Artículo original
Ginecol Obstet Mex. 2018 agosto;86(8):539-547.

Efecto en los resultados reproductivos con la *"magnetic-actived cell sorting (MACS)"* para la eliminación de espermatozoides positivos a anexina V en parejas con infertilidad inexplicable

Effect on reproductive outcomes by using "*magnetic-actived cell sorting (MACS)"* for the elimination of sperm-positive annexin-V in couples with unexplained infertility.

Gerardo Barroso-Villa,[1,2] Carlos Valdespin-Fierro,[1,2] Alexia Álvarez-Lozano,[1,2] Lucía Daniela García-Montes,[1,3] Gonzalo Robledo-Trejo,[1] Rosaura Ávila-Lombardo[1]

Resumen

OBJETIVO: Determinar si la eliminación de espermatozoides positivos a marcadores tempranos de apoptosis en parejas con infertilidad inexplicable incrementa la tasa de nacidos vivos.

MATERIALES Y MÉTODOS: Ensayo piloto, con asignación al azar, controlado y triple ciego; y un estudio paralelo de dos grupos. Se incluyeron parejas con diagnóstico de infertilidad inexplicable que se asignaron en una proporción 1:1 al grupo A (método de capacitación espermática *swim-up*) o grupo B (método de capacitación espermática *swim-up* complementado con separación magnética de células activadas; *magnetic-actived cell sorting;* MACS). Posteriormente, a todas las muestras se les efectuó una inyección intracitoplasmática de espermatozoides, como técnica de fertilización. Por último, todos los embriones obtenidos se analizaron hasta la etapa de blastocisto y todas las transferencias se llevaron a cabo en la misma etapa.

RESULTADOS: Se incluyeron 40 parejas y no se encontraron diferencias en la tasa de fertilización. Con la aplicación de MACS se obtiene mayor porcentaje de embriones de buena calidad en día 3 (90.3 *vs* 99.5%; p = 0.03) y en día 5 (77.3 *vs* 90.1%; p = < 0.0001) disminuyó el porcentaje de embriones arrestados (16.3 *vs* 7.9%; p = 0.01). Por último, las tasas de implantación (42.1 *vs* 57.1%), embarazo clínico (60 *vs* 80%) y nacidos vivos (55 *vs* 80%) aumentaron, sin diferencias estadísticamente significativas.

CONCLUSIONES: La separación magnética de células activadas (MACS) en parejas con infertilidad inexplicable mejora el desarrollo embrionario. A pesar de no existir una diferencia significativa se observa una tendencia al incremento de embarazos clínicos y nacidos vivos.

PALABRAS CLAVE: Anexina V; infertilidad inexplicable; Inyección intracitoplasmática de espermatozoides; tasa de natalidad; Implantación de embriones; Desarrollo embrionario.

Abstract

OBJECTIVE: To determine if the live births delivery rate with the eliminating sperm positive to early apoptotic events is higher in couples with unexplained infertility.

MATERIALS AND METHODS: A pilot randomized controlled trialA pilot and triple-blinded; using a parallel study of two groups. We included a total of 40 couples with unexplained infertility assigned in a 1:1 proportion either to the group A (sperm training method swim-up) or to the group B (swim-up sperm training method supplemented with the use of *"magnetic-actived cell sorting (MACS)"*). Subsequently, all samples were submitted to intracytoplasmic sperm injection as a fertilization technique. Finally, all embryos obtained were analyzed until the blastocyst stage, and all the transfers were performed in the same stage.

[1] División de Salud Reproductiva, Instituto de Salud Reproductiva e Infertilidad, NASCERE, Ciudad de México.
[2] Departamento de Ginecología y Obstetricia, Centro Médico ABC, The American and British Cowdray, Ciudad de México.
[3] Programa de Alta Exigencia Académica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Recibido: abril 2018
Aceptado: mayo 2018

Correspondencia
Gerardo Barroso Villa
barrosog@me.com

Este artículo debe citarse como
Barroso-Villa G, Valdespin-Fierro C, Álvarez-Lozano A, García-Montes LD, Robledo-Trejo G, Ávila-Lombardo R. Efecto en los resultados reproductivos con la *"magnetic-actived cell sorting (MACS)"* para la eliminación de espermatozoides positivos a anexina V en parejas con infertilidad inexplicable. Ginecol Obstet Mex. 2018 septiembre;86(8):539-547.
DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i8.2149

