

# Reproducción asistida en varones seropositivos para el VIH-1

S. Marina, F. Marina y R. Alcolea

*Instituto de Reproducción CEFER. Barcelona. España.*

## RESUMEN

**Objetivos:** El varón seropositivo para el VIH-1 ha de renunciar a tener hijos o asumir el riesgo de contagiar a su pareja. Las técnicas de “lavado de semen” permiten separar los espermatozoides móviles de los componentes seminales infectados y utilizarlos en la reproducción asistida. El objetivo de este trabajo es presentar la experiencia del Instituto CEFER en reproducción asistida con semen lavado de varones seropositivos para el VIH.

**Métodos:** Se trató con inseminación artificial (IA) a 302 parejas y con fecundación *in vitro* (FIV) con microinyección espermática (*intracytoplasmic sperm injection* [ICSI]) a 88. El lavado de semen se hizo mediante centrifugación en gradientes discontinuos de PureSperm (el 90, el 70 y el 50%, a 300 g durante 20 min); seguida de *swim-up*. En la fracción obtenida se estudió la presencia de VIH-1 con la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se efectuaron 621 ciclos de IA y 133 de FIV-ICSI.

**Resultados:** En las IA efectuadas a 302 mujeres, se obtuvieron 153 gestaciones clínicas (un 24,6% de gestaciones por ciclo y un 50,6% por mujer). Hubo 25 abortos (16,3%) y 120 nacimientos; 10 partos gemelares (6,5%) y 140 niños nacidos. En los 133 ciclos de FIV-ICSI efectuados a 88 mujeres, se obtuvieron 59 gestaciones clínicas (un 44,4% de gestaciones por ciclo y un 67,04% por mujer). Hubo 16 abortos (27,1%), 37 nacimientos, 5 partos gemelares (8,5%) y 47 niños nacidos. Ninguna mujer tratada se seroconvirtió. Todos los niños nacidos fueron seronegativos para el VIH-1.

**Discusión:** La metodología descrita y la experiencia presentada permiten afirmar que el varón seropositivo para el VIH puede tener hijos propios sin contagiar a su pareja y no precisa usar semen de banco. La IA es una técnica válida para este colectivo, y la FIV-ICSI se ha de utilizar sólo cuando esté indicada, como en parejas seronegativas para el VIH.

**Palabras clave:** Lavado de semen. VIH-1. Reproducción asistida.

## ABSTRACT

### Assisted reproduction in HIV-1-seropositive men

**Objectives:** HIV-1-seropositive men must forgo having biological children or accept the risk of infecting their female partners. Techniques of semen washing allow motile spermatozoa to be separated from infected semen components and used in assisted reproduction. The aim of the present study was to present the experience of the CEFER Institute in assisted reproduction using washed semen from HIV-seropositive men.

**Methods:** Three hundred two couples underwent artificial insemination (AI). Eighty-eight couples underwent *in vitro* fertilization (IVF)-*intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). Semen washing was performed through discontinuous centrifugation gradients of Pure Sperm (90%, 70% and 50% at 300 g for 20 minutes), followed by swimm-up. The presence of HIV-1 was examined in the fraction obtained using polymerase chain reaction. A total of 621 AI cycles and 133 IVF-ICSI cycles were performed.

**Results:** In the IA performed in 302 women, 153 clinical pregnancies were obtained. The pregnancy rate per cycle was 24.6% and the pregnancy rate per patient was 50.6%. There were 25 miscarriages (16.3%) and 120 births. There were 10 twin deliveries (6.5%) and 140 neonates. In the 133 IVF-ICSI cycles performed in 88 women, 59 clinical pregnancies were obtained. The pregnancy rate per cycle was 44.4% and the pregnancy rate per patient was 67.04%. There were 16 miscarriages (27.1%), 37 births, 5 twin deliveries (8.5%) and 47 newborns. None of the treated women became seropositive and all of the newborns were HIV-1-seronegative.

**Discussion:** The methodology and experience described show that HIV-seropositive men can have biological children without infecting their female partners. It is not necessary to use semen from a sperm bank. AI is a valid technique for this collective while IVF-ICSI should only be used when, as in HIV-seronegative couples, it is indicated.

**Key words:** Semen washing. HIV-1. Assisted reproduction.

**Correspondencia:** Dr. S. Marina.  
Instituto de Reproducción CEFER.  
Marquesa de Vilallonga, 12, desp. 21. 08017 Barcelona. España.  
Correo electrónico: info@institutocefer.com

