
www.quermed.com // anaortiz@quermed.com





## BANCO DE SEMEN

# Seguridad, calidad y garantía.

### SEGURIDAD EN LA CONGELACIÓN

- Pajuelas CBS de alta seguridad
- Llenado y termosellado automático
- Medios de congelación certificados

### SEGURIDAD EN EL ALMACENAMIENTO

- Bombonas de cuarentena
- Trazabilidad de todo el proceso

### SEGURIDAD EN EL TRANSPORTE

- Contenedores homologados
- Embalaje de seguridad
- Trazabilidad de temperatura
- Plazos de entrega precisos

### SISTEMA CALIDAD ISO 9001:2000

- Certificación por AENOR

### CONTROL DE CALIDAD

- Participación Control Calidad ESHRE
- Participación Control Calidad ASEBIR
- Test descongelación a cada muestra
- Cultivo microbiológico a cada muestra

### GARANTÍA EN SCREENING DE DONANTES

- Cumplimiento normativa española
- Cumplimiento recomendaciones científicas internacionales
- Realización cariotipo
- Estudio portadores fibrosis quística
- Estudio portadores atrofia muscular espinal
- Despistaje alteraciones hematológicas y de coagulación
- Despistaje alteraciones bioquímicas
- Banco DNA para estudios posteriores