

Transporte de los gametos y fecundación

El capítulo 1 describe el origen y la maduración de los gametos masculinos y femeninos y las condiciones hormonales que hacen posible esta última. También trata sobre los cambios cíclicos, controlados por hormonas, que preparan el aparato reproductor femenino para la fecundación y el mantenimiento del desarrollo embrionario. El presente capítulo explica en primer lugar el proceso por el cual el óvulo y los espermatozoides se encuentran en el aparato reproductor femenino para que pueda tener lugar la fecundación. A continuación esboza la compleja serie de interacciones que se suceden en la fecundación del óvulo por un espermatozoide.

Ovulación y transporte del óvulo y el espermatozoide

Ovulación

Hacia la mitad del ciclo menstrual, el folículo de De Graaf maduro, que contiene al óvulo detenido en la profase de la primera división meiótica, se ha desplazado hacia la superficie del ovario. Bajo la influencia de las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) aumenta mucho de tamaño. Se completa la primera división meiótica y se inicia la segunda hasta la metafase, en la cual tiene lugar el segundo bloqueo meiótico. Tras la primera división meiótica se expulsa el primer cuerpo polar. En este momento, el folículo sobresale en la superficie del ovario. El vértice de la protrusión es el **estigma**.

El estímulo para la ovulación es el pico de LH secretado por la adenohipófisis en la mitad del ciclo menstrual (v. fig. 1.16). Tras horas de exposición al pico de secreción de LH, el folículo reorganiza su programa de expresión génica, dirigido al desarrollo del folículo, hacia una producción de moléculas que ponen en marcha los procesos de ruptura folicular y los de la ovulación. Poco después del pico de LH, el flujo sanguíneo local aumenta en las capas más externas de la pared folicular. Junto con este incremento, las proteínas plasmáticas pasan a los tejidos a través de las vénulas poscapilares, lo que produce un edema local. El edema y la liberación de ciertos compuestos farmacológicamente activos, como las prostaglandinas, la histamina, la vasopresina y el plasminógeno activador, constituyen el punto de partida de diversas reacciones que desembocan en la síntesis local de **metaloproteinasas de matriz**, una familia de enzimas que degradan componentes de la matriz extracelular. Al mismo tiempo, la secreción de ácido hialurónico por las células del cúmulo produce una pérdida de las células que rodean el óvulo. La acción lítica de las metaloproteinasas de matriz produce una reacción inflamatoria que desembocará en la rotura de la pared folicular externa de 28 a 36 horas después del pico de LH (fig. 2.1). Algunos minutos después de la rotura de la pared folicular, el cúmulo ovífero se desprende de la membrana granulosa y el óvulo es expulsado del ovario.

La ovulación causa la expulsión de líquido antral y del óvulo desde el ovario a la cavidad peritoneal. El óvulo no es expulsado como una única célula aislada, sino como un complejo que consta de: 1) el óvulo, 2) la zona pelúcida, 3) la corona radiada de dos o tres células de grosor y 4) una matriz pegajosa que contiene las células circundantes del cúmulo ovífero. Por convención, las células cumulares adheridas se denominan **corona radiada** tras la ovulación. Normalmente, en la ovulación se libera un óvulo. La expulsión y fecundación de dos puede dar lugar a dos gemelos dicigóticos.

Algunas mujeres experimentan un dolor leve o intenso en el momento de la ovulación. Con frecuencia llamado **mittelschmerz** («dolor medio» en alemán), dicho dolor pélvico intermenstrual puede acompañarse de una pequeña hemorragia procedente del folículo roto.

Transporte del óvulo

El primer paso en el transporte del óvulo expulsado es su captura por la trompa de Falopio. Poco antes de la ovulación, las células epiteliales de la trompa de Falopio se vuelven más ciliadas y la actividad del músculo liso aumenta en ella y en su ligamento suspensorio como consecuencia de la acción hormonal. En la ovulación, las fimbrias de la trompa de Falopio se aproximan al ovario y parecen barrer de forma rítmica su superficie. Esta acción, unida a las corrientes producidas por los cilios, resulta eficaz para la captación del complejo ovulado. Los estudios experimentales con conejos han mostrado que la masa proporcionada por las cubiertas celulares del óvulo expulsado es importante para facilitar su captura y el desplazamiento por la trompa de Falopio. Los óvulos desnudos o los objetos inertes de este tamaño no se transportan con tanta facilidad. La captura del óvulo por la trompa de Falopio también implica una interacción adhesiva entre él y la superficie ciliada de dicha estructura.

Incluso sin estos tipos de adaptaciones naturales, la capacidad de las trompas de Falopio para capturar los óvulos es llamativa. Si se elimina su extremo con fimbrias, la captura del óvulo se produce con una frecuencia sorprendente, e incluso se han descrito casos de embarazos en mujeres en las que se había extirpado un ovario y la trompa contralateral. En dichos casos, el óvulo tendría que viajar libremente por la cavidad pelviana una distancia considerable antes de entrar en la trompa uterina del otro lado.

Una vez en el interior de la trompa, el óvulo es transportado hacia el útero, sobre todo como consecuencia de las contracciones en la musculatura lisa de la pared tubárica. Aunque los cilios que revisten la mucosa también pueden contribuir a este transporte, su acción no es imprescindible, ya que las mujeres con **síndrome de los cilios inmóviles** son a menudo fértiles.

Fig. 2.1 Cambios en el complejo cúmulo-ovocito (CCO) de conejos durante la maduración folicular y la ovulación. En el folículo preovulatorio, las células del cúmulo (*flecha*) se encuentran estrechamente agrupadas alrededor del ovocito. Ya que el ovocito es estimulado por la hormona luteinizante (LH) antes de la ovulación, las células del cúmulo elaboran matriz extracelular volviéndose mucho menos agrupadas cuando llega el momento de la ovulación. El ovocito tras la ovulación sigue rodeado por células cumulares. (De Espey LL, Richards JS. En Neill JD, ed.: *Physiology of reproduction*, 3.ª ed., Amsterdam, 2006, Elsevier.)

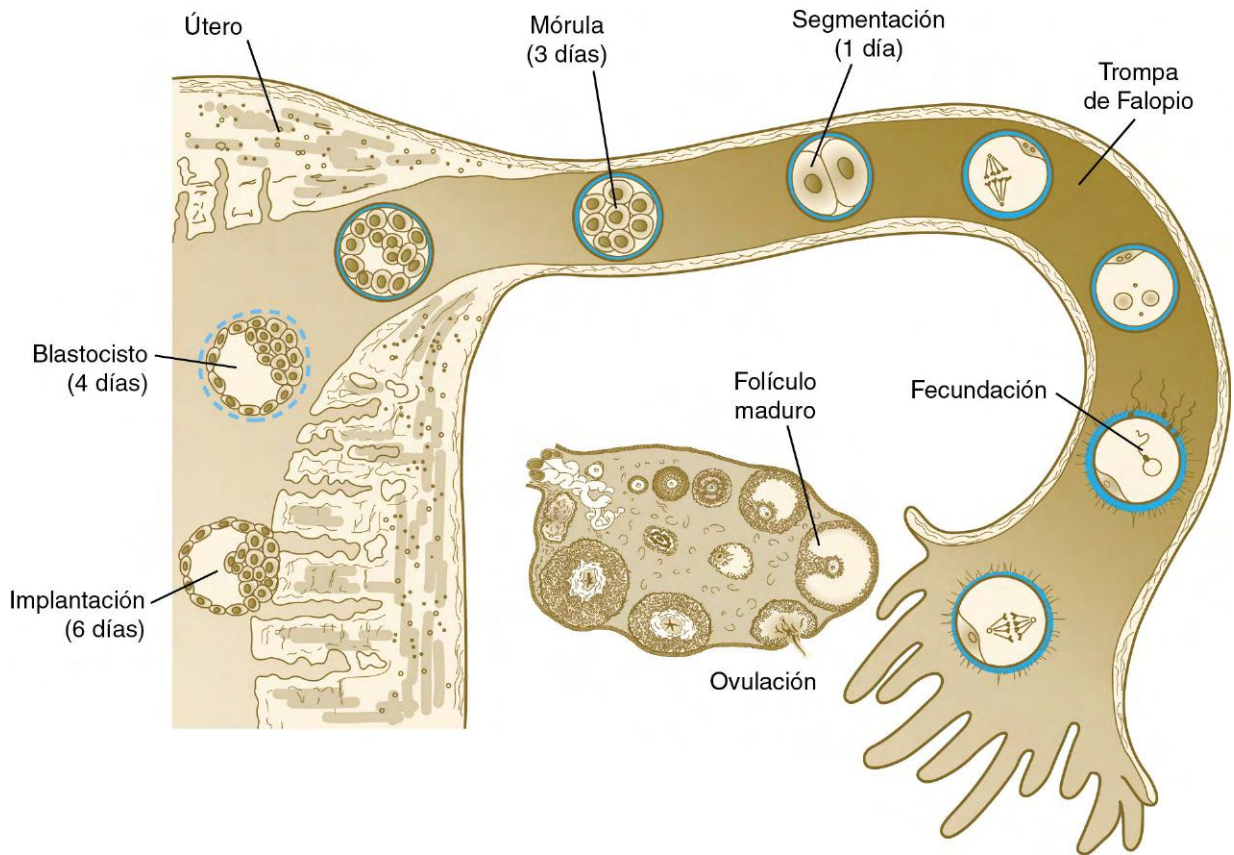
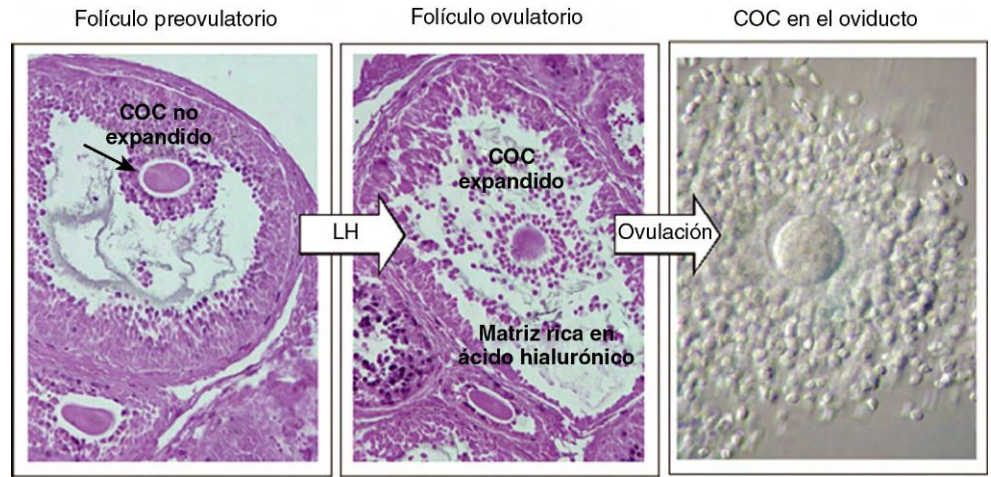


Fig. 2.2 Desarrollo folicular en el ovario, ovulación, fecundación y transporte del embrión en sus primeras etapas del desarrollo por la trompa de Falopio hacia el útero.

Mientras está en la trompa de Falopio, el óvulo se encuentra bañado por el **líquido tubárico**, que es una mezcla de las secreciones procedentes de las células epiteliales tubáricas y del trasudado de los capilares situados inmediatamente por debajo del epitelio. En algunos mamíferos, la exposición a las secreciones tubáricas es importante para la supervivencia del óvulo y para modificar la composición de la zona pelúcida, pero su función en los seres humanos no está tan clara.

El transporte del óvulo a lo largo de la trompa suele durar 3 o 4 días, con independencia de que se produzca la fecundación (**fig. 2.2**) o no. Dicho transporte se realiza típicamente en dos fases: un tránsito lento

en la ampolla (de unas 72 horas) y una fase más rápida (8 horas) durante la que el óvulo o el embrión atraviesan el istmo y llegan al útero (v. **pág. 51**). Mediante un mecanismo que aún no se conoce bien, posiblemente por edema local o por reducción de la actividad muscular, el óvulo queda temporalmente detenido antes de entrar en la parte ístmica de la trompa, pero por efecto de la progesterona, la unión uterotubárica se relaja y permite la entrada del mismo.

Unas 80 horas después de la ovulación, el óvulo o el embrión han llegado desde la trompa de Falopio al útero. Si no se ha producido la fecundación el óvulo degenera y es fagocitado. (La implantación del embrión se analiza en el **cap. 3**.)

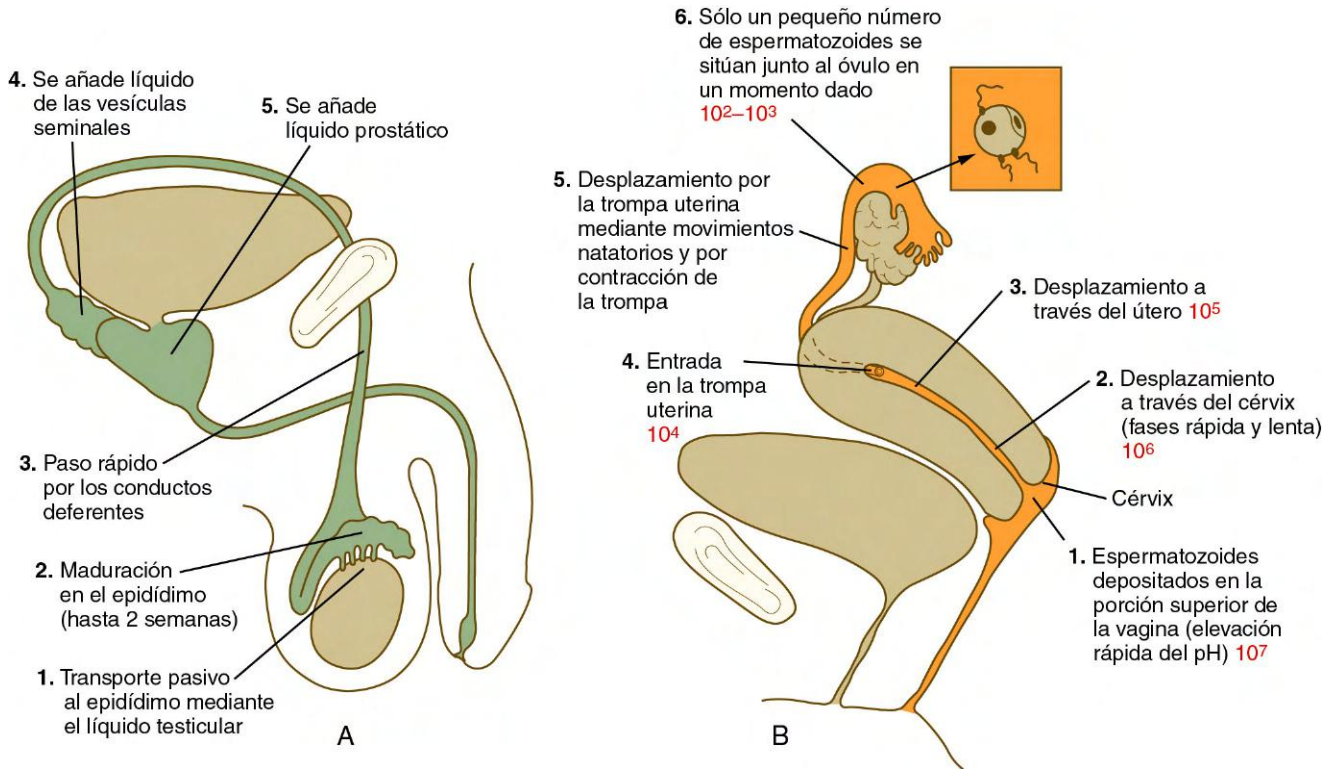


Fig. 2.3 Transporte de espermatozoides en los aparatos reproductores (A) masculino y (B) femenino. En B, el número de espermatozoides habitualmente presentes en las distintas partes del aparato reproductor femenino se indica en rojo.

Transporte de los espermatozoides

El transporte de los espermatozoides tiene lugar en los tractos reproductores del varón y de la mujer. En el primero está íntimamente ligado a su maduración estructural y funcional, mientras que en el aparato reproductor femenino es importante que los espermatozoides lleguen hasta la parte superior de la trompa de Falopio, para que puedan encontrarse con el óvulo.

Tras la espermiogénesis en los túbulos seminíferos, los espermatozoides son maduros a nivel morfológico, pero inmóviles e incapaces de fecundar un óvulo (fig. 2.3). A continuación, el líquido testicular los transporta de forma pasiva desde los túbulos seminíferos hasta la cabeza del epidídimo a través de la red testicular y los conductillos eferentes. La presión del líquido generada en los túbulos seminíferos los impulsa hacia adelante, ayudados por las contracciones del músculo liso y las corrientes ciliares de los conductillos eferentes. Los espermatozoides permanecen unos 12 días en el conducto del epidídimo, que es un tubo muy contorneado, el cual mide 6 m en el humano y durante ese plazo sufren su maduración bioquímica. Este período de maduración está asociado a cambios en las glucoproteínas de la membrana plasmática de su cabeza. En el momento en que los espermatozoides alcanzan la cola del epidídimo ya son capaces de fecundar un óvulo.

En la eyaculación, los espermatozoides atraviesan con rapidez el **conducto deferente** y se mezclan con las secreciones líquidas de las **vesículas seminales** y la **próstata**. El líquido prostático es rico en ácido cítrico, fosfatasa ácida, zinc e iones de magnesio, mientras que el de la vesícula seminal tiene mucha fructosa (la principal fuente de energía de los espermatozoides) y prostaglandinas. Los 2 a 6 ml de esperma (**semen** o **líquido seminal**) normalmente están compuestos por 40 a 250 millones de espermatozoides mezclados con líquido alcalino de las vesículas

seminales (un 60% del total) y secreción ácida (pH 6,5) de la próstata (un 30% del total). El pH del semen normal se encuentra entre 7,2 y 7,8. A pesar del número de espermatozoides presentes (> 100 millones) por lo general en el esperma, incluso cifras tan bajas como 25 millones por eyaculación pueden ser compatibles con la fertilidad.

En el tracto reproductor de la mujer, el transporte de los espermatozoides comienza en la parte superior de la vagina y termina en la ampolla de la trompa de Falopio, nivel en el que se produce su contacto con el óvulo. Durante la cópula, el líquido seminal suele depositarse en la parte superior de la vagina (v. fig. 2.3), donde su composición y capacidad de amortiguamiento protegen inmediatamente a los espermatozoides del líquido ácido presente en esta zona. El líquido vaginal ácido por lo común tiene una función bactericida, al mantener resguardado el canal cervical de los microorganismos patógenos. En unos 10 segundos, el pH de la parte superior de la vagina se eleva desde 4,3 hasta 7,2. El efecto amortiguador dura sólo unos pocos minutos en los seres humanos, pero proporciona el tiempo suficiente para que los espermatozoides se aproximen al cuello uterino con un ambiente óptimo (pH de 6 a 6,5) por lo que respecta a su motilidad.

La siguiente barrera que deben superar las células espermáticas es el canal cervical y el moco que lo bloquea. Los cambios en la presión intravaginal pueden aspirar a los espermatozoides hacia el orificio del cuello uterino, pero los movimientos flagelares también parecen decisivos para que la mayoría de ellos penetre en el moco cervical.

La composición y la viscosidad del moco cervical varían de forma considerable a lo largo del ciclo menstrual. Esta sustancia, integrada por **mucina cervical** (una glucoproteína con una elevada cantidad de hidratos de carbono) y com-

ponentes solubles, no es fácil de penetrar. Entre los días 9 y 16 del ciclo aumenta, sin embargo, su contenido de agua, lo que facilita el paso de los espermatozoides a través del cuello uterino en torno al momento de la ovulación; este tipo se denomina en ocasiones **moco E**. Tras la ovulación, bajo la influencia de la progesterona, la producción de moco acuoso cervical cesa y se fabrica otro de un tipo nuevo, viscoso, cuya proporción de agua es mucho menor. Este moco prostestacional, a veces llamado **moco G**, es casi resistente por completo a la penetración de los espermatozoides. Un método muy eficaz de planificación familiar natural utiliza las propiedades del moco cervical.

Los espermatozoides disponen de dos modos principales para recorrer el cuello uterino. Uno consiste en un transporte rápido inicial, mediante el cual algunos espermatozoides pueden alcanzar las trompas de Falopio entre 5 y 20 minutos después de la eyaculación. Dicho mecanismo depende más de los movimientos musculares del aparato reproductor femenino que de la motilidad de los espermatozoides en sí. Estos espermatozoides que llegan los primeros no son capaces, sin embargo, de fecundar un óvulo como aquellos que permanecen más tiempo en el tracto reproductor femenino. El segundo tipo de transporte, más lento, implica el desplazamiento a nado por el moco cervical (a una velocidad de 2 a 3 mm/h), su depósito en las criptas cervicales y su paso definitivo a través del canal cervical hasta 2 a 4 días después.

Se conoce relativamente poco sobre el paso de los espermatozoides a través de la cavidad uterina, pero parece que el principal mecanismo de transporte intrauterino es la contracción del músculo liso más que la motilidad de los mismos. En este momento, los espermatozoides entran en una de las trompas de Falopio. Según algunas estimaciones más recientes, sólo unos cientos de ellos penetran en las trompas, y la mayoría se inclina por la que contiene el óvulo.

Una vez en el interior de la trompa uterina, los espermatozoides se acumulan en el istmo y se unen al epitelio alrededor de 24 horas. Durante este tiempo experimentan la reacción de **capacitación** bajo la influencia de las secreciones tubáricas. Una fase de la capacitación es la eliminación de **colesterol** de la superficie de los espermatozoides. El colesterol es un componente del semen y actúa inhibiendo la capacitación prematura. La siguiente fase de la capacitación consiste en la eliminación de muchas de las glicoproteínas que fueron depositadas en la superficie de los espermatozoides durante su permanencia en el epidídimo.

La capacitación es necesaria para que los espermatozoides sean capaces de fecundar un óvulo (en concreto, para someterse a la reacción acrosómica; v. [pág. 29](#)). Tras este proceso pasan por un período de hiperactividad y se separan del epitelio tubárico. La hiperactivación ayuda a los espermatozoides a liberarse de las adhesiones que los vinculaban al epitelio de las trompas. También ayuda a los espermatozoides a penetrar en el moco del istmo, así como en la corona radiada y en la zona pelúcida que rodea al óvulo. Sólo un pequeño número de espermatozoides se liberan en un momento dado. Esto puede reducir las posibilidades de poliespermia (v. [pág. 31](#)).

Tras su liberación del istmo, los espermatozoides siguen un camino ascendente por la trompa mediante la combinación de los movimientos musculares de esta estructura con algunos desplazamientos flagelares. El transporte simultáneo del óvulo en sentido descendente y de los espermatozoides en sentido ascendente a lo largo de la trompa se explica en la actualidad por la acción de las contracciones peristálticas musculares. Estas contracciones subdividen la trompa en compartimentos.

Dentro de un compartimento determinado, los gametos son sometidos a movimientos de volteo que en un plazo de 1 o 2 días reúnen al óvulo con los espermatozoides. La fecundación del óvulo se produce en la porción ampular (tercio superior) de la trompa de Falopio. Se calcula que los espermatozoides mantienen su función en el aparato reproductor femenino durante unas 80 horas.

Estudios recientes sugieren que el espermatozoide de mamífero puede ser atraído por el óvulo gracias a la acción de determinados atractores, lo que ha costado años de debate. Los espermatozoides de mamífero poseen receptores olfatorios de la misma familia que los nasales, pudiendo responder conductualmente a olores químicamente definidos. Los espermatozoides humanos responden también a la progesterona derivada del cúmulo y a quimioatrayentes, aun no definidos, que emanan del líquido folicular y de las células cumulares. Asimismo, los espermatozoides humanos pueden responder también a gradientes de temperatura, y estudios llevados a cabo en conejos muestran que el lugar donde se almacena el esperma en el oviducto es más frío que el lugar de la trompa donde se produce la fecundación. Parece que sólo el espermatozoide capacitado puede responder a estímulos químicos o térmicos. Ya que muchos espermatozoides que entran en la trompa de Falopio no se capacitan, es probable que éstos no puedan encontrar el camino hacia el óvulo.

