



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION
ESPERMATICA EN 85 CASOS DE EMBARAZO CON
INSEMINACION INTRAUTERINA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION
HUMANA

P R E S E N T A
DR. IVAN CHACON RENDON

ASESOR: DR. ARMANDO JUAREZ BENGOA



MEXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

**APROBACIÓN DE LA TESIS
ASESORES**

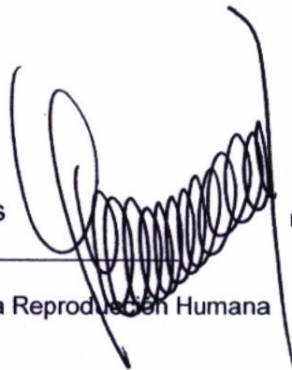
Dr. Armando Juárez Bengoa

Coordinador del Departamento de Andrología

**APROBACIÓN DE LA TESIS
DIRECTIVOS**

Dr. Gregorio Pérez-Palacios

Director General
Profesor Titular de Biología de la Reproducción Humana

A handwritten signature in black ink, consisting of a large initial 'G' followed by a series of loops and a final vertical stroke.

Dr. Ricardo Juan García Cavazos

Director de Enseñanza

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ricardo J. García C.' with a large, stylized flourish at the end.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Instituto Nacional de Perinatología
Por darme la oportunidad de completar una meta más
En mi preparación profesional,
Agradezco a todas las pacientes de la institución
Por haberme permitido brindaries mis servicios
A la vez que crecía dentro del ámbito profesional.

A mis padres, Jorge y Alma Rosa,
Por el apoyo brindado durante toda mi vida,
Y recordándoles, que siempre estaré
Agradecido todos los sacrificios realizados,
De todo corazón, muchas gracias.

Gracias Adriana, por siempre estar a mi lado,
Siempre has sido un apoyo, tanto personal como profesional.
Te amo.

Gracias a ti Xochitl por
Tu amistad y la ayuda incondicional brindada
Para la realización de este trabajo

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

INDICE

Marco Teórico	6
Concepto	6
Cambios espermáticos	8
El plasma seminal	8
El Moco cervical	9
El ambiente uterino	10
El ambiente de la salpinge	10
Citoesqueleto y capacitación espermática	10
Prolactina y capacitación	11
Movilidad en la capacitación	11
La reacción acrosomal	12
Factores quimiotácticos	12
Efecto de la capacitación espermática en Humanos	13
Capacitación <i>in vitro</i>	13
Procedimiento de swim-up	14
Método de migración-sedimentación	15
Centrifugación con gradientes de densidad	15
Filtración vidrio-lana	16
Metodología	19
Resultados	20
Discusión	41
Conclusiones	45
Referencias Bibliográficas	46

MARCO TEORICO

Concepto

La explicación sobre las observaciones hechas por Austin y Chang en 1951 de que los espermatozoides de aparentemente todos los animales mamíferos eutérios tienen que pasar un tiempo en el tracto reproductivo de la hembra antes de ser capaces de fertilizar permaneció como una incógnita en los esfuerzos por entender los mecanismos involucrados en la concepción¹. Muchos estudios desde esos primeros reportes han demostrado que el ambiente del tracto reproductivo femenino ocasiona cambios en el espermatozoide confiriéndole la capacidad de fertilización. Aunque el proceso de la capacitación se ha conocido por más de 40 años, los mecanismos moleculares involucrados aún están por aclararse². El término fue acuñado por Austin en 1952³ y conlleva un conjunto de cambios estructurales y funcionales que ocurren en el espermatozoide, empezando con la remoción de factores de estabilización adquiridos durante su estancia en el plasma seminal y finalizando con la adquisición de la capacidad de reacción con la zona pelúcida³. Estudios recientes muestran que el estado de espermatozoide capacitado es transitorio y que existe un proceso continuo de reemplazo de los espermatozoides capacitados dentro de la población total de espermatozoides². Durante los últimos 30 años se han encontrado muchos cambios moleculares e inmunológicos en la membrana plasmática del espermatozoide que lo preparan para cambios fisiológicos⁵.

La capacitación no es un evento aislado, es un proceso celular que otorga la capacidad de llevar a cabo la reacción acrosomal que posterior a los cambios de la membrana celular le permite fusionarse con el oolema y por otro lado otorga al flagelo un estado de hiperactividad mejorando su movilidad¹. Actualmente identificamos a los espermatozoides capacitados por su habilidad de llevar a cabo la reacción acrosomal². El hecho de que el estado de capacitación es transitorio contradice la creencia anterior de que dicho estado permanecía hasta el estímulo a realizar la reacción acrosomal, ahora se sabe que el estado de capacitación dura de 50 minutos a 4 horas máximo y que sólo durante esta ventana de tiempo puede llevar a cabo la reacción acrosomal si se encuentra con la zona pelúcida ó es estimulado de manera artificial². Aparentemente el espermatozoide puede ser capacitado en cualquier órgano tubular del sistema reproductivo femenino (excepto posiblemente la vagina)⁹. En algunas áreas ocupando un mayor tiempo (3 a 4 horas aproximadamente) por lo que el espermatozoide lleva a cabo la capacitación conforma avanza en el sistema reproductivo femenino⁹.

En 1951 Austin y Chang descubrieron que si los espermatozoides se introducían en las salpinges de los conejos poco antes del tiempo esperado

de ovulación muy pocos óvulos eran fertilizados, a pesar de que los óvulos de conejos permanecen fertilizables hasta 8 horas aproximadamente. En contraste se encontraban altas tasas de fertilización cuando los espermatozoides se inseminaban en la salpinx varias horas antes de la ovulación¹⁰. Otros estudio realizados en ratas mostraron que los espermatozoides colocados directamente en la cápsula ovárica después de la ovulación, al recuperarse estos óvulos durante las primeras 4 horas existía un gran porcentaje de óvulos no fertilizados. Después de este tiempo la tasa de fertilización de óvulos recuperados aumentaba rápidamente (Austin 1951)¹⁰. Tanto Austin como Chang postularon que el espermatozoide de muchas especies mamíferas necesitaba pasar algún tiempo dentro del tracto reproductivo femenino antes de adquirir la capacidad de fertilización y acuñó el término de capacitación para referirse a los cambios que sufre el espermatozoide durante este tiempo¹⁰.

Algunos años después de las observaciones realizadas por Austin y Chang se realizó la fertilización de ovocitos de conejo *in vitro* por primera vez, usando espermatozoides recuperados del útero (Dauzier 1954, Thibault 1954)¹⁰. Sin embargo no fue sino hasta casi 20 años después que se obtuvo el primer conejo por fertilización *in vitro* usando espermatozoides capacitados *in vitro* (Ogawa 1972)¹⁰. Los estudios posteriores mostraron que la fertilización *in vitro* podría dar un desarrollo normal y en un estudio realizado en 1967 en hámster 45 % de los ovocitos inseminados *in vitro* fue fertilizado y se dividió hasta la etapa de dos células; sin embargo estos ovocitos fertilizados no pudieron pasar de dicha etapa en su desarrollo. Fue hasta 1992 que el primer hámster logrado por fertilización *in vitro* nació en estudios realizados por Barnett y Bavister¹⁰.

Posteriormente en 1968 Toyoda y Chang lograron fertilizar ovocitos de rata posterior a la remoción de la zona pelúcida *in vitro*, con esperma recuperado del útero de la rata; y no fue sino hasta 1974 que lograron la fertilización y capacitación de la rata *in vitro*¹⁰. Múltiples estudios se realizaron entre 1961 a 1976 en diversos animales como gatos, cobayos y perros. La fertilización con ovocitos humanos *in vitro* fue lograda en 1969 evidenciada por la penetración espermática, emisión del cuerpo polar y formación del pro núcleo por Bavister¹⁰. Sin embargo el primer humano nacido de un embrión de fertilización *in vitro* se reportó hasta 1978¹⁰. Ellos propusieron la fertilización *in vitro* como tratamiento de infertilidad en la mujer.

Cambios espermáticos

El plasma seminal

El plasma seminal tiene efectos directos sobre la función del espermatozoide. El colesterol se encuentra en abundancia en el plasma seminal y se ha demostrado que con concentraciones del 5 al 10% se impide al espermatozoide la capacidad de llevar a cabo la reacción acrosomal cuando son estimulados de manera externa; en éstos estudios se ha mostrado que la capacidad de llevar a cabo la reacción acrosomal se recupera después de aproximadamente 24 horas de haber sido retirados de medios de cultivo con colesterol, en éstas concentraciones³. Diversos estudios concuerdan y apoyan que el colesterol es el principal inhibidor de la capacitación y otorga al espermatozoide un estado de reposo³.

Los prostasomas son vesículas de almacenaje de calcio ricas en colesterol secretadas por la glándula prostática y añadidas al plasma seminal³. En 1997 se publicó que estos prostasomas al unirse con el espermatozoide liberan al citosol el calcio almacenado³. Aunque la progesterona se conoce como un promotor del flujo de iones de calcio al interior del espermatozoide, se mostró que la respuesta a progesterona era mayor si con anterioridad los espermatozoides habían sido presentados con prostasomas, aumentando la disponibilidad del calcio intracelular³. De este modo se dice que los prostasomas son necesarios para una adecuada reacción acrosomal y capacitación mejorando la respuesta de éstos a la progesterona. Otro factor importante para la interacción del espermatozoide con el prostasoma es la presencia de un pH ligeramente ácido entre 5-6, similar al presente en la vagina en el período preovulatorio, el cual es un ambiente ideal para la interacción entre los prostasomas y los espermatozoides una vez llevada a cabo la eyacuación³. Esto permite una adecuada cantidad de calcio intracelular en el espermatozoide para el momento de tener que responder al complejo ovocito-cúmulo, el cual es un ambiente rico en progesterona³.

Existe un tripéptido similar a la hormona liberadora de tiotropinas llamado péptido promotor de fertilización presente en el plasma seminal que estimula la capacitación dentro de la primer hora de incubación; no es dependiente de la dosis y su mecanismo de acción no ha sido clarificado, sin embargo en ratones se ha demostrado que actúa en receptores unidos a proteína G y estimula a la adenilciclase regulando el AMPc por lo que se piensa que es una molécula reguladora de la capacitación³. Dentro de los cambios químicos realizados durante la capacitación se ha demostrado que existe un aumento del Ca intracelular y un aumento del AMPc⁴. Este calcio regula la actividad de varias enzimas de unión de las cuales la más importante es la calmodulina. La mayor concentración de calmodulina y

calcio se encuentra en la región acrosomal (Jones 1980)⁴. La calmodulina con el calcio pueden regular la concentración de AMPc intracelular. Sin embargo algunos análogos del AMPc o inhibidores de fosfodiesterasas pueden sobrellevar la reacción en ausencia de calcio⁴, otros estudios proponen la existencia de una vía dependiente de fosforilación de tirosina que probablemente se active al bajar los niveles de AMPc⁴. Los ROS, como el peróxido de hidrógeno, intervienen también en la regulación de la fosforilación de tirosina regulando de manera indirecta la capacitación espermática⁴.

El Moco cervical

El espermatozoide empieza a migrar desde el eyaculado a través del moco cervical aproximadamente 90 segundos después de haber sido depositado en la vagina³. El moco cervical modifica al espermatozoide promoviendo su habilidad para penetrar al ovocito y de alguna manera es un agonista de la reacción acrosomal. El contacto entre el espermatozoide y el moco cervical, de acuerdo a múltiples estudios realizados, induce reacciones de capacitación que preparan al espermatozoide para mejorar su estado de inducibilidad a la reacción acrosomal³.

