



<https://doi.org/10.24245/rmmr.v12id.4876>

# Ruptura del oolema en ICSI y su trascendencia en el desarrollo embrionario

## Oolema rupture in ICSI treatment and the impact in the embryo development.

Oscar Enrique Flores-Soto,<sup>1</sup> Ricardo Rodríguez-Calderón,<sup>2</sup> Gabriela Alatorre-Izaguirre,<sup>3</sup> Erick Meinardo-Garza Pérez,<sup>4</sup> José Carlos Salazar-Trujillo,<sup>5</sup> Carlos Gerardo Salazar López-Ortiz<sup>6</sup>

### Resumen

**OBJETIVO:** Demostrar que hay asociación entre la penetración de la membrana ovocitaria (oolema) al momento de la inyección intracitoplasmática con la pipeta y el desarrollo embrionario posterior a la fertilización hasta la etapa de blastocisto.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio de casos y controles efectuado en el Hospital Español de México (HISPAREP) del 15 de junio de 2018 al 15 de abril de 2019. *Criterios de inclusión:* ciclos con muestra seminal y ovocitos homólogos en fresco y ciclos con embriones en blastocisto. *Criterios de exclusión:* factor masculino severo y muestras seminales con esperma normal. Se integraron dos grupos según el momento de la inyección intracitoplasmática. Se calculó la tasa de fecundación y comparó con t de Student y posterior análisis de variables cualitativas por prueba de ANOVA.

**RESULTADOS:** Se analizaron 70 ciclos de pacientes con edad promedio de 37.4 años y 701 ovocitos recuperados; 580 en metafase II e ICSI. Se dividieron en dos grupos según las características de la inyección intracitoplasmática. *Grupo A:* ovocitos fecundados con calificación SS a A1; *Grupo B:* ovocitos fecundados con calificación A2-A3 según el tipo de rotura del oolema, propuesto por el Instituto Valenciano de Infertilidad. *Grupo A:* tasa de fecundación de 60% (IC95%: 47.8-72.8) y *Grupo B:* 85% (IC 95% 81.6-90.2),  $p < 0.001$ . Se continuó observando desarrollo con 262 blastocitos. *Grupo A:* 54.1% (IC95%: 28.3-53.96) y *Grupo B:* 55.8% (IC95%: 50.2-65.2)  $p = 0.028$ .

**CONCLUSIONES:** La ruptura del oolema tuvo una repercusión en la fecundación ovocitaria e influencia en el desarrollo final embrionario. A mayor resistencia al momento de la inyección mayor efecto favorable en la tasa de fecundidad y desarrollo embrionario.

**PALABRAS CLAVE:** Ovocito; blastocisto; factor masculino; desarrollo embrionario; fecundación; inyecciones de esperma; intracitoplasmática.

### Abstract

**OBJECTIVE:** To demonstrate that there is an association between oocyte membrane (oolemma) penetration at the time of intracytoplasmic injection with the pipette and embryonic development following fertilization up to the blastocyst stage.

**MATERIALS AND METHODS:** Case-control study performed at the Spanish Hospital of Mexico (HISPAREP) from June 15, 2018 to April 15, 2019. Inclusion criteria: cycles with seminal sample and fresh homologous oocytes and cycles with blastocyst embryos. Exclusion criteria: severe male factor and seminal samples with normal sperm. Two groups were integrated according to the time of intracytoplasmic injection. The fertilization rate was calculated and compared with Student's t test and subsequent analysis of qualitative variables by ANOVA test.

**RESULTS:** Seventy cycles of patients with an average age of 37.4 years and 701 oocytes recovered; 580 in metaphase II and ICSI were analyzed. They were divided into two groups according to the characteristics of intracytoplasmic injection. *Group A:* oocytes fertilized with SS to A1 rating; *Group B:* oocytes fertilized with A2-A3 rating according

<sup>1</sup>Médico asociado al servicio de Biología de la Reproducción.

<sup>2</sup>Responsable de Laboratorio de Fertilización in vitro.

<sup>3</sup>Residente de Biología de la Reproducción.

<sup>4</sup>Médico general.

<sup>5</sup>Biólogo de la Reproducción.

<sup>6</sup>Director General. Hospital Español, HISPAREP, Ciudad de México.

**Recibido:** octubre 2020

**Aceptado:** octubre 2021

### Correspondencia

José Carlos Salazar Trujillo  
jctst@hotmail.com

**Este artículo debe citarse como:** Flores-Soto OE, Rodríguez-Calderón R, Alatorre-Izaguirre G, Garza-Pérez EM, Salazar-Trujillo JC, Salazar-López Ortiz CG. Ruptura del oolema en ICSI y su trascendencia en el desarrollo embrionario. *Reproducción (México)* 2021; 12: 26 de noviembre 1-12.

to the type of oolemma rupture, proposed by the Valencian Infertility Institute. Group A: fertilization rate of 60% (95%CI: 47.8-72.8) and Group B: 85% (95%CI 81.6-90.2),  $p < 0.001$ . Development continued to be observed with 262 blastocysts. Group A: 54.1% (95%CI: 28.3-53.96) and Group B: 55.8% (95%CI: 50.2-65.2)  $p = 0.028$ .

**CONCLUSIONS:** Oolemma rupture had an impact on oocyte fertilization and influence on final embryonic development. The greater the resistance at the time of injection, the greater the favorable effect on the fecundity rate and embryo development.