Formación y función del cuerpo lúteo de la ovulación y del embarazo

Mientras el óvulo está atravesando las trompas de Falopio, el folículo roto del que ha surgido sufre una serie de cambios drásticos que son esenciales para la progresión de los acontecimientos que conducen al embarazo y lo mantienen (v. [fig. 1.8](#)). Poco después de la ovulación se destruye la membrana basal que separa las células de la granulosa de la teca interna, lo que permite que los vasos sanguíneos tecales crezcan hacia la cavidad del folículo roto. Simultáneamente, las células de la granulosa experimentan una serie de cambios principales en su forma y su función (**luteinización**). Entre 30 y 40 horas después del pico de LH, estas células, ahora llamadas **células luteínicas de la granulosa**, comienzan a secretar cantidades crecientes de progesterona junto con algo de estrógenos. Dicho patrón de secreción proporciona la base hormonal para los cambios en los tejidos reproductores femeninos durante la segunda mitad del ciclo menstrual. En este período, el folículo continúa aumentando de tamaño. Debido a su color amarillento se le conoce como **cuerpo lúteo**. Las células luteínicas de la granulosa se diferencian definitivamente. Han detenido su división, pero siguen secretando progesterona durante 10 días.

En ausencia de fecundación y de un estímulo hormonal procedente del embrión en sus etapas iniciales, el cuerpo lúteo comienza a deteriorarse (**luteólisis**) durante la última parte del ciclo. La luteólisis parece englobar tanto la preprogramación de las células lúteas para la **apoptosis** (muerte celular) como los **factores luteolíticos uterinos**, por ejemplo la **prostaglandina F₂**. La regresión del cuerpo lúteo y el consiguiente descenso en la producción de progesterona ocasionan la privación hormonal que induce los cambios degenerativos del tejido endometrial durante los últimos días del ciclo menstrual.

Con la regresión del cuerpo lúteo, las células luteínicas de la granulosa degeneran y son reemplazadas por tejido colagenoso cicatricial. Debido a su coloración blanca, el cuerpo lúteo previo ahora se conoce con la denominación de **corpus albicans** («cuerpo blanco»).

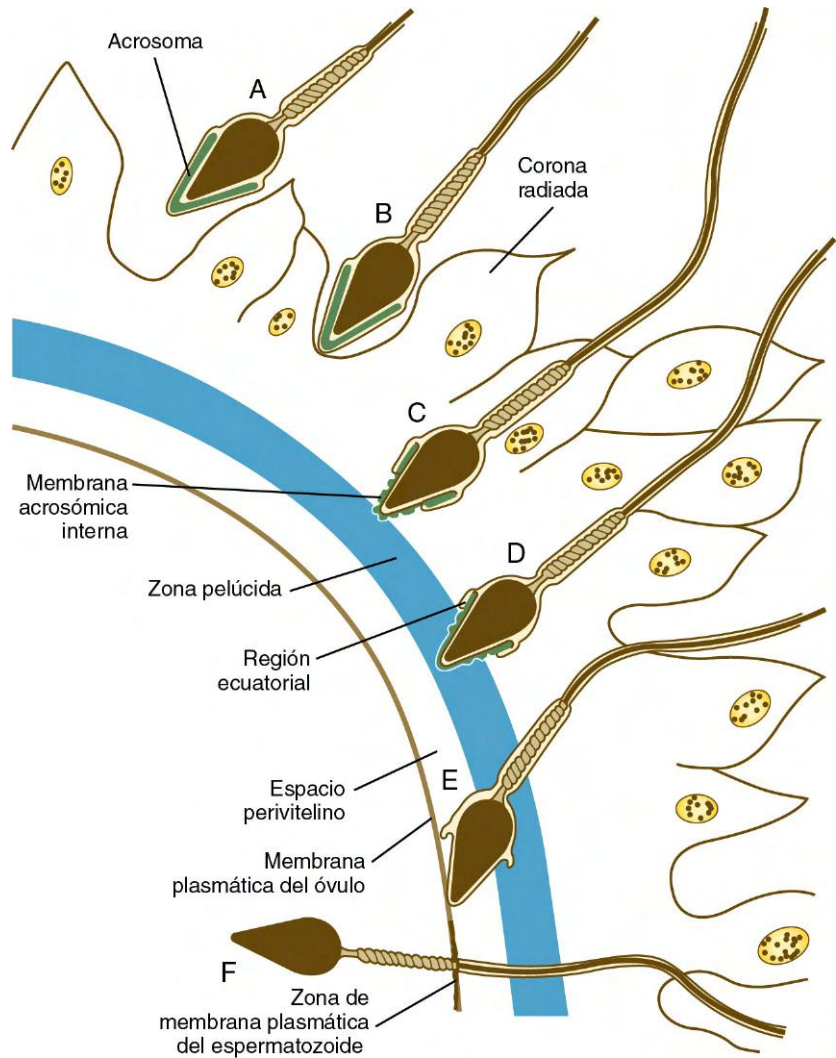


Fig. 2.4 Secuencia de acontecimientos en la penetración de las cubiertas y la membrana plasmática del óvulo. **A y B,** Penetración de la corona radiada. **C y D,** Adhesión a la zona pelúcida y reacción acrosómica. **E y F,** Unión a la membrana plasmática y entrada en el óvulo.

Si la fecundación tiene lugar, la producción de la hormona proteica llamada **gonadotropina coriónica** por los futuros tejidos placentarios conserva el cuerpo lúteo en funcionamiento e incluso hace que aumente su tamaño y su producción hormonal. Debido a que las células luteínicas de la granulosa son incapaces de dividirse y a que dejan de producir progesterona al cabo de 10 días, el gran **cuerpo lúteo del embarazo** se compone sobre todo de células luteínicas de la teca. Dicho cuerpo lúteo permanece funcional durante los primeros meses de la gestación. Tras el segundo mes, la placenta produce por sí sola suficientes estrógenos y progesterona para mantener su evolución. En este momento, los ovarios podrían ser extirpados y el embarazo continuaría.

Fecundación

La fecundación consiste en una serie de procesos más que en un único acontecimiento. En su sentido más amplio, estos procesos comienzan cuando los espermatozoides inician la penetración de la corona radiada que rodea el óvulo y terminan con el entremezclamiento de los cromosomas maternos y paternos tras la entrada del espermatozoide en el óvulo.

Penetración de la corona radiada

Cuando los espermatozoides llegan a la proximidad del óvulo en la parte ampular de la trompa de Falopio, se encuentran en

primer lugar con la corona radiada y posiblemente con algún resto del cúmulo ovífero, que representa la capa externa del complejo ovular (**fig. 2.4**). La corona radiada es una densa capa de células con una matriz intercelular compuesta por proteínas y una elevada concentración de hidratos de carbono, en especial ácido hialurónico. Ha sido una creencia generalizada el que la hialuronidasa de la cabeza del espermatozoide desempeña una función esencial en la penetración de la corona radiada, aunque los movimientos flagelares activos de los espermatozoides son también importantes.

Adhesión a la zona pelúcida y penetración de la misma

La **zona pelúcida**, que tiene un grosor de 13 μm en los seres humanos, consta sobre todo de cuatro glucoproteínas (ZP_1 a ZP_4). Las ZP_2 y ZP_3 se combinan para formar unidades básicas que se polimerizan en largos filamentos. Estos filamentos se unen de manera periódica mediante puentes cruzados formados por moléculas de ZP_1 y ZP_4 (**fig. 2.5**). Se calcula que la zona pelúcida de un óvulo no fecundado de ratón contiene más de mil millones de copias de la proteína ZP_3 .

Una vez que han atravesado la corona radiada, los espermatozoides se fijan con gran firmeza a la zona pelúcida mediante la membrana plasmática de su cabeza (v. **fig. 2.4**). Los espermatozoides se adhieren a una molécula de ácido siálico, que es

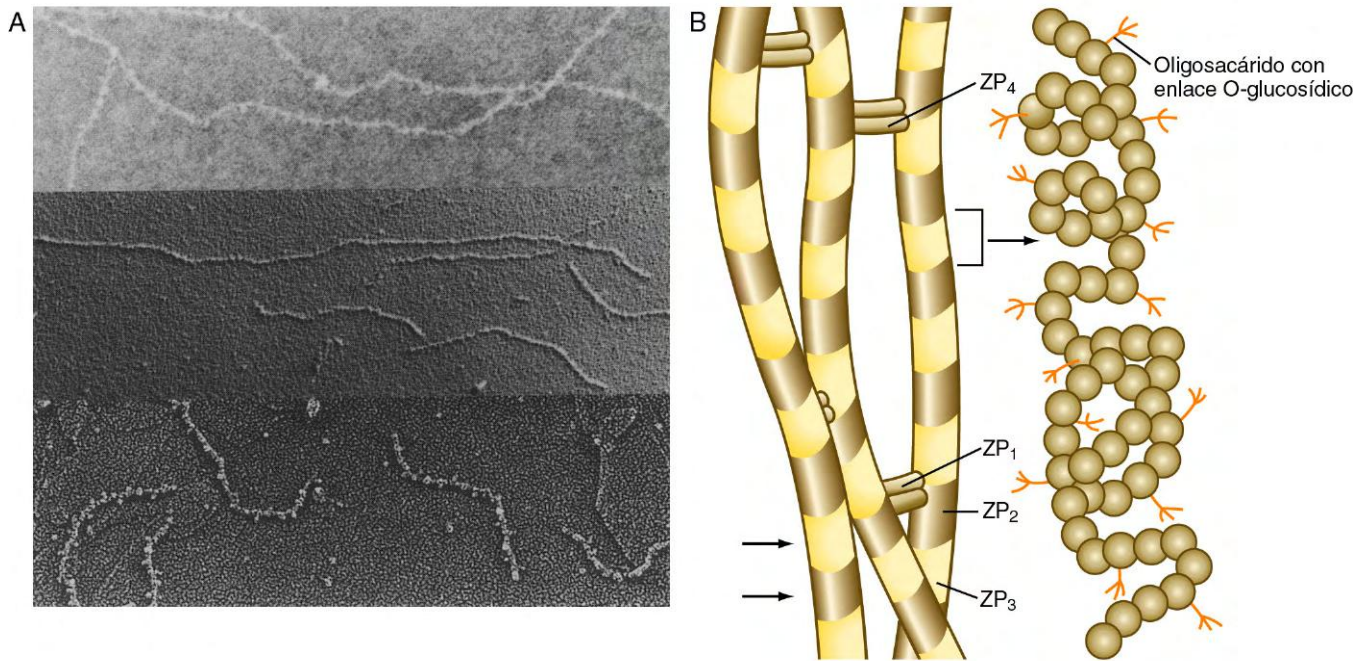


Fig. 2.5 **A**, Componentes filamentosos de la zona pelúcida de los mamíferos (ratón). **B**, Organización molecular de los filamentos en la zona pelúcida. Derecha, estructura de la glucoproteína ZP₃. (De Wassarman PM: *Sci Am* 259[6]:82, 1988.)

la parte terminal de una secuencia de cuatro azúcares al final de un enlace O-glucosídico unidos al núcleo polipeptídico de una molécula ZP₃. Los lugares específicos de unión para estos receptores son moléculas presentes en la superficie de la cabeza del espermatozoide. Se han propuesto más de 24 moléculas, pero la identidad de las moléculas de unión a la zona pelúcida sigue siendo desconocida. La incapacidad de los espermatozoides de una especie para fecundar a un óvulo de otra especie puede deberse a diferencias moleculares interespecíficas de esta molécula ZP₃ en las regiones de unión a los espermatozoides. En los mamíferos, la composición de ZP₃ varía menos entre las especies; esto puede explicar por qué a veces es posible en ellos la penetración de la zona pelúcida por espermatozoides de especies muy relacionadas entre sí, mientras que resulta infrecuente en los animales inferiores.

Al unirse a la zona pelúcida, los espermatozoides de los mamíferos sufren la **reacción acrosómica**. Su esencia es la fusión en algunos puntos de la membrana acrosómica externa con la membrana plasmática que la cubre, y la separación y liberación de las zonas fusionadas como pequeñas vesículas. Esto produce la salida de múltiples enzimas que se almacenan en el acrosoma (**cuadro 2.1**).

La reacción acrosómica en los mamíferos es estimulada por la molécula ZP₃, que actúa a través de proteínas G pertenecientes a la membrana plasmática de la cabeza del espermatozoide. A diferencia de la función receptora de espermatozoides de ZP₃, hace falta un gran segmento de la cadena polipeptídica de esta molécula para inducir la reacción acrosómica. Uno de los fenómenos iniciadores de ella es la entrada masiva de calcio (Ca⁺⁺) a través de la membrana plasmática de la cabeza del espermatozoide. Este proceso, acompañado de la entrada de sodio (Na⁺) y de la salida de hidrógeno (H⁺), incrementa el pH intracelular. Poco después se produce la fusión de la membrana acrosómica externa con la membrana plasmática que la cubre. A medida que se desprenden las vesículas de las membranas fusionadas se libera el contenido enzimático del acrosoma, ayudando a que el espermatozoide se abra camino a través de la zona pelúcida.

Cuadro 2.1 Principales enzimas acrosómicas en los mamíferos

Acrosina	β-Galactosidasa
Ariilsulfatasa	β-Glucuronidasa
Arylamidase	Hialuronidasa
Colagenasa	Neuraminidasa
Esterasa	Proacrosina
Fosfolipasa C	Proteinasa ácida

Tras la reacción acrosómica, la membrana acrosómica interna forma la superficie externa que cubre la mayor parte de la cabeza del espermatozoide (v. fig. 2.4D). Hacia la base de dicha cabeza (en la región ecuatorial), esta membrana se fusiona con la **membrana plasmática postacrosómica** restante para mantener su continuidad alrededor de la cabeza del espermatozoide.

Sólo después de que se completa la reacción acrosómica, el espermatozoide puede comenzar la penetración de la zona pelúcida en condiciones satisfactorias. Dicha penetración se logra mediante la combinación de la propulsión mecánica originada por los movimientos de la cola del espermatozoide y de la apertura de una vía mediante la acción de las enzimas acrosómicas. La enzima más importante es la **acrosina**, una serinproteínasa ligada a la membrana acrosómica interna. Cuando el espermatozoide ha atravesado la zona pelúcida y llega al **espacio perivitelino** (el que se encuentra entre la membrana plasmática del óvulo y la zona pelúcida) puede establecer contacto directo con la membrana plasmática del óvulo.

Unión y fusión del espermatozoide y el óvulo

Tras un breve desplazamiento a través del espacio perivitelino, el espermatozoide entra en contacto con el óvulo. Esto se produce en dos fases diferentes, primero se fija y después se fusiona con

su membrana plasmática. La unión entre el espermatozoide y el óvulo tiene lugar cuando la **región ecuatorial** de la cabeza del primero contacta con las microvellosidades que rodean al segundo. Las moléculas de la membrana plasmática de la cabeza del espermatozoide, sobre todo las proteínas espermáticas llamadas **fertilina y cirtestina**, se unen a las moléculas de **integrina α_6** y **proteína CD9** presentes en la superficie del óvulo. La reacción acrosómica produce un cambio en las propiedades de la membrana del espermatozoide porque, si dicha reacción no ha tenido lugar, éste es incapaz de fusionarse con el óvulo. La fusión real entre el espermatozoide y el óvulo, mediada por integrinas sobre la membrana del ovocito, convierte a sus membranas en una sola continua.

Tras la fusión inicial, el contenido del espermatozoide (la cabeza, la pieza media y normalmente la cola) se sumerge en

el óvulo (**fig. 2.6**), mientras que su membrana plasmática, que es antigénicamente distinta a la del óvulo, se incorpora a la membrana plasmática de este último y permanece reconocible al menos hasta el inicio de la segmentación. Aunque las mitocondrias situadas en el cuello del espermatozoide entran en el óvulo, no contribuyen a la dotación mitocondrial funcional del cigoto. En humanos, el espermatozoide contribuye al centrosoma necesario para la segmentación celular.

Prevención de la poliespermia

Cuando un espermatozoide se ha fusionado con un óvulo debe evitarse la entrada de otros (**poliespermia**) o probablemente se produciría un desarrollo anómalo. En la fecundación de los vertebrados suelen ocurrir dos bloqueos de la poliespermia, uno rápido y otro lento.

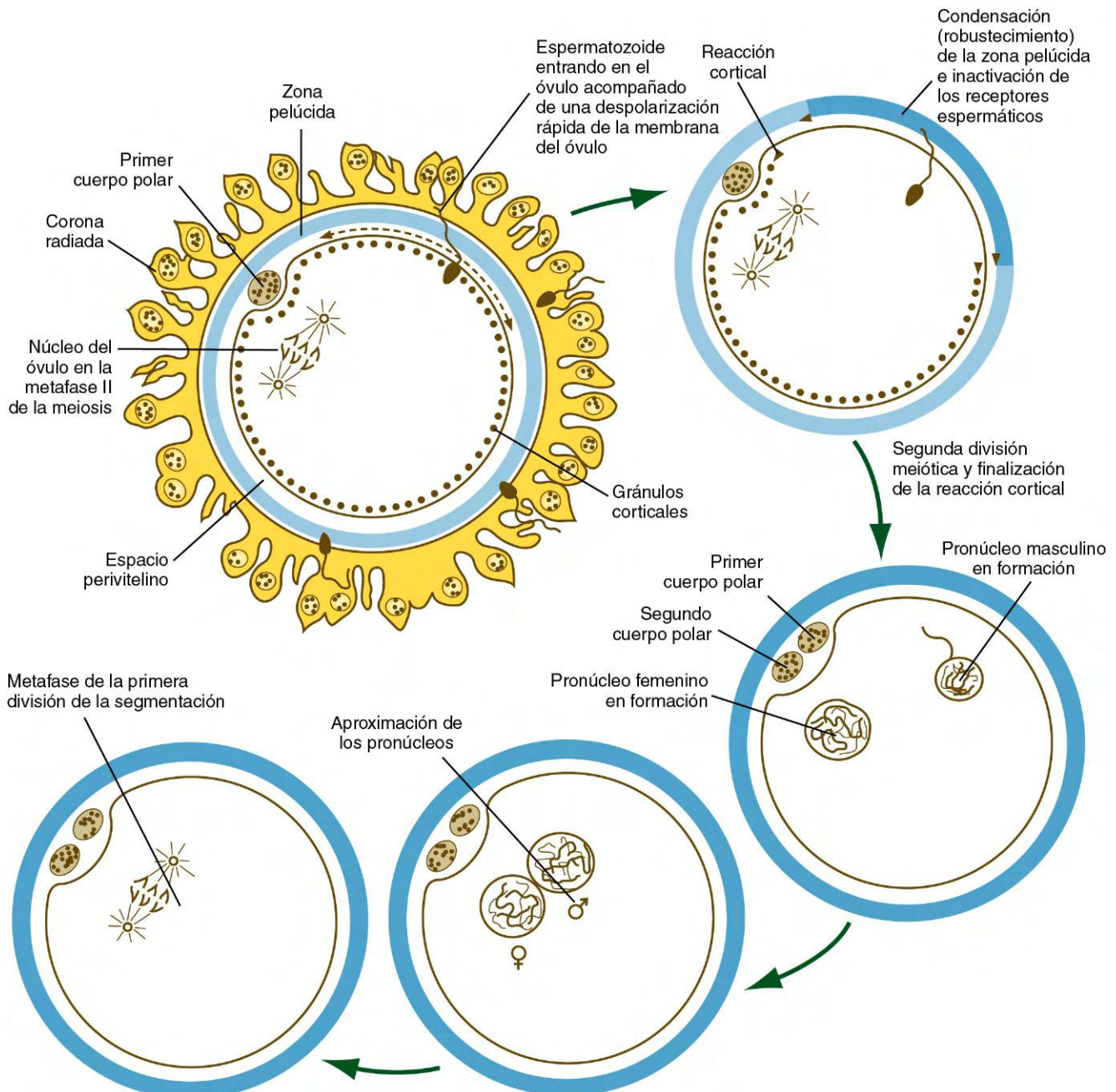


Fig. 2.6 Resumen de los principales procesos que tienen lugar en la fecundación.

El **bloqueo rápido de la poliespermia**, que se ha estudiado bien en el erizo de mar, consiste en una despolarización eléctrica rápida de la membrana plasmática del óvulo. El potencial de membrana en reposo cambia desde unos -70 mV hasta $+10$ mV en 2 o 3 segundos tras la fusión del espermatozoide. Este fenómeno impide que otros espermatozoides se adhieran a la membrana plasmática del óvulo. El bloqueo rápido en mamíferos es de corta duración, alcanza sólo algunos minutos, y puede que no dependa tanto de la despolarización de la membrana como en el erizo de mar. Este tiempo es suficiente para que el óvulo organice el bloqueo lento permanente. La naturaleza exacta del bloqueo rápido en los seres humanos no se conoce bien todavía.

Inmediatamente después de la entrada del espermatozoide, ondas sucesivas de Ca^{++} pasan al citoplasma del óvulo. El primer conjunto de ondas que se extiende desde el lugar de la fusión espermatozoide-óvulo está implicado en completar la segunda división meiótica del óvulo. Posteriores ondas de Ca^{++} inician el reclutamiento de ARN materno además de actuar sobre las células granulares de la cortical. La exposición al Ca^{++} produce la fusión de estos últimos con la membrana plasmática y la salida de su contenido (enzimas hidrolíticas y polisacáridos) al espacio perivitelino. Los polisacáridos liberados se hidratan y se hinchan, lo que hace que la zona pelúcida se eleve de la superficie del óvulo.

Los productos de secreción de los gránulos corticales se difunden hacia la zona pelúcida de carácter poroso e hidrolizan sus moléculas receptoras de espermatozoides (ZP_3 en el ratón). Esta reacción, llamada **reacción de zona**, elimina en esencia la capacidad de los espermatozoides para adherirse a la zona pelúcida y atravesarla. Dicho proceso se ha observado en óvulos humanos sometidos a fecundación in vitro. Además de los cambios en la zona pelúcida, las alteraciones en las moléculas receptoras de espermatozoides situadas en la membrana del óvulo humano hacen que el propio óvulo se oponga a la entrada de otros espermatozoides.

Activación metabólica del óvulo

La entrada del espermatozoide en el óvulo inicia algunos cambios importantes en el interior del óvulo, incluyendo los arriba mencionados bloqueos rápido y lento para la poliespermia. En efecto, el espermatozoide introduce en el óvulo un factor soluble (al parecer se trata de una fosfolipasa [fosfolipasa C zeta]) que estimula una vía que conduce a la secreción de pulsos de Ca^{++} dentro del citoplasma del óvulo. Además de iniciar el bloqueo de la poliespermia, la secreción de Ca^{++} estimula una rápida intensificación de la respiración y el metabolismo del óvulo mediante un intercambio de Na^+ extracelular por H^+ intracelular. Este cambio produce una elevación en el pH intracelular y un aumento en el metabolismo oxidativo.

Descondensación del núcleo del espermatozoide

En el espermatozoide maduro la cromatina nuclear está muy compactada, debido en gran medida a los puentes disulfuro ($-SS-$) que se establecen durante la espermatogénesis entre las moléculas de protamina y el ADN para formar complejos. Poco después de que la cabeza del espermatozoide entre en el citoplasma del óvulo, la permeabilidad de su membrana nuclear comienza a aumentar, lo que permite a los factores citoplásmicos del óvulo actuar sobre el contenido nuclear del espermatozoide. Tras la reducción de los puentes $-SS-$ de las

protaminas a grupos sulfhidrilo ($-SH$) mediante el glutatión reducido en el ovoplasma, las protaminas se separan con rapidez de la cromatina del espermatozoide y ésta comienza a desplegarse en el núcleo (ahora llamado **pronúcleo**) a medida que se aproxima al material nuclear del óvulo.

La remodelación de la cabeza del espermatozoide dura de 6 a 8 horas. Tras un corto período durante el cual los cromosomas del varón están desnudos, las histonas comienzan a asociarse a ellos. Durante la fase de la formación del pronúcleo, el material genético del pronúcleo masculino sufre una dometilación, mientras que la metilación se mantiene en el genoma femenino.

Conclusión de la meiosis y del desarrollo de los pronúcleos en el óvulo

Después de la entrada de un espermatozoide en el óvulo, el núcleo de éste, que se había detenido en la metafase de la segunda división meiótica, completa la última división y libera un **segundo cuerpo polar** al espacio perivitelino (v. fig. 2.6).

El núcleo del ovocito se desplaza hacia la corteza como resultado de la acción de las moléculas de miosina que actúan sobre una red de filamentos de actina que se conectan con uno de los polos del huso mitótico a la corteza. La contracción resultante proyecta el aparato mitótico completo hacia la superficie de la célula (fig. 2.7). Esto determina la posición en la que se sitúan los cuerpos polares primero y segundo.

