



<https://doi.org/10.24245/rmmr.v12id.6835>

Evaluación preimplantacional de aneuploidias asociada con la calidad seminal y edad del padre con la donación de óvulos

Preimplantation evaluation of aneuploidies associated with seminal quality and paternal age with egg donation.

Leslie Patrón Romero,^{1,2} Jesús Fabián Roberto Walters Arballo,¹ Daniel Hernández Solyman,¹ Pavel Salvador Pichardo Rojas,¹ Tania Margarita Vázquez González,¹ Stephania Bosdet Díaz,¹ Isabel del Rocío Bahena Santoyo¹

Resumen

ANTECEDENTES: La repercusión de la edad avanzada del padre y de la calidad seminal en la fertilidad y salud de la descendencia sigue siendo un tema de estudio y permanente análisis.

OBJETIVO: Analizar la posible asociación entre la edad del padre y la calidad seminal en las tasas de aneuploidia de embriones obtenidos por donación de óvulos en una clínica de reproducción asistida del Noroeste de México

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio retrospectivo y observacional efectuado en una clínica de fertilidad de Tijuana, Baja California, entre los meses de julio de 2019 a febrero de 2021. *Criterios de inclusión:* parejas con perfil étnico distinto, clasificadas por su ascendencia, que recibieron esquemas de FIV-ICSI con ovodonación y tamizaje genético preimplantacional de aneuploidias (PGT-A). *Criterios de exclusión:* pacientes con anomalías estructurales o enfermedades monogénicas. Se calcularon intervalos de confianza de 95% (IC95%) y las variables continuas se analizaron con las pruebas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. La $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa. Los análisis estadísticos se procesaron en el programa SPSS 25.0 (IBM).

RESULTADOS: Se analizaron 44 parejas con ovodonación, en las que se efectuaron 53 ciclos de FIV-ICSI y se obtuvieron 202 blastocistos. Se reportó calidad seminal normal en 20 pacientes, alteración leve en 17, moderada en 5 y severa en 2. Las tasas de aneuploidia por calidad seminal fueron: calidad normal: 34 de 98 aneuploides. En el grupo de calidad leve 30 de 82 aneuploides; calidad seminal moderada en 5 de 19 aneuploides y calidad seminal severa en 1 de 3 aneuploides. La cantidad de embriones euploides y aneuploides, así como la tasa de aneuploidia entre los grupos no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

CONCLUSIÓN: En esta investigación no se encontró asociación significativa entre las variables de edad del padre, calidad seminal y estado de euploidia-aneuploidia en blastocistos. La información obtenida enriquece la evidencia científica de las técnicas de reproducción asistida y aporta un conocimiento valioso para investigaciones posteriores.

PALABRAS CLAVE: Aneuploidias; edad del padre; calidad seminal; donación de óvulos; FIV-ICSI; euploidia-aneuploidia.

Abstract

BACKGROUND: The impact of the father's advanced age and seminal quality on the fertility and health of the offspring continues to be a subject of study and ongoing analysis.

¹ FERTILITE Clínica de Reproducción Asistida, Hospital Ángeles-Tijuana, Tijuana Baja California.

² Facultad de Medicina y Psicología, Universidad Autónoma de Baja California, Campus Tijuana.

Recibido: octubre 2021

Aceptado: enero 2022

Correspondencia

Tania Margarita Vázquez González
tania.vazquez@uabc.edu.mx

Este artículo debe citarse como:

Patrón-Romero L, Walters-Arballo JFR, Hernández-Solyman D, Pichardo-Rojas PS, Vázquez-González TM, Bosdet-Díaz S, Bahena-Santoyo IR. Reproducción (México) 2022; 13: 5 de julio 1-7.

OBJECTIVE: To analyze the possible association between paternal age and seminal quality on the aneuploidy rates of embryos obtained by egg donation in an assisted reproduction clinic in northwestern Mexico.

