

Objetivos

1. Extraer los gametos de las gónadas de rata.
2. Identificar el tipo de ovocitos obtenidos.
3. Identificar la zona pelúcida y la corona radiada de los ovocitos.
4. Observar la interacción ovocito – espermatozoides.

Interacción de gametos

Fecundación

La **fecundación o fertilización** es un conjunto de procesos mediante los cuales el gameto masculino y el gameto femenino, (ambas células euploides) se unen para formar una sola célula diploide llamada: **huevo o cigoto**; esta célula dará origen a un nuevo organismo. *Fig. 1.*

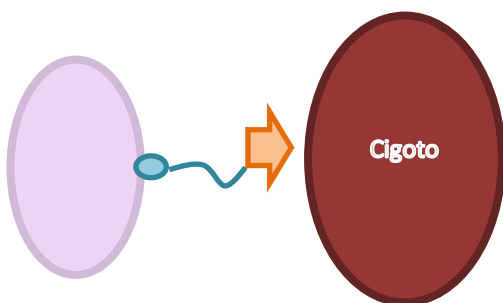


Figura 1. Unión del ovocito y el espermatozoide para originar al cigoto.

La fecundación en el humano es la unión del espermatozoide y el ovocito secundario, el lugar donde sucede es en las tubas u oviductos, específicamente en la zona ampular / tercio externo del oviducto.

Gametogénesis

La **gametogénesis** es el proceso en donde se da una serie de cambios en las células sexuales femeninas y masculinas para que éstas se conviertan genética y morfológicamente en gametos maduros y de ese modo participen en el proceso de la fecundación. La gametogénesis se divide en cuatro fases:

1. Migración de las células germinales primordiales (CGP).

2. Mitosis de las CGP; aumento del número de células (proliferación).
3. Meiosis, para la reducción del número de cromosomas.
4. Maduración estructural y funcional de los ovocitos y los espermatozoides.

En la quinta semana del desarrollo las CGP migran hacia los primordios gonadales, durante su camino proliferan de manera lenta y una vez que llegan a los rebordes gonadales comienzan su proliferación rápida, aumentando su número de unos cientos a millones. La gónada embrionaria junto con sus CGP se transformará en un ovario o un testículo de acuerdo con la carga cromosómica que esté determinada en el embrión.

La meiosis se lleva a cabo en diferentes momentos de las CGP femeninas y masculinas; mientras que en la mujer las células germinales mitóticamente activas, ahora llamadas **ovogonias**, la meiosis I comienza en las ovogonias desde etapas tempranas del desarrollo; en el varón, las CGP ahora llamadas **espermátogonias**, realizan la mitosis en el testículo embrionario y se mantiene a lo largo de la niñez, siendo así que la meiosis comienza hasta la pubertad.

Ovogénesis y foliculogénesis

La **ovogénesis** es la maduración de la ovogonia hasta la formación de un ovocito secundario listo para ser fecundado. Es un proceso largo y lento que inicia desde la etapa fetal y se detiene hasta la menopausia.

La ovogonia comienza la primera división meiótica, entre el séptimo y noveno mes de desarrollo y se le denomina: **ovocito primario**, este es rodeado por células epiteliales del ovario llamadas: **células foliculares**, que establecen una estrecha relación con el ovocito por medio de las prolongaciones citoplasmáticas que emiten las células foliculares.

Al conjunto del ovocito y sus células foliculares se le denomina: **folículo**. El desarrollo de los folículos es lo que se denomina **foliculogénesis**.

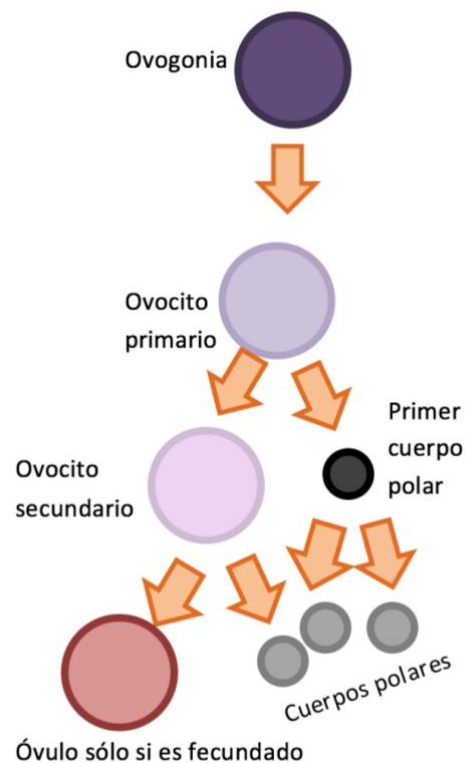


Figura 4. El proceso de ovogénesis, donde se obtiene un ovocito secundario y un cuerpo polar. Cuando el ovocito secundario es fecundado se convierte en óvulo y libera otro cuerpo polar (sumando 3 cuerpos polares por la división del primer cuerpo polar).

Ambos procesos, ovogénesis y foliculogénesis transcurren de forma simultánea y están íntimamente relacionados.

Cuando se inicia la primera división meiótica el ovocito detendrá su división en la profase I, en la subfase de diploteno y se dirá que el ovocito está en estado dictiado (o en fase de dictioteno). Esta detención se le llama: **periodo de stop o primer arresto meiótico**, esta detención se debe a la estrecha comunicación entre el ovocito y las células foliculares, lo que permite el intercambio de distintas moléculas como: el factor inhibidor de la meiosis, donde se involucra al AMPc.

