

Cátedra de Derecho y Genoma Humano
Fundación BBV - Diputación Foral de Bizkaia

Genética Humana

*Fundamentos para el estudio de los efectos sociales de las
investigaciones sobre el genoma humano*

Carlos María Romeo Casabona (Ed.)

Félix Goñi / José M.^a Macarulla / Santiago Grisolia / Rubén F. Moreno-Palanques /
Juan Ramón Lacadena / José Egozcue / José M.^a Carrera / Montserrat Baiget Bastús
/ Alfonso Delgado Rubio / Feliciano J. Ramos Fuentes / Manuel Bueno Sánchez /
Carlos Alonso Bedate / María Castellano Arroyo / Angel Carracedo / José Carlos
Alberto Bethencourt / Rubí Nieves Rodríguez Díaz

Cátedra de Derecho y Genoma Humano
Fundación BBV - Diputación Foral de Bizkaia

Genética Humana

*Fundamentos para el estudio de los efectos sociales de las
investigaciones sobre el genoma humano*

Carlos María Romeo Casabona (Ed.)



Universidad de
Deusto

Deustuko
Unibertsitatea



FUNDACION BBV



■
Bizkaiko
Foru
Aldundia

Diputación
Foral
de Bizkaia



Universidad de Deusto



Este libro pretende ofrecer una visión de conjunto sobre los aspectos más significativos relacionados con la biología molecular, desde la perspectiva de las investigaciones sobre el genoma humano y de las aplicaciones clínicas y médico-legales a que están dando lugar aquéllas. Se abordan por diversos y cualificados especialistas españoles materias capitales como el desarrollo embrionario y las técnicas de reproducción asistida, los diagnósticos genéticos (preconcepcional, preimplantatorio y prenatal), el consejo genético y la terapia génica, así como los mecanismos de la herencia, las pruebas genéticas de la paternidad y la huella genética. Precede a estos capítulos una introducción a la biología molecular y un desarrollo de los objetivos del Proyecto Genoma Humano. Con dos glosarios se desea facilitar el acercamiento terminológico al profano. La obra va dirigida no sólo a especialistas en biología molecular y genética, sino también a médicos y a no iniciados interesados en otros aspectos de la materia (educadores, informadores, filósofos, moralistas, sociólogos, juristas, etc...) con el fin de favorecer desde el rigor científico y una muy cuidada claridad expresiva las reflexiones que pueden suscitar los efectos sociales de las investigaciones sobre el genoma humano, algunos de los cuales son pincelados en la presentación de la obra.

La Cátedra de Derecho y Genoma Humano, Fundación BBV - Diputación Foral de Bizkaia, Universidad de Deusto, se ha constituido mediante un Convenio suscrito conjuntamente por estas tres instituciones. Esta Cátedra, que es la primera creada en el mundo con estas características, pretende ser un foro de investigación, docencia, estudio y reflexión, pero también un punto de encuentro y de fomento del necesario diálogo común. Con esta obra la Cátedra inicia la publicación de monografías sobre las cuestiones más relevantes de la genética humana, dentro de un ambicioso y amplio programa de acciones relacionadas con el Proyecto Genoma Humano que se viene impulsando y promoviendo desde los inicios de éste por la Fundación BBV. Desde 1994, edita también la Revista Derecho y Genoma Humano - Law and the Human Genome Review, que se publica por separado en español e inglés. El Director de la Cátedra es el Prof. D. Carlos María Romeo Casabona, Catedrático de Derecho Penal de la Universidad de La Laguna.

Indice

Prólogo

Por la Fundación BBV, Diputación Foral de Bizkaia y Universidad de Deusto

Presentación

Derecho y Genética humana: bases para una discusión, **Carlos María Romeo Casabona**

Capítulo 1

Introducción a la Biología Molecular, **Felix Goñi y José M^a Macarulla**

Capítulo 2

El Proyecto del Genoma Humano, **Santiago Grisolia y Rubén F. Moreno-Palanques**
Anexo: *Glosario de términos biológico-genéticos*

Capítulo 3

Consideraciones genético-biológicas sobre el desarrollo embrionario, **Juan Ramón Lacadena**
Anexo: *Glosario de términos científicos*

Capítulo 4

Diagnóstico preconcepcional y preimplantatorio, **José Egozcue**

Capítulo 5

Diagnóstico prenatal, **José M^a Carrera**

Capítulo 6

El diagnóstico molecular de las enfermedades hereditarias, **Montserrat Baiget Bastús**

Capítulo 7

Aspectos clínicos del consejo genético, **Alfonso Delgado Rubio**

Capítulo 8

Mecanismos de herencia no mendeliana, **Feliciano J. Ramos Fuentes y Manuel Bueno Sánchez**

Capítulo 9

Terapia génica, **Carlos Alonso Bedate**

Capítulo 10

Pruebas genéticas de investigación de la paternidad, **María Castellano Arroyo**

Capítulo 11

La huella genética, **Angel Carracedo**

Capítulo 12

Técnicas de reproducción asistida, **José Carlos Alberto Bethencourt y Rubí Nieves Rodríguez Díaz**

Los autores de la obra e Índice analítico

Características del volumen: XXII + 358 páginas con ilustraciones y dibujos en blanco y negro. Portada en color glasofonada en mate. Formato real 220 x 155 mm.

Índice

Prólogo

Por la Fundación BBV, Diputación Foral de Bizkaia y Universidad de Deusto. IX

Presentación

Carlos María ROMEO CASABONA, *Derecho y Genética humana: bases para una discusión*. XI

Capítulo 1

Félix GOÑI y José M.^a MACARULLA, *Introducción a la Biología Molecular* 1

Capítulo 2

Santiago GRISOLIA y Rubén F. MORENO-PALANQUES, *El Proyecto del Genoma Humano* 21
Anexo: *Glosario de términos biológico-genéticos* 62

Capítulo 3

Juan Ramón LACADENA, *Consideraciones genético-biológicas sobre el desarrollo embrionario*. 77
Anexo: *Glosario de términos científicos* 93

Capítulo 4

José EGOZCUE, *Diagnóstico preconcepcional y preimplantatorio* 105

Capítulo 5

José M.^a CARRERA, *Diagnóstico prenatal* 115

Publicación impresa en papel ecológico

Impreso en España/Printed in Spain

© Cátedra de Derecho y Genoma Humano,
Fundación BBV-Diputación Foral de Bizkaia,
Universidad de Deusto - Apartado 1 - 48080 Bilbao

© Los autores por sus trabajos respectivos

I.S.B.N.: 84-7485-339-7
Depósito legal: BI-302-95

Fotocomposición: IPAR, Sdad. Coop. Ltda.
Particular de Zurbaran, 2-4 - 48007 Bilbao

Imprime: Artes Gráficas Rontegui, S.A.L.
Avda. Ribera de Erandio, 4 - 48950 Erandio (Vizcaya)