MATERIALS AND METHODS: Retrospective, observational study performed in a fertility clinic in Tijuana, Baja California, between the months of July 2019 to February 2021. Inclusion criteria: couples with different ethnic profile, classified by ancestry, who received IVF-ICSI schemes with ovidonation and with preimplantation genetic screening for aneuploidy (PGT-A). Exclusion criteria: patients with structural anomalies or monogenic diseases. 95% confidence intervals (95%CI) were calculated, and continuous variables were analyzed with Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis tests. $P < 0.05$ was considered statistically significant. Statistical analyses were processed in SPSS 25.0 (IBM).

RESULTS: Forty-four couples with ovidonation were analyzed, in which 53 IVF-ICSI cycles were performed and 202 blastocysts were obtained. Normal semen quality was reported in 20 patients, mild alteration in 17, moderate in 5 and severe in 2. The rates of aneuploidy by semen quality were: normal quality: 34 of 98 aneuploids. In the mild quality group 30 of 82 aneuploids; moderate seminal quality in 5 of 19 aneuploids and severe seminal quality in 1 of 3 aneuploids. The number of euploid and aneuploid embryos and the rate of aneuploidy between groups was not statistically significant ($p > 0.05$).

CONCLUSION: In this research, no significant association was found between the variables of father's age, seminal quality and euploidy-aneuploidy status in blastocysts. The information obtained enriches the scientific evidence of assisted reproductive techniques and provides valuable knowledge for further research.

KEYWORDS: Aneuploidies; Father's age; Semen quality; Egg donation; IVF-ICSI; Euploidy-aneuploidy.

ANTECEDENTES

Durante décadas, el estudio de los factores contribuyentes al éxito reproductivo y a la salud de la descendencia ha sido de particular interés. Por lo tanto, la edad del padre y sus posibles implicaciones en la fertilidad masculina cobran gran relevancia. Esto debido a la observación del aumento promedio de la edad de los padres, como lo reportan Khandwala y su grupo,¹ que pasó de 27.4 a 30.9 años en una revisión de más de 168 millones de nacidos vivos entre 1972 y 2016.

Si bien la mayor parte de las aneuploidias son consecuencia de anomalías en la segregación

cromosómica durante la meiosis, son más frecuentes durante la ovogénesis, en particular en meiosis I en comparación con la espermatogénesis, con una prevalencia estimada del 30% en mujeres de 30 años y casi el 90% en mujeres mayores de 44 años con deseo reproductivo.²

La contribución de las aneuploidias asociadas con la edad avanzada del padre sigue suscitando controversia. A casi 100 años del reporte de la asociación entre la edad avanzada de la madre y la trisomía 21, aún sigue la discusión de cuánto contribuye la edad del padre y de la edad de cohorte para determinar que la edad del padre es avanzada. Se estima que el 7% de los casos de trisomía 21 son de origen paterno. Zaragoza



y su grupo³ sugieren que la edad avanzada del padre tiene un efecto aditivo en la prevalencia de síndrome de Down, cuando la edad de la madre supera los 35 años.

Por lo que se refiere a la calidad seminal, algunos autores sugieren que no tiene una repercusión relevante en la tasa de aneuploidias en embriones obtenidos mediante inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).⁴ Sin embargo, estas declaraciones son discutibles porque se ha reportado menor incidencia de anomalías cromosómicas en pacientes con zoospermia normal en contraste con quienes tienen oligoastenoteratozoospermia o azoospermia no obstructiva.⁵

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue: analizar la posible asociación entre la edad del padre y la calidad seminal en las tasas de aneuploidia de embriones obtenidos por donación de óvulos en una clínica de reproducción asistida del Noroeste de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo y observacional efectuado en una clínica de fertilidad de Tijuana, Baja California, entre los meses de julio de 2019 a febrero de 2021. *Criterios de inclusión:* parejas con perfil étnico distinto, clasificadas por su ascendencia, que recibieron esquemas de fertilización in vitro e inyección intracitoplasmática de espermatozoide (FIV-ICSI) con ovodonación y con tamizaje genético preimplantacional de aneuploidias (PGT-A). *Criterios de exclusión:* pacientes con anomalías estructurales o enfermedades monogénicas.