A menos que degeneren todos los ovocitos primarios, aproximadamente un millón en el nacimiento permanecerán dictiados hasta la pubertad, donde su número se reducirá a 400 000 aproximadamente y solo serán ovulados de 300 a 400 a lo largo de la vida reproductiva de la mujer. Los ovocitos que no maduran y los que quedan después de la menopausia experimentan una degeneración llamada: **atresia**.

Cuando el ovocito primario está rodeado por una monocapa discontinua de células foliculares aplanadas se le llama: **folículo primordial**. Antes del nacimiento las células foliculares proliferarán adquiriendo forma cúbica y la monocapa se convertirá en un estrato, formando una o varias capas continuas, entonces el folículo primordial pasa a ser un **folículo primario**. *Fig.2.*

Interacción hormonal

Al igual que la espermatogénesis, la **ovogénesis** está regulada por la acción de las hormonas llamadas Gonadotropinas

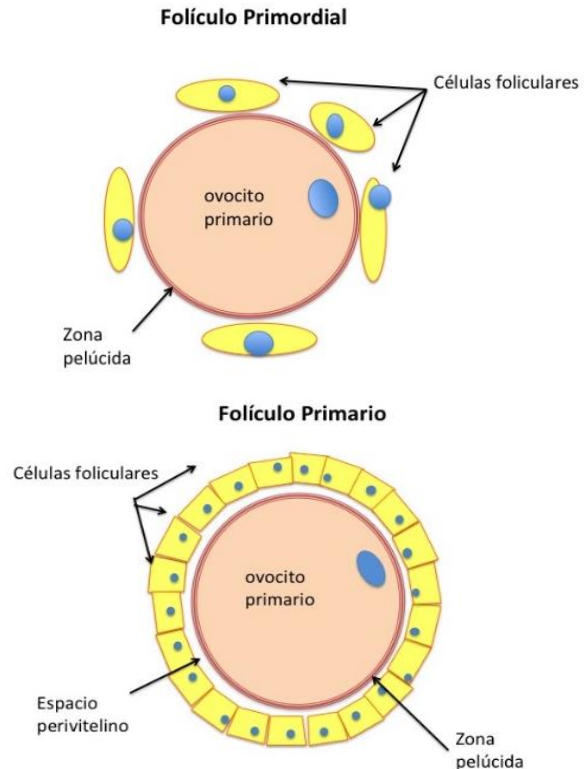


Figura 2. El desarrollo de la Foliculogénesis con el lento proceso de la meiosis del ovocito.

las cuales son: la Hormona Foliculoestimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH), estas se producen en la adenohipófisis en respuesta a la acción de la hormona liberadora de gonadotropinas hipofisarias (GnRH) que se produce en el hipotálamo. Las gonadotropinas estimulan la producción de hormonas esteroideas por parte de las gónadas, de este modo, el ovario sintetiza principalmente los Estrógenos y la Progesterona y en el testículo a la Testosterona.

En la pubertad por la influencia de las gonadotropinas y las hormonas ováricas, el folículo primario empieza a llenarse de espacios con líquido entre las células foliculares, entonces cambia su nombre a **folículo secundario**. La fusión de todos los

espacios origina un solo espacio llamado: **antro**, éste se llena de líquido llamado: **líquido antral** o licor folicular; en esta etapa el folículo se sigue llamando folículo secundario conteniendo a un ovocito primario.

Aproximadamente 24-48 hr antes de la ovulación, por la acción de las gonadotropinas, el **ovocito primario** sale del estado **dictiado** y continúa con la **meiosis I**, originando el primer cuerpo polar; sigue con la **meiosis II** y antes de que suceda la ovulación, el ovocito experimenta una **segunda detención** en la metafase II, convirtiéndose así, en un **ovocito secundario**. *Fig. 3.*

En el folículo, el antro crece considerablemente en relación con el tamaño del ovocito y este último queda apenas sostenido por un cúmulo de células foliculares en medio de un gran volumen de líquido antral. El folículo entonces pasa a ser un **folículo terciario**, **folículo maduro**, **folículo preovulatorio** o **folículo De Graaf** conteniendo un ovocito secundario que se encuentra detenido en Metafase II. *Fig. 3.*

Durante la ovulación, el ovocito secundario es expulsado y solo si llega a ser fecundado termina la meiosis II y origina el **segundo cuerpo polar**. *Fig. 4.*

Solo con la fecundación el ovocito secundario se transforma en un óvulo efímero que inmediatamente formará, junto con el espermatozoide, al cigoto.

Espermatogénesis

Al igual que la gónada femenina, el desarrollo embrionario de la gónada masculina, el testículo, inicia con la llegada de las CGP que se convertirán en