Yudin en 1989 evaluó la ultra estructura del moco cervical encontrando elementos compactos de cierto grado fibrosidad que sugerían una mayor resistencia a la penetración por el espermatozoide; sin embargo, el movimiento flagelar distal de corta amplitud del espermatozoide se ve facilitado gracias a éstas fibras compactas mejorando el pasaje del espermatozoide a través del moco cervical³. Feki (2004) mostró que la migración del espermatozoide a través del moco cervical en fase ovulatoria provoca una remodelación de la membrana celular removiendo fosfolípidos y colesterol reduciendo a casi la mitad la concentración de colesterol en la membrana y pasando esta al moco cervical, el cual contiene albúmina, que es un receptor ya conocido para el colesterol³. Estos resultados junto con lo reportado por Rosselli (1990) muestran que el moco cervical contiene varias enzimas capaces de provocar cambios ultraestructurales en contenido de lípidos de la membrana plasmática³.

La vitamina E también presente en la membrana plasmática, es un protector efectivo contra el daño inducido por oxidación a los lípidos de la membrana; la concentración de ésta vitamina en el moco cervical está disminuida por lo que el espermatozoide se encuentra en un estado más vulnerable a las especies reactivas de oxígeno (ROS). Estos últimos son producidos tanto por leucocitos como por el espermatozoide y tienen un doble efecto sobre el mismo. Los espermatozoides inmaduros o disfuncionales generalmente son más afectados por los ROS y al mismo tiempo son los principales

productores de los mismos³, de tal modo que el papel de los ROS es tanto benéfico, removiendo lípidos de la membrana plasmática como dañino para aquellos espermatozoides inmaduros o disfuncionales.

El ambiente uterino

Aunado a la motilidad propia del espermatozoide, un transporte facilitado del mismo ocurre por contracciones uterinas iniciadas en la región cervical y propagadas a la región fúndica aumentadas en frecuencia e intensidad en la fase folicular³. Muchos estudios reportan la presencia de espermatozoides en la trompa de Falopio aproximadamente 10 minutos posterior al coito o a inseminación artificial vaginal³.

El ambiente de la salpíngex

Dicho micro ambiente es muy importante ya que sirve de pasaje tanto para el gameto como para el embrión en sus primeras etapas de desarrollo. Múltiples estudios muestran un mayor número de espermatozoides en la salpíngex del lado del folículo ovulatorio, sin embargo estas observaciones solo son verdaderas para la región ampular de la misma³. Los efectos de las células epiteliales de la salpíngex sobre el proceso de capacitación no han sido del todo demostrados. Hay estudios que indican que promueve la capacitación y otros estudios en donde no se ha demostrado que el cultivo con células epiteliales de salpíngex promuevan la capacitación espermática³. El cúmulo de células que rodean al ovocito es rico en esteroides y en otros factores adquiridos del líquido presente en el folículo. Este líquido folicular pasa a la salpíngex en alguna cantidad y se ha identificado en éste el péptido atrial natriurético (ANP) encontrándose en mayor cantidad en ovocitos maduros. El ANP activa las vías dependientes de guanilciclase e influye directamente en la capacidad móvil del espermatozoide y de manera concomitante actúa como quimiotáctico³.

Las modificaciones de los lípidos en la membrana plasmática modifican las propiedades que en condiciones normales mantienen un balance electroquímico. La progesterona es el esteroide presente en mayor cantidad en el líquido folicular y es secretado por las células del cúmulo. La respuesta del espermatozoide a esta progesterona es un aumento del flujo de calcio hacia el interior y una reacción acrosomal (Brown 1993)³.

Citoesqueleto y capacitación espermática

El espermatozoide se une a la zona pelúcida mediante receptores específicos localizados en la región anterior de la cabeza del espermatozoide. Filamentos de actina se han descrito presentes en la zona subacrosomal entre el núcleo y el acrosoma en desarrollo de las espermatides⁵. También se ha reportado filamentos de actina en la región

ecuatorial y posacrosomal y en el flagelo. La presencia de éstos en el flagelo es de importancia en la regulación de la motilidad espermática y su presencia sugiere su intervención en la región acrosomal⁵. En 2002 se reportó que la polimerización de la actina es un paso importante en la iniciación de la motilidad espermática⁵. Esta polimerización de la actina también es necesaria para la incorporación al citoplasma del ovocito y para la descondensación nuclear del esperma⁵. Recientemente se ha mostrado que la polimerización de la actina ocurre durante la capacitación y que su degradación debe de ocurrir para lograr la reacción acrosomal⁵. Esta actualmente aceptado que la fosforilación dependiente de tirosina de varias proteína ocurre durante la capacitación espermática; y que los ROS provocan una regulación de la fosforilación por tirosina de proteína⁵. Uno de los posibles ligandos para la fosforilación durante la capacitación espermática es el factor de crecimiento epidermal (EGF) que interactúa con su receptor y estimula la fosforilación de proteínas, activando además a la fosfolipasa C⁵.

Prolactina y capacitación

El papel de la prolactina en la capacitación espermática y la reacción acrosomal en humanos no ha sido clarificado. La prolactina se encuentra en sangre, fluido seminal, moco cervical y liquido folicular⁷. También es producida por células del estroma endometrial durante el periodo periovulatorio y su concentración puede variar dramáticamente desde cero a 20 por ng/mL, pero en moco cervical puede ser tan alta como 260 ng/mL⁷. Aunque los estudios *in vitro* de fertilización no han demostrado un efecto de la hiperprolactinemia en las tasas de división celular o de fertilización no se ha demostrado si tiene un efecto en la función espermática *in vivo*⁷. En algunos estudios en ratones el efecto de la prolactina sobre la capacitación espermática muestra que acorta el periodo de preincubación requerido para la unión a la zona pelúcida sugiriendo un acortamiento del tiempo de capacitación⁷. Se han identificado además receptores de prolactina en espermatozoides de algunos mamíferos. Sin embargo los estudios no han demostrado una asociación directa entre la prolactina y la capacitación espermática en humanos⁷.

Movilidad en la capacitación

El comportamiento de motilidad del espermatozoide eyaculado es modificado por el proceso de capacitación y transformado a un estado denominado actualmente de hiperactividad flagelar, estos cambios en el comportamiento se han descrito desde estudios realizados por Yanagimachi en 1981. Pero los primeros reportes sobre éste fenómeno datan de estudios realizados en 1970 hasta 1979 por diversos autores como Fraser, Mahi, Cooper y Lambert, y en diferentes modelos animales como el ratón, perro,

murciélago, delfín y oveja¹. La motilidad del espermatozoide tiene un papel importante en el transporte del istmo a la región ampular de la salpínge para el encuentro con la masa celular del ovocito, además de que la motilidad se ha correlacionado con la capacidad de penetración del ovocito (Frase 1981). Se ha reportado que la hiperactividad del flagelo aumenta en 20 veces la poder de salida hidrodinámico del espermatozoide¹.

La reacción acrosomal

A través de la capacitación surge la posibilidad de llevar a cabo la reacción acrosomal, la cual es indispensable para la capacidad de fertilización del espermatozoide¹. Uno de los principales participantes en esta reacción son los iones de calcio libres presentes en el tracto reproductivo femenino, descrita su importancia desde 1974¹.

La interacción del espermatozoide y la capacitación en el tracto reproductivo femenino

Las tasas de fertilización posteriores al momento de la ovulación se han reportado mayores, por lo que la coordinación del proceso de capacitación y la llegada al ovocito deben de regularse de manera más específica¹. La hiperactividad flagelar debe de durar el tiempo suficiente para que el espermatozoide llegue a la zona ampular de la salpínge, y en algunos animales mamíferos en los que se requiere un poco más de tiempo para que pueda llevarse a cabo la penetración de las capas exteriores del ovocito¹, aproximadamente unas 2 horas en promedio posterior a la capacitación. De aquí la importancia en la coordinación temporal entre la inseminación y la ovulación. En el útero, la cantidad de espermatozoides móviles es menor dado que aquí se enfrentan vulnerables a factores uterinos como globulinas, sistema de complemento, leucocitos, etc., y no pueden completar su proceso de capacitación ó realizarlo de manera más lentamente (Hunter 1969).

Factores quimiotácticos

Diversos factores foliculares son los responsables de la quimiotáxis del espermatozoide, existiendo una correlación entre éstos factores y los espermatozoides capacitados². En la actualidad, aunque algunos espermatozoides considerados como no capacitados son capaces de llevar a cabo la reacción acrosomal, se considera que el proceso de capacitación es esencial para llevar a cabo dicha reacción, además de que la respuesta a factores foliculares de quimiotáxis se considera como otra habilidad adquirida de los espermatozoides por medio de este proceso de capacitación². Esto último de acuerdo a los estudios de Cohen (1995) muestra que el porcentaje de espermatozoides capacitados en la población general de espermatozoides (2-14%) es similar al porcentaje encontrado por

factores quimiotácticos (2-12%)². Además de mostrar que tanto el estado de capacitación como de respuesta a factores quimiotácticos es transitorio y sólo aparecen 1 vez en la vida del espermatozoide y ocurren con sincronía entre ambos². Actualmente se considera que los factores quimiotácticos foliculares son una manera de reclutamiento de espermatozoides con mejores posibilidad de fertilización, ya que cuentan con el estado de capacitados, jugando estos factores un papel primordial en la fertilización *in vivo*².

Efecto de la capacitación espermática en Humanos

En un estudio publicado por Villanueva (1989) la capacitación espermática mejoró el potencial de fertilización de los espermatozoides. Se mostró una mejoría en la densidad espermática atribuible a la técnica en sí, disminución del porcentaje de células anormales e inmaduras, una mejor motilidad espermática⁸. Esta mejoría en motilidad se ve principalmente en grados 1 y 2, ya que durante el proceso de capacitación se activan algunas células vivas inmóviles y un aumento ligero en movilidad grado 3 que pudiera estar en relación a una activación en cascada de las células espermáticas menos activas⁸.

Capacitación *in Vitro*

Desde el nacimiento de Louise Brown el 25 de julio de 1978 y los avances en la reproducción asistida en el humano hasta la fecha un mayor número de hombres han mostrado una calidad seminal pobre que ha llevado a que diversos laboratorios desarrollen una gran cantidad de técnicas enfocadas a la selección y enriquecimiento de la movilidad y funcionalidad de los espermatozoides desde el eyaculado¹¹. Bajo condiciones *in vivo* los espermatozoides potencialmente fértiles son separados de los espermatozoides inmóviles, plasma seminal y restos celulares en el tracto reproductivo femenino mediante una migración activa a través del moco cervical. Durante este proceso los cambios llevados a cabo durante la capacitación son prerequisites fundamentales para la competencia funcional del espermatozoide y para que pueda llevar a cabo la reacción acrosomal¹¹. En principio, estas técnicas pueden ser divididas en migratorias, centrifugación con gradientes de densidad y técnicas de filtración¹¹. Para todos los métodos de migración, el prerequisite esencial es la movilidad del propio espermatozoide; mientras que para los de gradientes de densidad y técnicas de filtración, la metodología se basa en una combinación de la movilidad del esperma y su retención en los bordes de diferentes fases o su adherencia a matrices de filtración. Los métodos de migración pueden ser subdivididos en swim-up, swim-down y métodos de sedimentación-migración. En los métodos de gradientes de concentración inicialmente se utilizaba el medio de separación Percoll mismo que ha sido

reemplazado por productos más nuevos desde su retiro del mercado en 1996. Los métodos de filtración utilizan diferentes materiales como el filtro vidrio-lana o los sephadex-beads¹¹.

