



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**



**TÍTULO**

**IMPACTO DE LA CONGELACIÓN DE SEMEN EN RESULTADOS DE FIV**

**PROTOCOLO DE TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**SUBESPECIALISTA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

**PRESENTA:**

**DR: JESÚS ARNULFO ROIZ CASTRO**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. JULIO CESAR ROSALES DE LEON  
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

**MONTERREY, NUEVO LEÓN. A 10 DE FEBRERO DEL 2021.**



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.

## **Hoja frontal**

### **Índice**

Resumen.....	3
Antecedentes.....	4
Marco Teórico.....	6
Justificación.....	9
Planteamiento del Problema.....	10
Objetivos.....	11
Hipótesis.....	11
Material y Métodos.....	12
<b>a.</b> Diseño del Estudio.....	12
<b>b.</b> Población y Muestra.....	12
<b>c.</b> Técnica de Muestreo.....	12
<b>d.</b> Método de Selección de Pacientes.....	12
<b>e.</b> Grupo de Estudio.....	12
<b>f.</b> Criterios de Selección.....	13
<b>g.</b> Metodología.....	14
<b>h.</b> Análisis Estadístico.....	17
Aspectos Éticos.....	18
Descripción General del Estudio.....	18
Resultados.....	19
Discusión.....	30
Conclusiones.....	33
Recursos.....	33
Bibliografía.....	34
Anexos.....	37

## **RESUMEN**

“Impacto de la congelación de semen en resultados de FIV.”

Roiz Castro J, Rosales de Leon J.

**Antecedentes:** Aunque los espermatozoides humanos se han criopreservado con éxito desde 1949, el uso de semen criopreservado no se generalizó hasta la década de 1980.<sup>4</sup> El reciente aumento dramático en su uso ha sido provocado por una serie de múltiples factores. El uso de espermatozoides de donante es una parte integral de la fertilización in vitro y transferencia de embriones (FIV-ET) en parejas con infertilidad masculina y en mujeres solteras. Es bien sabido que la inseminación intrauterina con espermatozoides criopreservados da como resultado una tasa de embarazo más baja en comparación con el espermatozoides fresco, pero muchos estudios han demostrado que las tasas de fertilización y embarazo para ICSI usando espermatozoides criopreservados son similares a las de ICSI usando espermatozoides recién obtenidos.<sup>4</sup>

**Objetivo:** Determinar si el uso de espermatozoides criopreservados afecta los resultados de fertilización In-Vitro.

**Material y Métodos:** Se llevó a cabo un estudio retrospectivo de cohorte comparativo transversal. El muestreo se realizó en pacientes que acudieron al centro de fertilidad IECH Monterrey, en un periodo del 2018 al 2020, que fueron sometidos a tratamiento de alta complejidad con muestras de semen criopreservado, comparando con aquellos que realizaron procedimientos con muestras de semen fresco dentro de los rangos normales.

**Aspectos éticos:** Basado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, nuestra investigación se considera como de riesgo mínimo.

**Palabras clave:** criopreservación, muestra donante, reproducción humana asistida

## ANTECEDENTES

En 1776, cuando Lázaro Spallanzani, sacerdote y fisiólogo italiano, informó por primera vez que los espermatozoides se volvían inmóviles cuando se enfriaban con la nieve, surgió el interés por el almacenamiento y la criopreservación de espermatozoides. No fue hasta 1866 que Montegazza sugirió que “un hombre que muere en el campo de batalla puede engendrar un heredero legal con su semen congelado y almacenado en casa ”.<sup>6</sup>

Muchos observadores a finales de la década de 1930 y principios de 1940, descubrieron que los espermatozoides podrían sobrevivir a la congelación a temperaturas inferiores a 321 ° F (-160 ° C). Sin embargo, esta supervivencia que se veía fue limitada en ausencia de un crioprotector como el glicerol. Cuando estos crioprotectores fueron descubiertos, los estudios de criopreservación de esperma se aceleraron en los campos de la medicina animal y veterinaria. Las tasas de concepción a partir de esperma descongelado promediaron el 65% en las vacas. Manteniendo esta tasa sin cambios durante los últimos 30 años. <sup>4</sup>

