

1

## INTRODUCCIÓN

En España, alrededor del **15% de las parejas en edad reproductiva tienen problemas de fertilidad**. Esto se ve reflejado en el auge sin precedentes de las intervenciones de reproducción humana asistida (RHA) durante la última década. Sin embargo, procesos como la **Fecundación In-Vitro (FIV)** continúan siendo poco eficientes con **sólo 3 nacidos vivos por cada 10 transferencias embrionarias**. Estudios apuntan a la **baja calidad ovocitaria** como **responsable del fracaso en las intervenciones de RHA**, con lo que criterios más fiables de selección son necesarios para poder afrontar ésta problemática.

La apoptosis es el principal mecanismo de eliminación de oocitos en el proceso de atresia. Algunos **marcadores apoptóticos han sido propuestos como indicadores de la calidad ovocitaria**, sin que su valor como criterios de selección de oocitos haya sido demostrada.

3

## MARCADORES APOPTÓTICOS

- La **apoptosis afecta a todas las células del folículo**, por lo que es posible analizar la actividad apoptótica en su conjunto.
- Las células presentan una importante **actividad secretora** permitiendo también el análisis del **Fluido Folicular (FF)**, rico en marcadores apoptóticos.

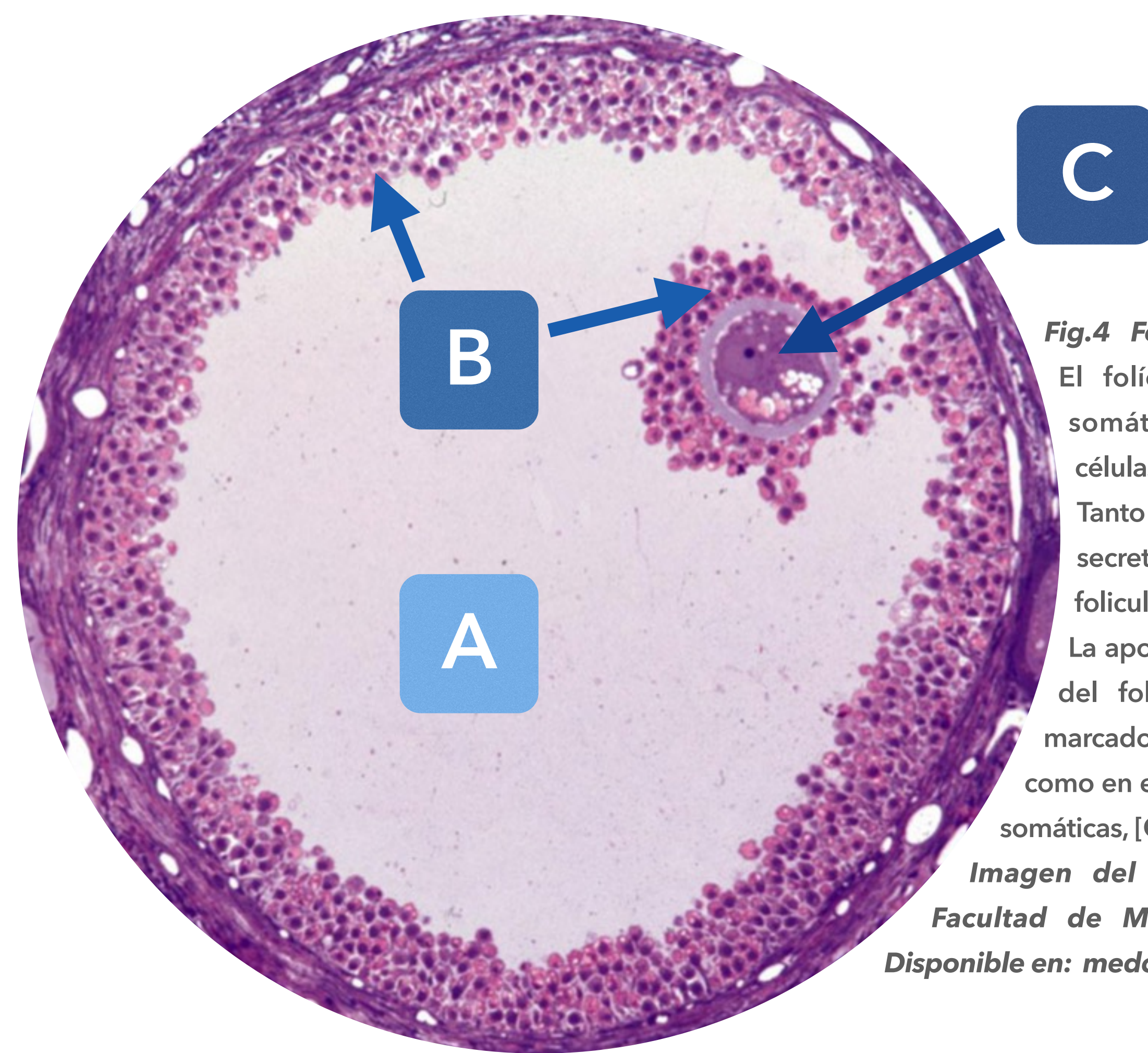


Fig.4 Folículo de Graaf (tinción H-E): El folículo está formado por células somáticas (células de la granulosa, células del cumulus) y por el oocito. Tanto células somáticas como oocito secretan diferentes sustancias al fluido folicular (FF) que baña la cavidad antral. La apoptosis al afectar a todas las células del folículo, permite la búsqueda de marcadores apoptóticos en su conjunto, así como en el FF. [A] Fluido folicular, [B] Células somáticas, [C] oocito. Imagen del Dpto. Biología Celular de la Facultad de Medicina. Universidad de Yale. Disponible en: [medcell.med.yale.edu/image\\_gallery](http://medcell.med.yale.edu/image_gallery)

2

## LA APOPTOSIS EN EL PROCESO DE ATRESIA

- La **apoptosis es el principal mecanismo de muerte celular** durante el proceso de **atresia folicular**, en donde aproximadamente el **99% de los oocitos son eliminados**.
- Los eventos celulares que se suceden durante la apoptosis permiten la eliminación de la célula sin que se vean afectadas las células vecinas [Fig. 1].

