



## Evaluación de resultados de PICSI en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

Álvaro Santibáñez Morales,\* Fela Vanessa Morales Hernández,\*\*\* Eva Vega Hernández,\*\* Juan Carlos Regalado Hernández,\*\*\* Ana Paola Sánchez Serrano,\* Fernando Gaviño Gaviño,\*\*\*\* Julio de la Jara Díaz\*

### RESUMEN

**Antecedentes:** se ha descrito una nueva manera no invasiva de seleccionar a los espermatozoides móviles, la cual consiste en usar ácido hialurónico (polisacárido), que se encuentra en el *cumulus oophorus*; dicho ácido pudiera desempeñar una función importante en la selección del espermatozoide en la fertilización natural. Con esta selección se observa en los espermatozoides una menor fragmentación de ADN, y dado que se obtienen espermatozoides prácticamente normales, se espera un mayor porcentaje de embarazos con un menor número de pérdidas. Actualmente en el Instituto Nacional de Perinatología (INPer) se está usando esta técnica de selección espermática con unión a ácido hialurónico (previa a la inyección intracitoplasmática), por lo que es necesario realizar una evaluación de los resultados.

**Objetivo:** conocer en el INPer la tasa de fertilidad después de usar la técnica de PICSI como método de reproducción asistida.

**Pacientes y método:** se recopilaron en retrospectiva los expedientes de las pacientes a quienes se les aplicó, de octubre de 2010 a abril de 2011, la técnica de PICSI como método de reproducción asistida.

**Resultados:** el total de pacientes fue de 23, el promedio de edad fue de 30.1 años, el tiempo de infertilidad promedio de las parejas fue de 8.78 años, los embriones obtenidos fueron 119, los embriones transferidos fueron ocho de calidad I, 18 de calidad II y seis de calidad III, los embarazos obtenidos fueron 10 y los embarazos no logrados fueron 13; es decir, se logró 43.4% de embarazos.

**Conclusiones:** los resultados son bastante alentadores, dado que se observa 43.4% de embarazos con la técnica de PICSI.

**Palabras clave:** PICSI, inyección intracitoplasmática, ácido hialurónico.

### ABSTRACT

**Background:** In order to achieve more pregnancies at the National Institute of Perinatology in Mexico City, a novel sperm selection technique is been used. PICSI uses hyaluronic acid selection of spermatozoids without DNA fragmentation. This method conveys better fertilization, embryo cleavage and more pregnancies.

**Objective:** To know fertility rate at INPer when using PICSI technique as method of assisted reproduction.

**Patients and method:** A retrospective and observational study was made using records of patients who were submitted to PICSI technique as assisted reproduction method from October 2010 to April 2011.

**Results:** 23 patients were identified, 119 embryos were obtained using this technique, quality of embryos transferred was: I: 8; II: 18; III: 6, obtaining 10 pregnancies and 13 non pregnancies; 43.4% of pregnancies.

**Conclusions:** Results are very encouraging, because with PICSI technique a rate of 43.4% of pregnancies is observed.

**Key words:** PICSI, intracytoplasmic injection, hyaluronic acid.

\* Médico especialista en Ginecología y Obstetricia, Biólogo de la Reproducción.

\*\* Bióloga, Embrióloga.

Instituto Nacional de Perinatología, Isidro Espinosa de los Reyes.

\*\*\* Médico especialista en Ginecología y Obstetricia.

\*\*\*\* Médico especialista en Ginecología y Obstetricia, Biólogo de la Reproducción.

Recibido: diciembre, 2011. Aceptado: febrero, 2012.

Este artículo debe citarse como: Santibáñez-Morales A, Morales-Hernández FV, Vega-Hernández E, Regalado-Hernández JC y col. Evaluación de resultados de PICSI en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Rev Mex Reprod 2012;4(4):153-158.

