

MECANISMO DE LA FECUNDACIÓN HUMANA

RESUMEN

Se realiza una revisión actualizada respecto a los conceptos actuales basados en la biología del desarrollo temprano (hoy combinando conocimientos de biología celular y genética molecular), de una forma accesible y haciendo consideraciones desde la ciencia básica para sus implicaciones con la clínica. El trabajo se desarrolla dividiendo el mecanismo de la fecundación humana en varias fases, con fines didácticos: la activación espermática, la incorporación del espermatozoide hacia el citoplasma del óvulo, la activación metabólica del óvulo, la formación de los pronúcleos, la migración de los pronúcleos, y la iniciación de la primera división celular y el desarrollo inicial. Así mismo, se hace algunas consideraciones especiales en relación con el mecanismo de regulación epigenética en el desarrollo temprano y algunas implicaciones del desarrollo biológico en la cuestión terminológica científica que identifica estas etapas.

Palabras clave: Mecanismos de la fecundación, gametos humanos, espermatozoide, óvulo, epigenesis.

Jorge Alberto Álvarez-Díaz

Rev Per Ginecol Obstet. 2007;53(1):45-52

Recepción: 8 de enero de 2007

Aceptación: 2 de febrero de 2007

Médico Sexólogo Clínico; Magister en Bioética; Diplomado en Biología Molecular y en Biomedicina Molecular; Doctorando en el Programa de Ciencias Socio-sanitarias y Humanidades Médicas, Universidad Complutense de Madrid.

Correspondencia a: Dr. Jorge Alberto Álvarez Díaz, Universidad Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria, Facultad de Medicina, Plaza de Ramón y Cajal s/n, Departamento de Historia de la Medicina, Pabellón IV, Sótano, Despacho 3. CP 28040, Madrid, España. Tel. (+34) 913 941 521, Fax. (+34) 913 941 803. e-mail: bioetica_reproductiva@hotmail.com

ABSTRACT

We do an updated revision in regards to the current concepts of biology-based early development (combining knowledge of cell biology and molecular genetics), in an accessible way and considering implications of basic science on clinical practice. Didactically we divide the mechanism of human fertilization in several phases: sperm activation, incorporation of the sperm in the ovum cytoplasm, metabolic activation of the ovum, pronuclei formation, pronuclei migration, and initiation of the first cellular division and initial development. Some special considerations are also done regarding the mechanisms of epigenetic regulation in early development, and some implications on biological development in scientific names identifying these stages.

Key words: Fertilization mechanisms, human gametes, sperm, ovum, epigenesis.

INTRODUCCION

Hace casi diez años que apareció un artículo interesante sobre el mecanismo de fertilización en la Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia⁽²⁾. El propósito fundamental de este trabajo es una puesta al día en algunos conocimientos al respecto.

A la luz de la genética y la biología molecular, se ha podido comprender cada vez mejor el proceso de la fecundación. Una cuestión importante sobre la génesis de un ser humano es que la fecundación no es un evento que surja en un solo

un momento, sino un proceso largo en el tiempo y molecularmente complejo^(3,4).

La biología de la reproducción y la biología del desarrollo han utilizado muchas herramientas de biología celular, genética y biología molecular para poder comprender mejor la fecundación humana. La fecundación podría ser definida como el proceso que culmina en la unión de un núcleo espermático con el núcleo del óvulo, dentro del citoplasma activado del óvulo. Para que esto ocurra adecuadamente, algunos otros eventos deben de acontecer⁽⁵⁾:



- Activación espermática.
- Incorporación del espermatozoide hacia el citoplasma del óvulo, lo cual incluye la unión y fusión de las membranas plasmáticas del óvulo y el espermatozoide.
- Activación metabólica del óvulo y la iniciación del primer ciclo celular.
- Formación de los pronúcleos y fusión nuclear.
- Migración de los pronúcleos, lo que permite la unión genómica.
- Iniciación de la primera división celular y el desarrollo inicial.

Además, existen mecanismos de regulación epigenética, descubriéndose cada vez más moléculas producidas en las trompas que son indispensables para el desarrollo ulterior a la fecundación del óvulo por el espermatozoide. Esto es, sin estas moléculas no es posible que un cigoto alcance su desarrollo a un embrión. En medicina reproductiva esto es bien conocido, ya que si la maduración en el laboratorio de un óvulo resulta fallida, se recomienda hacer un cocultivo con células de la trompa, lo que crea las condiciones más parecidas a las fisiológicas para el desarrollo del cigoto.