Capítulo 6	
Montserrat BAIGET BASTÚS, <i>El diagnóstico molecular de las enfermedades hereditarias</i>	145
Capítulo 7	
Alfonso DELGADO RUBIO, <i>Aspectos clínicos del consejo genético</i>	159
Capítulo 8	
Feliciano J. RAMOS FUENTES y Manuel BUENO SÁNCHEZ, <i>Mecanismos de herencia no mendeliana</i>	193
Capítulo 9	
Carlos ALONSO BEDATE, <i>Terapia génica</i>	227
Capítulo 10	
María CASTELLANO ARROYO, <i>Pruebas genéticas de investigación de la paternidad</i>	269
Capítulo 11	
Ángel CARRACEDO, <i>La huella genética</i>	295
Capítulo 12	
José Carlos ALBERTO BETHENCOURT y Rubí Nieves RODRÍGUEZ DÍAZ, <i>Técnicas de reproducción asistida</i>	327
Los autores de la obra	347
Índice analítico	349

Prólogo

La celebración del Encuentro Internacional de Bilbao en 1993, sobre «El Proyecto Genoma Humano. Aspectos legales», puso de relieve lo fructíferas que pueden ser las reuniones de expertos del mundo de la Ciencia, la Ética y el Derecho. Ya nadie pone en duda la necesidad de estos encuentros multidisciplinares, que facilitan el intercambio de opiniones y puntos de vista, y propician la obtención de conclusiones compartidas. Sin embargo, también se puso de manifiesto a lo largo de aquellos días el esfuerzo añadido que deben realizar los no especialistas en Biología Molecular para acercarse de forma correcta al núcleo de los nuevos problemas sociales, éticos y legales que emergen de las investigaciones sobre el genoma humano y de sus posibles aplicaciones sanitarias, médico-legales y en otros sectores de la vida de relación. En efecto, es cierto que la reflexión sobre estas implicaciones desde la perspectiva de las ciencias sociales añade a la ya compleja dificultad intrínseca de la misma, la circunstancia de que su rigor analítico hace imprescindible un cierto nivel de conocimiento de algunos aspectos esenciales de la Biología Molecular.

Por tal motivo no pudimos sino acoger con satisfacción y calor la iniciativa de la Cátedra de Derecho y Genoma Humano, Fundación BBV-Diputación Foral de Bizkaia, Universidad de Deusto, de editar y coordinar un libro redactado por cualificados expertos españoles sobre los aspectos científicos, clínicos y médico-legales fundamentales que deben ser conocidos en su engranaje más íntimo por los investigadores de las diversas Ciencias Humanas y Sociales interesados en la vertiente social de la genética humana: la Filosofía, la Ética, la Sociología, el Derecho, etc. La obra debía saber conjugar el irrenunciable rigor científico con una claridad expositiva, lejos de tecnicismos innecesarios; y también la aportación de conocimientos científicos actuales con su presentación de forma ase-

- (37) ISFH. *1991 Report concerning recommendations of the DNA Commission of the ISFH relating to the use of DNA polymorphisms*. Int. J. Leg. Med. 104: 361-364 (1992)
- (38) ISFH. *1991 Report concerning recommendations of the DNA Commission of the ISFH relating to the use of DNA polymorphisms*. Forensic Sci. Int. 52:125-130 (1992).
- (39) ISFH. *1992 Report concerning recommendations of the DNA Commission of the ISFH relating to the use of PCR-based polymorphisms*. Int. J. Leg. Med. 105: 63-64 (1992)
- (40) ROMEO CASABONA, C. «El proyecto genoma humano: implicaciones jurídicas». En GAFO, J.: *Ética y Biotecnología*. Univ. Pontificia de Comillas. Madrid. 1993.
- (41) CARRACEDO, A. *La identificación de la persona mediante pruebas genéticas*. International Workshop on Human Genoma Project: legal aspects. Bilbao. 1993.
- (42) CARRACEDO, A. *Genética forense*. Seminario Nacional sobre Consejo genético. Salamanca. 1994.
- (43) THOMPSON, W. SCHUMANN, E. *Interpretation of statistical evidence in criminal trials. The prosecutor's fallacy and the defense attorney fallacy*. Law and Human Behaviour, 11: 167-187 (1987).
- (44) BERNARDO, J.M. *Bioestadística, una perspectiva bayesiana*. Vicens Univ. Valencia. 1981.
- (45) EWETT, I. *Bayesian inference and forensic science: problems and perspectives*. The Statistician 36: 99-105 (1987).
- (46) CARRACEDO, A. *La valoración de la prueba en criminalística biológica*. Univ. Santiago de Compostela. 1994.

Capítulo 12

Técnicas de reproducción asistida

José Carlos Alberto Bethencourt y Rubí Nieves Rodríguez Díaz

I. Introducción

En la última década, la Reproducción Asistida ha experimentado un gran avance, y actualmente brinda posibilidades de procreación para determinadas parejas a las que anteriormente les estaba vetado.

Cuando se origina una alteración, tanto a nivel del tracto masculino, femenino o de la interacción entre ambos, que impide la fertilización del ovocito en condiciones normales, es preciso acudir a determinadas *Técnicas de Reproducción Asistida (TRA)*, ya sea la inseminación artificial, con semen de marido o de donante, siendo en ambos casos imprescindible la comprobación previa del buen estado de las Trompas de Falopio, o bien se optará por la Fertilización in vitro, si el problema deriva de una obstrucción tubárica.

Por lo tanto, en muchas ocasiones, el tratamiento de las diversas causas de esterilidad precisa la utilización de *TRA* que, básicamente, son la *inseminación artificial con semen de marido*, la *inseminación artificial con semen de donante* y la *fertilización in vitro con transferencia embrionaria* (Fig. 1).

En su aplicación, el criterio social que debe imponerse es la salvaguarda de los intereses de la descendencia que se planea. Este criterio general es imprescindible para proteger los valores básicos de la sociedad y a la vez otorga su legitimidad social a las *TRA* o no coital.

En el presente capítulo se efectúa una descripción de las distintas *TRA*, orientada a científicos no especialistas, sin podernos sustraer a realizar al final una valoración de los problemas éticos que plantean.

- Inseminación artificial conyugal o IAC.
- Inseminación artificial de donante o IAD.
- Fertilización in vitro con Transferencia embrionaria o FIV-TE.
- Transferencia intramiometrial.
- Transferencia de cigotos a la trompa o ZIFT.
- Transferencia intratubárica de embriones o TET.
- Transferencia intratubárica de gametos o GIFT.
- Fertilización Asistida:
 - Zona drilling, Zona cutting, zona cracking
 - Subzonal insertion o SZI.
 - Microinyección espermática.
- Donación de ovocitos.
- Donación de embriones

Figura 1

Técnicas de Reproducción Asistida

II. Inseminación artificial con semen de marido

En la *Inseminación Artificial Conyugal (IAC)*, mal llamada Inseminación Homóloga, término ya desechado al referirse a la igualdad de especies, el semen procede del cónyuge o pareja de la paciente, y consiste en la maniobra por la cual se deposita el eyaculado en el aparato genital femenino: vagina, cuello o intraútero, sin que haya relación sexual.

No es una técnica moderna, ya que su práctica se remonta varios siglos atrás, pues ya John Hunter publicó la primera gestación obtenida por este método a finales del siglo XVIII, en una pareja en la que el marido presentaba un hipospadias.

Su finalidad es incrementar el número de espermatozoides que van a encontrarse en la trompa en el momento de la ovulación, al evitar la barrera del cuello en la que quedan atrapados un elevado número de ellos, con el objeto de ampliar la probabilidad de una gestación.

1. Indicaciones de la IAC

Existen una serie de indicaciones por causas masculinas y otras femeninas.

