

# Presencia de metales pesados en el líquido folicular de pacientes estériles.

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

Elena Herrero Ferrer, Paula Hinojal Collado, Carolina Rodríguez González.

**Tutores:** Dra. Rubí Nieves Rodríguez Díaz, Dr. Arturo Hardisson de la Torre, Dra. Raquel Blanes Zamora.

**Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología. Universidad de La Laguna.**

**Curso 2019-2020**

# TABLA DE CONTENIDOS

<b>1. Resumen/Abstract.....</b>	<b>Pág 4</b>
<b>2. Palabras clave/Keywords.....</b>	<b>Pág 4</b>
<b>3. Introducción.....</b>	<b>Pág 6</b>
3.1 Características y clasificación de los metales pesados.....	Pág 9
3.2. Fuentes de exposición.....	Pág 11
3.3 Efectos nocivos de los metales .....	Pág 12
3.4 Generalidades del líquido folicular .....	Pág 13
3.5 Reproducción y materiales pesados .....	Pág 13
<b>4. Objetivos.....</b>	<b>Pág 13</b>
<b>5. Material y métodos. ....</b>	<b>Pág 14</b>
5.1. Sujetos estudio.....	Pág 14
5.2. Recogida y manejo de muestras.....	Pág 14
5.3. Aspectos éticos.....	Pág 17
<b>6. Resultados. ....</b>	<b>Pág 17</b>
6.1. Edad.....	Pág 17
6.2. Peso .....	Pág 17
6.3. Talla .....	Pág 19
6.4. Distancia a gasolineras .....	Pág 20
<b>7. Discusión. ....</b>	<b>Pág 20</b>
7.1. Macroelementos.....	Pág 20

7.2. Microelementos.....	Pág 20
7.3. Metales tóxicos.....	Pág 22
<b>8. Conclusiones. ....</b>	<b>Pág 23</b>
<b>9. Bibliografía. ....</b>	<b>Pág 24</b>
<b>10. ¿Qué hemos aprendido? .....</b>	<b>Pág 28</b>

## 1. RESUMEN

**Introducción:** La incidencia de esterilidad es cada vez más frecuente y puede deberse a diversos cambios en el estilo de vida con un aumento de la exposición a tóxicos, entre los que se encuentran los metales pesados.

**Objetivo:** Determinar la presencia de metales pesados en el líquido folicular de pacientes estériles que acuden a la Unidad de Reproducción Humana del Hospital Universitario de Canarias.

**Material y métodos:** Realizamos un estudio experimental prospectivo en 150 pacientes, con edades comprendidas entre los 20 y 42 años, residentes en las islas Canarias, para determinar la presencia de metales pesados en líquido folicular. Se les realizó una fertilización in vitro con extracción de ovocitos mediante punción ovárica transvaginal. La instauración de la alerta sanitaria nos obligó a transformar el presente trabajo en una revisión bibliográfica.

**Conclusiones:** Se han encontrado estudios que muestran que el Cadmio y el Zinc en líquido folicular tienen un efecto positivo sobre la reproducción, mientras que otros metales como el Plomo, Cobre y Cobalto no parecen favorecer el correcto desarrollo del ovocito y embrión.

**2. PALABRAS CLAVE:** Líquido folicular, Fertilización in Vitro, Metales tóxicos, Plomo, Cobre, Zinc, Cadmio y Cobalto.

## 1. SUMMARY

**Introduction.** Infertility have become more common and it may be caused by changes in people lifestyles, with an increased exposure to toxic compounds. Among these, we find heavy metals.

**Purpose:** To determine heavy metal in follicular liquid of infertility patients of the Human Reproduction Unit of the Hospital Universitario de Canarias.

**Materials and methods:** We did an experimental prospective study in 150 patients living in the Canary Islands. Their ages are between 20 and 42 years. The patients were subjected to an in vitro fertilization to determine heavy metal on follicular liquid. The extractions were performed using IVF with transvaginal ovarian puncture. Emergency state caused by COVID-19, forced us to transform the present study to a bibliographic review.

**Conclusion:** Several publications have been found that Cadmium and Zinc in follicular fluid have a positive effect on reproduction, while other metals such as Lead, Copper and Cobalt do not appear to promote the development of oocyte and embryo.

**2. KEYWORDS:** Follicular liquid, in vitro fertilization, heavy metals, lead, copper, zinc, cadmium, cobalt.

### 3. INTRODUCCIÓN

Las alteraciones reproductivas afectan a un número creciente de parejas, con una tendencia actual a la disminución de la fertilidad (1). Una de las causas sería la presencia de los metales pesados (2), su acumulación en los tejidos reproductivos tanto de mujeres como de hombres corrobora la posibilidad de toxicidad reproductiva (3). Algunos de estos metales son esenciales en pequeñas cantidades, pero son tóxicos en concentraciones más altas, como el cobre (Cu), el cromo (Cr), el manganeso (Mn) y el zinc (Zn), otros no tienen una función metabólica clara y son clasificados como tóxicos obligatorios, como el cadmio (Cd), el mercurio (Hg) y el plomo (Pb) (2), y el cobalto (Co), Cr, Cu, Mn, el molibdeno (Mo) y Zn son esenciales para la función fisiológica en humanos (4).

Hasta la fecha son muy pocos los estudios que han evaluado su impacto en los resultados de las técnicas de reproducción asistida (TRA), aunque ciertas cantidades serían imprescindibles para su éxito (5). El ovocito se podría dañar por un microentorno tóxico durante la etapa de desarrollo folicular primordial y en el momento de la maduración, y podría ser por los efectos deletéreos del exceso de metales pesados (6). Gerhard et al, demuestran que diversos factores ambientales afectan a la maduración ovocitaria y a la calidad de embrión (7) y, por otro lado, Bloom et al, encontraron una asociación entre la disminución de la fecundidad y fertilidad, con altas dosis y exposiciones profesionales al Hg, Cd, y Pb (3).

Ingle et al, observaron una asociación negativa entre la presencia de Cr en el líquido folicular y el número de ovocitos maduros recuperados, y del Zn con la tasa de fertilización (8) (Tabla 1).