Hay que partir del conocido hecho de que tras un eyaculado de un varón fértil, entendiéndose entonces que existan un mínimo de 20 millones de espermatozoides por mililitro eyaculado y un mínimo de 3 mL eyaculados, no más de 200 espermatozoides llegarán al tercio externo de la trompa de Falopio para intentar interactuar con el óvulo. Por otro lado, es conocido actualmente que el tamaño del folículo tiene relación con la calidad del óvulo, y esto

tiene repercusiones para que se produzca o no la fecundación. El líquido folicular tiene varios agentes que pueden inducir la quimiotaxis de los espermatozoides, entre ellos la progesterona (que podría tener entonces una significación clínica su utilización en ciclos de medicina reproductiva); pero, muy probablemente no es el principal agente quimiotáctico⁽⁶⁾.

EVENTOS ESPERMÁTICOS

Si bien es muy importante una serie de eventos espermáticos para que se dé el proceso de la fecundación, ellos no ocurren de manera aislada, sino siempre en comunicación con el óvulo. Se sabe que la matriz extracelular del *cúmulus oóphorus* (estructura única de los óvulos de mamíferos superiores) es esencial no solo para la ovulación, sino también para todo el proceso de la fecundación⁽⁷⁾.

La capacitación es necesaria para el desarrollo de la habilidad de la reacción acrosómica en mamíferos. Durante la interacción de los gametos, la reacción acrosómica inducida por el *cúmulus oóphorus*, es un prerrequisito para que el espermatozoide pase la zona pelúcida, se funda con y penetre al óvulo⁽⁸⁾. La P₄ (progesterona) secretada por las células del *cúmulus*, es un cofactor importante para que ocurra este evento de exocitosis. La reacción acrosómica resulta de la fusión entre las membranas acrosomal externa y celular, que llevan a la exposición de la membrana acrosomal interna. La unión de agonistas (P₄ o la glicoproteína ZP₃) a receptores de la membrana plasmática activa señales intraespermáticas y vías enzimáticas relacionadas con la reacción acrosómica.

Entre las moléculas descritas como receptores espermáticos potenciales se incluye las proteínas ZP (de zona pelúcida), proteína Gi/Go y receptores de tirosinaquinasa. Los receptores espermáticos para P₄ están pobremente caracterizados, excepto un receptor parecido a GABA_A. La reacción acrosómica promovida por ZP (y P₄) está mediada por un incremento obligatorio en la concentración de calcio intracelular, que aparece primero en el segmento ecuatorial del acrosoma y se esparce por toda la cabeza. Los canales iónicos de la membrana plasmática relacionados con la entrada de calcio son operados por una despolarización de la membrana plasmática y fosforilaciones proteicas mediadas por la proteinaquinasa C y una proteína tirosinaquinasa⁽⁹⁾. Parte del incremento del calcio intracelular puede ser debido a la liberación del calcio almacenado, a través de canales dependientes de IP₃ y cAMP. Además, la activación de la adenilato ciclasa y la fosfolipasa C incrementan el calcio intracelular y estimulan la actividad de PLA₂ y la despolimerización de la actina, llevando a la fusión de las membranas.

En la zona pelúcida de los mamíferos se encuentran varias glicoproteínas importantes para los eventos de reconocimiento y adhesión celulares. Estas glicoproteínas son la ZP₁, ZP₂ y ZP₃, siendo esta última la más estudiada⁽¹⁰⁾. Los residuos de carbohidratos de las glicoproteínas ZP tienen un rol clave en este paso temprano de la fecundación. La imagen de la zona pelúcida a la microscopía electrónica ofrece una apariencia de una especie de malla. ZP₂ y ZP₃ tie-



nen filamentos, ZP1 entrecruza estos filamentos como una malla tridimensional y ZP3 actúa como un receptor del espermatozoide. La unión específica de una especie de espermatozoide a la zona pelúcida es mediada por una molécula (galactosil transferasa) en la superficie de la cabeza del espermatozoide, que une el oligosacárido de unión O de la ZP3 a una proteína tirosinaquinasa⁽¹¹⁾. Una vez localizada la unión, ocurre en el espermatozoide la reacción acrosomal. La ZP3 funciona como molécula de adhesión y como secretagoga para la exocitosis acrosomal⁽¹²⁾. Se ha encontrado 30 000 sitios de unión en la ZP3. Esto sugiere una unión compleja, en la que participan múltiples receptores en la superficie del espermatozoide, sugiriéndose cada vez más que se trata de moléculas de la familia del complemento expresadas a nivel de membrana⁽¹³⁾.