Masculinas. Entre las masculinas ocupan un lugar primordial aquellos casos de disfunciones coitales, como pueden ser la impotencia, bien ori-

ginada por trastornos psicológicos, orgánicos o endocrinos: en la sección medular traumática y otras patologías que puedan causar paraplejia; en la neuropatía diabética; determinados pacientes que presentan impotencia en el momento de eyacular o imposibilidad de hacerlo durante el coito y que sólo lo efectúan tras masturbación; ante una eyaculación retrógrada y en varones con hipospadias severo o con incurvación peneana.

También puede aplicarse la IAC a los casos de pacientes que van a ser sometidos a una vasectomía como método anticonceptivo y, por supuesto, los candidatos a quimioterapia, radioterapia y trasplante renal. En éstos, el semen podría ser congelado en un banco, pues raramente estas emisiones coincidirían con la ovulación en la mujer o con los deseos de descendencia.

Otro grupo, el más frecuente, incluiría las anomalías en la calidad o cantidad de semen, en varones con oligozoospermia, astenozoospermia, teratozoospermia, en la que se encuentra alterado el número, motilidad y vitalidad de los espermatozoides, respectivamente, y ante la presencia de anticuerpos antiespermatozoides en el plasma seminal o en el suero del paciente.

Femeninas. Ante anomalías anatómicas vaginales o cervicales. En pacientes con vaginismo que impediría el coito, sería preciso una valoración y tratamiento psicológico previo, y sólo cuando éste fracasa, estaría indicada la IAC.

En el factor cervical de esterilidad: el cérvix uterino desempeña un papel primordial en la reproducción, a su través deben pasar los espermatozoides hacia el tracto genital superior donde se encontrarán con el

- | Masculinas |
|--|
| — Disfunciones coitales |
| — Previo a vasectomía o tratamientos antineoplásicos |
| — Anomalías seminales |
| — Esterilidad inmunológica |
| Femeninas |
| — Disfunciones coitales |
| — Factor cervical |
| — Esterilidad inmunológica |

Figura 2

Indicaciones de la IAC

ovocito. Si las condiciones del cuello no son adecuadas, en cuanto a cantidad y calidad del moco, por estenosis del canal cervical, ante *Test post-coitales* patológicos en los que se demuestra una disminución o ausencia de motilidad de los espermatozoides en el moco cervical, o bien se detecta la presencia de anticuerpos antispermatozoides en la paciente, (siempre superior en el moco cervical respecto a otras zonas del aparato genital), por lo que la migración espermática se verá dificultada: los espermatozoides tienen imposibilitada su penetración en el moco cervical o, si lo hacen, su motilidad se afecta, siendo preciso atravesar la barrera del cuello, depositando los espermatozoides directamente en la cavidad uterina (Fig. 2).

2. Técnica

La técnica de la IAC dependerá del lugar del aparato genital femenino donde se vaya a depositar el semen, ya sea en vagina o cuello, o intraútero.

La *inseminación intravaginal* es la más sencilla e incluso la puede realizar el propio paciente en su domicilio, depositando el semen una vez se ha recogido, en la vagina o proximidades del cuello uterino con la ayuda de una jeringa, y estaría indicado en la aneyaculación o en la imposibilidad del coito bien por vaginismo o por disfunción eréctil.

La *inseminación cervical* o intracervical consiste en el depósito del semen en el interior del canal cervical con la ayuda de un catéter acoplado a una jeringa, para lo cual es indispensable la existencia de un moco adecuado. Para evitar la pérdida de semen se puede utilizar una cúpula de plástico que se acopla al cuello y evita su diseminación en vagina.

Más utilizada es la *inseminación intrauterina (IUI)*. Requiere una preparación previa del semen o «capacitación» para liberarlo del líquido seminal portador de prostaglandinas que pueden provocar contracciones uterinas, de bacterias y, al mismo tiempo, concentrar o recuperar los espermatozoides que poseen mejor vitalidad y motilidad, por lo que este proceso se denomina también *Recuperación de Espermios Móviles (REM)*.

El semen se recoge por masturbación, tras un período de abstinencia de 3 a 5 días, y se deja a temperatura ambiente entre 10 y 45 minutos para que se licúe, tras lo cual se comienza el procesamiento de la muestra.

Existen varios métodos para la capacitación: el centrifugado y lavado del semen con un medio de cultivo; la técnica de Swim-up, en la que además de centrifugar y lavar el semen, se incuba durante un tiempo variable de 45 minutos a una hora, con lo que los mejores espermatozoides ascenderán a la parte superior del tubo con medio de cultivo, técnica

ésta que quizás sea la más empleada; la del gradiente de albúmina; la del gradiente de Percoll; la denominada miniPercoll y la de filtración en columnas de vidrio. La preferencia de utilización de una determinada técnica depende de la respuesta individual de cada semen, ya que en unos se obtendrán mayor número de espermatozoides con buena motilidad mediante el Swim-up y en otros con el miniPercoll.

Una vez finalizado este proceso se introduce el semen en el interior de la cavidad uterina a través del canal endocervical, mediante un catéter atraumático de Teflón, haciendo coincidir la inseminación con la ovulación de la paciente, en un número de 1 a 3 inseminaciones por ciclo ovulatorio, hasta un máximo de 4 a 6 ciclos.

Las posibles complicaciones derivadas de la IUI, sin mencionar el *Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO)* secundario a una respuesta exagerada de los ovarios cuando se instaura un tratamiento de estimulación de la ovulación, incluyen la aparición de dolor abdominal por contracciones uterinas desencadenadas por las prostaglandinas del líquido seminal que, aunque se eliminan con el lavado del semen, en ocasiones pueden quedar en pequeñas cantidades; y, en una proporción mínima, también se pueden producir infecciones leves al eliminar la barrera antibacteriana que supone el moco cervical.

3. Resultados

Los mejores resultados se obtienen en los tres o cuatro primeros ciclos de inseminación, así Marina (1) consigue el 92 % de las gestaciones en los 4 primeros ciclos de tratamiento. Las últimas comunicaciones señalan una tasa de éxitos globales que oscilan entre el 38,6 % por paciente y un 13,70 % por ciclo (2), y el 17,1 % por paciente y el 8,4 % por ciclo (1) en los grupos españoles. No obstante, estos datos varían según la indicación de la IAC, siendo mínimos en los casos de patología seminal severa, aunque las publicaciones recientes no refieren diferencias estadísticamente significativas dependientes de la etiología de la esterilidad (2).

Sin embargo, no todas las gestaciones obtenidas llegan a término, ya que cerca del 25 % terminarán en aborto, no atribuible a la IUI sino a la propia etiología de la esterilidad.

III. Inseminación artificial con semen de donante

La *Inseminación Artificial con semen de Donante (IAD)* consiste en la introducción de semen de un varón, distinto a la pareja de la paciente, en el aparato genital femenino. Hasta hace varios años se denominaba

Inseminación Heteróloga, pero al igual que citamos para la IAC, se ha abandonado por hacer referencia a diferencia de especies, y en este caso, aunque sea de donante, pertenece a la misma especie.

La primera IAD se llevó a cabo en Estados Unidos por Pancoast en el año 1884, en una mujer cuya pareja presentaba una azoospermia o ausencia de espermatozoides.