Correspondencia: Dr. Álvaro Santibáñez Morales. Correo electrónico: alvaro2304@hotmail.com

**E**xiste 40% de posibilidades de que la infertilidad sea de causa masculina; de este porcentaje casi 7% es por un factor masculino severo. Se han desarrollado a lo largo del tiempo numerosas técnicas de micromanipulación de gametos; hasta ahora la más utilizada por su tasa de éxito es la ICSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides); sin embargo, esta técnica debe contar, como una de sus características, con un mínimo de 5% de morfología normal, ya que para poder aplicar la técnica debe seleccionarse al espermatozoide con características normales para así incrementar el porcentaje de éxito; sin embargo, este tipo de técnica es realizada de acuerdo con la experiencia con la que cuenta el embriólogo y la selección es subjetiva.<sup>1</sup>

PICSI es una nueva técnica de selección (previa a la inyección intracitoplasmática) que actualmente se usa como marcador bioquímico; es decir, los espermatozoides que se adhieren al ácido hialurónico son los que se seleccionarán para la fertilización; como se vio en los antecedentes, se ha observado una disminución importante de alteraciones cromosómicas en los espermatozoides que son seleccionados mediante esta técnica, y en algunos reportes se ha demostrado una alta tasa de embarazos.<sup>2</sup>

Por ello es necesario conocer los resultados de embarazo obtenidos con la técnica de selección de espermatozoides con unión a ácido hialurónico (PICSI), previa a la inyección intracitoplasmática, y si los resultados son favorables para los pacientes con factor masculino severo, evaluar su aplicación en una mayor cantidad de parejas.

En 1988 inició la era de la micromanipulación del gameto masculino, dado que comenzó a observarse que un gran porcentaje de las causas de infertilidad era por factores masculinos; la primera técnica descrita fue SUZI (*subzonal sperm injection*) y en 1989 se dio a conocer la técnica PZD (*partial zona dissection*); con estas dos técnicas se reportaron embarazos; sin embargo, para 1992 se desarrolló ICSI (*intracytoplasmic sperm injection*), que se ha mantenido como una de las técnicas más utilizadas durante las últimas dos décadas, por su tasa de éxito.<sup>3</sup>

Existen diversos estudios en los que se ha demostrado que el ácido hialurónico, que es producido por el *cumulus oophorus*, es un glucosaminoglucano que tiene grandes implicaciones en la fase de fertilización, ya que se ha propuesto que actúa como quimiotáctico, de tal forma que en una fertilización normal los espermatozoides son atraídos hacia el lado donde haya ovulado la paciente; además, se sabe que inicia el proceso de reacción acrosómica.<sup>4</sup>

Con el paso del tiempo se ha demostrado el efecto benéfico del ácido hialurónico en el espermatozoide; comenzó a estudiarse ya que en estudios *in vitro* se observó un incremento en la motilidad de diversas células. Desde 1979 Markwald inició sus estudios sobre los componentes de la matriz extracelular, y él observó que el ácido hialurónico estimulaba la fosforilación de la tirosina, y con esto se incrementaba la locomoción celular en los fibroblastos. Posteriormente, Boudreau<sup>5</sup> en 1991 logró demostrar que se mejoraba la migración de las células del ducto arterioso si se les agregaba ácido hialurónico; para 1980 Hakansson lo estudió nuevamente en células blancas y demostró también un incremento en la motilidad; posteriormente Huszar, quien ha sido un gran impulsor del ácido hialurónico, publicó en 1990<sup>6</sup> que la motilidad espermática se incrementaba al depositar semen en este glucosaminoglucano; él, junto con otros investigadores, continuaron esta rama, y para 1997 realizaron una nueva publicación<sup>7</sup> en la que llevaron a cabo tres diferentes tipos de intervenciones y concluyeron que la motilidad espermática se incrementó en la muestra de pacientes en quienes realizaron criopreservación incluso después de que se removiera por completo el ácido hialurónico; con esto propusieron que el ácido hialurónico puede ser útil incluso en inseminaciones, y el hecho de que sea una sustancia producida por los aparatos reproductores femenino y masculino no debe causar una preocupación ética.

