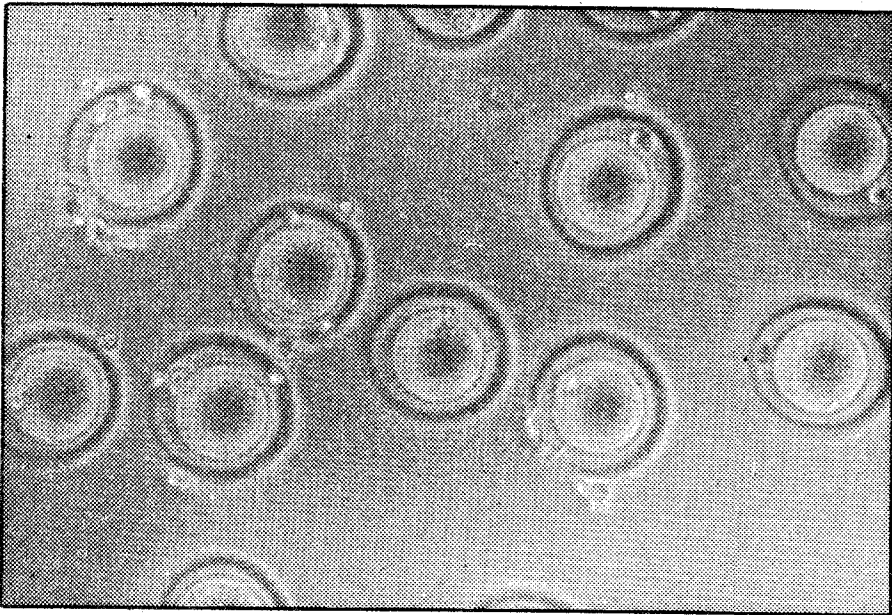


## A dos niveles diferentes, la biología celular y la molecular avanzan en el conocimiento de los procesos fundamentales

# Ovocitos de hámster, fecundados con espermatozoides humanos para analizar anomalías cromosómicas



Ovocitos de hámster recubiertos por la zona pelúcida. En muchos de ellos se observa un corpúsculo polar

Los cromosomas son orgánulos celulares, portadores de la información genética que determina qué y cómo puede ser un individuo. Su número, en la especie humana, es de 46. En el momento de la fecundación, el cigoto recibe 23 cromosomas procedentes de su padre, a través del espermatozoide, y 23 cromosomas de su madre, mediante el ovocito.

Las anomalías cromosómicas son una de las causas más importantes de subnormalidad física y psíquica, y se encuentran también en el origen de muchos casos de infertilidad, tanto masculina como femenina, ya que se calcula que un 50 % de abortos espontáneos se deben a una alteración de los cromosomas.

### Los problemas reproductivos

Resulta pues obvio que, en muchas parejas infértiles o estériles, una de las exploraciones a realizar para determinar la causa de su problema reproductivo consistirá en un estudio cromosómico, sea de sus células somáticas (estudio del cariotipo) o de sus células germinales (estudio de la meiosis). Hay que señalar que, en estos momentos, el estudio de la meiosis tan sólo puede realizarse en el hombre, sea en una biopsia testicular o en el eyaculado, gracias a la accesibilidad del material a analizar. En la mujer, la obtención de ovocitos sigue siendo difícil, y el número de células que se consiguen, escaso.

Sin embargo, aunque estos estudios sean extraordinariamente útiles para establecer un pronóstico sobre la posible fertilidad de la pareja, tan sólo permiten obtener datos indirectos acerca de la dotación genética de las células que intervendrán en la fecundación y, por tanto, se hallan sujetas a posibles errores.

Por esta razón, los investigadores interesados en este tema hemos intentado, durante muchos años, poder llegar a analizar directamente los cromosomas de las células germinales. Pero para poder estudiar los cromosomas de cualquier tipo de célula es necesario que ésta se encuentre en división.

El espermatozoide es una célula con un núcleo extraordinariamente compacto, que sólo entrará en división después de penetrar en

un ovocito. Y el ovocito es una célula de curioso comportamiento, que sólo nos permite analizar sus cromosomas después de haber sido fecundado por un espermatozoide.