RESULTS: There are no differences in the fertilization rate; however, with the use of *"magnetic-actived cell sorting"* there is a higher percentage of good quality embryos on day 3 (90.3% vs 99.5%, p = 0.03) and day 5 (77.3% vs 90.1%, p = <0.0001). In addition, a decrease in the percentage of arrested embryos was demonstrated (16.3% vs 7.9%, p = 0.01). Finally, implantation (42.1% vs 57.1%), clinical pregnancy (60% vs 80%) and live birth rates (55% vs 80%) increased; however, no statistically significant differences were reported.

CONCLUSIONS: The use of *"magnetic-actived cell sorting"* in couples with unexplained infertility improves embryonic development. Although there is no significant difference, a trend is observed in relation to the increase in the number of clinical pregnancies and live births.

KEYWORDS: Annexin A5; Unexplained infertility; Intracytoplasmic sperm injection; Birth Rate; Embryo implantation; Embryonic Development.

ANTECEDENTES

La infertilidad se refiere a un pronóstico basado en una aproximación de posibilidades de embarazo; esto obliga al estudio completo de la pareja (hombre-mujer) con la finalidad de evidenciar una causa. En ausencia de factores, la infertilidad es inexplicable.

En la actualidad, las herramientas diagnósticas no consiguen explicar, aproximadamente, una cuarta parte de los casos; sin embargo, este grupo de parejas ingresan a una estrategia terapéutica específica.[1] Las recomendaciones de la *American Society for Reproductive Medicine* (Estados Unidos) sugieren un enfoque progresivo, que se inicia con la inseminación intrauterina hasta concluir con alguna técnica de reproducción asistida de alta complejidad.[1,2] No obstante, las directrices del *National Institute for Health and Care Excellence* (Reino Unido) proponen un ciclo de fertilización in vitro de forma inmediata en parejas (menores de 40 años) con antecedente de tener relaciones sexuales sin protección durante más de dos años.[3]

A lo largo de muchas décadas se ha subestimado al factor masculino; hoy en día, la confiabilidad del análisis del semen para predecir la fertilidad sigue siendo baja.[4] Está demostrado que los espermatozoides humanos desempeñan un papel extenso en la fisiología reproductiva.

En el 2010, la Organización Mundial de la Salud definió como "normal" una concentración espermática más o menos mayor de 15×10^6/mL con una movilidad total más o menos mayor de 40% y una morfología mayor de 4%.[5] Sin embrago, no existe un estudio de primer abordaje que evalué la funcionalidad e integridad genética del esperma a mediano y largo plazo.

La evidencia demuestra que los espermatozoides eyaculados tienen procesos apóptosicos tempranos, similares a los que ocurren en las células somáticas.[6,7,8] Uno de los marcadores más estudiados es la alteración de la membrana plasmática del espermatozoide (externalización de fosfatidilserina) que ocurre en las primeras etapas del proceso apoptósico.[9] Estos cambios son detectables con técnicas moleculares[10] y se identifican en espermatozoides con parámetros seminales normales.[7]

En este contexto, la separación de espermatozoides positivos a anexina V, mediante separación

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i8.2149

magnética de células activadas (MACS) es una excelente opción para complementar los protocolos convencionales de capacitación espermática.[10,11]

El objetivo de este estudio fue: demostrar que la eliminación de espermatozoides positivos a marcadores tempranos de apoptosis mejora los resultados reproductivos en parejas con diagnóstico de infertilidad inexplicable. Si esta hipótesis se confirma podrá recomendarse el uso de *magnetic-actived cell sorting* (MACS) no sólo en pacientes con alteraciones en los parámetros seminales, sino en todos en quienes están indicadas las técnicas de reproducción asistida mediante fertilización con inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ensayo piloto, con asignación al azar, controlado y triple ciego; con un estudio paralelo de dos grupos. Se efectuó con los casos atendidos entre junio de 2012 y mayo de 2013 en un único centro de reproducción asistida de la Ciudad de México. Todos los casos se evaluaron para selección. Posterior al reclutamiento, las parejas se asignaron al azar en una proporción 1:1 al grupo A (capacitación espermática *swim-up*) o grupo B (capacitación espermática *swim-up* complementado con *magnetic-actived cell sorting (MACS)*). La selección del tratamiento se colocó en un sobre sellado y opaco, el embriólogo encargado del procedimiento abrió cada sobre. La pareja, el médico y el estadístico biomédico desconocían la asignación grupal de los participantes.