**KEYWORDS:** Oocyte; Blastocyst; Male factor; Embryonic development; Fertilization; Sperm injections, intracytoplasmatic

## ANTECEDENTES

La infertilidad afecta a alrededor de 186 millones de personas en el mundo,<sup>1,2</sup> la mayoría de origen multifactorial.<sup>3</sup> A pesar de los avances médicos y tecnológicos en los métodos diagnósticos y terapéuticos no siempre es posible establecer el origen de la infertilidad. En algunos casos los desenlaces no son los esperados.

Hoy día, antes de aplicar cualquier tipo de técnica reproductiva, deben identificarse la causa de la infertilidad y los factores pronósticos reproductivos. Solo así será posible ofrecer los mejores esquemas de estimulación ovárica controlada para cada paciente. Para obtener la mejor calidad ovocitaria posible es importante buscar la mayor afinidad con los receptores.<sup>4</sup> Los estudios de las expresiones génicas de los receptores endometriales se orientan a la búsqueda de una mayor tasa de implantación embrionaria<sup>5</sup> e identificación de los marcadores morfológicos y genómicos en los gametos.<sup>6,7</sup>

La correlación entre la evaluación de ciertas características morfológicas en los ovocitos maduros utilizados en la técnica ICSI y el desarrollo embrionario posterior tiene como propósito establecer ciertos parámetros morfológicos y los marcadores indirectos de la calidad ovoci-

taria: viscosidad del citoplasma, relación con la resistencia del oolema y la formación del cono citoplasmático posterior a la inyección.<sup>8,9</sup>

La calidad de la membrana ovocitaria (oolema) puede medirse indirectamente, por medio de la resistencia al momento de la ruptura del oolema al inyectar un espermatozoide mediante microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Se trata de una técnica en aumento desde su introducción por Palermo y su grupo que permite mejorar el pronóstico en las parejas en quienes el factor masculino es la causa de la infertilidad.<sup>10</sup>

Luego de inyectar el espermatozoide en la mejor zona del citoplasma del ovocito, previamente valorado con buena morfología y movilidad, es posible acortar los pasos preliminares de la fecundación in vivo (reacción acrosómica y la fusión de membranas de los gametos).<sup>10</sup>

La calidad ovocitaria se refiere a las etapas de la foliculogénesis, cuando los ovocitos experimentan una fase de crecimiento (40 a 120  $\mu\text{m}$ ) en la que se producen las moléculas y organelos celulares decisivos en la promoción del desarrollo embrionario.<sup>9</sup> Posteriormente sigue una fase de maduración ovocitaria que cursa con modificaciones del complemento cromosómico.



sómico y reordenamiento de los componentes citoplásmicos fundamentales para el logro de la competencia del desarrollo que finalizará con la maduración nuclear y del citoplasma de los ovocitos.<sup>9-12</sup>

El crecimiento y la maduración de los óvulos humanos son paralelos a la diferenciación del folículo y son mutuamente interdependientes con su desarrollo. Por tanto, las células de la granulosa que rodean al ovocito son muy relevantes para el óvulo a lo largo de la foliculogénesis. La comunicación entre el ovocito y las células somáticas se establece mediante la señalización paracrina y de la unión de la brecha al establecerse un eje de comunicación bidireccional.<sup>11-14</sup> En pacientes con hiperestimulación ovárica controlada, el ambiente folicular no es el mismo que en un escenario in vivo.

En los últimos años se han buscado marcadores pronósticos; uno de los principales es la correlación directa entre la viscosidad del citoplasma y la resistencia de la membrana ovocitaria al momento de la ruptura durante la ICSI.<sup>15,16</sup>

Los ovocitos humanos maduros, de buena calidad, tienen un citoplasma claro, moderadamente granular y con un espacio perivitelino pequeño, con una zona pelúcida transparente e incolora que contiene un cuerpo polar idealmente no fragmentado y un oolema resistente. Cuando los ovocitos tienen inclusiones citoplásmicas, vacuolas, cuerpos retráctiles, zona pelúcida oscura, cuerpo polar anormal junto con un oolema fácilmente penetrable y un gran espacio perivitelino las tasas de fertilización son deficientes.<sup>16,17</sup>

En los últimos años se han desarrollado distintas tecnologías basadas en "ómica" que buscan identificar factores pronósticos mediante evaluaciones no invasivas de los embriones humanos. En la actualidad no se dispone de

técnicas analíticas o dispositivos que permitan valorar de manera certera este desarrollo. Por esto se siguen seleccionando embriones en función de su tasa de desarrollo, euploidia o características morfológicas. Esta es la razón por la que aún es necesario buscar factores pronósticos durante el tratamiento que permitan inferir el éxito.<sup>17,18,19</sup> Nagy y su grupo reportaron mayor tasa de degeneración ovocitaria y menor tasa de fecundación cuando la rotura de la membrana citoplasmática no tenía resistencia. Inferieron que se trataba de un ovocito de mala calidad debido a la probable inmadurez del ooplasma y del oolema.<sup>8</sup>

La membrana citoplasmática (oolema) suele tener elasticidad y resistencia frente a la pipeta de inyección. Si bien se buscan reducir al máximo los daños ocasionados al ovocito durante esta rotura, no siempre es posible porque ello depende de la calidad ovocitaria, el grado de maduración del citoplasma y de la propia membrana citoplasmática que le permitan al biólogo realizar una rotura de manera menos agresiva.<sup>18</sup>

