

Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ICSI*

Claudia González-Ortega,* Patricia Cancino-Villarreal,* Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel,* Sandra Guadalupe Martínez-Garza,* Efraín Pérez-Peña,** Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez*

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) es altamente efectiva para el control de la infertilidad por factor masculino. Los espermatozoides seleccionados para inyección intracitoplásmica pueden tener alteraciones estructurales indetectables a 400x, como: vacuolas nucleares, disminuyendo tasas de embarazo e implantación. Los estudios recientes demuestran que con la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI), a mayor magnificación (> 6,600x), se incrementan las tasas de embarazo e implantación en pacientes con falla repetida a ICSI.

Objetivo: comparar los resultados de la inyección de espermatozoides móviles seleccionados con examen morfológico organelar (MSOME) para IMSI, con la ICSI en pacientes con falla repetida a ICSI.

Pacientes y método: estudio prospectivo, observacional y de cohortes. A partir del 1 de febrero de 2010 se administró inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados a las parejas con al menos dos ciclos fallidos de inyección intracitoplásmica de espermatozoides, y analizamos los primeros 30 ciclos en pacientes menores de 38 años con buena reserva ovárica. Este grupo de estudio se comparó con los últimos 30 ciclos de inyección intracitoplásmica de espermatozoides realizados antes de esa fecha, en pacientes con características clínicas similares. La inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados se realizó con una magnificación de 7,676 aumentos para evaluación y selección espermática.

Resultados: los grupos tuvieron características clínicas similares. La tasa de gestación con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados fue mejor que con inyección intracitoplásmica de espermatozoides (63 vs 50%); la diferencia no fue significativa para el tamaño de la muestra, aunque la tendencia es clara y clínicamente significativa a favor de la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados. La tasa de implantación con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (44.8%) mostró diferencias estadísticamente significativas vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (29.7%). No existieron diferencias significativas en tasas de aborto.

Conclusiones: la IMSI mejora significativamente la tasa de implantación en pacientes con falla repetida a la ICSI.

Palabras clave: inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, IMSI, inyección intracitoplásmica de espermatozoides, ICSI, fallo repetido.

ABSTRACT

Background: Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) is highly effective for the control of male factor infertility. The sperm selected for ICSI may have structural abnormalities undetectable to 400x as nuclear vacuoles, decreasing rates of pregnancy and implantation. Recent studies show that with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI), at higher magnification (> 6,600x), increases pregnancy and implantation rates in patients with repeated failure to ICSI.

Objective: To compare the results of the injection of selected motile sperm organelle morphology examination (MSOME) for IMSI, instead of the use of ICSI in patients with repeated failure to ICSI.

Patients and method: Prospective, observational cohort study. Since February 1, 2010 was administered IMSI to couples with at least two failed cycles of ICSI, and analyzed the first 30 cycles in patients under 38 years of good ovarian reserve. This study group was compared

with the last 30 cycles of ICSI performed before that date, in patients with similar clinical characteristics. The IMSI was performed with a magnification of 7,676 increases for evaluation and sperm selection.

Results: The groups had similar clinical characteristics. The pregnancy rate with IMSI was better than with ICSI (63 vs. 50%), the difference was not significant for the size of the sample, although the trend is clear and clinically significant in favor to IMSI. The implantation rate with IMSI (44.8%) showed statistically significant differences vs. ICSI (29.7%). No significant differences in abortion rates.

Conclusions: IMSI significantly improves the implantation rate in patients with repeated failure to ICSI.

Key words: IMSI, ICSI, repeated failure.

RÉSUMÉ

Antécédents: l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes est hautement effective pour le contrôle de l'infertilité par facteur masculin. Les spermatozoïdes sélectionnés pour injection intracytoplasmique de spermatozoïdes peuvent avoir des altérations structurelles indétectables à 400x comme vacuoles nucléaires, diminuant des taux de grossesse et implantation. Des études récentes démontrent qu'avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés, dans une magnification majeure (> 6,600x), les taux de grossesse et implantation en patients avec échec répété en injection intracytoplasmique de spermatozoïdes augmentent.