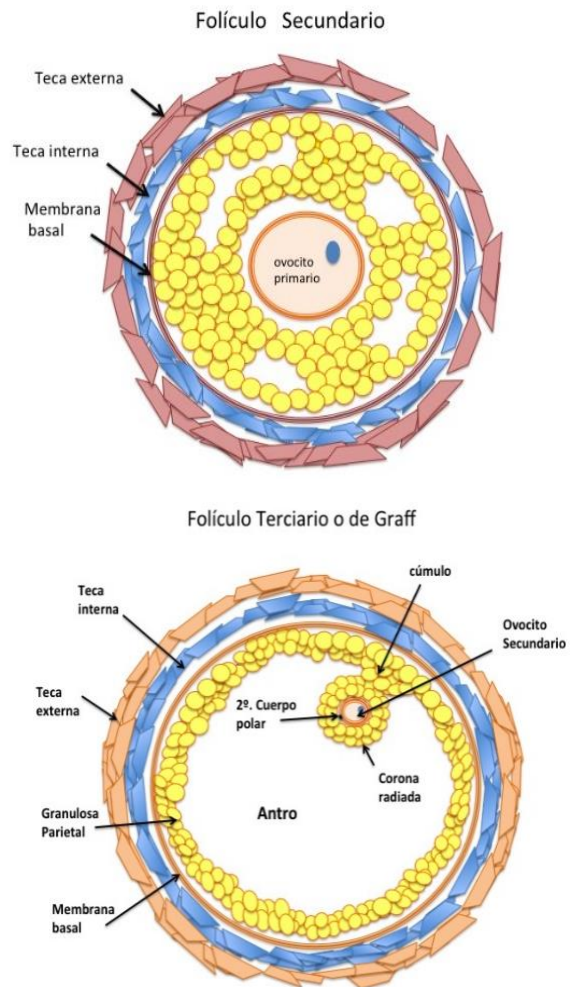


Figura 3. Desarrollo de la foliculogénesis y continuación de la meiosis del ovocito por la influencia hormonal.

espermatogonias y la gónada primitiva se convertirá en el testículo.

A diferencia de la ovogénesis, el proceso de espermatogénesis no inicia en etapa embrionaria sino hasta la pubertad, con la influencia de las gonadotropinas y se mantiene a lo largo de toda la vida del varón. En un inicio el testículo contiene cordones sexuales, que en la pubertad se transforman en conductos que forman una luz interna a largo de ellos

denominándose ahora como: **conductos o túbulos seminíferos**.

En estos conductos se encuentran las espermatogonias y las células nodrizas o células de Sertoli y fuera de los conductos están las células intersticiales o de Leydig, las cuales sintetizan Testosterona.

Las **células de Sertoli** tienen extensiones citoplasmáticas que permiten alojar a las espermatogonias y a todo su linaje celular, permitiendo que estas alcancen la madurez morfológica.

Las funciones principales de las células de Sertoli son:

1. Sostenimiento y nutrición de las espermatogonias y a todo su linaje celular.
2. Mantenimiento y coordinación de la espermatogénesis.
3. Formar y mantener la barrera hematotesticular.
4. Fagocitar a los cuerpos residuales de las células espermáticas.
5. Producción de hormonas (estrógenos e inhibina).
6. Secretar el factor inhibidor mulleriano (MIF) durante la etapa embrionaria.
7. Secretar la proteína transportadora de andrógenos (ABP).

En la pubertad por la influencia de la gonadotropina, la espermatogonia inicia la Meiosis I, y se convierte en un **espermatocono primario**, terminando la primera división meiótica y originando **2 espermatoconos secundarios**. Después al término de la Meiosis II se obtendrán **4**

espermátidas, las cuales tienen que pasar por un proceso de maduración morfológica llamada: **espermiogénesis o espermioteliosis** para dar origen a los espermatozoides. *Fig.5.*

Los cambios que ocurren en la espermiogénesis son:

1. Se da la compactación del núcleo y de su material genético (las histonas se cambian por protaminas).
2. Se reorganiza el citoesqueleto.
3. El complejo de Golgi, en el extremo apical, forma al acrosoma; y el centriolo distal en el extremo opuesto, forma al flagelo.
4. Las mitocondrias se disponen en la porción más proximal del flagelo alrededor del cuello, formando la parte intermedia o vaina mitocondrial.
5. Se elimina el exceso de citoplasma (cuerpo residual).

Debido a estos cambios, se obtiene un espermatozoide maduro con una cabeza (núcleo y acrosoma), una pieza intermedia (vaina mitocondrial) y la cola (flagelo).

Maduración bioquímica

Una vez que los espermatozoides tienen su madurez morfológica, son liberados a la luz de los túbulos seminíferos, pero son inmóviles e incapaces de fecundar, por lo tanto, son transportados por el líquido testicular de una forma pasiva desde los túbulos seminíferos, al epidídimo, donde permanecen alrededor de 12 días para su maduración bioquímica.

La maduración bioquímica consiste en la adquisición de la movilidad y una capa de glucoproteínas en la membrana plasmática de la cabeza, que será de gran importancia más adelante durante el proceso de capacitación.

Capacitación espermática

Aunque los espermatozoides pasaron ya por los procesos de maduración, estos todavía no tienen la facultad para fecundar a un ovocito, para esto requieren nuevos cambios físicos y bioquímicos que suceden mientras se desplazan a través del aparato reproductor femenino. Esta serie de modificaciones en conjunto se denomina capacitación y consta básicamente en eliminar de la superficie del espermatozoide elementos como el colesterol y las glucoproteínas (agregadas en el epidídimo), modificar su pH intracelular y estimular la transducción de señales dentro del mismo. Por otro lado, el espermatozoide adquiere la hiperactividad motora, la capacidad de reconocer y relacionarse con la zona pelúcida del ovocito, y la facilidad de liberar el contenido del acrosoma.

Todo esto es necesario para que el espermatozoide sea capaz de efectuar adecuadamente el siguiente proceso: la fecundación.