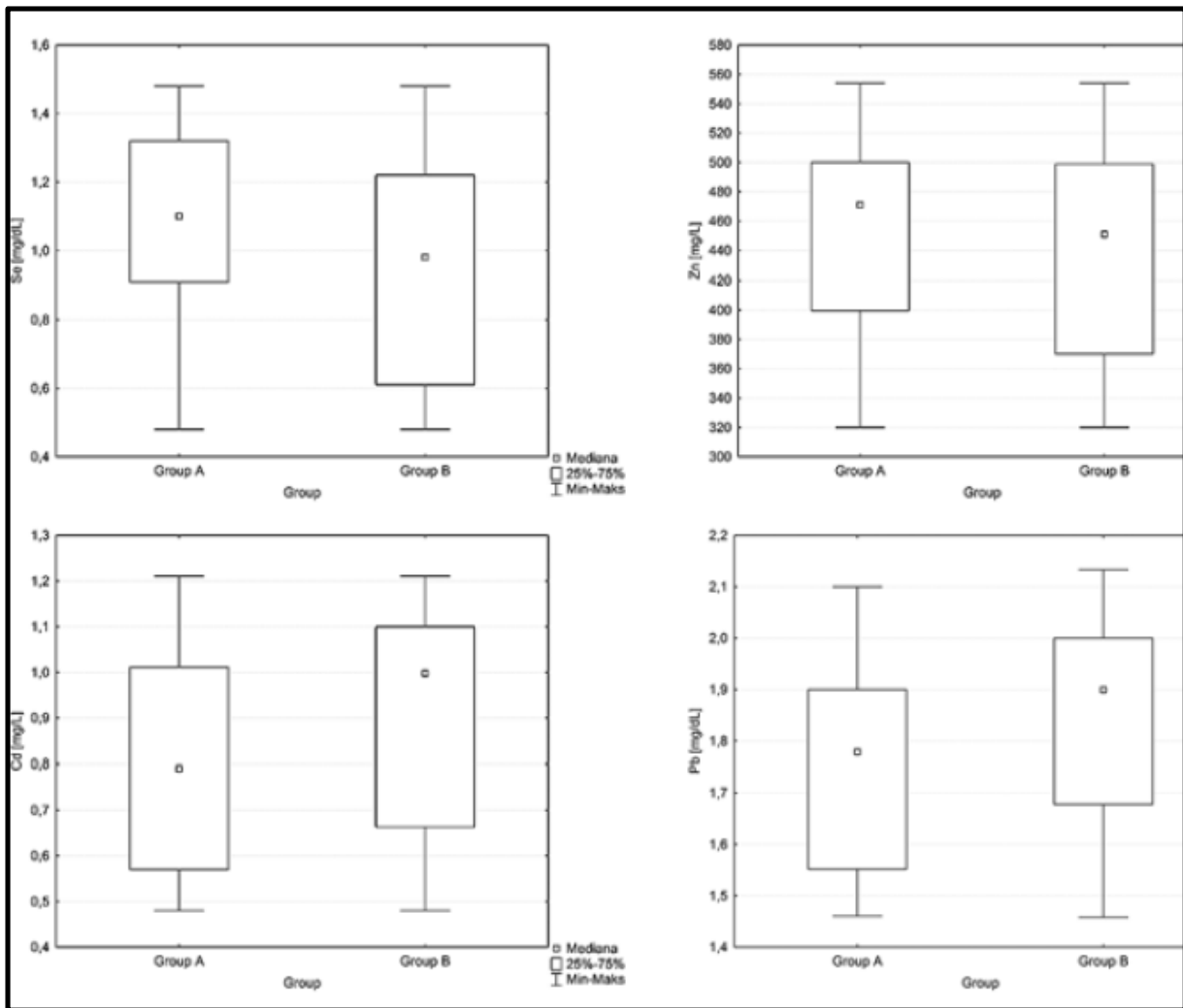
IVF endpoints	Essential trace elements					
	Co	Cr	Cu	Mn	Mo	Zn
FF (n = 44)						
Total oocytes <sup>a</sup>	-0.14 (-0.60, 0.32)	-0.10 (-0.53, 0.33)	0.75 (-0.10, 1.60)	0.01 (-0.25, 0.026)	1.1 × 10 <sup>-3</sup> (-0.49, 0.48)	0.11 (-0.69, 0.91)
Proportion M2-oocytes <sup>b, c, d</sup>	-0.34 (-0.70, 0.20)	-0.51 (-0.82, -0.20) <sup>*</sup>	0.18 (-0.57, 0.92)	-0.14 (-0.30, 0.02)	0.04 (-0.25, 0.34)	-0.37 (-0.88, 0.15)
Proportion oocytes fertilized <sup>b, c</sup>	0.04 (-0.15, 0.24)	-0.09 (-0.25, 0.06)	-0.04 (-0.36, 0.29)	-0.04 (-0.13, 0.06)	0.03 (-0.14, 0.21)	-0.30 (-0.58, -0.02) <sup>*</sup>
Total embryos <sup>a, c</sup>	-0.02 (-0.54, 0.51)	-0.11 (-0.57, 0.35)	0.50 (-0.35, 1.35)	-0.06 (-0.33, 0.20)	0.21 (-0.27, 0.69)	-0.11 (-0.94, 0.71)

**Tabla 1.** Efectos estimados (95% CI) de los elementos esenciales traça en el líquido folicular y en orina, con los resultados de FIV (8).

Además de una relación entre los niveles más elevados de Co en el líquido folicular con un promedio inferior de número de blastómeras embrionarias por mujer, a pesar de una asociación positiva con el grosor endometrial. Cuando se realizaron estas determinaciones en orina se encontró que cuanto más altos eran los niveles de Co, Cr, Cu, Mn, y Mo se asociaba con más ovocitos recuperados por mujer, embriones generados y más embriones en total (8).

Aunque sus mecanismos y concentraciones sean desconocidas, el Pb en sangre y el Cu en líquido folicular, parecen tener impactos significativos sobre el resultado del ciclo de TRA. Sin embargo, Tolunay et al, concluyen que se precisan más estudios con cohortes más grandes y en poblaciones diferentes de pacientes, para definir sus efectos sobre la calidad ovocitaria, desarrollo de embrión y reproducción humana en general (9).

También se ha objetivado que la probabilidad de embarazo con una inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), es mayor cuando las concentraciones de selenio (Se) son más elevadas en el líquido folicular, mientras que con el Cu, Zn, Fe, Pb y Cd no se encontró ninguna relación (1) (Tabla 2).



**Tabla 2.** Comparación de la presencia de metales traza en pacientes gestantes y no gestantes (1).

Nandi et al, observaron que mujeres gestantes tenían ninguna o una baja concentración de Pb, Cd o arsénico (As) en el líquido folicular, en comparación con las no gestantes, y que una concentración más elevada de metales pesados se asociaba con ovocitos y embriones de baja calidad (10) (Tabla 3).



	Study group Median (Min–Max) n = 20	Reference group Median (Min–Max) n = 81	P
<i>Blood</i>			
Cd (µg/L)	0.95 (0.41–3.33)	0.98 (0.43–3.31)	.490
Pb (µg/dL)	2.37 (1.13–7.97)	5.11 (1.48–10.47)	<b>.043</b>
Hg (µg/L)	2.68 (0.78–7.27)	2.79 (0.50–8.05)	.673
As (µg/L)	9.22 (5.27–18.73)	8.99 (3.83–23.84)	.898
Cu (mg/L)	4.03 (1.70–8.76)	3.87 (0.84–7.65)	.798
Zn (mg/L)	4.72 (3.35–6.47)	4.79 (2.21–6.15)	.762
Fe (mg/L)	460.95 (221.0–541.15)	447.22 (215.23–561.57)	.545
<i>Follicular fluid</i>			
Cd (µg/L)	0.76 (0.40–1.76)	0.75 (0.40–1.73)	.670
Pb (µg/dL)	2.77 (1.26–5.69)	2.94 (1.10–5.69)	.652
Hg (µg/L)	2.19 (1.11–3.32)	2.02 (0.21–3.32)	.125
As (µg/L)	1.46 (0.21–3.13)	1.72 (0.13–3.66)	.922
Cu (mg/L)	0.73 (0.35–1.61)	1.03 (0.33–1.77)	.050
Zn (mg/L)	0.77 (0.61–1.31)	0.77 (0.23–1.66)	.253
Fe (mg/L)	316.32 (221.35–442.31)	323.02 (123.23–453.04)	.871
Bold values represent differences that were considered statistically significant at $p < 0.05$ .			