## INTRODUCCIÓN

Para un varón seropositivo para el VIH, tener hijos supone asumir el riesgo de transmitir la infección viral a su pareja seronegativa. La vía de contagio de la infección con una relación directa con la reproducción es el coito vaginal. Evitar infectar a la mujer exige impedir que ésta reciba el semen. Las medidas profilácticas son, por tanto, la abstinencia sexual o el uso del condón. La mayoría de las parejas serodiscordantes para el VIH (varón seropositivo y mujer seronegativa) son jóvenes, en edad reproductiva y sin hijos. En la pareja serodiscordante, el sexo seguro y la fertilidad no son posibles en la actualidad. Las parejas fértiles no precisan tratamiento médico para conseguir la gestación. En el varón seropositivo fértil, la actuación médica va dirigida a eliminar o reducir el riesgo de contagiar a la pareja seronegativa. El varón seropositivo subfértil o estéril precisa ayuda médica, igual que el seronegativo subfértil o estéril, para conseguir la gestación. A veces, parejas serodiscordantes deseosas de tener hijos asumen el riesgo de contagiar al otro para tener hijos, desconociendo que uno de los dos, o ambos, son estériles, con el resultado de que la mujer se infecta y no queda gestante. La actuación del andrólogo en este colectivo de parejas fue, hasta 1992, indicar la inseminación artificial de donante (IAD). La paradoja era que el varón seropositivo fértil debía renunciar a ser genéticamente padre para evitar contagiar a su pareja. La separación en el laboratorio de los espermatozoides móviles (la fracción fértil del semen y no contaminada de VIH) de los demás componentes del semen (plasma seminal, linfocitos y macrófagos) infectados del virus ha abierto un camino para ayudar a estos varones a tener hijos genéticamente propios sin contagiar a su pareja. En este trabajo, autorizado por el Comité Ético y de Investigación del Centro Médico Teknon, presentamos nuestra experiencia.

## MÉTODOS

Se ha tratado a 302 varones seropositivos para el VIH-1 que deseaban tener hijos. Todas las mujeres eran seronegativas para el VIH. A todos los pacientes se les efectuó una anamnesis andrológica y específica en relación con su proceso infeccioso, así como una exploración física andrológica. Se anotó el volumen testicular medido con orquidómetro de Prader; se exploraron los conductos seminales (epidídimos y deferentes) y el pene. Se indagó la presencia de varicocele con el varón de pie y mediante la maniobra de Valsalva.

Las condiciones de recogida de la muestra de semen fueron las habituales: obtención por masturbación,

tras 4 a 7 días de abstinencia sexual. El estudio del semen se inició dentro de la primera hora posteyaculación y una vez licuado a temperatura ambiente. Para la valoración seminal se siguieron los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>1</sup>. El lavado de semen comprendió 3 fases:

1. Eliminación del plasma seminal. A la muestra de semen fresco se le añadió el medio de cultivo *human tubal fluid* (HTF) en proporción 2:1. Se homogeneizó y centrifugó a 400 g durante 10 min. Se extrajo el sobrenadante con pipeta Pasteur dejando en el fondo del tubo los espermatozoides y demás componentes celulares presentes en el semen. Este sedimento (*pellet*) se resuspendió en 1 ml de HTF/HSA.

2. Centrifugación en gradiente discontinuo de PureSperm. Se usó solución isotónica de PureSperm (IVF Science, Suecia). Se utilizó el medio HTF, supplementado con un 6% de albúmina sérica humana (HSA, Grifols, Barcelona) para preparar los gradientes de PureSperm (el 90, el 70 y el 50%). En un tubo se colocó 1 ml de solución de PureSperm al 90% seguido de 1 ml al 70% y 1 ml al 50%. Esto se hizo cuidadosamente para no mezclar entre sí las capas de distintas concentraciones de PureSperm. El *pellet* resuspendido de la fase 1 se colocó sobre la capa del 50% de PureSperm y se centrifugó a 300 g durante 20 min. Tras la centrifugación, se eliminaron las capas del 50 y el 70% de PureSperm hasta alcanzar la capa del 90%, que se aspiró con una pipeta Pasteur.

3. Técnica de *swim-up*. El *pellet* obtenido en la fase 2 se colocó en un tubo estéril y se añadieron 4 ml de HTF/HSA. Se resuspendió el *pellet* y se dividió en 4 tubos (1 ml por tubo), que se centrifugaron a 200 g durante 10 min. Se extrajo el sobrenadante y se añadieron 0,5 ml de HTF/HSA. Estos tubos se dispusieron inclinados en un ángulo de 45° y se incubaron durante 1 h en atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub>, a una temperatura de 37 °C. Se extrajeron los sobrenadantes donde se encuentran los espermatozoides móviles, cuya fracción obtenida se dividió en 2 partes iguales. Una se usó para determinar la presencia de VIH-1 y la otra, para la reproducción asistida: inseminación artificial (IA) o fecundación *in vitro* (FIV) con microinyección espermática (*intracytoplasmic sperm injection* [ICSI]).