Antes de ingresar al programa de FIV-ICSI las parejas se evaluaron con estudios de laboratorio convencionales, incluidos seminogramas y perfiles hormonales. Se clasificaron conforme a la calidad (alteración) seminal en cuatro

grupos: normal, leve, moderada y severa. Se consideraron alteraciones leves a la oligospermia, astenospermia o teratozoospermia leve. Alteraciones moderadas a la oligospermia, astenospermia y teratozoospermia moderada. Alteración severa a la oligospermia, astenospermia o teratozoospermia severa.

El protocolo de estimulación ovárica convencional se hizo de forma individualizada con hormona folículo estimulante recombinante (Gonal-F Merk® 200 a 250 UI) y antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (Cetrorelix®; Cetrotide-Merk® 0.25mg). La dosis de gonadotropinas se determinó en cada donadora dependiendo del valor de la hormona antimülleriana y el conteo folicular antral. El antagonista de hormona liberadora de gonadotropina se administró cuando el folículo mayor alcanzó 14 mm de diámetro y el disparo se efectuó con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina: acetato de triptorelina (Gonapeptyl Daily® 1.96 mg) cuando el tamaño folicular alcanzado estuvo entre 17 y 18 mm; 34 a 36 horas después se programó la captura ovular.

Los ovocitos obtenidos se procesaron mediante ICSI e incubaron en gotas de 40 µL (medio Global® Total® w/HSA a 37°C, al 6.5% CO₂ y al 5% O₂). Posteriormente se confirmó la existencia de dos pronúcleos en el citoplasma y la expulsión del segundo cuerpo polar. Los cigotos volvieron a cultivarse, sin cambiarse de medio de cultivo y se observaron hasta las 72 horas, cuando se evaluó la calidad embrionaria conforme a los criterios de Veeck.^{20,6} Para los casos en donde se llevó el cultivo embrionario a día 4 y 5 los embriones en ocho células volvieron a cultivarse en gotas de 40 µL en medio nuevo Global® Total®.

Los blastocistos obtenidos de los ciclos de FIV-ICSI fueron objeto de un análisis genético embrionario para la detección de anomalías en la cantidad de cromosomas (aneuploidías,

PGT-A) con la técnica de secuenciación de nueva generación (NSG). Esta prueba implica la ampliación del genoma completo en embriones obtenidos entre quinto al séptimo día. Se utilizó la plataforma MiSeq de Illumina, con el propósito de identificar aneuploidias cromosómicas completas y mosaicismo. Además, para detectar deleciones (pérdidas)-duplicaciones cuando la aneuploidia segmentaria es mayor a 10 Mb. Una de las limitaciones de esta prueba es que no detecta poliploidias (triploidias o tetraploidias), mosaicos de baja proporción (menos de 20%), disomías uniparentales o rearrreglos cromosómicos balanceados (inversiones o traslocaciones). Las alteraciones cromosómicas reportadas se clasificaron en: a) numéricas: trisomías y monosomías; b) complejas: con más de tres alteraciones numéricas o segmentarias y c) aneuploidias segmentarias: pérdidas o duplicaciones.

Los criterios para la toma de la biopsia embrionaria fueron: blastocistos expandidos grado 4, 5 y 6. A los embriones que alcanzaron la etapa de blastocisto se les tomó una biopsia de trofoectodermo entre quinto al séptimo día. De acuerdo con la masa celular interna, se clasificaron en tipos A y B. Por último, para trofoectodermo tipos A y B, según los criterios establecidos de Gardner.⁷

Los embriones se categorizaron conforme a la edad del padre en tres grupos: grupo A: ≤ 39 años, grupo B: 40-49 años y grupo C: ≥ 50 años. La calidad seminal se clasificó en cuatro grupos: normal, alteración leve, moderada y severa.

