

Comparación de tres métodos de capacitación espermática para ICSI en pacientes con morfología anormal

Esperanza Carballo Mondragón,* Jorge Alberto Campos Cañas,* Heidi Ortiz Reyes,* Alberto Kably Ambe*

RESUMEN

Antecedentes: la elección del método ideal de capacitación espermática para métodos de reproducción asistida aún es motivo de controversia; a pesar de que existe gran variedad de estudios, no contamos con evidencia suficiente que permita discernir entre las distintas técnicas.

Objetivo: evaluar tres diferentes técnicas para capacitación espermática en procedimientos de reproducción asistida.

Material y método: se evaluaron tres diferentes técnicas para capacitación espermática en procedimientos de reproducción asistida (Swim-up, Isolate y gradientes de Cook), aplicadas en pacientes con morfología alterada, con movilidad y concentración normales. Se tomaron como variables de salida la recuperación espermática, la fertilización, la segmentación y el porcentaje de embarazo.

Resultados: el grupo de Swim-up tuvo un menor porcentaje de morfología normal poscapacitación, sin ser estadísticamente significativo. No hubo diferencias significativas en la fertilización, la segmentación o la tasa de embarazo, pero se observó una tendencia a mejores tasas de embarazo con esta técnica.

Conclusiones: con muestras de concentración y movilidad normales y morfología alterada, la técnica de Swim-up podría ser una mejor opción, pues muestra una tendencia hacia mejores tasas de embarazo, aunque sin significado estadístico.

Palabras clave: capacitación espermática, reproducción asistida.

ABSTRACT

Background: The election of the ideal method of sperm capacitation in assisted reproduction techniques (ART) is still controversial. Even we have a wide variety of studies comparing these techniques, we still have a lack of evidence to make this decision.

Objective: To assess three different techniques to sperm capacitation in assisted reproduction procedures.

Material and method: Three different sperm capacitation techniques were assessed in assisted reproduction techniques (Swim-up, Isolate and Cook gradients), in patients with sperm samples presenting altered morphology and normal motility and concentration. The variables evaluated included sperm recovery, fertilization, segmentation and pregnancy rates.

Results: The group included in Swim-up technique presented a diminished normal morphology percentage, but without statistical significance. There were not significant statistic differences in fertilization, segmentation nor pregnancy rates, but we observed a trend towards better pregnancy rates using this technique.

Conclusions: With samples of normal concentration and motility, and altered morphology, Swim-up technique may be the best option, because it shows a trend towards better rates of pregnancy, although without statistical significance.

Key words: sperm capacitation techniques, assisted reproduction.

* Unidad de Reproducción Asistida, Centro Especializado para la Atención de la Mujer SC, Hospital Ángeles de las Lomas, Huixquilucan, Estado de México.

Correspondencia: Dra. Esperanza Carballo M. Unidad de Reproducción Asistida, Centro Especializado para la Atención de la Mujer SC, Hospital Ángeles de las Lomas. Vialidad de la Barranca s/n-240, colonia Valle de las Palmas, Huixquilucan, Estado de México, CP 52787. Correo electrónico: draecm@gmail.com
Aceptado: julio, 2011. Aceptado: septiembre, 2011.

Este artículo debe citarse como: Carballo-Mondragón E, Campos-Cañas JA, Ortiz-Reyes H, Kably-Ambe A. Comparación de tres métodos de capacitación espermática para ICSI en pacientes con morfología anormal. Rev Mex Reprod 2011;4(2):68-71.

www.nietoeditores.com.mx

Existen varios métodos de preparación espermática disponibles, con gran variabilidad en las tasas de recuperación, movilidad, morfología y grado de daño al ADN. Los estudios que han evaluado estas técnicas se han basado fundamentalmente en las tasas de recuperación y los parámetros seminales convencionales; sin embargo, sabemos que estas evaluaciones están limitadas.¹⁻⁴