### Determinación de VIH-1 en la fracción de espermatozoides móviles obtenida tras los lavados de semen. Técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El VIH es un retrovirus, y en su ciclo se observan 2 fases: una de virión, extracelular y constituido por ARN (fig. 1), y otra de provirus intracelular, integra-

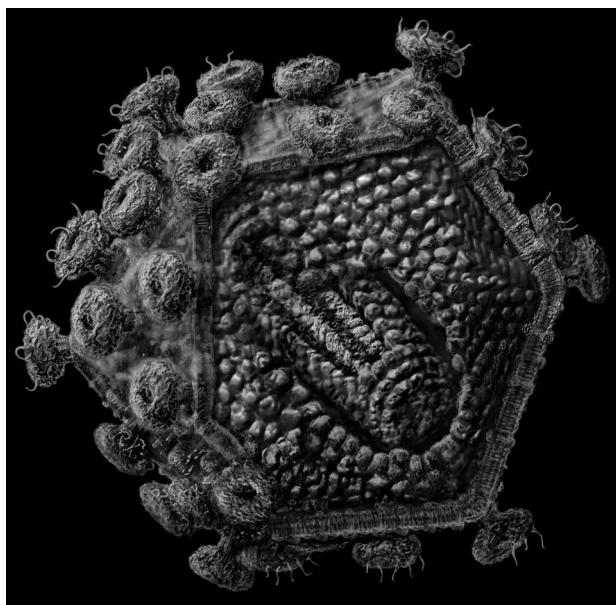


Figura 1. Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en su forma de partícula viral o virión.

do en el genoma de la célula infectada y constituido por ADN. Es preciso, por tanto, estudiar si el VIH-1 está presente como provirus (ADN) o como virión (ARN) en una muestra seminal antes de usarla en la reproducción asistida.

La amplificación del VIH en su forma de ADN (provirus) integrado en el genoma de la célula infectada (linfocito T CD4<sup>+</sup> y macrófagos) se hizo de acuerdo con las instrucciones de Roche Diagnostic System (Branchburg, NJ, Estados Unidos), para el test AmpliCor del VIH. Los cebadores (*primers*) usados fueron el SK 462 y el SK 431, que amplifican la región gag del ADN viral. Tras la desnaturización del fragmento amplificado, se efectuó la hibridación con sonda específica SK 102. La cuantificación del ARN del VIH se llevó a cabo con el test Monitor (Roche Diagnostic, Inc., Branchburg, NJ, Estados Unidos). La transcripción inversa de ARN a ADNc y la amplificación se hicieron con la polimerasa rTth. Los cebadores fueron los ya citados SK 462 y SK 431. Tras la amplificación y la desnaturización del fragmento amplificado, se hibridó con sonda SK 102 específica del VIH-1 y CP 35 específica de QS. Para la reproducción asistida sólo se utilizaron las muestras de semen lavado y con el resultado de la técnica de PCR para el VIH-1 negativa tanto para el ADN como para el ARN viral.

### Inseminación artificial

Se indicó IA si el número total de espermatozoides móviles obtenidos tras los lavados fue  $\geq 4 \times 10^6$ ; esta

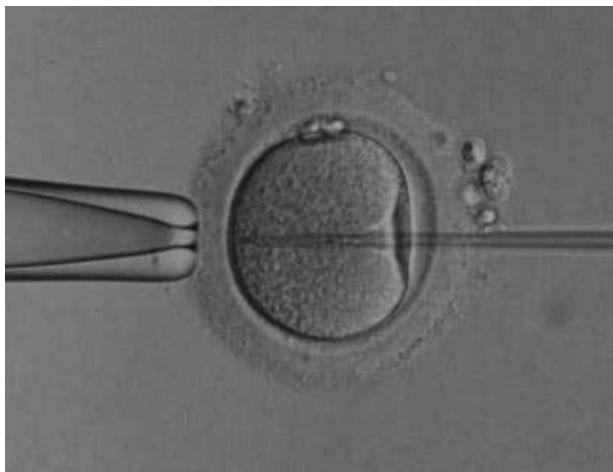
cifra permitía usar  $2 \times 10^6$  para llevar a cabo la PCR del VIH-1 y disponer de al menos otros  $2 \times 10^6$  espermatozoides para efectuar la IA, que se hizo en ciclo estimulado, una sola, intrauterina y alrededor de unas 40 h tras la administración de gonadotropina coriónica humana (hCG). La IA se llevó a cabo con semen fresco, lavado. La PCR para el VIH-1 (en forma de ADN y ARN) se realizó el mismo día de la IA, y sólo si el resultado fue negativo se efectuó la IA. En caso de ser positivo para ADN y/o ARN del VIH-1, se canceló.

### Fecundación *in vitro* con microinyección espérmatica

Se indicó FIV-ICSI en el caso de obtener, tras los lavados, una cifra inferior a  $4 \times 10^6$  espermatozoides, así como en parejas en que la mujer presentara obstrucción tubárica o cuando se habían efectuado 3 ciclos de IA sin conseguir gestación. En los ciclos de FIV se realizó, en todos los casos, ICSI, dada la controversia sobre la posibilidad de que el espermatozoide móvil pudiera transportar el virus. El uso de un solo espermatozoide (ICSI) reduciría el posible riesgo de transmitir el virus al ovocito. En casos de FIV-ICSI se usó semen congelado previamente lavado y testado con PCR para el VIH-1 (ADN y ARN), lo que elimina el riesgo de cancelación del ciclo por positividad en la PCR el mismo día de la punción folicular con los ovocitos ya extraídos de los ovarios<sup>2</sup>.

