

Tasas de fecundación y de embarazo en ciclos de ICSI en función de la morfología espermática

Pregnancy and fecundation rate in ICSI cycles related to sperm morphology

M. Dorado¹, B. Migueles¹, M. Hebles², M. González¹, P. Sánchez², F. Sánchez²

¹Fundación Guadalquivir de Investigación Médica. Sevilla, ²Clínica Ginemed, Sevilla,

Resumen

El análisis del semen estándar (seminograma) es el estudio más habitual que se realiza a los pacientes que consultan por infertilidad conyugal. Este análisis incluye principalmente concentración, motilidad y morfología espermática. Este último parámetro es considerado por determinados autores como uno de los más importantes. El objetivo de este estudio es determinar el valor predictivo de la morfología espermática sobre las tasas de fertilización y tasas de embarazo en ciclos de ICSI. Para ello estudiamos 117 ciclos de ICSI que dividimos según su morfología espermática en dos grupos, menor de 4% y mayor o igual del 4% de formas normales. Ninguno de los parámetros observados muestra diferencias significativas entre ambos grupos. Tanto la tasa de fecundación como la de embarazo son valores similares independientemente de la morfología espermática. Por tanto la calidad morfológica de los espermatozoides no es un parámetro predictivo de la tasa de fecundación o embarazo en pacientes que son sometidos a ICSI.

Palabras clave: Morfología espermática. Criterio estricto. Predicción de fertilización en ICSI.

Summary

Standard semen analysis is the most frequent study for patients with sterility. This analysis is for motility, concentration and sperm morphology. The last is considered one of the most important for some author. The main outcome of this study is to find the predict value for the sperm morphology in fertilization and pregnancy rates in ICSI cycles. We take 117 cycles and taken the sperm morphology index in 4%. We divided in less than 4% and equal or over 4%. None of this parameter shows statistical different between both groups in order of the sperm morphology. We conclude that the sperm morphology is not a predictive value in ICSI patients.

Key words: Sperm morphology. Strict criteria. Prognostic factor of fertilization in ICSI cycles.

Correspondencia: Dra. Mónica Dorado Silva
C/ Farmacéutico Murillo Herrera nº 3
41010 SEVILLA
ginemed@ginemed.com

INTRODUCCIÓN

La valoración de la morfología espermática se ha considerado desde hace tiempo como un componente esencial del análisis seminal. Diversos estudios han examinado la relación entre la morfología espermática y la capacidad fecundante in Vitro (1). Se ha observado que en muestras con alto número de espermatozoides morfológicamente normales (>14%) según el criterio estricto de Kruger et. Al. tienen un mayor porcentaje de fertilización (2). Nagy y colaboradores publicaron en cambio un estudio donde no observaron ninguna correlación y concluyó que la ICSI es un tratamiento bastante efectivo en pacientes con factor masculino severo y solo requiere la presencia de espermatozoides vivos (3)

El objetivo de este estudio es determinar el valor predictivo de la morfología espermática sobre las tasas de fertilización y tasas de embarazos en ciclos de ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO

Se ha realizado un estudio observacional retrospectivo que incluye 117 pacientes sometidos a ciclo de ICSI entre agosto de 2005 y agosto de 2006. La inclusión en ciclo de ICSI se debió a baja concentración de espermatozoides móviles tras capacitación espermática, teratozoospermia severa y fallo previo de fertilización. La morfología se estudió sobre una extensión de 5 µL de semen fresco teñido con Diff quik. Las formas normales se consideran aquellas que tienen un acrosoma bien definido que ocupa del 40-70% de la cabeza, no tiene defectos de cuello, pieza intermedia o cola y las medidas de la cabeza son 5-6µm de largo y entre 2.5-3.5 µm de diámetro. Los pacientes fueron separados en dos grupos según su morfología espermática (menor de 4% de formas normales y mayor o igual de 4%). Realizamos un estudio comparativo de las tasas de fecundación y de las tasas de embarazo entre estos dos grupos.

Los ciclos de ICSI seleccionados se han realizado en protocolo corto tras un mes de reposo ovárico con anticonceptivos. Para supresión se ha usado análogos de la GnRH (aGnRH) (Decapeptyl diario ®) comenzando en el Día 2° del ciclo menstrual a dosis de 1 vial al día y reduciendo tras dos días la dosis a la mitad. Según los niveles séricos de FSH, LH y estradiol y en función de la edad de la paciente se fijan las dosis de estimulación ovárica con hormona folículo estimulante (FSH) (Gonal-F®) y Menotropina (HMG

Lépori®). La administración de estos se individualiza de acuerdo al control ecogáfico del ciclo. El criterio para la administración de la hormona gonadotrófica humana (1000 UI HCG) (HCG Lépori ®) es la presencia de al menos dos folículos de 18 mm. de diámetro. La administración de aGnRH y FSH se suspende el día de la administración de la HCG.