Se informó del primer embarazo humano con esperma congelado en 1953.<sup>4</sup> Debido a que se produjeron mejoras y avances en relación a la técnica de criopreservación. Una técnica práctica y exitosa, demostrando que los espermatozoides humanos, después de ser congelados y almacenados en hielo seco (-78 ° C), fueron capaces de fertilizar y dar un posterior desarrollo de la progenie normal.<sup>9</sup> Empero a la controversia moral y legal al uso de la inseminación artificial, no fue hasta el XI Congreso Internacional de Genética en 1963 que se informó de este avance, creando así un interés en el banco de esperma humano. <sup>4</sup>

Los principios básicos de la técnica refinada desde 1953 han demostrado ser adecuados para el establecimiento de criobancos clínicos, que durante los últimos 30 años se han producido varias mejoras que han dado como resultado una descendencia normal y saludable en varias partes del mundo.<sup>8,9</sup>

La introducción en 1963 de un método para congelar el semen humano, en vapor de nitrógeno líquido y su almacenamiento a -196 °C, fue seguida por informes donde se obtuvieron productos normales sin alteraciones.<sup>5</sup>

El almacenamiento en nitrógeno líquido (-384°F / -196°C) agregando al medio, extensores que contienen crioprotectores se ha convertido en el estándar, teniendo como funciones principales:

1. Optimizar la presión osmótica y el pH
2. Proporcionar una fuente de energía para evitar el uso indeseable de fosfolípidos espermáticos intracelulares
3. Prevenir la contaminación bacteriana al incluir un antibiótico

4. Permitir la dilución del semen mientras se contrarrestan los efectos nocivos sobre la supervivencia producida por una alta dilución.

Actualmente, las soluciones de crioprotectores utilizadas se han estandarizado y están disponibles comercialmente. Además, se han implementado diferentes técnicas y mecanismos de criopreservación con la finalidad de mejorar los resultados y disminuir el daño ocasionado en los espermatozoides. Por ejemplo, los congeladores de velocidad controlada programables, están contruidos para mantener la temperatura de manera precisa y uniforme en toda la cámara, y así pueden usarse para congelar muestras de manera reproducible. Asimismo la implementación de criopreservación rápida y ultrarrápida ha permitido mejorar la calidad de las muestras post descongelación.<sup>38</sup>

Los procedimientos de congelación y descongelación satisfactorios garantizan que se mantenga la integridad estructural y las propiedades funcionales de las células. Existe la creencia que la manipulación del esperma pudiera generar un impacto negativo en los resultados de Fertilización In Vitro (FIV) aun cuando el esperma congelado y descongelado presenta adecuadas características, lo cual se piensa que puede ser causado debido al daño intracelular, principal fuente de daño celular durante el proceso.

Las tasas más bajas de concepción de espermatozoides criopreservados se han atribuido principalmente a una menor capacidad de fertilización y una vida útil más corta. Hay informes de que el daño a la ultraestructura de la cabeza del esperma, el daño al sistema metabólico del esperma, lleva a una menor motilidad progresiva, y daño pronunciado de la membrana que resulta en una fuga prematura del acrosoma y se relaciona con el resultado de la inseminación.<sup>4, 28, 29</sup> No obstante, la criopreservación del semen humano no solo pudiera causar daño en diferentes niveles celulares, sino que también tiene un efecto dependiente del tiempo a nivel del citoesqueleto del esperma.<sup>28</sup> Otros estudios han informado que la congelación del esperma de donante a largo plazo no afectó la integridad del ADN, ni la concentración de la motilidad progresiva. A diferencia del crioalmacenamiento a corto plazo, esta última puede afectar la integridad del ADN.<sup>29</sup>

Se ha considerado que la concentración de motilidad progresiva es la referencia más importante para evaluar la tasa de embarazo de las técnicas de reproducción con donante de esperma congelado.