En este caso el semen utilizado era fresco, sin embargo, tras la aparición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) y su posibilidad de transmisión junto con otras infecciones por vía seminal, desde 1988 es obligatorio la utilización de semen congelado, que permite la realización de las pruebas del SIDA en el donante el día de la recogida de la muestra de semen y a los 6 meses de efectuada la congelación.

1. Indicaciones

La indicación principal de la IAD es la esterilidad de etiología masculina: en toda pareja en la que detectemos un factor masculino severo que no es susceptible de tratamiento con estimulación de la espermiogénesis, con cirugía o con técnicas de mejora del semen.

Estas causas son múltiples, desde la aneyaculación y eyaculación retrógrada, pasando por trastornos de la erección o eyaculación y azoospermias, en los que la esterilidad masculina es evidente; hasta otra serie de patologías en la que la esterilidad es probable aunque no evidente, lo cual ocurriría ante una oligoastenozoospermia o una oligoastenoteratozoospermia en las que, tras diversas terapéuticas, incluida la Fertilización in Vitro y la Microinyección espermática, no se consigue una gestación.

También está indicada la IAC en los casos relacionados con patología genética hereditaria en el varón y con la incompatibilidad Rh en la pareja cuya mujer se encuentra sensibilizada al factor Rh.

Y por último, la legislación española (3) contempla la IAD en mujeres sin pareja que deseen quedar gestantes (Fig. 3).

- Factor masculino determinante
- Patología hereditaria en el varón
- Incompatibilidad Rh con mujer sensibilizada

Figura 3

Indicaciones de la IAD

2. Técnica

Para poder acceder a una IAD es imprescindible la donación de semen. El sujeto que la efectúa puede provenir de otras parejas en tratamiento por esterilidad, de varones que acuden para congelar su semen como paso previo a la vasectomía, de ciertas parejas que están sensibilizadas con el problema o de jóvenes solteros que lo donan a cambio de una remuneración, aunque este hecho no está permitido en España, aportándoles sólo una cantidad simbólica como compensación a los posibles gastos de transporte y dieta. Por tanto, la donación es altruista y estrictamente anónima.

El donante debe tener un fenotipo semejante al paciente: talla, peso, color de ojos, pelo y piel, además del grupo sanguíneo y Rh. En él se hará un despistaje de anomalías hereditarias y de infecciones, para lo cual se realizan determinadas pruebas como la detección de anticuerpos frente al virus de la Hepatitis y del SIDA, de Sífilis y otras enfermedades de transmisión sexual, tanto en el momento de la donación como una vez transcurridos seis meses de la misma para obviar el llamado «período ventana» en la aparición de anticuerpos.

Al semen se le añade un medio crioprotector que le preservará en parte durante el proceso de congelación y descongelación, colocándolo en pequeños tubos plásticos llamados «pajuelas» y se congela introduciéndolo en bombonas que contienen Nitrógeno líquido o Bancos de Semen hasta que llegue el momento de su uso.

Una vez que se ha comprobado que la paciente se encuentra en el período ovulatorio, se procede a descongelar la «pajuela», depositando su contenido en el interior del canal cervical o alrededor de él mediante una jeringa, pudiendo utilizar una cúpula plástica que se adhiere al cuello con lo cual se reduciría el espacio donde se distribuye el semen.

Se han citado mejores resultados cuando se «capacita» el semen, tal y como se describió para la IAC, e introduciéndolo directamente en la cavidad uterina; pero Buxaderas (4) no encuentra diferencia en número de gestaciones al comparar la IAD mediante jeringa o cazoleta en el cuello y la intrauterina.

3. Resultados

La IAD presenta un porcentaje de gestaciones por ciclo del 17,6 % (4) al 20,2 % (5), en tanto que por paciente éste oscila entre el 31,5 % (4) al 42,8 % (5).

Las gestaciones obtenidas mediante esta técnica no tienen mayor riesgo ni presentan un porcentaje superior de malformaciones.

IV. Fertilización in vitro y transferencia embrionaria

Consiste en la fecundación de los ovocitos fuera del organismo materno. Estos ovocitos son extraídos mediante la punción folicular ovárica, posteriormente se inseminan en el laboratorio y cuando se ha producido la división celular, se introducen en el aparato genital de la paciente.

Desde el nacimiento del primer bebé conseguido por los pioneros Edwards y Steptoe en Inglaterra mediante *Fertilización in vitro y posterior transferencia embrionaria (FIV-TE)* en el año 1978, se ha asistido a un desarrollo vertiginoso de todas las TRA encaminado a elevar los porcentajes de éxitos, contabilizados por el número de embarazos y de recién nacidos vivos, y a simplificar en lo posible todos los procedimientos utilizados, tanto en la estimulación de la ovulación, en la punción folicular ovárica transvaginal bajo control ultrasonográfico, en la realización de los cultivos y en la transferencia embrionaria.

Todos estos avances han significado un aumento en la tasa de embarazos y una reducción de los costes, haciendo que se amplíen las indicaciones de la *FIV-TE* antes utilizada sólo para la esterilidad de causa tubárica y que hoy se extiende también a los casos de endometriosis, esterilidad masculina, esterilidad de origen desconocido, etc.

1. Indicaciones de la FIV-TE

Antes de sentar la indicación de esta modalidad de tratamiento es preciso informar a la pareja de las complicaciones principalmente secundarias al tratamiento hormonal de estimulación de la ovulación que puede causar una hiperestimulación ovárica y a la eventualidad de gestaciones múltiples, así como de las posibilidades de éxito en la obtención de una gestación.

Es indispensable disponer de test de SIDA y de Hepatitis, de resultados recientes de niveles hormonales: FSH (Hormona Folículo Estimulante) y LH (Hormona Luteinizante), y descartar la existencia de infección genital y seminal.

Las indicaciones serían las siguientes:

Esterilidad de causa tubárica. El objetivo primario de la técnica es el tratamiento de aquellos casos de esterilidad en los que hay una ausencia de las Trompas de Falopio o una afectación tubárica irreversible, en la que es preciso sustituir el sitio anatómico donde tiene lugar la fecundación y el desarrollo embrionario precoz. Sin embargo hoy en día sólo es la indicación del 50 % de los casos de *FIV-TE*. En este apartado también se incluyen las pacientes que han sido sometidas a este-

rilización mediante Ligadura Tubárica Bilateral o ante grandes adherencias tuboperitoneales.

Esterilidad de causa masculina. Esta es la segunda causa de indicación de *FIV-TE*. En la *FIV* se precisa un número bajo de espermatozoides para la inseminación ovocitaria, alrededor de 50.000 a 150.000 espermatozoides por mililitro o por ovocito.

Esta es pues una indicación más, en los casos de oligo y/o astenozoospermia, aunque las tasas de fertilización son más bajas que en pacientes con patología tubárica.

Endometriosis. Cuando esta patología causa esterilidad por una alteración mecánica en las trompas debido a las adherencias periováricas y peritubáricas que produce, la etiología de la esterilidad está clara. Sin embargo, ante la ausencia de ellas es difícil establecer el porqué de la misma, citando ciertos desórdenes a nivel de los macrófagos, prostaglandinas, en el sistema inmunitario, e incluso en la calidad ovocitaria.

Ante una endometriosis severa, se indicaría como primera alternativa terapéutica una *FIV-TE*, mientras en los casos mínimos se intentarían otros tratamientos, y sólo ante su fracaso la indicaríamos.