La familia de glicoproteínas ZP ha sido ampliamente estudiada desde las década de los 80's, en modelos de ratón, y extrapolados sus resultados a los seres humanos. Sin embargo, parece ser que otras especies de mamíferos (entre ellas los seres humanos) producen una cuarta glicoproteína de esta familia, una ZP4^(14,15), que estaría involucrada junto con la ZP3 en la activación espermática y la inducción de la reacción acrosomal^(16,17,18). De aquí que no estén claros estos eventos aún en seres humanos, requiriéndose un mayor estudio al respecto⁽¹⁹⁾. Esta serie de hechos, entre otros, ha hecho que se cuestione seriamente si el modelo de ratón es adecuado para el estudio de las fallas en la fecundación y extrapolarlas a seres humanos⁽²⁰⁾.

Al completarse la reacción acrosómica, se liberan enzimas (como la acrosina, una proteasa tripsino dependiente, y la neuraminidasa) que causan lisis de la zona pelúcida⁽²¹⁾, teniendo importancia para ello la actividad del proteasoma espermático⁽²²⁾.

Antes de continuar, es importante aclarar dos aspectos que tienen relevancia para la clínica. Por un lado, ya se ha mencionado la baja proporción de espermatozoides que alcanzan el tercio externo de la trompa, aludiendo por tanto a su buena motilidad. Sin embargo, estudios recientes muestran que más de 75% de los espermatozoides de hombres fértiles no tiene capacidad de interactuar con la zona pelúcida⁽²³⁾. Esto tiene repercusiones importantes en entender lo que significa la fertilidad o la infertilidad, así como en los estudios de análisis seminal. Por otro lado, varones oligospermicos, a pesar de tener glicoproteínas ZP normales, tienen interacciones defectuosas con la zona pelúcida, por lo que cada vez se recomienda más que si acuden a tratamientos de medicina reproductiva, no se pierda tiempo y dinero en inseminación y ni siquiera en una fecundación *in vitro*, sino que se llegue directo al ICSI⁽²⁴⁾.

INCORPORACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE HACIA EL CITOPLASMA DEL ÓVULO

La incorporación física del espermatozoide hacia el citoplasma del óvulo ocurre simultáneamente con la activación del óvulo y la reacción cortical. Al fundirse el espermatozoide con el oolema (membrana del óvulo) se da origen a la singamia, es decir, al englobamiento del espermatozoide en

el óvulo. Un grupo específico de moléculas es relacionado con un anclaje tipo integrina entre ambos gametos, para que se dé la fusión⁽²⁵⁾, sugiriéndose también que puede estar mediada por moléculas con actividad de metaloproteinasas⁽²⁶⁾. Esto no está totalmente estudiado, teniendo la fertilina un papel importante aún por definir. Los microfilamentos de actina se ensamblan en la corteza del óvulo, evento fundamental para la incorporación del espermatozoide, cuyo estudio se sugiere cada vez en modelos de primate y no en modelos de ratón⁽²⁷⁾.

ACTIVACIÓN METABÓLICA DEL ÓVULO

Los óvulos son células metabólicamente quiescentes. La unión del espermatozoide y el óvulo inicia una cascada de eventos que transforman esta célula quiescente en una metabólicamente muy activa, dinámica, animada: el cigoto. Aunque hay todavía opiniones muy diversas sobre la manera precisa como esto ocurre, está claro que en todos los sistemas de fecundación una elevación de las concentraciones del calcio intracelular es el mensajero principal en la comunicación de la señal de activación.

Un mecanismo para esta elevación de las concentraciones de calcio podría ser la entrada de calcio extracelular, luego de interacción entre integrinas del óvulo con ligandos para estas proteínas, en la membrana del espermatozoide, como la fertilina⁽²⁸⁾, aunque podrían estar involucradas otras moléculas, como P-selectina, receptores Fc y moléculas CD por parte del óvulo, así como algunas otras específicas por parte del espermatozoide.



Alternativamente, el espermatozoide podría activar al óvulo también por la inyección directa de una proteína derivada del esperma, la oscilina⁽²⁹⁾. Sin embargo, se insiste que no sería esta proteína sola, sino acompañada de otra serie de eventos que permita que continúen oscilaciones de calcio, entrando hacia el óvulo, que en los mamíferos puede durar hasta varias horas⁽³⁰⁾.