Alrededor del material cromosómico femenino se forma una membrana pronuclear, derivada en su mayor parte del retículo endoplásmico del óvulo. Los factores citoplásmicos parecen controlar el crecimiento de los pronúcleos femenino y masculino. Los pronúcleos aparecen de 6 a 8 horas después de la penetración del espermatozoide, persistiendo de 10 a 12 horas. En los pronúcleos haploides en desarrollo tiene lugar la replicación de ADN, y cada cromosoma forma dos cromátidas a la vez que los pronúcleos se aproximan entre sí. Cuando los pronúcleos masculino y femenino entran en contacto, sus membranas se rompen y los cromosomas se entremezclan. Los cromosomas

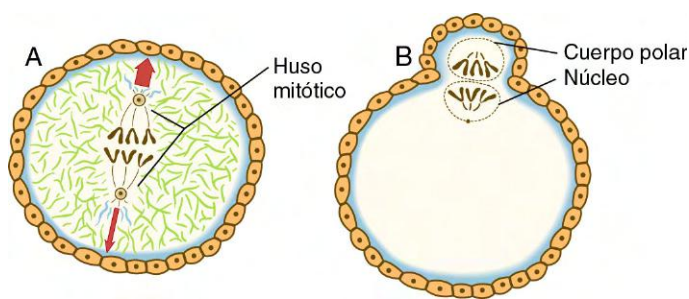


Fig. 2.7 Representación esquemática que muestra cómo el núcleo del ovocito en división se desplaza a la corteza del huevo y cómo eso determina la situación de los cuerpos polares. **A**, El huso mitótico se encuentra dentro de una malla de filamentos citoplasmáticos de actina (verde). Activado por moléculas de miosina (azul), las contracciones del complejo de actina-miosina traccionan en cualquiera de los extremos del huso mitótico (flecha roja). En el extremo del huso próximo a la superficie celular la intensidad de la tracción es mayor (flecha roja gruesa), y el aparato del huso entero se mueve hacia dicha superficie. **B**, A medida que el proceso mitótico llega a su fin, uno de los núcleos hijo del ovocito sale fuera como cuerpo polar. El núcleo que permanece en el ovocito se divide de nuevo después de la fecundación y produce un segundo cuerpo polar en el mismo lugar que el primero, debido a que el núcleo del ovocito ya está cerca de la corteza en esa zona. (Basada en Schuh M, Ellenberg J: Curr Biol 18:1986-1992, 2008.)

maternos y paternos se organizan con rapidez alrededor de un huso mitótico, derivados del centrosoma del espermatozoide, como preparación de una división mitótica normal. En este momento puede decirse que el proceso de fecundación se ha completado, y el óvulo fecundado se denomina **cigoto**.

¿Qué se obtiene con la fecundación?

El proceso de la fecundación ata varios cabos biológicos sueltos como sigue:

1. Estimula la conclusión de la segunda división meiótica en el óvulo.
2. Restaura en el cigoto el número diploide normal de cromosomas (46 en los seres humanos).
3. El sexo del futuro embrión queda determinado por la dotación cromosómica del espermatozoide. (Si éste contiene 22 autosomas y un cromosoma X, el genotipo del embrión es femenino, y si consta de 22 autosomas y un cromosoma Y, el genotipo será masculino. V. **cap. 16** para consultar más detalles.)
4. Mediante la mezcla de los cromosomas maternos y paternos, el cigoto es un producto de la redistribución cromosómica único desde el punto de vista genético, lo que es importante para la viabilidad de cualquier especie.
5. El proceso de la fecundación produce la activación metabólica del óvulo, un fenómeno necesario para que se produzcan la segmentación y el desarrollo embrionario subsiguiente.

Caso clínico

Una mujer de 33 años sometida a una histerectomía desea desesperadamente tener un hijo propio. Conserva la capacidad de producir óvulos porque sus ovarios siguen funcionando. Ella y su marido quieren intentar una fecundación in vitro y una transferencia de embriones. Encuentran a una mujer que, por 20.000 dólares, está dispuesta a permitir que el embrión de la pareja sea transferido a su útero y a servir como madre de alquiler durante el embarazo. La inducción de la ovulación es muy satisfactoria, y los médicos consiguen fecundar ocho óvulos in vitro. Tres embriones son implantados en la madre de alquiler. El resto se congela para su posible utilización posterior. La transferencia de embriones tiene éxito y la madre de alquiler queda embarazada de gemelos. Los gemelos nacen, pero la madre de alquiler se siente tan ligada a ellos como para pensar que debería tener el derecho a criarlos. Los padres genéticos, que poseen grandes recursos económicos, la llevan a juicio, pero antes de su comienzo ambos mueren en un accidente de avión. La madre de alquiler reclama ahora la considerable herencia en nombre de sus gemelos, pero la hermana del padre, igualmente consciente de las implicaciones económicas, solicita el cuidado de los niños. También surge la pregunta de qué hacer con los cinco embriones restantes congelados.

Este caso es ficticio, pero todos sus elementos se han dado en algún caso por separado. ¿Cómo resolvería los consiguientes problemas legales y éticos?

1. ¿Quién debería quedarse con los gemelos?
2. ¿Qué debería hacerse con los restantes embriones congelados?

Resumen

- La ovulación se desencadena por un pico de LH y FSH en la sangre. La expulsión del óvulo del folículo de De Graaf implica la presencia de edema local, isquemia y degradación del colágeno, participando posiblemente también en la

rotura de la pared folicular la presión del líquido y la actividad del músculo liso.

- El óvulo es atraído al interior de la trompa de Falopio y transportado a través de ella mediante la acción de las células ciliadas y las contracciones del músculo liso, mientras espera ser fecundado por una célula espermática.
- El transporte de los espermatozoides por el tracto reproductor del varón se realiza mediante su salida lenta desde los túbulos seminíferos, su maduración en el epidídimo y su expulsión rápida en la eyaculación, donde se juntan con las secreciones de la próstata y las vesículas seminales para formar el semen.
- En el tracto reproductor de la mujer, el transporte de los espermatozoides supone su entrada en el canal cervical desde la vagina, su paso a través del moco cervical y su transporte por el útero hacia las trompas de Falopio, donde se produce la capacitación. El encuentro entre el óvulo y los espermatozoides suele ocurrir en el tercio superior de la trompa de Falopio.
- El proceso de la fecundación consta de varios fenómenos secuenciales:
 1. Penetración de la corona radiada.
 2. Adhesión a la zona pelúcida.
 3. Reacción acrosómica y penetración de la zona pelúcida.
 4. Unión y fusión del espermatozoide y el óvulo.
 5. Evitación de la poliespermia.
 6. Activación metabólica del óvulo.
 7. Descondensación del núcleo del espermatozoide.
 8. Conclusión de la meiosis en el óvulo.
 9. Desarrollo y fusión de los pronúcleos masculino y femenino.
- La adhesión del espermatozoide a la zona pelúcida está mediada por la proteína ZP₃, que también estimula la reacción acrosómica.
- La reacción acrosómica abarca la fusión de la membrana acrosómica externa con la membrana plasmática de la célula espermática y la fragmentación de las membranas fusionadas, lo que provoca la liberación de las enzimas acrosómicas. Una de ellas, la acrosina, es una serinproteínasa que digiere los componentes de la zona pelúcida, y facilita así la penetración de los espermatozoides a través de la misma.
- Tras la fusión de los espermatozoides a la membrana del óvulo, una despolarización eléctrica rápida produce el primer bloqueo de la poliespermia en el óvulo. Esto da paso a una oleada de Ca⁺⁺ que induce en los gránulos corticales la liberación de su contenido al espacio perivitelino y con ello, finalmente, la inactivación de los receptores de espermatozoides en la zona pelúcida.
- La entrada del espermatozoide estimula una rápida intensificación de la respiración y del metabolismo del óvulo.
- En el óvulo, el material nuclear del espermatozoide se descondensa y forma el pronúcleo masculino. Al mismo tiempo, el óvulo completa la segunda división meiótica, y el material nuclear resultante se rodea de una membrana para constituir el pronúcleo femenino.
- Tras la replicación del ADN, los pronúcleos masculino y femenino se unen, y sus cromosomas se organizan para experimentar una división mitótica. La fecundación se ha completado, y el óvulo fecundado se puede denominar con propiedad *cigoto*.
- El tratamiento de la esterilidad mediante la fecundación in vitro y la transferencia de embriones es un proceso con múltiples etapas que comprende la estimulación de

la producción de gametos con fármacos como el citrato de clomifeno, la obtención de óvulos a través de técnicas laparoscópicas, el almacenamiento de gametos mediante congelación, la realización de la fecundación in vitro y el cultivo de embriones, la conservación del embrión y su transferencia a la madre (**correlación clínica 2.1**).

- Otras técnicas empleadas para el tratamiento de la esterilidad son la transferencia intratubárica de gametos (GIFT;

del inglés *gamete intrafallopian transfer*), que consiste en la transferencia de gametos directamente a la trompa de Falopio, y la transferencia intratubárica de cigotos (ZIFT; del inglés *zygote intrafallopian transfer*), o transferencia de cigotos a este mismo nivel. Dichas técnicas se pueden utilizar tanto en madres biológicas como de alquiler.

CORRELACIÓN CLÍNICA 2.1

Tratamiento de la esterilidad mediante fecundación in vitro y transferencia de embriones

Determinados tipos de esterilidad, causados por una cantidad o una movilidad insuficientes de los espermatozoides o por obstrucción de las trompas de Falopio, en la actualidad se pueden tratar mediante la fecundación de un óvulo in vitro y la posterior transferencia del embrión en división al aparato reproductor de la mujer. La realización de estos tratamientos de fecundación requiere la aplicación secuencial de varias técnicas que fueron desarrolladas en principio para la reproducción asistida de animales domésticos, como vacas u ovejas.

Los procedimientos implicados en estas técnicas son: 1) la estimulación de la producción de gametos, 2) la obtención de gametos masculinos y femeninos, 3) la conservación de los gametos, 4) la fecundación de los óvulos, 5) el cultivo in vitro de los embriones en división, 6) la conservación de los embriones y 7) su introducción en el útero (**fig. 2.8**).

Estimulación de la producción de gametos

La ovulación se estimula mediante la alteración de las relaciones hormonales existentes. Para las mujeres que presentan **anovulación** (que no ovulan), estas técnicas por sí solas pueden bastar para permitir la concepción.

Se han usado algunos métodos para estimular la producción de gametos. Los métodos empleados inicialmente usaron **citrato de clomifeno**, un antiestrógeno no esteroideo que suprime la retroalimentación negativa normal de los estrógenos sobre la producción de gonadotropinas de la hipófisis (v. **fig. 1.15**). Este método ha sido sustituido por la administración de varias combinaciones de prepara-

dos de gonadotropinas recombinantes (hormona foliculoestimulante u hormona luteinizante o ambas), a veces junto con agonistas de hormonas liberadoras de gonadotropinas. Esos tratamientos producen ovulación múltiple, un resultado deseado de la fecundación artificial, ya que es más eficaz la fecundación simultánea de más de un óvulo. Algunas mujeres sometidas a estos métodos para la inducción de la ovulación tienen múltiple descendencia, llegando a partos de quintillizos y sextillizos. Otros métodos para esta inducción son la aplicación de **gonadotropinas menopáusicas humanas** o la administración pulsátil de hormona liberadora de gonadotropinas. Estas técnicas son más caras que el uso de clomifeno.

Obtención de gametos

Para la inseminación artificial in vivo o para la fecundación in vitro, los espermatozoides suelen recogerse mediante masturbación. La obtención de los óvulos, en cambio, requiere asistencia técnica. La monitorización continua del curso de la ovulación inducida se logra mediante la aplicación de técnicas de imagen, en especial ecografías diagnósticas.

La técnica concreta para obtener los ovocitos implica su aspiración a partir de los folículos maduros. Aunque al principio se llevaba a cabo por **laparoscopia** (observación directa mediante la introducción de un laparoscopio a través de una pequeña incisión en la pared abdominal de la mujer), la visualización se realiza ahora con ayuda de la ecografía. Se mete una aguja para punción con aspiración en cada folículo maduro y el óvulo se succiona con suavidad y después se coloca en un medio de cultivo para la preparación de la fecundación in vitro.

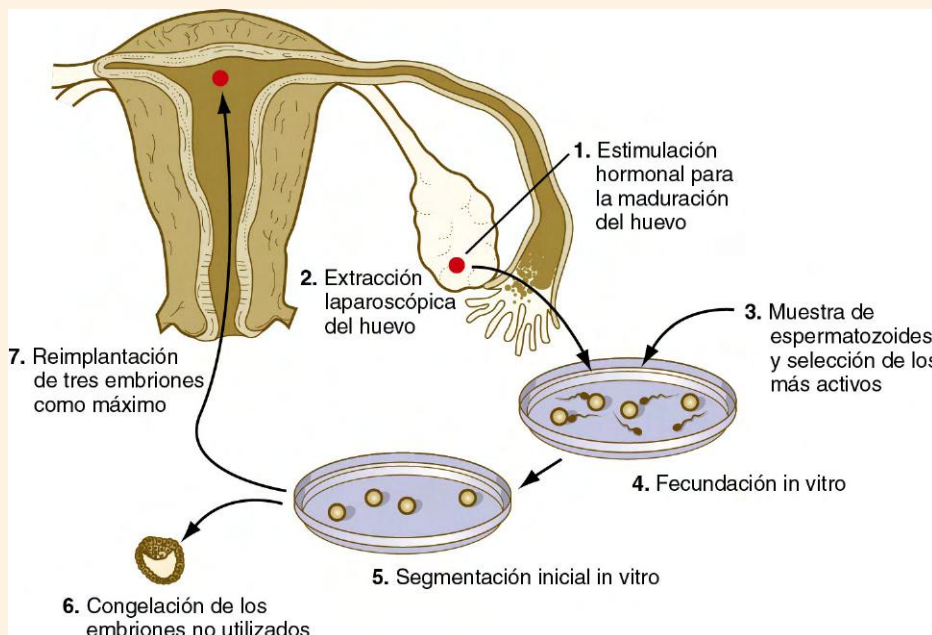


Fig. 2.8 Representación esquemática de un típico procedimiento de fecundación in vitro y transferencia de embriones en los seres humanos.

CORRELACIÓN CLÍNICA 2.1**Tratamiento de la esterilidad mediante fecundación in vitro y transferencia de embriones (cont.)****Conservación de los gametos**

Aunque los óvulos y los espermatozoides suelen unirse poco después de su obtención, en algunas circunstancias los gametos (en especial los espermatozoides) son almacenados durante distintos períodos antes de su uso. Poniendo sus preparaciones en glicerina a la temperatura del nitrógeno líquido, los espermatozoides pueden guardarse durante años sin que pierdan su capacidad de fecundación normal. La congelación de los óvulos es posible, pero mucho más problemática.

Fecundación in vitro y cultivo de embriones

Los tres requisitos imprescindibles para una fecundación in vitro satisfactoria son: 1) óvulos maduros, 2) espermatozoides normales activos y 3) un ambiente adecuado de cultivo. Uno de los factores fundamentales para alcanzar el éxito en una fecundación in vitro es disponer de ovocitos convenientemente maduros. Los óvulos aspirados de una mujer se encuentran en ocasiones en distintos estadios de madurez. Los más inmaduros son cultivados durante un corto período para hacerlos más fáciles de fecundar. Los óvulos aspirados están rodeados de la zona pelúcida, la corona radiada y cantidades variables de tejido del cúmulo ovífero.

Los espermatozoides, ya sean frescos o congelados, se preparan separándolos lo más posible del semen. Este líquido seminal reduce su capacidad de fecundación, en parte porque contiene factores de descapacitación. Tras la capacitación, que en los seres humanos puede realizarse exponiendo los espermatozoides a determinadas disoluciones iónicas, se añade un número determinado de éstos al cultivo en concentraciones de 10.000/ml a 500.000/ml. Las tasas de fecundación in vitro pueden variar de un centro a otro, pero una media realista se sitúa en el 75%.

En casos de esterilidad por **oligoespermia** (espermatozoides en número muy bajo) o de porcentajes demasiado elevados de células espermáticas anormales, pueden recogerse múltiples eyaculaciones durante un período prolongado. Éstas se congelan y se acumulan para obtener una cantidad suficiente de espermatozoides viables. En algunos casos, un pequeño número de espermatozoides es microinyectado dentro del **espacio perivitelino** en el interior de la zona pelúcida. Aunque esta técnica puede compensar las situaciones con muy pocos espermatozoides viables, introduce el riesgo de poliespermia porque se elude la función normal de filtro ejercida por la zona pelúcida. Una



Fig. 2.9 Microinyección de un espermatozoide en un ovocito humano. La micropipeta que contiene el espermatozoide entra en el ovocito desde el lado derecho. (De Veeck LL: Atlas of the human oocyte and early conceptus, vol. 2, Baltimore, 1991, Williams & Wilkins.)

variante más reciente de la fecundación in vitro es la inyección directa de un espermatozoide en un ovocito (**fig. 2.9**). Esta técnica ha sido utilizada en casos de alteraciones graves del esperma.

El éxito inicial de la fecundación in vitro se determina al día siguiente mediante la visualización del óvulo. Si se aprecian dos pronúcleos (**fig. 2.10**), se asume que la fecundación ha ocurrido.



Fig. 2.10 A, Microfotografía de un ovocito humano maduro en cultivo detenido en la segunda metafase a la espera de la fecundación in vitro. En el extremo superior del ovocito, cerca de la zona pelúcida, puede observarse un cuerpo polar. **B,** Un ovocito humano recientemente fecundado muestra en su zona central la presencia de dos pronúcleos masculino y femenino y en su polo superior dos cuerpos polares. (De Veeck LL, Zaninovic N: An atlas of human blastocysts, Boca Raton, Fla, 2003, Parthenon.)

CORRELACIÓN CLÍNICA 2.1

Tratamiento de la esterilidad mediante fecundación in vitro y transferencia de embriones (cont.)

La segmentación de los embriones humanos in vitro tiene un mayor porcentaje de éxito que en la mayoría de las demás especies de mamíferos. Suele permitirse su desarrollo hasta el estadio de dos a ocho células antes de que se consideren listos para ser implantados en el útero.

En general, todos los óvulos obtenidos mediante ovulaciones múltiples de la mujer son fecundados in vitro durante el mismo período. Existen razones prácticas para hacerlo así. Una de ellas es que debido a las bajas tasas de éxito de la transferencia embrionaria, se aconseja la implantación uterina de más de un embrión (habitualmente hasta tres) al mismo tiempo. Otra razón es económica y también está relacionada con las bajas tasas de éxito de la transferencia embrionaria. Los embriones que no se utilizan durante la técnica inicial se almacenan para su uso en el futuro si la primera transferencia no tiene éxito. Este depósito de reserva ahorra mucho tiempo y miles de dólares a la paciente.

Conservación de embriones

Los embriones conservados para posibles usos en el futuro son tratados con crioprotectores (por lo general glicerol o dimetilsulfóxido) para reducir los daños por cristales de hielo. Se les lleva lentamente a temperaturas muy bajas (suelen estar por debajo de $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$) con el fin de detener toda actividad metabólica. El tiempo que deberían conservarse los embriones congelados y su tratamiento si el primer intento de implantación tiene éxito son cuestiones con implicaciones técnicas y éticas.

Transferencia de embriones a la madre

La transferencia de embriones a la madre es técnicamente simple; aun así, supone la fase que tiene una mayor tasa de fallos en todo el proceso. Lo habitual es que sólo el 30% de los intentos lleve a una gestación viable.

La transferencia embrionaria suele realizarse introduciendo un catéter en el útero a través de su cuello hasta su cavidad, expulsando después el embrión o los embriones del catéter. La paciente permanece en reposo, de forma preferible en decúbito, durante varias horas tras este proceso.

Las razones para la baja tasa de éxito de la transferencia embrionaria no se conocen muy bien, pero también es probable que el número de embarazos que llegan a término tras la fecundación normal in vivo sea sólo de un tercio. Si la implantación no tiene ningún problema, el resto del embarazo suele cursar sin incidencias y se produce un parto normal.

Transferencia intratubárica

Determinados tipos de esterilidad están causados por factores como el moco cervical hostil y las alteraciones patológicas o anatómicas de los extremos superiores de las trompas de Falopio. Un método más simple para superar estos trastornos es la introducción de los gametos masculinos y femeninos directamente en el extremo inferior de la trompa de Falopio (con frecuencia en la unión de sus regiones ístmica y ampular). La fecundación se produce en la trompa, y los acontecimientos iniciales de la embriogénesis se suceden de forma natural. El método de la **transferencia intratubárica de gametos (GIFT)** ha logrado unos porcentajes ligeramente mayores de embarazos que los procedimientos estándar de fecundación in vitro y de transferencia de embriones.

Una variante de esta técnica es la **transferencia intratubárica de cigotos (ZIFT)**. En esta variante se implanta en la trompa de Falopio un embrión en división que ha sido generado mediante fecundación in vitro.

Madres de alquiler

En algunas circunstancias no es posible que quede embarazada una mujer que produce óvulos fértiles. Un ejemplo sería la extirpación uterina con la conservación de los ovarios funcionales. En este caso, una opción es la fecundación in vitro y la transferencia embrionaria, pero el embrión es transferido al útero de otra mujer (**madre de alquiler**). Desde el punto de vista biológico, esta técnica difiere poco de la transferencia embrionaria al útero de la madre biológica, pero introduce gran cantidad de problemas sociales, éticos y legales.

Preguntas de repaso

1. De las barreras para la supervivencia y el transporte de los espermatozoides en el aparato reproductor femenino, el pH bajo tiene más relevancia en:

- A. La parte superior de la trompa de Falopio.
- B. La parte inferior de la trompa de Falopio.
- C. La cavidad uterina.
- D. El cuello uterino.
- E. La vagina.

2. La principal fuente de energía para los espermatozoides eyaculados es:

- A. La fosfatasa ácida prostática.
- B. La glucosa interna.
- C. El ácido cítrico prostático.
- D. La fructosa en el líquido de las vesículas seminales.
- E. El glucógeno liberado por el epitelio vaginal.

3. ¿Cuál es el principal estímulo hormonal para la ovulación?

4. ¿Qué es la capacitación?

5. ¿Dónde ocurre la fecundación?

6. Cite dos funciones de la proteína ZP_3 presente en la zona pelúcida.

7. ¿Qué es la poliespermia y cómo se evita después de que un espermatozoide entre en el óvulo?

8. Una mujer da a luz a septillizos. ¿Cuál es la causa más probable del parto múltiple?

9. Cuando muchos ovocitos obtenidos mediante laparoscopia son fecundados in vitro, ¿por qué se implantan hasta tres embriones en el útero de la mujer y el resto de ellos con frecuencia se congela?

10. ¿Por qué algunos centros de tecnología de la reproducción introducen espermatozoides bajo la zona pelúcida o incluso directamente en el ovocito?