La mayor parte de las clínicas de reproducción asistida utilizan como técnicas de preparación seminal la de Swim-up y el método de gradiente de densidad (Isolate y gradientes de Cook). La técnica de Swim-up se basa en

la migración que separa la fracción móvil de la fracción sin movilidad. La técnica de gradiente de densidad separa los espermatozoides de acuerdo con la densidad del medio, con una selección de espermatozoides móviles y por morfología.^{5,6}

Al evaluar los resultados es importante tomar en cuenta las aberraciones en la cromatina y daño al ADN, anomalías que no se detectan en el análisis seminal estándar. Un bajo nivel de radicales libres de oxígeno mejora la función espermática; sin embargo, conforme los niveles de estrés oxidativo aumentan, los espermatozoides muestran un mayor nivel de afectación al ADN. Estas condiciones pueden mejorarse con las técnicas de separación y capacitación espermática; sin embargo, no están exentas de riesgo, ya que la centrifugación puede aumentar la producción de radicales libres de oxígeno.^{5,7}

Otro dato a evaluar es la posibilidad de disminuir la concentración leucocitaria en la muestra espermática, ya que se ha demostrado que las concentraciones de leucocitos disminuyen considerablemente con ambas técnicas, pero son significativamente menores con la técnica de Swim-up.⁸

El método de separación por gradientes puede ser una buena técnica de selección espermática, en la que se separan otros tipos celulares incluidos en el eyaculado. Consiste en la centrifugación de la muestra sobre silicatos que separan las células por densidad. Esta técnica genera la obtención de una fracción de espermatozoides móviles y libres de impurezas. Se ha demostrado que puede separar a los espermatozoides con integridad de la cromatina, con lo que ocurre una menor fragmentación de ADN y menor generación de radicales libres de oxígeno.^{2,5,7} Sin embargo, la técnica de Swim-up parece no ser tan eficiente en separar a los espermatozoides con anomalías en la cromatina.^{5,6}

La técnica de Swim-up depende de la movilidad espermática del botón prelavado. Puede obtenerse hasta 90% de movilidad con esta técnica. Dadas las condiciones inherentes a la misma, su uso se ha sugerido en pacientes normospermicos, o si se utiliza en pacientes oligozoospermicos, debe realizarse sin lavado previo. Esta técnica no requiere un alto grado de adiestramiento, por lo que es práctica y de bajo costo.⁴

La técnica de separación ideal debe ser rápida, fácil y eficiente, debe lograr separar la mayor cantidad de es-

permatozoides móviles con el menor daño o alteraciones fisiológicas a las células, eliminando los espermatozoides muertos o inmóviles y otros tipos celulares, como leucocitos y bacterias, así como sustancias tóxicas.^{8,9}

La elección de la técnica a utilizar para la capacitación espermática es decisiva en los procesos de reproducción asistida, y depende fundamentalmente de la calidad espermática y de la experiencia de cada centro.^{2,9}

En años recientes se ha puesto especial atención a los marcadores de apoptosis; algunos estudios han investigado la apoptosis en las diferentes técnicas de capacitación, con resultados no del todo concluyentes.^{2,10}

En este estudio se analizaron las técnicas más comunes para la separación espermática, se tomó en cuenta que la morfología es un indicador de falta de maduración.

El objetivo de este estudio es valorar la mejor técnica de capacitación espermática en pacientes que se someten a ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo con distribución al azar, efectuado de enero de 2007 a diciembre de 2009 en el Centro Especializado para la Atención de la Mujer (CEPAM). Se analizaron 229 pacientes con indicación de ICSI. Las muestras seminales tenían morfología de 4% (criterio estricto de Krüger) y parámetros de concentración y movilidad normales. Se compararon la técnica de Swim-up y dos técnicas de gradientes (descritas ampliamente en la bibliografía). Se tomaron como variables de salida la recuperación espermática, la fertilización, la segmentación y el porcentaje de embarazo.