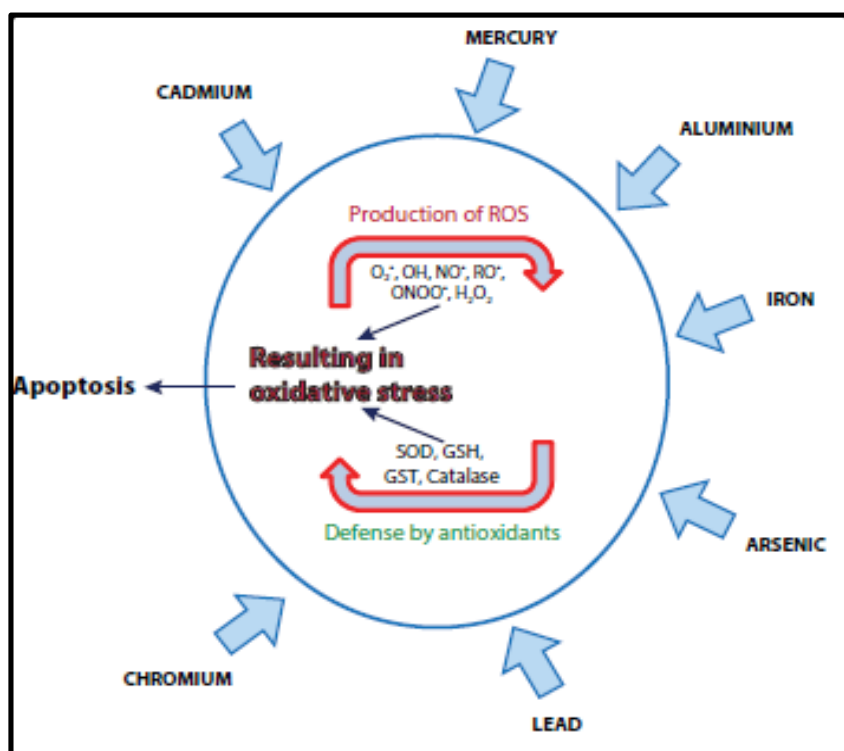
**Tabla 3.** Concentración de metales pesados en el líquido folicular y la sangre en los grupos de pacientes estériles (10).

### 3.1. Características y clasificación de los metales

Los metales, naturalmente presentes en el medio ambiente, han sido reconocidos como uno de los principales contaminantes de los ecosistemas. Los factores que más influyen en la acumulación de metales pesados en los tejidos son la concentración en el medio ambiente y el agua, el tiempo de exposición, y otros ambientales como el pH, la temperatura, la salinidad y factores intrínsecos como el sexo, el índice de masa corporal (IMC), etc. (11).

• **Metales pesados tóxicos.** Los metales pesados tóxicos son Cd, Hg, Pb y aluminio (Al). A pesar del conocimiento de sus efectos nocivos para la salud humana, persiste su exposición e, incluso, en algunas zonas se ha incrementado (12).

El mecanismo por el que la mayoría de los elementos anteriormente mencionados producen daño en el organismo es a través del estrés oxidativo, se produciría por el desequilibrio entre la producción de radicales libres (ROS) y la generación de antioxidantes para desintoxicar los intermedios reactivos o reparar el daño resultante (14) (Figura 1).



**Figura 1.** El ataque de metales pesados en una célula y el equilibrio entre la producción de ROS y la defensa posterior presentada por los antioxidantes (14).

### • Macroelementos

Son elementos que el cuerpo necesita en mayor cantidad. El grupo de los macroelementos está representado por macronutrientes como el Ca, Mg, K y Na.

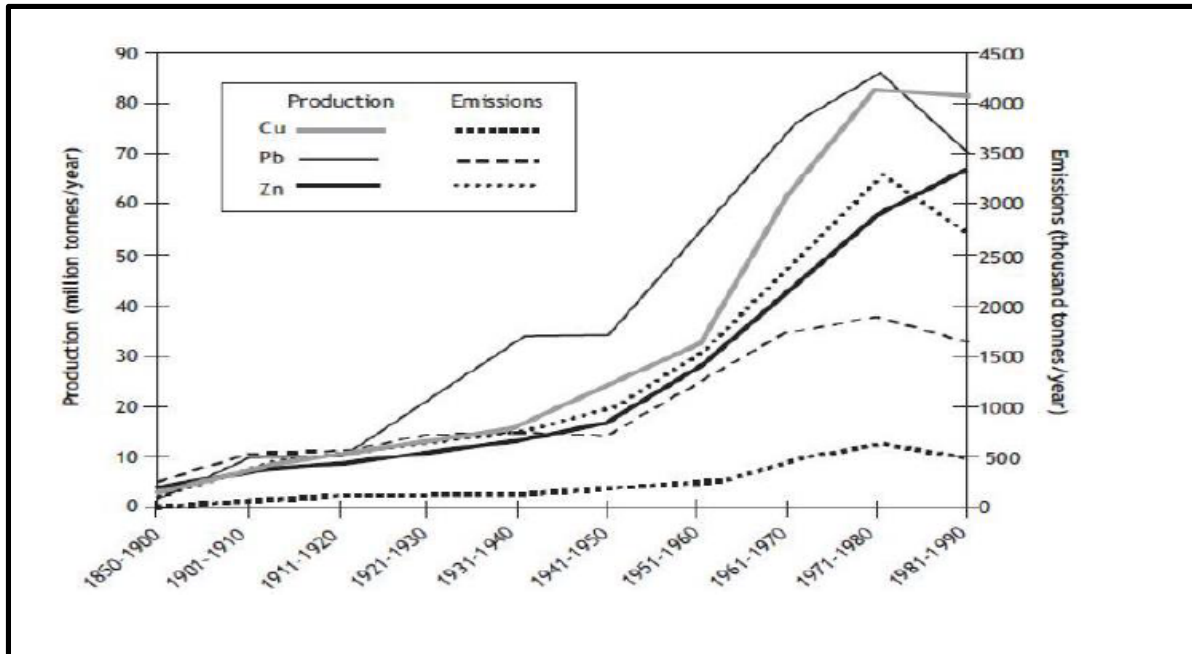
### • Microelementos y metales traza

El cuerpo los requiere en menor cantidad y se pueden clasificar en:

- Esenciales: los elementos traza, esenciales para la salud humana son: Fe, Zn, Cu, Cr, Co, Mo y Se. Participan en la síntesis de hormonas, enzimas y otras sustancias que ayudan a regular el desarrollo y funcionamiento de los sistemas inmunitario y reproductivo, y deben de ser consumidos en cantidades adecuadas para el mantenimiento normal de las funciones fisiológicas, pero hay que tener en cuenta que si se ingieren en exceso pueden ser tóxicos (15).

- No esenciales: los metales no esenciales como el estroncio (Sr), bismuto (Bi), vanadio (V), níquel (Ni), boro (B) y bario (Ba) son constituyentes naturales de la corteza terrestre. La

contaminación del aire, suelo y de las aguas, contribuye a la presencia de estos elementos (12) (Figura 2) .



**Figura 2.** Aumento de la producción global y emisiones de los metales. Cu (elemento traza), Pb (metal pesado tóxico) y Zn (elemento traza) (12).