## MARCO TEÓRICO

Aunque los espermatozoides humanos se han criopreservado con éxito desde 1949, el uso de semen criopreservado no se generalizó hasta la década de 1980. El reciente aumento en su uso ha sido provocado por una serie de factores: el refinamiento de las técnicas de criopreservación, los principales avances en las tecnologías de reproducción asistida, la necesidad de poner en cuarentena muestras libres de enfermedades, la conveniencia y accesibilidad asociada con el semen criopreservado, y el importante aumento en el número de parejas infértiles y la voluntad de estas parejas para abordar sus problemas de infertilidad.<sup>4</sup>

Es bien sabido que la inseminación intrauterina con espermatozoides criopreservados da como resultado una tasa de embarazo más baja en comparación con el espermatozoides fresco, pero muchos estudios han demostrado que las tasas de fertilización y embarazo para Inyección Intracitoplasmática (ICSI) usando espermatozoides criopreservados son similares a las de ICSI usando espermatozoides recién obtenidos.<sup>4</sup>

En 1990, Mahmood Morshedi, Ph.D. y col. en Howard y Georgeanna Jones Instituto de Medicina Reproductiva, Facultad de Medicina de Virginia Oriental, evaluaron los resultados de FIV en 54 ciclos utilizando semen criopreservado y descongelado de donantes fértiles. Los controles fueron pacientes de FIV emparejados por período de tiempo, edad femenina, protocolo de estimulación, número de pre embriones transferidos y ausencia de un factor masculino utilizando muestras de semen normal recién eyaculado. En el grupo de estudio y los controles, respectivamente, la motilidad progresiva posterior a la descongelación fue de 83.1% y el 89.5%; la tasa de fertilización de los ovocitos preovulatorios (91.8%, 95.7%) y la tasa de embarazo en curso por transferencia (21.1%, 25%) fueron similares. La excelente tasa de fertilización con semen congelado y descongelado se logró mediante inseminación de alta concentración ( $0.5 \times 10^6$  espermatozoides móviles / mL). Con el uso de muestras congeladas y descongeladas de hombres infértiles (muestras normales y subfértiles), la tasa de embarazo en curso fue similar pero la tasa de fertilización fue menor. Concluyeron que el semen criopreservado es una opción valiosa para las parejas infértiles en la terapia de FIV.<sup>4, 26, 27</sup>

La fertilización in vitro con espermatozoides de donante (FIV-D) es un modelo útil para estudiar el impacto que tiene la criopreservación en la capacidad de fertilización de los espermatozoides. La FIV-D en comparación con la inseminación artificial con espermatozoides de donante (AID), ofrece la posibilidad de observar directamente el proceso de fertilización en una gran cantidad de ovocitos. Sin embargo, debido a que la motilidad de las muestras de espermatozoides congeladas y

descongeladas suele ser baja, la preparación para la FIV conduce con frecuencia a recuentos preocupantes de muestras con motilidad baja. Debido a los recientes avances en reproducción asistida, se pueden utilizar con éxito cuentas bajas de motilidad espermática, incluso espermatozoides inmóviles pero viables para la fertilización de ovocitos mediante ICSI.<sup>6</sup>

En el 2007 en Centros médicos académicos y privados, Edson Borges Jr y col. evaluaron las tasas de fertilización, implantación y embarazo en pacientes sometidos a ICSI utilizando esperma fresco y criopreservado de muestras de semen eyaculado, el cual se publicó en *Fertility and Sterility*. Durante el estudio se realizaron 61 ciclos de ICSI con espermatozoides criopreservados y 79 ciclos de ICSI con espermatozoides frescos. Además, dividieron los resultados según las características del semen, normozoospermia, oligozoospermia, astenozoospermia y oligoastenozoospermia. Las tasas de fertilización normal fueron más altas con esperma fresco (73.8%) en comparación con esperma criopreservado (68.7%). Los ciclos realizados en pacientes con normozoospermia u oligozoospermia tuvieron tasas similares de fertilización, implantación y embarazo utilizando esperma fresco o criopreservado. Cuando se utilizaron muestras de semen astenozoospermia y oligoastenozoospermia, la tasa de fertilización normal fue mayor con espermatozoides frescos en comparación con espermatozoides criopreservados. Sin embargo, las tasas de implantación y embarazo fueron similares en muestras de esperma fresco y criopreservado de pacientes con astenozoospermia u oligoastenozoospermia.<sup>10</sup>