Las punciones se realizaron a las 36 horas de la administración de la hCG por vía vaginal ecoguiada.

Las muestras de semen usadas para ICSI se prepararon por gradiente de densidad en capas de 0,3 a 1 mL de 50% y de 0,3 a 1 mL de 90% de Sperm Grad (Vitrolife ®) y Ham F-10 (Gibco) con gentamicina. La centrifugación se lleva a cabo a 1100 rpm seguido de dos lavados de 5 minutos de G-Sperm (Vitrolife®) y G- Fert (Vitrolife ®) (ambos suplementados con albúmina) a 1500 rpm, posteriormente se realiza un swim up hasta la hora de la microinyección con un sobrenante de 25 a 200 µL de G-Fert. En muestras con escaso número de espermatozoides se someten a una concentración y resuspensión a 1500 rpm con todo el volumen de muestra en G- Sperm y se resuspenden en un volumen de 25 µL de G- Fert.

La microinyección se realizó entre las 3 y 6 horas de la captación ovocitaria descrita en detalle por Svalander et al. (4). Previamente el cúmulo fue eliminado con HYASE 10 en G-Mops en microgotas de 25 µL, ahí se dejaban unos segundos y finalmente pasando repetidas veces por micropipetas estiradas de distintos diámetros en G-Mops. La fecundación se evaluó a las 16-20 horas. A los días de la punción se realizó la transferencia de un máximo de los 3 embriones de mejor calidad. El tratamiento con progesterona se mantiene igual hasta el día de la _hCG (dos semanas) y si ésta es positiva se mantiene hasta el tercer mes de embarazo.

La comparación entre los grupos con una morfología menor de 4% y mayor o igual del 4% de formas normales en relación a la tasa de fecundación y tasa de embarazo se llevó a cabo por el estadístico One Way ANOVA. Considerando como significativo una $p < 0.05$.

RESULTADOS

El semen utilizado en los 117 ciclos de ICSI fue clasificado de acuerdo con el criterio estricto de Kruger. Para hacer el estudio estadístico se dividieron en dos grupos: menor del 4% de formas normales y mayor o igual de 4% de formas normales. Se obtuvieron 65 ciclos y 52 respectivamente. En ambos grupos tanto la media de edad de las pacientes como el nú-

mero de ciclos y óvulos microinyectados fueron comparables. Los resultados obtenidos se observan en la tabla 1.

Ninguno de los parámetros observados muestra diferencias significativas entre ambos grupos. Tanto la tasa de fecundación como la de embarazo son valores similares independientemente de la morfología espermática.

DISCUSIÓN

Sorprendentemente la morfología de Kruger, la cual supone que en muestras con una morfología inferior al 4% de formas normales tiene un mal pronóstico, no muestra diferencias significativas en nuestro estudio en porcentaje de fecundación ni en tasa de embarazo en ciclos de ICSI. Con la introducción de la ICSI los pacientes con un factor masculino severo de infertilidad pueden ser tratados con éxito (5).

Una explicación de la no correlación entre criterio morfológico y resultados tras ICSI es que los embriólogos siempre intentan coger los espermatozoides que tienen una morfología y una movilidad aparentemente mejor. La morfología espermática en ICSI no parece ser un factor crítico en la fertilización (6). Con la ICSI se hace posible fecundar óvulos con espermatozoides que de forma natural no serían capaces, por ejemplo espermatozoides sin acrosomas, vivo pero inmóviles o con una morfología alterada. Un factor más importante parece ser la vitalidad (2). Enginsu et al. (1991) en cambio encontró una buena correlación entre morfología y fertilización (7). Robinson et al encontraron que pacientes con una movilidad y concentración normal según la OMS tienen una buena fertilización aún teniendo una morfología por debajo del 5% de formas normales (8).

Hasta el momento, no ha sido posible correlacionar la morfología de los espermatozoides de pobre pronóstico con la fragmentación del DNA (9), sin embargo los espermatozoides con mala morfología

dan como resultados embriones de pobre calidad (10).

El procedimiento de swim up, que selecciona los espermatozoides por su movilidad progresiva también selecciona subpoblaciones morfológicas (11 y 12). Los parámetros de tamaño de la cabeza del espermatozoide y de la pieza intermedia, así como el porcentaje de área acrosómica difieren de forma significativa tras swim up respecto al semen en fresco en el estudio de C. Soler (2005) (1). Esto puede relacionarse con problemas en la espermatogénesis. La técnica de swim up selecciona espermatozoides con una cabeza de menor tamaño. Un tamaño grande de cabeza puede estar asociado con una condensación inadecuada de la cromatina y/o un intercambio incorrecto de histonas por protaminas durante la espermatogénesis.