### 3.2. Fuentes de exposición

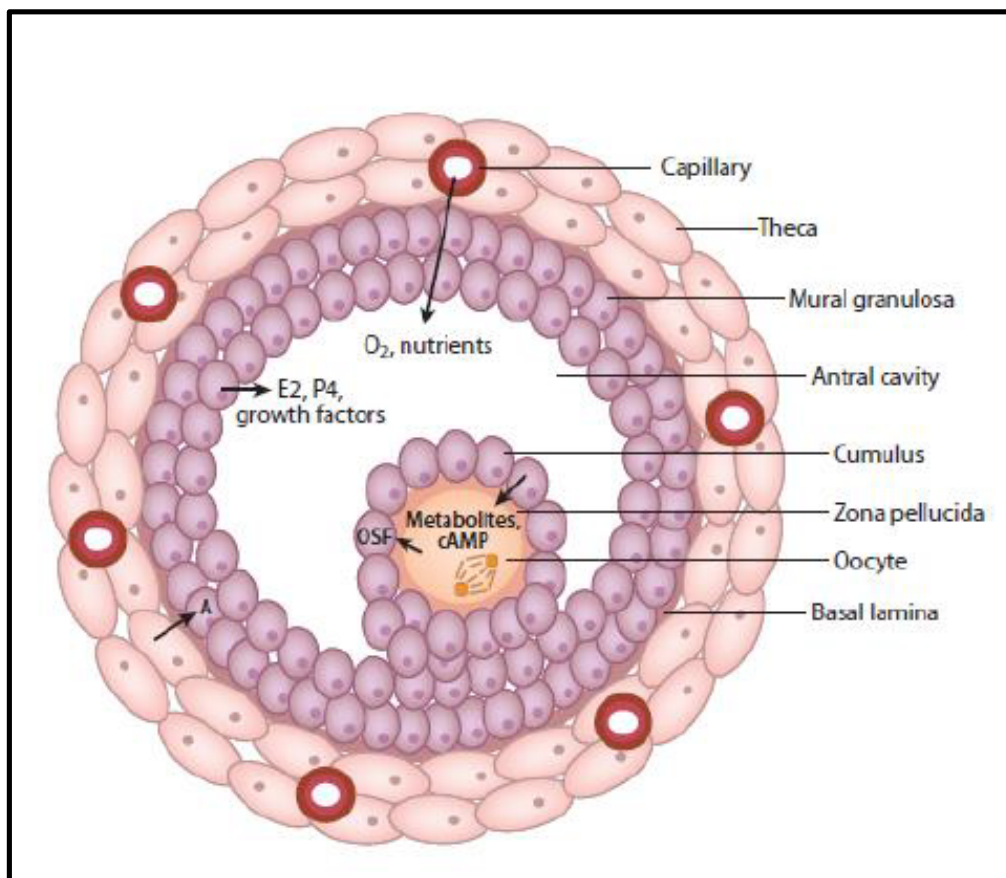
La mayor parte de los metales pesados componen la corteza terrestre, pero su exposición ha aumentado considerablemente, bien por la contaminación de las aguas, por su presencia en el suelo o los polvos, humos o aerosoles que son emitidos a la atmósfera por los vertidos generados en industrias, como las relacionadas con el consumo y producción de gasolina (16).

Otra fuente es el consumo de tabaco. En España, en el año 2017, el 18.8% de las mujeres fumaban a diario, a pesar de que el tabaco se considera una importante fuente de exposición al Cadmio y sus niveles se encuentran aumentados en mujeres con antecedentes de tabaquismo (15). La alimentación también parece estar implicada, su consumo a través de la dieta parece aumentar los niveles del Cd, Al, Sb (antimonio), Ni, Co y en menor medida Pb, Hg y As (15).

### 3.3. Efectos nocivos de los metales

Entre las consecuencias visibles que producen en el organismo encontramos alteraciones en la reproducción e, incluso, se habla de una asociación entre su concentración en órganos/sangre y enfermedades dependientes de estrógenos como el cáncer de mama, cáncer de endometrio, endometriosis y abortos espontáneos (2).

A nivel endometrial, como en mujeres con antecedentes de tabaquismo, el Cd puede unirse a los receptores alfa y beta estrogénicos estimulándolos y simultáneamente, regular al alza los receptores de progesterona (2) (Figura 3).



**Figura 3.** Folículo ovárico preovulatorio que muestra las múltiples células implicadas en el mantenimiento del ambiente folicular y en determinar la capacidad del ovocito (2).

### **3.4. Generalidades del líquido folicular**

Las células foliculares, por los estímulos de la FSH y de los estrógenos, producen un líquido viscoso de color amarillo y de pH básico o superior a 7, llamado líquido folicular. Su composición es un reflejo del grado de desarrollo ovocitario y folicular. Está formado, por un lado, por secreciones procedentes de las células foliculares y, por otro, por un exudado del plasma (17). Se ha observado que cuando hay alteraciones en su composición se asocia con una menor capacidad reproductiva (18).

### **3.5. Reproducción y metales pesados**

Los problemas de fertilidad en las parejas están aumentando y con mayor frecuencia se recurre a técnicas de reproducción asistida. La inseminación del ovocito se puede realizar de dos maneras mediante la FIV, en la que el óvulo y el espermatozoide se unen de forma espontánea o con ICSI, en la que se microinyecta un espermatozoide en cada óvulo.

Si el ovocito se desarrolla en un ambiente tóxico que afecte a los folículos primordiales, dañará la maduración y la calidad del embrión y se sugiere que este deterioro podría ser uno de los efectos de los metales pesados (1).

Se ha objetivado que el Cd afecta al desarrollo folicular aumentando el número de folículos atrésicos y que reduce la cantidad y la maduración de los ovocitos (19), y que un mayor nivel de Zn en suero y líquido folicular podría tener un papel positivo (6), mientras que las concentraciones en líquido folicular de Pb y Cu tienen un impacto negativo (9).

## **4. OBJETIVOS**

El objetivo de este estudio es la determinación de metales en el líquido folicular de pacientes estériles que acuden a la URH del Hospital Universitario de Canarias (HUC) para conocer su incidencia, y relacionarlo por un lado con el resultado de los ovocitos obtenidos, tasa de fertilización, división, calidad embrionaria en la punción de FIV y las tasas de gestación y por otro con:

- Zona de residencia.
- Residencia en proximidad a gasolineras.
- Exposición profesional.

- Hábitos tóxicos como el tabaquismo o ingesta de alcohol.
- IMC.
- Otros factores como días de abstinencia sexual.

La originalidad de este trabajo es el desconocimiento de la incidencia de metales en el líquido folicular en pacientes estériles en Tenerife y la escasez de referencias bibliográficas sobre los niveles de metales en líquido folicular, no sólo en mujeres estériles, y su relación con la alteración de los parámetros ovocitarios y embrionarios.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

El presente estudio es de diseño experimental, con un seguimiento prospectivo. Los sujetos son 150 pacientes atendidas en la URH/HUC por esterilidad, sometidas a TRA y que viven en las Islas Canarias. Se les realizó un protocolo de estudio de esterilidad y se les indicó la realización de FIV con aspiración de líquido folicular, que se recogió para la detección de metales pesados.

**5.1. Sujetos estudio.** Las mujeres a estudio, tenían unas edades comprendidas entre los 20 y los 42 años, todas ellas habitantes de las Islas Canarias.