En 2005 Jakab y col.<sup>8</sup> realizaron una investigación sobre la frecuencia de aneuploidías en muestras seminales; ellos separaron las muestras en tres grupos: en el primer grupo evaluaron, por el método de hibridación *in situ* fluorescente (FISH), el porcentaje de aneuploidías en pacientes oligoespérmiticos; colocaban la muestra en un medio de ácido hialurónico y nuevamente la reevaluaban; en el segundo grupo realizaron el mismo procedimiento pero con muestras de pacientes normoespérmiticos, y en el tercer grupo realizaron dos lavados espermáticos con HTF, que colocaron durante cinco

minutos con ácido hialurónico; de igual forma que en los anteriores, evaluaron por FISH las alteraciones previas y posteriores a la colocación del esperma en ácido hialurónico; las alteraciones específicas evaluadas fueron disomías del cromosoma 17, disomías de cromosomas sexuales y diploidías; en los reportes se observó una disminución del porcentaje de las alteraciones cromosómicas después del contacto con el glucosaminoglucano; en el primer grupo hubo una disminución de disomías del cromosoma 17 de 52 a 0.16%, una disminución de diploidías de 0.51 a 0.09% y una disminución de disomías de cromosomas sexuales de 0.27 a 0.05%; con esto los investigadores concluyeron que el ácido hialurónico disminuye el porcentaje de alteraciones cromosómicas y, con ello, las complicaciones genéticas.

En 2006 Ye y col.<sup>9</sup> realizaron un estudio en el que compararon una técnica convencional de FIV con ICSI y PICSI, y reportaron que al usar ácido hialurónico como parte de la capacitación espermática obtuvieron un porcentaje de fertilización mayor que el de la forma convencional; sin embargo, en pacientes con morfología menor a 5% de normalidad la tasa de fertilización disminuía con técnica convencional, por lo que sugirieron que al haber una morfología menor a 5% debía realizarse directamente una inyección intracitoplasmática; también reportaron que la unión a ácido hialurónico se correlacionaba con una mejor motilidad y con una morfología normal, lo cual se reflejaba en la calidad seminal que usaban para la fertilización.

En 2008 Nasr-Esfahani realizó una investigación en la que comparó la selección de espermatozoides con unión a ácido hialurónico y su tasa de fertilización, implantación y embarazo; el autor encontró una relación inversa entre la unión a ácido hialurónico y la deficiencia de protamina, fragmentación de ADN y morfología anormal; también los ovocitos inseminados con esperma seleccionado por su unión a ácido hialurónico tenían un porcentaje mayor de fertilización. Con estos resultados concluyó que la selección de espermatozoides con unión a ácido hialurónico y la realización de ICSI mejoraban el porcentaje de fertilización y embarazo.

Es lógico suponer que al usar el espermatozoide de un hombre con problemas de infertilidad ésta pueda ser heredada; sin embargo, los estudios que se han realizado en este aspecto, a pesar de no ser concluyentes, muestran

que no hay diferencias significativas en comparación con la población general, aunque parte del estudio de la pareja es realizar una evaluación genética para identificar en forma correcta la causa de la infertilidad.

En 2010 Parmegiani y col.<sup>10</sup> realizaron una evaluación de la fragmentación de ADN espermática y observaron que el grado de fragmentación en la muestra de semen inicial fue de 16.5%, la selección de espermatozoides posterior a *swim-up* fue de 11%, la selección de espermatozoides en polivinilpirrolidona (PVP) fue de 11% y la selección de espermatozoides con unión a ácido hialurónico fue de 5.3%; en la evaluación de núcleos normales confirmaron que los espermatozoides en PVP tenían 11% de núcleos normales y que los espermatozoides con unión a ácido hialurónico tenían 14.5%; finalmente observaron una diferencia estadísticamente significativa en el grado embrionario, la cual favorecía a la unión a ácido hialurónico; de igual manera la observaron en el porcentaje de implantación.

El objetivo de este estudio es conocer la tasa de embarazo de las pacientes a quienes en el Instituto Nacional de Perinatología se les aplicó, de octubre de 2010 a abril de 2011, la técnica de PICSI como método de reproducción asistida, así como comparar dicha tasa con la tasa de embarazo obtenida con las técnicas de fertilización FIV e ICSI.