Fecundación

Después de la capacitación, los espermatozoides siguen desplazándose favorecidos por los movimientos peristálticos de las tubas uterinas, hasta alcanzar la zona de la ampolla tubárica, zona donde el espermatozoide se

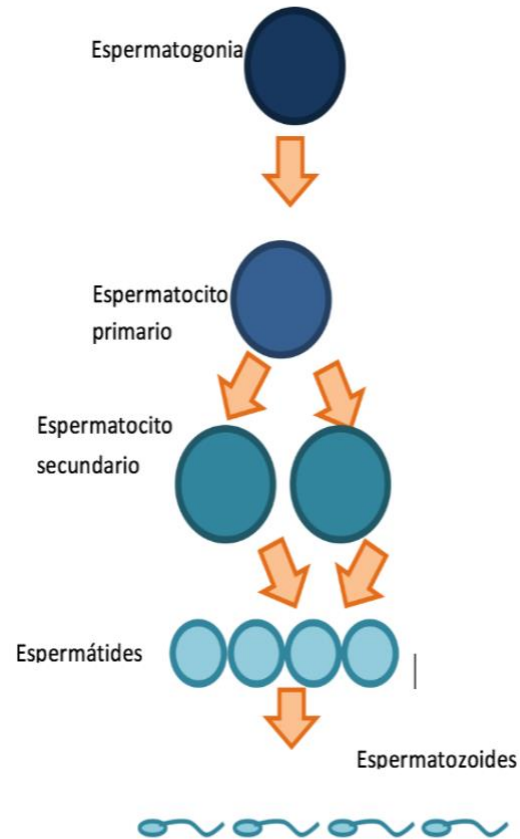


Figura 5.- La espermatogénesis, desde una espermatogonia hasta los espermatozoides.

encontrará con el ovocito secundario para fecundarlo.

Se estima que, del total de espermatozoides eyaculados, solo 200 a 300 logran llegar hasta la ampolla.

El ovocito se encuentra rodeado por su membrana, el espacio perivitelino, la zona pelúcida y la corona radiada.

Corona radiada: Células foliculares que rodean al ovocito, enlazadas entre sí por una matriz intercelular, compuesta de proteínas y abundantes puentes de ácido hialurónico.

Zona Pelúcida: Es una matriz extracelular formada por glucoproteínas que rodea al ovocito y se encuentra entre la corona

radiada y el espacio perivitelino. Las glucoproteínas que la componen son: **ZP1, ZP2, ZP3, ZP4.**

Una vez que se encuentran ambos gametos, el espermatozoide debe atravesar las capas que rodean al ovocito para lograr fecundarlo. Para ello, el espermatozoide con movimientos propios y la liberación de la enzima hialuronidasa del acrosoma, le permite romper las uniones entre las células de la corona radiada para separarlas y transitar entre ellas hasta llegar a la zona pelúcida. Una vez logrado esto, deberá librar a la zona pelúcida para continuar su trayecto, para esto el espermatozoide requiere expresar en su membrana externa el receptor para ZP3, pues es esta glucoproteína de la zona pelúcida la que actúa como su ligando permitiendo así la unión de ambos.

Esta unión cuenta con alta especificidad para cada especie, por este motivo no es posible fecundar gametos de especies diferentes. La unión e interacción entre espermatozoide y la zona pelúcida desencadenará la **reacción acrosómica**.

La reacción acrosómica consiste en la fusión de su membrana plasmática con la membrana externa del acrosoma, provocando que posterior a la reacción, los puntos de fusión se rompan y se libere a través de ellos el contenido enzimático del acrosoma. Esto facilita el paso del espermatozoide por la zona pelúcida, evento favorecido por la acción de la **acrosina**.

Al final de la reacción, la membrana acrosómica interna es quien ahora recubre la cabeza del espermatozoide, fusionándose en su base con el remanente de la membrana plasmática

postacrosómica y formando el **segmento subecuatorial**.

En cuanto el espermatozoide logra atravesar la zona pelúcida y cruzar el espacio perivitelino, sucede el contacto entre ambos gametos.

La unión de los gametos ocurre entre la membrana plasmática del ovocito secundario y la membrana postacrosómica del espermatozoide, la cual está mediada por proteínas y moléculas como las que presenta el espermatozoide en la región subecuatorial (**fertilina y cirtestina**) que se unen a la molécula integrina α -6 y proteína CD9 ubicadas en la membrana del ovocito.

Después de la unión entre los gametos, el contenido del espermatozoide (cabeza, pieza media y cola) se deposita en el interior del ovocito, en tanto que su membrana plasmática se integra a la membrana plasmática del ovocito para formar una membrana única.

En este momento tienen lugar reacciones que impiden la entrada de más de un espermatozoide (poliespermia).

Cuando se une el contenido genético de ambos gametos se origina una sola célula, el cigoto.

Bloqueos de la Polispermia

Cuando un espermatozoide ha fecundado ya al ovocito secundario, es necesario que ocurran mecanismos de bloqueo para evitar que otro u otros espermatozoides puedan ingresar al mismo. Los mecanismos esenciales son dos: el **bloqueo rápido** o cambio de polaridad de la membrana del ovocito y el **bloqueo**

lento que incluye a la reacción cortical y la reacción de zona.

Bloqueo Rápido: Sucede inmediatamente después de la fusión de los gametos, consiste en la despolarización de la membrana plasmática del ovocito pasando de un voltaje de -70 mV a $+10\text{ mV}$, la cual tarda en propagarse por toda ella de 1 - 3 segundos y su efecto dura aproximadamente 5 minutos.

Este cambio de voltaje modifica a los receptores de espermatozoides en la membrana del ovocito, inactivándolos e impidiendo así la unión de más de un espermatozoide.