La estimulación ovárica (con gonadotropina [Gn-RH] y folitropina [FSH]-hCG), la monitorización de la respuesta ovárica (con ecografías por vía vaginal y determinaciones de 17-beta-estradiol, ambos seriados), la punción folicular por vía transvaginal y eco-guiada, la identificación de los ovocitos en el líquido folicular, así como la clasificación de su estadio madurativo, se efectuaron siguiendo la metodología habitual en todo ciclo de FIV. Lo mismo se hizo con la ICSI (fig. 2). La evaluación de los pronúcleos y de la división celular del embrión, así como la eclosión (*hatching*) asistida, se llevó a cabo de idéntica forma a como se realiza en las parejas seronegativas.

El control de que la mujer tratada se mantenía seronegativa se hizo mediante determinación de anticuerpos anti-VIH y antígeno p24 (o ADN y ARN virales mediante PCR) en días previos próximos a la IA o a la ICSI. Se repitió la misma determinación al mes de la IA o de la transferencia embrionaria. Si se produjo la gestación, la medición se repitió a los 3 y a los 6 meses y tras el parto. También se determinaron los anticuerpos anti-VIH en el recién nacido. El objetivo de estas determinaciones en la mujer antes y después de la IA (o ICSI) era comprobar su seronegatividad en el momento de efectuar la IA o la ICSI, y que no



**Figura 2.** Microinyección espermática (ICSI; *intracytoplasmic sperm injection*).

había habido seroconversión tras la IA o la transferencia de embriones. Todas las parejas dieron su consentimiento por escrito.

## RESULTADOS

### Características del colectivo seropositivo para el VIH

Los pacientes estudiados y tratados fueron jóvenes, en edad reproductiva, casados o con pareja estable. No se trataba de personas marginales y muchas de ellas escogieron renunciar a la paternidad por evitar contagiar a su pareja. La mayoría (70%) eran ex drogadictos. La eficacia de los tratamientos antirretrovirales ha cambiado el pronóstico del sida, que ha pasado de ser una enfermedad mortal a una enfermedad crónica. El varón infectado vive más y mejor, y tener hijos deseados es, sin duda, aumentar la calidad de vida.

### Recuperabilidad de espermatozoides móviles tras el proceso de lavado seminal

En un grupo de 104 sémenes estudiados de forma consecutiva, se evaluó la tasa de recuperación de espermatozoides móviles después del doble lavado, en relación con el número total de espermatozoides móviles presentes en el eyaculado total en fresco. Se tuvieron en cuenta los sémenes cuyo estudio inicial presentara un recuento espermático normal. Los resultados se cotejaron con los de un grupo control de 155 pacientes infértils seronegativos al VIH, en los que se realizó la técnica de PureSperm ( $n = 44$ ) o la técnica de *swim-up* ( $n = 111$ ). Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (DE) (tabla 1). En

**TABLA 1. Recuperabilidad espermática**

	<b>VIH-1 seronegativo</b>		<b>VIH-1 seropositivo</b>	
	<b>PureSperm®</b>	<b>Swim-up</b>	<b>PureSperm® + swim-up</b>	<b>p</b>
Número	44	111	104	
EMFT	154 $\pm$ 147,6	139 $\pm$ 131,7	123 $\pm$ 105,9	NS
EMTL	39,6 $\pm$ 45,4	23,4 $\pm$ 25,8	6,2 $\pm$ 9,3	< 0,001
Porcentaje	28,9 $\pm$ 18,1	17,1 $\pm$ 10,3	6,8 $\pm$ 7,7	< 0,001

EMTF: espermatozoides móviles totales en el semen fresco; EMTL: espermatozoides móviles totales tras los lavados.

**TABLA 2. Resultados de la inseminación artificial en parejas serodiscordantes para el VIH-1**

Ciclos	621
Mujeres	302
Ciclos por mujer	2,05
Gestaciones clínicas	153
Gestaciones por ciclo	24,6%
Gestaciones por mujer	50,6%
Abortos	25 (16,3%)
Nacimientos	120
Gemelos	10 (6,5%)
Niños nacidos	140
Gestaciones en evolución	8

Ninguna mujer se ha seroconvertido. Todos los niños nacidos han sido seronegativos para el VIH.

**TABLA 3. Resultados de la fecundación *in vitro* con microinyección espermática en parejas serodiscordantes para el VIH-1**

Ciclos	133
Mujeres	88
Ciclos por mujer	1,5
Gestaciones clínicas	59
Gestaciones por ciclo	44,4
Gestaciones por mujer	67,04
Abortos	16 (27,1%)
Nacimientos	37
Gemelos	5 (8,5%)
Niños nacidos	47
Gestaciones en evolución	6

Ninguna mujer se ha seroconvertido. Todos los niños nacidos han sido seronegativos para el VIH.

un 3,5% de los sémenes lavados, las determinaciones con PCR de ARN y/o ADN del VIH-1 fueron positivas, por lo que la reproducción asistida se canceló.