## PACIENTES Y MÉTODO

Estudio retrospectivo observacional. A las pacientes con antecedente de infertilidad se les aplicó una técnica de reproducción asistida de octubre de 2010 a abril de 2011. Se seleccionaron todas las parejas en las que uno de los factores causales de infertilidad fuera el masculino. Se excluyeron quienes no contaban con expediente clínico para captura de información, quienes tenían falta de desarrollo folicular o quienes habían cancelado el ciclo. Se revisaron los expedientes de pacientes que se encontraban, desde octubre de 2010 hasta abril de 2011, en alguna técnica de reproducción asistida, ya que a partir de octubre la técnica de selección espermática PICSI se implantó en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Se recopilaron los resultados de la fracción beta de la gonadotropina coriónica humana, tomada 14 días después de la transferencia embrionaria

llevada a cabo en todas las pacientes que en el periodo señalado se incluyeron en alguna técnica de reproducción asistida, con excepción de las pacientes a quienes se les realizó únicamente transferencia de embriones congelados en ciclos previos; en el grupo de pacientes a quienes se les realizó PICSI se observó el tipo de tratamiento hormonal administrado para el desarrollo folicular, así como la cantidad de folículos aspirados; también se describió la calidad embrionaria y el número de embriones transferidos.

## RESULTADOS

El total de pacientes incluidas en el estudio fue de 194; inicialmente se cancelaron 37 (17%) [Figura 1] por problemas de endometriosis o quistes foliculares mayores de 15 mm en el ultrasonido del día 2 del ciclo; cuatro (1.8%) de las pacientes decidieron postergar el inicio del ciclo por su situación económica; no se realizó la transferencia de embriones en dos casos (0.9%) por padecer síndrome de hiperestimulación ovárica leve, decisión que fue tomada con la paciente y el esposo, por lo que sólo 151 pacientes (69.5%) completaron el ciclo.

A las 151 pacientes que completaron el ciclo de transferencias se les realizó fertilización *in vitro* con transferencia embrionaria a 76 (50.3%), ICSI a 52 (34.4%) y PICSI a 23 (15.2%).

La tasa acumulada de embarazo (tomando en cuenta las 151 pacientes a quienes se les realizó el tratamiento

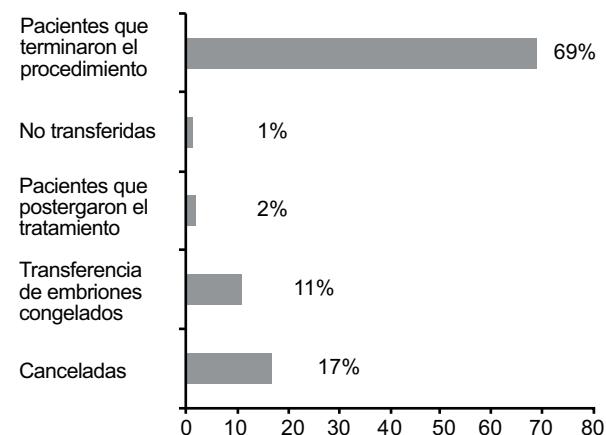


Figura 1. Total de pacientes para inicio de ciclo.

de hiperestimulación ovárica, captura de ovocitos y transferencia de embriones) fue de 28.4%.

Las características de las pacientes a quienes se les realizó PICSI fueron las siguientes: la edad promedio fue de 30.1 años; en específico, una paciente de 27 años, una de 29, una de 30, una de 33 y una de 42, dos pacientes de 26 años, dos de 31, dos de 34, dos de 36 y dos de 41, tres pacientes de 37 y 38 años y cuatro pacientes de 39 años.

El tiempo promedio de infertilidad fue de 8.78 años (2 a 16 años) y el tipo de estimulación ovárica controlada fue con protocolo largo en siete pacientes, con FLARE en dos pacientes y con protocolo con antagonista flexible a dosis de 150 a 225 de hormona foliculoestimulante recombinante en 16 de ellas.