Se les realizó por una parte, una estimulación de la ovulación con punción y aspiración del líquido folicular, para extracción de ovocitos de FIV, con valoración de presencia ovocitaria y por otra, el análisis de metales en el líquido folicular.

Los resultados de la punción de FIV de los 150 pacientes estériles, se obtendrá del programa SARA<sup>®</sup> (Sistema de Ayuda a la Reproducción Asistida) de la URH /HUC, mientras que el análisis de metales se realizará en el Instituto de Medicina Legal y Forense.

Por otro lado, la recogida de datos personales de la paciente se efectuó previo consentimiento, mediante el acceso a su historia clínica recogida en el programa SAP<sup>®</sup> y SARA<sup>®</sup> del HUC.

**5.2. Recogida y manejo de muestras.** Las muestras de líquido folicular fueron recogidas en el laboratorio de FIV y se identificaron con un número del 1 al 150 para garantizar la confidencialidad: identificadas, codificadas, anonimizadas o anónimas. Dichas muestras se

trasladaron al laboratorio del área de Toxicología de la Universidad de La Laguna, en el Instituto de Medicina Legal y Forense, donde se realizó el procesado de cada una de las muestras, utilizando el método de digestión por microondas. Finalmente, la determinación del contenido metálico de las muestras se llevó a cabo mediante Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES) en el Laboratorio de Sanidad de Santa Cruz de Tenerife, para la obtención de los valores numéricos de las concentraciones de los distintos metales (Mg de metal / kg de líquido folicular).

Se llevó a cabo el siguiente proceso:

- Recogida de 4-5 ml. de líquido folicular (LF) en una jeringa estéril de 10 ml. sin anticoagulante. Se almacenaron en tubos de extracción de 1 jeringa con 5 ml. y, en el caso de que no se procesarán inmediatamente, se conservan en el refrigerador a 4°C.
- Centrifugación del LF al tubo de centrífuga y se etiquetaron. El LF se almacenó en una placa de tubos 2D y se registró en una plantilla EXCEL<sup>®</sup>.
- El contenido metálico que se va a determinar es el siguiente: metales tóxicos (Al, Cd, Pb), macroelementos (Na, K, Ca, Mg) y elementos traza (Cu, Cr, Co, Zn, Fe, Mn, Mo, Li, Ni, B, Ba, V, Sr).

Para la determinación de metales en LF se realizó, en primer lugar, la digestión por microondas de las muestras y, posteriormente se trasladó al Laboratorio de Sanidad del Gobierno de Canarias de Santa Cruz de Tenerife, para la lectura de los metales.

La digestión de las muestras se efectúa con Multiwave GO Digestion System, Anton Paar, que consta de un rotor en el cual hay 12 reactores. En cada uno de los reactores se procesa una muestra del líquido folicular de cada paciente:

1. Pesar las muestras de LF en una balanza de precisión Mettler Toledo
2. Introducir en cada uno de los reactores los 0.5 mL de LF a procesar.
3. Añadir 2 mL de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y posteriormente 4 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>).
4. Cerrar cada uno de los reactores e introducirlos en el rotor. Tapar el rotor y ponerlo en Multiwave GO.

5. Seleccionar el programa que se vaya a utilizar, el Orgánica A con una rampa previa. La 1ª rampa de 10 minutos hasta los 70°C y se mantiene 5 minutos; la 2ª rampa de 20 minutos hasta 180°C y se mantiene 10 minutos; por último, el enfriamiento durante 15 minutos hasta 50°C.
6. Tras terminar la digestión, se vierte el material digerido que hay en el interior del reactor, en un matraz de 10 mL y se enrasa con agua bidestilada hasta los 10 mL.
7. Agitar el matraz para homogeneizar el material digerido con el agua bidestilada, y verter los 10 mL a frascos de polietileno identificado con el número de caso al que corresponda.

Una vez las muestras estaban digeridas, los frascos de polietileno que contienen la muestra se guardan en ausencia de luz y temperatura fresca hasta que se vaya a proceder al análisis y determinación de los metales, que como se ha indicado en el apartado de obtención de muestras y análisis de datos, se hizo mediante ICP-OES. Los resultados finales los obtendremos como miligramos del metal estudiado por kilogramo de LF (Mg/kg).

Las condiciones instrumentales del ICP-OES:

1. Flujo de gases (flujo de gas de nebulización y flujo de gas auxiliar): 0,5 L/min.
2. Potencia aproximada de radiofrecuencia: 1150 W.
3. Flujo de la bomba de inyección de muestra (flujo de estabilización y flujo de análisis): 50 rpm.

Las concentraciones se calcularán mediante extrapolación de las absorbancias leídas sobre las curvas de calibrado construidas previamente a partir de disoluciones patrón de diferentes concentraciones para cada uno de los elementos.

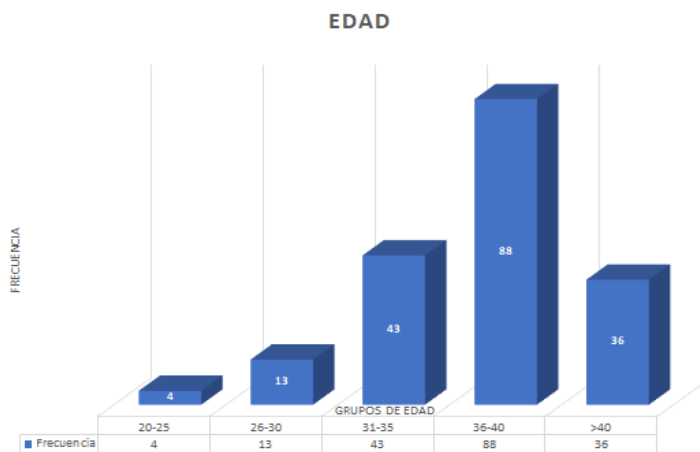
Tras la aparición de la alerta por Covid 19 y establecimiento del estado de alarma, no se ha podido disponer de los resultados del estudio de metales. Por lo que se ha tenido que modificar la estructura y objetivos del presente TFG a revisión bibliográfica.



**5.3. Aspectos éticos.** Todos los pacientes fueron informados del estudio que se iba a llevar a cabo, con la entrega de dicha información por escrito. Se precisó la firma de un consentimiento informado de aceptación de inclusión en el mismo. El trabajo ha sido aprobado por el Comité Ético del HUC.