Más recientemente en el 2020, publicado en *Fertility and Sterility*, Colleen Miller, MD y col. en Mayo Clinic Rochester. Compararon los resultados de los ciclos de FIV usando método ICSI de ovocitos congelados cuando se utilizan espermatozoides frescos versus congelados para la inseminación. Los ovocitos se seleccionaron de uno de los dos bancos comerciales de óvulos y se utilizó esperma fresco o congelado para ICSI. El resultado primario analizado fue la tasa de nacidos vivos. Los resultados secundarios incluyeron la tasa de fertilización, la tasa de desarrollo de blastocistos y la tasa de embarazo clínico. Un total de 52 pacientes se sometieron a una transferencia de embriones después de una FIV de ovocitos de donantes congelados con ciclo de ICSI. De los 45 pacientes incluidos, la edad media fue de 40.5 años. 26 pacientes utilizaron esperma fresco y 19 pacientes utilizaron esperma congelado. No se observaron diferencias entre los grupos con respecto al diagnóstico de infertilidad, el uso de un banco específico, la edad media del paciente (41.5 frente a 39.7 años), la edad media de la pareja en el momento de la recolección de la muestra (39.1 frente a 39.8 años), la mediana de CTM en semen (92.1 frente a 101.1 millones), o morfología promedio de los espermatozoides (9.3% frente a 7.3%). Con respecto a los resultados, no se observaron diferencias entre los

espermatozoides congelados versus los frescos en la media de fertilización, media de blastocisto o embarazo clínico.<sup>1</sup>

Hasta hace poco, no había suficiente información disponible en la literatura y no había evidencia concluyente sobre la capacidad de fertilización de los espermatozoides después de la congelación y descongelación en comparación con los espermatozoides frescos. En algunos estudios clínicos, los espermatozoides congelados y descongelados tuvieron una menor capacidad de fertilización en comparación con los espermatozoides frescos.<sup>14,15</sup> Sin embargo, en otros estudios no se observaron diferencias significativas entre el esperma congelado y descongelado, en comparación con el esperma en fresco.<sup>16,17</sup> La morfología de los espermatozoides se analizó en algunos estudios. En la mayoría de los casos, se encontró que la morfología de los espermatozoides no se ve afectada por los procesos de congelación y descongelación.<sup>18,20</sup> Sin embargo, el vínculo entre la calidad del esperma después de los procedimientos de congelación y descongelación y su capacidad de fertilización aún no se ha establecido bien.

## **JUSTIFICACIÓN**

Debido a la importancia que tienen las muestras criopreservadas en la actualidad y su elevado uso en los tratamientos de alta complejidad. Nos enfocamos en observar los resultados del impacto que tiene el uso de muestras congeladas de donantes en los tratamientos de alta complejidad, que se realizaron en un periodo comprendido del 2018 al 2020, en el Centro de Fertilidad IECH, donde se comparó con muestras en fresco normal.

Nuestro método si puede resolver lo que otros estudios no han podido ya que en el Centro de Fertilidad IECH contamos con la infraestructura, materiales y muestras heterólogas de buena calidad, además de un número suficiente de pacientes con muestra de esperma en fresco normal para comparar y conocer el impacto real que tienen las muestras congeladas en óvulos de buena calidad y encontrar una respuesta significativa en resultados de FIV.

Con el objetivo de poder aportar y brindar a nuestros pacientes la mejor información acerca de las posibilidades que hay al utilizar muestras criopreservadas en tratamientos de reproducción asistida compleja.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La infertilidad es un problema mundial que afecta a las parejas en edad de procrear. Es una de las tres principales enfermedades que afectan la vida y la salud humana. El desarrollo social y económico ha llevado a cambios en el concepto de matrimonio y maternidad. La edad reproductiva de las mujeres ha aumentado y su capacidad reproductiva está disminuyendo. De esta forma, se incrementa el factor masculino, y como resultado, la pareja encuentra problemas que pueden recibir un tratamiento avanzado, como la donación de gametos.