Los resultados de las IA se exponen en la tabla 2 y los de la FIV-ICSI, en la tabla 3. Los resultados de la IA en este colectivo son mejores que los obtenidos en parejas seronegativas. La explicación es que la edad media de las mujeres tratadas es menor que en el colectivo de parejas estériles y que la IA se hace en estas parejas para evitar la transmisión del virus a las mujeres y no porque éstas sean subfértiles o estériles. En el caso de la FIV-ICSI, los resultados son similares a los

obtenidos en parejas seronegativas al VIH, dado que las indicaciones son las mismas que las de las parejas seronegativas.

## DISCUSIÓN

### Opciones reproductivas del varón seropositivo para el VIH

Las opciones reproductivas del varón infectado por el VIH son: *a)* utilizar condón en todos los coitos para no infectar a su pareja y renunciar a tener hijos; *b)* no utilizar condón en los días periovulatorios para fecundar a la mujer, corriendo riesgo de infectarla y quizás también al hijo; *c)* usar semen de banco; *d)* recurrir a la adopción, aunque esta opción sólo funciona en la teoría, pues en la práctica, hasta donde conocemos, no se dan niños en adopción a parejas en que alguno de sus miembros esté infectado por el VIH, y *e)* lavado de semen para separar la fracción fértil, libre del virus, los componentes seminales infectados, el plasma seminal, los linfocitos y los macrófagos, técnica iniciada por Semprini et al<sup>3</sup>.

### Derecho de la persona seropositiva para el VIH a tener hijos

Aunque nadie cuestiona el derecho de una persona a tener hijos, este derecho no siempre se ha reconocido al varón con infección por el VIH. Si él y su pareja son fértiles, pueden conseguir una gestación mediante coito sin protección, asumiendo el riesgo de que ella se contagie. Pero si la pareja es subfértil o estéril, necesita ayuda médica para conseguir el embarazo. Incluso siendo fértil precisará esa ayuda para, al menos, reducir el riesgo de transmisión del virus. Esta actitud de negar la reproducción asistida a parejas serodiscordantes (varón seropositivo) sigue siendo una realidad en muchos centros, que aducen que hay riesgo de contagiar a la mujer y, por tanto, al hijo. No obstante, ello es una discriminación médica debido a una enfermedad, y la discriminación por enfermedad está prohibida por el artículo 14 de la Constitución, así como por el artículo 512 del nuevo Código Penal<sup>4</sup>. La discriminación por infección por el VIH fue específicamente prohibida en la 41 Asamblea Mundial de la Salud, el 13 de mayo de 1988, en su resolución WHA 41.24, y por la Reunión de las Comunidades Europeas y Ministros de la Salud de los Estados Miembros (Bruselas, 27 de noviembre de 1989), en su resolución 10.048/89.

La Declaración Universal de Derechos de las personas con VIH-sida (sección 5), específicamente, afirma

que “cualquier discriminación de las personas que padecen sida o infección por el VIH es una violación de los derechos humanos”. Sin embargo, este derecho ha sido, y sigue siendo, con frecuencia conculado cuando el varón seropositivo para el VIH desea tener hijos.

### Riesgo de transmitir la infección a la pareja y al hijo

El riesgo de enfermedad es inherente a la vida misma. En el varón seropositivo la actuación médica en ningún caso incrementará el riesgo de infectar a la pareja y al niño ni agravará el proceso viral; en todos los casos, el riesgo de transmitir la infección se reducirá. Datos propios (tablas 2 y 3), así como la experiencia acumulada de más de 1.800 ciclos de IA y FIV-ICSI, y más de 500 niños nacidos sin que se haya producido ningún contagio avalan esta afirmación<sup>5,6</sup>. En contraposición, de 92 parejas (varón seropositivo) que consiguieron gestación mediante coito no protegido, 4 mujeres se contagian<sup>7</sup>. Negar la reproducción asistida a un varón seropositivo para el VIH es negarle la ayuda médica a la que tiene derecho. Las ideas de unos con frecuencia coartan los derechos de otros, y la libertad de elegir es un aspecto esencial de la dignidad humana.

### Reducción del virus seminal mediante el lavado

El objetivo del lavado de semen es eliminar completamente el plasma seminal que contiene viriones (partícula viral en fase de ARN, extracelular), así como los linfocitos y los macrófagos infectados. En estas células el virus está integrado en el genoma celular; por tanto, es ADN y se denomina provirus. Está probado que el proceso de preparación seminal descrito, y conocido como “lavado de semen”, reduce espectacularmente la cantidad tanto de viriones como de provirus en la fracción de espermatozoides móviles obtenida tras los lavados, hasta el punto en que la sensible técnica de PCR no detecta su presencia<sup>8-13</sup>.

### Presencia de VIH-1 en la fracción de espermatozoides móviles obtenida después del lavado de semen (resultados de la PCR positiva al ADN y/o ARN del VIH-A)

Los resultados positivos del PCR para el VIH a pesar de los lavados pueden deberse a:

1. La presencia de una pequeña cantidad de plasma seminal (en el caso de PCR positiva al ARN viral) o de células infectadas (en el caso de PCR positiva al ADN viral); consideramos que, con el doble lavado,

el plasma seminal se elimina totalmente, y tras los lavados no se observa ninguna célula no gamética.