Si bien la activación del óvulo se da inicialmente por entrada de calcio, el cómo esta señal inicia el desarrollo temprano no es claro⁽³¹⁾. Recientemente, se ha puesto atención al papel de la fosforilación de proteínas tirosinaquinas⁽³²⁾, ya que se conoce algunas reacciones químicas que llevan a la activación de una proteínaquinasa de 42 kDa, llamada ERK/MAP (de *mitogen activating protein*)⁽³³⁾, que finalmente lleva a la destrucción de la ciclina del MPF (de *M-phase promoting factor*).

La síntesis inicial de proteínas está dada por el mRNA del óvulo, como mecanismo de control, y este control espacio temporal de la expresión del mRNA es esencial para un gran número de procesos⁽³⁴⁾. Estos procesos, resultado final de la fecundación, incluyen la recuperación del número diploide de cromosomas, la variabilidad genética dada por la recombinación meiótica, la determinación del sexo cromosómico y genético y el inicio de la segmentación.

La membrana plasmática del ovocito se vuelve impermeable para otros espermatozoides, gracias a la reacción cortical, en donde secreta gránulos que digieren proteolíticamente sitios de unión espermática, alterando la cubierta del óvulo. Tal vez, el mejor entendido bloqueo rápido de la polispermia es el rápido bloqueo eléctrico, en donde

la apertura de canales iónicos resulta en una inversión del potencial de membrana, lo que previene la fusión adicional de otros espermatozoides.

FORMACIÓN DE LOS PRONÚCLEOS Y FUSIÓN NUCLEAR

El esperma entra al óvulo con un núcleo altamente condensado, inactivo, y también muchos óvulos están en realidad en un arresto con cromosomas meióticos condensados; la fecundación permite la condensación y remodelación de los genomas parentales. En el esperma de mamíferos, el núcleo es modificado durante la espermiogénesis, de tal forma que las típicas proteínas cromosómicas histonas son reducidas por protaminas, lo que permite un empaquetamiento del ADN en una conformación superhelicoidal⁽³⁵⁾. El ADN paterno se une a las histonas maternas y otras proteínas y es cubierto por una nueva envoltura nuclear de origen materno, que tiene láminas nucleares y complejos de poro nuclear. Este paso es crucial, ya que si no se ensamblan adecuadamente los complejos de poro nuclear con las láminas nucleares, el transporte nucleocitoplásmico no se lleva adecuadamente y la fecundación es bloqueada⁽³⁶⁾.

La fecundación se completa con una señalización por la unión genómica. En mamíferos, los pronúcleos no se funden durante la interfase: los pronúcleos adyacentes se separan por un rompimiento nuclear en la primera mitosis y los cromosomas parentales se mezclan cuando se alinean en la placa metafásica del primer huso mitótico. Como consecuencia, los eventos de la fecundación de mamíferos se inician durante la segunda meiosis y no están completos hasta la primera mitosis.

MIGRACIÓN DE LOS PRONÚCLEOS Y UNIÓN GENÓMICA

Luego de la incorporación exitosa del esperma al óvulo y la activación de éste, y coincidente con la formación de los pronúcleos, un nuevo sistema de motilidad se ensambla dentro del óvulo fecundado y su organización es dirigida por el centrosoma del espermatozoide recientemente introducido⁽³⁷⁾. El áster del espermatozoide es una estructura de microtúbulos organizada tridimensionalmente de forma radiada, organizada por el centrosoma, que se encuentra adyacente al pronúcleo. El áster del espermatozoide tiene tres funciones importantes descritas:

- su crecimiento subyacente a la corteza del óvulo guía al espermatozoide hacia el centro del óvulo,
- cuando el extremo distal de los microtúbulos dinámicos se une al pronúcleo del óvulo, da lugar a una súbita y rápida translocación hacia el centro del áster del espermatozoide, y
- la elongación continua de los microtúbulos del áster mueve ahora a los pronúcleos adyacentes hacia el centro del óvulo.

Sin embargo, el papel del áster durante la fecundación no debe ser sobreenfatizado; algunas formas de fallas en la fecundación parecen ser debidas a defectos en la organización o funcionamiento del áster⁽³⁸⁾. La γ -tubulina del centrosoma del espermatozoide atrae numerosas proteínas maternas, especialmente γ -tubulina materna y proteínas del aparato mitótico nuclear⁽³⁹⁾. Esta transformación del centrosoma del espermatozoide como precursor inactivo



vo hacia un centro organizador de microtúbulos, reproduce el centrosoma del cigoto. Se ha descrito que es crucial la integridad del espermatozoide en orden a tener un centrosoma paterno íntegro, para que se puedan dar posteriormente de una forma adecuada las divisiones mitóticas poscigóticas⁽⁴⁰⁾.