La distribución de la calidad seminal se determinó por grupo de edad. La cantidad de embriones euploides-aneuploides, así como la tasa de aneuploidia entre los grupos de edad y calidad seminal. Se calcularon intervalos de confianza de 95% (IC95%) y las variables continuas se analizaron con las pruebas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. La $p < 0.05$ se consideró estadís-

ticamente significativa. Los análisis estadísticos se procesaron en el programa SPSS 25.0 (IBM).

RESULTADOS

Se analizaron 44 parejas con ovodonación, en las que se efectuaron 53 ciclos de FIV-ICSI y se obtuvieron 202 blastocistos. Se reportó calidad seminal normal en 20 pacientes, alteración leve en 17, moderada en 5 y severa en 2.

Los límites de edad de los padres fueron 27 y 62 años, con edad media de 41.8 ± 8.1 años que se clasificaron en tres grupos etarios: grupo A: ≤ 39 años ($n = 14$), grupo B: 40-49 años ($n = 23$) y grupo C: ≥ 50 años ($n = 7$). En el grupo A se incluyeron 48 embriones, en el B, 116 y en el C 38 embriones.

La distribución de la calidad seminal en el grupo A fue normal en 6 hombres, leve en 1, moderada en 1 y severa en otro. En el grupo B la calidad seminal se encontró normal en 10, leve y moderada respectivamente en 3 y ningún paciente con calidad seminal severa. En el grupo C la calidad seminal normal se registró en 4, leve y moderada respectivamente en 1 en igual cantidad con calidad seminal severa. La **Figura 1** muestra la distribución de estos resultados. La calidad seminal entre los grupos no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Las tasas de aneuploidia por grupo de edad fueron: en el grupo A: 23 de 48 aneuploides, en el grupo B: 31 de 116 aneuploides y en el grupo C: 16 de 38 aneuploides. La cantidad de embriones euploides y aneuploides, así como la tasa de aneuploidia entre los grupos etarios no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Las tasas de aneuploidia por calidad seminal fueron: calidad normal: 34 de 98 aneuploides. En el grupo de calidad leve 30 de 82 aneuploides; calidad seminal moderada en 5 de 19 aneuploides y

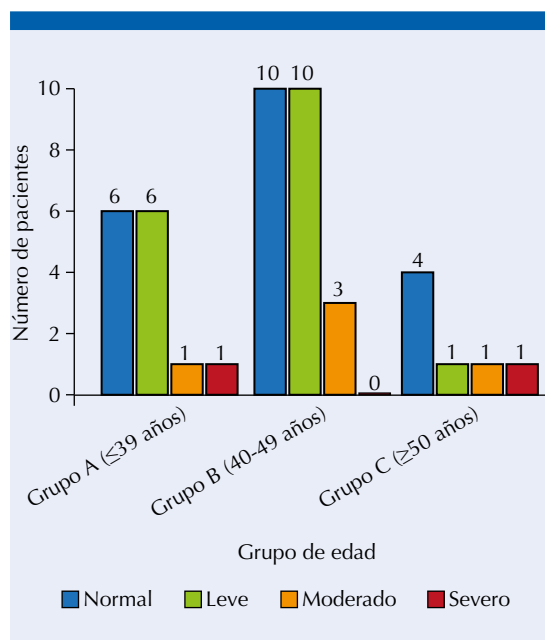


Figura 1. Distribución de la calidad seminal por grupo de edad.

calidad seminal severa en 1 de 3 aneuploides. La cantidad de embriones euploides y aneuploides, así como la tasa de aneuploidia entre los grupos no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