Criterios de inclusión: parejas con diagnóstico de infertilidad inexplicable, con índice de masa corporal normal, no fumadores, ingesta de bebidas alcohólicas no significativa, sin toxicomanías; además, se descartó la existencia de enfermedades de trasmisión sexual, sobre todo por *C trachomatis*, *M hominis* y *U urealyticum*.

Criterios de eliminación: pacientes con intolerancia a algún medicamento indicado como parte del estudio o pobre respuesta ovárica o síndrome de hiperestimulación ovárica. También, las parejas que no obtuvieron al menos un blastocisto de buena calidad para ser transferido.

El diagnóstico de infertilidad inexplicable se efectuó por exclusión. Para el factor femenino se confirmó la ausencia de patología uterina intracavitaria o anexial por histerosalpingografía. Se obtuvo un perfil endocrinológico que incluyó las concentraciones séricas basales de hormona antimülleriana, prolactina, FSH, LH, estradiol y progesterona. Además, para determinar el grosor endometrial un ultrasonido vaginal en el segundo día del ciclo menstrual, conteo folicular antral y la quiescencia ovárica. El factor masculino se evaluó por espermatobioscopia directa efectuada en nuestro centro; se corroboró que los parámetros estuvieran dentro de la normalidad.[5,12]

Selección espermática: los pacientes recolectaron una muestra de semen en contenedores estériles después de 3-5 días de abstinencia sexual. La concentración espermática, movilidad y morfología se analizaron en la muestra original. Después de la licuefacción (15-20 minutos) se colocaron 5 µL de cada muestra en una cámara de Makler (*Sefi Medical Instruments,* Haifa, Israel) que se leyeron en el microscopio de luz para determinar la movilidad y concentración espermática. Para la morfología, la muestra se extendió en un portaobjetos, 20 minutos después se tiñeron con Diff-Quick (Baxter Dade Diagnostics, Dubingen, Switzerland) alrededor de 100 espermatozoides por extendido; éste se analizó con microscopia de luz, en objetivo de inmersión 100 X.

Grupo A: después de la licuefacción se lavó la muestra espermática con HTF-modificado (Irvine Scientific) al 10% de suero sintético sustituible (Irvine Scientific) en proporción 1:1 durante 10

minutos a 1220 rpm; el sobrenadante de la muestra se decantó. Se añadieron 0.5 mL de medio de cultivo al *pellet* resultante; posteriormente, se colocó la muestra en la incubadora a 37°C durante 60 minutos; en ese tiempo los espermatozoides móviles migraron desde el sedimento al medio de cultivo. Se evaluaron nuevamente la concentración espermática y la movilidad. Por último, las muestras se conservaron a 37°C y 5% de CO_2, hasta su utilización para la inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

Grupo B: enseguida de la capacitación espermática con el método *swim-up* se hizo la selección magnética. Los espermatozoides se incubaron con microesferas de anexina-V conjugada (*MiltenyiBiotec, GmbH, Bergisch Gladbach,* Alemania) durante 20 minutos a temperatura ambiente; por cada 10 millones de espermatozoides se utilizaron 1000 mL de microesferas. Después de lavar la muestra con un acelerador la suspensión de espermatozoides con microesferas de anexina-V se cargó en la columna de separación. La fracción retenida en ésta contiene a los espermatozoides que han iniciado un proceso de apoptosis (anexina-V positiva) y, la fracción libre contiene a los espermatozoides con membranas intactas (anexina-V negativa). La fracción anexina-V negativa se conservó en medio HTF-modificado con suero sintético sustituible, para posteriormente efectuar la inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