El potencial de fertilización de los espermatozoides criopreservados y descongelados se ha estudiado durante más de 50 años.<sup>12-13</sup> El uso de espermatozoides de donante es una parte integral de los procedimientos de fertilización in vitro y transferencia de embriones (FIV-ET) en parejas con infertilidad masculina y en mujeres solteras. La congelación de espermatozoides de donante, realza la importancia de definir la calidad y la capacidad de fertilización de los espermatozoides, siguiendo procesos de congelación y descongelación.<sup>11</sup>

Sin embargo, el vínculo entre la calidad del espermatozoides después de los procedimientos de congelación y descongelación y su capacidad de fertilización aún no se ha establecido bien.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es:

**Determinar si la criopreservación de espermatozoides afecta negativamente los resultados en los tratamientos de FIV- ICSI en el Centro de Fertilidad IECH**

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Principal**

Determinar si la criopreservación de esperma afecta negativamente los resultados en los tratamientos de Reproducción Asistida Compleja

### **Objetivos Secundarios**

- Analizar el porcentaje de fertilización, implantación, transferencia embrionaria, congelación de embriones.
- Conocer los resultados de beta positiva en las pacientes manejadas con estas células.
- Comparar la cantidad de blastocisto obtenido de estas dos técnicas.

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis Nula.**

Determinar si la criopreservación de esperma afecta positivamente los resultados en los tratamientos de Reproducción Asistida Compleja

### **Hipótesis Alterna.**

Determinar si la criopreservación de esperma no afecta los resultados en los tratamientos de Reproducción Asistida Compleja.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Diseño del estudio**

#### **Clasificación del estudio:**

Observacional

#### **Tipo de investigación:**

Retrospectivo, cohorte

#### **Características del estudio:**

Comparativo Transversal

### **Población y muestra**

Lugar donde se realizará el estudio: Se recabará información de pacientes que acudieron al centro de fertilidad IECH Monterrey, que se les realizó tratamientos de alta complejidad con muestras de espermatozoides vitrificados comparado con aquellos que se realizó con muestras en fresco de espermatozoides normales durante el periodo comprendido del año 2018 al 2020.

**Técnica de muestreo:** No probabilístico por conveniencia.

#### **Método de selección de los participantes:**

La totalidad de los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión serán admitidos en el presente protocolo. Del expediente de cada uno de ellos serán obtenidas las variables descritas en el mismo y también de la base de datos con que cuenta el laboratorio del centro de fertilidad IECH. Los datos obtenidos serán concentrados en hoja de cálculo del programa Excel generada para este propósito.

#### **Grupos de estudio.**

La totalidad de las pacientes se dividieron en 2 grupos principales:

- 1.- Utilizaron muestra heteróloga criopreservada.
- 2.- Utilizaron muestra homóloga en fresco en rangos normales.

Posteriormente estos dos se subdividieron en 4 grupos más, según los gametos utilizados para realizar el tratamiento de alta complejidad, así como se estudió por grupo de edad.

- ❖ **Grupo 1:** Pacientes en las cuales para su tratamiento de reproducción asistida compleja se utilizó muestras de esperma criopreservado con óvulos homólogos.
- ❖ **Grupo 2:** Pacientes en las que se utilizó óvulos homólogos y muestras de esperma homólogo en fresco, con factor masculino normal para llevar su tratamiento de alta complejidad.
- ❖ **Grupo 3:** Pacientes en las que se llevó su tratamiento de alta complejidad con óvulos donados en fresco y esperma criopreservado.
- ❖ **Grupo 4:** Pacientes en las cuales se trabajó con óvulos donados en fresco, con muestra de esperma homólogo en fresco, con factor masculino normal
- ❖ **Subgrupos:** Se dividió a las pacientes por grupos de edad;
  - <35a
  - >35a - 40a

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **Criterios de Inclusión**

- Pacientes ingresados a los protocolos de FIV/ICSI con muestra congelada
- Muestras en fresco con factor normal
- Ciclo de Terapia de reproducción del 2018 - 2020

### **Criterios de Exclusión**

- Edad de la mujer mayor a 40 años
- Pacientes que abandonen su manejo por parte del Centro
- Pacientes que cambien de ciudad

### **Criterios de eliminación**

- Registros donde no se encuentre resultados post tratamiento

## METODOLOGÍA

Se realizó el presente estudio retrospectivo entre los pacientes que fueron sometidos a ciclos de FIV/ICSI en el centro de fertilidad IECH, Monterrey, N.L., durante un período de 3 años desde 2018 hasta 2020, para las cuales se utilizó muestras de esperma criopreservado y se comparó con las muestras en fresco de semen en rango normal.