De los 202 blastocistos analizados, 132 (65.34%) fueron euploides; 46,XX ($n = 65$) 46,XY ($n = 67$) el restante, 70 (34.65%) resultaron aneuploides. De las trisomías ($n = 32$) 24 correspondieron a autosomas y 8 a cromosomas sexuales. En cuanto a las monosomías ($n = 19$) 14 fueron autosomas y 5 cromosomas sexuales. Las anomalías cromosómicas complejas se reportaron en 15 pacientes con afectación en autosomas y cromosomas sexuales, simultáneamente. En 4 individuos se reportó microdelección o microduplicación. Las trisomías fueron las aneuploidias más frecuentes (45.7%) en contraste con las monosomías (27.14%). Se reportaron 4 aneuploidias segmentarias, 2 microdeleciones

de la región (22q), 1 caso de microdelección (4p-) y otro de microdelección (5p-).

DISCUSIÓN

Si bien uno de los principales objetivos a alcanzar con los procedimientos de reproducción asistida (FIV-ICSI) es obtener embriones euploides, el estudio de los factores asociados es la piedra angular. En la actualidad se ha reunido suficiente evidencia científica que asocia a la edad avanzada del padre con el incremento en el riesgo de enfermedades monogénicas *de novo* (neurofibromatosis tipo 1, acondroplasia, craneosinostosis, etc.), además de enfermedades de origen multifactorial, como los trastornos del espectro autista. A pesar de ello no existe suficiente evidencia que muestre asociación significativa entre la edad del padre con el estado de euploidia-aneuploidia embrionaria.^{8,9,10}

Dos estudios recientes señalan que los hombres mayores de 50 años, en ciclos de FIV-ICSI reportaron significativamente más espermatozoides con fragmentación del ADN, baja tasa de desarrollo de blastocistos, tasas más altas de aneuploidia global y cantidad significativamente mayor de embriones con trisomías.⁹ En contraste, Carrasquillo y su grupo,¹¹ con una de las cohortes más grandes y diversas estudiadas a la fecha, investigó la repercusión de la edad avanzada del padre en la prevalencia de aneuploidia embrionaria en ciclos de fertilización in vitro con óvulos de donadoras, como un medio para controlar los factores maternos, sin obtener datos que demuestren asociación entre la edad del padre y el origen de las aneuploidias embrionarias.

En este estudio, al comparar los diferentes grupos etarios con la calidad seminal, así como la tasa de aneuploidias-euploidias no se encontró diferencia estadísticamente significativa.

En cuanto a la variable de la calidad seminal, algunos estudios han reportado un incremento en la incidencia de aneuploidia en varones con parámetros seminales anormales o en los que tienen infertilidad por factor masculino.^{11,12,13}

Vozdova y colaboradores¹⁴ condujeron un estudio en espermatozoides de varones con diagnóstico de azoospermia no obstructiva y encontraron mayor frecuencia de disomía de los cromosomas 15 y Y, diploidia por errores en meiosis I y mayor tasa de nulisomía en comparación con sus homólogos fértiles, además de mayor tasa de embriones aneuploides. También se ha descrito en varones con diagnóstico de teratozoospermia severa un incremento en el riesgo de aneuploidias que involucran a los cromosomas sexuales (tres veces más) en comparación con individuos con teratozoospermia moderada.⁵

En su estudio, Mazzilli y su equipo⁴ incluyeron 1219 ciclos de FIV-ICSI, y reportaron que el factor masculino severo afecta la competencia embrionaria temprana, en términos de tasa de fertilización y potencial de desarrollo. Sin embargo, la tasa de euploidia y el potencial de implantación de los blastocistos obtenidos son independientes de la calidad del espermato. Esto concuerda con lo encontrado en este estudio porque no se evidenció asociación entre la calidad seminal y la tasa de aneuploidia embrionaria.

El estudio de la contribución del factor masculino en la reproducción humana es imprescindible. Es posible que la investigación aquí reportada esté sesgada por el tamaño de la muestra.

CONCLUSIONES

En esta investigación no se encontró asociación significativa entre las variables de edad del padre, calidad seminal y estado de euploidia-

aneuploidia en blastocistos. La información obtenida enriquece la evidencia científica de las técnicas de reproducción asistida y aporta un conocimiento valioso para investigaciones posteriores.