La categorización de los diferentes tipos de rotura de membrana aún no está estandarizada. Para fines de esta investigación se utilizó la descrita por el Instituto Valenciano de Infertilidad de Barcelona que divide en 7 tipos la rotura del oolema:

*Rotura SS o sin salto.* El oolema se rompe durante la introducción de la pipeta sin ningún tipo de resistencia. No hay formación de invaginación o cono sobre la membrana. Este tipo de rotura suele darse en ovocitos de mala calidad que tienden a degenerar. **Figura 1**

*Rotura A1.* El oolema se rompe al introducir la pipeta, previamente se observa una invaginación o cono en la membrana, lo que es indicativo de cierta elasticidad. Si no se consigue romper la membrana por presión puede intentarse romperla mediante aspiración. **Figura 2.**



**Figura 1.** Rotura del oolema SS (Clínica HISPAREP).



**Figura 2.** Si no se consigue romper la membrana por presión puede intentarse romperla mediante aspiración. (Clínica HISPAREP).

*Rotura A2.* No es posible una rotura A1, el oolema se rompe debido a una leve aspiración del citoplasma. Esta rotura se consigue antes de que el citoplasma aspirado llegue a la altura de la zona pelúcida. **Figura 3**

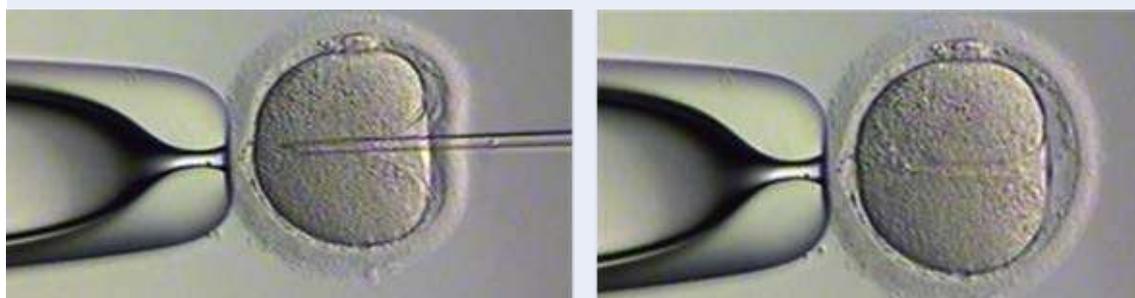
*Rotura A3.* El oolema se rompe después de una aspiración citoplasmática importante al tener mayor resistencia a la rotura. Ésta se consigue después de que el citoplasma aspirado llega a la altura de la zona pelúcida. **Figura 4**

*Rotura STA1.* Consiste en la rotura del oolema al reintroducir la pipeta en otra área y aplicar presión.

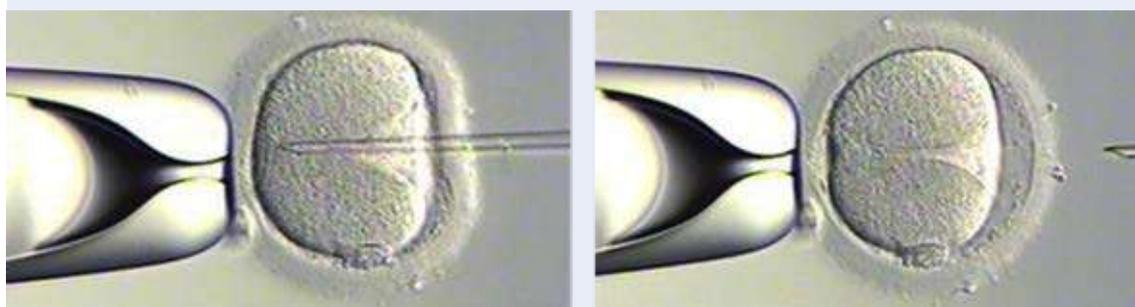
*Rotura STA2.* El oolema se rompe después de la reintroducción de la pipeta y una leve aspiración.

*Rotura STA3.* El oolema se rompe después de la reintroducción de la pipeta y una importante aspiración.

El objetivo de este estudio fue: demostrar que hay asociación entre la penetración de la membrana ovocitaria (oolema) al momento de la inyección intracitoplasmática con la pipeta y el desarrollo embrionario posterior a la fertilización hasta la etapa de blastocisto.



**Figura 3.** Cuando no es posible una rotura A1, el oolema se rompe debido a una leve aspiración del citoplasma (Clínica HISPAREP).



**Figura 4.** El oolema se rompe después de una aspiración citoplasmática importante al tener mayor resistencia a la rotura. (Clínica HISPAREP).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de casos y controles llevado a cabo en la Clínica de Reproducción Asistida del Hospital Español, HISPAREP, del 15 de junio de 2018 al 15 de abril de 2019. La información se recolectó de los expedientes y se reunió en una base de datos de Excel. Los datos se analizaron con el programa Minitab 18.1. La descripción de los datos cuantitativos y cualitativos se presenta en frecuencias absolutas, media, mediana y desviación estándar. La tasa de fecundación y de formación de blastocisto de ambos grupos se comparó con t de Student. La tasa de fecun-

dación y de formación de blastocisto, tomando en cuenta las variables cualitativas, categoría de edad y el factor femenino agregado se analizaron con varianza ANOVA. Se consideró estadísticamente significativa una diferencia con  $p < 0.05$ .