La prueba de separación espermática ideal debe de ser rápida, efectiva en costo-beneficio, capaz de aislar tantos espermatozoides móviles como sea posible, no debe causar daño al esperma, debe de eliminar espermatozoides muertos y otro tipo de células incluyendo leucocitos y bacterias, debe eliminar sustancias toxicas o bioactivas como factores de de capacitación o especies reactivas de oxígeno y debe permitir el procesamiento de grandes volúmenes de eyaculado¹¹.

Procedimiento de swim-up

La técnica swim-up, desde un botón obtenido a partir de un lavado de una muestra de semen y resuspendido es el modo de preparación espermática más viejo y mayormente usado. Fue descrito originalmente por Mahadevan y Baker¹¹. La técnica original fue utilizada por investigadores en fisiología espermática mamífera desde 1950¹². Esta es la técnica estándar para pacientes con normozoospermia e infertilidad femenina. Este método se basa en el movimiento activo del propio espermatozoide desde el botón previo al lavado hacia un medio de cultivo superior a éste. Normalmente el periodo de incubación es de 60 minutos y esta técnica se distingue por un alto porcentaje (> 90%) de espermias móviles, morfología normal alta y ausencia de otro tipo de células y de residuos. Esta técnica puede realizarse directamente del semen licuado¹¹. La migración se considera ser el equivalente funcional al proceso realizado por los espermatozoides humanos para escapar del eyaculado y colonizar el moco cervical¹². Mortimer sugiere el uso de 250 ul de semen y 500 a 600 ul de medio de cultivo por tubo. Después de un periodo de incubación que oscila entre 30 y 60 minutos a 37°C la parte mas alta del medio de cultivo es recuperada, normalmente se retira del 75 al 80% del medio de cultivo con cuidado de no interferir en la región de interfase¹¹. Otros métodos de esta técnica incluyen medios suplementados como el SpermSelect el cual es una preparación con ácido hialurónico altamente purificado¹¹. El sistema de selección espermática emplea una preparación de alta pureza de 3000kd de hialuronato de sodio a una concentración final de 1mg/ml en medio de cultivo¹². Los resultados con este medio dan un porcentaje significativamente mayor de espermatozoides móviles, comparado con el swim-up tradicional y permiten mayores tasas de embarazo¹².

Las principales desventajas del método de swim-up es que dan un concentrado final bajo, su aplicación requiere eyaculados con alta concentración espermática y movilidad, los espermatozoides pueden ser

dañados masivamente por especies reactivas de oxigeno y disminuye significativamente el porcentaje de espermatozoides normales con cromatina condensada.

Método de migración-sedimentación

Esta es una técnica mas sofisticada desarrollada por Tea y colaboradores el cual es una combinación de la técnica de swim-up con un paso de sedimentación. Se utilizan tubos de vidrio o plástico especiales que contienen un cono interno y a diferencia de la técnica estándar los espermatozoides nadan directamente de la muestra seminal al medio de cultivo y subsecuentemente se sedimentan en el cono interior dentro de la primera hora¹¹. Ésta técnica es muy gentil si se compara con métodos que requieren pasos de centrifugación como el swim-up tradicional. Se han reportaron concentraciones espermáticas suficientes aún de muestras con oligo y astenozoospermia severas que podían usarse para la inyección intracitoplasmática después de dos a tres horas de incubacion¹¹. Comparado con los gradientes de densidad se han reportado mejores resultados para la movilidad progresiva, morfología espermática normal, condensación de cromatina y una reducción del porcentaje de espermatozoides muertos determinada por la prueba de eosina. Recientemente se ha propuesto este método para muestras seminales muy pobres candidatos a ICSI¹¹.

Las ventajas de estos métodos es que reducen las especies reactivas de oxigeno, son métodos de separación muy gentiles y usualmente dan fracciones muy limpias de espermatozoides altamente móviles. Sus principales desventajas son que requieren eyaculados con alta concentración espermática y buena movilidad, que el método original tiene tasas de recuperación muy bajas, que se requieren tubos de vidrio o plástico especiales, los cuales suelen ser caros y requieren de esterilización para el uso repetido en programas de fertilización *in vitro*.

Centrifugación con gradientes de densidad

En 1970 se introdujo y comercializó el percoll (coloide de Pertoft) el cual es un coloide de sílica con una cubierta de partículas de polivinilpirrolidona (PVP). Fue la innovación dominante en el campo clínico y experimental de la preparación espermática hasta su retiro por su productor farmacéutico en 1996. Sus reemplazos actuales en el PureSper y el ISolate ideales para éste método¹². No tiene efecto osmótico cuando se añade el medio de cultivo y permite preparación de medios de alta densidad y altamente especificos de gravedad; además de ser mas un coloide que una solución por lo que su viscosidad baja, no retrasa la sedimentación de las células espermáticas¹².

La metodología típica incluye tanto gradientes continuos como discontinuos. A partir de 1980 con los reportes de Gorus y Bolton casi todas las aplicaciones clínicas se han realizado con gradientes discontinuos; generalmente se preparan de dos a tres capas aunque se han reportado métodos donde se utilizan hasta doce capas para objetivos muy específicos¹². En los gradientes continuos existe un aumento de la densidad gradual desde la parte superior hacia abajo, mientras que en los gradientes discontinuos existen capas de diferentes densidades con límites claramente visibles entre una y otra. El eyaculado se coloca en la parte superior del medio con densidad mayor y se centrifuga por 15 a 30 minutos. Durante este procedimiento todas las células alcanzan el sedimento seminal, pero sólo los espermatozoides altamente móviles se mueven activamente en la dirección del sedimento del gradiente y pueden penetrar los límites más rápido que las células inmóviles o poco móviles, por lo que los espermatozoides móviles se van a depositar en el botón del fondo del tubo¹¹.

Nycodenz, el cual se basa en el hidrocarburo iohexol cíclico desyonzado se encontró útil para crear gradientes de densidad en preparaciones espermáticas humanas y es la base de la preparación OptiPrep¹². También se ha usado para preparar estos gradientes una molécula derivada de las plantas llamada arabinogalactan bajo el nombre comercial de IsoCare (E.U.A.).

Los reemplazos del coloide de percoll usan coloides de sílica con uniones covalentes de moléculas de silane, por lo que las características coloides son equivalentes a las preparaciones de percoll, pero al ser comercializadas con un buffer inorgánico débil son preparadas en un medio de cultivo listo para usarse efectivamente como un medio isotónico¹².

Las principales ventajas de estos métodos son que generalmente dan fracciones muy limpias de espermatozoides altamente móviles, se puede utilizar eyaculados con baja densidad espermática dando buenos concentrados finales, eliminan en gran medida a los leucocitos y reducen significativamente las especies reactivas de oxígeno. Sus principales desventajas son el tiempo requerido para lograr interfases bien delimitadas entre el medio, suelen ser más caros y tienen un riesgo de daño espermático por endotoxinas.

Filtración vidrio-lana

Este proceso se describió por Paulson y Polakoski en 1977. Los espermatozoides móviles son separados de los inmóviles por matrices densamente pobladas de fibras de vidrio. El principio de esta técnica de separación reside tanto en el movimiento propio del espermatozoide, como

en el efecto filtrador de la matriz de vidrio y su éxito esta directamente ligado al tipo de matriz utilizada¹¹. Comparado con las técnicas de swim-up o de migración-sedimentación, ésta técnica utiliza todo el volumen del eyaculado y obtiene concentrados significativamente mayores respecto al número de espermatozoides móviles, por lo que se puede utilizar en pacientes con oligo o astenozoospermia. Además tiene la ventaja de que se puede realizar de manera directa sobre el eyaculado.

Esta técnica también se puede utilizar en pacientes con eyaculación retrógrada. En éstos casos el procedimiento incluye el ajustamiento de la osmolaridad de la orina del paciente a 350 mOsmol/Kg mediante la ingesta de agua. Previo a la eyaculación se le pide al paciente que orine la mayor cantidad de orina de la vejiga. La pequeña cantidad del eyaculado anterógrado se obtiene de manera regular y la fracción retrograda del eyaculado necesita ser orinada inmediatamente en un contenedor con 50 ml de medio de cultivo con albúmina humana para diluirla y finalmente la mezcla de orina y medio es centrifugada y resuspendida en 3 a 4 ml de medio fresco y se puede realizar la prueba de filtración¹¹. Dado que la orina contiene sustancias que pueden dañar al espermatozoide, la prontitud con que se realicen dichos procedimientos es mandataria.

Además estas técnicas de filtración han mostrado que eliminan hasta el 90% de los leucocitos y ser mejor en la selección de espermatozoides con cromatina condensada normal que los métodos de swim-up tradicional o de centrifugación con percoll.

El método Glass beads se ha utilizado para la capacitación de espermatozoides de hámsteres *in vitro* con resultados eficientes y un concentrado de espermatozoides móviles en humanos alto. Sin embargo, las probabilidades referentes al derramamiento de las esferas en el medio de inseminación a provocado que no sea un método ampliamente aceptado¹¹.

Las columnas de Sephadex surgieron en los primeros años de la década de los 90s y el kit de preparación comercial basado en este principio fue el SpermPrep. Comparado con los métodos de migración-sedimentación y swim-up del botón seminal producía concentraciones significativamente más altas del concentrado, pero al compararse con el método de centrifugación con percoll mostraba valores menores en cuenta espermática y morfología normal¹¹.

El método de migración transmembrana es otra alternativa de separación espermática desarrollada a finales de los 80's, en el cual se utilizaba una membrana como filtro (Nuclepore). Estos filtros son inusuales, dado que sus poros son cilíndricos, por lo tanto los espermatozoides tienen un camino recto para nadar a través de la membrana. Desafortunadamente estas membranas tienen un radio muy bajo entre el área transversal total de los poros y el área total de la membrana, por lo que su concentrado era extremadamente bajo. El método originalmente se desarrolló para probar la movilidad espermática al tratarse con varios agentes farmacológicos y no como un método de preparación para la reproducción asistida¹¹.

Las principales ventajas de estos métodos residen en su simplicidad para realizarse, normalmente recuperan espermatozoides con buena movilidad y se pueden utilizar eyaculados con baja densidad espermática; elimina en gran porcentaje los leucocitos y reduce significativamente las especies reactivas de oxígeno. Sus principales desventajas son el alto costo, el filtrado no es tan limpio como en otros métodos de separación espermática y puede haber remanentes de residuos en el concentrado¹¹.

METODOLOGIA

Se realizó un estudio retrospectivo, observacional, transversal y descriptivo. Se revisaron un total de 85 expedientes de varones atendidos en la clínica de andrología del Instituto Nacional de Perinatología que fueron sometidos a procedimientos de reproducción asistida (Inseminación Intrauterina) y que culminaron en embarazo. La información fue obtenida de los expedientes clínicos. La preparación espermática se hizo mediante el método de gradientes realizando una espermatobioscopia directa en la muestra inicial midiendo volumen total y en 10 μ g midiendo movilidad, densidad y morfología, posteriormente se realiza lavado de la muestra con medio HTF con 8% de albúmina con relación 1:1 y centrifugado a 1500 rpm por 4 minutos, posteriormente se coloca la muestra con 1 ml de isolate upper (50% de densidad) e isolate lower (90% de densidad), se obtiene el botón celular después de centrifugar la muestra de 10 a 15 minutos a 1500 rpm y se resuspende el botón celular con medio HTF con 8% de albúmina y se homogeniza la muestra. Se realiza lavado una vez mas con medio HTF con 8% de albúmina durante 4 minutos a 1500 rpm y se resuspende el botón celular a completar 0.5 cc de medio HTF con 8% de albúmina y finalmente se valora movilidad, morfología y densidad postcapacitación.

Los datos fueron concentrados en una hoja de cálculo de Microsoft Excel y analizados en ésta y en el programa SPSS for Windows versión 11. Se hizo estadística descriptiva de algunas variables clínicas como tipo de esterilidad, resolución del embarazo, edad de la mujer y el varón y la frecuencia de embarazos por edad de la mujer, así como cada una de las variables del análisis seminal antes y después de la capacitación espermática.