REFERENCIAS

1. Khandwala YS, Zhang CA, Lu Y, Eisenberg ML. The age of fathers in the USA is rising: an analysis of 168 867 480 births from 1972 to 2015. *Hum Reprod* 2017; 32 (10): 2110-6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28938735/>. doi: 10.1093/humrep/dex267.
2. Frasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril* 2014; 101 (3): 656-63. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24355045/>. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
3. Zaragoza MV, Jacobs PA, James RS, Rogan P, Sherman S, Hassold T. Nondisjunction of human acrocentric chromosomes: studies of 432 trisomic fetuses and live births. *Hum Genet* 1994; 94 (4): 411-7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7927339/>. doi: 10.1007/BF00201603.
4. Mazzilli R, Cimadomo D, Vaiarelli A. Effect of the male factor on the clinical outcome of intracytoplasmic sperm injection combined with preimplantation aneuploidy testing: observational longitudinal cohort study of 1,219 consecutive cycles. *Fertil Steril* 2017; 108 (6): 961-72. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28985908/>. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.08.033
5. Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Gordts S, Fredericks V, Crippa A. Paternal contribution to aneuploidy in preimplantation embryos. *Reprod Biomed Online* 2009; 18 (4): 536-42. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19400996/>. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60131-9
6. Veeck L. Evaluación de ovocitos y pre embriones en el laboratorio FIV. En: Remohi J, Pellicer A, Bonilla-Musoles F, eds. *Avances en Reproducción Asistida*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, 1992; 117-62.
7. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; 11: 307-11. https://journals.lww.com/co-obgyn/Abstract/1999/06000/Culture_and_transfer_of_human_blastocysts.13.aspx
8. Mostafa Nayel D, Salah El Din Mahrous H, El Din Khalifa E, Kholeif S, Mohamed Elhady G. The effect of teratozoospermia on sex chromosomes in human embryos. *Appl Clin Genet* 2021; 11 (14): 125-44. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33732009/>. doi: 10.2147/TACG.S299349
9. García-Ferreira J, Luna D, Villegas L, Romero R, Zavala P, Hilario R, Dueñas-Chacón J. High aneuploidy rates observed in embryos derived from donated oocytes are



- related to male aging and high percentages of sperm DNA fragmentation. Clin Med Insights Reprod Health 2015; 11 (9): 21-7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26604851/> doi: 10.4137/CMRH.S32769
10. García-Ferreyra J, Hilario R, Dueñas J. High percentages of embryos with 21, 18 or 13 trisomy are related to advanced paternal age in donor egg cycles. JBRA Assist Reprod 2018; 22 (1): 26-34. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29303233/> doi: 10.5935/1518-0557.20180004
 11. Carrasquillo RJ, Kohn TP, Cinnioglu C, Rubio C, Simon C, Ramasamy R, Al-Asmar N. Advanced paternal age does not affect embryo aneuploidy following blastocyst biopsy in egg donor cycles. J Assist Reprod Genet 2019; 36 (10): 2039-45. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31385121/> doi: 10.1007/s10815-019-01549-z
 12. Templado C, Vidal F, Estop A. Aneuploidy in human spermatozoa. Cytogenet Genome Res 2011; 133 (2-4): 91-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21282942/> doi: 10.1159/000323795
 13. Calogero AE, De Palma A, Grazioso C, Barone N, et al. Aneuploidy rate in sperm from selected men with abnormal semen parameters. Hum Reprod 2001; 16 (6): 1172-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11387288/> doi: 10.1093/humrep/16.6.1172
 14. Vozdova M, Heracek J, Sobotka V, Rubes J. Testicular sperm aneuploidy in non-obstructive azoospermic patients. Hum Reprod 2012; 27 (7): 2233-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22493029/> doi: 10.1093/humrep/des115