Objectif: comparer les résultats de l'injection de spermatozoïdes mobiles sélectionnés avec examen morphologique de spermatozoïdes (MSOME) pour injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés, avec l'emploi d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes en patientes avec échec répété en injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

Patientes et méthode: étude prospective, observationnelle et de cohortes. À partir du 1^{er} février 2010, on a administré injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés aux couples avec au moins deux échecs de cycles d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes, et on a analysé les 30 premiers cycles en patientes mineures de 38 ans avec une bonne réserve ovarienne. Ce groupe d'étude a été comparé avec les 30 derniers cycles d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes réalisés avant cette date, en patientes avec des caractéristiques cliniques pareilles. L'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés a été réalisée avec une magnification de 7,676 augmentations pour évaluation et sélection spermatique.

Résultats: les groupes ont eu des caractéristiques cliniques similaires. Le taux de gestation avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés a été meilleur qu'avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (63 vs 50%); la différence n'a pas été significative pour la taille de l'échantillon, cependant la tendance est claire et cliniquement significative favorisant l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés. Le taux d'implantation avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés (44.8%) a montré des différences statistiquement significantes vs injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (29.7%). Il n'y a pas eu de différences significatives en taux d'avortement.

Conclusions: l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés améliore significativement le taux d'implantation en patientes avec échec répété en injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

Mots-clés: injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés, IMSI, injection intracytoplasmique de spermatozoïdes, ICSI, échec répété.

RESUMO

Antecedentes: A injeção intracitoplasmática de espermatozoides é altamente efetiva para o controle da infertilidade por fator masculino. Os espermatozoides selecionados para a injeção intracitoplasmática de espermatozoides podem ter alterações estruturais indetectáveis a 400x como vacuolar nucleares, diminuindo taxas de gestação e implantação. Recente estudo demonstra que com a injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados, a maior magnificação (> 6.600x), incrementa taxas de gestação e implantação em pacientes com erro repetido a injeção intracitoplasmática de espermatozoides.

Objetivo: Comparar os resultados da injeção de espermatozoides móveis selecionados com exame morfológico organelas (MSOME) para injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados, sobre a utilização de injeção intracitoplasmática de espermatozoides em pacientes com erro repetido a injeção intracitoplasmática de espermatozoides.

Pacientes e método: Estudo retrospectivo, observacional e de coortes. A partir de 1 de fevereiro de 2010 foi administrado injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados aos casais com menos dois ciclos frustrados de injeção intracitoplasmática de espermatozoides, e analisamos os primeiros 30 ciclos em pacientes menores de 38 anos com boa reserva ovária. Esse grupo de estudo foi comparado com os últimos 30 ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozoides realizados antes dessa data, em pacientes com características clínicas similares. A injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados foi realizada com uma magnitude de 7.676 aumentos para avaliação e seleção espermática.

Resultados: Os grupos tiveram características clínicas similares. A taxa de gestação com injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados foi melhor que com injeção intracitoplasmática de espermatozoides (63 vs 50%); a diferença não foi significativa para o tamanho da amostra, ainda que a tendência é clara e clinicamente significativa a favor de injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados. A taxa de implantação com injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados (44,8%) mostrou diferenças estatisticamente significativas vs injeção intracitoplasmática de espermatozoides (29,7%). Não existiram diferenças significativas em taxas de aborto.

Conclusões: A injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados melhora significativamente a taxa de implantação em pacientes com erro repetido a injeção intracitoplasmática de espermatozoides.

Palavras-chave: injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados, IMSI, injeção intracitoplasmática de espermatozoides, ICSI, erro repetido.

La morfología espermática es el factor que mejor predice los resultados de la fertilización natural, inseminación artificial y FIV convencional. Recientemente se han publicado estudios que evidencian que la morfología espermática también tiene un papel importante en los resultados de la inyección intracitoplásmica de espermatozoides, lo que indica qué efectos paternos influyen en la tasa de formación de blastocistos.¹

Dependiendo de la morfología espermática estricta, cuyo valor límite inferior normal, según la quinta edición del Manual para el Examen y Procesamiento del Semen (MEPS), de la Organización Mundial de la salud² es 4%, se han asignado diferentes pronósticos para el tratamiento de la infertilidad con técnicas de reproducción asistida, se considera $\leq 4\%$ como pobre pronóstico y $>$ de 5% buen pronóstico.³

En la FIV convencional, la zona pelúcida del ovocito actúa como una barrera biológica en contra de los espermatozoides anormales. En la mayor parte de los casos únicamente los espermatozoides normales son capaces de fertilizar al ovocito. En un estudio realizado por Liu y Baker,⁴ se determinó que la zona pelúcida desempeña un papel decisivo en la selección de espermatozoides con morfología normal, movilidad e integridad del ADN. La inyección intracitoplásmica de espermatozoides omite este mecanismo de selección natural.