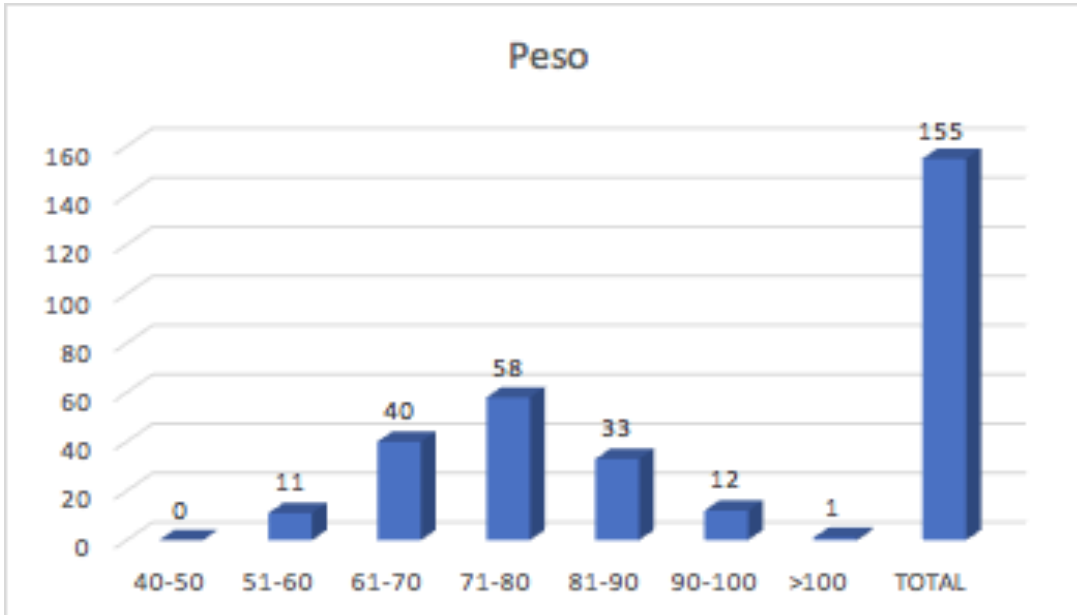
## 6. RESULTADOS

**6.1. Edad.** El intervalo de edad con mayor número de mujeres es el de 31-35 años y el de menor frecuencia es el de 20 y 25 años (Figura 4).

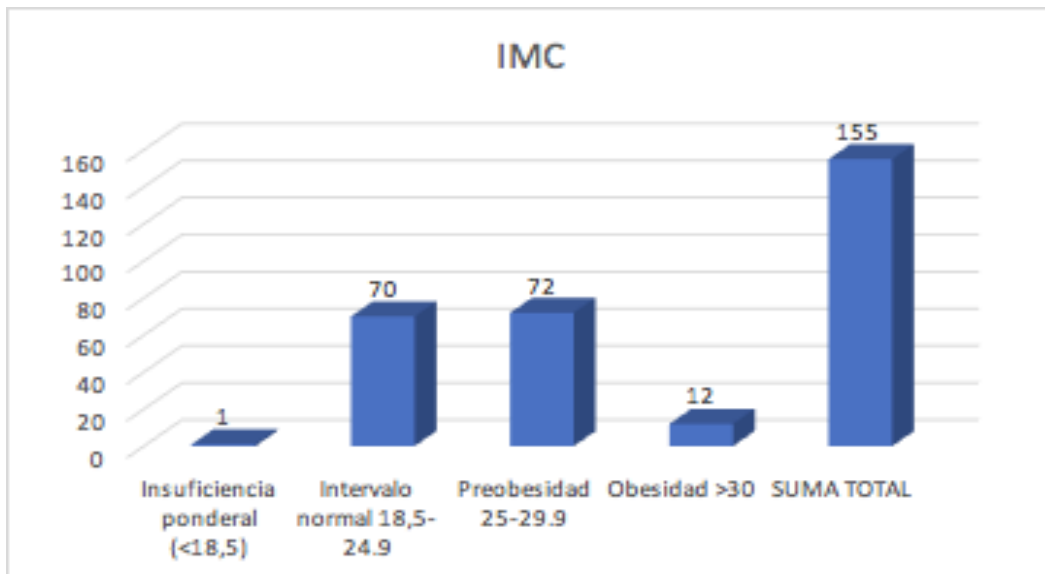


**Figura 4.** Intervalos de edad.

**6.2. Peso.** El grupo de peso más frecuente es el comprendido entre los 71-80 kg , y el menor el superior a 100 kg. El 54,19% de las mujeres tenían sobrepeso (Figuras 5, 6).

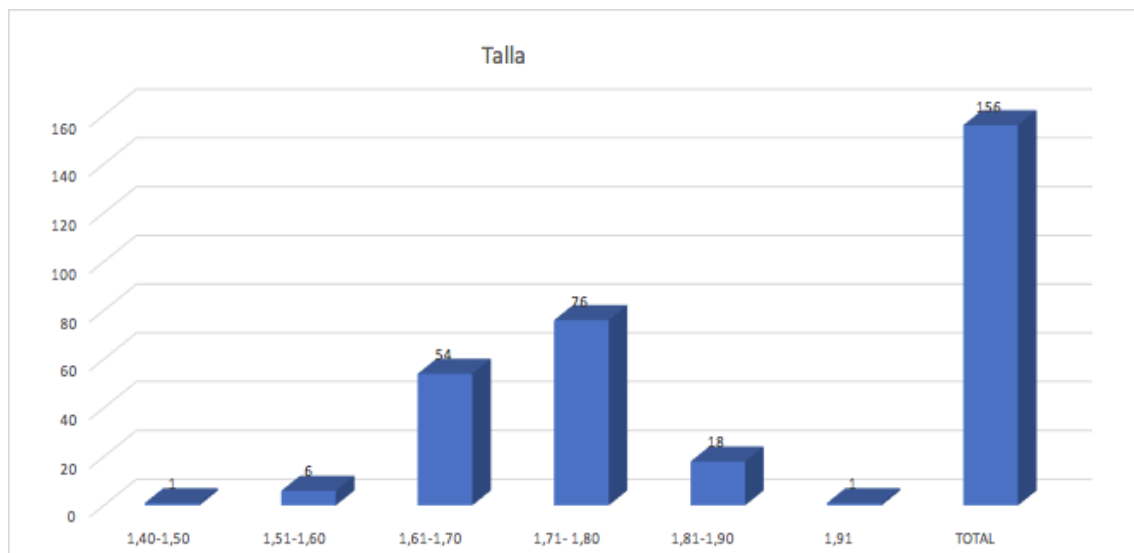


**Figura 5.** Frecuencia del peso.



**Figura 6.** Frecuencia de IMC.

**6.3. Talla.** El grupo mayoritario es el comprendido entre 1,71 y 1,80 m. y el minoritario entre 1,40-1,50 y 1,91 m. (Figura 7).



**Figura 7.** Frecuencia de la talla.

En la tabla 4 se muestra la moda, mediana y media de cada una de las variables estudiadas.

	Media	Mediana	Moda
Peso	64,8	65	65
Edad	36,0	37	40
Talla	1,67	1,635	1,65
IMC	24,2	24,44	23,73

**Tabla 4.** Media, mediana y moda.

**6.4. Distancia a gasolineras.** Con Google Maps® se midió la distancia entre dos puntos señalados de manera recta y exacta. Realizamos intervalos de frecuencia según la distancia a la que vivían de la gasolinera:

1. de 89 a 150 metros: 5 mujeres.

2. de 151 a 220 metros: 11 mujeres.
3. de 221 a 280 metros: 7 mujeres.
4. de 281 a 500 metros: 23 mujeres.
5. 551 a 750 metros: 25 mujeres.
6. 751 a 1000: 18 mujeres.

Se observa que el grupo más numeroso es aquel que reside entre los 551 y los 750 metros (99 mujeres) y el minoritario es el que se sitúa a la distancia más corta estudiada (50 mujeres).

## 7. DISCUSIÓN

Al ser un estudio novedoso, la bibliografía que hemos encontrado ha sido reducida.

**7.1. Macroelementos.** No hallamos publicaciones relativas a la presencia de los macroelementos Mg, K y Ca en mujeres.

### **7.2. Microelementos.**

- **Esenciales:**

#### Cromo

Es esencial para la correcta función del organismo y desempeña un papel en la reproducción. La exposición crónica puede producir cambios epigenéticos que alteran la impronta genética en mujeres, aumentando las posibilidades de quistes ováricos, anomalías uterinas y tumores de las glándulas reproductivas (21).