Protocolo de estimulación ovárica. Se definió mediante la aplicación de un protocolo de estimulación mixto, con inicio en el tercer día del nuevo ciclo menstrual. Con la aplicación de una dosis diaria de 300 UI de rFSH (Gonal F®; Merck) más 150 UI de menotropinas urinarias uhMG (Merapur®; Ferring), las dosis se modularon para cada paciente. A partir del séptimo día del ciclo se administró una dosis diaria de 0.25 mg de antagonista de GnRH (Cetrotide®; Merck) (todos los medicamentos continuaron hasta el día del disparo). Por último, cuando más de 3 folículos alcanzaron un diámetro más o menos mayor de 18 mm por ultrasonografía vaginal, se aplicó una dosis única de 250 mg de rhCG (Ovidrel®; Merck) para desencadenar la ovulación (36 horas antes de la recuperación de ovocitos).

Selección de óvulos para inyección intracitoplasmática de espermatozoides. Posterior a la recuperación de los óvulos éstos se denudaron con hialuronidasa (In Vitro Care) y caracterizaron en sus diferentes estadios. Dos horas después de la denudación los óvulos en metafase II se fertilizaron mediante la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides, con un microscopio invertido IX81 (Olympus Corporation Shibuya-ku, Tokio, Japón). Los óvulos inyectados se colocaron en medio IVC-ONE (In Vitro Care) y secuenciaron con medios IVC-TWO (In Vitro Care) y IVC-THREE (In Vitro Care) hasta el día 5-6 de desarrollo. Los óvulos fertilizados se evaluaron morfológicamente después de 16-18, 42, 72, 92, 116 y 140 horas posfertilización.

Transferencia embrionaria. Se efectuó con guía ultrasonográfica abdominal con un catéter de Sydney (Cook®) en un volumen de medio de 20 µL. Las pacientes transferidas tuvieron un ciclo de sustitución hormonal durante la ventana de implantación estándar (día 5 de suplementación con progesterona: P+5/120 horas), comenzando el día después de la recuperación de ovocitos. Se trasfirieron uno o dos embriones en la etapa de blastocisto, dependiendo de la cantidad y calidad de los ovocitos fertilizados y del desarrollo embrionario. Los embriones supernumerarios solo se criopreservaron cuando alcanzaron la etapa de blastocisto con suficiente calidad para el embarazo. Después de capturar los datos se analizó la información con el programa GraphPad Prism, versión 7 (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, EUA).

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i8.2149

Con la prueba de Kolmogorov-Smirnov se analizó la normalidad de los datos; las variables cualitativas se expresaron en proporciones como medidas de frecuencia absoluta y relativa. Para las cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión de datos, expresados como media y desviación estándar o mediana y rangos intercuartiles. Para las variables cuantitativas se utilizó *t* de Student o U de Mann Whitney y para las cualitativas: χ^2 o prueba exacta de Fisher. El riesgo relativo se calculó para los resultados binomiales con IC95%. El error alfa se ajustó a menos de 5% (p = < 0.05) a dos colas.

RESULTADOS

Se asignaron al azar 40 parejas: 20 al grupo control y 20 al grupo de intervención (**Figura 1**). Con respecto a las características demográficas y clínicas no se encontraron diferencias significativas entre grupos. **Cuadros 1 y 2**

Tampoco hubo diferencias en la tasa de fertilización (86.6 *vs* 91.8%); sin embargo, con el *magnetic-actived cell sorting (MACS)* se obtiene mayor porcentaje de embriones de buena calidad en día 3 (90.3 *vs* 99.5%; p = 0.03) y día 5 (77.3 *vs* 90.1%; p = < 0.0001). Además, hubo disminución en el porcentaje de embriones arrestados (16.3 *vs* 7.9%; p=0.01) (**Cuadro 3**). Por último, las tasas de implantación (42.1 *vs* 57.1%), embarazo clínico (60 *vs* 80%) y nacidos vivos (55 *vs* 80%) aumentaron con la eliminación de espermatozoides positivos a anexina-V; sin embargo, no se reportaron diferencias estadísticamente significativas. **Cuadro 4**

DISCUSIÓN

Hoy día se dispone de nuevas tecnologías que ayudan al diagnóstico, preparación y selección de espermatozoides. Hasta la fecha, el avance es frustrante y estos métodos han proporcionado