La inyección intracitoplásmica del espermatozoide en humanos la realizó con buenos resultados por primera vez Palermo y col., en 1992.⁵ Desde entonces es la técnica de elección para tratar el factor masculino severo. Sin

embargo, la selección de los espermatozoides para inyección intracitoplásmica de espermatozoides se basa en la motilidad y los aspectos morfológicos gruesos a una baja resolución (Figura 1).



Figura 1. Inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI).

Debido a la subjetividad de esta evaluación, se han diseñado instrumentos para el análisis de la morfología espermática y más recientemente equipos para aumentar la magnificación con el propósito de detectar alteraciones ultraestructurales imposibles de visualizar por métodos convencionales (Figura 2).

Un nuevo método de alta magnificación ($> 6,600\times$) denominado examinación morfológica organelar de espermatozoides móviles (MSOME), publicado por Bartoov y col. en 2002,⁶ mostró una correlación positiva significativa entre la incidencia de la morfología espermática normal y

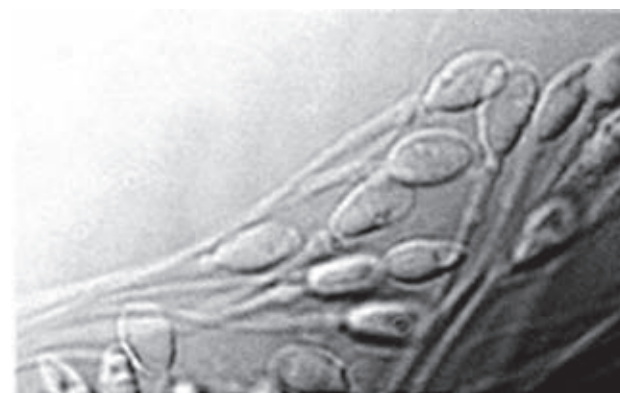


Figura 2. Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI).

* Instituto de Ciencias en Reproducción Humana Vida, León, Gto.

** Instituto de Ciencias en Reproducción Humana Vida, Guadalajara, Jal.

Recibido: agosto, 2010. Aprobado: octubre, 2010.

* Artículo premiado con el segundo lugar al trabajo científico Dr. Luis Castelazo Ayala presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: González-Ortega C, Cancino-Villarreal P, Pérez-Torres A, Vargas-Maciell MA y col. Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ICSI. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):652-659.

tasas de fertilización después de inyección intracitoplásmica de espermatozoides. Estos resultados se obtuvieron después de la aplicación de este método en tiempo real en 100 parejas sometidas a inyección intracitoplásmica de espermatozoides. De los seis organelos subcelulares analizados (cuello, cola, mitocondrias, acrosoma, lámina posacrosomal y núcleo) la normalidad morfológica del núcleo espermático (forma y contenido de la cromatina) se asociaron significativamente con la tasa de fertilización y con los resultados de embarazo.

En 2003, Bartoov⁷ usó el criterio de MSOME para seleccionar espermatozoides móviles para inyección intracitoplásmica de espermatozoides, una técnica llamada inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, en pacientes con al menos dos fallas previas a la inyección intracitoplásmica de espermatozoides. Las parejas a las que se les realizó inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados obtuvieron significativamente mejores resultados en términos de embarazo y tasas de aborto.

Más tarde, basándose nuevamente en el criterio de MSOME, Hazout aplicó la técnica (6,000x) al proceso de selección de espermatozoides para el proceso de ICSI, obtuvo una mejoría significativa en los resultados clínicos en pacientes con fallas previas a ICSI.⁸ Estos resultados ofrecen una nueva perspectiva para mejorar la eficiencia de las técnicas de reproducción asistida.

El objetivo de este estudio fue comparar los resultados obtenidos con la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) convencional en parejas, con al menos dos fallas previas a ICSI.

PACIENTES Y MÉTODO

Pacientes

Estudio prospectivo, observacional y de cohortes. A partir del 1 de febrero de 2010 se realizó inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados a todas las parejas con al menos dos ciclos fallidos de ICSI. Analizamos los primeros 30 ciclos realizados en pacientes menores de 38 años con buena reserva ovárica. Este grupo de estudio se comparó con los últimos 30 ciclos de ICSI realizados antes de esa fecha en pacientes con características clínicas similares.