CONCLUSIÓN

La valoración del porcentaje de formas normales según el criterio estricto estándar no se correlaciona con la tasa de fertilidad y tasa de embarazo en ciclos de ICSI. No obstante se deben utilizar espermatozoides de cabeza pequeña y forma normal siempre que se disponga de ellos en la muestra.

En conclusión el valor predictivo de un seminograma habitual es limitado y se requiere de pruebas complementarias para tener una información completa de la capacidad fertilizadora del espermatozoide. No obstante la ICSI solventa una gran parte de los problemas que harían que ese espermatozoide no fecundara de forma natural. Es por tanto más importante la concentración o la vitalidad de espermatozoides en la muestra que la calidad morfológica de la misma en pacientes que son sometidos a ICSI.

AGRADECIMIENTOS

A Laura Aguilera Duvison por la ayuda prestada en la recopilación de datos.

Tabla 1
Resultados en ciclos de ICSI en relación al criterio estricto de morfología espermática

	Pobre pronostico <4%	Buen pronóstico ≥ 4%	P< 0.05
Edad	32,63	33,23	
Número de ciclos de ICSI	65	52	P=0.08
Nº de ovocitos microinyectados por ciclo	11,55	11,96	P=0.339
Tasa de fecundación	76,51%	81,07%	P=0.88
Tasa de embarazo	30/65 46,15%	25/52 48,07%	P=0,266

BIBLIOGRAFÍA

1. **Soler C, Ga_ner P, Nieschlag E, de Monserrat JJ, Gutiérrez R, Sáncho M, Buendía P, Álvarez JG, Behre HM, Cooper TG.:** Utilización del Integrated Semen Análisis System (ISAS)® para el análisis morfométrico espermático humano y su significado en las técnicas de reproducción asistida. *Rev Int Androl.* 2005; 3(3): 112-119.
2. **Michael P, Zahalsky MD, Edgard BS, Nadine Medley RN, Harris M, Nagler MD.:** Morphology and the sperm penetration assay. *Fertil and Steril* 2003; 79: 39-41.
3. **Nagy ZP, Liu J, Joris H, et al.:** The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum. Reprod.* 1995; 10: 1123-1129.
4. **Svalander P, Forsberg AS, Jakobsson AH, and Wikland M.:** Factor of importance for the establishment of a successful program of intracytoplasmic sperm injection treatment for male infertility. *Fertil. Steril.* 1995; 63: 827-837.
5. **Peter Svalander, Ann-Helene Jakobsson, Ann-Sofie Forsberg, Anna-Carin Bengtsson and Matts Wikland.:** The outcome of intracytoplasmic sperm injection is unrelated to "strict criteria" sperm morphology. *Hum. Reprod.* 1996; 11: 1019-1022.
6. **Küpker W, Al- Hassani S, Schulze W, et al.:** Morphology in intracytoplasmic sperm injection: preliminary results. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 1995; 12: 620-626.
7. **Enginsu ME, Dumoulin JCM, Pieters MHEC, et al.:** Evaluation of human sperm morphology using strict criteria after Diff- Quick staining: correlation of morphology with fertilization in vitro. *Hum. Reprod.* 1991; 6: 854-857.
8. **Robinson JN, Lockwood GM, Dokras A, et al.:** Does isolated teratozoospermia affect performance in in-vitro fertilization and embryo transfer? *Hum. Reprod.* 1994; 9: 870-874.
9. **Martin RH and Rademaker A.:** The relationship between sperm chromosomal abnormalities and sperm morphology in humans. *Mutat. Res.*, 1988; 207: 159-164.
10. **Cohen J, Alikani M, Malter H, et al.:** Partial zona dissection or subzonal sperm insertion: microsurgical fertilization alternatives based on evaluation of sperm and embryo morphology. *Fertil. Steril.* 1991b; 56: 696-706.
11. **Soler C, De Monserrat JJ, Gassner P, et al.:** Morfometría espermática humana y tasa de fertilidad tras fecundación in Vitro e inyección intracitoplasmática. *Act. Androl.* 2000; 8: 123.
12. **Pérez-Sánchez F, Cooper TG, Yeung CH, et al.:** Improvement in quality of cryopreserved human spermatozoa by swim up before freezing. *Int. J Androl.* 1994; 17: 115-120.