Bibliografía

- Austin CR: *Human embryos: the debate on assisted reproduction*, Oxford, 1989, Oxford University.
- Barroso G: and others: Developmental sperm contributions: fertilization and beyond, *Fertil Steril* 92:835-848, 2009.
- Braden TD, Belfiore CJ, Niswender GD: Hormonal control of luteal function. In Findlay JK, ed: *Molecular biology of the female reproductive system*, New York, 1994, Academic Press, pp 259-287.
- Chang MC: Experimental studies of mammalian fertilization, *Zool Sci* 1:349-364, 1984.
- Devoto L: and others: The human corpus luteum: life cycle and function in natural cycles, *Fertil Steril* 92:1067-1079, 2009.
- Ducibella T, Fissore R: The roles of Ca²⁺, downstream protein kinases, and oscillatory signaling in regulating fertilization and the activation of development, *Dev Biol* 315:257-279, 2008.
- Dun MD: and others: Sperm-zona pellucida interaction: molecular mechanisms and the potential for contraceptive intervention, *Handb Exp Pharmacol* 198:139-178, 2010.
- Eisenbach M, Giojalas LC: Sperm guidance in mammals: an unpaved road, *Nat Rev Mol Cell Biol* 7:276-285, 2006.
- Espey LL, Lipner H: Ovulation. In Knobil E, Neill JD, eds: *The physiology of reproduction*, ed 2, New York, 1994, Raven, pp 725-780.
- Familiari G, Makabe S, Motta PM: The ovary and ovulation: a three-dimensional study. In Van Blerkom J, Motta PM, eds: *Ultrastructure of human gametogenesis and early embryogenesis*, Boston, 1989, Kluwer Academic, pp 85-124.
- Florman HM, Ducibella T: Fertilization in mammals. In Neill JD, ed: *Physiology of reproduction*, ed 3, San Diego, 2006, Academic Press, pp 55-112.
- Florman HM, Jungnickel MK, Sutton KA: Regulating the acrosome reaction, *Int J Dev Biol* 52:503-510, 2008.
- Fraser LR: The "switching on" of mammalian spermatozoa: molecular events involved in promotion and regulation of capacitation, *Mol Reprod Dev* 77:197-208, 2010.
- Fukuda M: and others: Right-sided ovulation favours pregnancy more than left-sided ovulation, *Hum Reprod* 15:1921-1926, 2000.
- Gadella BM: The assembly of a zona pellucida binding protein complex in sperm, *Reprod Domest Anim* 43(Suppl 5):12-19, 2008.
- Geerling JH: Natural family planning, *Am Fam Physician* 52:1749-1756, 1995.
- Holt WV, Fazeli A: The oviduct as a complex mediator of mammalian sperm function and selection, *Mol Reprod Dev* 77:934-943, 2010.
- Ikawa M: and others: Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte, *J Clin Invest* 120:984-994, 2010.
- Jones GS: Corpus luteum: composition and function, *Fertil Steril* 54:21-26, 1990.
- Kaji K, Kudo A: The mechanism of sperm-oocyte fusion in mammals, *Reproduction* 127:423-429, 2004.
- Kim E: and others: Sperm penetration through cumulus mass and zona pellucida, *Int J Dev Biol* 52:677-682, 2008.
- Knoll M, Talbot P: Cigarette smoke inhibits oocyte cumulus complex pick-up by the oviduct in vitro independent of ciliary beat frequency, *Reprod Toxicol* 12:57-68, 1998.
- Miyazaki S: Thirty years of calcium signals at fertilization, *Semin Cell Dev Biol* 17:233-243, 2006.
- Myles DG, Koppel DE, Primakoff P: Defining sperm surface domains. In Alexander NJ, others, eds: *Gamete interaction: prospects for immunocontraception*, New York, 1990, Wiley-Liss, pp 1-11.
- Oh JS, Susor A, Conti M: Protein tyrosine kinase Wee1B is essential for metaphase II exit in mouse oocytes, *Science* 332:462-465, 2011.
- Ozil J-P: and others: Ca²⁺ oscillatory pattern in fertilized mouse eggs affects gene expression and development to term, *Dev Biol* 300:534-544, 2006.
- Parrington J: and others: Flipping the switch: how a sperm activates the egg at fertilization, *Dev Dyn* 236:2027-2038, 2007.
- Primakoff P, Myles DG: Penetration, adhesion, and fusion in mammalian sperm-egg interaction, *Science* 296:2183-2185, 2002.
- Rath D: and others: Sperm interactions from insemination to fertilization, *Reprod Domest Anim* 43(Suppl 5):2-11, 2008.
- Richards JAS: and others: Ovulation: new dimensions and new regulators of the inflammatory-like response, *Annu Rev Physiol* 64:69-92, 2002.
- Rubenstein E: and others: The molecular players of sperm-egg fusion in mammals, *Semin Cell Dev Biol* 17:254-263, 2006.
- Schuh M, Ellenberg J: A new model for asymmetric spindle positioning in mouse oocytes, *Curr Biol* 18:1986-1992, 2008.
- Spehr M: and others: Identification of a testicular odorant receptor mediating sperm chemotaxis, *Science* 299:2054-2057, 2003.
- Suarez SS: Gamete and zygote transport. In Neill JD, ed: *Physiology of reproduction*, ed 3, San Diego, 2006, Academic Press, pp 113-146.
- Suarez SS: Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct, *Int J Dev Biol* 52:455-462, 2008.
- Talbot P: and others: Oocyte pickup by the mammalian oviduct, *Mol Biol Cell* 10:5-8, 1999.
- Tanghe S: and others: Minireview: functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation, and fertilization, *Mol Reprod Dev* 61:414-424, 2002.
- Tsafirri A, Reich R: Molecular aspects of mammalian ovulation, *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 107:1-11, 1999.
- Turner TT: De Graaf's thread: the human epididymis, *J Androl* 29:237-250, 2008.
- Veck LL, Zaninovic N: *An atlas of human blastocysts*, Boca Raton, Fla, 2003, Parthenon.
- Wassarman PM: Zona pellucida glycoproteins, *J Biol Chem* 283:24285-24289, 2008.
- Wassarman PM, Litscher ES: Mammalian fertilization: the egg's multifunctional zona pellucida, *Int J Dev Biol* 52:665-676, 2008.
- Wassarman PM, Litscher ES: Towards the molecular basis of sperm and egg interaction during mammalian fertilization, *Cells Tiss Organs* 168:36-45, 2001.
- Whitaker M: Calcium at fertilization and in early development, *Physiol Rev* 86:25-88, 2006.
- Wood C, Trounson A, eds: *Clinical in vitro fertilization*, ed 2, London, 1989, Springer-Verlag.
- Yanagimachi R: Mammalian fertilization. In Knobil E, Neill J, eds: *The physiology of reproduction*, ed 2, New York, 1994, Raven, pp 189-317.
- Yeung C-H, Cooper TG: Developmental changes in signalling transduction factors in maturing sperm during epididymal transit, *Cell Mol Biol* 49:341-349, 2003.
- Yu Y and others: The extracellular protein coat of the inner acrosomal membrane is involved in zona pellucida binding and penetration during fertilization: characterization of its most prominent polypeptide (IAM38), *Dev Biol* 290:32-43, 2006.

Segmentación del cigoto e implantación del embrión

La fecundación libera al óvulo de un metabolismo lento y evita su desintegración final en el aparato reproductor femenino. Inmediatamente después de producirse, el cigoto experimenta un cambio metabólico llamativo y comienza un período de **segmentación** que dura varios días. A lo largo de este tiempo, el embrión, todavía rodeado por la zona pelúcida, es transportado por la trompa de Falopio y llega al útero. Unos 6 días después se desprende de su zona pelúcida y se adhiere al revestimiento uterino.

Con el crecimiento intrauterino y la conexión placentaria entre el embrión y la madre, los mamíferos superiores, incluidos los seres humanos, han adquirido estrategias de desarrollo durante sus primeras etapas muy diferentes de las encontradas en la mayoría de los invertebrados y los vertebrados inferiores. Los óvulos de los animales inferiores, que se depositan normalmente fuera del cuerpo, deben contener todos los materiales necesarios para que el embrión alcance el estadio de nutrición independiente. Se han seguido dos estrategias principales. Una es completar el desarrollo temprano lo antes posible, estrategia adoptada por *Drosophila*, erizos de mar y muchos anfibios. Esto implica la acumulación de una reserva moderada de vitelo en el ovocito y la fabricación previa de la mayor parte de la maquinaria molecular necesaria para que el embrión llegue con rapidez al inicio de la gastrulación tras la segmentación. Los ovocitos de dichas especies generan y almacenan de forma habitual enormes cantidades de ribosomas, ARN mensajero (ARNm) y ARN de transferencia (ARNt). Éstos representan productos de los genes maternos, y ello significa que las primeras etapas del desarrollo embrionario en tales especies están controladas de manera predominante por el genoma de la madre. La otra estrategia de desarrollo independiente, adoptada por las aves y los reptiles, consiste en la producción de un huevo de gran tamaño que contiene suficiente vitelo como para que las etapas iniciales del desarrollo puedan transcurrir a menor velocidad. Esta estrategia elimina la necesidad de que el ovocito sinteticé y conserve grandes cantidades de ARN y de ribosomas antes de la fecundación.

La embriogénesis de los mamíferos recurre a algunas estrategias diferentes en lo fundamental de las utilizadas por los vertebrados inferiores. Dado que la conexión placentaria con la madre anula la necesidad de que el ovocito en crecimiento almacene grandes cantidades de vitelo, los óvulos de los mamíferos son muy pequeños. La segmentación de los mamíferos es un proceso prolongado que suele coincidir con el tiempo requerido para el transporte del embrión recién formado desde el lugar de la fecundación en la trompa de Falopio hasta el de la implantación en el útero. Una importante innovación en los estadios iniciales de la embriogénesis en los mamíferos es

la aparición del **trofoblasto**, el tejido especializado que origina la conexión trófica entre el embrión y la madre, durante el período de segmentación. La placenta representa la manifestación final de los tejidos trofoblásticos.

Segmentación

Morfología

Comparada con la mayor parte de las demás especies, la segmentación en los mamíferos es un proceso lento que se mide en días más que en horas. El desarrollo avanza a la velocidad aproximada de una división celular diaria durante los 2 primeros días (**figs. 3.1 y 3.2**). Después del estadio de dos células, la segmentación de los mamíferos es asíncrona, ya que una de las dos células (**blastómeras**) se divide para dar lugar a un embrión de tres células. Cuando el embrión consta de unas 16 células se denomina **mórula** (derivado de la palabra latina que significa «mora»).

Al principio del estadio de ocho células, los embriones de los mamíferos placentarios entran en una fase llamada de **compactación**, en cuyo desarrollo las blastómeras más externas se adhieren íntimamente entre sí mediante uniones en hendidura o nexo y uniones estrechas, perdiendo su identidad individual cuando se las observa desde la superficie. La compactación está mediada por la concentración de moléculas de adhesión celular activadas por el calcio (Ca^{++}), como la **E-cadherina**, en un anillo alrededor de la superficie apical de las blastómeras. La actividad de un sistema de transporte de sodio (Na^+) basado en la Na^+,K^+ -adenosina trifosfatasa (ATPasa) permite que el Na^+ y el agua (H_2O) atraviesen las blastómeras externas que constituyen una especie de epitelio y se acumulen en los espacios que dejan las blastómeras internas. Este proceso, que tiene lugar unos 4 días después de la fecundación, se llama **cavitación**, y el espacio lleno de líquido recibe el nombre de **blastocelo** (**cavidad blastocística**). En esta fase, el embrión en conjunto se denomina **blastocisto** (**fig. 3.3**).

En el período de blastocisto, el embrión, que aún está rodeado de la membrana pelúcida, consta de dos tipos de células: una capa epitelial externa (el **trofoblasto**), que rodea a un pequeño grupo interno llamado **masa celular interna** (v. **fig. 3.1**). Cada blastómera de los estadios de dos y de cuatro células contribuye a la formación de ambos tipos celulares, masa celular interna y trofoblasto. El extremo del blastocisto que contiene la masa celular interna se denomina **polo embrionario**, y el extremo opuesto **polo abembrionario**. La aparición de estos dos tipos celulares refleja los cambios principales en términos de organización que han tenido lugar en el embrión y representa la especialización de las blastómeras en dos linajes celulares

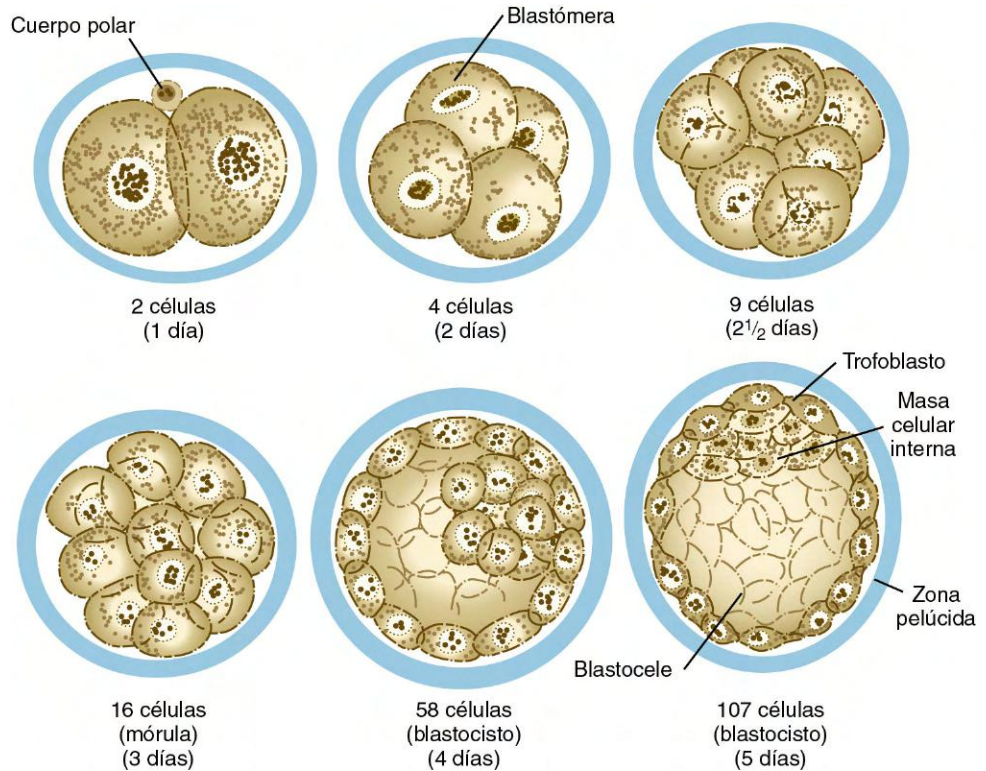


Fig. 3.1 Esquemas de las primeras fases de la segmentación en los embriones humanos. Los dibujos de los estadios de 58 y de 107 células representan secciones del embrión.

distintos. Las células de la masa interna darán origen al cuerpo mismo del embrión y además a varias estructuras extraembrionarias, mientras que las células del trofoblasto sólo formarán estructuras extraembrionarias, incluidas las capas más externas de la placenta. Existen cada vez más pruebas de que el **factor de crecimiento fibroblástico-4**, un factor de crecimiento secretado por las células de la masa celular interna, participa en el mantenimiento de la actividad mitótica en el trofoblasto que la cubre.

Control molecular, genético y del desarrollo de la segmentación

A medida que se incrementa el número de células, la segmentación de los mamíferos es un período dominado por varios eventos críticos para el desarrollo. El más temprano es la transición al cigoto de productos génicos maternos. Otro es la polarización de los blastómeros individuales, lo que sienta las bases de los mecanismos del desarrollo que tienen como resultado la subdivisión del embrión en segmentación en dos tipos distintos de células: el trofoblasto y la masa celular interna (v. **fig. 3.1**). La mayoría de los estudios acerca de biología y genética moleculares de las primeras etapas del desarrollo embrionario de los mamíferos se han realizado en ratones. Hasta que exista más información sobre la embriogénesis temprana en los primates, los resultados obtenidos a partir de la experimentación sobre ratones deben utilizarse como guía.

Como consecuencia de la falta de un almacenamiento masivo de ribosomas y ARN maternos durante la ovogénesis, el embrión de los mamíferos en desarrollo ha de contar con la activación de los productos génicos embrionarios en una etapa muy temprana. La mayor parte de los productos procedentes de la transcripción materna se han degradado durante el estadio de dos células (**fig. 3.4**). Sin embargo, algunos de estos productos estimulan la activación del genoma embrionario,

volviéndose a producir ARN para un significativo número de genes (>1.500) durante el tiempo en que la segmentación ha avanzado al estadio de cuatro células. No parece observarse una transición brusca entre cese de la dependencia de los productos génicos puramente maternos y el inicio de la transcripción del genoma embrionario. Algunos productos génicos paternos (como las isoformas de la β -glucuronidasa y la β_2 -microglobulina) aparecen en el embrión muy pronto, mientras los ARNm maternos de la actina y las histonas siguen siendo utilizados para la producción de las proteínas correspondientes. Como indicación de hasta qué punto en estas primeras etapas el embrión depende de sus propios productos génicos, el desarrollo no sigue pasada la fase de dos células si se inhibe la transcripción del ARNm en el ratón. Por el contrario, un tratamiento similar en los embriones de los anfibios no interrumpe el desarrollo hasta las fases finales de la segmentación, cuando comienzan a sintetizarse los ARNm necesarios para controlar los movimientos morfogénicos y la gastrulación.

Los ovocitos y los espermatozoides maduros son inactivos desde el punto de vista transcripcional, fundamentalmente porque su ADN está fuertemente metilado. **Metilación** que ocurre en dinucleótidos CpG normalmente inactivados por genes asociados. Semejante inactivación es, a menudo, denominada **regulación epigenética**, ya que no es suficiente para alterar la secuencia fundamental del ADN. La metilación puede ser inactivada por genes informacionales o por sus reguladores (p. ej., realzadores o promotores). A lo largo de la vida de un individuo ocurren ciclos pronunciados de metilaciones y desmetilaciones (**fig. 3.5**). En las 4 horas posteriores a la fecundación el genoma paterno sufre una rápida y masiva desmetilación. La desmetilación del genoma materno ocurre más gradualmente hasta el inicio de la mórula, estadio en el que todo el ADN está desmetilado al máximo. La remetilación sigue en la masa celular interna hasta el estadio de blastocisto tardío, en el que retorna a sus niveles más altos. Dentro de la línea

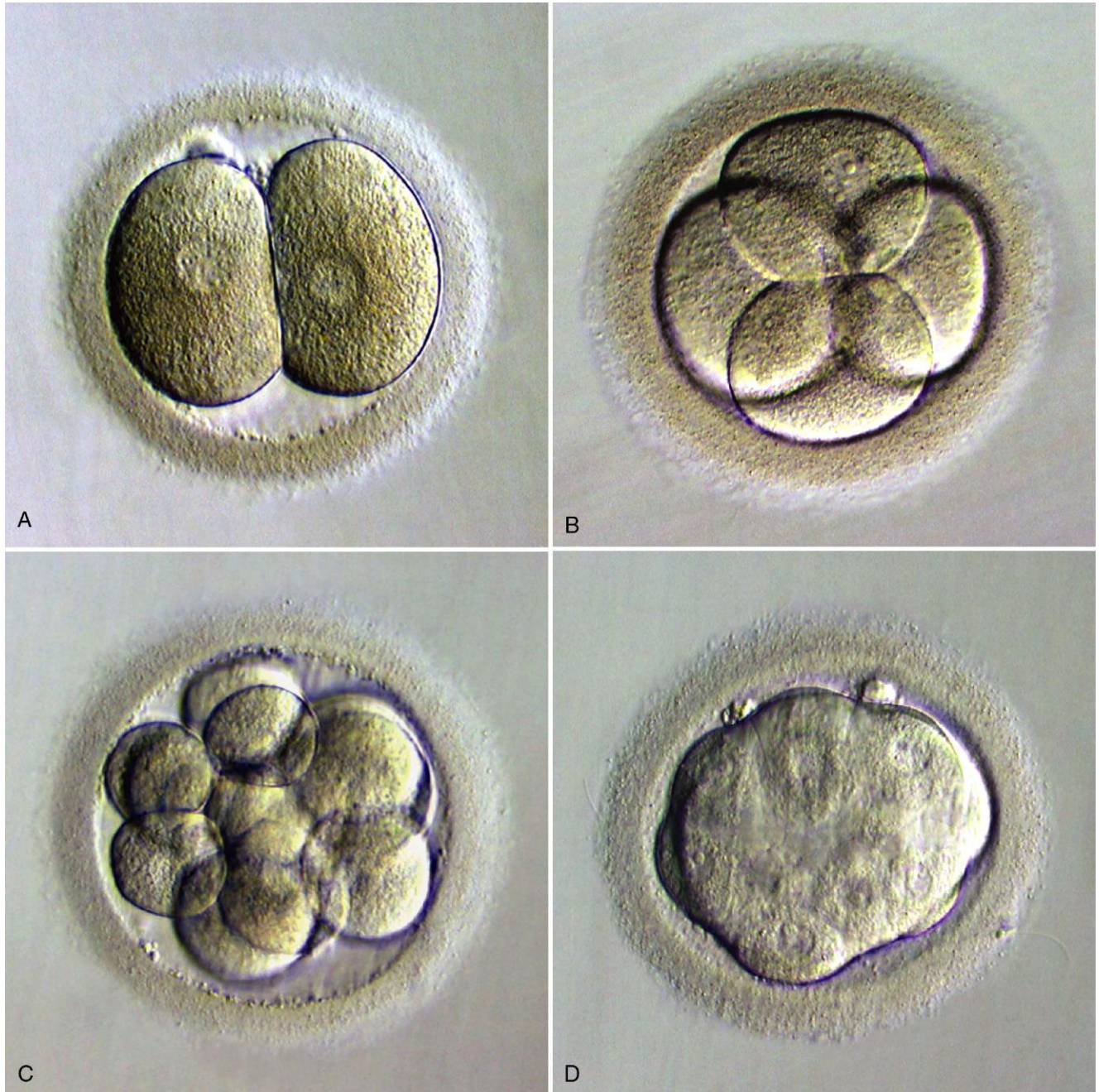


Fig. 3.2 Microfotografías de las etapas de la segmentación de óvulos humanos fecundados in vitro. **A**, Dos blastómeras. **B**, Cuatro blastómeras. **C**, Doce blastómeras. **D**, Mórula en fase de compactación tardía (5 días). (De Veeck LL, Zaninovic N: An atlas of human blastocysts, Boca Raton, Fla, 2003, Parthenon.)

celular germinal, los altos niveles de metilación característicos del embrión temprano descienden después de que las células germinales primordiales han ingresado en la cresta genital. La remetilación ocurre durante la gametogénesis tardía e imprime (v. pág. 43) características maternas o paternas en los gametos, teniendo en algún caso profundos efectos sobre los genes de los embriones derivados de esos gametos. El control epigenético no está confinado a los patrones de metilación. Desde muy temprano, en el cigoto se producen diferentes patrones de histonas en asociación con la cromatina, como consecuencia de las pronunciadas diferencias en la expresión génica entre los pronúcleos masculino y femenino.

En el primer par de días después de la fecundación, la actividad transcripcional del embrión en proceso de segmentación

es muy baja. De forma similar, los ovocitos fecundados y los embriones tempranos de los mamíferos poseen una capacidad limitada para la traslación de los ARNm. El factor limitante de la eficiencia traslacional puede ser el escaso número de ribosomas encontrados en el ovocito. Durante la segmentación, los productos derivados de los cromosomas maternos y paternos participan activamente en los procesos que dirigen el desarrollo. Los embriones haploides mueren con frecuencia durante la segmentación o justo después de la implantación. Sin embargo, existen marcadas evidencias de que el control de las fases iniciales del desarrollo supone algo más que la mera presencia de un juego diploide de cromosomas en cada célula.

Una de las primeras manifestaciones de la expresión génica embrionaria es la polarización de las blastómeras en el embrión

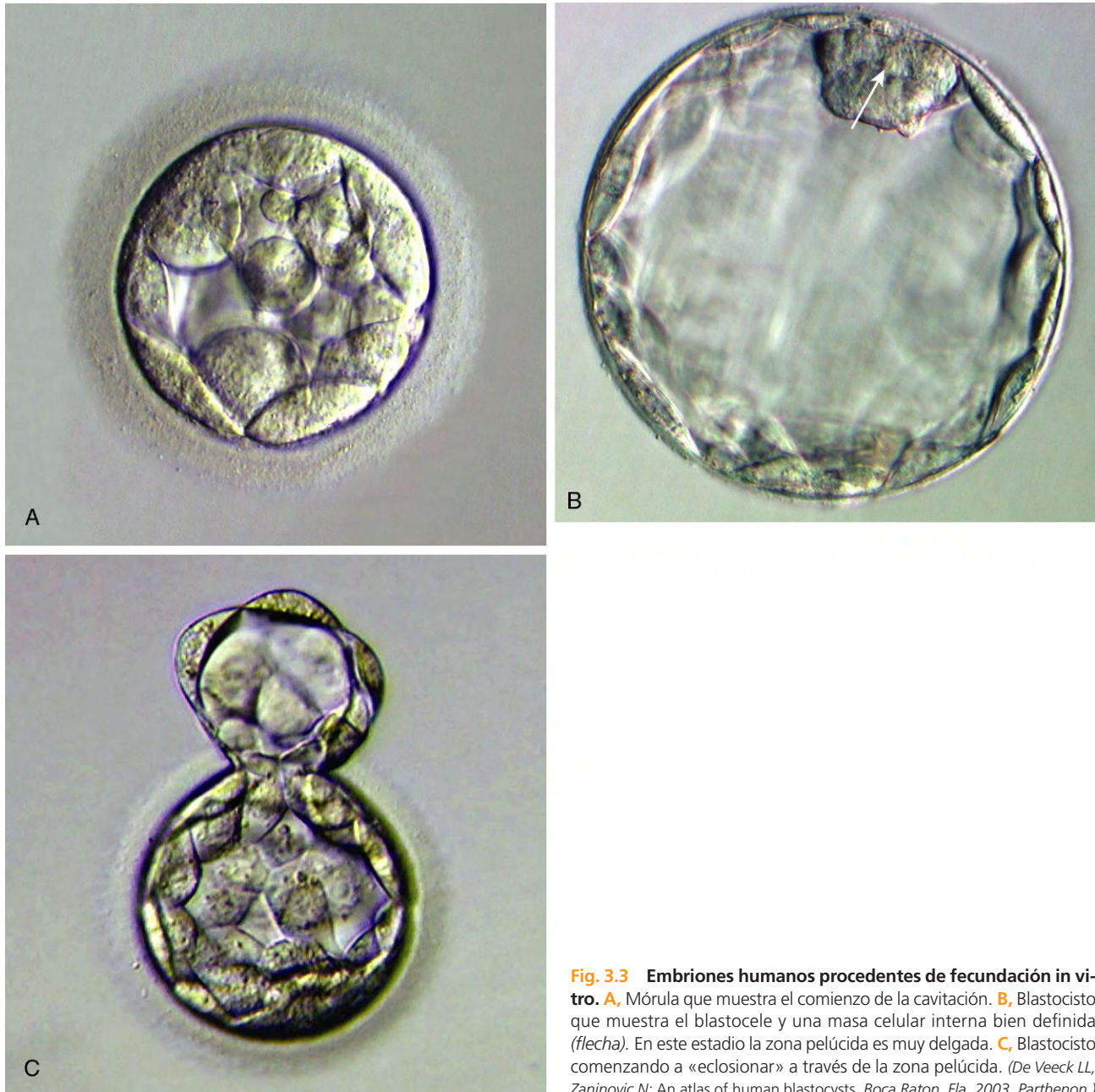


Fig. 3.3 Embriones humanos procedentes de fecundación *in vitro*. **A**, Mórula que muestra el comienzo de la cavitación. **B**, Blastocisto que muestra el blastocelo y una masa celular interna bien definida (*flecha*). En este estadio la zona pelúcida es muy delgada. **C**, Blastocisto comenzando a «eclosionar» a través de la zona pelúcida. (De Veeck LL, Zaninovic N: An atlas of human blastocysts, Boca Raton, Fla, 2003, Parthenon.)

de 8-16 células, en las que son claramente reconocibles las superficies apicales y basales. La polarización de las blastómeras constituye uno de los pasos más importantes en el desarrollo temprano de los mamíferos y hasta donde sabemos es la decisión que lleva a la aparición de dos líneas celulares separadas (el trofoblasto y la masa celular interna) a partir de las homogéneas blastómeras iniciales. Hasta el estadio de 8 células en los ratones, todas las blastómeras son virtualmente idénticas. En el embrión de 8 células las superficies celulares están cubiertas de microvellosidades y conexiones intercelulares, mediadas por **E-cadherina**. Poco después, se detectan diferencias entre las células polarizadas que tienen al menos una superficie situada en la cara externa del embrión y aquellas no polarizadas que están rodeadas por completo de otras blastómeras. Las células polarizadas externas están destinadas a formar el trofoblasto, mientras que aquellas células localizadas en el interior están destinadas a formar la masa celular interna, de la que procederá el cuerpo del embrión.