El promedio de estradiol el día del disparo de la hCG fue de 1,548.21 pg/mL; los ovocitos capturados fueron desde 1 hasta 23, con promedio de ocho ovocitos; los embriones fertilizados por técnica de PICSI fueron 119 en total, y la calidad de los embriones transferidos fue la siguiente:

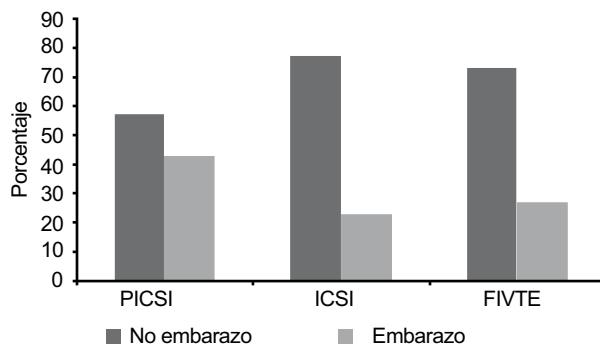
- Calidad I: ocho embriones de ocho células.
- Calidad II: 18 embriones de ocho células.
- Calidad III: seis embriones de ocho células.

Los embriones no transferidos fueron:

- Calidad II: cuatro embriones de ocho células, un embrión de siete células, un embrión de seis células.
- Calidad III: un embrión de ocho células, cuatro embriones de siete células, dos embriones de seis células, cinco embriones de cinco células y tres embriones de cuatro células.
- Calidad IV: un embrión de seis células y dos embriones de cuatro células.

La cuantificación de fracción beta de gonadotropina coriónica humana encontrada fue mayor de 20 mUI/mL en 10 (43.4%) de las pacientes con técnica de PICSI, tomada el día 14 posterior a la transferencia embrionaria positiva, y fue negativa en 13 (56.5%) de las pacientes (Figura 2).

Del total de las pacientes a quienes se les realizó la técnica de ICSI convencional, en 23% (12) la cuantificación de fracción beta de gonadotropina coriónica humana fue positiva y en 77% (40) fue negativa, también tomada el día 14 posterior a la transferencia embrionaria (Figura 2).



**Figura 2.** Porcentajes de embarazos y no embarazos de las pacientes a quienes se les realizó FIVTE, ICSI o PICSI.

Del total de las pacientes a quienes se les realizó la técnica convencional (FIVTE), en 27% (21) la cuantificación de fracción  $\beta$  de gonadotropina coriónica humana fue positiva y en 73% (55) fue negativa (Figura 2).

## DISCUSIÓN

En el estudio encontramos que, del total de pacientes que iniciaron la estimulación ovárica controlada, 0.92% suspendió el tratamiento por padecer síndrome de hiperestimulación ovárica leve; se ha reportado en diversos artículos que la incidencia varía de 1 a 10% en los protocolos de fertilización *in vitro*, proceso en el que se alteran diversas sustancias vasoactivas que desempeñan una importante función en la evolución del síndrome, lo que finalmente provoca que haya una fuga de líquido al tercer espacio y, con esto, una hemoconcentración; por ello debe evaluarse la realización de la criopreservación para prevenir un cuadro más severo.<sup>11</sup>

En el estudio se canceló a 17% de las pacientes por tener endometriosis o quistes foliculares; se ha observado en múltiples estudios que la endometriosis, según su profundidad y grado de estadio, puede dañar los ovocitos, como puede observarse en el estudio realizado por Papaleo y col.,<sup>12</sup> en el que reportaron que la reserva ovárica en términos de folículos antrales se veía dañada o disminuida en el ultrasonido basal y que la profundidad de la infiltración de la endometriosis repercutía en el número de ovocitos colectados.

Un 11% de las pacientes acudió a transferencia embrionaria; todas las pacientes de este grupo fueron inducidas en otro periodo de evaluación, razón por la cual no se registró el porcentaje de éxito obtenido de embarazos.

Como pudo observarse, la tasa acumulada de embarazo fue de 28.4%; sin embargo, si observamos los resultados individuales de la tasa de embarazo y si comparamos los porcentajes vemos que la tasa más alta corresponde a los resultados obtenidos con la técnica de PICSI en relación con las tasas de FIVTE o ICSI convencional; similar a los resultados de Parmegiani y col.,<sup>10</sup> quienes obtuvieron una mayor fertilización con la selección de espermatozoides con unión a ácido hialurónico que con la selección por morfología, como se realiza en la técnica convencional de ICSI.