Siguiendo la migración y unión de los pronúcleos, el centrosoma se duplica y separa para llegar a ser a futuro los dos polos del primer huso mitótico. El ADN va a la replicación durante la interfase, y una nueva cascada de eventos que regulan el ciclo celular lleva a la iniciación de la primera división y el desarrollo temprano.

Al completarse la meiosis II del óvulo que permaneció en arresto en dictioteno, se expulsa también el segundo cuerpo polar. En esta etapa ocurre la integración genómica, es decir, la mezcla de cromosomas paternos y maternos. En todos los mamíferos no existe una cariogamia (fusión de ambos pronúcleos), por lo que no se forma un núcleo diploide verdadero con el cigoto.

MECANISMOS DE REGULACIÓN EPIGENÉTICA TRAS LA FECUNDACIÓN

La biología molecular, en años recientes, ha aportado muchos datos, con relación a sustentar el hecho biológico que un cigoto no tiene toda la información necesaria para desarrollarse adecuadamente hasta un ser humano, a lo largo de todo el programa de desarrollo y desde los estadios más tempranos^(41,42).

Para el desarrollo durante el periodo preimplantatorio, existen muchos factores en las trompas que

son absolutamente necesarios e indispensables para que se puedan dar de forma adecuada los estadios tempranos del desarrollo del producto de la fecundación.

Un ejemplo de la importancia de factores epigenéticos que influyen en el desarrollo más temprano, es el de los aminoácidos como moduladores. Algunos de los estimuladores más potentes del desarrollo embrionario son la taurina y la glicina, sugiriéndose que su papel es mucho más amplio que solo el de sustratos metabólicos. Una posibilidad de su mecanismo regulador podría ser a través del pH_i (pH intracelular)⁽⁴³⁾.

Por otra parte, es muy fuerte la evidencia de que, en el desarrollo preimplantacional dentro del tracto femenino, las células generan su ATP (la molécula que almacena y provee energía por excelencia dentro de la célula), a partir de sustratos presentes en el oviducto y en fluidos uterinos⁽⁴⁴⁾.

La evidencia experimental acumulada también indica que factores de crecimiento de origen materno se relacionan con la regulación de desarrollo preimplantacional⁽⁴⁵⁾. Al parecer, los factores de crecimiento estarían más relacionados con la segunda parte del desarrollo preimplantacional (formación del blastocisto y su desarrollo) que con la primera parte (división celular). La expresión de oncogenes específicos puede ser parte de las vías de señalización iniciadas por los factores de crecimiento.

También, hay evidencia que la regulación del pH_i , si bien está dado por mecanismos de transporte iónico a través de la membrana del cigoto recién formado, también es

cierto que esto depende de concentraciones de iones y sustratos presentes en el fluido del oviducto, evidenciando aquí también la participación materna⁽⁴⁶⁾.

La evidencia crece cada día más alrededor de este tema. Hoy es bien conocido que la trompa tiene un papel crucial al generar un microambiente que potencia las posibilidades de fecundación, inicio de las primeras divisiones celulares y la misma implantación. Tanto los gametos como las primeras células post-cigóticas expresan hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y hoy ya se ha demostrado también que la GnRH extrahipotalámica presente en el oviducto tiene un rol paracrino/autocrino sustancial en las primeras fases del desarrollo más temprano⁽⁴⁷⁾.

LA CUESTIÓN TERMINOLÓGICA

Un término que surge inmediatamente al hablar sobre la fecundación es el de 'embrión', por lo que se hace algunas consideraciones desde los hechos científicos.

Embrión es una palabra que etimológicamente viene del griego *embryon*, de *en* (prefijo que significa dentro de) y *bryein* (hinchar, crecer, germinar o brotar) y que da a entender la idea que surge en siglo XVII de un ente preexistente que solamente 'crece' o 'se desarrolla' dentro del útero de la madre. De hecho, la palabra como tal no existe antes del siglo XVII. La raíz es profundamente histórica. En la época actual, embrión tiene otro significado, muy claro para la embriología, que dice que se trata de un "Término que se refiere al desarrollo humano en las etapas iniciales de la diferenciación. Por lo general el tecnicismo no se emplea



para referir al producto de la fecundación sino hasta la segunda semana, después de formado el disco embrionario bilaminar⁽⁴⁸⁾. De aquí que haya aparecido el neologismo de 'pre-embrión', para denominar al conjunto de estadios previos a que apareciera el disco embrionario bilaminar. Contrario a lo que se ha expresado muchas veces, no quiere decir que al hablar de pre-embrión se diga que no esté vivo, que sea una cosa, que no sea humano, o que no sea merecedor de respeto por una dignidad intrínseca (que este tema ya no es de corte biológico, sino filosófico, en el marco de la bioética como una ética aplicada).