*Criterios de inclusión:* técnica ICSI y gametos homólogos obtenidos en fresco, muestras seminales con alteración (teratozoospermia), pacientes con factor masculino severo. *Criterios de exclusión:* pacientes con ovodonación u ovocitos propios vitrificados, muestras seminales heterólogas u homólogas con espermias normales y congeladas. *Criterios de exclusión:* ciclos

con vitrificación de embriones en día 3 (porque no permite valorar la progresión embrionaria a estadio de blastocisto), ovocitos en los estadios de vesícula germinal, ovocitos en M1 y ovocitos atróficos o degenerados (porque no cuentan con las características mínimas indispensables para ICSI).

En relación con los esquemas de estimulación ovárica controlada, casi todos fueron con administración de gonadotropinas recombinantes o urinarias con antagonista en esquema flexible en el 97.1% de los casos. En cuanto a la maduración final ovocitaria con HCG ultrapurificada de origen urinario (10,000 UI) en el 81.40% de los ciclos, HCG recombinante (250 mcg) en el 7.14% y con análogo agonista de GnRH (1-2mg) en el 11.4% de los ciclos.

La captura ovocitaria se llevó a cabo de manera habitual, 34 a 36 horas después de la aplicación del disparo farmacológico buscando la maduración ovocitaria final. Se cumplió con los estándares de esterilidad adecuados y los procedimientos se efectuaron con guía ecográfica endovaginal, con una presión de succión promedio de 100 mmHg. Enseguida de obtener los complejos CCO (corona-cúmulo-ovocito) se identificaron y clasificaron después de la aspiración y se incubaron a 37 °C y 6% de CO<sub>2</sub>. La eliminación de las células del cúmulo tuvo lugar entre 2 y 4 horas después de la punción folicular, mediante acción enzimática por medio de la aplicación de hialuronidasa de 80 UI/mL durante no más de 30 segundos y disgregación mecánica con pipetas de Pasteur durante 30 segundos, en promedio, en una primera placa. En la segunda placa con gotas de medio de cultivo se lavó cada ovocito en gotas que se colocaron en la porción superior de la placa. Posteriormente se colocaron en otras gotas de cultivo en la parte inferior de la misma placa, ya sin efectos enzimáticos y sin detritos celulares. Esto permitió la adecuada evaluación y clasificación de los ovocitos, solo

tomando en cuenta los que se encontraban en metafase II (MII) para el procedimiento. Se observaron expandidos con el primer corpúsculo polar. **Figuras 5**

De manera simultánea al proceso descrito con los ovocitos y su manipulación, se recolectaron las muestras seminales de las parejas de las pacientes; previa corroboración de la abstinencia en cada uno de ellos de 3 a 5 días. Los análisis espermáticos de los pacientes se efectuaron conforme a los últimos parámetros establecidos por la OMS en el 2010, con criterio estricto de Kruger. Posteriormente, las muestras fueron objeto de capacitación espermática por medio de doble técnica (*Swim up* y gradientes de densidad), con recuperación de 300 microlitros de espermatozoides móviles progresivos para ICSI.

Después de capacitar la muestra seminal y clasificar los ovocitos en metafase II se inyectaron en un lapso no mayor a 1 hora después de terminada la denudación ovocitaria. Se utilizó una micropipeta de inyección de calibre intermedio (diámetros interno y externo: 5 y 7 micras respectivamente). Para disminuir los sesgos todos los casos los trató un solo embriólogo.



**Figura 5.** Ovocito expandido en metafase II (Clínica HISPAREP).



Esto permitió disminuir las diferencias técnicas.

Durante la inyección ovocitaria se valoró el tipo de ruptura del oolema (membrana ovocitaria) con posterior división en dos grupos. En el primer grupo se incluyeron todas las rupturas de membrana calificadas sin salto (SS) y mínima resistencia (A1) porque la diferencia entre una y otra a veces es imperceptible, incluso entre biólogos experimentados.

En el segundo grupo se incluyeron todas las rupturas de membrana A2 y A3 (con resistencia moderada y elevada, respectivamente). Hubo una notoria diferencia al comparar ambos grupos entre sí. Posterior a la ICSI los ovocitos inyectados se transfirieron a gotas frescas de medio de cultivo en un ambiente de incubadora de 37 °C y de bióxido de carbono al 6%. Tanto la evaluación de la fecundación como el cálculo de su tasa se realizaron 16 a 20 horas después de la ICSI. Se definió como fecundación correcta o adecuada la coexistencia de dos pronúcleos con nucléolos y con 2 cuerpos polares extruidos (**Figura 6**). Para la evaluación y seguimiento del desarrollo



**Figura 6.** Ovocito correctamente fecundado (Clínica HISPAREP).

embrionario hasta el día 5 (**Figura 7**) los embriones se colocaron en un cultivo secuencial, para cuantificar la cantidad de blastocistos obtenidos, su calidad según el sistema de puntaje acordado en el consenso de Estambul (2011) y al igual que en ese consenso traspolando los resultados de ese puntaje a la escala de Gardner A-C (1999), que combina el estadio en el que se encuentra morfológicamente el blastocisto, la apariencia y tamaño de la masa celular interna, y las características celulares del trofoblasto. El puntaje en tres grados, según el resultado de la evaluación, se encuentra en los **Cuadros 1 y 2**.<sup>19</sup>

De acuerdo con la calificación otorgada por el tipo de la ruptura del oolema al momento de hacer la ICSI se dividió en dos grupos.