Esterilidad de origen desconocido. Si se efectúa un estudio exhaustivo en las parejas con esterilidad inexplicada, en muchos casos se detecta la existencia de una endometriosis mínima, adherencias peritoneales o alteraciones mecánicas de las trompas que habían pasado desapercibidas. Sin embargo, en ocasiones es imprescindible en estos casos el realizar un Test FIV, o test diagnóstico, cuando el estudio ha sido completado y han fracasado otras modalidades terapéuticas menos agresivas. En este caso al poner juntos ambos gametos si fracasa la fecundación, podría deberse a alteraciones en los procesos de fertilización o en el comienzo del desarrollo embrionario, y se podría optar por semen de donante y, como último paso, ovocitos de otra paciente.

No obstante, las tasas de fertilización en la *FIV* de este grupo de pacientes, revela una disminución frente a las obtenidas en patología tubárica, y siempre se indicará cuando hayan fracasado otras técnicas de reproducción asistida que incluyen una estimulación ovárica e inseminaciones intrauterinas.

Esterilidad inmunológica. La existencia de anticuerpos antiespermatozoides en el varón o en la mujer puede causar el fracaso de la fertilización, bien por inmovilización espermática o por alteración en el proceso de penetración del ovocito.

Fracaso de otras TRA. En pacientes que han completado el número de ciclos de IAC o IAD sin obtener una gestación como paso siguiente en la terapéutica de la esterilidad se indica una *FIV-TE* (Fig. 4).

- Factor tubárico
- Factor masculino
- Endometriosis
- Esterilidad origen desconocido
- Esterilidad inmunológica
- Fracaso otras TRA

Figura 4

Indicaciones de la FIV

2. Técnica de la FIV-TE

Una vez realizada la hiperestimulación controlada de los ovarios, y administrada la Hormona Gonadotropina Coriónica (HCG) que desencadena la ovulación, los pasos de que consta una Fertilización in vitro son básicamente tres: la punción ovárica, la decumulación y la transferencia embrionaria (Fig. 5).

- Punción y aspiración folicular
- Inseminación ovocitaria
- Decumulación y evaluación de los ovocitos
- Transferencia embrionaria

Figura 5

Técnica de la FIV

Punción y aspiración folicular ovárica. En la actualidad, la punción de los folículos del ovario se realiza por vía transvaginal y bajo visión ecográfica, en perjuicio de la laparoscopia, lo que ha disminuido los riesgos anestésicos, los propios de cualquier intervención quirúrgica y el coste económico, en tanto que aumenta la tolerancia de la paciente, al ser un procedimiento que sólo precisa de anestesia local paracervical además de una ligera sedación, y que además no requiere hospitalización, siendo dada de alta en un margen de aproximadamente 3 horas.

Transcurridas 34 a 36 horas tras la administración de la HCG, se procede a la punción y aspiración del líquido folicular. No es conveniente superar los 110 mm de Hg de presión de aspiración, por el daño que oca-

sionaría al poder fracturar la zona pelúcida del ovocito, que en este momento se encuentra en la Metafase II de la meiosis, siendo extremadamente sensible a cualquier agresión, incluido los cambios de temperatura. Por ello, es conveniente que el quirófano se encuentre próximo al laboratorio, y que ambos se ubiquen en un área estéril.

El líquido folicular llega al laboratorio en un tubo de Falcon o similar. El contenido se vierte en una placa de Petri, procediendo a la localización del ovocito, a veces a simple vista, identificando el cúmulus que rodea al ovocito como una zona clara de apariencia mucosa, siempre bajo cámara de flujo laminar y mediante un estereomicroscopio, que nos va a permitir también evaluar el grado de madurez ovocitaria.

El ovocito es lavado para eliminar los restos de sangre y líquido folicular, empleando una pipeta de Pasteur esterilizada con calor seco, e introducido a continuación en placas con medio de cultivo dentro de un incubador de dióxido de carbono (CO₂) al 5 %, un pH de 7,4 y un grado de humedad del 5 %.

Inseminación de los ovocitos. Los ovocitos se inseminan de 6 a 8 horas tras la punción, dependiendo de su grado de madurez, precisando aquellos con ausencia de cúmulus, hasta 24 a 36 horas de preincubación.

El semen se recoge tras una abstinencia de 2 a 4 días, y se comienza la preparación o capacitación. La técnica de la capacitación dependerá del semen, ya que unos responden mejor al Swim-up en tanto que otros lo hacen con columnas de gradientes de Percoll. De esta forma se obtendrán espermatozoides con buena motilidad y sin contaminación bacteriana, inseminando el ovocito con 50.000 a 100.000 espermatozoides por mililitro, aunque ante un factor masculino se precisará inseminar hasta con 500.000 espermatozoides por mililitro para conseguir la fertilización. Sin embargo, en ocasiones no se obtiene un número suficiente de espermios móviles, por lo que tendremos que colocar todos los ovocitos juntos en un mismo pocillo e inseminarlos, o bien preparar microgotas de medio de cultivo inmersas en aceite de parafina, precisando una menor cantidad de espermatozoides.

En casos de esterilidad masculina determinante, se utiliza semen de donante.

Decumulación y evaluación. Permanecen en el incubador de CO₂ hasta las 24 horas post-punción en la que se procede a la decumulación y evaluación del posible embrión.

La decumulación se realiza con pipetas de Pasteur estériles, con un calibre disminuido previamente por estiramiento bajo llama. Aspirando y expeliendo secuencialmente, se va «pelando» el embrión, eliminando las células de la granulosa, cúmulo y corona, que le rodean. Una vez decumulado se puede observar en un inverto-microscopio, valorando la pre-

sencia de 2 pronúcleos y corpúsculos polares, diagnosticando la existencia de fertilización. Si existieran 3 pronúcleos, indicativo de una polipenetración espermática, el embrión debe ser desechado y no transferido.

Transferencia embrionaria. A los dos días de la punción se lleva a cabo la transferencia en un número de tres a cuatro embriones en estadios inferiores a seis células. Estos se recogen con un catéter de Teflon de tal manera que el medio que contiene los embriones se encuentre rodeado por aire, y éste a su vez por medio de cultivo y que se transfieran a la cavidad uterina en una cantidad total de 50 μ l de medio.

Los resultados obtenidos en la FIV-TE oscilan entre una tasa de embarazos por punción del 19,1 % y del 21,9 % por transferencia efectuada (6).

La transferencia es el paso más incierto de todo el proceso de la FIV-TE, ya que se depositan los embriones en el interior de la cavidad uterina quedando libres con la posibilidad de que se expulsen, o que no aniden en el endometrio para proseguir su crecimiento y desarrollo.

Por ello se han ideado otras modalidades de transferir los embriones, siempre destinadas a facilitar la nidación:

Transferencia intramiometrial o intraendometrial. Recientemente, Asch (7) ha descrito otra técnica de transferencia embrionaria que permitiría depositar los embriones no sólo en el miometrio, sino incluso en el interior del endometrio. Para ello se precisa una aguja de transferencia que atravesaría el útero por vía transvaginal y bajo control ecográfico, hasta llegar al lugar deseado para colocar los embriones, con la gran ventaja de no lesionar el endometrio y evitar que los embriones atraviesen un moco cervical contaminado.