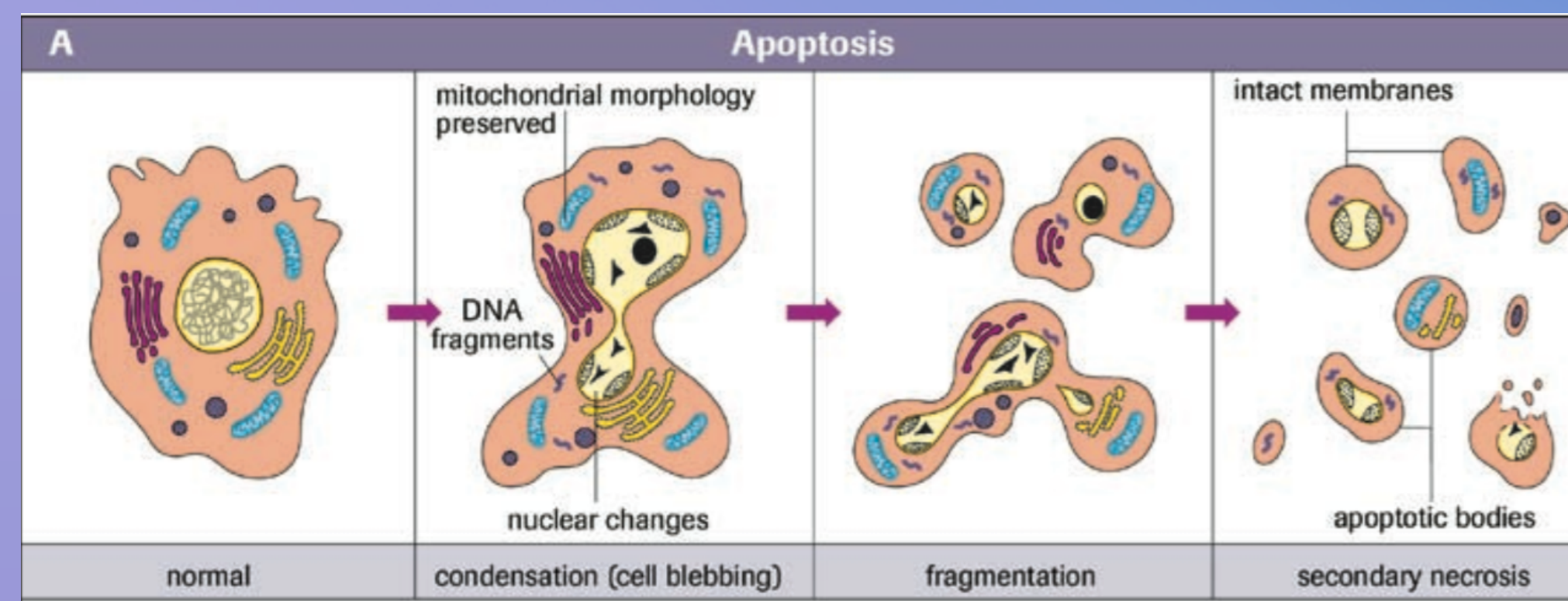