**Grupo A:** englobando los ovocitos fecundados con calificación (SS-A1).

**Grupo B:** englobando los ovocitos fecundados con calificación (A2-A3).

Se obtuvieron resultados en general y, a su vez, para fines de un análisis más detallado se dividieron en subgrupos por edad, considerando que el factor edad es posterior a los 38 años con los grupos de:

- Pacientes menores o iguales a 37 años.
- Pacientes mayores o iguales a 38 años.

## RESULTADOS

Se efectuaron 88 ciclos pero solo en 70 se cumplieron los criterios de inclusión. Los límites de edad de las pacientes fueron 24 y 46 años, con media de 37.4 años. Se obtuvieron 701 (100%) ovocitos de los que 580 (82.7%) fueron MII a los que se les realizó ICSI. De estos, 116 (20%) correspondieron al grupo A y 464 (80%) al grupo B, de acuerdo con el tipo de ruptura del



Figura 7. Embriones en día 5.

Cuadro 1. Sistema de puntaje para blastocistos según el consenso de Estambul (2011)

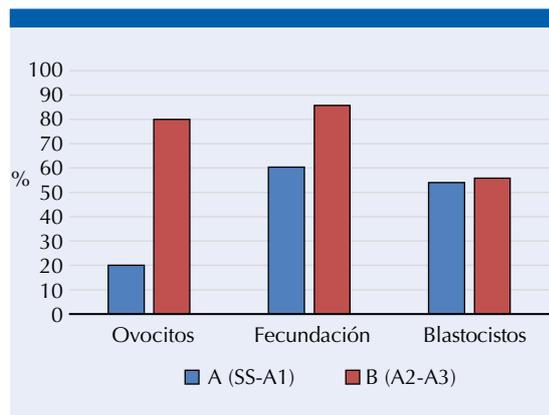
Evaluación	Puntaje	Calidad	Descripción
Estadio de desarrollo	1	-	Temprano (BT)
	2	-	Blastocisto (BCI /BC)
	3	-	Expandido (BE)
	4	-	Hatched /Hatching (Bhi / Bhed)
Masa celular interna	1	Buena	Claramente identificable, prominente, buena adhesividad
	2	Regular	Fácilmente identificable, muchas células con agrupación laxa
	3	Mala	Difícil de identificar identificar, poca celularidad
Trofoectodermo	1	Buena	Muchas células con epitelio cohesivo
	2	Regular	Pocas células con epitelio laxo
	3	Mala	Muy pocas células

Cuadro 2. Escala para evaluación de blastocisto de Gardner A-C (1999)

Grado	Descripción
A	Blastocisto expandido, mayor en tamaño que en estadio de clivaje, por una zona pelúcida delgada. Debe de tener una masa celular interna clara y un trofoectodermo cohesivo.
B	Blastocisto completamente formado con una masa celular interna clara y trofoectodermo cohesivo pero aun sin estar expandido y con una zona pelúcida gruesa.
C	Blastocisto con pequeña masa celular interna o ausencia de la misma, con trofoectodermo irregular. Pueden existir células apoptóticas o en proceso de degeneración.

oolema al momento de la ICSI. La cantidad de blastocistos obtenidos en día 5 fue, para ambos grupos, de 262 (100%), de los que 40 (15.26%) se obtuvieron del grupo A y 222 (84.73%) del grupo B. **Figura 8**

Entre los factores femeninos asociados con infertilidad, por disminución de la calidad ovocitaria, la prevalencia de afectación fue: 4.29% con síndrome de ovario poliquístico, 2.86% con hipotiroidismo, 55.71% con baja



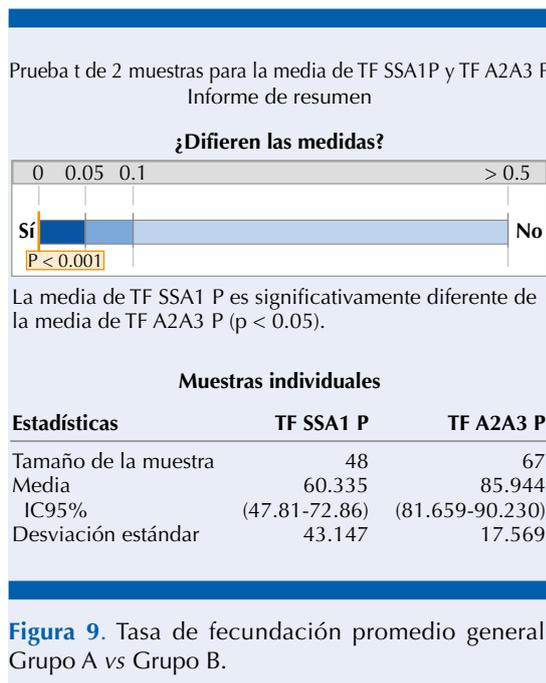
**Figura 8.** Porcentaje de ovocitos, fecundación y formación de blastocistos. Grupo A vs Grupo B.

reserva ovárica asociada con el factor edad (mayor a 38 años), 12.86% con endometriosis y 4.29% con cáncer de mama en tratamiento para criopreservación de embriones, sin tratamiento neoadyuvante previo. En el resto de las pacientes no se encontró algún factor asociado con la infertilidad (20%).