Además, se hizo un estudio de regresión lineal simple con cada uno de los parámetros seminales asociando sus valores pre y postcapacitación obteniendo las fórmulas respectivas.

RESULTADOS

Las parejas estudiadas presentaron una infertilidad primaria en 36 casos y secundaria en 49 de los casos, representando el 42 y 58% respectivamente.



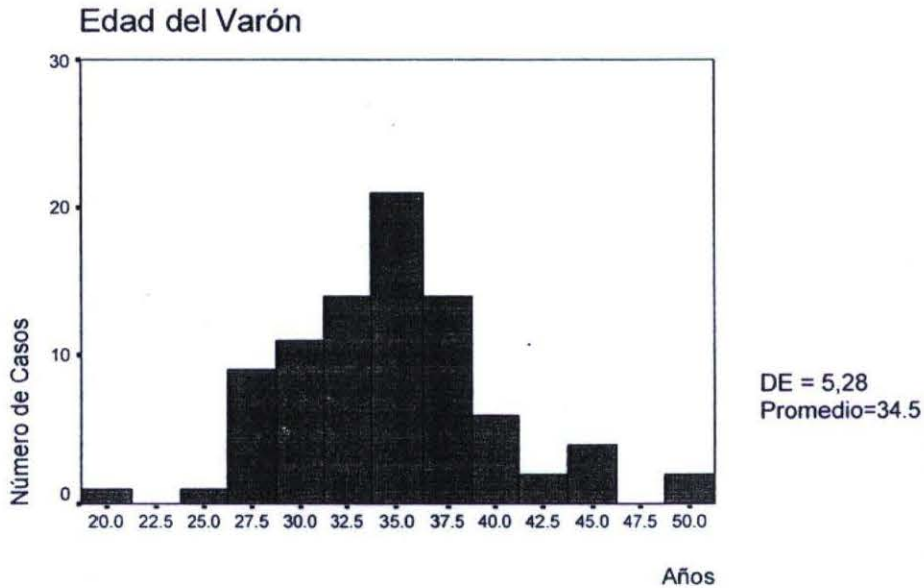
Referente a la resolución del embarazo 23 casos terminaron en aborto, 26 en partos pretérmino, 32 casos en partos de término y en 4 casos se ignora el resultado del embarazo.



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

La edad de los varones varió desde los 20 años hasta los 50 años, con una media de 34.5 y una mediana de 34 años, la desviación estándar fue de 5.28 y la distribución se puede ver en la gráfica 1.

Gráfica 1

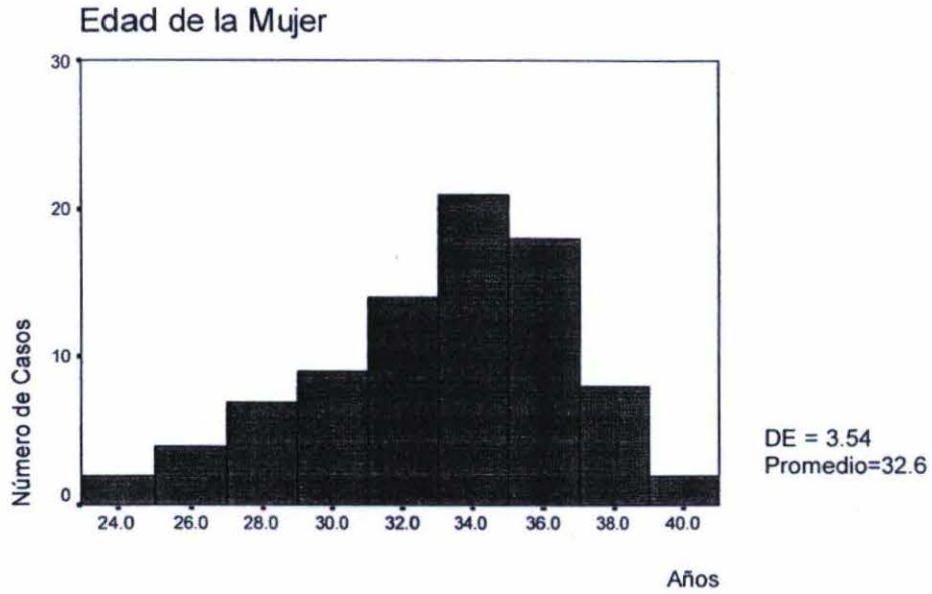


La edad de las mujeres varió desde los 23 años hasta los 39 años, con una media de 32.6 y una mediana de 34 años, la desviación estándar fue de 3.54; la distribución se puede ver en la gráfica 2.

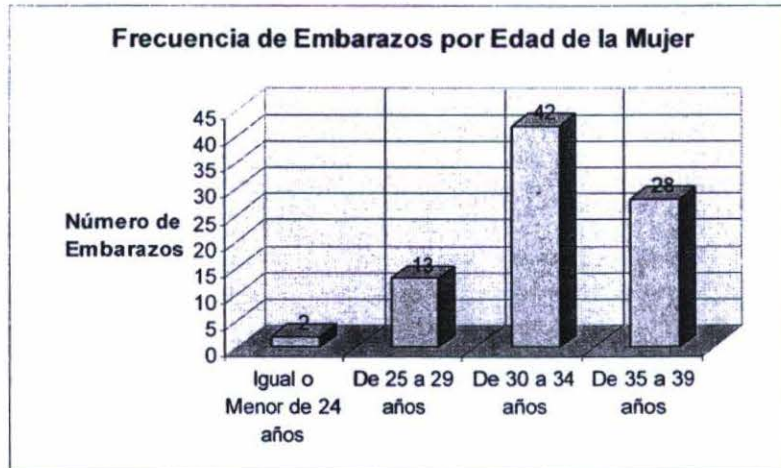
Respecto a la frecuencia con que se presentan los embarazos por clases de edad, el mayor número de embarazos se reportó cuando la mujer se encuentra entre los 30 a 39 años de edad. (Gráfica 3)

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

Gráfica 2



Gráfica 3: Número de embarazos presentes de acuerdo a la edad de la mujer.



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

Se calculó la media, mediana y desviación estándar de la concentración, movilidad, morfología, total de células móviles e índice de células recuperables. En relación al volumen, únicamente se marca el previo a la capacitación porque el volumen posterior a la capacitación es constante (0.5 cc). Los resultados se observan en la tabla 1.

Tabla 1: Medidas de tendencia central y dispersión de los valores pre y postcapacitación espermática.

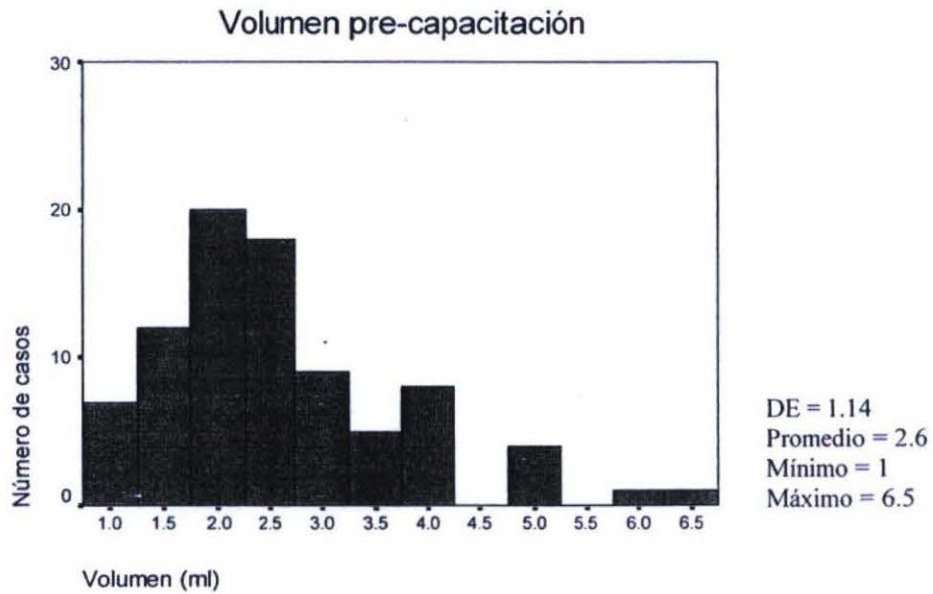
		Precapacitación	Postcapacitación
Volumen	Mediana	2.5	*
	Media	2.6	*
	DE	1.14	*
Concentración Espermática	Mediana	65	80
	Media	63.1	80.7
	DE	23.17	35
Movilidad A+B	Mediana	50	80
	Media	46.5	77.6
	DE	15.9	12.7
Morfología normal	Mediana	15	20
	Media	15.6	20.1
	DE	5.37	5.6
TCM	Mediana	66.3	30.3
	Media	79.85	32.1
	DE	57.1	16.4
ICR	Mediana	10.5	5.9
	Media	13.8	6.8
	DE	13.2	4.5

- Valores no indicados por que son constantes con volumen de 0.5 ml
- DE = desviación estándar

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

En la gráfica 4 se muestra la distribución de frecuencias del volumen precapacitación, se encontró una desviación estándar de 1.14 con un promedio de 2.6, un mínimo de 1 ml y un máximo de 6.5 ml.

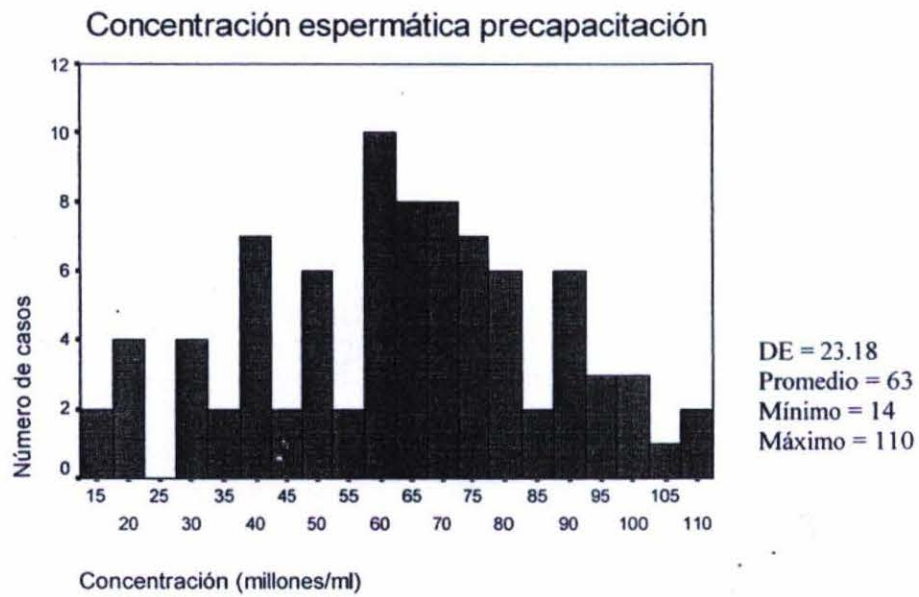
Gráfica 4



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

En la gráfica 5 se muestra la distribución de frecuencias de la concentración espermática precapacitación, se encontró una desviación estándar de 23.18 con un promedio de 6.3, un mínimo de 14 mill/ml y un máximo de 110 mill/ml.