Existen pocos datos acerca del papel del Cr en la FIV, Ingle et al, encontraron una asociación negativa entre la presencia de cromo en líquido folicular y la cantidad de ovocitos recuperados, las pacientes con niveles más altos de Cr, Co, Mn y Mo en orina tenían más ovocitos recuperados y más embriones (8).

#### Hierro

A pesar de que pueda afectar al desarrollo de los ovocitos, no parece hacerlo con la calidad del embrión, ya que no se observó correlación entre los niveles de ferritina en los folículos y la

calidad del embrión. Por tanto, si se lograban extraer ovocitos maduros daban lugar a embriones de buena calidad (22).

No se ha podido demostrar que las TRA se vieran afectada por la presencia de As, Zn y Fe ni en sangre ni en líquido folicular (9). Wodiak et al, tampoco encontraron relación entre las concentración de hierro en líquido folicular y el desarrollo embrionario (1).

### Zinc

Tiene un papel fundamental como cofactor de enzimas que participan en la transcripción del ADN y proteínas de síntesis con un papel antioxidante y anti apoptótico, por lo que tiene una función crucial en la reproducción (23).

En presencia de zinc en el líquido folicular porcino se detectaban menos especies reactivas de oxígeno y, por ello, la maduración de los ovocitos fue exitosa, y en ratones ,cuando se suplementan con zinc, mejoraba la calidad embrionaria, sin embargo, si las concentraciones aumentaban por encima de 25  $\mu\text{mol}$ , generaban toxicidad. Las mujeres con concentraciones elevadas de zinc en líquido folicular tenían una menor tasa de fecundación pero cuando estaba presente en orina, tenían un buen desarrollo del embrión (8, 23, 24). Sin embargo, en humanos no se pudo encontrar una correlación significativa con el estado del ovocito pero sí con el ambiente adecuado del líquido folicular (23).

### Cobalto

Ingle et al, estudiaron la cantidad de Co en el líquido folicular, obteniendo unos resultados estadísticamente significativos para niveles altos de Cobalto y un mayor grosor endometrial, así como una asociación negativa entre niveles elevados de cobalto y un promedio inferior de blastómeras recuperados por mujer, el Co afectaría a los resultados de la FIV (8).

### Manganeso

Ingle et al, observaron que su presencia en el líquido folicular se asociaba negativamente con la proporción de ovocitos maduros, mientras que en orina tuvo una asociación positiva, consiguiendo más ovocitos recuperados por mujer y un mayor éxito en cuanto a los embriones generados (8).

- **No esenciales.**

### Vanadio

Los efectos tóxicos del vanadio se han demostrado en la calidad espermática, pero no se han encontrado evidencias respecto a su concentración en el líquido folicular y su acción sobre los resultados de FIV/ICSI (25).

#### Níquel

No hemos hallado publicaciones de éste metal en relación con la reproducción en mujeres.

#### Boro

Se ha comprobado que su exposición profesional no tiene efecto negativo en la reproducción (26), sin embargo no disponemos de datos de su presencia en el líquido folicular.

#### Estroncio

No hemos hallado bibliografía de la influencia del Sr en la reproducción en mujeres.

### **7.3. Metales tóxicos.**

#### Plomo

Se han encontrado niveles elevados de plomo en el endometrio de mujeres que viven cerca de áreas industrializadas, así como consumidoras de tabaco (2).

En mujeres estériles sin razón aparente, se detectó un nivel de Pb mayor en el líquido folicular que en mujeres que quedaron embarazadas (25), ya que el Pb produce una menor producción de ovocitos (9). Wdowiak et al, demostraron que el Pb impide el desarrollo del embrión en pacientes de ICSI, pero no encontraron una relación significativa entre sus niveles en el líquido folicular y los resultados de la ICSI (1).

#### Cobre

Babaei et al, informaron que puede producir efectos nocivos a nivel del ovario en ratas (27), reduciendo significativamente las diferentes clases de folículos y cuerpos lúteos. Además observaron algunos daños celulares estructurales leves, como la disminución del grosor de la zona pelúcida, áreas vacuoladas limitadas y dilatación de la envoltura nuclear (27). Tolunay et al, indicaron que por cada 1 mg / dL mayor de concentración de Cu en el fluido folicular existe un riesgo 71.9% menor de embarazo, con un posible efecto negativo en la maduración folicular y el desarrollo embrionario (9).

Wodiak et al, observaron que las concentraciones más altas de Se, Zn y Cu se acompañaban de tiempos más cortos para cada una de las diversas etapas de desarrollo, sin embargo, al

contrario que Tolunay et al (9), no encontraron relación entre la concentración de Cu y el resultado del ICSI (1).

Por otro lado, Ingle et al, en mujeres sometidas a FIV, midieron el Co, Cr, Cu, Mn, Mo y Zn en líquido folicular y orina mediante espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Los oligoelementos estuvieron presentes principalmente en concentraciones más bajas en líquido folicular que en la orina y se observó que en el líquido folicular se asociaba a una fragmentación embrionaria más baja, mientras que en la orina se asoció con un mayor número de ovocitos recuperados por mujer y embriones generados (8).

### Litio

Su papel en la reproducción ha sido poco estudiado pero Khodadady et al, tras inyectar Li en el ovario de la rata hallaron un deterioro en la formación del cuerpo lúteo y por tanto en la secreción de progesterona (28).

### Aluminio

Se ha observado una relación entre el Al y diferentes enfermedades óseas o neuronales (30), pero no hemos encontrado estudios que lo relacionen con el líquido folicular o con los efectos que produzca sobre la fertilidad.

### Cadmio

Tolunay et al, mostraron que el número de ovocitos MII tenía una correlación positiva con el Cd en sangre, y para Bloom et al, existe una relación positiva entre el Cd y la fertilización, pero estos resultados no fueron significativos (3).

## **8. CONCLUSIONES**

1. Las pacientes que no consiguen concebir, tienen unos niveles de plomo elevados en el líquido folicular. Las concentraciones en el líquido folicular, tendrán como consecuencia una disminución de la probabilidad de embarazo.
2. El cobalto produce una disminución en la cantidad de blastómeras embrionarias lo que induce peores resultados en la reproducción.
3. La concentración de zinc produce un efecto beneficioso para la reproducción, pues sus niveles elevados en sangre y orina favorecen el desarrollo folicular.

4. Niveles elevados de Cadmio en el líquido folicular tienen una relación positiva con la fertilización.
5. No hemos encontrado bibliografía sobre los efectos de otros metales en el desarrollo del ovocito y su ambiente y/o en la reproducción.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Wdowiak, A., Wdowiak, E., & Bojar, I. (2018). Evaluation of trace metals in follicular fluid in ICSI-treated patients. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 25(2), 213–218. Available from: <http://www.aem.pl/Evaluation-of-trace-metals-in-follicular-fluid-in-ICSI-treated-patients,75422,0,2.html>
2. Rzymiski, P., Tomczyk, K., Rzymiski, P., Poniedziałek, B., Opala, T., & Wilczak, M. (2015). Impact of heavy metals on the female reproductive system. In *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. Available from: <https://doi.org/10.5604/12321966.1152077>
3. Bloom MS, Fujimoto VY, Steuerwald AJ, Cheng G. Background exposure to toxic metals in women adversely influences pregnancy during in vitro fertilization (IVF). *Reprod Toxicol* 2012; 34:471–81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22732149>
4. Fraga CG. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Asp Med*. 2005; 26:235–44. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16125765>
5. Bogden JD, Klevay LM. Clinical nutrition of the essential trace elements and minerals: the guide for health professionals. Totowa: Humana Press; 2000.