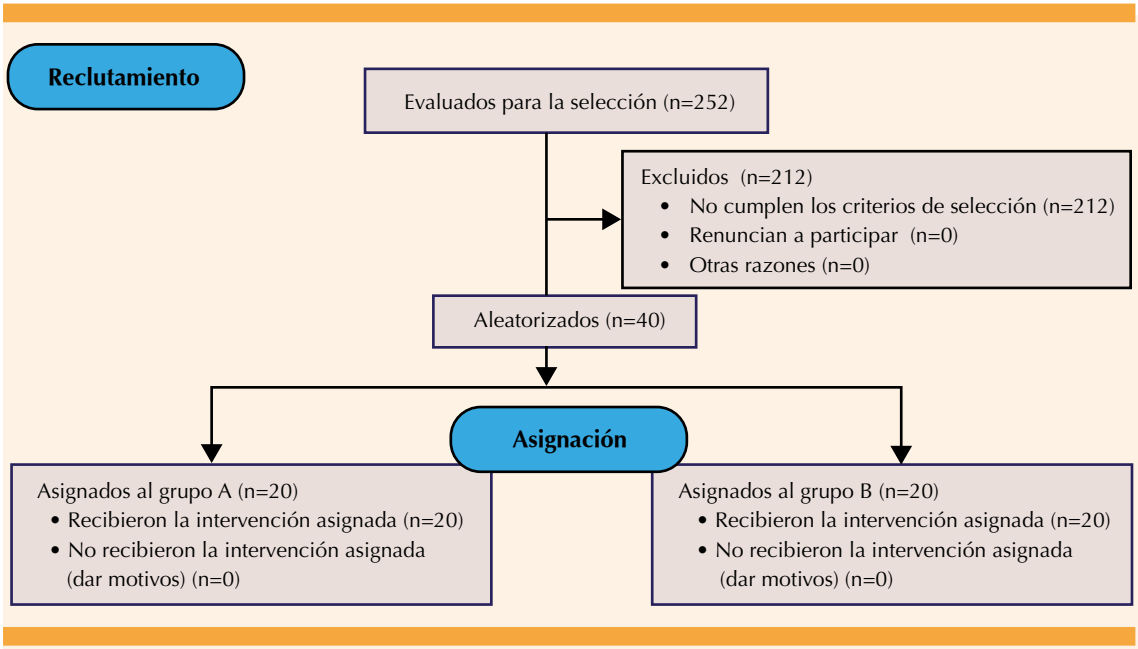


Figura 1. Diagrama de flujo del progreso a través de las fases del ensayo clínico aleatorizado paralelo de dos grupos (reclutamiento, asignación de la intervención, seguimiento y análisis).

Cuadro 1. Características demográficas del factor femenino y resultados del ciclo de estimulación ovárica

Variables	Grupo A	Grupo B	Valor p
	n = 20	n = 20	< 0.05
Edad (años)**	37 (30-38)	37 (32-39)	NS
Conteo folicular antral en día 3 (n)**	7 (6-8)	7 (6-8)	NS
HAM (ng/mL) **	2.8 (1.2-3.5)	3.8 (1.2-5.4)	NS
Prolactina (ng/mL) *	14 ± 1.2	13 ± 0.7	NS
FSH (mIU/mL) **	4.7 (4-6.4)	5.2 (0.3-7.7)	NS
LH (mIU/mL) *	4.9 ± 1.7	4.6 ± 1.5	NS
Estradiol día 3 (pg/mL) **	23 (18-34)	38.5 (29-69)	NS
Progesterona día 3 (ng/mL) **	0.7 (0.6-1.3)	0.2 (0.2-0.3)	0.001
Folículos ≥ 18 mm (en el día de la aplicación de hCG-r)**	8 (6-10)	9 (6-15)	NS
Estradiol en el día de la aplicación de hCG-r (pg/mL)*	955 ± 12.2	761 ± 19	NS
Progesterona el día de la aplicación de hCG-r (ng/mL)**	1.6 (0.6-1.6)	0.5 (0.2-1.1)	0.02
Duración de la estimulación (días)**	11 (10-11)	12 (11-12)	0.005
Óvulos capturados (n)**	17 (9-23)	14 (12-20)	NS
Óvulos en MII (n)**	12 (7-16)	13 (9-16)	NS

Los valores están representados en media y desviación estándar* o mediana y rango intercuartil**.