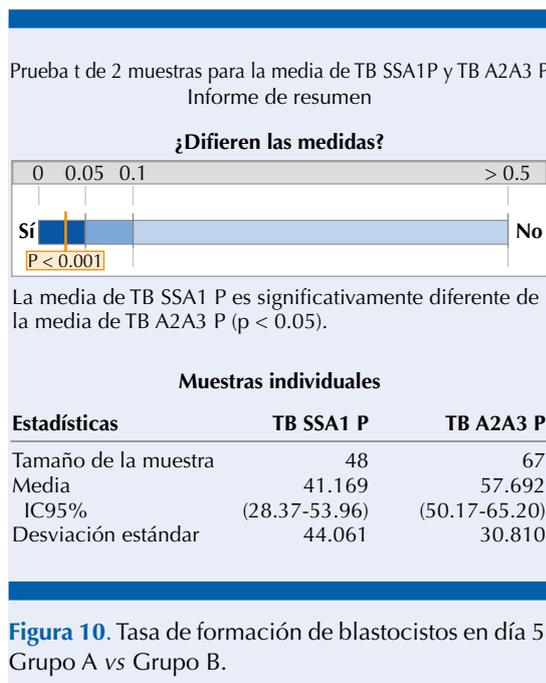
La tasa de fecundación promedio para el grupo A fue del 60.3% (IC95%: 47.8-72.8) vs la obtenida en el grupo B del 85.8% (IC95%: 81.6-90.2), con  $p < 0.001$ .

La tasa promedio de obtención de blastocistos en día 5 para el grupo A fue de 54.1% (IC95%: 28.3- 53.96) vs la obtenida en el grupo B del 55.8% (IC95%: 50.2, 65.2) con  $p = 0.028$ . En la calificación de calidad embrionaria para el grupo A fue de: 15.26% (n = 40) distribuida en: A = 45% (n = 18), B = 17.5% (n = 7), C = 37.5% (n = 15). Para el grupo B: 84.73% (n = 222) la distribución fue: A = 71.2% (n = 158), B = 15.3% (n = 34), C = 13.5% (n = 30). **Figuras 8-12**

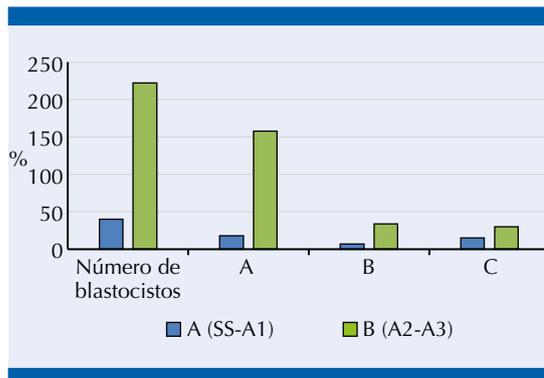
Posteriormente se compararon los desenlaces según el grupo de edad:



**Figura 9.** Tasa de fecundación promedio general. Grupo A vs Grupo B.



**Figura 10.** Tasa de formación de blastocistos en día 5. Grupo A vs Grupo B.

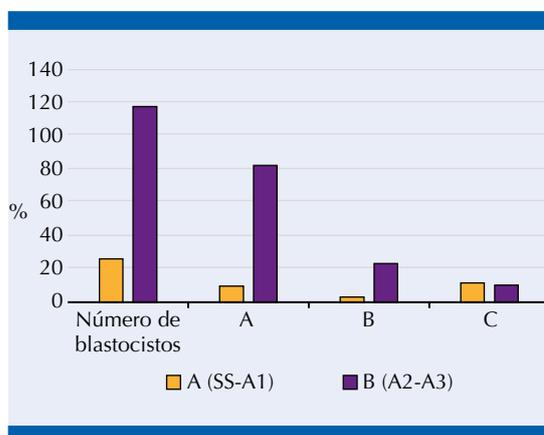


**Figura 11.** Número promedio de blastocistos en día 5. Grupo A vs Grupo B.

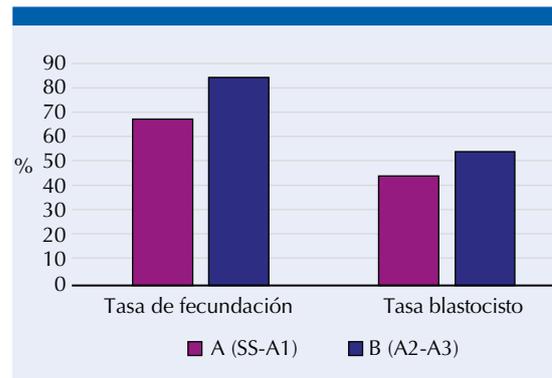
**37 años y menores**

La tasa de fecundación promedio para el grupo A fue del 67.47% vs la obtenida en el grupo B del 85.8% ( $p = 0.037$ ). La tasa promedio de obtención de blastocistos en día 5 para el grupo A fue de 44.27% vs la obtenida en el grupo B del 54.21% ( $p = 0.327$ ). (Figura 13) Los embriones obtenidos en este grupo de edad fueron 143 de 262 que representaron el 54.58% distribuidos de la siguiente manera: (Figura 12)

**Grupo A:** 27 (18.88%) con calidad embrionaria: A = 40.70% ( $n = 11$ ), B = 14.80% ( $n = 4$ ), C = 44.40% ( $n = 12$ ).