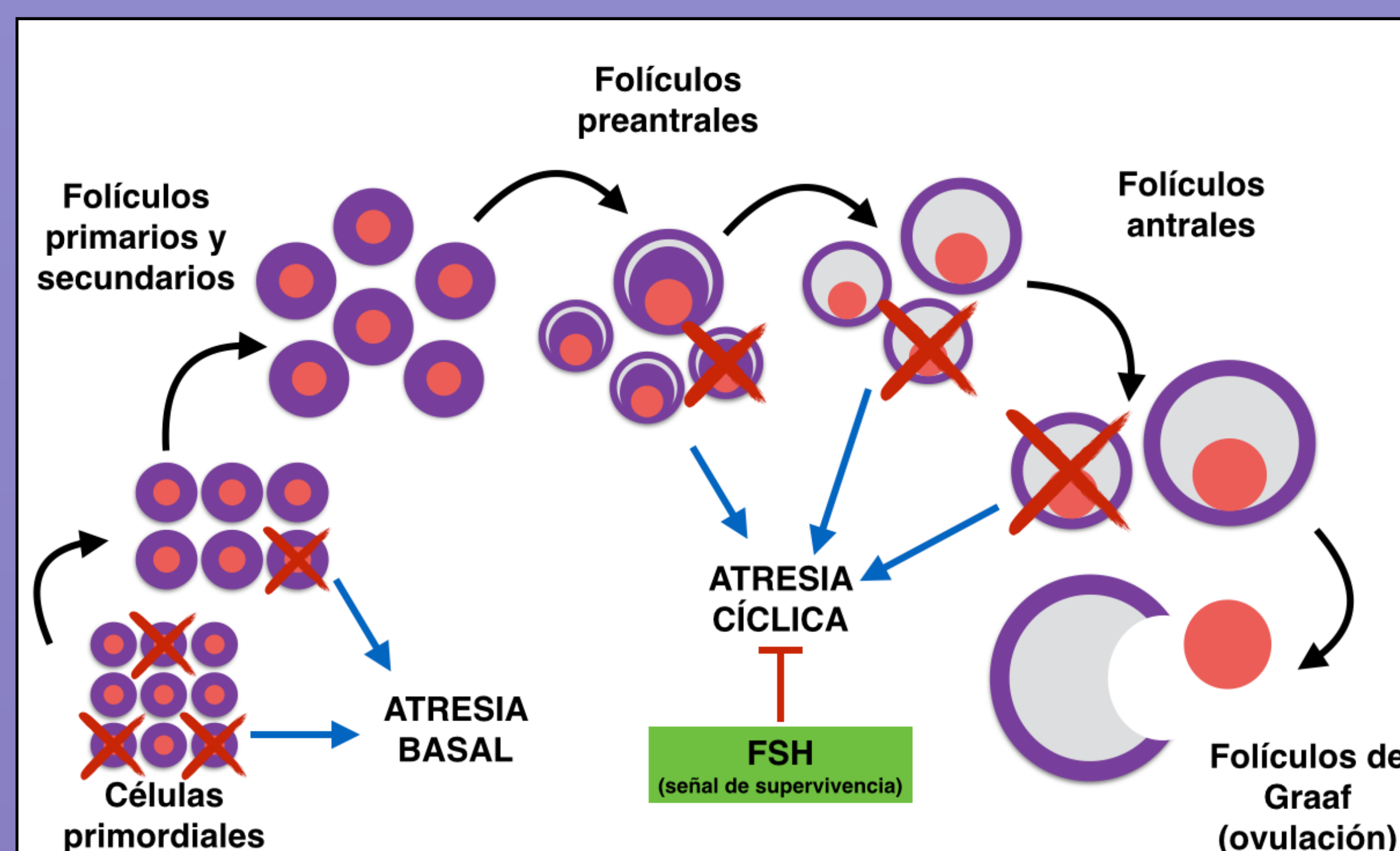