Se incluyeron un total de 225 pacientes de los cuales 93 pacientes corresponden al grupo donde se utilizó muestra de esperma criopreservado y 132 pacientes al grupo que utilizaron muestra de esperma homóloga en rangos normales. Se realizó un análisis entre estos dos grupos, posteriormente, los pacientes se clasificaron en; **Grupo 1:** Pacientes en las cuales para su tratamiento de reproducción asistida compleja se utilizó muestras de esperma criopreservado con óvulos homólogos. **Grupo 2:** Pacientes en las que se utilizó óvulos homólogos y muestras de esperma homólogo en fresco, con factor masculino normal para llevar su tratamiento de alta complejidad. **Grupo 3:** Pacientes en las que se llevó su tratamiento de alta complejidad con óvulos donados en fresco y esperma criopreservado. **Grupo 4:** Pacientes en las cuales se trabajó con óvulos donados en fresco, con muestra de esperma homólogo en fresco, con factor masculino normal. Un **subgrupo final:** En todos los grupos se dividió a las pacientes por grupos de edad, menores de 35 años, y de 35 años a 40 años. Se excluyó a todas las pacientes mayores de 40 años, a las que abandonaron el estudio por motivos personales o profesionales.

Se utilizaron espermatozoides congelados y descongelados de donantes fértiles para la fertilización. Los donantes habían sido seleccionados y examinados de acuerdo con las pautas de la American Fertility Society.<sup>9</sup> Las indicaciones para el uso de semen de donantes incluían azoospermia, oligoastenoteratozoospermia extrema y pacientes solteras.

Los resultados se compararon con los de los controles, emparejados, para eliminar factores de confusión en la interpretación de los resultados. Los ovocitos se inseminaron con semen recién eyaculado. Para minimizar la variabilidad entre los grupos y reducir el efecto de la calidad de los ovocitos en las tasas de fertilización y tasa de embarazo (RP), solo se incluyeron en el estudio ovocitos en metafase II en el momento de la recuperación.

## **Procedimientos de Fertilización In-vitro**

La estimulación ovárica consistió en el uso de gonadotropinas recombinantes o urinarias dependiendo de la indicación médica, los parámetros hormonales, antropométricos, experiencia médica, ajustándose de acuerdo a la respuesta folicular individual, variando la dosis desde 75 UI hasta 450 UI al día. Exámenes mediante ultrasonido vaginal como parte del seguimiento y monitoreo folicular fueron realizados en día 6 para administración de antagonistas de hormona liberadora de gonadotropinas (Cetrotide), evitando que se dé la ovulación por la estimulación múltiple de la cohorte folicular. Manejando los protocolos Lubek o Francés según las características de la paciente y experiencia médica. Los protocolos que se realizaron a pacientes donadoras se llevaron con agonistas en fase lútea tardía del ciclo previo (gonapeptyl), con el mismo objetivo de llevar una cohorte folicular más controlada evitando la ovulación durante la estimulación. Bajo ultrasonido vaginal se realizó seguimiento folicular y monitoreo. Además, con ayuda de estos monitoreos se determinó el tiempo para la administración de gonadotropina coriónica humana (hCG) para maduración ovocitaria y la recuperación de ovocitos.

### **Aspiración Folicular**

Los ovocitos se recuperaron mediante el enfoque transvaginal guiado por ultrasonido 34 a 36 horas después de la administración de HCG (Ovidrel, Choragon, Agonista-Gonapeptyl). Los complejos cumulo-corona-ovocito (CCO), se examinaron bajo el microscopio estereoscopio y se puntuaron para determinar el estado de maduración de acuerdo con los criterios de Veeck. Posteriormente se incubaron a una temperatura de 37 °C y 6.5% de CO<sub>2</sub>.