Bloqueo Lento: Consiste en el ingreso de iones calcio al interior del ovocito, de tal forma que, los gránulos corticales intracelulares ubicados en la cercanía de la membrana plasmática se fusionen con ésta última, liberando su contenido enzimático hacia el espacio perivitelino (**reacción cortical**) para alcanzar a la zona pelúcida y actuar sobre ella, inhibiendo a los receptores ZP3, y provocando un cambio en la estructura de la misma, endureciéndola (**reacción de zona**). *Fig.6.*

Mediante estos mecanismos se evita que más de un espermatozoide fecunde al ovocito. Sin embargo, puede suscitarse una dispermia, esto es la fecundación de un ovocito por dos espermatozoides, situación que es incompatible con la vida.

Una vez que sucede la fecundación ocurren varios eventos como consecuencia de esta. Estos eventos son:

1. Se reanuda el metabolismo y se termina la segunda división meiótica del ovocito.
2. Se expulsa el segundo cuerpo polar.

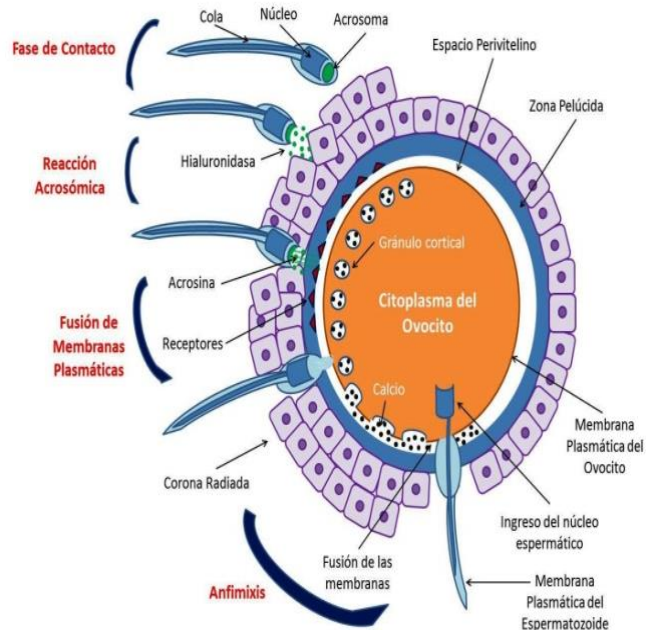


Figura 6. Proceso de fecundación, desde el encuentro entre los gametos, la reacción acrosómica y la anfimixis.

3. Se forman los pronúcleos masculino y femenino.
4. Se restablece la diploidía celular.
5. Se determina el sexo cromosómico del embrión.
6. Ocurre la recombinación de los genes por la mezcla de los cromosomas maternos y paternos, proceso denominado: anfimixis.
7. Da inicio el proceso de la segmentación.

Implantación

Después de la fecundación, el cigoto se dirige desde la ampolla hasta la cavidad uterina para implantarse. Durante este proceso el cigoto está realizando sucesivas mitosis: la segmentación y multiplica el número de células. De este modo va recibiendo diferentes nombres

de acuerdo con el número y disposición de las células.

A los 4-6 días posteriores a la fecundación, el ahora blastocisto (todavía dentro en su zona pelúcida) llega a la cavidad uterina. Al 6º día, el embrión se implanta en el endometrio de la madre.

El endometrio debe estar listo para recibir al embrión y debido a la acción hormonal, éste estará engrosado en su capa funcional, con mucha vascularización y las glándulas uterinas contendrán gran cantidad de mucinas y glucógeno.

El blastocisto se diferencia en trofoblasto (masa celular externa) que formará al corion y a la placenta y el embrioblasto (masa celular interna) que formará al embrión.

El trofoblasto es estimulado por el embrioblasto para secretar estripsina, enzima que degrada la zona pelúcida permitiendo que el embrión pueda salir liberándose de la misma, esto se denomina eclosión del blastocisto. [Fig.7.](#)

Cuando el embrión se encuentra fuera, el trofoblasto contacta con el epitelio endometrial a través de distintas sustancias para facilitar su adhesión. Ya adherido, el trofoblasto se diferencia en dos tipos celulares: el citotrofoblasto (capa celular bien definida) y el sincitiotrofoblasto originado del citotrofoblasto, capa multinucleada sin células definidas que se distribuye ampliamente.

El sincitiotrofoblasto rompe el epitelio endometrial y va penetrando la capa funcional del endometrio auxiliándose de prolongaciones que se proyectan mientras van invadiendo el interior del endometrio. El componente celular del

sincitiotrofoblasto inicia la síntesis de la hormona gonadotropina coriónica humana con funciones distintas a estos momentos de la implantación.

El sincitiotrofoblasto continúa invadiendo con rapidez, favoreciendo la entrada gradual del blastocisto hasta encontrarse completamente dentro del endometrio.

En la zona exacta donde sucede la implantación ocurre una modificación morfológica de las células del endometrio, generada cuando éstas permiten la entrada de glucógeno y generan lípidos a su interior para transformarse en un tipo celular distinto denominado: decidua, posteriormente dicha reacción se propagará hacia todo el epitelio endometrial, a este evento se le llama: **reacción decidual.**

Conforme avanza invadiendo el endometrio, haciendo reacción decidual, el sincitiotrofoblasto va destruyendo glándulas y vasos sanguíneos formando espacios y lagunas que se llenan de sangre materna y otros elementos proteicos, por otro lado, alrededor del citotrofoblasto, rodeado a su vez por el sincitiotrofoblasto, se observa un desarrollo proliferativo de células propias del trofoblasto para producir vellosidades coriónicas.