6. Kumar S, Mishra VV. Review: Toxins in reproductive fluid and in vitro fertilization (IVF) outcome. *Toxicol Ind Health* 2010; Sep; 26: 505–11. Available from: <https://doi.org/10.1177/0748233710373081>
7. Gerhard I, Monga B, Waldbrenner A, Runnebaum B. Heavy metals and fertility. *J Toxicol Environ Health A* 1998;54:593–611.
8. Ingle M, Bloom M, Parsons P, Steuerwald A, Kruger P, and Fujimoto V. Associations between IVF outcomes and essential trace elements measured in follicular fluid and urine: a pilot study. *J Assist Reprod Genet.* 2017 Feb; 34(2): 253–261. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27943108>
9. Tolunay, H. E., Şükür, Y. E., Ozkavukcu, S., Seval, M. M., Ateş, C., Türksoy, V. A., Ecemiş, T., Atabekoğlu, C. S., Özmen, B., Berker, B., & Sönmezer, M. (2016). Heavy metal and trace element concentrations in blood and follicular fluid affect ART outcome. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 198, 73–77. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26802253>
10. Nandi, P., Banerjee, S. K., Basu, S., Das, M. C., Dasgupta, P., & Varghese, A. C. (2011). A preliminary study on heavy metals (Lead, Cadmium and Arsenic) in follicular fluid and its effect on oocyte, embryo quality and outcome of IVF treatment. *Fertility and Sterility*. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.07.609>
11. Canli, M., & Atli, G. (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00194-X](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00194-X)
12. Järup L. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin* 2003; 68: 167–182. Available from: <https://academic.oup.com/bmb/article/68/1/167/421303>

13. Machado, A., García, N., García, C., Acosta, L., Córdova, A., Linares, M., ... Velásquez, H. (2008). Contaminación por metales (Pb, Zn, Ni y Cr) en aire, sedimentos viales y suelo en una zona de alto tráfico vehicular. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*. Available from: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992008000400003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992008000400003)
14. . Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*. Available from: <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
15. Arnich N, Sirot V, Rivière G, Jean J, Noël L, Guérin T, et al. Dietary exposure to trace elements and healthrisk assessment in the 2nd French Total Diet Study. *Food*. 2012 Jul. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22521625>
16. SULLIVAN JB, KRIEGER GR. Environmental Sciences: Pollutant Fate and Transport in the Environment. En: Sullivan JB, Krieger GR, editors. *Clinical Environmental Health and Toxic Exposures*. Philadelphia: Lippincott William and Wilkins, 2001:6-30. Available from: [http://www.u.arizona.edu/~mlindsey/pathfinder/clinical\\_eh\\_tox.html](http://www.u.arizona.edu/~mlindsey/pathfinder/clinical_eh_tox.html)
17. Fortune JE. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod* 1994 Feb;50(2):225-32. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8142540>
18. Ocal P, Aydin S, Cepni I, Idil S, Idil M, Uzun H, Benian A. Follicular fluid concentrations of vascular endothelial growth factor, inhibin A and inhibin B in IVF cycles: Are they markers for ovarian response and pregnancy outcome? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004 Aug 10;115(2):194-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15262355>

19. Zhu, J. Q., Liu, Y., Zhang, J. H., Liu, Y. F., Cao, J. Q., Huang, Z. T., Yuan, Y., Bian, J. C., & Liu, Z. P. (2018). Cadmium exposure of female mice impairs the meiotic maturation of oocytes and subsequent embryonic development. *Toxicological Sciences*, 164(1), 289–299. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29684212>
20. The International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) [Internet]. 1919 [citado 25 abril 2020]. Disponible en: <https://iupac.org/who-we-are/>
21. Edwards, T. M., & Myers, J. P. (2007). Environmental exposures and gene regulation in disease etiology. *Environmental Health Perspectives*, 115(9), 1264–1270. Available from: <https://doi.org/10.1289/ehp.9951>
22. Sánchez AM, Papaleo E, Corti L, Santambrogio P, Levi S, Viganñ P, Candiani M, Panina-Bordignon P. Iron availability is increased in individual human ovarian follicles in close proximity to an endometrioma compared with distal ones. *Hum Reprod*. 2014; Mar 29: 577–83. Available from: <https://doi.org/10.1093/humrep/det466>
23. Ebisch, I. M. W., Thomas, C. M. G., Peters, W. H. M., Braat, D. D. M., & Steegers-Theunissen, R. P. M. (2007). The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. In *Human Reproduction Update*. Available from: <https://doi.org/10.1093/humupd/dml054>
24. Geravandi, S., & Azadbakht, M. (2017). The presence of zinc in the mouse ovary vitrification medium: Histological evaluation and follicle growth. *Cryo-Letters*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28534054>

25. Méndez, Y., Báez, F., Villamediana, P., & Reproducción Humana, P. Y. Efecto in vitro del pentóxido de vanadio (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) sobre la calidad espermática. 2014. Available from: [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx).
26. Xing X, Wu G, Wei F, Liu P, Wei H, Wang C, et al. Biomarkers of environmental and workplace boron exposure. *J Occup Environ Hyg* [Internet]. 2008 Mar 29 ;5(3):141–7. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15459620701845132>
27. Babaei, H., Roshangar, L., Sakhaee, E., Abshenas, J., Kheirandish, R., & Dehghani, R. (2012). Ultrastructural and morphometrical changes of mice ovaries following experimentally induced copper poisoning. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 14(9), 558–568. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3482328/>
28. Khodadadi, M. (2013). Disrupting effects of lithium chloride in the rat ovary: Involves impaired formation and function of corpus luteum. *Middle East Fertility Society Journal*, 18(1), 18–23. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mefs.2012.07.004>
29. Gupta N, Gaurav SS, Kumar A. (2013). Molecular Basis of Aluminium Toxicity in Plants: A Review. *Am J of Plant Sci* 4: 21–37.41. Available from: <https://m.scirp.org/papers/41018>
30. Barabasz W, Albinska D, Jaskowska M, Lipiec J. Ecotoxicology of Aluminium. *Pol J Environ Stud* 11(3): 199–203. 2002. Available from: <http://www.pjoes.com/Ecotoxicology-of-Aluminium,87442,0,2.html>

## **10. ¿QUE HEMOS APRENDIDO?**

1. Manejo de catálogos en línea (PubMed), bases de datos, recursos de las bibliotecas e Internet con la posterior evaluación y selección de dicha información.

2. Uso de las citas y las referencias bibliográficas según normas de Vancouver.
3. La elaboración de bases de datos (Excel) que permitan el acceso a información actualizada y precisa, asegurando la disponibilidad, confidencialidad e integridad de los datos almacenados.
4. La utilización de dichas bases de datos para obtener resultados estadísticos, así como la interpretación de estos de forma adecuada.
5. Estudio de Esterilidad. Diagnóstico de Esterilidad. Técnica e indicaciones del DGP.
6. Trabajo en equipo.