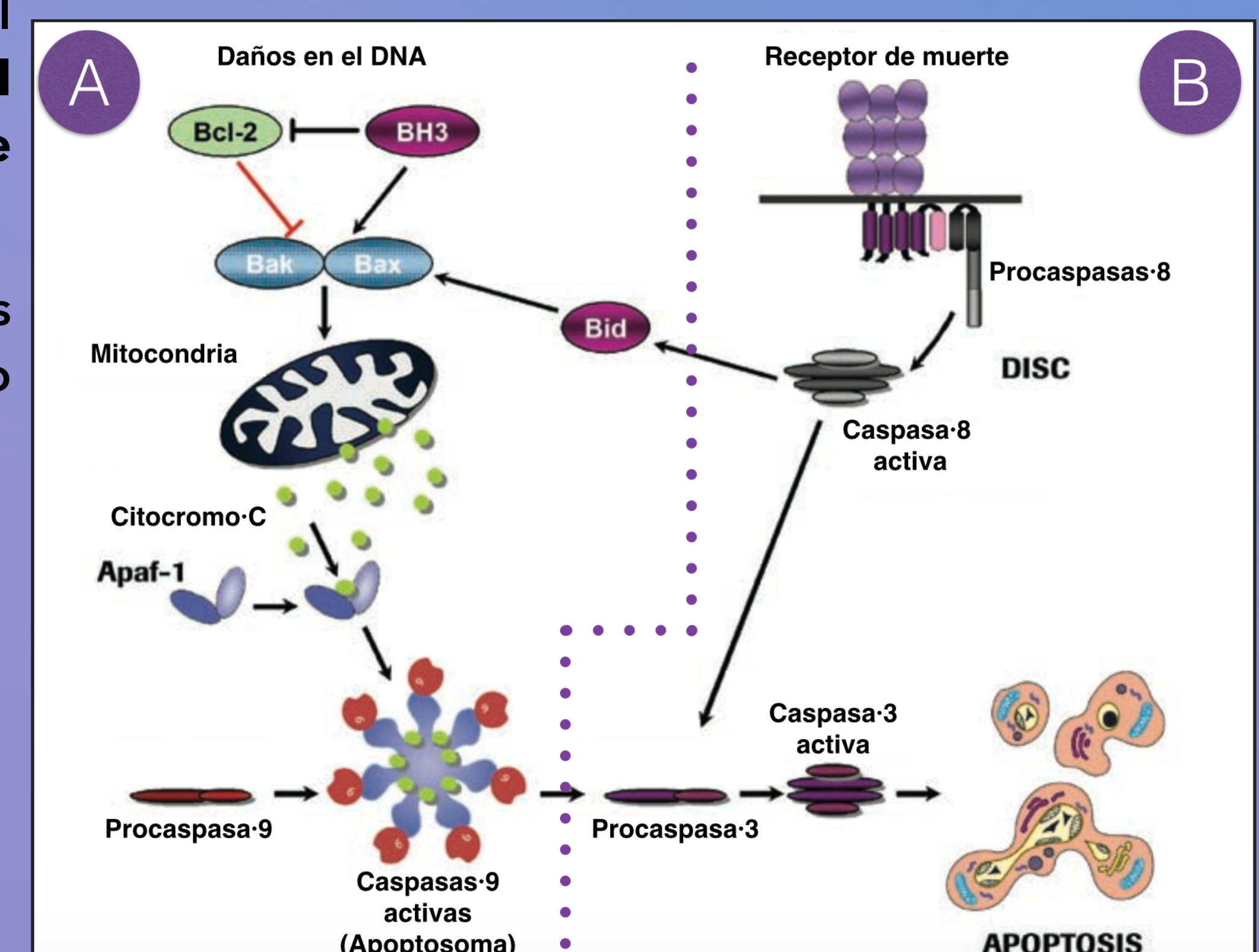