Por otro lado, el significado que se puede denominar como 'técnico' o 'científico' ofrecido por la embriología, es desconocido por la mayoría de la gente, quien no entiende precisamente eso. El diccionario, por ejemplo, recoge los significados que se atribuye a las palabras por la mayoría y, en consenso, y en el caso de embrión, la Real Academia Española lo define como un "ser vivo en las primeras etapas de su desarrollo, desde la fecundación hasta que el organismo adquiere las características morfológicas de la especie."// 2. En la especie humana, producto de la concepción hasta fines del tercer mes de embarazo⁽⁴⁹⁾.

La moderna embriología, que ha incorporado datos de la biología del desarrollo y de la genética molecular, a tal punto que parecieran inseparables, deja claros algunos datos que son relevantes para este debate⁽⁵⁰⁾. Primero, que luego del proceso de la fecundación hay un cigoto, este cigoto se divide llamándose cada célula resul-

tante un blastómero, hasta el estadio de mórula, desde los 16 hasta los 64 blastómeros, aproximadamente. Así llega al útero, para luego formar el blastocisto, con un número aproximado de 100 células y una cavidad central (blastocelo). Luego de ello, se formará la masa celular externa (trofoblasto o trofoectodermo, que dará origen a la placenta y otras membranas extraembrionarias), que rodea a la masa celular interna (embrioblasto, un grupo de 20 a 30 células que originará el embrión, ya que el sufijo 'blasto' habla de una célula precursora, inmadura). Por esto, a todos los estadios previos a la aparición del embrión se les denomina colectivamente como un 'pre-embrión'. Visto así, se trataría más bien de una realidad biológica, más allá de una cuestión meramente terminológica o eufemística. Otros datos recientes apoyan la idea de que pre-embrión y embrión son dos realidades biológicas distintas⁽⁵¹⁾. Además, se acota algunas cosas, clarificando que un cigoto correspondería a la entidad biológica que surge desde el contacto de los gametos hasta antes de la singamia; asumiendo que un cigoto no es un embrión, el cigoto no requeriría de muchas protecciones que se le dan hasta ahora (tal vez por ello, algunos laboratorios de centros de medicina reproductiva han optado por tomar como criterio para la criopreservación precisamente que se encuentren en estado de pronúcleos, y así evitar la consideración ética de tener embriones criopreservados)⁽⁵²⁾.

Sin embargo, la ESHRE (*European Society for Human Reproduction and Embryology*) cuenta con una

declaración de ética respecto del estatus del embrión, adoptando el término de 'embrión preimplantacional', por motivos socioculturales más que biológicos⁽⁵³⁾. Luego de exponer el desarrollo biológico que se da luego de una fertilización *in vivo* (no necesariamente igual al que se da *in vitro*), la declaración dicen que "Sin embargo, para evitar confusión y terminología especial, la cual puede llevar a incertidumbre en la mente pública, y con el conocimiento que hay muchas otras definiciones para la entidad que resulta de la fertilización durante el desarrollo hacia el feto, hemos decidido utilizar el término genérico de 'embrión', el cual se refiera a las etapas de la fertilización a la formación del disco embrionario".

El debate respecto a esta cuestión es muy amplio, y debería encaminarse cada vez más a la objetividad de los hechos biológicos y a la reflexión filosófica adecuada sobre los mismos. Tal vez el futuro inmediato en este sentido vaya a encaminarse al análisis profundo sobre la dignidad del pre-embrión. El futuro lo dirá.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bellido P. Mecanismo de fertilización. *Ginecol Obstet (Perú)*. 1997;43(3):183-90.
2. Edwards RG, Brody SA. Principles and practice of assisted human reproduction. 1st ed. Baltimore: Saunders Company. 1995: 315-44.
3. Heffner LD. Human reproduction at a glance. New York: Blackwell Science Ltd. 2001: 45.
4. Schatten G. Fertilization. En: Fauser BCJM, Rutherford AJ, Strauss JF, Van Steirteghem. Molecular biology in reproductive medicine. Baltimore: The Parthenon Publishing Group. 1999: 297-310.
5. Jaiswal BS, Tur-Kaspa I, Dor J, Mashiach S, Eisenbach M. Human sperm chemotaxis: Is progesterone a chemoattractant? *Biol Reprod*. 1999;60:1314-9.
6. Zhuo L, Kimata K. Cumulus oophorus extracellular matrix: its construction and regulation. *Cell Struct Funct*. 2001;26:189-96.