Criterios de inclusión: 1) Mujeres menores de 38 años. 2) Buena reserva ovárica (FSH basal < 12 UI/mL). 3) Sin otro factor femenino asociado que disminuya las tasas de implantación.

Preparación del semen

El semen se preparó con dos fases de Pure-sperm (alta y baja densidad) preparados con HTF con Hepes al 10% de suero sintético sustituto. Para este estudio se utilizó únicamente semen fresco de eyaculado.

Procedimiento de ICSI

La inyección intracitoplásmica de espermatozoides convencional se efectuó con un microscopio invertido Olympus IX71 equipado con inyectores Eppendorf Celltram Air y Celltram Vario. La técnica de micromanipulación ya la publicamos con detalles.⁹ Brevemente, una vez decumulados los ovocitos, se seleccionaron únicamente los que estuvieron en metafase II para ser microinyectados. Los espermatozoides se seleccionaron con una magnificación de 400x con modulación de Hoffman. Bajo esta magnificación se excluyeron los espermatozoides con severas alteraciones (amorfo, redondo, multinucleado) y la microinyección se realizó de acuerdo con la técnica estándar propuesta por Palermo. El tiempo aproximado que se requirió para el procedimiento de inyección intracitoplásmica de espermatozoides fue de 20 a un máximo de 40 minutos por paciente.

Selección de espermatozoides para inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI)

Para realizar la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados es necesario utilizar una caja de Petri con fondo de cristal (Fluoridish), preparada de la siguiente manera:

- 1) En la parte central de la caja se colocan 2 gotas de 5 µL de polivinilpirrolidona (PVP) al 8%, 1 µL de semen diluido en ambas gotas de PVP.
- 2) Se colocó una gota de 5 µL de HTF con Hepes (adicionado con 5% de albúmina sérica humana HSA) entre ambas gotas de PVP para colocar los espermatozoides seleccionados.
- 3) En el lado derecho de la placa se colocaron gotas de 5 µL de HTF con Hepes según la cantidad de ovocitos a microinyectar. Una vez hecha la placa se cubrió con parafina líquida.

La selección de espermatozoides se realizó con base en el criterio de MSOME de alta magnificación en tiempo real con la ayuda de un microscopio invertido (Olympus IX71, Tokio, Japón) equipado con óptica de contraste de interferencia diferencial de Nomarski (DIC), un objetivo de inmersión de 100x Apo Uplan, lente del objetivo 1.60 y un lente del condensador con apertura numérica de 0.55. La imagen se capturó en una videocámara Sony DP20 y se observó en un monitor de 17 pulgadas de diámetro diagonal; la magnificación total que se obtuvo fue de 7,676x.

Se seleccionaron los espermatozoides de núcleo liso, simétrico y con dimensiones normales (4.75 ± 0.28 mm de largo con 3.28 ± 0.20 μ m de ancho), que tuvieran como máximo una vacuola pequeña. Para poder visualizar detenidamente el espermatozoide fue necesario hacerlo pasar varias veces a través de una micropipeta angulada estéril con un diámetro interno de 9 μ m (Humagen, Charlottesville, VA, USA).

Los espermatozoides con malformaciones severas (cabeza redonda, cabeza de alfiler, múltiples vacuolas) no se analizaron y se descartaron automáticamente.

Primero se seleccionaron los espermatozoides necesarios para la microinyección y se colocaron en una gota juntos, y posteriormente se realizó la inyección intracitoplásmica de espermatozoides de manera convencional. Se seleccionó de preferencia una mayor cantidad de espermatozoides que ovocitos a microinyectar. El proceso de selección de espermatozoides se llevó un promedio de 60-120 minutos, dependiendo de la calidad del semen.

La selección y microinyección de los espermatozoides la realizaron únicamente dos embriólogas, después de estandarizar los criterios de selección entre ambas.

Estimulación ovárica y aspiración folicular

La estimulación ovárica se realizó con FSH recombinante (Gonal-F; Serono, México) en dosis de 150 UI/día subcutáneas. Al quinto día o al encontrar un folículo mayor de 14 mm se indicó la administración de antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (Cetrotide; Serono, México) 0.25 mg/día sc hasta el día del disparo con HGC. Cuando dos o más folículos tuvieran 18 mm o más de diámetro, se administraron 250 mg subcutáneos de HGC recombinante (Ovidrelle; Serono, México).