Fig.1 Eventos celulares durante la apoptosis: entre las manifestaciones morfológicas que se observan durante la apoptosis destacan la condensación de la cromatina, la fragmentación del DNA, la pérdida de uniones celulares y la formación de cuerpos apoptóticos. El plasmalema y las membranas de los organelos se mantienen intactas evitando la salida del contenido celular, permitiendo que las células circundantes no se vean afectadas. Modificado de Rode and Eisel "Apoptosis, cytotoxicity and cell proliferation" (2008)

- Existen dos vías de **activación apoptótica** según el origen de la señal: la **vía intrínseca o mitocondrial** [Fig. 2A] y la **vía extrínseca o de los receptores de muerte** [Fig. 2B].

- Las **moléculas ejecutoras** en la apoptosis son las **caspasas**, de las cuales distinguimos iniciadoras o efectoras según su papel en la **cascada enzimática**.

Fig.2 Vías de activación de la apoptosis: (A) La vía mitocondrial de la apoptosis se inicia en respuesta a señales de estrés celular como el daño del DNA, propiciando la salida de citocromo-C de las mitocondrias que media la activación de la procaspasa-9 que acaba activando a la efectora caspasa-3, mediante la formación del apoptosoma. (B) La vía extrínseca de la apoptosis se inicia en respuesta a señales externas captadas por los receptores de muerte (Fas) que recluta procaspasas-8 que acaban activando la caspasa-3 encargada de iniciar los mecanismos de muerte celular. Modificado de Rode and Eisel "Apoptosis, cytotoxicity and cell proliferation" (2008)



- Existen dos tipos de atresia: la **atresia basal**, en donde se eliminan folículos inmaduros; y la **atresia cíclica** en donde se eliminan folículos más grandes a medida que va avanzando la maduración [Fig.3].

Fig.3 Atresia basal y Atresia cíclica durante la maduración folicular: La atresia basal no está relacionada con el ciclo menstrual, afectando sólo a células primordiales y a folículos primarios y secundarios que no superan los 2 mm de diámetro. Por su parte, la atresia cíclica actúa eliminando a los folículos conforme avanza su maduración durante el ciclo menstrual, siendo el principal motor del fenómeno de selección y dominancia oocitaria. Basado en McGee y Hsue "Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles" (2000)