En el grupo I se usó Isolate (Irvine Sci, $n = 99$), en el grupo II se utilizaron gradientes de Cook ($n = 50$) y en el grupo III se usó Swim-up ($n = 80$). Los grupos no tuvieron diferencias significativas en edad y en calidad ovocitaria, por lo que eran comparables entre sí.

El análisis estadístico de las variables mencionadas se realizó con la prueba *t* de Student.

RESULTADOS

El grupo de Swim-up tuvo menor porcentaje poscapacitación de morfología normal que los grupos Isolate y Cook (2.8, 3, 1.5%, respectivamente). El índice de

recuperación fue similar entre grupos; si bien la técnica de Isolate tuvo mejor recuperación, sólo hubo diferencia significativa al compararlo con el grupo de Swim-up ($p = 0.04$).

No hubo diferencias significativas en los porcentajes de fertilización (Figura 1) o segmentación (Figura 2). En las tasas de embarazo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, pero el grupo de Swim-up tuvo una mejor tasa de embarazo (Figura 3).

DISCUSIÓN

A pesar de que se ha publicado un gran número de trabajos que comparan las diferentes técnicas de preparación espermática, no existe suficiente evidencia bibliográfica para recomendar una técnica específica acorde con cada caso clínico; sin embargo, hay es-

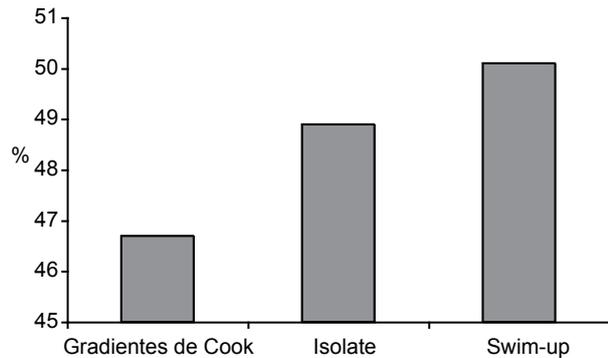


Figura 1. Distribución por tasa de fertilización de las técnicas de separación espermática.

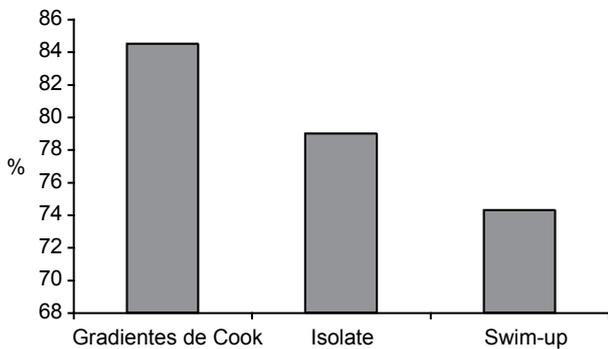


Figura 2. Distribución por tasa de segmentación de las técnicas de separación espermática. Sólo se observaron diferencias ($* p = 0.02$) entre las técnicas de gradienates de Cook y la de Swim-up.

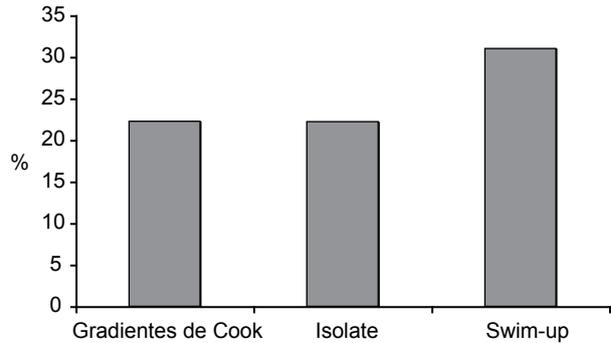


Figura 3. Distribución por tasa de embarazo de las técnicas de separación espermática.

tudios que sugieren mejores resultados al utilizar la técnica de Swim-up.