La aspiración de los ovocitos se realizó a las 37 h de la aplicación de la HCG por vía transvaginal guiada por ultrasonido. Una vez identificados los complejos

ovocito-corona-cúmulus, se lavaron en HTF con Hepes suplementado con 5% de HSA, y posteriormente se cultivaron de manera individual en *Global for fertilization* (Lifeglobal), suplementado al 5% de HSA y se conservaron en un ambiente de 5% de CO₂, 37 °C y 90% de humedad relativa, por al menos dos horas antes de ser decumulados.

Una vez transcurrido ese tiempo los ovocitos fueron decumulados con hialuronidasa 40 UI/mL y se valoró el estado de madurez nuclear; únicamente los ovocitos en metafase II fueron microinyectados. Para el cultivo de los embriones utilizamos *Global Medium* (Lifeglobal) suplementado al 5% HSA.

La fertilización se confirmó por la presencia de dos pronúcleos y dos cuerpos polares a las 17 horas después de la microinyección. Los cigotos con una adecuada fertilización se cambiaron a medio fresco cada 24 horas.

Los embriones se clasificaron como excelentes cuando presentaron en día 2 menos de 10% de fragmentación y cuatro blastómeras simétricas; y en día 3 menos de 10% de fragmentos y ocho blastómeras simétricas, sin multinucleación. El porcentaje de embriones de excelente calidad se definió como el número de embriones de excelente calidad sobre el número total de embriones divididos. La transferencia se realizó en día 3.

Soporte de fase lútea

Se indicó la administración de progesterona intramuscular en dosis de 50 mg/día, que inició a las 24 horas de realizada la punción folicular, manteniendo el soporte hasta las 9-12 semanas de gestación. Un grosor endometrial de al menos 8 mm se consideró adecuado para realizar transferencia embrionaria.

El embarazo clínico se definió como gonatotrofina coriónica humana positiva y la existencia de al menos un saco gestacional con latido cardíaco fetal por ultrasonido. El aborto se consideró como la pérdida del embarazo antes de las 24 semanas de gestación.

La tasa de implantación se calculó con el número total de embriones transferidos dividido entre el número de sacos gestacionales implantados.

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de t de Student para realizar la comparación de variables continuas entre los dos grupos y la prueba de χ^2 para variables discretas. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

No hubo diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos en cuanto a: la edad de las pacientes, años de infertilidad, fallas previas de inyección intracitoplásmica de espermatozoides, factor masculino asociado, cantidad de ovocitos obtenidos por paciente y cantidad de ovocitos en metafase II (Cuadro 1).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el número de embriones transferidos por paciente, ni en el porcentaje de embriones de excelente calidad entre ambos grupos (Cuadro 2), (inyección intracitoplásmica de espermatozoides, 43.3% *vs* inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, 45.7%).

En el grupo de inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, en 12 pacientes se realizó transferencia electiva de dos embriones, y en el grupo de inyección intracitoplásmica de espermatozoides únicamente se realizó en cuatro de los casos; esto motivado por la alta tasa de implantación y un elevado número de

gestaciones múltiples observadas en los primeros procedimientos realizados con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados.

Todas las pacientes fueron transferidas, logrando un total de 15 gestaciones con inyección intracitoplásmica de espermatozoides (50%), 11 embarazos en evolución y cuatro abortos (26.6%). Con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados se obtuvieron 19 gestaciones (63%), 16 de las cuales siguen en evolución y hubo tres abortos (15.7%).

La diferencia en tasa de gestación no fue significativa para este tamaño de muestra, aunque la tendencia es clara a favor de IMSI. La tasa de implantación fue significativamente mayor en el grupo de IMSI (44.8%), que en el grupo de ICSI (29.7 %). No existieron diferencias en la tasa de aborto (Cuadro 2).

DISCUSIÓN

Se ha comprobado que la morfología espermática tiene un papel preponderante en los resultados obtenidos en un

Cuadro 1. Características clínicas en el grupo de ICSI e IMSI

	ICSI (n = 30)	IMSI (n = 30)	p
Edad	34.7 ± 4.03	34.9 ± 3.2	ns
Años de infertilidad	4.9 ± 3.6	5.2 ± 3.2	ns
Fallas previas a la ICSI	2.2 ± 0.3	2.3 ± 0.4	ns
Factor masculino	15 (75%)	14 (70%)	ns
Ovocitos (n)	408	363	ns
Ovocitos/paciente	13.6 ± 6.2	12.1 ± 6.4	ns
Ovocitos MII/paciente	8.6 ± 4.5	7.9 ± 3.6	ns

ns: no significativa.