La relación entre la posición de las blastómeras y su destino final en el desarrollo se incorporó a la **hipótesis de dentro-fuera**. La esencia de esta hipótesis es que el destino de una blastómera es consecuencia de su posición más que de sus propiedades intrínsecas. Las blastómeras externas acaban diferenciándose en el trofoblasto, mientras que las internas constituyen la masa celular interna. Si en la superficie de un embrión en fase temprana se sitúan las blastómeras marcadas de otros embriones disgregados, normalmente contribuyen a la aparición del trofoblasto. Por el contrario, si las mismas células marcadas se introducen en el embrión anfitrión participan en la formación de la masa celular interna (**fig. 3.6**).

El **modelo de polaridad celular** ofrece una explicación alternativa para la conversión de las blastómeras genéricas en trofoblasto o en masa celular interna. De acuerdo con esta hipótesis, si el plano de la división celular de una blastómera del estadio de ocho células es paralelo a la superficie externa del embrión, la

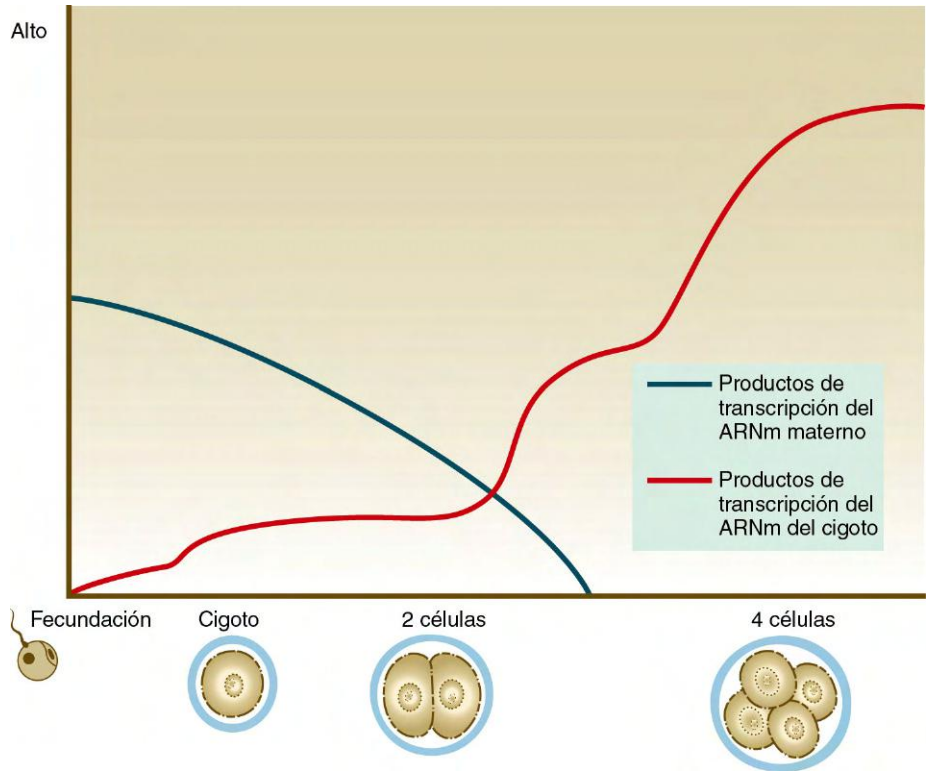


Fig. 3.4 Abundancia relativa de productos de transcripción maternos con respecto al cigoto en embriones en fase de segmentación temprana. La línea azul corresponde al ARNm materno y la línea roja al ARNm del cigoto.

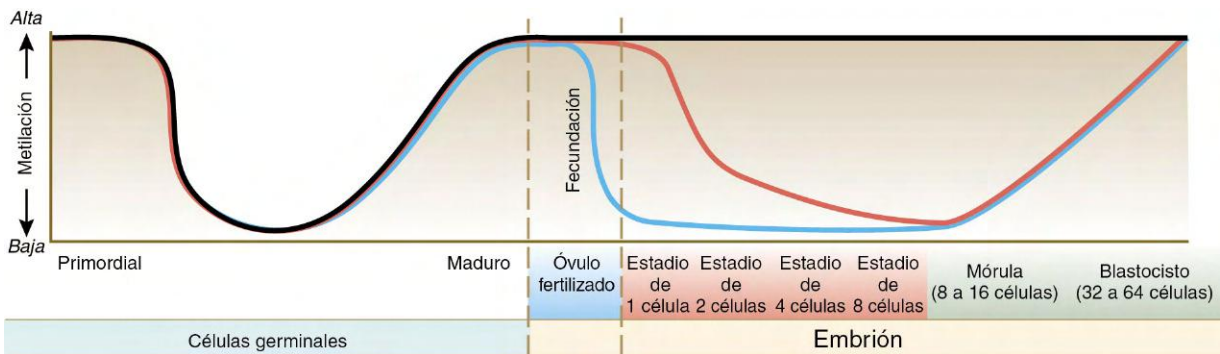


Fig. 3.5 Metilación de varias clases de genes durante la maduración de los gametos y la segmentación. Las células germinales primordiales en fase de migración están altamente metiladas, pero esta metilación desciende cuando ingresan en la gónada primitiva, para aumentar posteriormente en los últimos estadios de la maduración de los gametos. Después de la fertilización, la metilación permanece alta en los genes con impronta parental (línea negra), pero disminuye rápidamente, mediante desmetilación enzimática, en el ADN del pronúcleo masculino (línea azul), mientras que la desmetilación es más lenta (a lo largo de varios días) en el cromosoma femenino (línea roja). En el estadio de blastocisto retornan los altos niveles de metilación. (Modificada de Santos F, Dean W, *Reproduction* 127:643-651, 2004.)

© Elsevier. Fotocopiar sin autorización es un delito.

célula hija externa desarrolla una polaridad, de tal forma que su superficie apical mira a la zona pelúcida (fig. 3.7). La célula hija interna permanece apolar y va a formar parte de la masa celular interna. Las evidencias experimentales sugieren la necesidad de un elemento clave subyacente a las células hijas para la adquisición hereditaria, por parte de las células externas, de un parche de membrana celular externa conteniendo microvellosidades y filamentos de actina estabilizantes de la proteína **ezrin**. Se ha postulado que las proteínas que producen polaridad en las células externas proceden directamente de la diferenciación de la línea trofoblástica. Un aspecto común de la hipótesis de dentro-fuera y del modelo de polaridad celular es reconocer que una célula que no tiene contacto con la superficie no se desarrolla como trofoblasto, sino que formará parte de la masa celular interna.

A pesar de que en el estadio de 16 células el embrión está formado por células externas polarizadas y células internas no polarizadas claramente reconocibles, células de un tipo pueden transformarse en células del otro tipo. Así, si trasplantamos células de la masa celular interna de un embrión a la superficie externa de otro embrión pueden producir trofoblasto, del mismo modo que células externas trasplantadas al interior pueden producir masa celular interna. En el estadio de 32 células, la capacidad de transformación fenotípica se ha perdido en su mayor parte. Algunos investigadores han mostrado que las células de la masa celular interna del embrión de 16 células todavía retienen la maquinaria molecular para convertirse en células trofoblásticas, ya que si las células se exponen a la superficie pueden transformarse en células trofoblásticas

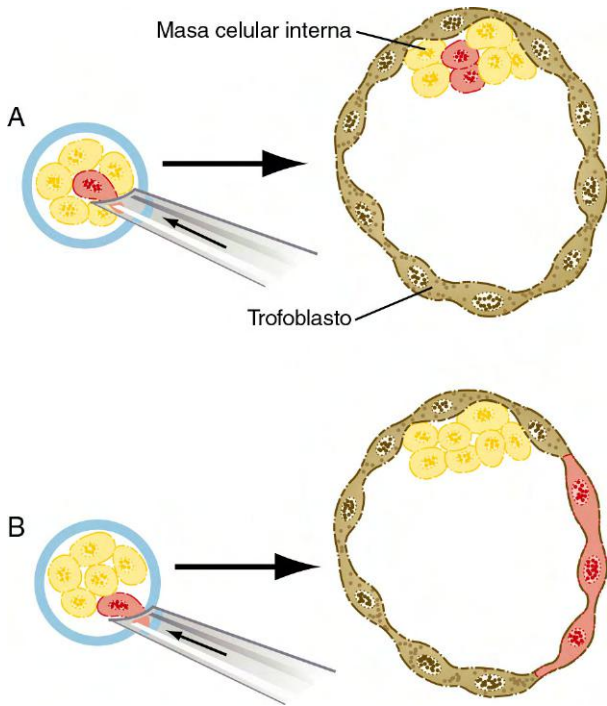


Fig. 3.6 Experimentos que ilustran la hipótesis de dentro-fuera sobre la determinación celular en los embriones de los mamíferos durante sus fases precoces. **A**, Si se introduce una blastómera marcada en el interior de una mórula, ésta y su descendencia pasan a formar parte de la masa celular interna. **B**, Si se coloca una blastómera marcada en el exterior de una mórula receptora, ésta y su descendencia contribuyen al trofoblasto.

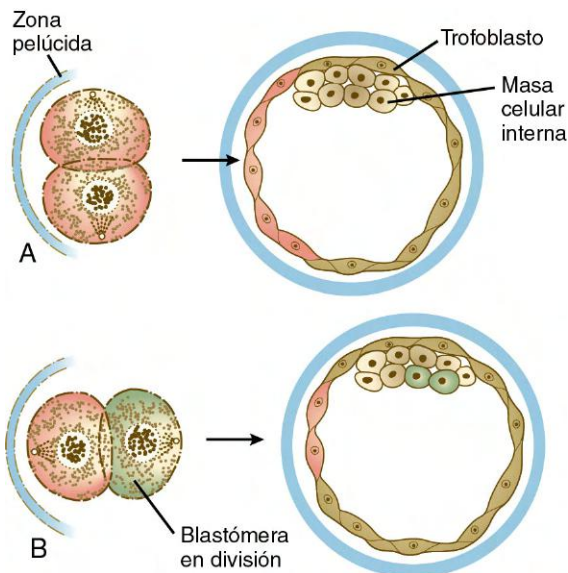


Fig. 3.7 El modelo de la polarización celular en la diferenciación de las blastómeras. **A**, Si el plano de segmentación de una blastómera es perpendicular a la superficie del embrión, cada célula hija se transforma en trofoblasto. **B**, Si el plano de segmentación es paralelo a la superficie, la blastómera hija localizada en la superficie se transforma en trofoblasto, mientras que la célula hija localizada en el interior pasa a formar parte de la masa celular interna.

sin necesidad de sintetizar nuevo ARNm. Experimentos de este tipo muestran que el **desarrollo potencial**, o **potencia prospectiva** (los tipos de células que un precursor es capaz de formar) es mayor que su destino de **desarrollo normal**, o **significación prospectiva** (los tipos de células que un precursor forma normalmente).

Los cambios en el fenotipo de las células internas y externas se acompañan de diferencias moleculares importantes. El factor de transcripción **Cdx-2** es crítico para la formación de las células del trofoblasto. Cdx-2 es esencial para la diferenciación trofoblástica y además es antagonista de la expresión de las moléculas asociadas con la masa celular interna. El incremento de los niveles de Cdx-2 favorece la formación de moléculas asociadas con la polarización e incrementa la proporción de células sometidas a división celular simétrica, aumentando así el número de células trofoblásticas. Las mutaciones de **Cdx-2** fallan en la implantación en epitelio endometrial.

En contraste con las células del trofoblasto, que van incrementando su carácter epitelial, las células de la masa celular interna expresan moléculas que se asocian con la gran flexibilidad del desarrollo. Tres de estas moléculas son **oct-4**, **Nanog** y **Sox-2**.

El gen *oct4* codifica un factor de transcripción específico que se une al octámero ATTGCAT en el ADN. Ésta es una relación cerrada entre la expresión del gen *oct4* y el alto grado de indiferenciación de las células. En ratones, la proteína oct-4 de origen materno se localiza en el ovocito y es activa en el cigoto. Tras un descenso experimentalmente inducido de la proteína oct-4, el desarrollo se detiene en el estadio de una célula. Esto muestra que la proteína oct-4 de origen materno es necesaria para permitir el desarrollo hasta el estadio de dos células, momento en el que comienza la transcripción de los genes del embrión.

Oct-4 se expresa en todos los blastómeros hasta el estadio de mórula. A medida que varios tipos celulares diferenciados comienzan a surgir en el embrión, los niveles de expresión del gen *oct4* disminuyen en estas células hasta hacerse prácticamente imperceptibles. Este descenso fue observado, en primer lugar, en las células destinadas a formar estructuras extraembrionarias y finalmente en las células de las capas embrionarias específicas a medida que surgen a partir de la línea primitiva (v. cap. 5). Incluso después de que virtualmente todas las células del embrión hayan dejado de expresar el gen *oct4*, éste es todavía detectable en las células germinales primordiales cuando migran desde la región alantoidea a las crestas genitales. A causa de este patrón de distribución, se sospecha que la proteína oct-4 desempeña un papel regulador en el mantenimiento del estadio indiferenciado y en el establecimiento y mantenimiento de la pluripotencialidad de las células germinales.

Otros dos genes importantes en el desarrollo temprano son *Nanog* y *Sox2*. Las células internas, resultantes de la división de las células del embrión de ocho células, comienzan a producir Sox-2, que se une al ADN en asociación con oct-4 para regular la expresión de los genes que, a su vez, regulan la diferenciación celular. Nanog aparece inicialmente en la mórula tardía y junto a oct-4 desempeña funciones en el mantenimiento de la masa celular interna. En ausencia de función de Nanog, las células de la masa celular interna se diferencian en endodermo primitivo (hipoblasto), mientras que la ausencia de función de oct-4 origina que las células de la masa celular interna se diferencien en trofoblasto. En general, aunque por diferentes mecanismos, ambos tipos celulares, trofoblasto y masa celular interna, tienen normalmente inhibida su capacidad para transformarse en el otro tipo celular.

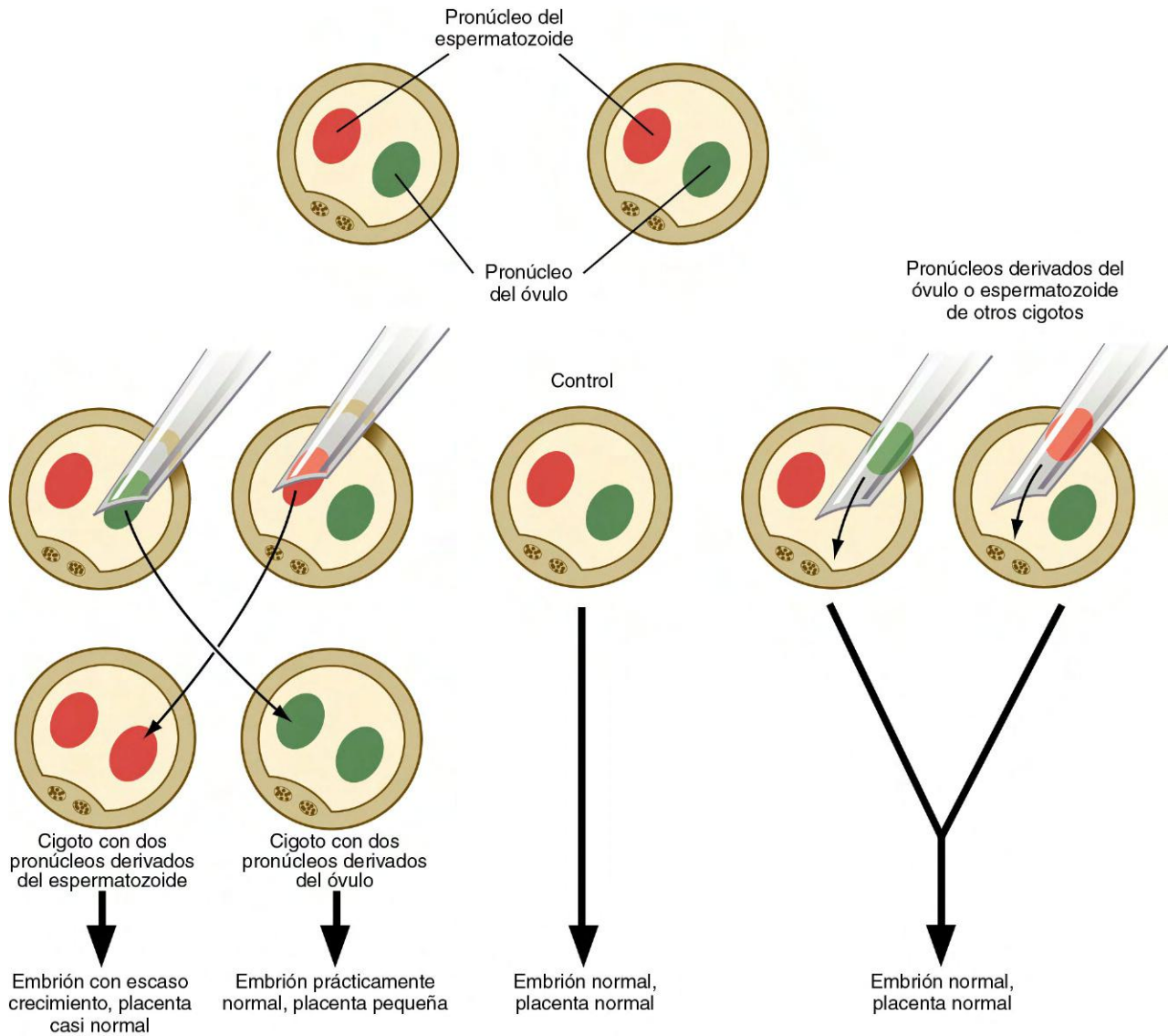


Fig. 3.8 Demostraciones experimentales de la impronta parental mediante el uso de trasplantes pronucleares.

Impronta parental

La experimentación, junto con la observación de determinadas alteraciones infrecuentes del desarrollo en ratones y en los seres humanos, ha mostrado que la expresión de ciertos genes derivados del óvulo difiere de la de los mismos genes cuando derivan del espermatozoide. Estos efectos, denominados **impronta parental**, se manifiestan de diversas formas. Es posible extraer un pronúcleo de un óvulo de ratón recién inseminado y sustituirlo por otro procedente de un óvulo distinto también inseminado y en una fase similar del desarrollo (fig. 3.8). Si un pronúcleo masculino o femenino se elimina y se cambia por otro masculino o femenino correspondiente, el desarrollo es normal. Si se retira un pronúcleo masculino y se reemplaza por otro femenino (con lo que se obtiene un cigoto con dos pronúcleos femeninos), el embrión en sí mismo se desarrolla con bastante normalidad, pero la placenta y el saco vitelino lo hacen de forma deficiente. Por el contrario, un cigoto con dos pronúcleos masculinos origina un embrión con problemas graves de crecimiento, mientras que la placenta y el saco vitelino son casi normales.

La impronta parental ocurre durante la gametogénesis. La metilación del ADN, efectuada a través de centros de impronta específicos, es uno de los principales medios de la impronta y propicia una expresión diferencial de los alelos paternos y maternos de los genes que reciben la impronta. Estos genes que reciben la impronta tienen silenciada la transcripción, operan en este período y, posiblemente, en la edad adulta, pero una impronta determinada no se transmite a la descendencia de un individuo. En su lugar, se borra la impronta parental de los genes y se establecen otras nuevas en los óvulos y los espermatozoides durante la gametogénesis.

No todos los genes tienen impronta parental, aunque las estimaciones actuales sugieren que más de 2.100 genes humanos están afectados por la misma. La **correlación clínica 3-1** analiza algunas entidades y síndromes asociados con la impronta parental.

Inactivación del cromosoma X

Otro ejemplo de desigualdad en la expresión genética durante las etapas iniciales del desarrollo embrionario es el patrón de

CORRELACIÓN CLÍNICA 3.1

Trastornos y síndromes asociados a la impronta parental

Un ejemplo sorprendente de impronta parental en el ser humano es la **mola hidatiforme** (v. fig. 7.16) que se caracteriza por el desarrollo excesivo de los tejidos trofoblásticos frente a un progreso casi inexistente del embrión. Esta entidad puede ser el resultado de la fecundación de un óvulo por dos espermatozoides y el consiguiente fracaso del genoma materno para participar en el desarrollo, o de la duplicación de un pronúcleo espermático en un óvulo «vacío». Dicha forma de desarrollo tan anómala sustenta la hipótesis de que la impronta parental favorece el crecimiento del trofoblasto a expensas del embrión. Otros síndromes también se basan en la impronta parental. El **síndrome de Beckwith-Wiedemann**, caracterizado por macrosomía fetal y una mayor incidencia de neoplasias en la infancia, se ha localizado en la región con impronta parental del

cromosoma 11, que contiene los genes del factor de crecimiento similar a la insulina-II (IGF-II, que promueve la proliferación celular) y de H19 (un supresor del crecimiento). Este síndrome se presenta cuando los dos alelos del gen *IGF-II* expresan un patrón de impronta parental. Otro ejemplo interesante corresponde a la delección de regiones del brazo largo del cromosoma 15, específicamente la que afecta al gen *UBE3A*. Los niños de ambos sexos que heredan la delección materna contraen el **síndrome de Angelman**, que consta de retraso mental profundo, convulsiones y ataxia. Un niño que herede la delección paterna de la misma región sufre el **síndrome de Prader-Willi**, caracterizado por obesidad, talla baja, hipogonadismo, labio superior arqueado y retraso mental leve.