**Figura 12.** Cantidad y gradación de blastocistos en pacientes menores o igual a 37 años. Grupo A vs Grupo B.

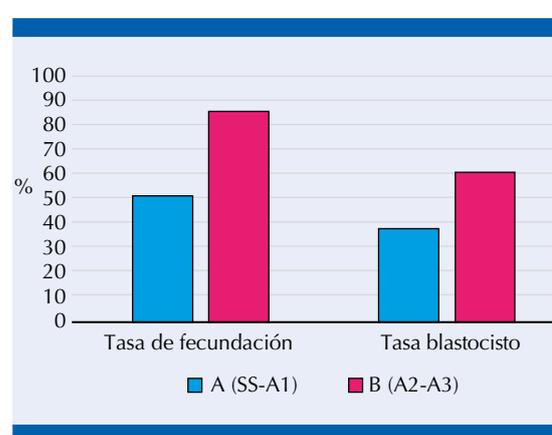


**Figura 13.** Tasa de fecundación y blastocitos en pacientes menores o igual a 37 años. Grupo A vs Grupo B.

**Grupo B:** 116 (81.11%) con calidad embrionaria: A = 71.50% ( $n = 83$ ), B = 18.96% ( $n = 22$ ), C = 9.48% ( $n = 11$ ).

**38 años y mayores**

Para el grupo A se obtuvo una tasa de fecundación promedio del 51.9% vs la obtenida en el grupo B de 86.06% ( $p = 0.003$ ). La tasa promedio de obtención de blastocistos en día 5 para el grupo A fue de 37.5% vs la obtenida en el grupo B del 60.52% ( $p = 0.047$ ). (Figura 14) En



**Figura 14.** Tasa de fecundación y blastocitos en pacientes mayores o igual a 38 años. Grupo A vs Grupo B.



este grupo de edad se obtuvieron 119 de 262 (45.42%) distribuidos de la siguiente manera: (Figura 15)

**Grupo A:** 21 (17.64%) con calidad embrionaria: A = 42.85% (n = 9), B = 23.89% (n = 5), C = 33.33% (n = 7).

**Grupo B:** 98 (81.11%) con calidad embrionaria: A = 78.57% (n = 77), B = 12.24% (n = 12), C = 9.18% (n = 9).

Posteriormente se compararon los desenlaces entre grupos de edad:

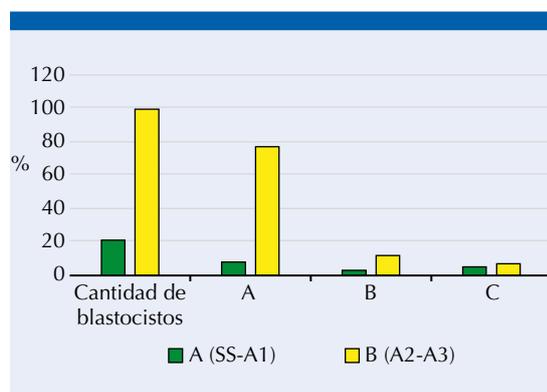
#### Tasa de fecundación promedio

**Grupo A:** 67.47% (37 años o menores) vs 51.9% (38 años o mayores) con  $p = 0.217$ .

**Grupo B:** 85.8% (37 años o menores) vs 86.06% (38 años o mayores) con  $p = 0.951$ .

#### Tasa promedio de obtención de blastocistos en día 5

**Grupo A:** 44.27% (37 años o menores) vs 37.5% (38 años o mayores),  $p = 0.601$ .



**Figura 15.** Cantidad y gradación de blastocistos en pacientes mayores o igual a 38 años Grupo A vs Grupo B.

**Grupo B:** 54.21% (37 años o menores) vs 60.52% (38 años o mayores), con  $p = 0.409$ .

## DISCUSIÓN

La técnica de ICSI implica riesgos y su aplicación requiere adiestramiento y experiencia para disminuir la lesión ovocitaria al mínimo al momento de la inyección del espermatozoide a través de la membrana citoplasmática. Mediante distintos estudios ha sido posible comprobar el factor pronóstico relacionado con la consistencia del citoplasma al momento de la inyección. Los ovocitos con menor resistencia al momento de la penetración se relacionaron con peor pronóstico de desarrollo morfológico. Durante el estudio se corroboró, como está registrado en la bibliografía, que en el grupo de pacientes con inyección sin mayor resistencia la tasa de fertilización fue menor, con independencia de la edad de las pacientes, quizá debido a la afectación del microambiente ovocitario que deriva en alteraciones en el citoesqueleto y se refleja en alteraciones en la segregación de las cromátidas. Durante el estudio también se corroboró que, independientemente de la edad de las pacientes, el grupo de ovocitos con mayor resistencia del oolema, durante la inyección, tuvo mayor tasa de fecundación, de formación de blastocistos y calidad embrionaria evaluada mediante los criterios establecidos durante el consenso de Estambul en el 2011. Se encontró mejor calidad embrionaria para el grupo B, aunque esta última no fuera estadísticamente significativa.