En este estudio se compararon tres diferentes técnicas de separación en pacientes con morfología anormal, pero con parámetros de movilidad y concentración normales, a los que se les realizó ICSI. No se encontraron diferencias en los parámetros analizados.

Los resultados, aunque no significativos, tendieron a una mejor tasa de embarazo con la técnica de Swim-up; esto coincide con los estudios de Zini, quien refiere menor grado de desnaturalización del ADN con esta técnica al compararla con la de gradienates.² También se ha demostrado que esta técnica recupera una menor cantidad de espermatozoides necróticos que el resto, de acuerdo con los estudios realizados por Ricci.

Coincidente con nuestros resultados, Yang, en 2006, no encontró diferencias significativas entre las técnicas en cuanto a fertilización, segmentación y embarazo, y concluyó que, si bien la técnica de Swim-up tuvo mejor recuperación, las técnicas de gradienates mostraron un menor número de espermatozoides anormales.^{11,12}

CONCLUSIONES

El uso de cada técnica depende del tipo y calidad de cada muestra, y en este estudio no se encontraron diferencias significativas entre técnicas. Sin embargo, observamos que con muestras de concentración y movilidad normales y morfología alterada, la técnica de Swim-up podría ser una mejor opción, pues muestra una tendencia hacia mejores tasas de embarazo, aunque sin significado estadístico.

Asimismo, esta técnica puede ser superior al generar procesos más sencillos, con menor producción de especies libres de oxígeno y, por tanto, menor grado de daño al ADN.

REFERENCIAS

1. Moseley FLC, Jha KN, Björndahl L, Brewis IA, et al. Protein tyrosine phosphorylation, hyperactivation and progesterone-induced acrosome reaction are enhanced in IVF media: an effect that is not associated with an increase in protein kinase A activation. *Mol Hum Reprod* 2005;11(7):523-529.
2. Sakkas D, Manicardi GC, Tomlinson M, Mandrioli M, et al. The use of two density gradient centrifugation techniques and the swim-up method to separate spermatozoa with chromatin and nuclear DNA anomalies. *Hum Reprod* 2000;15(5):1112-1116.
3. Henkel RR, Schill WB. Sperm preparation for ART. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1:108.
4. Ricci G, Perticarari S, Boscolo R, Simeone R, et al. Leukocytospermia and sperm preparation—a flow cytometric study. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:128.
5. Ricci G, Perticarari S, Boscolo R, Montico M, et al. Semen preparation methods and sperm apoptosis: swim-up *versus* gradient-density centrifugation technique. *Fertil Steril* 2009; 91:632-638.
6. Tucker KE, Jansen CAM. Sperm separation techniques: comparison and evaluation of gradients products. In: *Proceedings 2nd International workshop for Embryologists: Troubleshooting Activities in the ART lab*. Ed. R Basuray and D Mortimer, 2002.
7. Jakab A, Kovacs T, Zavaczki Z, Borsos A, et al. Efficacy of the swim-up method in eliminating sperm with diminished maturity and aneuploidy. *Hum Reprod* 2003;18(7):1481-1488.
8. Shittu LA, Babalola O, Adesanya O, Jewo I, et al. Pregnancy outcome following swim up preparation of both fresh and cryopreserved spermatozoa. *Sci Res Essay* 2006;1(3):103-107.
9. Yang HJ, Li Y, Li M, Ma SY, Hu JM. Comparison of the outcome of intracytoplasmic single sperm injection between two motile sperm separation methods. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2006;12(6):499-501.
10. Younglai EV, Holt D, Brown P, Juriscova A, Casper RF. Sperm swim-up techniques and DNA fragmentation. *Hum Reprod* 2001;16(9):1950-1953.
11. Jameel T. Sperm swim-up: a simple and effective technique of semen processing for intrauterine insemination. *J Pak Med Assoc* 2008;58:71-74.
12. World Health Organization. Examination and processing of human semen. 5th ed., 2010.