Cuadro 2. Resultados obtenidos en el grupo de ICSI e IMSI

	ICSI	IMSI	p
Fecundación (%)	89	91.2	ns
División (%)	90.3	92.3	ns
Embriones de excelente calidad	89/206 (43.3%)	91/199 (45.7%)	ns
Embriones transferidos/px	2.8 ± 0.3	2.6 ± 0.5	ns
Embarazos	15/30 (50%)	19/30 (63%)	ns
Tasa de implantación	25/84 (29.7%)	35/78 (44.8%)	< 0.05
Embarazo múltiple	9/25 (36%)	14/35 (40%)	ns
Abortos	4/15 (26.6%)	3/19 (15.7%)	ns

ns: no significativa.

proceso de fertilización natural, inseminación artificial, y en técnicas de reproducción asistida de alta complejidad. Una morfología espermática normal es fundamental para que el espermatozoide sea capaz de penetrar la zona pelúcida del ovocito y poder llegar hasta el citoplasma para depositar su ADN, y proveer de su maquinaria para dar lugar a la formación del áster y posteriormente iniciar el proceso de división embrionaria.

Tradicionalmente, la selección de los espermatozoides para las técnicas de microinyección se basa en el criterio del embriólogo; así mismo, la precisión con que puede evaluar esta normalidad morfológica depende de manera importante del poder de resolución del sistema de magnificación óptica que esté utilizando. Espermatozoides aparentemente normales a una magnificación de 400x podrían tener importantes alteraciones estructurales, que únicamente serían detectables con altas magnificaciones (> 6,000x) como la existencia de vacuolas nucleares.

Barth y Oko¹⁰ reportaron que la presencia de vacuolas nucleares en el espermatozoide no bloquea la fertilización, pero incrementa la tasa de pérdidas embrionarias tempranas. Bartoov en 1994¹¹ observó una clara asociación negativa entre la existencia de vacuolas nucleares en semen con el potencial natural de fertilidad masculina.

Berkovitz y col.¹² graduaron la severidad de las alteraciones morfológicas nucleares, principalmente grandes vacuolas, y sugirió que la vacuolización del núcleo espermático refleja algunos defectos cromosómicos o del ADN, pero no mostró datos que confirmaran dicha hipótesis.

Los mismos autores¹³ reportaron que las vacuolas bloquean el desarrollo embrionario, reducen la tasa de embarazo e incrementan las tasas de aborto; y Franco y col.¹⁴ demostraron una asociación entre la presencia de grandes vacuolas nucleares y la fragmentación del ADN en el espermatozoide.

Las tasas de fertilización entre ambas técnicas fueron similares entre ICSI (89%) vs IMSI (91.2%), y los resultados no se vieron influidos por el factor masculino. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en las tasas de división embrionaria de la ICSI (90.3%) vs IMSI (92.3%), lo que confirma los resultados publicados por otros autores.^{7,15,16}

Además, Garolla y col.¹⁷ mostraron que las vacuolas nucleares afectan la función mitocondrial, la integridad de la cromatina y la tasa de aneuploidía, por lo que con base en los hallazgos clínicos y de laboratorio en las posibles

repercusiones de daño al ADN para la progenie y considerando que las vacuolas espermáticas nucleares pueden detectarse de manera más precisa con alta magnificación, se sugiere a la IMSI, principalmente en casos graves de factor masculino, falla de ICSI en repetidas ocasiones y fragmentación del ADN espermático, lo que podría reflejarse en mejor pronóstico clínico.

En la bibliografía existen resultados controversiales acerca de la influencia de la IMSI, acerca de la calidad embrionaria y del desarrollo embrionario temprano. Hazout,¹⁸ en un estudio que incluyó 125 parejas (con infertilidad por factor masculino y al menos dos ciclos fallidos de ICSI), encontró un número similar de embriones de buena morfología ($p = ns$) en día 2 y 3 entre los ciclos de IMSI y ciclos previos de ICSI. Sin embargo, en un estudio comparativo previo, realizado por Bartoov y col.¹⁹ en el que se compararon 50 casos de IMSI, que fueron apareados con 50 casos previos de ICSI (con infertilidad masculina y al menos dos ciclos fallidos de ICSI previos). Bartoov y col. concluyeron que el procedimiento de IMSI podría incrementar significativamente la cantidad de embriones de excelente morfología en día 2-3. En nuestro estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de embriones con excelente morfología en ambos grupos.