## CONCLUSIONES

El tipo de ruptura del oolema observado al realizar el ICSI con muestras seminales similares tuvo repercusiones directas en el desarrollo embrionario posterior (morfología). Se evaluaron la tasa de fecundación y formación de blastocistos. Al comparar los desenlaces entre ambos grupos de edad no se encontraron diferencias estadís-

ticamente significativas, aunque predominó la tendencia a mejor desarrollo embrionario cuando el ovocito tuvo mejor resistencia del oolema a la hora de la ICSI.

## REFERENCIAS

1. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018 Dec;62:2-10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012. Epub 2018 Mar 16. PMID: 29555319.
2. Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*. 2015 Jul-Aug;21(4):411-26. doi: 10.1093/humupd/dmv016. Epub 2015 Mar 22. PMID: 25801630.
3. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*. 2012;9(12):e1001356. doi: 10.1371/journal.pmed.1001356. Epub 2012 Dec 18. PMID: 23271957; PMCID: PMC3525527.
4. Alper MM, Fauser BC. Ovarian stimulation protocols for IVF: is more better than less? *Reprod Biomed Online*. 2017 Apr;34(4):345-353. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.01.010. Epub 2017 Jan 24. PMID: 28169189.
5. Mahajan N. Endometrial receptivity array: Clinical application. *J Hum Reprod Sci*. 2015 Jul-Sep;8(3):121-9. doi: 10.4103/0974-1208.165153. PMID: 26538853; PMCID: PMC4601169.
6. Desai SS, Achrekar SK, Paranjape SR, Desai SK, Mangoli VS, Mahale SD. Association of allelic combinations of FSHR gene polymorphisms with ovarian response. *Reprod Biomed Online*. 2013 Oct;27(4):400-6. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.07.007. Epub 2013 Jul 18. PMID: 23953588.
7. Gentiluomo M, Crifasi L, Luddi A, Locci D, Barale R, Piomboni P, Campa D. Taste receptor polymorphisms and male infertility. *Hum Reprod*. 2017 Nov 1;32(11):2324-2331. doi: 10.1093/humrep/dex305. PMID: 29040583.
8. Nagy ZP, Liu J, Joris H, Bocken G, Desmet B, Van Ranst H, Vankelecom A, Devroey P, Van Steirteghem AC. The influence of the site of sperm deposition and mode of oolemma breakage at intracytoplasmic sperm injection on fertilization and embryo development rates. *Hum Reprod*. 1995 Dec;10(12):3171-7. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a135881. PMID: 8822437.
9. Krause, I., Pohler, U., Grosse, S., Shebl, O., Petek, E., Chandra, A., & Ebner, T. Characterization of the injection funnel during intracytoplasmic sperm injection reflects cytoplasmic maturity of the oocyte. *Fertil Steril*, 2016; 106(5), 1101–1106. doi : 10.1016/j.fertnstert.2016.06.015
10. Palermo GD, Alikani M, Bertoli M, Colombero LT, Moy F, Cohen J, Rosenwaks Z. Oolemma characteristics in relation to survival and fertilization patterns of oocytes treated by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1996 Jan;11(1):172-6. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019012. PMID: 8671181.
11. Remohí, J. Cobo, A. Capítulo 22: Inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI). Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana. Cuarta edición. Laboratorio de Reproducción Asistida. 2013. Editorial Médica Panamericana
12. Combelles CM, Cekleniak NA, Racowsky C, Albertini DF. Assessment of nuclear and cytoplasmic maturation in in-vitro matured human oocytes. *Hum Reprod*. 2002 Apr;17(4):1006-16. doi: 10.1093/humrep/17.4.1006. PMID: 11925398.
13. Coticchio G, Dal Canto M, Mignini Renzini M, Guglielmo MC, Brambillasca F, Turchi D, Novara PV, Fadini R. Oocyte maturation: gamete-somatic cells interactions, meiotic resumption, cytoskeletal dynamics and cytoplasmic reorganization. *Hum Reprod Update*. 2015 Jul-Aug;21(4):427-54. doi: 10.1093/humupd/dmv011. Epub 2015 Mar 4. PMID: 25744083.
14. Hutt KJ, Albertini DF. An oocentric view of folliculogenesis and embryogenesis. *Reprod Biomed Online*. 2007 Jun;14(6):758-64. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60679-7. PMID: 17579993.
15. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Tews G. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development: a review. *Hum Reprod Update*. 2003 May-Jun;9(3):251-62. doi: 10.1093/humupd/dmg021. PMID: 12859046.
16. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Puchner M, Wiesinger R, Tews G. Developmental competence of oocytes showing increased cytoplasmic viscosity. *Hum Reprod*. 2003 Jun;18(6):1294-8. doi: 10.1093/humrep/deg232. PMID: 12773462.
17. Mayer RB, Tews G, Sommergruber M. Age-related distribution of basal serum AMH level in women of reproductive age and a presumably healthy cohort. *Fertil Steril*. 2011 Feb;95(2):832-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.09.012. PMID: 20970126.
18. Martín, M. Florensa, M. Consecuencia de la rotura sin salto (SS) de la membrana de los ovocitos tras el ICSI. *IVI-Barcelona*. 2008 Vol 14(1):20-24.
19. ALPHA Scientists In Reproductive Medicine; ESHRE Special Interest Group Embryology. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Reprod Biomed Online*. 2011 Jun;22(6):632-46. doi: 10.1016/j.rbmo.2011.02.001. Epub 2011 Apr 11. PMID: 21481639.