Entre el 8º y el 10º día, el embrión en formación ha penetrado por completo el endometrio y se inicia la regeneración del tejido endometrial en la zona que realizó la implantación, esto a manera de restituir la continuidad del epitelio y mantener totalmente cubierto, resguardado en su interior al embrión; dicho proceso culmina entre el 12º y 14º día aproximadamente.

Factor Masculino

Calidad espermática.

Como se vio en la *Práctica 3*, las características macro y microscópicas del semen son importantes durante el trayecto de los espermatozoides a través del tracto sexual femenino y, sobre todo para lograr la fertilización del ovocito, es por eso, que cualquier alteración en la calidad espermática puede traer dificultad para lograr un embarazo.

Es importante mencionar que existe un defecto espermático que consiste en la fragmentación del ADN, la cual es causada por edad paterna avanzada o factores externos como el tabaquismo, la radiación, las infecciones recurrentes, la quimioterapia, entre otras.

La falta de integridad en el material genético puede representar una causa de infertilidad que no es evaluable durante la espermatobioscopía o seminograma, sino mediante un análisis de la estructura de cromatina específica (SCSA), agregado.

Factor Femenino

Factor hormonal-ovárico

Existen muchos factores capaces de alterar la ovulación, entre ellos, las anomalías en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario representan al mayor grupo. A continuación, se mencionan las enfermedades endócrinas más comunes que causan infertilidad:

- A. **Hiperprolactinemia.** Altas cantidades de Prolactina (PRL) secretada por la adenohipófisis, alteran la secreción pulsátil de la GnRH produciendo a su vez manifestaciones como:

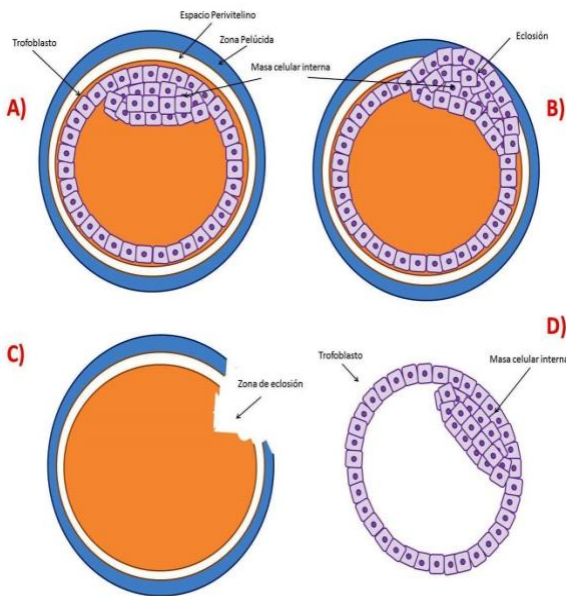


Figura 7. A) la estructura del blastocisto inmerso aún en la zona pelúcida, B) muestra el inicio de la eclosión por el polo embrionario, C) se muestran los vestigios del ovocito secundario vacío, C) blastocisto eclosionado.

Infertilidad y Esterilidad

La infertilidad indica una dificultad para concebir o mantener un embarazo al término y no es siempre sinónimo de esterilidad, la cual es definida por la OMS como una enfermedad del sistema reproductivo, caracterizada por la incapacidad de lograr un embarazo clínico después de 12 meses o más de tener relaciones sexuales sin protección.

Existen una gran variedad de causas de infertilidad y pueden ser de factor femenino, masculino, o incluso por ambas partes. Es importante conocer cada una de las alteraciones que pueden estar implicadas en la imposibilidad de lograr la concepción.

anovulación y amenorrea. Es importante valorar también la función tiroidea en estos casos, debido a que, la producción excesiva de PRL se asocia también al hipotiroidismo.

- B. Síndrome de ovario poliquístico.** Este padecimiento es considerado como la causa más frecuente de anovulación por el desequilibrio hormonal que presenta. Se manifiesta como una amplia variedad de signos y síntomas asociados con la resistencia a la insulina, la obesidad, el acné y el hirsutismo.
- C. Hiperplasia suprarrenal tardía.** Se presenta como un cuadro de hiperandrogenismo que se manifiesta con una pubarca prematura, estatura baja, oligomenorrea o amenorrea, hirsutismo y trastornos de la fertilidad, sin embargo, algunas mujeres afectadas pueden lograr el embarazo sin necesidad de tratamiento farmacológico.
- D. Amenorrea hipotalámica.** Esta se asocia al estrés en mujeres de bajo peso y representa una disminución en la secreción de la GnRH con la subsecuente anovulación e irregularidades en el ciclo. Es común en atletas y pacientes con trastornos alimenticios.
- E. Falla ovárica prematura.** Se define como el cese de la función ovárica antes de los 40 años. Se ha relacionado con un número deficiente de folículos y de origen autoinmune. En algunos casos existe recuperación de la fertilidad mediante terapia hormonal sustitutiva con estrógenos.

Defectos uterinos

Existen diversas afecciones que pueden dificultar tanto la implantación del blastocisto como la permanencia del producto. Estas pueden ser congénitas o adquiridas y en su mayoría, se pueden tratar.