Cuadro 2. Características demográficas del factor masculino y resumen de las muestras de semen utilizadas en la parte clínica del estudio

Variables	Grupo A	Grupo B	Valor p
	n=20	n=20	<0.05
Edad (años)*	33 ± 4.2	35 ± 3.2	NS
Densidad (mill/mL) **	120.4 (92.2-145.5	144.3 (119.1-169.4)	NS
Índice de movilidad (%) **	60.7 (51.9-69.4)	61.6 (53.5-69.6)	NS
Movilidad total (%) **	77.5 (69.5-85.6)	79.2 (70.9-87.4)	NS
Movilidad tipo A (%) **	1.5 (0-2)	0 (0-0)	0.0004
Movilidad tipo B (%) *	60.7 ± 12.7	62.8 ± 14.9	NS
Movilidad tipo C (%) **	16.8 (12.9-20.7)	17.6 (13.8-21.3)	NS
Movilidad tipo D (%) **	22.4 (14.4-30.5)	20.8 (12.5-29)	NS
Morfología normal (%) **	8 (7-9)	7 (6-9)	NS
Formas anormales dependientes de la cabeza (%)*	77.6 ± 8.1	76.3 ± 8.9	NS
Formas anormales dependientes del cuerpo (%)**	9.5 (4-11)	9 (7-10)	NS
Formas anormales dependientes de la cola (%)**	6.4 (4.6-8.2)	7.2 (5-9.4)	NS
Índice de recuperación**	16.1 (9.8-25.4)	19.4 (11.2-30.3)	NS

Los valores están representados en media y desviación estándar* o mediana y rango intercuartil **.

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i8.2149

Cuadro 3. Parámetros de calidad embrionaria en el grupo experimental

Variables	Grupo A	Grupo B	Valor p
	n/N (%)	n/N (%)	<0.05
Número de embriones en día 3 (n)*	7 (4-16)	10.2 (7-14)	NS
Porcentaje de embriones de buena calidad en día 3 (%) **	90.3 (85-92)	99.5 (87-100)	0.03
Promedio de fragmentación en día 3 (n) *	9.2 (6.4-12)	7.7 (5.2-10.2)	NS
Número de embriones en día 5 (n) *	5 (4-6)	10 (6-11)	0.02
Porcentaje de embriones de buena calidad en día 5 (%) **	77.3 (73-79)	90.1 (88-92)	<0.0001
Porcentaje de embriones arrestados (%) **	16.3 (15-17)	7.9 (6-9)	0.01

* Valores representados en mediana y rangos intercuartiles.
** Proporciones e IC95%. En el día 3 los embriones de buena calidad se definieron como los que tuvieron entre 6-8 células, menos de 15% de fragmentación, simetría alta o moderada y sin multinucleación; y en el día 5 se definieron como los blastocistos con masa celular interna y células del trofoectodermo bien definidas, con zona pelúcida adelgazada y adecuada expansión.

Cuadro 4. Repercusiones en la reproducción

Variables	Grupo A	Grupo B	Riesgo relativo	Valor p
	n/N (%)	n/N (%)	IC95%	<0.05
Tasa de fertilización (%) *	86.6	91.8	0.9 (0.8,1.03)	NS
Tasa de implantación (%) *	42.1	57.1	0.7 (0.3, 0.7)	NS
Tasa de embarazo clínico (%) *	60	80	0.7 (0.4, 1.1)	NS
Tasa de nacidos vivos (%) *	55	80	0.6 (0.4,1)	NS

* Valores representados en proporciones, riesgo relativo e IC95%.
La tasa de fertilización se definió como la proporción de óvulos fertilizados que desarrollaron 2 pronúcleos, sobre el total de óvulos en MII fertilizados. La tasa de implantación se definió como la proporción de sacos gestacionales observados por ultrasonido vaginal 6 semanas después de la transferencia embrionaria, sobre el número total de embriones transferidos. La tasa de embarazo clínico se definió como el porcentaje de pacientes embarazadas respecto del total de parejas que recibieron transferencia embrionaria. La tasa de nacidos vivos se definió como un parto o cesárea más allá de las 20 semanas de gestación respecto del total de parejas que recibieron transferencia embrionaria (los embarazos múltiples se consideraron evento único).

ventajas variables en los resultados después de las técnicas de reproducción asistida.