Por tanto, en principio los cromosomas de las células germinales tan sólo pueden ser estudiados después de que se haya formado un cigoto. Este tipo de solución se ha empleado en especies animales, y constituye una técnica muy valiosa (por ejemplo, en embriones de ratón los doctores J. Santaló y A. M. Estop, de nuestro departamento, han podido determinar que la fertilización in vitro (FIV) no aumenta el riesgo de anomalías cromosómicas en la descendencia). Sin embargo, su aplicación a la especie humana es imposible, ya que para estudiar los cromosomas de los gametos es necesario destruir (fijar) al cigoto, y elementales razones éticas lo impiden.

Debido a ello, se ha intentado estimular al espermatozoide introduciéndolo en un ovocito no humano; es decir, en términos más simples, proporcionándole un medio adecuado que le permita dividirse. Este es el origen de las pruebas de penetración de ovocitos de hámster con espermatozo-

idos humanos, que han puesto a punto en nuestro laboratorio los doctores J. Benet, A. Genescá, J. Navarro y C. Templado.

La técnica es compleja. En primer lugar, hay que superovular hámsteres hembra mediante un tratamiento hormonal adecuado, para obtener un número elevado de ovocitos. De cada hembra pueden conseguirse unos 25-50 ovocitos. Como que en cada experimento se utilizan entre 200 y 250, ello implica tratar a 5-8 hámsteres cada vez.

Además, el ovocito está rodeado por una estructura llamada zona pelúcida, que impide la penetración de espermatozoides de otras especies, y, por tanto, de espermatozoides humanos (ver fotografía). Esta estructura debe ser eliminada, empleando un tratamiento enzimático.

Al mismo tiempo, se prepara la muestra de semen, colocando los espermatozoides en un medio adecuado, en el que se mantienen durante un cierto tiempo para que los espermios más móviles se separen de los demás (selección de espermatozoides), y luego se someten a un proceso de capacitación, es decir, se les prepara para que

sean capaces de penetrar en el ovocito.

A continuación, ovocitos y espermatozoides se ponen en contacto, para que tengan lugar una fertilización in vitro. El único criterio válido de penetración es la presencia en el interior del ovocito de una cabeza de espermatozoide hinchada (ya que, al penetrar, el espermatozoide se descondensa para entrar en división), acompañada de una cola. Cualquier otro criterio de penetración debe ser desechado, ya que se presta a errores.

Esta primera parte de la prueba, llamada Hamster Test (HT) constituye una indicación de la capacidad de penetración de los espermatozoides humanos. El HT se usa en programas de FIV para determinar si los varones con seminogramas deficientes tienen o no buenas posibilidades de éxito. En un estudio reciente, realizado en colaboración con el Instituto Dexeus, y presentado al primer Congreso de la Sociedad Europea de Reproducción Humana, la prueba dio una sensibilidad superior al 80 %.

Si los ovocitos penetrados se mantienen en incubación durante

altamente significativa de espermatozoides.

Una aplicación inmediata de este método está en relación con los intentos de numerosos equipos para mejorar la calidad del semen en pacientes infértiles, y aumentar así el rendimiento de los programas de FIV.

Estos intentos tienen una finalidad altamente plausible, pero existe el peligro de que, al aumentar el número de espermatozoides móviles, se esté facilitando que espermatozoides anormales que no tendrían posibilidad de fecundar al ovocito por tener una movilidad disminuida, logren hacerlo. Por tanto, será necesario que los resultados de cualquier método de mejora del semen sean comprobados mediante el estudio de los cromosomas de los espermatozoides conseguidos, antes de su aplicación a la especie humana.

### En busca de un método

Hasta aquí, hemos tratado del estudio de los cromosomas de los gametos masculinos. Hemos comentado también que la incidencia de anomalías cromosómicas debe ser parecido en la mujer. De ello se desprende el interés del análisis de los cromosomas del ovocito. Por el momento, no existe un método adecuado para ello. Sin embargo, en nuestro departamento se han iniciado experiencias en este sentido, utilizando un sistema animal que esperamos poder aplicar en breve a la especie humana.