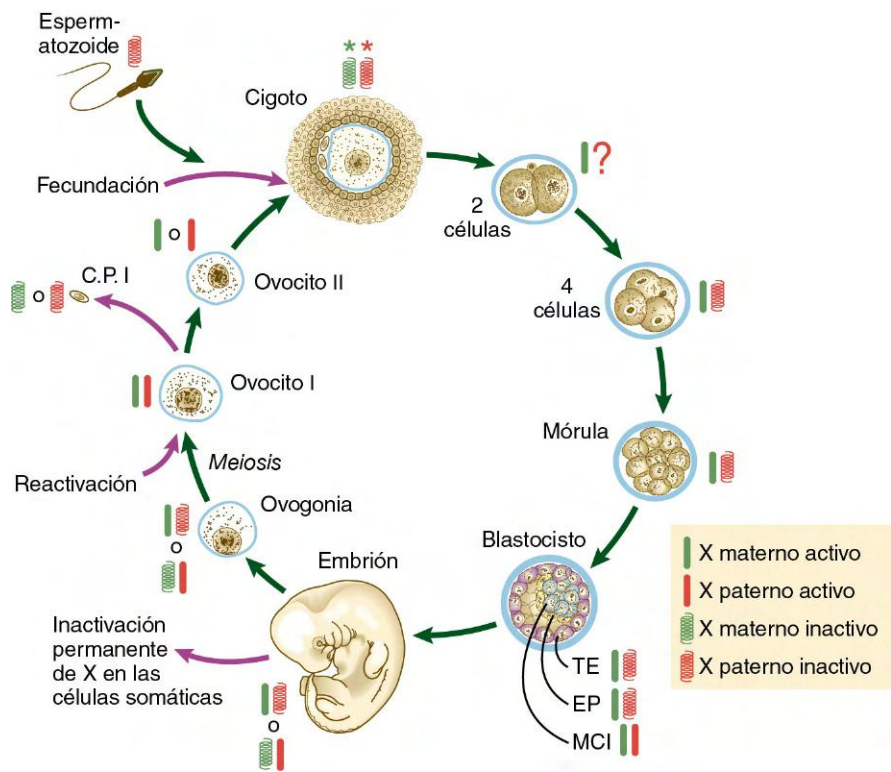


Fig. 3.9 Inactivación y reactivación del cromosoma X durante el ciclo de vida de los mamíferos. Los símbolos rojo y verde se refieren a la inactivación paterna (rojo) y materna (verde) del cromosoma X. C.P. I, primer cuerpo polar; EP, endodermo primitivo (extraembrionario); MCI, masa celular interna; TE, trofoectodermo. (Basada en Gartler SM, Riggs AD: *Annu Rev Genet* 17:155-190, 1983; y Thorvaldsen JL, Verona RI, Bartolomei MS: *Dev Biol* 298:344-353, 2006.)

inactivación del cromosoma X en los embriones femeninos. Es bien conocido por estudios citogenéticos que uno de los dos cromosomas X está inactivado en las células femeninas por su condensación extrema. Éste es el origen de la **cromatina sexual**, o **corpúsculo de Barr**, que puede observarse en estas células pero no en las de los varones sanos. El objetivo de la inactivación del cromosoma X es la compensación de la dosis o impedir que las células tengan un exceso de productos génicos del cromosoma X.

La inactivación del cromosoma X se inicia en el **centro de inactivación de X**, un locus exclusivo de este cromosoma. El *XIST* (transcrito específico de X inactivo), uno de los genes del centro de inactivación, produce una gran cantidad de ARN sin capacidad para codificar proteínas. El ARN de *XIST* permanece en el núcleo y cubre al cromosoma X inactivo por completo, con lo que no permite ninguna transcripción posterior de éste. En el cromosoma X inactivado, el gen *XIST* se desmetila y se expresa, mientras que en el X activo está metilado y silente.

Estudios genéticos muestran una compleja historia ontogénica de la inactivación del cromosoma X (fig. 3.9). En el cigoto femenino ambos cromosomas X son transcripcionalmente inactivos, si bien son sensibles a las acciones de *XIST*, debido a la inactivación global de la transcripción en los períodos iniciales de la segmentación. En el estadio de cuatro células y hasta la mórula, el cromosoma X paterno se inactiva como consecuencia de la impronta parental. Cuando el embrión se transforma en blastocisto, el cromosoma X paterno permanece inactivado en el trofoblasto y en el hipoblasto (v. fig. 5.1), pero en la masa celular interna ambos cromosomas X continúan activos. A medida que se diferencian las células de la masa celular interna, las células somáticas se ven sometidas aleatoria y permanentemente a los efectos de la inactivación del cromosoma X. Dentro de la línea de células germinales, la activación de ambos cromosomas X ocurre durante la primera división meiótica.

Propiedades del desarrollo de los embriones en el periodo de segmentación

La embriogénesis temprana de los mamíferos se considera un proceso profundamente regulador. La **regulación** es la capacidad de un embrión o del esbozo de un órgano para dar lugar a una estructura normal cuando se le ha añadido o se han eliminado partes del mismo*. A nivel celular, esto significa que los destinos de las células en un sistema regulador no están fijados de forma irreversible y que éstas pueden aún responder a las influencias ambientales. Debido a que la asignación de las blastómeras a los diferentes linajes celulares es una de las principales características del desarrollo de los mamíferos, resulta importante identificar los factores ambientales implicados en ella.

De las técnicas experimentales empleadas para mostrar las propiedades reguladoras de los embriones en sus etapas iniciales, la más sencilla consiste en separar las blastómeras al principio de la segmentación y determinar si cada una de ellas puede dar lugar a un embrión completo. Este método se ha empleado para mostrar que las blastómeras aisladas de los embriones de 2 y, en ocasiones, de 4 células pueden completar un desarrollo normal, aunque en fases posteriores ya no son capaces de hacerlo. En los estudios con mamíferos se suele tomar una única célula de un embrión en fases tempranas de la segmentación y se inyecta en el blastocele de un anfitrión genéticamente distinto. Dichas células inyectadas se incorporan al embrión receptor para formar **quimeras** o **mosaicos**. Cuando las blastómeras donantes, con las correspondientes diferencias genéticas, se inyectan en estos embriones, sus células pueden ser identificadas mediante análisis histoquímico o citogenético, y determinarse su destino (los tejidos que surgen a partir de ellas). Los experimentos para confeccionar **mapas de destino** son significativos en embriología porque permiten seguir las vías por las que puede diferenciarse una célula concreta. Estos experimentos han demostrado que todas las blastómeras de un embrión de ratón de 8 células permanecen **totipotenciales**, es decir, mantienen la capacidad de originar cualquier tipo celular en el cuerpo. Incluso en la fase de segmentación de 16 células, algunas de ellas llegan a producir una descendencia que se encuentra en la masa celular interna y en el linaje trofoblástico.

Otra forma de demostrar con ratones las propiedades reguladoras de los embriones de los mamíferos durante las etapas iniciales del desarrollo es su disociación en blastómeras separadas y después la combinación de las correspondientes a dos o tres embriones (**fig. 3.10**). Las blastómeras combinadas pronto se agregan y se reorganizan para convertirse en un único embrión de gran tamaño, que continúa su desarrollo dando lugar a un **ratón tetraparental** o **hexaparental** de aspecto normal. Mediante distintas técnicas para producir embriones quiméricos es posible mezclar blastómeras y crear quimeras de combinación entre especies (p. ej., una oveja-cabra). Es probable que muchos mosaicos genéticos humanos (**quimeras**), en general reconocidos cuando algunas regiones del cuerpo son masculinas y otras femeninas, sean el resultado de la fusión temprana de dos embriones gemelos. Otras posibilidades para la formación de quimeras se relacionan con el intercambio celular durante las conexiones vasculares comunes.

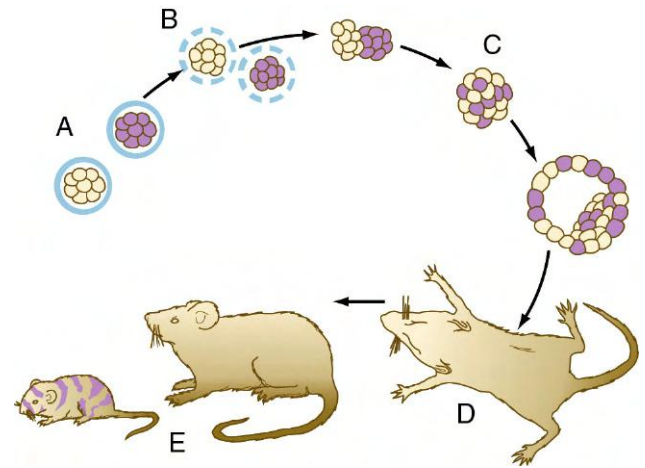


Fig. 3.10 Mecanismo de producción de embriones tetraparentales. A, Etapas de la segmentación de dos cepas diferentes de ratones. B, Eliminación de la zona pelúcida (*círculos de trazos*). C, Fusión de los dos embriones. D, Implantación de los embriones en una madre adoptiva. E, Descendencia quimérica obtenida a partir de los embriones implantados.

Una cuestión significativa en la embriología inicial de los mamíferos es conocer si alguno de los tres ejes corporales está representado en el ovocito o en el embrión temprano. Investigaciones en embriones de rata han mostrado, de forma dramática, diferentes puntos de vista. De acuerdo con uno de ellos, la posición del segundo corpúsculo polar después de la fertilización está típicamente relacionada con el primer plano de segmentación, como un marcador para el futuro eje anteroposterior. Esto puede sugerir que el ovocito, antes o justo después de la fertilización, posee al menos un eje predeterminado, como en el caso de muchos animales. Un punto de vista contrario, basado en la fotografía a lo largo del tiempo, afirma que no hay ningún plano axial determinado en el ovocito y el plano de la primera segmentación se orienta perpendicular a una línea trazada entre las posiciones finales de los pronúcleos masculino y femenino. De manera similar, los datos experimentales también son conflictivos en lo que respecta a la posibilidad de una relación predeterminada entre las estructuras del embrión de dos o cuatro células y los ejes corporales definitivos, que aparecen con el inicio temprano de la gastrulación. La mayor parte de las evidencias sugieren que el embrión precoz de los mamíferos es un sistema altamente regulador y que los ejes corporales no se fijan hasta el final de la segmentación o el principio de la gastrulación.

Manipulaciones experimentales de embriones en periodo de segmentación

Gran parte del conocimiento sobre las propiedades que caracterizan al desarrollo de los embriones de mamíferos en sus fases iniciales se ha obtenido mediante técnicas de manipulación experimental. Habitualmente, su uso debe combinarse con otras técnicas diseñadas para la fecundación *in vitro* y el cultivo y la transferencia de embriones (v. cap. 2).

Las estrategias clásicas para investigar las propiedades del desarrollo en los embriones son: 1) la extracción de una parte del embrión y la determinación de la forma en que el resto compensa esa pérdida (dichos **experimentos** se denominan de **deleción** o de **ablación**) y 2) la adición de una parte y la determinación de la forma en que el embrión integra el material añadido a su plan corporal global (dichos **experimentos** se denominan de **adición**). Aunque se han realizado experimentos

*En oposición al desarrollo regulador está el desarrollo en mosaico, que se caracteriza por la incapacidad para compensar los defectos o integrar células adicionales en un todo unificado. En un sistema de mosaico, los destinos de las células están determinados de forma rígida, y la eliminación de algunas de ellas produce un embrión o una estructura que carecen de los componentes que las células extraídas estaban destinadas a formar. Muchos sistemas reguladores tienen una tendencia creciente a mostrar propiedades de mosaico según progresa el desarrollo.

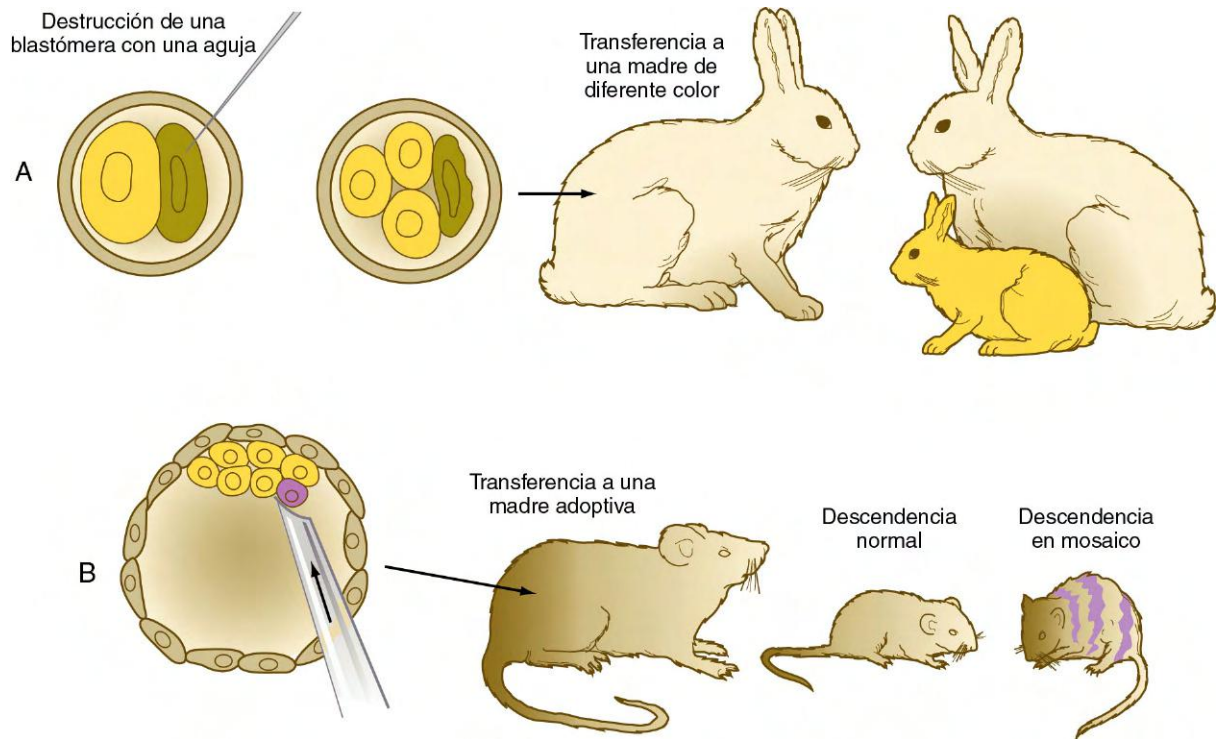


Fig. 3.11 Experimentos de adición y deleción de blastómeras. **A,** Si se destruye una blastómera con una aguja y el embrión se transfiere a una madre de distinto color, nace una cría normal con el mismo color que el embrión lesionado de forma experimental. **B,** Si se introduce una blastómera de una cepa diferente en un blastocisto se obtiene una cría en mosaico, que tiene manchas con el color característico de la cepa de la blastómera introducida.

de deleción, la estrategia seguida por los de adición ha resultado ser más fructífera para aclarar los mecanismos que controlan la embriogénesis de los mamíferos.

Los experimentos de adición y de deleción de blastómeras (fig. 3.11) han mostrado de forma convincente la naturaleza reguladora de los embriones de los mamíferos en etapas iniciales del desarrollo (es decir, la fuerte tendencia del sistema a recuperar la integridad). Dicho conocimiento es importante para entender por qué su exposición a influencias ambientales desfavorables en el ser humano normalmente da lugar bien a su muerte, bien a un embrión normal.

Una de las técnicas experimentales más poderosas ha consistido en inyectar células marcadas de forma genética o por medios artificiales en la cavidad blastocística de un embrión anfitrión (v. fig. 3.11B). Esta técnica se ha utilizado para demostrar que las células añadidas se integran con normalidad en el cuerpo del embrión receptor, proporcionando evidencias adicionales de la regulación embrionaria. Una aplicación igualmente eficaz de este método ha sido el estudio de los linajes celulares durante las primeras fases del embrión. Así, los investigadores han podido determinar la potencia de desarrollo de las células donantes al identificar la descendencia de estas células marcadas inyectadas.

Una técnica que proporciona amplios conocimientos sobre los mecanismos de control genético en el desarrollo de los mamíferos es la producción de **embriones transgénicos**. Estos embriones (habitualmente ratones) se consiguen mediante la inyección directa de ADN exógeno en el pronúcleo de los cigotos (fig. 3.12A). El ADN, que suele ser recombinante para un gen específico, tiene la capacidad de fusionarse con un elemento regulador diferente, que el investigador puede controlar.

Se pueden crear ratones transgénicos al inyectar en el pronúcleo de cigotos de ratón el gen de la hormona de crecimiento de la rata ligado a una región promotora de metalotioneí-

na (MT-I). Los cigotos inyectados se trasplantan a úteros de madres adoptivas, que dan a luz ratones transgénicos de aspecto normal. Más adelante, cuando estos animales reciben una alimentación rica en zinc, que estimula la región promotora MT-I, se activa el gen de la hormona de crecimiento de la rata y, como consecuencia, el hígado fabrica grandes cantidades de esta sustancia polipeptídica. La función del gen trasplantado es evidente; influidos por la síntesis de la hormona de crecimiento de la rata, los ratones transgénicos crecen hasta alcanzar un tamaño mucho mayor que sus compañeros de camada normales (fig. 3.13).

Además de la adición génica en embriones, se han desarrollado potentes técnicas para inactivar de forma específica genes o productos génicos. A nivel del ADN, es ahora común el **bloqueo** de un gen interesante como camino para determinar su función en el desarrollo normal. Durante la embriogénesis, algunos genes tienen diferentes funciones en diferentes períodos de tiempo y en distintos tejidos. Esta función en el desarrollo temprano puede ser tan crítica, que en su ausencia el embrión muere al principio de la gastrulación. Para hacer frente a este problema, se han ideado técnicas para interferir con promotores específicos de tejidos, de modo que la función de un gen sobre un determinado órgano (p. ej., el ojo) pueda ser interrumpida únicamente en el primordio de dicha estructura. Otras técnicas operan a nivel del ARN. Por ejemplo, si se inyecta ARNi (ARN de interferencia) no codificado en un embrión disminuye drásticamente la expresión génica, aunque no se produce bloqueo. A nivel proteico y mediante ingeniería genética, se pueden inyectar moléculas receptoras no funcionales que pueden desplazar a las moléculas normales y unirse a moléculas señalizadoras sin capacidad de transducir la señal en el interior de la célula. Existen situaciones en que cada una de estas técnicas puede ser utilizada para investigar una cuestión particular del desarrollo.

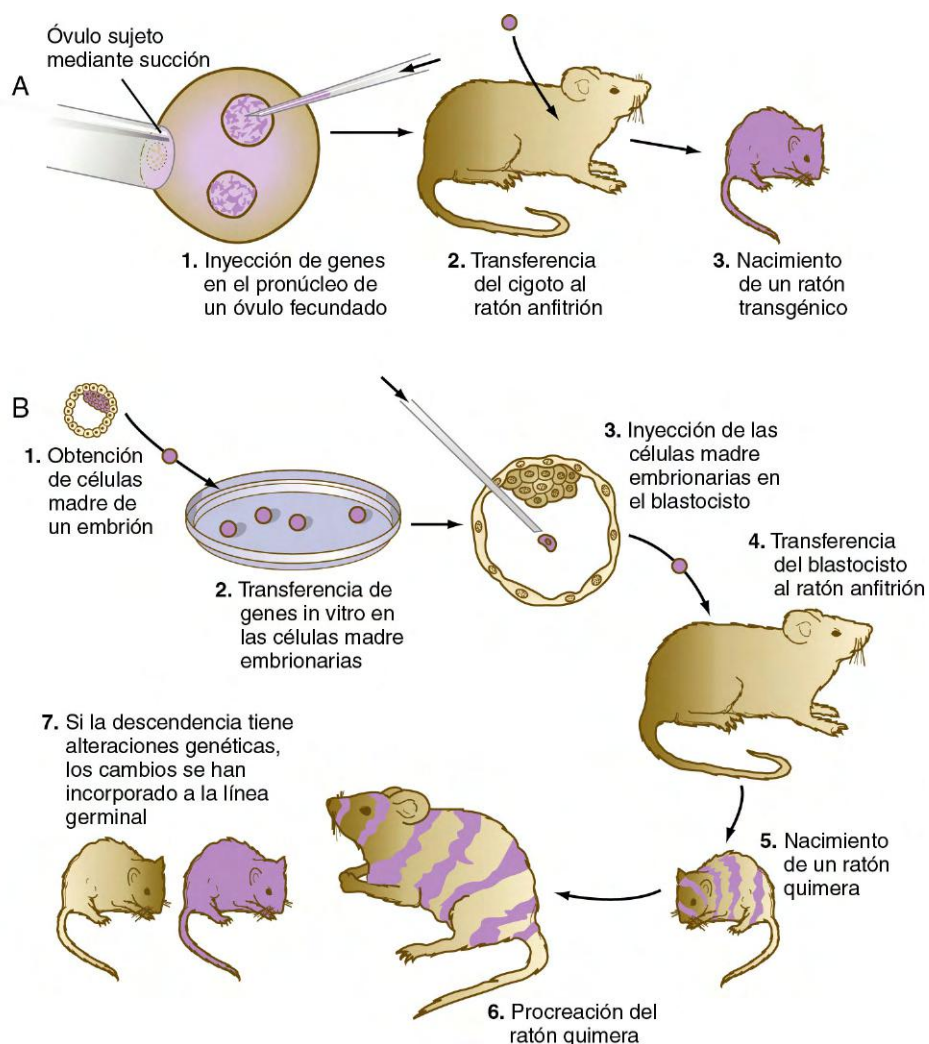


Fig. 3.12 **A**, Técnica para crear ratones transgénicos por inyección en los pronúcleos. **B**, Técnica para introducir genes en ratones, poniéndolos primero en células madre embrionarias y después insertando las células madre transfectadas en un blastocisto por lo demás normal.



Fig. 3.13 Fotografía de dos ratones de 10 semanas. El de la izquierda (ratón normal) pesa 21,2 g. El de la derecha (ratón transgénico de la misma camada) porta un gen de rata que codifica la hormona de crecimiento. Pesa 41,2 g. (De Palmiter RD y cols.: Nature 300:611-615, 1982.)

Algunos tipos de gemelos representan un experimento natural, que muestra la alta naturaleza reguladora de los embriones humanos tempranos, como se describe en la [correlación clínica 3.2](#).

Células madre y clonación

Uno de los principales avances experimentados por la investigación biomédica al comienzo de este siglo fue el hallazgo de que determinadas células (**células madre**), tanto en los embriones humanos como en los adultos, tienen la capacidad de originar o dar lugar a diversos tipos celulares y tisulares en respuesta a un medio específico. En los embriones, las células madre pueden derivar de la masa celular interna (**células madre embrionarias** o **células ES**) o de las células germinales primordiales (**células germinales embrionarias**). En los adultos, se han aislado células madre de tejidos tan diversos como la médula ósea, el músculo esquelético, el cerebro y la grasa. Con independencia de su origen, las células madre se mantienen y proliferan en estado indiferenciado dentro de los cultivos. De forma característica, las células madre expresan *oct-4*, *Sox-2* y *Nanog* (v. [pág. 42](#)), que están envueltos en el mantenimiento del estado indiferenciado.

En respuesta a combinaciones específicas de agentes exógenos (mezclas de factores de crecimiento) añadidas al medio de

CORRELACIÓN CLÍNICA 3.2

Gemelos

Algunos tipos de gemelos representan un experimento natural que muestra la enorme capacidad reguladora de los embriones humanos durante sus primeras fases. En Estados Unidos, aproximadamente 1 de cada 90 gestaciones es gemelar, y 1 de cada 8.000 da lugar a trillizos. Del número total de gemelos nacidos, cerca de dos tercios son **fraternos** o **dicigóticos**, y el otro tercio está compuesto por gemelos **idénticos** o **monocigóticos**. Los gemelos dicigóticos son el resultado de la fecundación de dos óvulos, y en su mecanismo de formación está implicado el control endocrino de la ovulación. Los gemelos monocigóticos y algunos trillizos son el resultado de la fecundación de un óvulo. Surgen a partir de la subdivisión y separación de un único embrión. Aunque, en teoría, los gemelos monocigóticos podrían aparecer tras la separación de un embrión de dos células, por lo general se acepta que la mayor parte deriva de la subdivisión de la masa celular interna en un blastocisto, o tal vez incluso de la separación del epiblasto epitelial unos pocos días después (fig. 3.14). Dado que la mayoría de los gemelos monocigóticos son normales, el embrión humano en su fase temprana puede obviamente subdividirse y cada componente regularse para formar un embrión normal. En el momento del parto cabe hacer inferencias sobre el origen y las relaciones de los nacimientos múltiples mediante la disposición de las membranas extraembrionarias (v. cap. 7).

Aparentemente, entre la mayoría de los gemelos uno de ellos no sobrevive hasta el nacimiento. Esto pone de manifiesto que quizás la mayoría de los productos de la concepción no sobrevive. De acuerdo con estas estimaciones, como mucho uno de cada ocho recién nacidos vivos es un miembro superviviente de una pareja de gemelos. Los cuatrillizos o los partos múltiples de grado superior son muy infrecuentes. En el pasado podía tratarse de una combinación de ovulaciones múltiples y separación de embriones únicos. En la era actual de las técnicas reproductivas, la mayoría de los partos múltiples, en ocasiones hasta de septillizos, puede atribuirse a los efectos secundarios de los fármacos administrados a la madre para estimular la fecundidad.