Este método estaría indicado en los casos de transferencia intrauterina repetida sin obtener una gestación y en los casos de cuellos sin posibilidad de permeabilizar o con transferencias intrauterinas previas dificultosas, con una tasa de gestaciones del 26,8 % (7).

Transferencia de cigotos a la trompa (ZIFT: Zigote intrafallopian transfer). En ella la transferencia se realiza en fase de Pronúcleo, a las 20 horas de la inseminación, y no en fase de división celular, en un número máximo de dos embriones. Además los cigotos se depositan en el interior de la Trompa de Falopio con lo que siguen las condiciones del desarrollo embrionario, resultando más fisiológico, y llegando al útero en un momento en que la cronología endometrial es más adecuada que en la FIV-TE.

La transferencia se realiza mediante la laparoscopia, y precisa por lo menos de una Trompa en buen estado donde depositar los cigotos. Aunque en la actualidad se dispone de un catéter con el que, introducido por vía vaginal, se atraviesa el cuello y, ya en el interior de la cavidad ute-

rina, por sensación táctil y por un dolor típico que refiere la paciente o bajo control ecográfico, se consigue penetrar por el orificio uterino de la trompa y depositar en ella los embriones.

Las indicaciones son las mismas que las de la transferencia intramiometrial, a las que se añaden las FIV en las que se obtiene un número escaso de ovocitos o de embriones.

Los resultados son elevados, entre el 27,9 % (6) y el 43 % de gestaciones por transferencia (8), pero tiene la desventaja frente a la transferencia intrauterina que precisa de laparoscopia y por tanto de anestesia general.

Transferencia intratubárica de embriones (TET). La diferencia con la FIV-TE radica en que a pesar de que la fertilización acontece en el laboratorio, los embriones en fase de división celular son depositados en la trompa donde continúan dividiéndose, en lugar de en la cavidad uterina. La transferencia embrionaria se realiza por laparoscopia, minilaparotomía o por vía transcervical que no requiere anestesia y el gasto es mínimo. La ventaja frente a la GIFT, en la que se transfieren los ovocitos y espermatozoides a la trompa, radica en que se diagnostica la fertilización, y respecto a la FIV-TE en que no se traumatiza el endometrio durante la transferencia y el embrión llega al útero más tarde, con lo que el endometrio se encuentra en una fase más sincronizada con el estadio embrionario, y se incrementan las posibilidades de nidación y de embarazo.

Criopreservación embrionaria. En la mayoría de los casos, el número de embriones conseguidos supera a los tres o cuatro que son transferidos, por lo que es preciso acceder a la congelación o criopreservación de los mismos.

La técnica consiste en producir una deshidratación de las células colocándolas en un medio crioprotector y luego introducir las en nitrógeno líquido, donde quedan almacenadas para su uso en ciclos posteriores, durante un período máximo de 5 años.

V. Transferencia intratubárica de gametos (GIFT: Gamete Intrafallopian Transfer)

Se ha propuesto como alternativa a la FIV en pacientes que tengan al menos una trompa indemne. La diferencia principal con la FIV estriba en que la fertilización se produce en la trompa y no en el laboratorio.

Los gametos: ovocitos y espermatozoides son depositados directamente en la porción ampular de la trompa, que es el lugar fisiológico de la fecundación, pero tiene el gran inconveniente que, si no hay gestación, no se reconoce si ha tenido lugar la fertilización, lo cual es impres-

cindible en patología masculina, inmunológica o en esterilidad de etiología desconocida.

La punción folicular ovárica se lleva a cabo mediante captación ecográfica transvaginal, por laparoscopia o incluso por minilaparotomía. La transferencia sí precisa de una laparoscopia, con la condición previa de que exista una Trompa sana y permeable por la que se introduce un catéter que contiene los gametos que son depositados en ella. En la actualidad también se está realizando por vía transcervical, al igual que en la ZIFT, o por histeroscopia.

El porcentaje de gestaciones se cifra en un 28,8 % (9).

VI. Donación de ovocitos

En la actualidad y por determinadas razones sociales y laborales la población femenina ha retrasado el momento de la concepción.

A partir de los 40 años de edad se asiste a una disminución de la fertilidad en la mujer, atribuible a múltiples factores, como serían: la reducción del índice de implantación embrionaria, mayor tasa de abortos y una incidencia superior de anomalías genéticas, a lo que se añade una disminución en el número de folículos del ovario y la producción de ovocitos defectuosos.

Estos hechos hacen que la demanda de TRA sea cada vez mayor en edades superiores a los 40 años, en que además tendrán una respuesta menor en los ciclos de tratamiento de estimulación ovárica como consecuencia de la reducción en la dotación folicular ovárica.

El primer parto tras una Donación de Ovocitos (DO) fue publicado por Lutjen (10) en 1984 en una mujer que presentaba un fallo ovárico precoz. De esta manera se ampliaban las posibilidades de tratamiento de la esterilidad mediante TRA a aquellas mujeres con ausencia o anomalías funcionales de ovario, patología hereditaria, etc.

Los ovocitos donados se obtienen mediante FIV y son transferidos al útero de la receptora, el cual debe haber sido sometido a un tratamiento hormonal esteroideo que permita un desarrollo endometrial adecuado, encaminado a crear unas condiciones óptimas para la implantación.

1. Indicaciones

Fallo ovárico. La principal indicación de la DO es el Fallo ovárico precoz o finalización de la función de ambos ovarios en una mujer cuya edad es inferior a los 35 años, con unos niveles séricos de gonadotropinas elevados, amenorrea y una tasa baja de estrógenos. Su etiología

puede ser secundaria a procesos que han obligado a la extirpación quirúrgica de los ovarios; por neoplasias, o tras quimioterapia o radiación, además de por factores hereditarios, trastornos autoinmunes, defectos enzimáticos, alteraciones en la secreción de gonadotropinas, por ausencia de la glándula tímica e idiopática.

En mujeres con fallo ovárico no precoz, con edad superior a los 35 años, en que al encontrarse en la perimenopausia no responden a tratamientos de estimulación de la ovulación o bien carecen de dotación ovocitaria, propio de su edad, pero que tienen deseos de descendencia.

Anomalías genéticas hereditarias. Para evitar la transmisión de determinadas enfermedades ligadas al sexo o autosómicas recesivas.

Fracaso de otras TRA. En pacientes con ciclos FIV previos que han fracasado o en los que se obtuvieron ovocitos de mala calidad, y en las mujeres bajas respondedoras al tratamiento de estimulación de la ovulación (Fig. 6).



— Fallo ovárico
— Anomalías genéticas hereditarias
— Fracaso TRA

Figura 6

Indicaciones de la DO

2. Técnica

Los ovocitos donados normalmente provienen de una mujer sometida a una FIV-TE en la que se han obtenido un alto número de ellos y los cede de forma anónima a otra paciente. En otras ocasiones son mujeres que acceden a una Ligadura tubárica bilateral (LTB) y aceptan una estimulación ovárica, realizando la punción folicular en el mismo acto operatorio de la LTB; de hermanas o de donantes aportadas por la paciente ya sean amigas o contratadas especialmente para la donación. Sin embargo, en España la Ley sobre TRA establece que la donación de gametos es un contrato gratuito, formal y secreto entre la donante y el Centro, por lo que estas últimas donantes no pueden ser aceptadas para la propia paciente, pero sí para otras que precisen DO.