La técnica consiste en estimular artificialmente la división del ovocito, sin intervención de un espermatozoide (partenogénesis). De esta forma, el ovocito se divide como si fuese un cigoto, pero contiene sólo la mitad femenina de los cromosomas (haploide), los cuales son también perfectamente analizables.

Aunque, por razones técnicas, el número de ovocitos susceptibles de estudio sea mucho menor que el de espermatozoides, creemos que los resultados que esperamos obtener en breve serán también útiles para mejorar las posibilidades reproductivas de las parejas infértiles.

JOSÉ EGOZCUE  
Catedrático de Biología Celular  
Universidad Autónoma de Barcelona

## Integrar genes extraños, una etapa casi superada

La manipulación genética de los mamíferos no es ya un hecho nuevo ni una noticia, es casi ya una rutina. Hace un par de años se demostró que se podía inyectar en el núcleo de huevos fecundados de ratones un gen aislado, caracterizado y producido en cantidades importantes gracias a las técnicas de ingeniería genética en bacterias, y se observó que este gen funcionaba correctamente y se transmitía a su descendencia. La fotografía del ratón grande como una rata dio la vuelta al mundo. Una vez demostrado que esto era posible había que demostrar que era útil. Dos recientes experimentos van en esta dirección.

Uno de los resultados recientemente publicados explica la introducción de un gen externo en huevos fecundados de especies animales importantes desde un punto de vista económico como son el conejo, el cordero y el cerdo. El

gen estudiado ha sido el mismo que se introdujo en el ratón: el gen humano de la hormona del crecimiento. Los problemas técnicos con que se encontraron los grupos que realizaron tal trabajo fueron muchos, el coste económico, sin duda, ha sido elevadísimo. La técnica consiste en extirpar óvulos de hembras tratadas mediante hormonas para que den una superproducción de estos óvulos, fecundarlos "in vitro", inyectar DNA mediante agujas finísimas en sus núcleos y después implantar los embriones así tratados en hembras apropiadas. Desde luego, cada una de estas etapas es delicada en sí misma.

En los experimentos recientemente publicados, alrededor de 2.000 huevos de cerdo y conejo y 1.000 de cordero fueron inyectados, algo que no es evidente de por sí. La técnica de microinyección en núcleos es algo muy delicado y,

además, cada especie presenta dificultades características que hay que resolver. Tampoco es evidente la implantación del huevo fecundado e inyectado en el útero de hembras preparadas. Por esta razón el porcentaje de nacimientos fue bajo, alrededor del 10 por ciento, y de éstos únicamente algo más de otro 10 por ciento de los cerdos y conejos nacidos llevaban el gen inyectado, en el caso del cordero este porcentaje fue de sólo un uno por ciento. Finalmente, el gen se expresaba en un buen porcentaje de estos animales, pero en ningún caso se observaron cambios en el tamaño corporal de los animales. Se trata, por tanto, de un éxito parcial. Sin duda, lo importante es que el gen llegue a integrarse y esto lo han conseguido los investigadores americanos; el gen utilizado era un simple modelo que podrá ciertamente perfeccionarse en un futuro próximo. No hay que extrañarse, por ejemplo, de que la hormona humana no funcione en los cerdos.

El segundo trabajo ha sido publicado simultáneamente por un grupo francés de Estrasburgo y un grupo de investigadores japoneses y americanos. Se trata de un ejemplo de "terapia génica". Como ya se había realizado hace tiempo en la mosca drosophila, se trata en este caso de corregir el mal funcionamiento de un gen: un gen del sistema inmunitario. Así, se ha realizado la inyección del gen purificado en forma de DNA en el núcleo de ratones mutantes que no lo poseían. Del análisis de los

ratones nacidos de los embriones tratados se demuestra que se ha conseguido integrar el gen y recuperar su función, tal como se da en los ratones normales. En los dos casos publicados los resultados son similares aunque no idénticos, pero coinciden en la adecuada integración del gen y su funcionamiento.