2. Es un resultado falso positivo. La amplificación de la región gag del genoma viral puede dar falsos positivos<sup>14</sup>. Creemos que esto es lo sucedido en los pocos casos en que la PCR para el VIH-1, tras los lavados, ha dado positivo (3,5%). En todos los casos, excepto en 2, con resultado positivo para el VIH-1, al repetir la PCR el resultado fue negativo. La repetición se hizo en la fracción seminal que iba a utilizarse para la reproducción asistida. La repetición de la PCR volvió a ser positiva en 2 casos, pero en un nuevo estudio (lavado y PCR) en otra muestra de semen obtenida unos días después, fue negativa para el VIH-1.

3. La tercera posibilidad es que el virus se adhiera fuertemente al espermatozoide o lo infecte. En este caso, los lavados del semen no eliminarían el virus. En ningún caso la repetida positividad de la PCR para el VIH-1 tras los lavados de semen ha impedido efectuar la reproducción asistida. La presencia del virus en el espermatozoide ha sido un aspecto muy controvertido y se comenta a continuación.

#### **Presencia en la membrana espermática del receptor CD4+**

EL VIH-1 tiene una glucoproteína (gp120) que se une a un receptor (el CD4), presente en la membrana de la célula que infecta. La presencia del receptor CD4 en la membrana espermática es discutida (tabla 4)<sup>15-24</sup>. Se ha postulado que la molécula galactosamil ceramida, presente en la membrana del espermatozoide, puede actuar como receptor para el VIH-1<sup>22,24</sup>.

#### **VIH-1 y espermatozoide**

Los estudios publicados sobre la posible presencia intraespermática del VIH-1 son controvertidos. En la tabla 5<sup>10,16-19,22,25-37</sup> se exponen los estudios que se han llevado a cabo sobre este tema, la técnica empleada y los resultados obtenidos. No se trata de estudios homogéneos en cuanto al colectivo de pacientes estudiados (estadio de la infección y uso de tratamiento antirretroviral o no); la técnica de lavado de semen (sólo centrifugación en gradientes de PureSperm, sólo técnica de *swim-up*, o ambas), o la técnica de PCR (extracción del ARN, amplificación del ADN, *primers* utilizados, etc.).

Cuando el VIH entra en una célula, lo hace en forma de ARN. El ARN viral se transforma en ADN por acción de la enzima viral transcriptasa inversa. Se ha postulado que la detección del VIH-1 en forma de ADN podría deberse a una transcripción inversa parcial dentro del virión<sup>38,39</sup>. La acción de la enzima viral

**TABLA 4. Receptor CD4 en la membrana espermática**

Autores (año)	Receptor	Resultado
Gobert et al (1990) <sup>15</sup>	CD4	Sí
Scofield (1992) <sup>16</sup>	CD4	Sí
Bagasra et al (1988) <sup>17</sup>	CD4	No
Anderson (1992) <sup>18</sup>	CD4	No
Dussaix et al (1993) <sup>19</sup>	CD4	No
Nuovo et al (1994) <sup>20</sup>	CD4	No
Gil et al (1995) <sup>21</sup>	CD4	No
Baccetti et al (1994) <sup>22</sup>	GC	Sí
Bagasra et al (1989) <sup>23</sup>	GC	Sí
Brogi et al (1998) <sup>24</sup>	GC	Sí

GC: galactosamil ceramida.

**TABLA 5. El VIH-1 y el espermatozoide**

Autores (año)	Técnicas	Resultado
Bagasra et al (1988) <sup>17</sup>	MET	Sí
Scofield (1992) <sup>16</sup>	MET	Sí
Dussaix et al (1993) <sup>19</sup>	MET	Sí
Baccetti et al (1998) <sup>25</sup>	MET	Sí
Anderson et al (1990) <sup>26</sup>	MET	No
Pudney (1990) <sup>27</sup>	MET	No
Pudney et al (1998) <sup>28</sup>	MET	No
Bagasra et al (1990) <sup>29</sup>	HIS	Sí
Baccetti et al (1994) <sup>22</sup>	HIS	Sí
Baccetti et al (1998) <sup>23</sup>	HIS	Sí
Pudney (1990) <sup>27</sup>	HIS	No
Pudney et al (1998) <sup>28</sup>	HIS	No
Baccetti et al (1994) <sup>22</sup>	Cultivo <sup>a</sup>	Sí
Kuji et al (1998) <sup>30</sup>	Cultivo <sup>a</sup>	No
Bagasra et al (1994) <sup>31</sup>	PCR <i>in situ</i>	ADN <sup>+</sup>
Quayle et al (1998) <sup>32</sup>	PCR <i>in situ</i>	No
Pudney et al (1998) <sup>28</sup>	PCR <i>in situ</i>	No
Nuovo et al (1994) <sup>20</sup>	PCR <i>in situ</i> en testes	ADN <sup>+</sup>
Muciaccia et al (1998) <sup>33</sup>	PCR <i>in situ</i> en testes	ADN <sup>+</sup>
Shevchuck et al (1998) <sup>34</sup>	PCR <i>in situ</i> en testes	ADN <sup>+</sup>
Scofield et al (1992) <sup>35</sup>	PCR	ADN <sup>+</sup>
Baccetti et al (1994) <sup>22</sup>	PCR	ARN <sup>+</sup>
Marina et al (1998) <sup>36</sup>	PCR	+/-
Duloust et al (1998) <sup>10</sup>	PCR	+/-
Quayle et al (1997) <sup>37</sup>	PCR	-
Quayle et al (1998) <sup>32</sup>	PCR	-
Pudney et al (1998) <sup>28</sup>	PCR	-