- A. Anomalías congénitas.** Estas alteraciones también llamadas malformaciones müllerianas, pueden ser de varios tipos, tales como: útero bicorne, unicorne y didelfo, así como la presencia de tabiques uterinos los cuales pueden representar un obstáculo para llevar a cabo el embarazo de manera satisfactoria. La mayor parte de estos defectos pueden resolverse mediante intervenciones quirúrgicas.
- B. Tumores.** La neoformación benigna más común a este nivel son los leiomiomas, los cuales, según su localización y tamaño pueden ocupar y deformar la cavidad uterina interfiriendo así con la implantación.
- C. Pólipos.** Esta afección es relativamente común en las mujeres infértiles. Se trata de proyecciones fibrosas de número y tamaño variable, las cuales producen sangrado uterino anormal como principal síntoma. Se ha demostrado que la extracción de pólipos incluso menores a 10 mm ha mejorado la tasa de fertilidad.
- D. Síndrome de Asherman.** Esta patología se caracteriza por la formación de adherencias intrauterinas mejor denominadas sinequias, las cuales son encontradas comúnmente en pacientes con legrados previos, el uso del DIU o por

infecciones procedentes de genitales externos. El tratamiento consiste en retirar el tejido cicatricial mediante lisis histeroscópica, aun mostrando baja posibilidad para concebir el embarazo.

Factor tubárico

Los trastornos a nivel de tubas uterinas pueden imposibilitar la fecundación o bien, dar lugar a un embarazo ectópico. Entre la variedad de causas encontramos las infecciones pélvicas (EPI), endometriosis e intervenciones quirúrgicas incorrectas que pueden ser causa de inflamación crónica, las adherencias y/o la obstrucción del canal.

Dentro de las alteraciones menos comunes está la *salpingitis ístmica nudosa*, que se caracteriza por inflamación y engrosamiento progresivo de la porción ístmica de las tubas uterinas.

Factor cervical

El cuello uterino desempeña un papel importante en el transporte y capacitación espermática, es por eso que cualquier variación en el pH o conformación causada por infecciones, tumoraciones o lesiones, podrían ser causa de infertilidad. A continuación, se mencionan las alteraciones más importantes:

- A. Alteraciones congénitas.** Ocurren por la falla en el desarrollo y fusión de los conductos paramesonéfricos que originan al útero y puede presentarse como una agenesia o hipoplasia

cervical, o bien, como una duplicación asociada a anomalías vaginales y uterinas.

- B. Ectropión.** Es la exposición del epitelio columnar a la región vaginal debido a una eversión del endocérnix. El moco que recubre el epitelio interno es más espeso y funciona como barrera al paso de los espermatozoides.
- C. Tumores.** Los pólipos y leiomiomas ya mencionados en los defectos uterinos forman también parte de estos trastornos cuando se localizan cerca del canal cervical. De la misma forma, los papilomas producidos por virus del papiloma humano (VPH) que se manifiesta en los genitales externos, también pueden alcanzar y comprometer al cérnix.

Técnicas de reproducción asistida

Aproximadamente un 15% de parejas en edad reproductiva presentan dificultades para conseguir un embarazo, por eso, existen diversas técnicas de fertilización basadas en la manipulación de los gametos femeninos y masculinos para ayudar a concebir.

Los distintos métodos pueden clasificarse como:

De baja complejidad: cuando la unión de los gametos se realiza de forma natural dentro de las trompas uterinas, durante el coito programado o la inseminación intrauterina.

De alta complejidad: cuando la fertilización tiene lugar en el laboratorio,

lo que implica la necesidad de extraer cualquiera de los gametos del organismo femenino o masculino. Estos son: fertilización *in vitro* acompañado de la técnica ICSI (inyección intracitoplasmática del espermatozoide) si es necesario por deficiencia en la célula masculina.

A continuación, se describen las técnicas de reproducción asistida más empleadas:

Inseminación artificial

Es un procedimiento relativamente sencillo y utilizado como primera instancia; los gametos masculinos son seleccionados con respecto a su movilidad y morfología y son preparados (capacitación espermática) para depositarse dentro del tracto reproductor femenino (cavidad uterina) sin necesidad del coito.

La forma de inseminación más utilizada es la intrauterina, aunque años atrás también se colocaba la muestra a nivel de la vagina o del cérvix.

Este proceso puede realizarse durante ciclos ováricos naturales o mediante la estimulación ovárica controlada, lo que permite una mayor tasa de éxito, pero a su vez incrementa el riesgo de un embarazo múltiple.

Según el origen de los espermatozoides, la muestra puede ser clasificada en homóloga o conyugal y heteróloga o del donante. El primer espécimen se maneja comúnmente en fresco, mientras que el del donante casi siempre es congelado.

Este método se indica cuando existen impedimentos fisiológicos y anatómicos para lograr la fecundación, como las hipospadias, la eyaculación retrógrada,

los trastornos neurológicos, las alteraciones del seminograma del lado masculino, así como, las anomalías cervicales o del moco, la disfunción ovulatoria, la endometriosis, entre otras alteraciones del lado femenino.

Fertilización *in vitro*

Este método tiene como objetivo lograr la fecundación del ovocito de forma extracorpórea para posteriormente, recolocar al embrión dentro del útero en espera de su correcta implantación. La efectividad del procedimiento depende del éxito obtenido en las distintas fases del siguiente ciclo:

- A. **Hiperestimulación ovárica controlada.** Existen diferentes esquemas que dependen de la respuesta ovárica de la paciente. El manejo más común es con el uso de gonadotropinas como la FSH, LH recombinantes, y hormonas antagonistas que previenen el pico de LH que condiciona la ovulación.
- B. **Obtención de ovocitos.** Se lleva a cabo por la aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonido. El momento ideal para realizarse es antes de la ovulación espontánea y es conveniente extraer de 8 a 10 ovocitos.
- C. **Inseminación.** Los espermatozoides previamente capacitados son colocados en un medio adecuado, después se introduce el ovocito en espera de la fertilización espontánea, la cual ocurre en pocas horas.
- D. **Transferencia embrionaria.** Se realiza de 3-5 días posteriores a la fertilización, preferentemente en etapa de blastocisto. El objetivo es

transferir (depositar) sin trauma, el número de embriones adecuado (1-2) obtenidos mediante la fertilización *in vitro*, en cavidad uterina, mediante la inserción de un catéter intravaginal guiado por ultrasonido.