Esta donante debe cumplir una serie de requisitos: edad inferior a los 35 años para evitar el riesgo de malformaciones que se incrementa con la edad, ausencia de Enfermedades de Transmisión Sexual con anticuer-

pos frente al Sida, Hepatitis y Lúes negativos realizados dentro de los 6 meses previos a la donación, una historia familiar en la que se descarten anomalías hereditarias, y tanto ella como su marido deberán firmar un documento solicitando la DO.

La receptora es sometida a un ciclo de sustitución hormonal con estrógenos y gestágenos administrados por vía oral para lograr una adecuada transformación endometrial y favorecer la implantación.

A la donante se le induce una estimulación hormonal ovárica, con posterior aspiración folicular. Ya en el laboratorio, los ovocitos son inseminados con el semen del marido de la paciente, y una vez comprobada la existencia de embriones, son transferidos al interior de la cavidad uterina receptora, o a las trompas (TET, GIFT, ZIFT). O bien se puede proceder a una GIFT con la transferencia a la trompa de la receptora de los ovocitos donados y los espermatozoides del marido.

Los resultados, muy variables, entre el 30 y 60 % de gestaciones, son superiores a los obtenidos en la FIV.

VII. Donación de embriones

Consiste en inducir la ovulación en la donante, procediendo a la inseminación con el semen del marido de la paciente, y realizar posteriores lavados de la cavidad uterina para obtener los embriones.

Una vez detectados estos embriones se transfieren al interior de la cavidad uterina de la receptora, cuyo endometrio habrá sido convenientemente estimulado con un ciclo estro-progestágeno.

Además de que los resultados son pobres, presenta el gran inconveniente de tener que inseminar a la donante con un semen ajeno, someterla a un legrado uterino para eliminar la posibilidad de gestación, que sin embargo, a veces se produce. Todas estas desventajas han hecho que su aplicación haya sido prácticamente desechada.

VIII. Micromanipulación

Esta técnica se basa en facilitar la penetración de los espermatozoides en el citoplasma del ovocito. Se diseñó para el tratamiento de factores masculinos muy severos y para aquellas parejas en las que había fracasado la FIV clásica. Supone un gran avance sobre todo para varones que presentan una oligoastenozoospermia severa, en los que previamente sólo se podía indicar una inseminación con donante.

En estos casos realizaríamos una *Fertilización Asistida (FA)* en la que es preciso la utilización de un micromanipulador.

Existen tres categorías diferentes de *FA*: En la primera se realiza una entrada artificial en la zona pelúcida, o disección parcial de la zona pelúcida mediante tres técnicas: la Zona drilling o perforación de la zona, que consiste en la disolución de la zona pelúcida del ovocito con diversas sustancias o enzimas utilizando una micropipeta con la que se consigue fertilización pero aún no se ha conseguido una gestación, Zona cutting o cortes en la zona, con la perforación mecánica de la misma con una microaguja y Zona cracking o desgarro de la zona con la ayuda del micromanipulador. La segunda categoría consiste en la introducción de varios espermatozoides, entre 3 y 12, en la subzona o Subzonal insertion (*SZI*), depositándolos directamente en el interior del espacio perivitelino, con unas tasas de fertilización que oscilan entre el 10 y el 50 %. Y la tercera, la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (*ICSI*) o Microinyección espermática, sería la introducción directa de un solo espermatozoide en el interior del citoplasma del ovocito.

Con estas técnicas, sobre todo con el *ICSI*, se posibilita el tratamiento a parejas con factor masculino severo, con unos porcentajes de embarazo que superan a los obtenidos en las series de FIV (11) en estos mismos pacientes.

IX. Consideraciones éticas

Desde el punto de vista ético, la Obstetricia y la Ginecología y dentro de ellas la Reproducción, ocupan un lugar especial dentro de las especialidades médicas.

El origen de la vida humana ha constituido un misterio para el que los pronunciamientos éticos de biólogos, religiosos, filósofos, juristas y sociólogos no han alcanzado un consenso. En su ausencia, hay que tener presente que la moralidad no es absoluta y varía de acuerdo con la cultura y la experiencia: la moralidad no es inmutable ni universal.

El ginecólogo que estudia a una pareja estéril debe esforzarse por mejorar su estado y dignidad así como los de la descendencia requerida. Nos enfrentamos a una pareja, dos individuos infecundos, que sufren presiones de la familia, de la sociedad, y son portadores de una ansiedad junto con un complejo de culpabilidad secundario al fracaso de su deseo reproductivo. Si se plantea un conflicto a nivel ético con la pareja a la que debemos asesorar, será preciso remitirla a otro profesional que no lo tenga.

Tal vez no ha habido un procedimiento médico tan cuidadosamente estudiado desde el punto de vista ético como la Fertilización in Vitro.

Existe el consenso de que no hay un problema moral intrínseco cuando se lleva a cabo con gametos (óvulos y espermatozoides) de la misma pareja. Así lo avalan 85 informes de 20 países distintos (12). El único documento principal que se opuso a esta técnica fue la Encíclica *Donum Vitae* (13) del Vaticano, que fue contestada por el Comité de Expertos de la American Fertility Society (14). Sin duda el documento tuvo su efecto sobre algunas parejas que se iban a someter a ella, sin embargo, en el programa de FIV de Norfolk, el porcentaje de parejas católicas que la solicita es el mismo que el de católicos de los Estados Unidos.

Mayor controversia despierta el uso de gametos extraconyugales. Las razones aducidas son varias: por un lado, se romperían los vínculos exclusivos establecidos en el matrimonio y, por otro, confunden la genealogía de la descendencia. Ambas razones son sustanciales, pero la experiencia de los programas a corto plazo no parece avalarlos, con las posibles limitaciones que se plantean ante la ausencia de un estudio con el seguimiento a largo plazo de los nacidos mediante estas técnicas.

Hay dos aspectos importantes a discutir en el caso de que se acepten los gametos extraconyugales. Es imprescindible evitar la comercialización en forma de «compensaciones» a los donantes y garantizar el anonimato de los mismos, ya que en ocasiones se ha defendido el derecho de los nacidos a conocer su ascendencia genética, que sólo se justificaría por razones económicas de herencia o bien patológicas por motivos ligados a enfermedades hereditarias, lo cual se puede prevenir por lo general con las condiciones previas de selección impuestas a los donantes.

Igual nivel de discusión plantea la criopreservación de gametos o de embriones. Pueden ocurrir diversos hechos como la muerte o incapacidad de los padres o su separación, divorcio o abandono. Para tratar de evitar litigios desagradables, es importante que en tales programas se logre un acuerdo previo entre los padres para el uso final del material criopreservado en caso de que sucediera alguna de estas circunstancias.

Por último, otro tema que ha generado un interés considerable en la comunidad científica es el empleo de embriones humanos para la investigación. Todos los informes parecen estar de acuerdo en que no se debe permitir ningún tipo de investigación más allá de los 14 días de la fecundación en el laboratorio (5), ya que es el tiempo de la implantación en el útero y el comienzo del desarrollo de la placa neural. No obstante, este límite es ampliamente discutido, y en cualquier caso habrá que hacerla con la autorización de los donantes de gametos y la autoridad responsable.