3.A

MARCADORES APOPTÓTICOS EN EL FLUÍDO FOLICULAR	
MARCADOR	RESULTADOS
ROS	<ul style="list-style-type: none"> <li>El estrés oxidativo causa la fragmentación del DNA induciendo apoptosis</li> <li>Altos niveles de <math>H_2O_2</math> en folículos no atréticos</li> <li>Mayor concentración de ROS en pacientes que lograron embarazo tras FIV</li> <li>Resultados contradictorios al comparar con casos de pacientes con endometriosis</li> </ul>
sFas/sFasL	<ul style="list-style-type: none"> <li>Altos niveles de sFas típico de oocitos maduros</li> <li>Altos niveles de sFasL relacionados con altos índices apoptóticos</li> <li>Resultados ambiguos cuando se tienen en cuenta las causas de infertilidad</li> </ul>
IGF-I	<ul style="list-style-type: none"> <li>Altos niveles de IGF-I se relacionaron con una mayor concentración de Bcl-2 (antiapoptótico) y menor expresión de Bax (proapoptótico).</li> <li>Mayor índice apoptótico cuando los niveles de IGF-I son bajos</li> </ul>
Cell-free DNA (cfDNA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>El cf-DNA es liberado al FF por células apoptóticas.</li> <li>Una mayor concentración de cf-DNA se correlaciona con mayor incidencia de apoptosis</li> </ul>

3.B

MARCADORES APOPTÓTICOS EN CÉLULAS SOMÁTICAS FOLICULARES	
MARCADOR	RESULTADOS
Incidencia de cuerpos apoptóticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mayor incidencia de cuerpos apoptóticos relacionada con oocitos no fertilizados</li> <li>Alta incidencia apoptótica en mujeres que no consiguieron establecer embarazo tras FIV</li> <li>Mayor incidencia apoptótica en oocitos maduros</li> <li>Resultados contradictorios según criterios estudiados</li> </ul>
Índice apoptótico en células granulosas luteinizadas	<ul style="list-style-type: none"> <li>Menor cantidad de células apoptóticas en mujeres que consiguieron establecer embarazo clínico</li> <li>Existen resultados contradictorios según la técnica utilizada y los criterios estudiados</li> </ul>
Bcl-2 en células de la granulosa	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mayor presencia del factor antiapoptótico Bcl-2 en casos de pacientes embarazadas tras FIV</li> </ul>
Expresión génica de marcadores apoptóticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>No se encontraron diferencias significativas entre oocitos maduros e inmaduros</li> </ul>

3.C

- Los **métodos de análisis** de la actividad apoptótica en el oocito son **demasiado invasivos** e impiden su posterior fertilización.
- Sin embargo el análisis de los **corpúsculos polares** permite extrapolar resultados

MARCADORES APOPTÓTICOS EN EL OOCITO	
MARCADOR	RESULTADOS
Longitud telomérica en oocitos y corpúsculos polares	<ul style="list-style-type: none"> <li>Telómeros muy cortos inducen apoptosis en el embrión</li> </ul>

4

## CONCLUSIONES

- Se ha observado una **estrecha relación** entre la apoptosis de células foliculares y la **viabilidad del oocito**.
- Hasta la fecha **no se ha identificado ningún marcador apoptótico** que pueda ser **indicador fiable** de la **calidad ovocitaria**.
- La **mayoría de criterios de selección propuestos no son aplicables a la práctica clínica** debido a su **difícil implementación**.
- El **carácter multifactorial** de la **dinámica ovárica dificulta la identificación de marcadores fiables** en base a **análisis univariados**.
- Futuros estudios que relacionen diferentes marcadores en base a un **análisis multivariable** son necesarios.

5

## REFERENCIAS

Rode, H. J., and D. Eisel. "Apoptosis, cytotoxicity and cell proliferation." (2008). // Haouzi, D., et al. "Qualité ovocytaire et embryonnaire: les marqueurs apoptotiques ont-ils leur place dans le potentiel préimplantatoire?." *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 36.7 (2008): 730-742. // Revelli, Alberto, et al. "Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics." *Reprod Biol Endocrinol* 7.40 (2009): 4330-7. // Broekmans, F. J., et al. "A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome." *Human reproduction update* 12.6 (2006): 685-718.