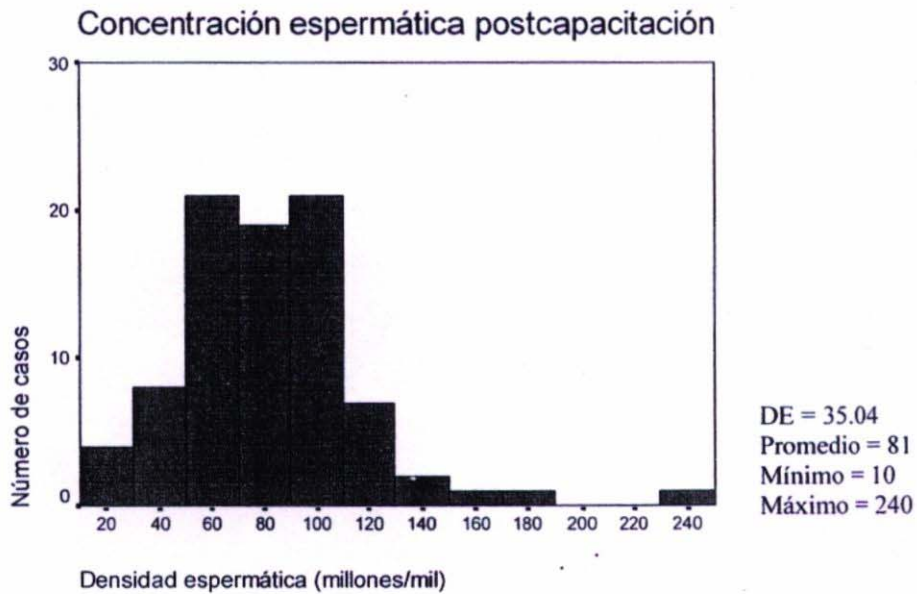
Gráfica 5



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

En la gráfica 6 se muestra la distribución de frecuencias de la concentración espermática postcapacitación, se encontró una desviación estándar de 35.04 con un promedio de 81, un mínimo de 10 mill/ml y un máximo de 240 mill/ml.

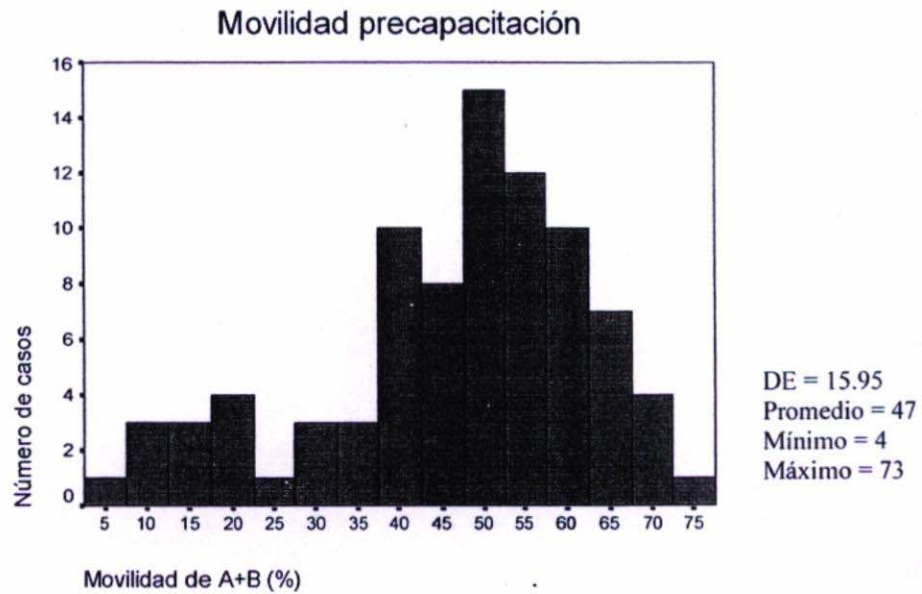
Gráfica 6



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

En la gráfica 7 se muestra la distribución de frecuencias de la movilidad espermática precapacitación, se encontró una desviación estándar de 15.95 con un promedio de 47, un mínimo de 7% y un máximo de 73%.

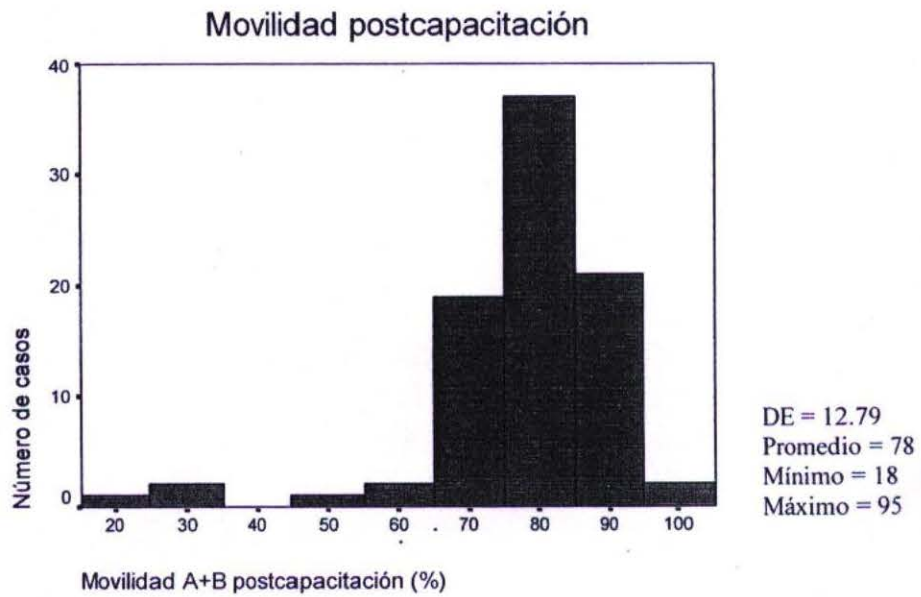
Gráfica 7



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

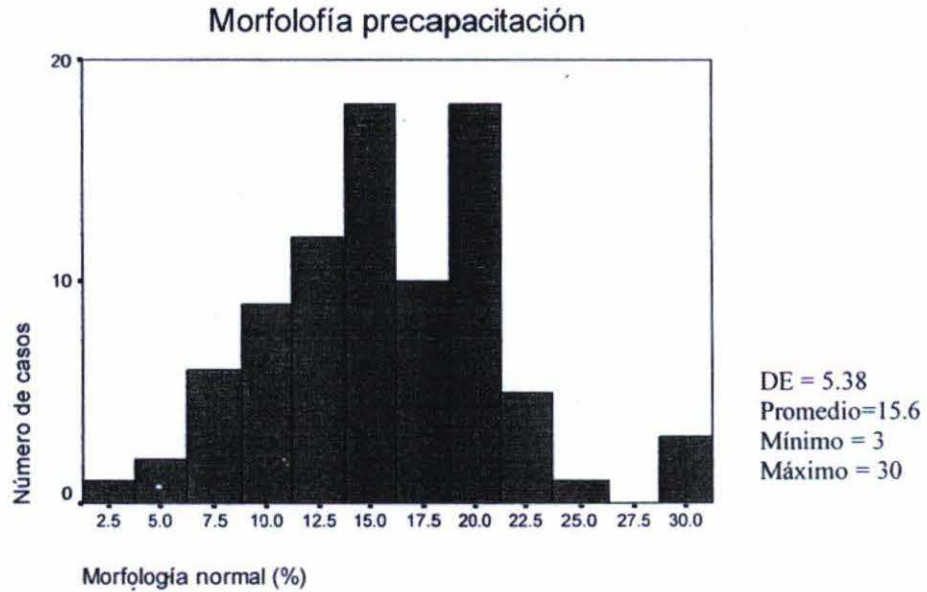
En la gráfica 8 se muestra la distribución de frecuencias de la movilidad espermática postcapacitación, se encontró una desviación estándar de 12.79 con un promedio de 78, un valor mínimo de 18% y un máximo de 95%.

Gráfica 8



En la gráfica 9 se muestra la distribución de frecuencias de la morfología espermática precapacitación, se encontró una desviación estándar de 5.38 con un promedio de 15.6, un valor mínimo de 3% y un máximo de 30%.

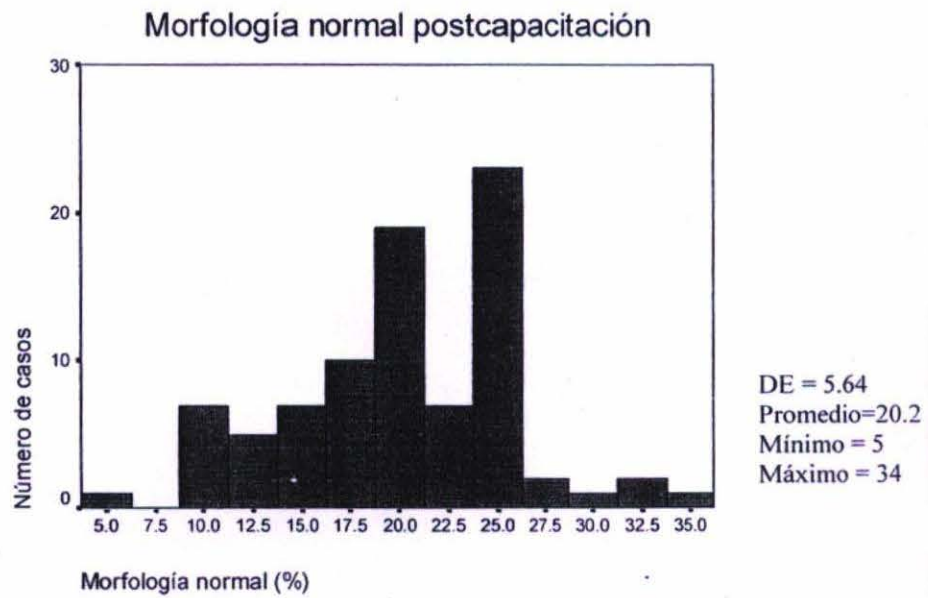
Gráfica 9



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

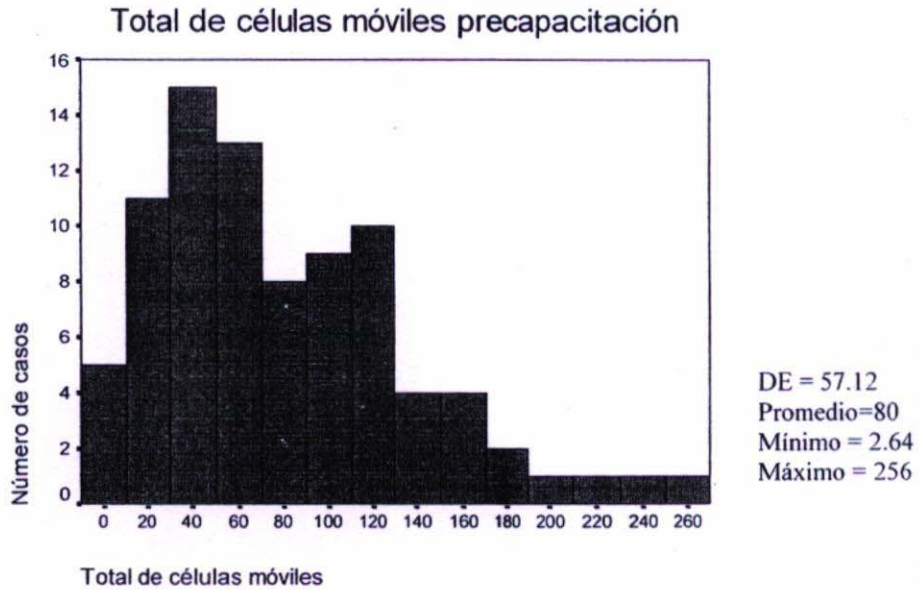
En la gráfica 10 se muestra la distribución de frecuencias de la morfología espermática postcapacitación, se encontró una desviación estándar de 5.64 con un promedio de 20.2, un valor mínimo de 5% y un máximo de 34%.