7. Patrat C, Serres C, Jouannet P. The acrosome reaction in human spermatozoa. *Biol Cell*. 2000;92:255-66.
8. Darszon A, Labarca P, Nishigaki T, Espinosa F. Ion channels in sperm physiology. *Physiol Rev*. 1999;79(2):481-510.
9. Takasaki S, Mori E, Mori T. Structure of sugar chains included in mammalian zona pellucida glycoproteins and their potential roles in sperm-egg interaction. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1473:206-15.
10. Barros C, Crosby JA, Moreno RD. Early steps of sperm egg interactions during mammalian fertilization. *Cell Biol Int*. 1996;144:33-9.
11. Thaler CD, Cardullo RA. The initial molecular interaction between mouse sperm and the zona pellucida is complex binding even. *J Biol Chem*. 1996;271(38): 23289-97.
12. Grace KS, Bronson RA, Ghebrehiwet B. Surface expression of complement receptor gC1q-R/p33 is increased on the plasma membrane of human spermatozoa after capacitation. *Biol Reprod*. 2002;66:823-9.
13. Spargo SC, Hope RM. Evolution and nomenclature of the zona pellucida gene family. *Biol Reprod*. 2003;68:358-62.
14. Lefievre L, Conner SJ, Salpekar A, Olufowobi O, Ashton P, Pavlovic B, et al. Four zona pellucida glycoproteins are expressed in the human. *Hum Reprod*. 2004;19:1580-6.
15. Yurewicz EC, Sacco AG, et al.. Hetero-oligomerization-dependent binding of pig oocyte zona pellucida glycoproteins ZPB and ZPC to boar sperm membrane vesicles. *J Biol Chem*. 1998;273:7488-94.
16. Yonezawa N, Fukui N, Kuno M, Shinoda M, Goko S, Mitsui S, Nakano M. Molecular cloning of bovine zona pellucida glycoproteins ZPA and ZPB and analysis for sperm-binding component of zona. *Eur J Biochem*. 2001;268:587-94.
17. Chakravarty S, Suraj K, Gupta SK. Baculovirus-expressed recombinant human zona pellucida glycoprotein-B induces acrosomal exocytosis in capacitated spermatozoa in addition to zona pellucida glycoprotein-C. *Mol Hum Reprod*. 2005;11:365-72.
18. Patrat C, Auer J, Fauque P, Leandri RL, Jouannet P, Serres C. Zona pellucida from fertilised human oocytes induces a voltage-dependent calcium influx and the acrosome reaction in spermatozoa, but cannot be penetrated by sperm. *BMC Developmental Biology*. 2006;6:59 doi:10.1186/1471-213X-6-59 Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-213X/6/59>
19. Neuber E, Powers RD. Is the mouse a clinically relevant model for human fertilization failures? *Hum Reprod*. 2000;15(1):171-4.
20. Paul P, Miles DG. Penetration, adhesion and fusion in mammalian sperm-egg interaction. *Science*. 2002;296(5576):2183-5.
21. Morales P, Kong M, Pizarro E, Pasten C. Participation of the sperm proteasome in human fertilization. *Hum Reprod*. 2003;18(5):1010-7.
22. Liu DY, Garrett C, Baker HWG. Low proportions of sperm can bind to the zona pellucida of human oocytes. *Hum Reprod*. 2003;18(11):2382-9.
23. Liu DY, Baker HWG. High frequency of defective sperm-zona pellucida interaction in oligozoospermic infertile men. *Hum Reprod*. 2004;19(2):228-33.
24. Flesch FM, Gadella BM. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1469:197-235.
25. Bronson RA, Fusi FM, Calzi F, Doldi N, Ferrari A. Evidence that a functional fertilin-like ADAM plays a role in human sperm-olemmal interactions. *Mol Hum Reprod*. 1999;5(5):433-40.
26. Hewitson L. Primate models for assisted reproductive technologies. *Reprod*. 2004;128:293-9.
27. Finaz C, Hammami-Hanza S. Adhesion proteins expressed on human gamete surfaces and egg activation. *Biol Cell*. 2000;92:235-44.
28. Parrington J, Swann K, Shevchenko VI, Sesay AK, Lai FA. Calcium oscillation in mammalian eggs triggered by a soluble sperm protein. *Nature*. 1996;332:264-8.
29. Nixon VL, McDougall A, Jones KT. Ca²⁺ oscillations and the cell cycle at fertilisation of mammalian and ascidian eggs. *Biol Cell*. 2000;92:187-96.
30. Ciappa B, Chiri S. Egg activation: Upstream of the fertilization calcium signal. *Biol Cell*. 2000;92:215-33.