Estos experimentos recientes demuestran los rápidos avances en la ingeniería genética de mamíferos. Es evidente que no estamos lejos del día en que podamos introducir cualquier gen que esté aislado en prácticamente cualquier especie de interés económico. Y desde luego, también genes que se hayan podido modificar a voluntad en el laboratorio. Ello no quiere decir que podamos construir las variedades que se quieren ya que genes aislados de interés comercial tampoco hay tantos (su número aumenta cada día). Por otra parte, lo que se está haciendo es introducir un único gen, y desde luego, por ahora al azar en cuanto al lugar donde se integra en el DNA del animal receptor. Sin embargo, es posible que se puedan obtener con cierta facilidad variedades de mayor tamaño, con una mayor resistencia a enfermedades o que sinteticen un producto interesante. Sin duda, el interés económico potencial de tales posibilidades explica el coste de los experimentos que se están haciendo. Lo que sí es seguro es que este tipo de experimentos está permitiendo conocer con gran detalle el funcionamiento de genes incluso en un

sistema tan complejo como es el sistema inmunitario. El interés de estas técnicas para la investigación básica es indiscutible.

No hay duda tampoco de que estos avances nos llevan a la misma pregunta de siempre: ¿serán estas técnicas aplicables a humanos? Y no hay que vacilar en responder afirmativamente ya que lo que se pueda conseguir en conejos, cerdos o corderos y pronto en vacas no tiene por qué no ser aplicable en humanos. La pregunta quizá deba ser otra: ¿deben ser estas técnicas aplicadas a humanos? Y probablemente por ahora no hay que vacilar en responder negativamente a esta cuestión.

Ello tanto por la dificultad y los riesgos que entraña tal técnica, en

particular por el bajo nivel de éxito y la impredecibilidad de los resultados como porque si bien puede ser posible la corrección de ciertas malformaciones congénitas por "terapia génica" como se ha hecho en los ratones, es posible que como en tantos otros casos sea mejor la medicina preventiva mediante análisis genéticos profundos (que la misma ingeniería genética puede extender a prácticamente cualquier gen) que la "cirugía genética". En cualquier caso la era de las especies animales modificadas genéticamente está a las puertas.

PERE PUIGDOMÈNECH  
ROSELL

Instituto de Biología de Barcelona (CSIC)

## Viaje tranquilo y seguro

MUTUA NACIONAL DEL AUTOMÓVIL

**M.N. ASISTENCIA**

NOMBRE  
CASTILLO FERNÁNDEZ CARLOS

Nº MUTUALISTA 840312

MATRÍCULA CA-7643-BE

GESA ASISTENCIA

MUTUA NACIONAL DEL AUTOMÓVIL

Sede Social: Doctor Ferran, 3-5. 08034 BARCELONA. Tel. (93) 204 00 12

## Residencia Hogar 3.ª edad

En Barcelona, junto al Parque Guinardó, en Fuente Fargas-Horta. Su residencia ideal para cortas y largas estancias. Asistencia médica-sanitaria. Curas de reposo. Descanso de la 3.ª edad. Convalecencia, sol, comida y trato familiar. C. Aguilar, 54. Tel. 220-90-99

## Ajuntament de Barcelona

### CONCURRENCIA DE OFERTAS

Se convoca concurrencia de ofertas para la contratación de las siguientes obras:

- Proyecto de rehabilitación de las dependencias de la Subárea de Medio Ambiente, fase A, 3.790.713 pesetas.
- Proyecto de rehabilitación de las dependencias de la Subárea de Medio Ambiente, fase B, 4.999.562 pesetas.
- Proyecto de rehabilitación de las dependencias de la Subárea de Medio Ambiente, fase C, 4.499.994 pesetas.

Los pliegos de condiciones que regirán los contratos se hallan expuestos al público en el Negociado de Medio Ambiente, Paseo de Circunvalación, n.º 1. Tel. 319-43-50. El plazo de presentación de ofertas finaliza el próximo día 30 de agosto, a las 10 horas.

El pago de este anuncio correrá a cargo de los adjudicatarios.