La separación de parte de un embrión es en ocasiones incompleta, y aunque se forman dos embriones, están unidos por un puente tisular de proporciones variables. Cuando esto ocurre se denominan **gemelos unidos** (en ocasiones llamados de forma coloquial *siameses*). La extensión de la unión abarca desde una conexión relativamente fina en el tórax o en la espalda hasta las fusiones masivas a lo largo de gran parte del eje corporal. En las figuras 3.15 y 3.16 se ofrecen ejemplos para ilustrar la amplia variedad de tipos de gemelos unidos. Con el creciente perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas, los gemelos con grados

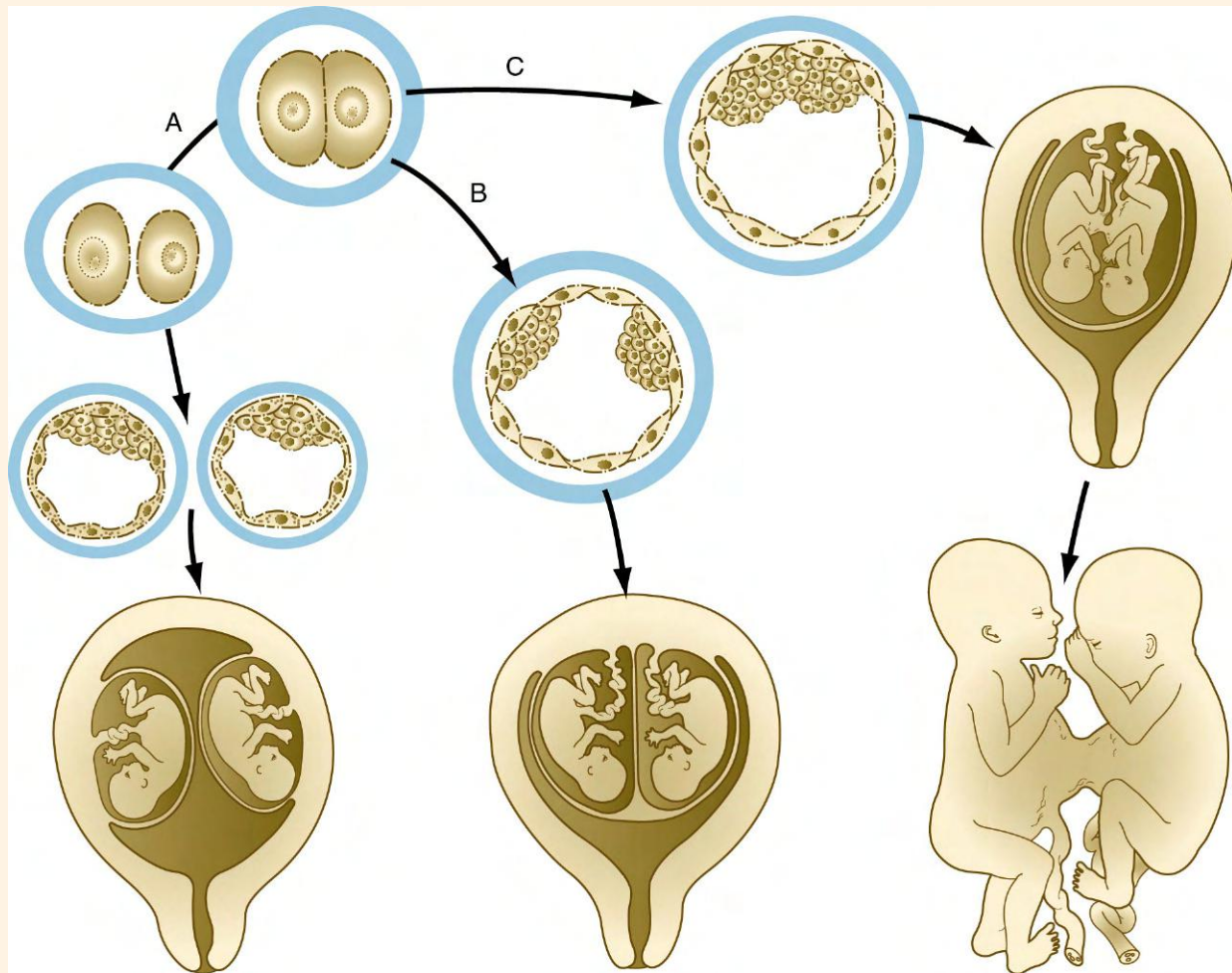


Fig. 3.14 Modalidades de gemelos monocigóticos. A, Segmentación de un embrión en su fase inicial; cada mitad se desarrolla como un embrión independiente por completo. B, Separación de la masa celular interna de un blastocisto y generación de dos embriones incluidos en un trofoblasto común. Éste es el tipo más frecuente de formación de gemelos. C, Si la masa celular interna no se separa del todo o si se vuelven a unir distintas porciones de la misma puede dar lugar a siameses.

CORRELACIÓN CLÍNICA 3.2
Gemelos (cont.)

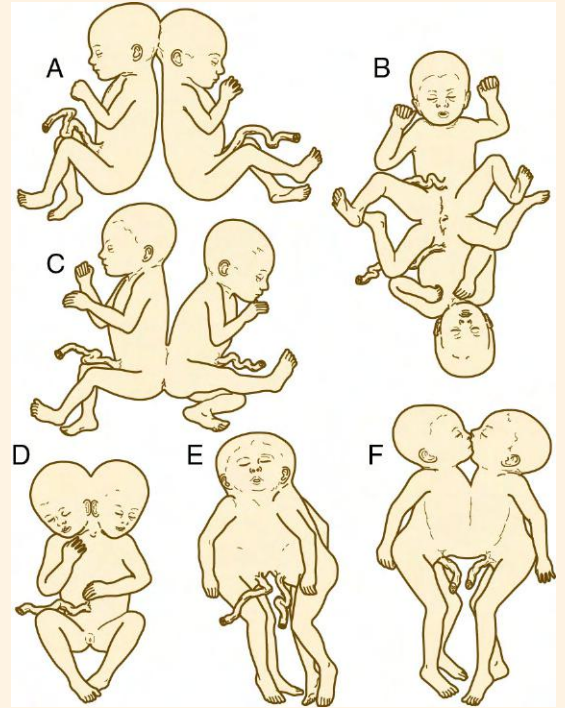


Fig. 3.15 Tipos de siameses. **A**, Fusión de cabezas (cefalópago). **B** y **C**, Fusión de nalgas (pigópago). **D**, Fusión amplia de la cabeza y el tronco que conlleva una reducción en el número de miembros y un único cordón umbilical. **E**, Fusión de cabeza y tórax (cefalotoracópago). **F**, Fusión de tórax (toracópago).

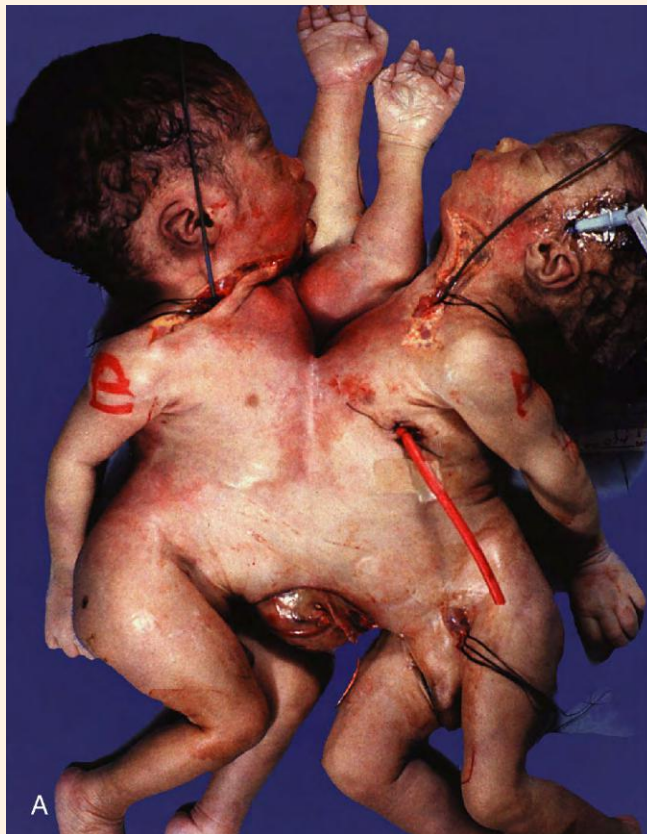


Fig. 3.16 A, Gemelos siameses con una amplia unión del tronco (toracópago). **B**, Disección de los tubos digestivos pertenecientes a los gemelos anteriores que muestra la fusión parcial del intestino delgado y la simetría especular de los estómagos. (Cortesía de M. Barr, Ann Arbor, Mich.)

© Elsevier. Fotocopiar sin autorización es un delito.

(Continúa)

CORRELACIÓN CLÍNICA 3.2

Gemelos (cont.)

más complejos de fusión pueden separarse. Una variedad mucho menos frecuente de gemelos unidos es la del **gemelo parásito**, en el que una porción mucho más pequeña del organismo, pero con frecuencia notablemente completa, sobresale en el cuerpo de un gemelo anfitrión por lo demás normal (fig. 3.17). Los lugares más comunes a los que se fijan los gemelos parásitos son la región bucal, el mediastino y la pelvis. El mecanismo de los gemelos unidos no ha sido demostrado a nivel experimental de forma directa, pero la fusión secundaria parcial de unas partes inicialmente separadas de la masa celular interna o la formación de dos líneas primitivas en un único embrión son posibles explicaciones teóricas al respecto (v. cap. 5).

Un fenómeno descubierto a menudo en los siameses es la inversión de la simetría orgánica en uno de ellos (v. fig. 3.16B). Dicha circunstancia es frecuente en los órganos duplicados o en todo el embrión. Hace más de un siglo este fenómeno fue registrado en una gran variedad de situaciones biológicas y se incorporó a lo que actualmente se denomina **regla de Bateson**, que mantiene que cuando las estructuras duplicadas se unen durante fases críticas de su desarrollo, una de ellas es la imagen especular de la otra. A pesar del conocimiento de este fenómeno durante mucho tiempo, sólo en los últimos años ha empezado a comprenderse el mecanismo subyacente a la inversión de la simetría.

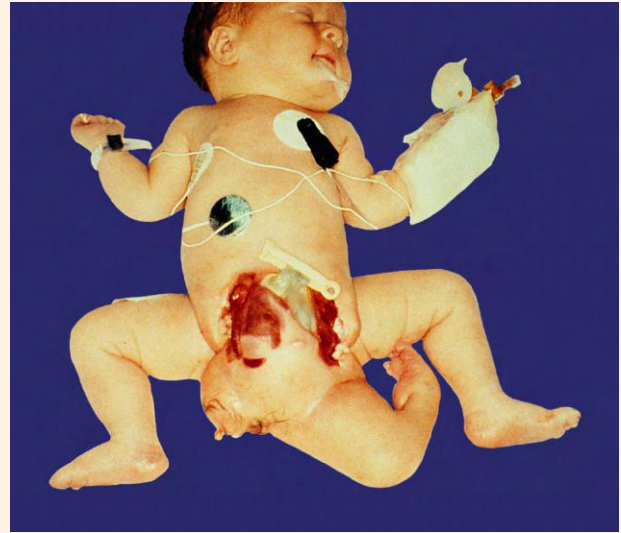


Fig. 3.17 Gemelo parásito que surge de la región pélvica del gemelo anfitrión. Puede observarse una pierna bien definida y algo de pelo en el gemelo parásito. (Cortesía de M. Barr, Ann Arbor, Mich.)

cultivo, pueden ser inducidas a diferenciarse en tipos específicos de células adultas, como por ejemplo leucocitos y eritrocitos, neuronas, músculo esquelético y cardíaco o cartilago. Cuando se introducen en los tejidos vivos, ciertos factores locales mal conocidos pueden dirigir la diferenciación de las células madre adultas o embrionarias hacia tipos celulares adultos específicos. Estas técnicas tienen un tremendo potencial para el tratamiento de varias entidades, incluyendo la diabetes, la enfermedad de Parkinson, las afecciones hematológicas o las lesiones de la médula espinal, pero deben superarse muchas complicaciones (p. ej., el rechazo inmunitario de las células implantadas) antes de que sean prácticas y seguras para su aplicación en el ser humano.

Un importante avance en la tecnología de las células madre ha sido la producción de **células madre pluripotenciales inducidas** (células IPS) a partir de células somáticas de adultos. Si introducimos genes característicos de las células madre embrionarias (p. ej., *oct4*, *Sox2* y *Nanog*) en una célula adulta diferenciada (p. ej., un fibroblasto), esta célula asumirá propiedades de una célula madre embrionaria. Como una célula madre embrionaria, una célula madre creada artificialmente y expuesta a un ambiente adecuado será capaz de diferenciarse en una amplia variedad de tipos celulares. Esta técnica tiene un gran potencial para el tratamiento específico de determinados pacientes. Por ejemplo, en el tratamiento de una enfermedad genética caracterizada por la imposibilidad de producir una molécula específica, las células del paciente podrían convertirse en células IPS, preparadas como terapia genética correctiva, y ser de nuevo reintroducidas en el cuerpo del paciente. Bajo las condiciones ideales, las células IPS introducidas podrían producir la molécula deficiente. La **clonación**, que con frecuencia se confunde con la técnica de las células madre, consiste en la fusión o la introducción de una célula adulta o un núcleo en un ovocito enucleado para favorecer el desarrollo posterior de la célula híbrida en un embrión que acabe madurando hasta la edad adulta. Aunque desde 1960 se vienen realizando con éxito algunas formas de clonación, la creación de la oveja Dolly en 1996 es la que ha tenido mayor repercusión en la opinión pública. La clonación no es fácil de

conseguir y hay una incidencia significativa de desarrollos anómalos entre los animales clonados.

La clonación y la técnica de las células madre han generado significativos debates éticos y sociales. Por ejemplo, células madre embrionarias humanas han sido introducidas en blastocistos de ratón en un intento de determinar las influencias que controlan su diferenciación. Será fascinante observar cómo se resuelven estos aspectos, cuyas múltiples facetas poseen profundas implicaciones.

Mediante ingeniería genética es posible manipular genes específicos en las células ES. Cuando estas células genéticamente manipuladas son introducidas en los blastocistos pueden incorporarse al embrión anfitrión (v. fig. 3.12B). Si la descendencia de una célula ES con este tipo de manipulación genética pasa a formar parte de la línea germinal, el rastro genético puede transmitirse a generaciones sucesivas.

Transporte e implantación del embrión

Mecanismos de transporte por la trompa uterina

Toda la etapa inicial de la segmentación ocurre mientras el embrión es transportado desde el lugar de la fecundación a su sitio de implantación en el útero (v. fig. 2.2). Parece cada vez más evidente que el embrión en su fase temprana y el aparato reproductor femenino interactúan durante este período de transporte. Una de estas influencias es el **factor temprano de la gestación**, una molécula de la familia de las proteínas del *shock* térmico y homóloga de chaperonin 10, una proteína mitocondrial. El factor temprano de la gestación, que es detectable en la sangre materna entre las 36 y las 48 horas después de la fecundación, es un inmunosupresor y se postula que dota al embrión de protección inmunológica. Aunque este factor es producido por el embrión, su presencia en el suero es el resultado de su síntesis y secreción por el ovario. Debido a que los ensayos con esta proteína son tediosos, su uso no ha sido ampliado a las pruebas de embarazo.

Al comienzo de la segmentación, el cigoto todavía está rodeado por la zona pelúcida y las células de la corona radiada.

Esta última se pierde 2 días después de empezar dicho proceso. Sin embargo, la zona pelúcida se mantiene intacta hasta que el embrión alcanza el útero.

El embrión permanece en la parte ampular de la trompa de Falopio unos 3 días. Después atraviesa su porción ístmica en tan sólo 8 horas. Bajo la influencia de la progesterona, la unión uterotubárica se relaja, lo que le permite entrar en la cavidad uterina. Dos días más tarde (6-8 días después de la fecundación) el embrión se implanta en la porción media de la pared posterior del útero.

Zona pelúcida

Desde la ovulación hasta la entrada en la cavidad uterina, el óvulo y el embrión están rodeados por la zona pelúcida. En este tiempo cambia su composición mediante las aportaciones de las blastómeras y los tejidos reproductores maternos. Estos cambios facilitan el transporte y la diferenciación del embrión. Después de que éste alcanza la cavidad uterina, se desprende de la zona pelúcida para preparar la implantación. Todo ello se acompaña de un proceso denominado **eclosión del blastocisto**. Una pequeña región de la zona pelúcida, situada, por lo general en los primates, encima de la masa celular interna se disuelve y el blastocisto emerge por el orificio. En los roedores, la eclosión del blastocisto se acompaña de la acción de enzimas proteasas de la cisteína, que se relacionan con las largas microvellosidades (**proyecciones trofoectodérmicas**) que protruyen desde la superficie de las células trofoblásticas. Tras un corto espacio de tiempo (4 horas en roedores) la zona pelúcida de esta área es digerida y el embrión comienza a protruir. En el útero, las proyecciones trofoectodérmicas establecen contacto con las células epiteliales del endometrio y comienza el proceso de implantación. La actividad enzimática alrededor de todo el trofoblasto pronto comienza a disolver el resto de la zona pelúcida. Se han obtenido pocos embriones humanos in vivo durante el período inmediatamente previo a la implantación, pero los estudios in vitro de estos embriones sugieren un mecanismo similar, que probablemente se produce 1-2 días antes de la implantación (v. fig. 3.3C). El **cuadro 3.1** resume las funciones de la zona pelúcida.

Implantación en el revestimiento uterino

Aproximadamente 6 o 7 días después de la fecundación, el embrión comienza a adherirse con firmeza al revestimiento epitelial del endometrio. Poco después se sumerge en el estroma endometrial, y su punto inicial de penetración en esta zona se cierra por el epitelio, de modo similar a la cicatrización de una herida cutánea.

La implantación satisfactoria requiere un alto grado de preparación y coordinación por parte del embrión y del endometrio (**tabla 3.1**). La compleja preparación hormonal del endometrio que comenzó al final del período menstrual anterior siempre va encaminada a proporcionar un ambiente celular y nutricional adecuado a la llegada del embrión. Incluso antes del contacto real entre el embrión y el endometrio, el epitelio uterino segrega ciertas citocinas y quimiocinas en el fluido uterino, que facilitan el proceso de implantación. Al mismo tiempo, en la superficie del trofoblasto aparecen receptores para las citocinas. La disolución de la zona pelúcida indica que el embrión está listo para comenzar la implantación.

La primera etapa de la implantación consiste en la adhesión al epitelio endometrial de un blastocisto con un gran tamaño. Las superficies apicales de las células epiteliales del endometrio expresan, por la acción hormonal, varias moléculas de adhesión (p. ej., las integrinas) que permiten el proceso de implantación en el estrecho intervalo entre los 20 y los 24 días del ciclo menstrual ideal. Por su parte, antes de la implantación las células trofoblásticas del blastocisto también expresan moléculas de adhesión en sus superficies. El blastocisto se fija al epitelio endometrial a través de ligandos que actúan como puentes. Durante la implantación, algunos estudios han mostrado la importancia de la citosina **factor inhibidor de la leucemia (LIF)** en la superficie endometrial y de sus receptores en el trofoblasto. Estudios in vivo e in vitro han demostrado que la adhesión del blastocisto se produce en el área por encima de la masa celular interna (**polo embrionario**), un hallazgo que sugiere que las superficies del trofoblasto no son todas iguales.

Cuadro 3.1 Resumen de las funciones de la zona pelúcida

1. Promueve la maduración del ovocito y del folículo.
2. La zona pelúcida actúa como una barrera que por lo general sólo permite que los espermatozoides de la misma especie accedan al óvulo.
3. Inicia la reacción acrosómica.
4. Tras la fecundación, la zona modificada impide que otros espermatozoides alcancen el cigoto.
5. Durante las primeras etapas de la segmentación funciona como un filtro poroso para la llegada al embrión de determinadas sustancias secretadas por la trompa de Falopio.
6. Debido a que no tiene antígenos de histocompatibilidad (de leucocitos humanos), sirve como barrera inmunitaria entre la madre y el embrión, que son distintos desde el punto de vista antigénico.
7. Impide que se disocien las blastómeras del embrión en las primeras fases de la segmentación.
8. Facilita la diferenciación de las células trofoblásticas.
9. Suele evitar la implantación prematura en la pared de la trompa de Falopio del embrión en período de segmentación.

Tabla 3.1 Fases de la implantación en el ser humano

Edad (días)	Fenómeno del desarrollo en el embrión
5	Maduración del blastocisto
5	Pérdida de la zona pelúcida del blastocisto
6?	Adhesión del blastocisto al epitelio uterino
6-7	Penetración del epitelio
7½-9	Formación de la placa trofoblástica e invasión del estroma uterino por el blastocisto
9-11	Formación de lagunas a la vez que se erosionan las arterias espirales en el endometrio
12-13	Formación de vellosidades primarias
13-15	Formación de vellosidades placentarias secundarias y del saco vitelino secundario
16-18	Formación de vellosidades ramificadas y de anclaje
18-22	Formación de vellosidades terciarias

Modificada de Enders AC: Implantation, embryology. En *Encyclopedia of human biology*, vol. 4, Nueva York, 1991, Academic Press.

La siguiente etapa de la implantación es la penetración del epitelio uterino. En los primates, el trofoblasto celular experimenta un paso ulterior en su diferenciación justo antes de entrar en contacto con el endometrio. En el área que rodea a la masa celular interna, las células derivadas de este trofoblasto celular (**citotrofoblasto**) se fusionan para formar un **sincitiotrofoblasto** multinucleado. Aunque sólo se aprecia una pequeña zona de sincitiotrofoblasto al inicio de la implantación, esta estructura (en ocasiones denominada **sintrofoblasto**) pronto rodea a todo el embrión. Las pequeñas prolongaciones del sincitiotrofoblasto se introducen entre las células epiteliales uterinas y se extienden a lo largo de la cara epitelial de la lámina basal que subyace al epitelio endometrial para formar una **placa trofoblástica** aplanada. Aproximadamente en un día, las prolongaciones del sincitiotrofoblasto comienzan a penetrar a través de la lámina basal desde la pequeña placa trofoblástica. El sincitiotrofoblasto inicial es un tejido muy invasivo, que se expande con rapidez y se abre camino erosionando el estroma endometrial (**fig. 3.18A y B**). Aunque esta invasión está mediada sin duda por enzimas, su base bioquímica en los seres humanos no es conocida. En 10 o 12 días tras la fecundación el embrión está incluido por completo en el endometrio. Su punto de penetración inicial queda marcado al principio por un área descubierta o un tapón acelular, y sellado más tarde por la migración de células epiteliales uterinas (**fig. 3.18C y D**).

A medida que progresa la fase inicial de la implantación, las prolongaciones del sincitiotrofoblasto invasivo cubren tramos de los vasos sanguíneos endometriales maternos, erosionan las paredes vasculares y la sangre de la madre comienza a rellenar las lagunas aisladas que se han ido formando en el trofoblasto (v. **fig. 3.18C y D**). Las prolongaciones trofoblásticas entran en los vasos sanguíneos e incluso comparten complejos de unión con las células endoteliales. Una vez que las lagunas se han llenado de sangre, el trofoblasto cambia de función y ya no es tan invasivo como lo era en los primeros días de la implantación. La salida de sangre del útero en esta fase puede producir un «manchado», que en ocasiones se malinterpreta como una menstruación anómala.

Mientras el embrión perfora el endometrio y algunas células citotrofoblásticas se fusionan en el sincitiotrofoblasto, las células de tipo fibroblástico del estroma endometrial edematoso se hinchan por la acumulación de glucógeno y gotitas lipídicas (v. **fig. 7.6**). Tras ello, estas **células decidual** se adhieren de manera muy apretada y forman una gran matriz celular que primero rodea al embrión implantado y más tarde ocupa la mayoría del endometrio. Al mismo tiempo que se produce la **reacción decidual**, nombre que recibe esta transformación, los leucocitos que han infiltrado el estroma del endometrio al final de la fase progestacional del ciclo endometrial secretan **interleucina 2**, que evita el reconocimiento materno del embrión como un cuerpo extraño durante las primeras etapas de la anidación. Un embrión es antigénicamente diferente de la madre y por tanto debería ser rechazado mediante una reacción inmunitaria celular similar a la que provoca un trasplante incompatible de corazón o de riñón. Aparentemente, una función básica de la reacción decidual es proporcionar un lugar privilegiado desde el punto de vista inmunitario para proteger del rechazo al embrión en desarrollo, pero a pesar de los años de intensa investigación no se sabe cómo se logra este objetivo.

Es frecuente que un blastocisto no consiga adherirse al endometrio y tampoco se implante. El fracaso de la anidación es un problema especialmente preocupante en las técnicas de fecundación in vitro y transferencia de embriones, cuya tasa de éxito en cuanto a la implantación de embriones transferidos se mantiene entre el 25% y el 30% (v. **correlación clínica 2.1**).

Caso clínico

En el transcurso de una semana, dos veinteañeras jóvenes acuden al servicio de urgencias en un gran hospital urbano, ambas con un dolor agudo en el cuadrante inferior derecho del abdomen. En la exploración física, cada una de ellas presenta una extremada sensibilidad a la palpación superficial en dicha zona.

Al interrogar a la primera mujer declara que ha tenido una menstruación 2 semanas antes. Se realiza una operación urgente y se encuentra que presentaba una perforación de apéndice.