X. Resumen

Las TRA constituyen un arsenal terapéutico que permite el tratamiento de numerosas parejas estériles que en muchos casos, y secundaria-mente a ello, presentan problemas de salud psíquica que les impide su realización como individuos y su integración en la sociedad. Por tanto, nadie discute en la actualidad que estos tratamientos no sólo no constituyen un lujo, sino que su aplicación son una auténtica necesidad dentro de una sociedad desarrollada.

Este abanico de posibilidades de tratamiento ha experimentado grandes avances y continuas ampliaciones, con el descubrimiento de nuevas técnicas que nos acercan cada vez más al conocimiento de la fisiología de la reproducción, e incluso del origen mismo de la vida.

Los resultados mejorarán en los próximos años con la obtención de medicamentos altamente purificados, la creación de medios de cultivos que contengan todos los requerimientos necesarios, el avance de la congelación embrionaria y por las posibilidades que ofrece la micromanipulación en el tratamiento del factor masculino.

La aplicación de las mismas conlleva una serie de cuestiones y planteamientos éticos, que basándose en las leyes establecidas, deben resolverse siempre mediante una información adecuada a las parejas, y el consentimiento de las partes implicadas: pacientes y médicos, sin olvidar las posibles repercusiones en los nacidos por estos métodos.

Bibliografía

- (1) MARINA, S.; COMPANY, F.; MARINA, F.; VERGES, A.; GIL-VERNET, LL.; DRAPER, T.; NADAL, J.: *Resultados de 453 ciclos de IAC*. XX Congreso de la Sociedad Española de Fertilidad. 1994.
- (2) CANO, F.; GUTIÉRREZ, A.; GRIMALT, L.; TARIN, J.; PELLICER, A.; REMOHI, J.: *Eficacia del desarrollo folicular múltiple mediante inducción con gonadotropinas en inseminación artificial conyugal*. XX Congreso de la Sociedad Española de Fertilidad. 1994.
- (3) Ley 35/1988 de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. BOE num. 282 de 24 de noviembre de 1988.
- (4) BRUXADERAS, CH.; RICHARD, W.; PARDO, M.; PENELLA, J.; BARRI, P.: *IAD-IC versus IAD-IU*. Congreso de la Sociedad Española de Fertilidad. 1994.
- (5) DUQUE, J.; GARCÍA AGUIRRE, S.; MAICAS, M.; FRANCO, M.; RECIO, E.; GARCÍA, M.; GONZÁLEZ, C.: *Resultados de un programa de IAD*. XX Congreso de la Sociedad Española de Fertilidad. 1994.
- (6) SOCIETY FOR ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY: *Assisted reproductive technology in the United States and Canada: 1991 results from the society for assisted reproductive technology generated from the American Fertility Society Registry*. Fertility Sterility. 59 (5):959, 1993.

- (7) ASCH, R.: *Transmyometrial Embryo Transfer*. XX Congreso de la Sociedad Española de Fertilidad. 1994.
- (8) DEVROEY, P.; STAESSEN, C.; CAMUS, M.; DE GRAUWE, E.; WISANTO, A.; VAN STEIRTEGHEM, A.: *Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility*. *Fertility Sterility*, 52, 246, 1989.
- (9) ASCH, R.; BALMACEDA, J.; CITTADINI, E.; FIGUEROA-CASAS, P.; GOMEL, V.; HOHL, H.; JOHNSTON, I.; LEETON, J.; RODRÍGUEZ-ESCUDERO, E.; NOSS, U.; WONG, P.: *Gamete Intrafallopian Transfer; International cooperative study of the first 800 cases*. *Ann. NY. Academic Sciences*. 541: 722, 1988.
- (10) LUTJEN, P.; TROUNSON, A.; LEETON, J.; FINDLAY, J.; WOOD, E.; RENOU, P.: «The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure». *Nature*, 307:174, 1984.
- (11) VAN STEIRTEGHEM, A.; NAGY, Z.; JORIS, H.; LIU, J.; STAESSEN, C.; SMITZ, J.; WISANTO, A.; DEVROEY, P.: *High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection*. *Human Reproduction*, 8: 1061, 1993.
- (12) *Ethics and new reproductive techniques: an international review of committee statements*. *Hastings Center Report*; 13 (suppl):3. 1987.
- (13) *Donum Vitae*. Roma 1987.
- (14) ETHICS COMMITTEE OF THE AMERICAN FERTILITY SOCIETY.: *Consideraciones éticas de las nuevas tecnologías reproductivas*. *Fertil. Steril.*; 49: (Suppl): 1. 1988.

Los autores de la obra

José Carlos Alberto Bethencourt

Catedrático de Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina Universidad de La Laguna, Tenerife.

Carlos Alonso Bedate

Investigador del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Profesor de la Universidad Autónoma de Madrid.

Montserrat Baiget Bastús

Doctora en Farmacia. Jefe de la Unidad de Genética Molecular. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Manuel Bueno Sánchez

Catedrático. Director del Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza.

Angel Carracedo

Catedrático de Medicina Legal. Facultad de Medicina, Universidad de Santiago.

Director de los Grupos de Trabajo de la Sociedad Internacional de Genética Forense (ISFH).

José M. Carrera Maciá

Jefe de los Servicios de Obstetricia del Instituto Universitario Dexeus, Barcelona.

Presidente de la Sociedad Iberoamericana de Diagnóstico Prenatal.
Chairman of the European Study Group on Prenatal Diagnosis.

María Castellano Arroyo

Catedrática de Medicina Legal. Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza.

Alfonso Delgado Rubio

Catedrático, Director del Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina, Universidad del País Vasco/EHU. Hospital de Basurto, Bilbao.

José Egozcue

Catedrático de Biología Celular. Departamento de Biología Celular y Fisiología, Universidad Autónoma de Barcelona.

Félix M. Goñi

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad del País Vasco/EHU, Campus de Lejona, Bilbao.

Santiago Grisolia

Presidente del Comité Científico para el Proyecto Genoma Humano de la UNESCO.

Instituto de Investigaciones Citológicas, Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas, Valencia, España.

Juan Ramón Lacadena

Catedrático de Genética. Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

José M. Macarulla

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad del País Vasco/EHU, Campus de Lejona, Bilbao.

Rubén F. Moreno-Palanques

Miembro de la *Human Genome Organisation* (HUGO)
Clinical Gene Therapy Branch, National Center for Human Genome Research, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, U.S.A.

Feliciano J. Ramos Fuentes

Pediatra-Genetista. Area de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza.

Rubí Nieves Rodríguez Díaz

Profesora Titular de Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina Universidad de La Laguna, Tenerife.

Índice analítico

Prólogo

Por la Fundación BBV, Diputación Foral de Bizkaia y Universidad de Deusto IX

Presentación

Derecho y Genética humana: bases para una discusión,
por *Carlos María Romeo Casabona* XI

Capítulo 1

Introducción a la Biología Molecular,
por *Félix M. Goñi* y *José M.ª Macarulla* 1

- I. Los seres vivos y la Biología Molecular 1
- II. Seres vivos y células 2
- III. El DNA, base molecular de la herencia 4
- IV. Replicación del DNA 10
- V. Transcripción del DNA 13
- VI. Traducción de los RNA mensajeros. Código genético 14
- VII. Ingeniería genética. Clonación de genes 17

Bibliografía 20

Capítulo 2

El Proyecto del Genoma Humano,
por *Santiago Grisolia* y *Rubén F. Moreno-Palanques* 21

- I. Introducción 21
 - 1. ADN 21