31. Sato K, Tokmakov AA, Fukami Y. Fertilization signaling and protein-tyrosine kinases. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2000;126:129-48.
32. Shibuya EK, Boulton TG, Cobb MH, Ruderman JV. Activation of p42 MAP kinase and the release of oocytes from cell cycle arrest. *EMBO J*. 1992;11:3963-75.
33. Van der Velden AW, Thomas AA. The role of the 5' untranslated region of an mRNA in translation regulation during development. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999;31:87-106.
34. Hernández Pérez O, Ballesteros LM. Biología molecular del espermatozoide de mamíferos. En: Velázquez Moctezuma J. (Ed.) *Biología de la reproducción*. México, DF: Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. 1998:193-216.
35. Rawe VY, Brugo-Olmedo S, Nodar FN, Ponzio R, Sutovsky P. Abnormal assembly of annulate lamellae and nuclear pore complexes coincides with fertilization arrest at the pronuclear stage of human zygotic development. *Hum Reprod*. 2003;18:576-82.
36. Schatten G. The centrosome and its mode of inheritance: the reduction of centrosome during gametogenesis and its restoration during fertilization. *Dev Biol*. 1994;165:299-335.
37. Simerly C, Wu G, Zoran S et al. The paternal inheritance of the centrosome, the cell's microtubule-organization center in humans and the implications for infertility. *Nature Med*. 1995;1:47-53.
38. Simerly C, Zoran SS, Payne C, Dominko T, Sutovsky P, Navara CS, Salisbury JL, Schatten G. Biparental inheritance of g-tubulin during human fertilization: molecular reconstitution of functional zygotic centrosomes in inseminated human oocytes and in cell-free extracts nucleated by human sperm. *Mol Biol Cell*. 1999;10:2955-69.
39. Moomjy M, Colombero LT, Veeck LL, Rosenwaks Z, Palermo GD. Sperm integrity is critical for normal mitotic division and early embryonic development. *Mol Hum Reprod*. 1999;5(9):836-44.
40. Bedate CA, Céfalo RC. The zygote: To be or not to be a person. *J Med Philosophy*. 1989;14: 641-5.
41. Smith R. Biología del embrión preimplantacional. En: Beca Infante JP. (Comp.) *El embrión humano*. Santiago: Mediterráneo. 2002:21-49.
42. Bavister BD, McKiernan SH. Regulation of hamster embryo development in vitro by amino acids. En: Bavister BD. *Preimplantation embryo development*. New York: Springer-Verlag. 1993:57-72.
43. Leese HJ. Energy metabolism in preimplantation development. En: Bavister BD. *Preimplantation embryo development*. New York: Springer-Verlag. 1993:73-82.
44. Fischer B. Growth factors as regulators of mammalian preimplantation embryo development. En: Bavister BD. *Preimplantation embryo development*. New York: Springer-Verlag. 1993:83-96.
45. Baltz JM, Biggers JD, Lechene C. Intracellular pH regulation by the preimplantation embryo. En: Bavister BD. *Preimplantation embryo development*. New York: Springer-Verlag. 1993:97-111.
46. Casan EM, Raga F, Bonilla-Musoles F, Polan ML. Human oviductal gonadotropin-releasing hormone: possible implications in fertilization, early embryonic development, and implantation. *J Clin Endocrin Metab*. 2000;85(4):1377-81.
47. Moore KL. *Embriología clínica*. 4ª ed. México: Interamericana. 1989: 6.
48. Real Academia Española. *Diccionario de la Lengua Española*. 22ª ed. Madrid: Espasa Calpe. 2001:880.
49. Lacadena JR. *Embriones humanos y cultivos de tejidos: reflexiones científicas, éticas y jurídicas*. *Rev Der Gen H*. 2000;12:191-212.
50. Bahadur G. The moral status of the embryo: the human embryo in the UK Human Fertilisation and Embryology (Research Purposes) Regulation 2001 debate. *Reprod Biomed Online*. 2003;17(1):12-6.
51. Tesarik J. A zygote is not an embryo: ethical and legal considerations. *Reprod Biomed Online*. 2004;19(1):13-6.
52. ESRHE Task Force on Ethics and Law. I. The moral status of the pre-implantation embryo. *Human Reproduction*. 2001;16(5):1046-8.