MET: microscopía electrónica de transmisión; HIS: hibridación *in situ*; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

<sup>a</sup>Cultivo *in vitro* de muestras de semen de varón seronegativo para el VIH con VIH-1.

integrasa permite que el ADN viral se integre en el genoma de la célula infectada.

Es difícil imaginar cómo el VIH-1 puede integrarse en el genoma espermático si no entra en el espermatozoide. Por otro lado, el genoma espermático es haploide, empaquetado en cromosomas condensados e inactivos. Si el VIH-1 entra en el espermatozoide fértil, como afirman Baccetti et al<sup>40</sup>, ésta sería una vía de infección, aunque no hay ninguna evidencia clínica de que esto suceda. Si el espermatozoide transporta el

VIH-1 al interior del ovocito maduro, se infectaría el embrión, el feto y el niño nacido. No obstante, ningún dato clínico sustenta esta idea.

## CONCLUSIÓN

De los datos expuestos se puede concluir que el lavado de semen, junto con la determinación del VIH-1 con técnica de PCR, es una metodología válida para reducir la transmisión del virus a la mujer y permite que el varón seropositivo sea genéticamente padre.

## Bibliografía

1. WHO. Laboratory manual for the examination of human semen on sperm-cervical mucus interaction. Cambridge: Cambridge University Press, 1992; p. 107.
2. Marina S, Marina F, Alcolea R, Nadal J, Exposito R, Huguet J. Case Report: Pregnancy following intracytoplasmic sperm injection from an HIV-1-seropositive man. *Hum Reprod* 1998;13:3247-9.
3. Semprini AE, Levi-Setti P, Bozzo M, Ravizza M, Taglioretti A, Sulpizio P, et al. Insemination of HIV-negative women with processed semen of HIV-positive partners. *Lancet* 1992; 340:1317-9.
4. Fernández J. La pandemia VIH/SIDA y el derecho penal: pluralidad de perspectivas. *Avances en SIDA* 1996;5:61-71.
5. Semprini A. Reproductive counselling for HIV-discordant couples. *Lancet* 1997;349:1401-2.
6. Semprini A, Vuccetich A, Oneta M, et al. Amp intra conjugale: quelle stratégie de prise en charge? L'expérience italienne. Communication à la journée: Le Désir d'Enfant Chez les Couples VIH Sérodifférents. Toulouse, 2000; p. 28-9.
7. Mandelbrot L, Heard I, Henrion-Géant E, Henrion R. Natural conception in HIV-negative women with HIV-infected partners [letter]. *Lancet* 1997;349:850-1.
8. Alexander NJ. HIV and germinal cells: how close an association? *J Reprod Immunol* 1998;41:17-26.
9. Chrystie IL, Mullen JE, Braude PR, Rowell P, Williams E, Elkington N, et al. Assisted conception in HIV discordant couples: evaluation of semen processing techniques in reducing HIV viral load. *J Reprod Immunol* 1998;41:301-6.
10. Tachet A, Dulioust E, Salmon D, De Almeida M, Rivalland S, Finkielstein L, et al. Detection of HIV-1 in seminal plasma and seminal cells of HIV-1 seropositive men. *J Reprod Immunol* 1996;41:27-40.
11. Lasheeb AS, King J, Ball JK, Curran R, Barratt CL, Afnan M, et al. Semen characteristics in HIV-1 positive men and the effect of semen washing. *Genitourin Med* 1997;73:303-5.
12. Tachet A, Dulioust E, Salmon D. Detection and quantification of HIV-1 in semen: identification of a subpopulation of men at high potential risk of viral sexual transmission. *AIDS* 1999; 13:823-31.
13. Van Voorhis BJ, Martinez A, Mayer K, Anderson DJ. Detection of HIV-1 in semen from seropositive men using culture and polymerase chain reaction deoxyribonucleic acid amplification techniques. *Fertil Steril* 1991;55:588-94.
14. Martin WJ. Infection diseases. En: Mullis KB, Ferré F, Gibbs RA, editors. The polymerase chain reaction. Berlin: Birkhäuser, 1994; p. 406-17.
15. Gobert B, Amiel C, Tang JQ, Barbarino P, Bene MC, Faure G. CD4-like molecules in human sperm. *FEBS Lett* 1990; 261:339-42.
16. Scofield VL. Sperm as vectors and cofactors for HIV-1 transmission. *J NIH Res* 1992;4:105-11.
17. Bagasra O, Freund M, Weidmann J, Harley G. Interaction of human immunodeficiency virus with human sperm in vitro. *J AIDS* 1988;1:431-5.
18. Anderson DJ. Mechanisms of HIV-1 transmission via semen. *J NIH Res* 1992;4:104-8.