El número de embriones a transferir depende de distintos factores como la edad de la paciente y la calidad embrionaria, sin embargo, no debe excederse en número de dos, ya que siempre existe el riesgo de un embarazo múltiple.

Entre los factores que pueden dificultar la implantación del blastocisto, se encuentra la receptividad uterina, la calidad del embrión y la eficiencia del procedimiento.

Las indicaciones para realizar este procedimiento son: la infertilidad por la edad materna avanzada, las alteraciones de las tubas uterinas, la obstrucción tubárica bilateral (OTB) y la endometriosis; por el lado paterno se encuentran: las alteraciones anatómicas ya mencionadas, así como una disminución en el conteo espermático.

Inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI)

Este procedimiento es el más utilizado para tratar la infertilidad por factor masculino (teratozoospermia, astenozoospermia). Consiste en inyectar un espermatozoide en el ovocito a través de la zona pelúcida y la membrana celular. En condiciones extremas de mala calidad espermática se recurre a la técnica de obtención de espermatozoides más utilizada, es la aspiración percutánea, donde por medio de una aguja, se punciona sobre la cabeza del epidídimo o en el testículo. Este procedimiento debe ser realizado bajo anestesia por biólogo de la reproducción.

Otras técnicas incluyen la extracción quirúrgica, donde se realiza una incisión escrotal y la disección del epidídimo para permitir la aspiración; este proceso se realiza únicamente cuando los otros métodos han fallado.

Materiales

Proporcionado por el laboratorio	Requerido por el alumno
<ul style="list-style-type: none"> ● Testículos de rata ● Ovarios de rata ● Jeringas para insulina ● Solución NaCl 0.9% ● Tubos de ensayo ● Cajas Petri ● Micropipeta ● Laminillas ● Cubreobjetos ● Microscopio óptico 	<ul style="list-style-type: none"> ● Un par de guantes quirúrgicos ● Cubrebocas ● Estuche de disección completo ● Hoja de bisturí ● Un campo por mesa ● Lupa (opcional)

Procedimiento

Se entregará a cada mesa un ovario o testículo de rata.

Disección de testículo y obtención de gametos	Disección de ovario y obtención de gametos
<ul style="list-style-type: none"> ● Identificar el cuerpo del testículo, el epidídimo (cabeza, cuerpo y cola), el conducto deferente. ● Realizar un corte superficial longitudinal con bisturí en la cola del epidídimo asegurándose de haber seccionado un buen número de conductillos. (Utilizar la lupa en caso necesario) ● Inyectar 1 ml de sol. NaCl a través del conducto deferente en dirección a la cabeza del epidídimo, el fluido deberá salir a través de la zona que hemos seccionado anteriormente y deberá ser recolectado en un tubo de ensayo, vaso de precipitado o una caja Petri. ● En caso de que la solución no haya alcanzado la zona deseada, se deberá repetir el paso anterior, pero en un sitio más proximal al epidídimo. ● Colocar en una laminilla 10µl de la muestra recolectada, poner cubreobjetos y observar al microscopio con el objetivo de 40x en búsqueda de los espermatozoides. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se entregarán ovarios de rata en solución salina. ● En caso de existir exceso de tejido que nos impida identificar los folículos, se deberá desbridar cuidadosamente. ● Observar los folículos; en algunas ocasiones podemos encontrar el cuerpo lúteo. ● Los folículos aptos para ser aspirados serán extraídos con ayuda de las agujas.

Una vez realizado esto, colocar en la caja de Petri los gametos obtenidos y observar la interacción al microscopio.

Reporte

1. Revisa un artículo relacionado con el tema "Reproducción asistida " de no más de 5 años de antigüedad y realiza un ensayo de al menos 200 palabras. Deberá ser referenciado mediante formato APA.
2. Realiza una descripción detallada de lo que observaste al microscopio.

Bibliografía

1. Carlson BM. **Embriología Humana y Biología del Desarrollo**. 5ª ED. ELSEVIER; 2013. Capítulo 2: Transporte de los gametos y fecundación. pp. 24-35.
2. Arteaga M, y García-Peláez I. **Embriología humana y biología del desarrollo**. Panamericana; 2013. Capítulo 6: Fertilización: el inicio de una nueva vida. pp. 69-78.
3. Barbara L. Hoffman, MD, *et al.* (2012). **Williams Ginecología**. 2nd ed. México: Mc Graw Hill, pp.517-549.
4. University of Alberta. (2014). **Assisted Reproductive Technologies (ARTs)**. The Alberta Health Technologies
5. Moran, C. (2006). **Factor ovárico endócrino**. Revista peruana de ginecología y obstetricia. 52(1):70-79
6. Valencia, I., Valencia, P., & Ordoñez, S. (2006). **Evaluación actualizada y manejo práctico del factor cervical de infertilidad**. Revista peruana de ginecología y obstetricia. 52(1):80-89
7. Kambly Ambe, A y col. (2012). **Consenso Nacional Mexicano de Reproducción Asistida**. Ginecología y Obstetricia de México, 80(9):581-624.