Gráfica 10



En la gráfica 11 se muestra la distribución de frecuencias del total de células móviles precapitación, se encontró una desviación estándar de 57.12 con un promedio de 80, un mínimo de 2.64 y un máximo de 256.

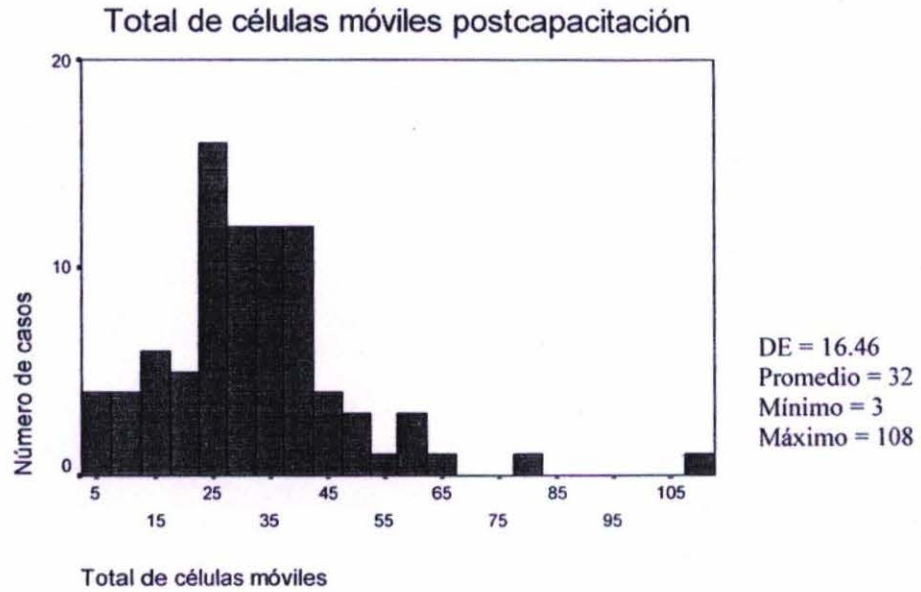
Gráfica 11



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

En la gráfica 12 se muestra la distribución de frecuencias del total de células móviles postcapacitación, se encontró una desviación estándar de 16.46 con un promedio de 32, un mínimo de 3 y un máximo de 108.

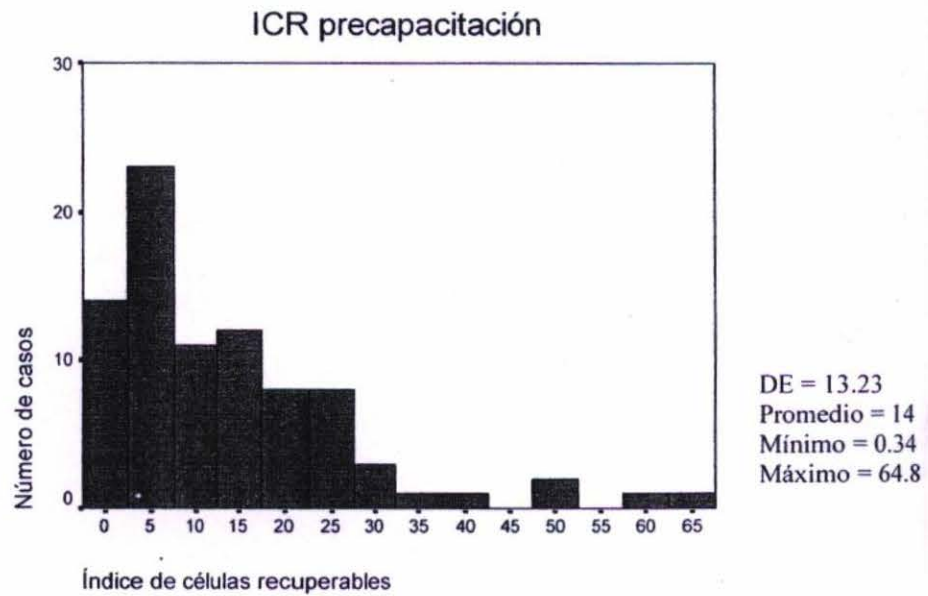
Gráfica 12



ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

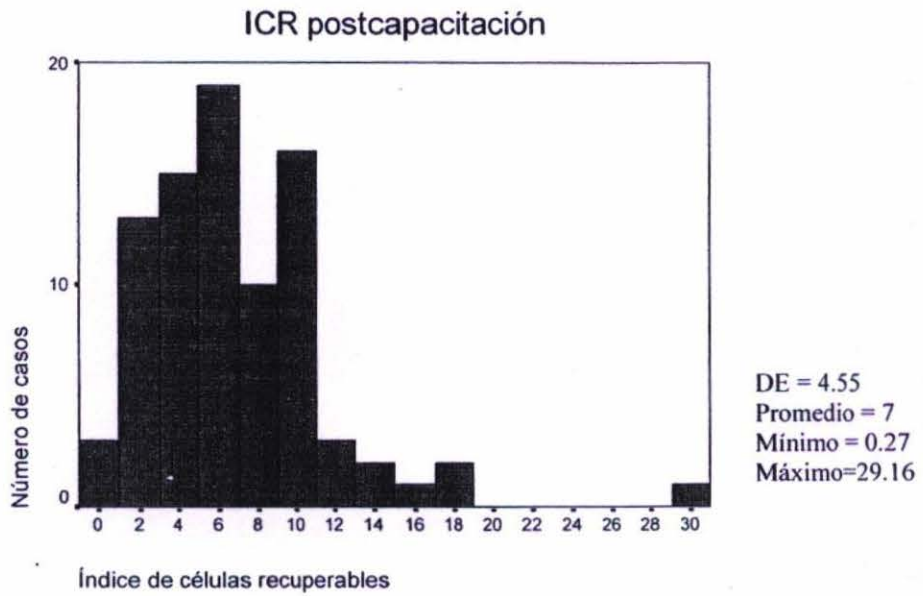
En la gráfica 13 se muestra la distribución de frecuencias de índice de células recuperables precapacitación, se encontró una desviación estándar de 13.23 con un promedio de 14, un valor mínimo de 0.34 y un máximo de 68.8.

Gráfica 13



En la gráfica 14 se muestra la distribución de frecuencias de índice de células recuperables postcapacitación, se encontró una desviación estándar de 4.55 con un promedio de 7, un valor mínimo de 0.27 y un máximo de 29.16.

Gráfica 14

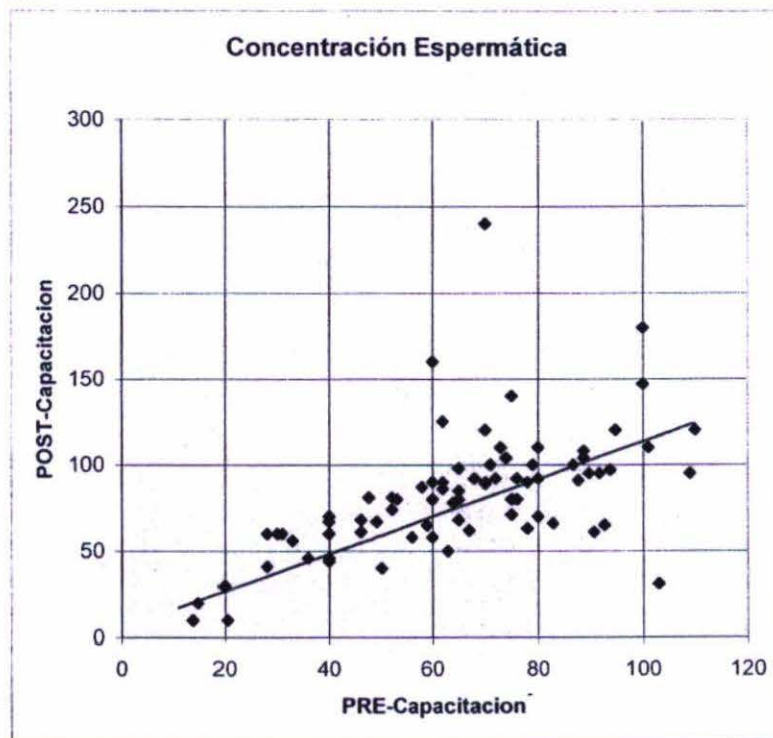


ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

A continuación se muestra la relación gráfica de los valores postcapitación en relación al valor precapitación por medio de gráficas de dispersión y se hizo un análisis de regresión lineal simple.

En la gráfica 15 se muestra la distribución de los valores postcapitación en relación al valor precapitación de la concentración espermática y la representación gráfica de la fórmula de la regresión lineal.

Gráfica 15



La ecuación de la regresión lineal se muestra a continuación:

$$y = 23.6 + 0.90 x$$

donde

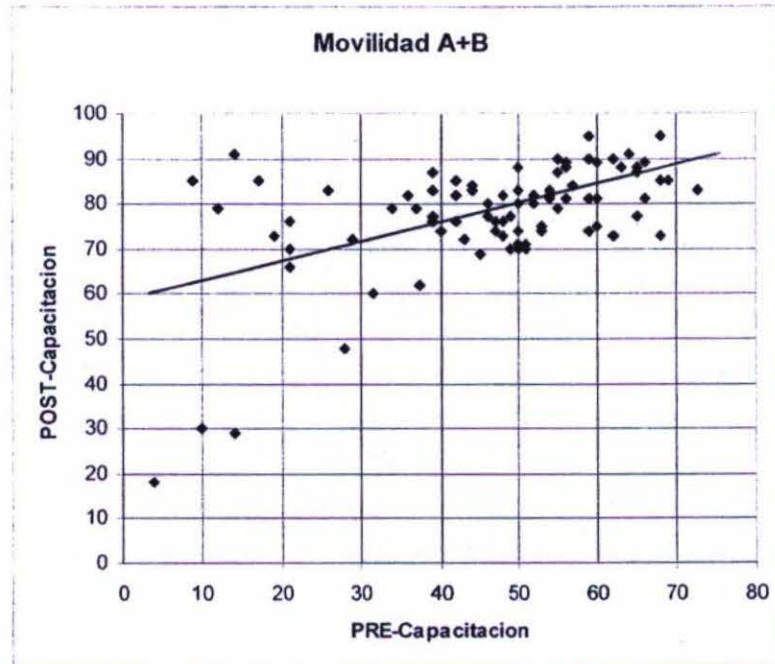
y = concentración espermática postcapitación

x = concentración espermática precapitación

La relación entre las 2 variables resultó ser significativamente estadística ($p < 0.05$)

En la gráfica 16 se muestra la distribución de los valores postcapacitación en relación al valor precapacitación de la movilidad progresiva espermática y la representación gráfica de la fórmula de la regresión lineal.