La eliminación de espermatozoides con fosfatidilserina en la capa externa de la membrana es benéfica si se combina con métodos convencionales de capacitación espermática; se eliminan los espermatozoides de baja calidad.[11] Los marcadores tempranos de apoptosis se encuentran en hombres infértiles con parámetros seminales normales (6.1%) y en quienes tienen antecedente de paternidad (5.9%).[7] Nuestros hallazgos confirman la hipótesis de que la expresión de marcadores apoptósicos en los espermatozoides no necesariamente se correlaciona con alteraciones en los parámetros seminales evaluados con técnicas convencionales.

Hoy día, la inyección intracitoplasmática de espermatozoides es la técnica de reproducción asistida que más se utiliza, representa 70-80% de los ciclos realizados. Sin embargo, durante años ha sido cuestionada la seguridad del procedimiento[14] por permitir que la fertilización tenga lugar a pesar de tener parámetros seminales anormales y ADN severamente dañado.

Aitken y Krausz señalan que el daño al ADN del espermatozoide es promutagénico y puede dar lugar a mutaciones después de la fertilización porque el ovocito intenta reparar el daño del ADN antes del inicio de la primera escisión. Las mutaciones que ocurren en este punto se fijarán en la línea germinal y pueden ser responsables de la inducción de diversas patologías.[15]

Varios informes establecen el vínculo entre la falla en el proceso de fertilización con marcadores apoptósicos en los espermatozoides.[9,13,16,17] Para evaluar el valor clínico de la aplicación de "magnetic-actived cell sorting (MACS)" Dirican y colaboradores llevaron a cabo un estudio clínico en el que compararon la técnica de capacitación espermática mediante centrifugación de gradientes de densidad *versus* la centrifugación de gradientes de densidad complementada con MACS en parejas con alteraciones espermáticas en quienes se efectuó una inyección intracitoplasmática de espermatozoides.[18] En ese estudio se reportó que no existía diferencia en la tasa de fertilización. Los resultados de ese estudio son similares a los nuestros, aunque no pueden ser comparables por tratarse de poblaciones con características diferentes. A pesar de ello puede sugerirse que los espermatozoides con defectos en la integridad de la membrana plasmática no necesariamente afectan el proceso de fertilización.[18,19] Estos resultados pueden explicarse mediante la capacidad del ovocito de reparar los daños mínimos en el ADN espermático implicados en dicho proceso.[20,21]

Un fenómeno decisivo en el desarrollo embrionario es la impronta genómica, proceso en el que los genes se regulan epigenéticamente y se expresan de acuerdo con el origen parental. Los síndromes relacionados pueden dar como resultado una patología significativa y, aunque es poco común en la población general,[22] se cree que estas afecciones ocurren con mayor frecuencia en los descendientes de progenitores infértiles.[23] En este contexto existe poca evidencia del efecto de la aplicación de MACS. Nuestros resultados sugieren que los óvulos fertilizados con espermatozoides negativos a anexina-V pueden mejorar el proceso de transición de cigoto a blastocisto, aumentar el número de embriones de buena calidad y disminuir el porcentaje de embriones arrestados. Resultados altamente relacionados con el factor masculino, derivados de los procesos generados a partir del tercer día del desarrollo embrionario en donde el espermatozoide adquiere más relevancia. A pesar de ello se necesita recurrir a la aplicación de nuevas tecnologías, como el diagnóstico genético preimplantacional para analizar la ventaja real de la aplicación de esta técnica molecular. Hasta ahora los estudios de seguimiento de niños nacidos después de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides en comparación con niños nacidos después de fertilización in vitro convencional no han sido concluyentes con los riesgos de tener problemas de salud en general.