19. Dussaux E, Guetard D, Dauguet C, D'Almeida M, Auer J, Ellrodt A, et al. Spermatozoa as potential carriers of HIV. *Res Virol* 1993;144:487-95.
20. Nuovo GJ, Becker J, Simsir A, Margiotta M, Khalife G, Shevchuk M. HIV-1 nucleic acids localize to the spermatogonia and their progeny. A study by polymerase chain reaction in situ hybridization. *Am J Pathol* 1994;144:1142-8.
21. Gil T, Castilla JA, Hortas ML, Molina J, Redondo M, Samaniego F, et al. CD4+ cells in human ejaculates. *Hum Reprod* 1995;10:2923-7.
22. Bacchetti B, Benedetto A, Burrini AG, Collodel G, Ceccarini EC, Crisa N, et al. HIV-1 particles in spermatozoa of patients with AIDS and their transfer into the oocyte. *J Cell Biol* 1994; 127:903-14.
23. Bagasra O, Freund M, Condoluci B, Heins B, Whittle P, Weidmann J, et al. Presence of HIV-1 in sperm of patients with HIV/AIDS. *Mol Androl* 1989;2:109-25.
24. Brogi A, Presentini R, Moretti E, Strazza M, Piomboni P, Costantino-Ceccarini E. New insight into the interaction between the gp120 and the HIV receptor in human sperm. *J Reprod Immunol* 1998;41:213-32.
25. Bacchetti B, Benedetto A, Collodel G, Di Caro A, Garbuglia AR, Piomboni P. The debate on the presence of HIV-1 in human gametes. *J Reprod Immunol* 1998;41:41-68.
26. Anderson DJ, Wolff H, Pudney J, et al. Presence of HIV in semen. En: Alexander NJ, Gebelnick HL, Spieler JM, editors. Heterosexual transmission of AIDS. New York: Wiley-Liss, 1990; p. 167-80.
27. Pudney J. Caveats associated with identifying HIV using transmission electron microscopy. En: Alexander NJ, Gebelnick HL, Spieler JM, editors. Heterosexual transmission of AIDS. New York: Wiley-Liss, 1990; p. 197-204.
28. Pudney J, Nguyen H, Xu C, Anderson DJ. Microscopic evidence against HIV-1 infection of germ cells or attachment to sperm. *J Reprod Immunol* 1998;41:105-25.
29. Bagasra O, Freund M. In vivo and in vitro studies of HIV-1 and human sperm. En: Alexander NJ, Gebelnick HL, Spieler JM, editors. Heterosexual transmission of AIDS. New York: Wiley-Liss, 1990; p. 155-66.
30. Kuji N, Tanaka H, Takahashi J, et al. Elimination efficiency of HIV from semen by Percoll continuous density gradient swim-up [abstract book]. *Hum Reprod* 1998;13:131.
31. Bagasra O, Farzadegan H, Seshamma T, Oakes JW, Saah A, Pomerantz RJ. Detection of HIV-1 proviral DNA in sperm from HIV-1 infected men. *AIDS* 1994;8:1669-74.
32. Quayle AJ, Xu C, Tucker L, Anderson DJ. The case against an association between HIV-1 and sperm: molecular evidence. *J Reprod Immunol* 1998;41:127-36.
33. Muciaccia B, Filippini A, Ziparo E, Colelli F, Baroni CD, Stefanini M. Testicular germ cells of HIV-seropositive asymptomatic men are infected by the virus. *J Reprod* 1998;41:81-94.
34. Shevchuk MM, Nuovo GJ, Khalife G. HIV in testis: quantitative histology and HIV localization in germ cells. *J Reprod Immunol* 1998;41:69-80.
35. Scofield VL, Poiesz B, Kennedy C, et al. HIV binds to normal sperm and is present in sperm from infected men. Eighth International Conference on AIDS; Amsterdam, 1992. Abstract 2102.
36. Marina S, Marina F, Alcolea R, Exposito R, Huguet J, Nadal J, et al. Human immunodeficiency virus type 1-serodiscordant couples can bear healthy children after undergoing intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1998;70:351-9.
37. Quayle AJ, Xu C, Mayer KH, Anderson DJ. T lymphocytes and macrophages, but not motile spermatozoa, are a significant source of human immunodeficiency virus in semen. *J Infect Dis* 1997;176:960-8.
38. Lori F, Di Marzo Veronese F, De Vico AL, Lusso P, Reitz MS Jr, Gallo RC. Viral DNA carried by human immunodeficiency virus type 1 virions. *J Virol* 1992;66:5067-74.
39. Zheng H, Zhang Y, Spicer TP, et al. Reverse transcription takes place within extracellular HIV-1 virions: potential biological significance. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993;9:1287-96.
40. Bacchetti B, Benedetto A, Collodel G, Crisa N, Di Caro A, Garbuglia AR, et al. Failure of HIV-1 to directly infect human oocytes. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999;21:355-61.