La segunda joven tiene antecedentes de gonorrea y ha recibido tratamiento contra la inflamación pélvica. Su última menstruación fue 9 semanas antes. Durante la cirugía de urgencia se extirpa la trompa de Falopio derecha.

¿Cuál es la causa más probable para adoptar esta decisión?

Muerte del embrión y aborto espontáneo

Muchos óvulos fecundados (>50%) no llegan a alcanzar la madurez y sufren un aborto espontáneo. La mayoría de ellos (**abortos involuntarios**) se produce durante las 3 primeras semanas del embarazo. Debido al pequeño tamaño del embrión en ese momento, con frecuencia no son reconocidos por la madre, que puede considerar el aborto y la hemorragia acompañante como una menstruación tardía e insólitamente abundante.

El estudio de los embriones tempranos obtenidos a partir de abortos espontáneos o de la extirpación uterina mediante histerectomía en las primeras etapas del embarazo, ha mostrado que muchos de los embriones abortados presentan graves anomalías. Las alteraciones cromosómicas constituyen la categoría más frecuente en los abortos (suponen cerca de un 50% de los casos). A la luz de las entidades patológicas acompañantes, los abortos espontáneos pueden considerarse un mecanismo natural para reducir el nacimiento de lactantes con malformaciones graves.

Resumen

- La segmentación es un proceso lento al principio en los seres humanos, produciéndose una simple división al día en los primeros 3-4 días. Al llegar a la fase de mórula (16 células) el embrión entra en un estadio de compactación. En torno al día 4 se forma un blastocelo lleno de líquido en el interior del embrión, y éste se convierte en un blastocisto con una masa celular interna rodeada de trofoblasto.
- El cigoto depende de los ARNm maternos, pero en el estadio de dos células se activa el genoma embrionario. Los genes *oct4*, *Sox2* y *Nanog* son decisivos en el desarrollo en una fase muy inicial y su expresión se asocia al estado indiferenciado de las células.
- Mediante la impronta parental, los cromosomas homólogos específicos derivados de la madre y del padre ejercen efectos diferentes sobre el desarrollo embrionario. En los embriones femeninos se inactiva un cromosoma X por cada célula mediante la acción del gen *XIST*, lo que forma el corpúsculo de la cromatina sexual. El embrión en su fase inicial de desarrollo tiene distintos patrones de inactivación del cromosoma X.
- El embrión de los mamíferos en su etapa temprana tiene un carácter muy regulador. Puede compensar la pérdida o la adición de células en la masa celular interna para dar lugar a un embrión normal. La decisión de formar trofoblasto o masa celular interna se relaciona con los patrones de división de las células polarizadas, que comienzan en el estadio de ocho células. Según la hipótesis de dentro-fuera,

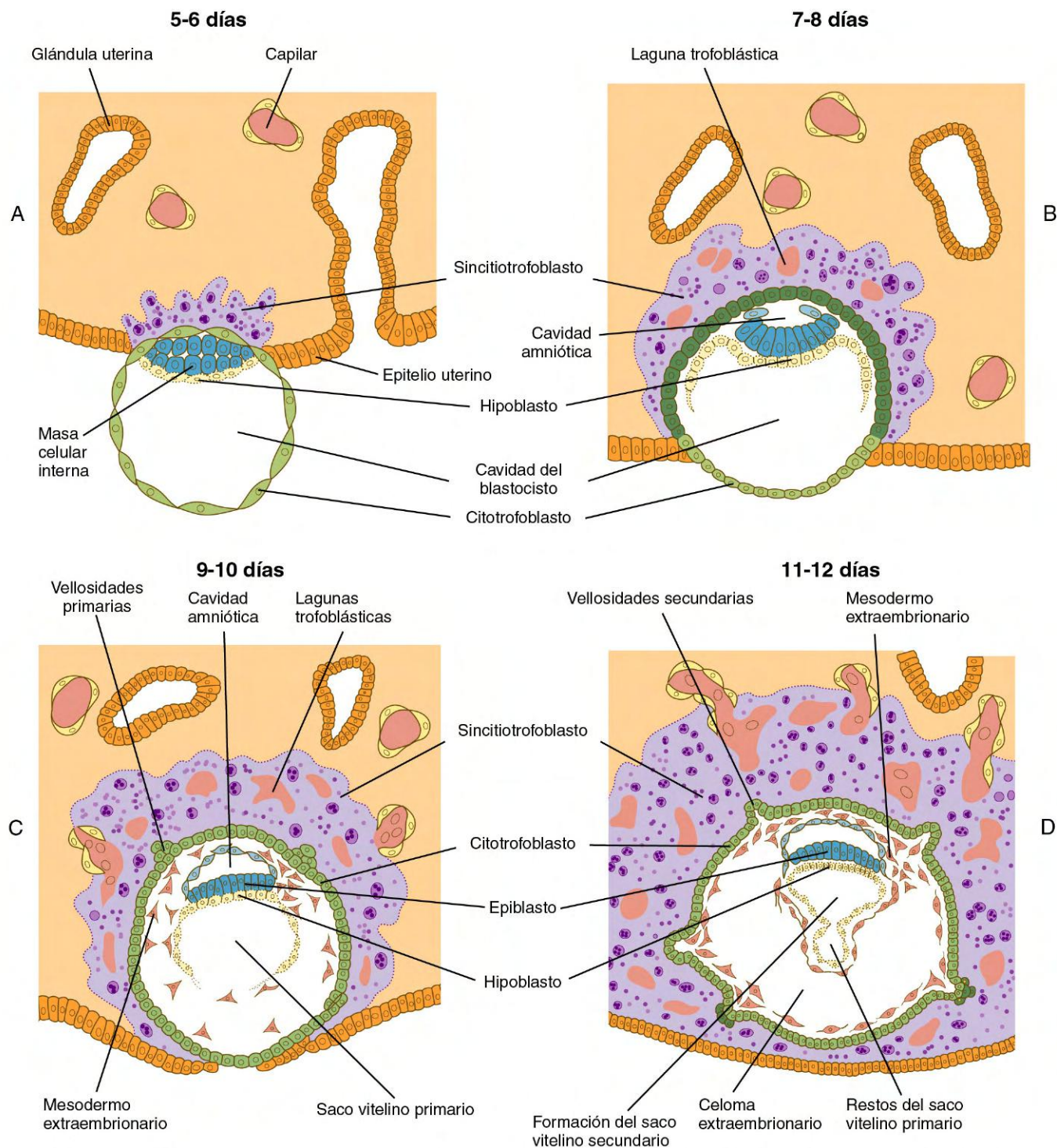


Fig. 3.18 Principales estadios en la implantación de un embrión humano. **A**, El sincitiotrofoblasto está iniciando la invasión del estroma endometrial. **B**, La mayor parte del embrión se encuentra incluido en el endometrio; existe una formación incipiente de lagunas trofoblásticas. Están empezando a surgir la cavidad amniótica y el saco vitelino. **C**, La implantación es casi completa, se están constituyendo las vellosidades primarias y está apareciendo el mesodermo extraembrionario. **D**, La anidación es completa; se están formando las vellosidades secundarias.

CORRELACIÓN CLÍNICA 3.3

Embarazo ectópico

El blastocisto se implanta normalmente en la pared posterior de la cavidad uterina, pero en un bajo porcentaje de los casos (del 0,25% al 1%) lo hace en un lugar anómalo. Dicha entidad se conoce como **embarazo ectópico**.

El **embarazo tubárico** es el tipo más frecuente de embarazo ectópico. Aunque la mayoría se localiza en la porción ampular de la trompa, puede situarse en cualquier punto, desde el extremo distal con fimbrias hasta la unión uterotubárica **fig. 3.19**. Los embarazos tubáricos (**fig. 3.20**) se presentan más a menudo en las mujeres que han tenido **endometriosis** (un trastorno caracterizado por la presencia de tejido endometrial en lugares anómalos), una intervención quirúrgica previa o una **enfermedad pélvica inflamatoria**. La cicatrización posterior a la inflamación o en ocasiones las alteraciones anatómicas producen fondos de saco en los pliegues mucosos de la trompa de Falopio, que pueden atrapar al blastocisto. Habitualmente, la mujer muestra los signos normales de un embarazo incipiente, pero más o menos a los 2 meses o 2 meses y medio el embrión implantado y sus derivados trofoblásticos asociados han crecido hasta un punto en que el estiramiento de la trompa causa un dolor abdominal agudo. Si no se trata, un embarazo tubárico termina generalmente con rotura de la trompa y hemorragia, con frecuencia tan grave como para suponer un riesgo para la vida de la madre.

Muy raras veces el embrión se implanta en el ovario (**embarazo ovárico**) o en la cavidad abdominal (**embarazo abdominal**). Dichos casos pueden ser la consecuencia de la fecundación de un óvulo antes de que entre en la trompa, del reflujo de un óvulo fecundado desde ella o, con muy poca frecuencia, de la penetración de un embarazo tubárico a través de la pared de la trompa. El lugar de implantación más habitual de un embarazo abdominal es el **fondo de saco rectouterino (fondo de saco de Douglas)**, que se halla tras el útero. La implantación en la pared intestinal o en el mesenterio es muy peligrosa por la posibilidad de hemorragia grave según crece el embrión. En algunas circunstancias se ha desarrollado un embrión a término en la cavidad abdominal. Si no se extrae dicho embrión puede calcificarse, con lo que se forma un **litopedion**.

En el útero, un embrión puede implantarse cerca del cuello. Aunque el desarrollo embrionario es probable que sea normal, la placenta cubre habitualmente parte del canal cervical. Esta entidad, llamada **placenta previa**, puede producir hemorragia durante la última fase del embarazo y, si no se trata, causar la muerte del feto, de la madre o de ambos, debido a un desprendimiento prematuro de la placenta con la hemorragia acompañante. La implantación directa en el canal cervical es muy excepcional.

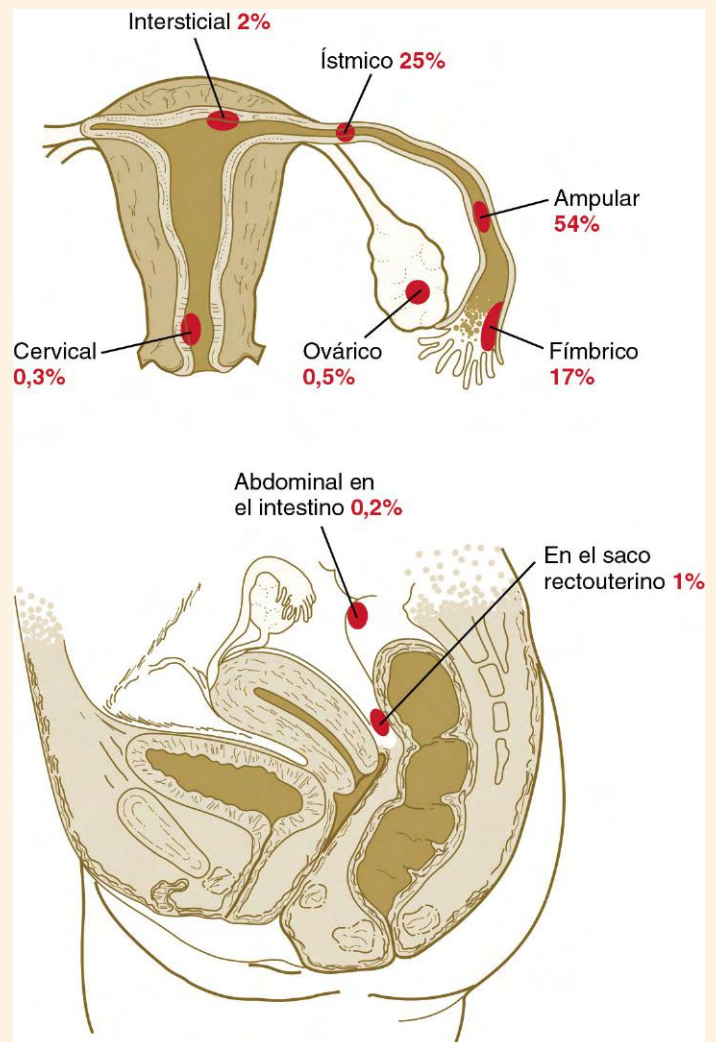


Fig. 3.19 Lugares de los embarazos ectópicos (indicados por puntos rojos) y su frecuencia de aparición.

CORRELACIÓN CLÍNICA 3.3 Embarazo ectópico (cont.)



Fig. 3.20 Embarazo ectópico interrumpido en una mujer de 34 años. Debido al progresivo aumento de tamaño del feto y sus membranas asociadas, la trompa de Falopio se rompió durante el tercer mes de gestación. (De Rosai J: *Ackerman's surgical pathology*, vol. 2, 8.ª ed., St. Louis, 1996, Mosby.)

la posición de una blastómera determina su destino en el desarrollo (es decir, si formará parte de la masa celular interna o del trofoblasto).

- Los embriones transgénicos son producidos mediante la inyección de ADN ribosomal (ADNr) en el pronúcleo de los cigotos. Dichos embriones se emplean para estudiar los efectos de genes específicos sobre el desarrollo. Otras técnicas se relacionan con el bloqueo de genes o con la interferencia en la producción de productos génicos.
- Los gemelos monocigóticos, en general originados por la separación completa de la masa celular interna, pueden surgir debido a las propiedades reguladoras del embrión en sus fases iniciales. La separación incompleta de la masa celular interna puede dar lugar a la aparición de siameses.
- Tras la fecundación, el embrión permanece varios días en la trompa uterina antes de entrar en el útero. Durante este tiempo todavía está rodeado por la zona pelúcida, que impide la implantación prematura.
- La implantación del embrión en el revestimiento uterino implica varias etapas: la aposición del blastocisto aumentado de tamaño (eclosionado) al epitelio endometrial, la penetración del epitelio uterino, la invasión de los tejidos que quedan por debajo de él y la erosión de los vasos maternos. Las células del tejido conjuntivo del endometrio sufren una reacción decidual en respuesta a la presencia del embrión anidado. La implantación se logra mediante la actividad invasiva del sincitiotrofoblasto, que deriva del citotrofoblasto.
- La implantación del embrión en un lugar distinto a la parte superior de la cavidad uterina produce un embarazo ectópico (**correlación clínica 3.3**). Dicha anidación anómala es más frecuente en la trompa de Falopio.

- Altos porcentajes de óvulos fecundados y de embriones en sus estadios iniciales no se desarrollan y son abortados de forma espontánea. Muchos de estos embriones contienen alteraciones cromosómicas graves.

Preguntas de repaso

1. ¿Cuál es la entidad que con más frecuencia se asocia a los embriones que sufren un aborto espontáneo?

- A. La impronta materna.
- B. La impronta paterna.
- C. El embarazo ectópico.
- D. Las anomalías cromosómicas.
- E. La ausencia de inactivación del cromosoma X.

2. ¿Qué tejido del embrión en fase de implantación entra en contacto directo con el tejido conjuntivo endometrial?

- A. La corona radiada.
- B. La masa celular interna.
- C. El mesodermo extraembrionario.
- D. El epiblasto.
- E. El sincitiotrofoblasto.

3. ¿Mediante qué proceso o qué propiedades del embrión en su fase temprana es posible el fenómeno de los gemelos idénticos?

- A. La regulación.
- B. La aneuploidía.
- C. La impronta paterna.
- D. La impronta materna.
- E. La inactivación del cromosoma X.

4. La zona pelúcida:

- A. Ayuda a la penetración del epitelio endometrial.
- B. Sirve como fuente de nutrientes para el embrión.
- C. Impide la implantación prematura del embrión en fase de segmentación.
- D. Todas las anteriores.
- E. Ninguna de las anteriores.

5. ¿Qué relevancia tiene la masa celular interna del embrión en el período de segmentación?

6. La impronta parental es un fenómeno que demuestra cierta disparidad entre la influencia de determinados cromosomas homólogos maternos y paternos sobre el desarrollo del embrión. ¿Qué tipo de tejido se forma de manera anómala por un exceso de influencia paterna a expensas del desarrollo del propio embrión?

7. ¿Cuál es la función de las integrinas en la implantación?**8. ¿Cuál es el origen celular del sincitiotrofoblasto del embrión en fase de implantación?**

9. Una mujer embarazada de 2 o 3 meses comienza a sufrir de forma brusca un dolor hipogástrico intenso. ¿Qué entidad debe incluir el médico en el diagnóstico diferencial?

Bibliografía

Bateson W: *Materials for the study of variation*, London, 1894, Macmillan.

Boklage CE: Embryogenesis of chimeras, twins and anterior midline asymmetries, *Hum Reprod* 21:579-591, 2006.

Bonasio R, Tu S, Reinberg D: Molecular signals of epigenetic states, *Science* 330:612-616, 2010.

Bourc-his D, Proudhon C: Sexual dimorphism in parental imprint ontogeny and contribution to embryonic development, *Mol Cell Endocrinol* 282:87-94, 2008.

Bruce AW, Zernicka-Goetz M: Developmental control of the early mammalian embryo: competition among heterogeneous cells that biases cell fate, *Genet Dev* 20:485-491, 2010.

Carlson BM: Stem cells and cloning: what's the difference and why the fuss? *Anat Rec (New Anat)* 257:1-2, 1999.

Carlson BM, ed: *Stem cell anthology*, San Diego, 2010, Academic Press.

Cassidy SB, Schwartz S: Prader-Willi and Angelman syndromes: disorders of genomic imprinting, *Medicine* 77:140-151, 1998.

Cockburn K, Rossant J: Making the blastocyst: lessons from the mouse, *J Clin Invest* 120:995-1003, 2010.

Dard N and others: Morphogenesis of the mammalian blastocyst, *Mol Cell Endocrinol* 282:70-77, 2008.

Dey SK and others: Molecular cues to implantation, *Endocr Rev* 25:341-373, 2004.

Diedrich K and others: The role of the endometrium and embryo in human implantation, *Hum Reprod Update* 13:365-377, 2007.

Dimitriadis E and others: Local regulation of implantation at the human fetal-maternal interface, *Int J Dev Biol* 54:313-322, 2010.

Enders AC: Formation of monozygotic twins: when does it occur? *Placenta* 23:236-238, 2002.

Enders AC: Implantation, embryology, ed 2, *Encyclopedia of human biology*, vol 4, New York, 1997, Academic Press, pp 799-807.

Enders AC: Trophoblast differentiation during the transition from trophoblastic plate to lacunar stage of implantation in the rhesus monkey and human, *Am J Anat* 186:85-98, 1989.

Erwin JA, Lee JT: New twists in X-chromosome inactivation, *Curr Opin Cell Biol* 20:349-355, 2008.

Flemming TP and others: Assembly of tight junctions during early vertebrate development, *Semin Cell Dev Biol* 11:291-299, 2000.

Gardner RL: The initial phase of embryonic patterning in mammals, *Int Rev Cytol* 203:233-290, 2001.

Gardner RL, Davies TJ: The basis and significance of pre-patterning in mammals, *Phil Trans R Soc Lond B* 358:1331-1339, 2003.

Gray D and others: First cleavage of the mouse embryo responds to change in egg shape at fertilization, *Curr Biol* 14:397-405, 2004.

Hall JG: Twinning, *Lancet* 362:735-743, 2003.

Hirragi T, Solter D: First cleavage plane of the mouse egg is not predetermined but defined by the topology of the two opposing pronuclei, *Nature* 430:360-364, 2004.

Horsthemke B, Buiting K: Genomic imprinting and imprinting defects in humans, *Adv Genet* 61:225-246, 2008.

James D and others: Contribution of human embryonic stem cells to mouse blastocysts, *Dev Biol* 295:90-102, 2006.

Johnson MH: From mouse egg to mouse embryo: polarities, axes and tissues, *Annu Rev Cell Dev Biol* 25:483-512, 2009.

Johnson MH, McConnell JML: Lineage allocation and cell polarity during mouse embryogenesis, *Semin Cell Dev Biol* 15:583-597, 2004.

Kurotaki Y and others: Blastocyst axis is specified independently of early cell lineage but aligns with ZP shape, *Science* 316:719-723, 2007.

Latham KE, Schultz RM: Preimplantation embryo development. In Fauser BCMJ, ed: *Reproductive medicine*, Boca Raton, Fla, 2003, Parthenon, pp 421-438.

Li L, Zheng P, Dean J: Maternal control of early mouse development, *Development* 137:859-870, 2010.

Morton H: Early pregnancy factor: an extracellular chaperonin 10 homologue, *Immunol Cell Biol* 76:483-496, 1998.

Nafee TM and others: Epigenetic control of fetal gene expression, *Br J Obstet Gynecol* 115:158-168, 2007.

Niwa H: How is pluripotency determined and maintained? *Development* 134:635-646, 2007.

Oestrup O and others: From zygote to implantation: morphological and molecular dynamics during embryo development in the pig, *Reprod Dom Anim* 44(Suppl 3):39-49, 2009.

Palmiter RD and others: Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes, *Nature* 300:611-615, 1982.

Panning B: X-chromosome inactivation: the molecular basis of silencing, *J Biol* 7:30-33, 2008.

Pedersen RA, Burdsal CA: Mammalian embryogenesis. In Knobil E, Neill J, eds: *The physiology of reproduction*, ed 2, New York, 1988, Raven, pp 319-390.

Pfeifer K: Mechanisms of genomic imprinting, *Am J Hum Genet* 67:777-787, 2000.

Piotrowska-Nitsche K and others: Four-cell stage mouse blastomeres have different developmental properties, *Development* 132:479-490, 2005.

Reik W, Walter J: Imprinting mechanisms in animals, *Curr Opin Genet Dev* 8:154-164, 1998.

Rivera R: Epigenetic aspects of fertilization and preimplantation development in mammals: lessons from the mouse, *Systems Biol Reprod Med* 56:388-404, 2010.

Rivera-Perez JA: Axial specification in mice: ten years of advances and controversies, *J Cell Physiol* 213:654-660, 2007.

Rossant J: Lineage development and polar asymmetries in the pre-implantation mouse blastocyst, *Semin Cell Dev Biol* 15:573-581, 2004.

Rossant J, Tam PPL: Emerging asymmetry and embryonic patterning in early mouse development, *Dev Cell* 7:155-164, 2004.

Santos F, Dean W: Epigenetic reprogramming during early development in mammals, *Reproduction* 127:643-651, 2004.

Senner CE, Brockdorff N: Xist gene regulation at the onset of X inactivation, *Curr Opin Genet Dev* 19:122-126, 2009.

Seshagiri PB and others: Cellular and molecular regulation of mammalian blastocyst hatching, *J Reprod Immunol* 83:79-84, 2009.

Shaw JLV and others: Current knowledge of the aetiology of human tubal ectopic pregnancy, *Hum Reprod Update* 16:432-444, 2010.

Solter D: Imprinting today: end of the beginning or beginning of the end? *Cytogenet Genome Res* 113:12-16, 2006.

Solter D and others: Epigenetic mechanisms in early mammalian development, *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 69:11-17, 2004.

Spencer R: Theoretical and analytical embryology of conjoined twins, part 1: embryogenesis, *Clin Anat* 13:36-53, 2000.

Starmer J, Magnuson T: A new model for random X chromosome inactivation, *Development* 136:1-10, 2009.

Surani MA: Imprinting and the initiation of gene silencing in the germ line, *Cell* 93:309-312, 1998.

Suwinska A and others: Blastomeres of the mouse embryo lose totipotency after the fifth cleavage division: expression of Cdx-2 and Oct-4 and developmental potential of inner and outer blastomeres of 16- and 32-cell embryos, *Dev Biol* 322:133-144, 2008.

- Tadros W, Lipshitz HD: The maternal-to-zygotic transition: a play in two acts, *Development* 136:3033-3042, 2009.
- Tarkowski AK, Ozdzenki W, Czolowska R: How many blastomeres of the 4-cell embryo contribute cells to the mouse body? *Int J Dev Biol* 45:811-816, 2001.
- Tarkowski AK, Wroblewska J: Development of blastomeres of mouse eggs isolated at the 4- and 8-cell stage, *J Embryol Exp Morphol* 18:155-180, 1967.
- Thorvaldsen JL, Verona RI, Bartolomei MS: X-tra! X-tra!! News from the mouse X chromosome, *Dev Biol* 298:344-353, 2006.
- Uchida IA: Twinning in spontaneous abortions and developmental abnormalities, *Issues Rev Teratol* 5:155-180, 1990.
- Veeck LL, Zaninovic N: *An atlas of human blastocysts*, Boca Raton, Fla, 2003, Parthenon.
- Weitlauf HM: Biology of implantation. In Knobil E, Neill J, eds: *The physiology of reproduction*, New York, 1988, Raven, pp 231-262.
- Yamanaka Y and others: Cell and molecular regulation of the mouse blastocyst, *Dev Dynam* 235:2301-2314, 2006.