Gráfica 16



La ecuación de la regresión lineal se muestra a continuación:

$$y = 57.29 + 0.43 x$$

donde,

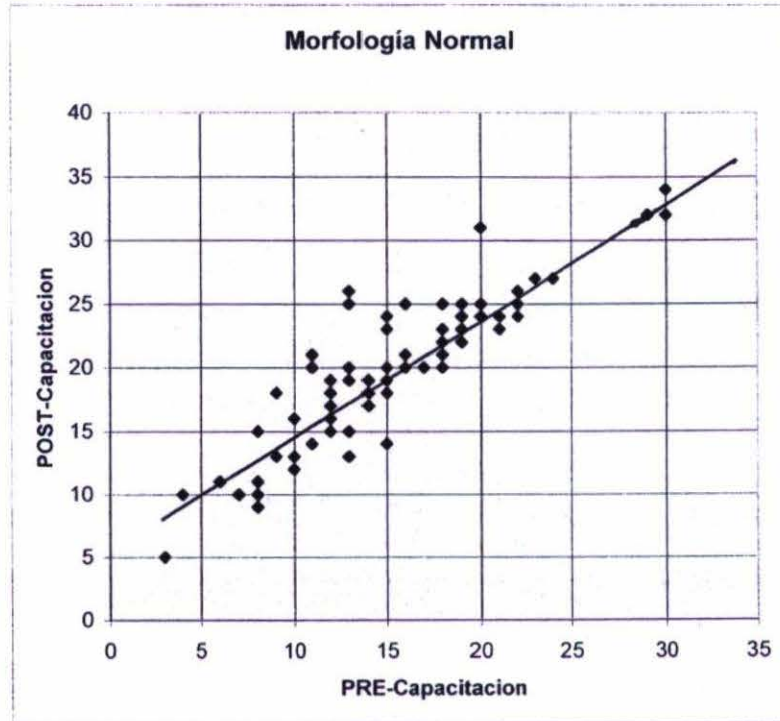
y = movilidad progresiva espermática postcapacitación

x = movilidad progresiva espermática precapacitación

La relación entre las 2 variables resultó ser significativamente estadística ($p < 0.05$)

En la gráfica 17 se muestra la distribución de los valores postcapacitación en relación al valor precapacitación de la morfología normal espermática y la representación gráfica de la fórmula de la regresión lineal.

Gráfica 17



La ecuación de la regresión lineal se muestra a continuación:

$$y = 5.41 + 0.94 x$$

donde,

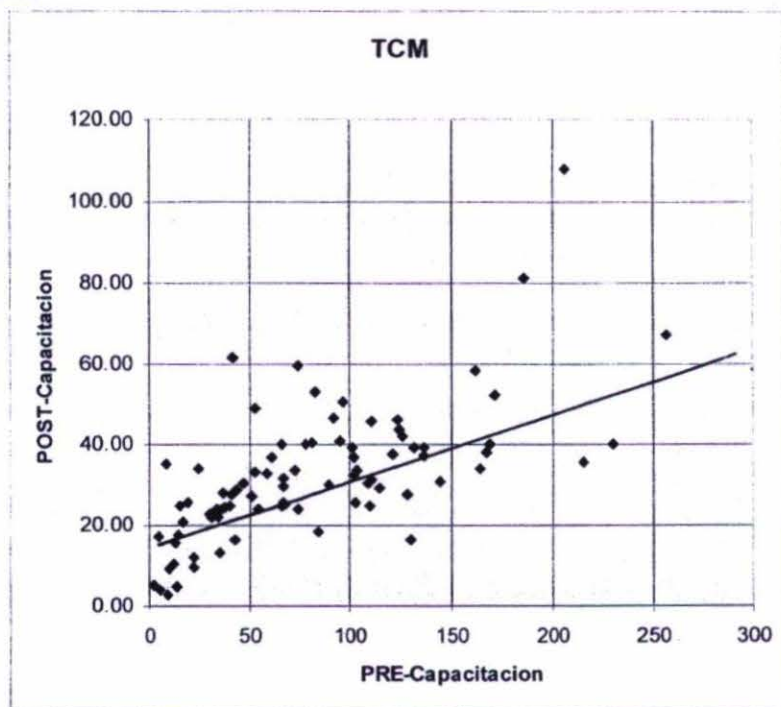
y = morfología normal espermática postcapacitación

x = morfología normal espermática precapacitación

La relación entre las 2 variables resultó ser significativamente estadística ($p < 0.05$)

En la gráfica 18 se muestra la distribución de los valores postcapacitación en relación al valor precapacitación del total de células móviles y la representación gráfica de la fórmula de la regresión lineal.

Gráfica 18



La ecuación de la regresión lineal se muestra a continuación:

$$y = 16.94 + 0.19 x$$

donde,

y = TCM* postcapacitación

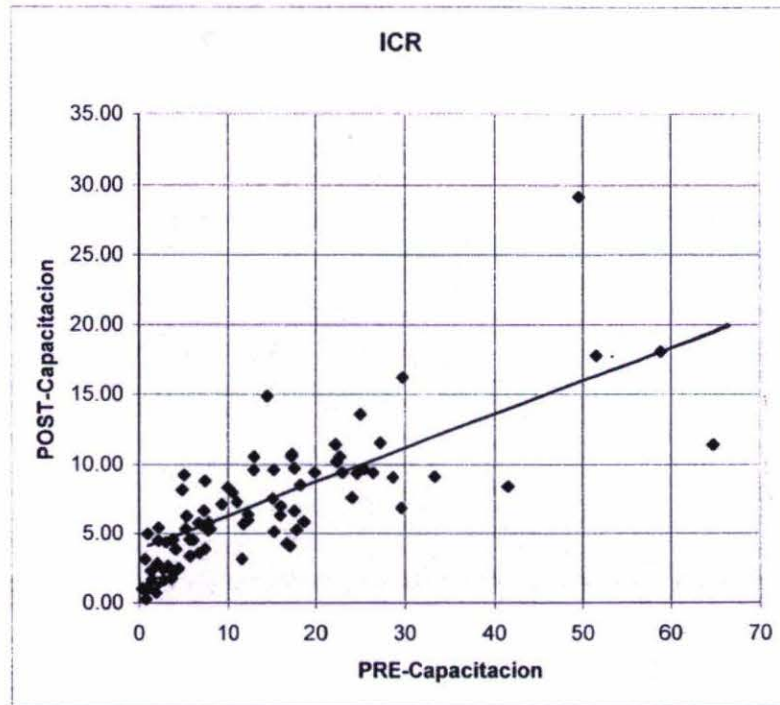
x = TCM* precapacitación

La relación entre las 2 variables resultó ser significativamente estadística ($p < 0.05$)

* TCM = total de células móviles

En la gráfica 19 se muestra la distribución de los valores postcapacitación en relación al valor precapacitación del índice de células recuperables y la representación gráfica de la fórmula de la regresión lineal.

Gráfica 19



La ecuación de la regresión lineal se muestra a continuación:

$$y = 3.11 + 0.26 x$$

donde,

y = ICR* postcapacitación

x = ICR* precapacitación

La relación entre las 2 variables resultó ser significativamente estadística ($p < 0.05$)

* ICR = Índice de células recuperables

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACITACION ESPERMATICA EN 85 CASOS DE
EMBARAZO CON INSEMINACION INTRAUTERINA

La siguiente tabla muestra el rango de valores encontrados para cada parámetro del análisis seminal (mínimo-máximo) tanto en la muestra precapacitación como en la postcapacitación. (Tabla 3)

Tabla 3: Rangos de los valores seminales pre y postcapacitación.

	Precapacitación	Postcapacitación
	<i>Rango</i>	<i>Rango</i>
Volumen (ml)	1 - 6.5	0.5
Concentración espermática (mill/ml)	14 - 110	10 - 240
Movilidad A+B (%)	4 - 73	18 - 95
Morfología Normal (%)	3 - 30	5 - 34
TCM	2.64 - 256	3 - 108
ICR	0.34 - 64.8	0.27 - 29.16

TCM = Total de células móviles, ICR = Índice de células recuperables.

DISCUSIÓN

Desde que se empezaron a realizar los estudios sobre la fertilización *in vivo* e *in Vitro* en la década de los cincuentas, se demostró la importancia de ciertos procesos que ocurren dentro del tracto reproductivo femenino que modifican al espermatozoide otorgándole la capacidad de fertilizar al ovocito, mediante el proceso denominado capacitación.

El conocimiento de estos procesos y la evaluación en el laboratorio de la capacitación espermática, pueden orientar a establecer un pronóstico de embarazo en las parejas con infertilidad. Los estudios de este tipo pueden ayudarnos a tomar decisiones clínicas, a cambiar de tratamientos de reproducción asistida para mejorar el pronóstico y la probabilidad de embarazo en éstas parejas.

La Inseminación intrauterina se basa en el principio de acercar un mayor número de espermatozoides al fondo uterino y las salpinges, sobrepasando los mecanismos de filtración del cervix²⁹. En condiciones normales se ha reportado que sólo el 10% de los espermatozoides depositado en la vagina alcanzan un sitio cercano al ovocito y posteriormente pueden fertilizar, y es aquí donde la inseminación intrauterina muestra un gran beneficio al acercar un mayor número de espermatozoides móviles al fondo uterino, donde se ha reportado pueden durar de 12 a 24 horas aumentando la ventana de probabilidad de fertilización²⁹. El momento en que se realice la inseminación es también un factor muy importante para el éxito del procedimiento; se ha reportado que la ovulación ocurre de 34 a 36 horas posteriores al inicio del aumento de la LH en sangre.

En nuestro estudio no ocurrieron embarazos cuando la mujer era mayor de 39 años por lo que éstas pacientes tampoco serían candidatas a tratamientos con inseminaciones intrauterinas. La mayoría de los embarazos se dio en mujeres entre los 30 y 37 años.

El volumen mínimo encontrado en nuestro estudio con el que ocurrió embarazo fue de 1 ml.

Al analizar valores del análisis seminal precapitación se han reportado tasas de embarazo superiores al 8.2% hasta un 12.9% cuando la densidad espermática es mayor a 5 millones/mililitro, la morfología normal mayor a 3%, el TCM mayor a 25 millones, y no se han reportado embarazos cuando los valores iniciales son menores a 2 millones/mililitro en densidad, TCM menor a 5.5 millones, Movilidad grados A+B menor a 17% y morfología

normal menor a 6%. En los rangos intermedios se han reportado tasas de embarazo de aproximadamente 3.6%³².

En nuestro estudio se encontró embarazo con una densidad espermática mínima precapacitación de 14 millones/ml y postcapacitación de 10 millones/ml.

La movilidad espermática progresiva ha mostrado embarazos en muy pocas ocasiones cuando se encuentra en valores menores a 40% en el análisis postcapacitación³⁰. Aumenta la tasa de éxito por ciclo hasta un 9.7% cuando se encuentra sobre éste valor.

En nuestro estudio la movilidad progresiva mínima precapacitación con la que se logró embarazo fue de 4% y postcapacitación de 18%.

Referente a la morfología se han reportado tasas de embarazo de 12.69% con morfología normal igual o mayor al 70% precapacitación, y 15.08% cuando la morfología normal precapacitación es igual o menor al 20%, no encontrando diferencias significativas³¹, en éste estudio se reportó una tasa de fecundidad por ciclo del 11.3% cuando la morfología normal precapacitación era menor al 30%. En los valores postcapacitación espermática, se han reportado tasa de embarazo diferentes cuando se comparan en subgrupos de acuerdo al total de células móviles, de tal manera que con morfología normal menor al 30% y con TCM menores de 5 millones la tasa de embarazo es del 5.4% y con TCM mayores o iguales a 5 millones la tasa de embarazo aumenta hasta un 18.42%³¹. Cuando la morfología normal es mayor del 30%, el TCM parece no influir de manera significativa en las tasas de embarazo, reportándose cuando el TCM es menor a 5 millones una tasa de embarazo por ciclo de 19.6% y con TCM mayores o igual a 5 millones la tasa de embarazo por ciclo de 15.09%³¹. De manera general se reporta que con morfología normal arriba del 30% postcapacitación tiene una tasa de embarazo por ciclo del 8.65%³¹. Cuando se realizan estudios con valoración de morfología con criterios estrictos de Kruger se reportan las mejores tasas de embarazo cuando ésta es mayor al 14%, y las peores tasas de embarazo cuando se encuentra en valores menores a 4%, con tasas de embarazo del 15% y 7% respectivamente²⁹. En estos estudios realizados con morfología de Kruger, la valoración con éstos criterios no mostró una utilidad predicativa cuando se valora de manera aislada.