La indicación de aplicar la técnica de PICSI en este grupo de pacientes fue porque tenían una morfología espermática menor de 3%; es decir, eran pacientes de mal pronóstico reproductivo, ya que se obtienen menores tasas de embarazo, deficiente fertilización y desarrollo embrionario desfavorable. En esta serie de casos puede observarse que la tasa de fertilización y la calidad de desarrollo embrionario fueron adecuadas, por lo que fue una verdadera opción de tratamiento la que se les ofreció a estos pacientes.

Por esto, creemos que la técnica de PICSI mejorará de manera sustancial las tasas de embarazo cuando se generalice su uso, no sólo en pacientes con factor masculino severamente afectado. Se requiere hacer un estudio prospectivo con distribución al azar para poder establecer el verdadero beneficio de esta técnica, cuyos resultados hasta ahora son alentadores en el Instituto.

## CONCLUSIONES

El porcentaje de embarazos con la técnica de PICSI es mayor que el de las otras técnicas de reproducción asistida con las que contamos; por tanto, con esta técnica los pacientes que anteriormente tenían menas posibilidades de lograr un embarazo podrán lograrlo, hasta en 43%; cabe señalar que todos los pacientes tratados con esta técnica fueron evaluados por Andrología y el servicio de Genética, donde descartaron alguna alteración cromosómica.

## REFERENCIAS

1. Worrillow KC, Eid S, Matthews JM, Pelts EJ, et al. A multi-site clinical trial evaluating PICSI *versus* intracytoplasmic sperm injection (ICSI): positive clinical outcomes observed in a prospective, randomized and double-blinded study. *Fertil Steril* 2009;92(3):S36-S37.
2. Worrillow KC, Huynh T, Bower JB, Anderson AR, et al. PICSI vs ICSI: statistically significant improvement in clinical outcomes in 240 *in vitro* fertilization (IVF) patients. *Fertil Steril* 2007;88(1):S37.
3. Álvarez J. Historia contemporánea: las técnicas complejas de reproducción asistida. *Ginecol Obstet Mex* 2007;75:293-302.
4. Clarke GN. A.R.T. and history, 1678-1978. *Hum Reprod* 2006;21(7):1645-1650.
5. Boudreau N, Turley E, Rabinovitch M. Fibronectin, hyaluronan, and a hyaluronan binding protein contribute to increased ductus arteriosus smooth muscle cell migration. *Dev Biol* 1991;143(2):235-247.
6. Huszar G, Willetts M, Corrales M. Hyaluronic acid (sperm select) improves retention of sperm motility and velocity in normospermic and oligospermic specimens. *Fertil Steril* 1990;54(6):1127-1134.
7. Sbracia M, Grasso J, Sayme N, Stronk J, Huszar G. Hyaluronic acid substantially increases the retention of motility in cryopreserved/thawed human spermatozoa. *Hum Reprod* 1997;12(9):1949-1954.
8. Jakab A, Sakkas D, Delpiano E, Cayli S, et al. Intracytoplasmic sperm injection: a novel selection method for sperm with normal frequency of chromosomal aneuploidies. *Fertil Steril* 2005;84(6):1665-1673.
9. Ye H, Huang GN, Gao Y, Liu de Y. Relationship between human sperm-hyaluronan binding assay and fertilization rate in conventional *in vitro* fertilization. *Hum Reprod* 2006;21(6):1545-1550.
10. Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, Troilo E, et al. "Physiologic ICSI": hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal nucleus, resulting in improvement of embryo quality. *Fertil Steril* 2010;93(2):598-604.
11. D'Angelo A, Amso N. Embryo freezing for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(3):CD002806.
12. Papaleo E, Ottolina J, Viganò P, Brigante C, et al. Deep pelvic endometriosis negatively affects ovarian reserve and the number of oocytes retrieved for *in vitro* fertilization. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011;90(8):878-884.