Por último, un metanálisis efectuado en 2013 por Gil y colaboradores mostró que en parejas que reciben técnicas de reproducción asistida mediante *magnetic-actived cell sorting (MACS)* se incrementa la tasa de embarazo, sobre todo cuando se complementa con técnicas de selección espermática convencionales *swim-up* o centrifugación de gradientes de densidad.[18,19] Nuestros hallazgos coinciden con los resultados de estos estudios incluidos en el metanálisis; además, se observó un incremento en el número de nacidos vivos, resultado no evaluado en esos estudios.

CONCLUSIONES

Si bien nuestros resultados son alentadores debe tenerse en cuenta que el número de parejas evaluadas fue limitado. Al parecer, el método de selección de células activadas magnéticamente mejora los resultados reproductivos a partir de la activación genómica, momento en el que el

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i8.2149

espermatozoide adquiere un papel más importante en el desarrollo embrionario.

Agradecimiento

A todas las parejas que aceptaron participar en el estudio clínico y al personal del Instituto de Salud Reproductiva e Infertilidad, NASCERE por su ayuda.

REFERENCIAS

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Effectiveness and treatment for unexplained infertility. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.07.1475.
2. Kably A, Salazar C, Serviere C, Velázquez G, y col. Consenso Nacional Mexicano de Reproducción Asistida. Ginecol Obstet Mex 2012;80(9):581-624.
3. NICE - National Institute for Health and Clinical Excellence. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. London, UK, 2013 February, 63 p. (Clinical guideline; No. 156).
4. Wang C, Swerdloff R. Limitations of semen analysis as a test of male fertility and anticipated needs from newer tests. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.021.
5. Organización Mundial de la Salud. Manual de laboratorio de la OMS para el examen y procesamiento del ser humano, 5th ed. Ginebra: Prensa de la OMS, 2010.
6. Said TM, et al. Advantage of combining magnetic cell separation with sperm preparation techniques. https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61118-2.
7. Barroso G, et al. Mitochondrial membrane potential integrity and plasma membrane translocation of phosphatidylserine as early apoptotic markers: a comparison of two different sperm subpopulations. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.06.046.
8. De Vantéry A, et al. Removal of spermatozoa with externalized phosphatidylserine from sperm preparation in human assisted medical procreation: effects on viability, motility and mitochondrial membrane potential. https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-1.
9. Gandini L, et al. Study of apoptotic DNA fragmentation in human spermatozoa. https://doi.org/10.1093/humrep/15.4.830.
10. Said TM, et al. ANDROLOGY LAB CORNER. Utility of magnetic cell separation as a molecular sperm preparation technique. https://doi.org/10.2164/jandrol.107.003632.
11. Tavalaee M, et al. Density gradient centrifugation before or after magnetic-activated cell sorting: which technique is more useful for clinical sperm selection? https://doi.org/10.1007/s10815-011-9686-6.
12. Kruger TF, et al. Predictive value of abnormal sperm morphology in vitro fertilization. https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)59660-5.
13. Duran EH, et al. Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome: a prospective cohort study. https://doi.org/10.1093/humrep/17.12.3122.
14. Schultz RM, Williams CJ. The science of ART. DOI: 10.1126/science.1071741.
15. Aitken RJ and Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. Reproduction. 2001;122: 497-506.
16. Henkel R, et al. Influence of deoxyribonucleic acid damage on fertilization and pregnancy. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.09.044.
17. Huang CC, et al. Sperm DNA fragmentation negatively correlates with velocity and fertilization rates but might not affect pregnancy rates. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.08.042
18. Dirican E, et al. Clinical outcome of magnetic activated cell sorting of non-apoptotic spermatozoa before density gradient centrifugation for assisted reproduction. https://doi.org/10.1007/s10815-008-9250-1.
19. Gil M, Sar-Shalom V, Melendez S, Checa M, et al. Sperm selection using magnetic activated cell sorting (MACS) in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. J Assist Reprod Genet. 2013;30:479-85.
20. Romany L, et al. Removal of annexin V–positive sperm cells for intracytoplasmic sperm injection in ovum donation cycles does not improve reproductive outcome: a controlled and randomized trial in unselected males. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.09.001.
21. Meseguer M, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.05.055.
22. Odom L, Segars J. Imprinting disorders and assisted reproductive technology. doi: 10.1097/MED.0b013e32834040a3.
23. Gosden R, et al. Rare congenital disorders, imprinted genes, and assisted reproductive technology. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13592-1.