En nuestro estudio el valor mínimo asociado a embarazo fue de 3% precapacitación y de 5% postcapacitación siendo nuestros valores mas bajos los necesarios para que ocurran tasas de embarazo aceptables a los reportados en la literatura.

Se han publicado los valores pre y postcapacitación del análisis seminal y se ha buscado una relación con las tasas de embarazo. Estos parámetros se han utilizado para normar conductas en relación a los valores predictivos de embarazo. Uno de los parámetros más estudiados y que se ha tratado de asociar al éxito de la inseminación intrauterina ha sido el total de células móviles y se ha reportado que valores menores a 2 millones presentan tasas de embarazo menores al 5%²⁹, y que con valores menores a 1 millón se obtienen tasas de fecundidad por ciclo de 2.6% hasta un 3.13%³¹ aumentando las tasas de éxito conforme se mejora la cantidad de células móviles hasta una meseta alcanzada con valores de 10 millones de células móviles³⁰ con tasas de fecundidad por ciclo de 11.6%, aunque algunos reportan la meseta con valores desde 4 hasta 6 millones de células móviles en valores postcapacitación³⁰. De manera general estos estudios proponen que con valores menores a 1 millón de células móviles se realice una fertilización *in Vitro* como tratamiento de primera elección³¹.

En este estudio encontramos un total de células móviles precapacitación de 2.64 a 256 y postcapacitación de 3 a 108. En comparación a lo reportado en la literatura, nuestro valor mínimo con el que se encontró embarazo es ligeramente mayor al valor de 1 comúnmente reportado como índice mínimo para lograr el embarazo.

En nuestro estudio el valor del total de células móviles mínimos con el que se encontró embarazo fue de 2.64 precapacitación y de 3 postcapacitación.

Respecto a los valores del índice de células recuperables precapacitación el valor mínimo fue de 0.34 y de 0.27 (precapacitación y postcapacitación) para que se presentara el embarazo.

Los resultados encontrados en éste estudio son cercanos en algunos parámetros a los reportados en algunos trabajos, aunque difieren de otros. En general las diferencias entre los diversos estudios pueden ser ocasionadas a múltiples factores que van desde la variación interobservador del evaluador, el tipo de población en la que fueron estudiados estos valores, factores predisponente genéticos y aspectos técnicos referentes al procedimiento de inseminación intrauterina realizado, sin dejar de lado, las diferencias propias en el éxito de la técnica dependientes de los factores femeninos presentes.

Los valores encontrados en este análisis pueden ser aplicados para recomendar o descartar la inseminación como tratamiento de la infertilidad.

La mayoría de los reportes asocian los valores seminales postcapacitación con la concepción del embarazo, pero muy pocos prestan atención a los valores previos porque se modifican por el procedimiento de la capacitación *in vitro*. Sin embargo, como puede observarse en las gráficas, hay una relación lineal entre los valores seminales antes y después de la capacitación espermática, hecho que se demostró estadísticamente.

Si bien la relación lineal de cada parámetro estudiado puede tener diferentes límites de confianza, la asociación lineal calculada puede utilizarse como medida predictiva del resultado postcapacitación y éste a su vez, con la probabilidad de embarazo. Lo que clínicamente puede traducirse como la posibilidad de adelantar un pronóstico desde el momento mismo de observar una espermatobioscopía directa si el laboratorio cuenta con un control de calidad adecuado.

Es importante realizar estudios con poblaciones más grandes de pacientes para que los resultados sean más confiables al tener distribuciones normales y encontrar la verdadera correlación entre los valores pre y postcapacitación de la espermatobioscopía pudiendo establecer puntos de corte para los diversos tratamientos de reproducción asistida basados en las probabilidades de embarazo y éxito en casos donde el factor masculino se encuentre alterado.

CONCLUSIONES

Desde que se descubrieron algunos de los fenómenos asociados a la fertilización en la década de los cincuenta, quedó demostrada la importancia del proceso de la capacitación espermática para lograr la fertilización. La realización de procedimientos *in vitro* que favorecen los cambios espermáticos similares a los que ocurren durante la capacitación espermática cada día han cobrado mayor importancia. Actualmente la capacitación espermática *in vitro* es un requisito indispensable en los procesos de reproducción asistida.

De nuestro estudio podemos concluir respecto a los valores seminales precapacitación que los valores mínimos para lograr un embarazo mediante la inseminación intrauterina incluyen un volumen de 1 ml, una densidad espermática de 14 millones/ml, una movilidad progresiva de 4% y una morfología normal del 3%. Una vez capacitada la muestra seminal, los valores mínimos con lo que se logra el embarazo incluyen una densidad espermática de 10 mill/ml, una movilidad progresiva de 18% y una morfología normal del 5%. Otro factor importante encontrado para el éxito de la inseminación intrauterina es la edad de la mujer, la cual no debe de sobrepasar los 39 años.

En el presente estudio se observó una relación lineal entre los valores pre y postcapacitación del análisis seminal, estadísticamente significativa. Dada la correlación encontrada entre los valores pre y postcapacitación del análisis seminal es posible utilizar las ecuaciones de la regresión lineal para predecir los valores postcapacitación del análisis seminal y a su vez predecir la probabilidad de éxito en la inseminación intrauterina.

Los hallazgos en el presente estudio demuestran la relación entre el examen seminal pre y postcapacitación y su aplicabilidad en la población con infertilidad que acude al Instituto Nacional de Perinatología.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA.

1. Bedford J., Significance of the Need for Sperm Capacitation Before Fertilization in Eutherian Mammals, *Biology of Reproduction*, 1983,28, pp. 108-120.
2. Cohen-Dayag A., Tur-Kaspa I., Dor J., Mashiach S., Eisenbach M., Sperm capacitation in humans is transient and correlates with chemotactic responsiveness to follicular factors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995, vol.92, pp. 11039-11043.
3. De Jorge C., Biological basis for human capacitation, *Human Reproduction Update*, 2005, vol.11 (3) pp. 205-214.
4. Leclerc P., Lamirande E., Gagnon C., Interaction Between Ca²⁺, cyclic 3,5 adenosine monophosphate, the superoxide anion, and tyrosine phosphorylation pathways in the regulation of human sperm capacitation, *Journal of Andrology*, 1998, vol.19 (4), pp. 434-443.
5. Breitbart H., Cohen G., Rubinstein S., Role of actin cytoskeleton in mammalian sperm capacitation and the acrosome reaction, *Society for Reproduction and Fertility*, 2005, 129, pp. 263-268.
6. Chang M., The meaning of sperm capacitation a historical perspective, *Journal Andrology* 1984, 5, pp. 45-50
7. Stovall, D., Schabanowitz R., The effects of prolactin on human sperm capacitation and acrosome reaction, *Fertility and Sterility* 1992, vol. 56 (5) pp. 960-966.
8. Villanueva C., Suárez M., Diaz M., Ayala A., Impacto de la capacitación espermática en las diferentes poblaciones de espermatozoides humanos, *Ginecología y Obstetricia de México*, 1989, 57, pp. 52-55.
9. Zaneveld L., De Jorge C., Anderson R., Mack S., Human sperm capacitation and the acrosome reaction, *Human reproduction* 1991, vol. 6 (9), pp. 1265-1274.
10. Bavister B., Early history of in vitro fertilization, *Reproduction* 2002, 124, pp. 181-196.
11. Henkel R., Schill W., Sperm preparation for ART, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2003, 1: 108.
12. Mortimer D., Sperm Preparation Methods, *Journal of Andrology* 2000, vol. 21 (3) pp. 357-366.
13. Laflamme J., Akoum A., Leclerc P., Induction of human sperm capacitation and protein tyrosine phosphorylation by endometrial cells and interleukin-6, *Molecular Human Reproduction* 2005, vol.11 (2) pp. 141-150

14. Parinaud J., Milhet P., Vieitez G., Richoilley G., Human sperm capacitation and in vitro fertilization in a chemically defined and protein-free medium SMART1, *Human Reproduction* 1998, vol.3 (9) pp. 2579-2582.
15. Lambert H., Overstreet J., Morales P., Hanson F., Yanagimachi R., sperm capacitation in the human female reproductive tract, *Fertility and Sterility* 1985, vol.43 (2) pp. 325-327.
16. Jhonson A., Syms A., Lipshultz L., Smith R., Conditions influencing human sperm capacitation and penetration of zona-free hamster ova, *Fertility and Sterility* 1984, vol. 41 (4) pp.603-608.
17. Furuya S., Endo Y., Osumi K., Oba M., Suzuki S., Effects of modulators of protein kinase C on human sperm capacitation, *Fertility and Sterility* 1993, vol. 59 (6) pp.1285-1290.
18. Sher G., Knutzen V., Stratton C., Montakhab M., Allenson S., In vitro sperm capacitation and transcervical intrauterine insemination for the treatment of refractory infertility: Phase I, *Fertility and Sterility* 1984, vol 41 (2) pp. 264.
19. Soupart P., Morgenstern L., Human sperm capacitation and *in vitro* fertilization, *Fertility and Sterility* 1973, vol. 24 (6) pp.462-478.
20. Mack S., Tash J., Wolf D., Human sperm capacitation in gelatin-fortified medium, *Fertility and Sterility* 1989, vol. 52 (6) pp. 1074-1076.
21. De Jonge C., Mack S., Zaneveld, Synchronous Assay for Human sperm capacitation and the acrosome reaction, *Journal of Andrology*, 1989 239.vol 10 (3)
22. Visconti P., Galantino-Homer H., Moore G., Bailey J., Ning X., Fornes M., et al. The molecular basis of sperm capacitation, *Jornal of Andrology* 1998, vol. 19 (2) pp. 242-248.
23. Zini A., Lamirande E., Gagnon C., Low levels of nitric oxide promote human sperm capacitation *in vitro*, *Journal of Andrology* q995, vol. 16 (5) pp. 424-431.
24. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. José Remohi, Ana Cobo, Joseph LLuis Romero, Antonio Pellicer, Carlos Simon. Segunda Edición, 2005. Editorial Mc Graw Hill. Página 283-286.
25. Atención Integral de la Infertilidad, Endocrinología, cirugía y reproducción asistida. Efraín Pérez Peña, 2002, Editorial Mc Graw Hill. Página 349-385.
26. Textbook of Reproductive Medicine, Bruce R. Carr, Richard E. Blackwell, Segunda Edición, 1998, Editorial Appleton & Lange, página 549-564.
27. Normas y Procedimientos de Ginecología y Obstetricia 2002, INPerIER.

28. WHO MANUAL for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male. Patrick J. Rowe et al, 2000, Ed. Cambridge University Press.
29. Guy E. Ringler, Richard P. Marrs, A. Sotone A., Intrauterine insemination for the treatment of male factor infertility, *Male infertility* 1999, vol. 10 (3) pp. 555-567.
30. M. Hovath Peter, Bohrer Michael, M. Shelden Robert, Kemmann Ekkehard, The relationship of sperm parameters to cycle fecundity in superovulated women undergoing intrauterine insemination, *Fertility and Sterility* 1989, vol. 52 (2) pp. 288-294.
31. Wainer Rober, Albert Martine, Dorion Agnes, Bailly Marc, Bergere Marianne, Lombroso Raoul, et al, Influence of the number of motile spermatozoa inseminated and of their morphology on success of intrauterine insemination, *Human reproduction* 2004, vol. 19 (9) pp. 2060-2065.
32. P. Dickey Richard, Pyrzak Roman, Y. Lu Peter, N. Taylor Steven, H. Rye Philip, Comparison of the sperm quality necessary for successful intrauterine insemination with World Health Organization threshold values for normal sperm, *Fertility and Sterility* 1999, vol. 71 (4) pp. 684-689.