El único estudio prospectivo y aleatorizado hasta el momento lo realizó Antinori y col. en 2007.¹⁵ Incluyeron 446 parejas con diagnóstico de oligoastenoteratozoospermia en el que evaluaron las ventajas de la IMSI en relación con ICSI convencional, y encontraron mayor tasa de embarazo clínico en el grupo de IMSI (39.2% vs 26.5%) y mayor tasa de implantación (11.3% vs 17.3%) en el grupo de IMSI. Del total de ciclos realizados, solamente 139 eran con dos o más fallas previas a ICSI, y en este subgrupo la tasa de gestación fue igualmente mejor con IMSI de una forma significativa.

En este estudio encontramos excelentes tasas de embarazo en ambos grupos, fue mayor en el grupo de IMSI 63% vs 50% en ICSI, diferencia sin significación estadística para el tamaño de la muestra estudiada, aunque con una tendencia favorable al grupo de IMSI. De continuar los resultados similares con el incremento de casos, esta diferencia pudiera ser estadísticamente significativa. Tampoco encontramos diferencias en cuanto a la tasa de aborto; sin embargo, la mayoría de las gestaciones hasta este momento siguen en evolución.

Resulta relevante insistir en la existencia de pocos estudios de IMSI en el mundo. Debido a la reciente introducción de la técnica, en México no encontramos publicaciones sobre el tema, éste es el primer estudio de su aplicación en pacientes con falla repetida a ICSI.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en este estudio de cohortes, prospectivo y comparativo de 60 casos, la microinyección de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) mostró mejores resultados en términos de implantación, en comparación con la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) convencional ($p < 0.05$), en pacientes con al menos dos fallas previas a ICSI.

REFERENCIAS

- De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, et al. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2003;79:42-48.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. WHO Press, 2010.
- Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, et al. Predictive value of sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998;49:112-117.
- Liu DY, Baker HW. High frequency of defective sperm-zona pellucid interaction in oligozoospermic infertile men. *Hum Reprod* 2004;19:228-233.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992;340:17.
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, et al. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl* 2002;23:1-8.
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, et al. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril* 2003;80:1413-1419.
- Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, et al. High magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *RBM Online* 2006;12:19-25.
- Gutiérrez GAM, González OC, Cancino VP, Tovar CG y col. Micromanipulación de gametos. En: Delgado UJ, Fernández del Castillo C. *Ginecología y Reproducción Humana. Temas selectos*. Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia, 2006;p:46,381-393.
- Barth AD, Oko RJ. Defects of the sperm head. In: Barth AD, Oko RJ, editors. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. IS Iowa State University Press, Ames, 1988;p:130-192.
- Bartoov B, Eltes F, Pansky M. Improved diagnosis of male infertility potencial a combination of quantitative ultramorphology and routine semen analyses. *Hum Reprod* 1994;9:2069-2075.
- Berkovitz A, Eltes F, Yaari S, et al. The morphological normalcy of the sperm nucleus and pregnancy rate of intracytoplasmic injection with morphologically selected sperm. *Hum Reprod* 2005;20:185-190.
- Berkovitz A, Eltes F, Ellenbogen A, et al. Does the presence of nuclear vacuoles in human sperm selected for ICSI affect pregnancy outcome? *Hum Reprod* 2006;21:1787-1790.
- Franco Jr JG, Baruffi RLR, Mauri AL, et al. Significance of large nuclear vacuoles in human spermatozoa: Implications for ICSI. *RBM Online* 2008;17:42-45.
- Antinori M, Licata E, et al. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection: a prospective randomized trial. *RBM Online* 2007;6:835-841.
- Mauri A, Petersen C, et al. Comparison of day 2 embryo quality after conventional ICSI versus intracytoplasmic morphologically selected injection (IMSI) using sibling oocytes. *Europ J Obst Gynec Reprod Biol* 2010;150:42-46.
- Garolla A, Fortín D, Menegazzo M, et al. High power microscopy for selecting spermatozoa for ICSI by physiological status. *RBM Online* 2008;17:610-616.
- Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, et al. High magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *RBM Online* 2006;12:19-25.
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F. Pregnancy rates are higher with Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection the convencional intracytoplasmic injection. *Hum Reprod* 2003;806:1413-1418.