### **Inseminación y Transferencia**

La inseminación de los ovocitos se realizó de 3 a 4 horas post aspiración folicular. Para la FIV convencional se colocaron de 8,000 a 14, 000 espermatozoides por óvulo. La ICSI se llevó a cabo inyectando un espermatozoide en el citoplasma de los óvulos, los cuales fueron previamente decumulados con hialuronidasa al 10%.

### **Evaluación Embrionaria**

Se evaluó la fertilización tras la observación de dos pronúcleos de 16 a 18 horas post inseminación. Posteriormente se observó la división y calidad embrionaria cada 24 horas, hasta alcanzar 120 horas, en la mayoría de los casos, y realizar la transferencia embrionaria.

### **Transferencia Embrionaria**

El número de embriones transferidos y día de transferencia se determinó de acuerdo a la edad de la paciente, número de embriones obtenidos, calidad embrionaria, así como posibilidades de implantación y riesgo de embarazo múltiple.

Las transferencias se realizaron vía vaginal con guía ecográfica abdominal, utilizando catéter Sydney, Fridman y Soft pass, tratando de colocar a los embriones a 1 cm del fondo uterino.

Posterior a la transferencia, generalmente las pacientes se mantuvieron por 1 hora en decúbito supino, y aconsejando reposo relativo por 24 horas.

### **Comprobación de embarazo, FCF.**

Se realizó prueba de embarazo mediante cuantificación de B-gonadotropina coriónica 12-15 días posterior al día de la transferencia. A partir de dos semanas posterior a la prueba positiva, se agenda una cita para realizar ultrasonido vaginal donde se confirmaba la presencia y número de saco gestacional y frecuencia cardíaca fetal presente.

## **Técnicas de Análisis Estadístico**

### **Análisis Iniciales**

Se determinarán valores de tendencia central, desviación estándar, análisis de normalidad e histogramas de frecuencia para variables cuantitativas. Se determinarán proporción de frecuencia, porcentaje con relación al total de entradas además de proporción de frecuencia para escalas al estudiar variables categóricas. Se examinará la distribución de los datos de las variables dependientes en cuanto a si su distribución se apega o no a la normalidad, para definir el tipo de análisis con estadística paramétrica (distribución normal) o no paramétrica (distribución diferente a la normal).

### **Análisis Comparativo**

Se agruparán en casos de ciclos de asistencia de reproducción donde la muestra es congelada heteróloga (G1) y casos de terapia donde la muestra es en fresco (G2). A partir de este punto se comparará los resultados de las evaluaciones clínicas, parámetros de laboratorio, parámetros de fertilización y desenlaces. Para las variables de tendencia central se compararon con T de Student ajustado a normalidad y homogeneidad de varianza, de dos colas para los grupos de interés a tomar como significativos valores de P menor a 0.05, en caso de no ser paramétrica se estudiará con la prueba pertinente de acuerdo a la cantidad de categorías presentes con U de Man - Whitney o bien Kruskal - Wallis.

Para los muestreos categóricos a comparar se emplea prueba exacta de Fisher de 2 colas para describir las diferencias entre los grupos si las observaciones se realizan con muestras menores de 50; si se tienen muestras mayores o una incidencia esperada mayor del 5% para las comparaciones se empleará prueba de  $\chi^2$  de 2 colas, se tomará significativo P menor a 0.05.

Se analizarán medidas de riesgo/beneficio al analizar grupos y subgrupos (Coeficiente de Momios OD), además, de encontrarse variables con potencial predictivo se evaluará la distribución bajo la curva.

### **Resumen de Análisis:**

Comparaciones Generales. T-Student o Mann Whitney para cuantitativas. Prueba Fisher o distribución  $\chi^2$  para cualitativas.

Evaluación de Predicción. Estimación de Curva de Operación, Regresión Logística.

Programas a utilizar para análisis de datos. IBM SPSS 26 y R 4.0.3

## **ASPECTOS ÉTICOS**

La realización de este estudio de investigación es viable ya que se cuenta con los recursos humanos, materiales y tecnológicos, así como disponibilidad de áreas necesarias para llevarlo a cabo de manera correcta siguiendo los principios éticos para la investigación médica que involucra sujetos humanos.

Toda la información será manejada de forma confidencial, sin presentar datos personales o identificando a los pacientes, para lo cual se utilizarán códigos y claves en el análisis de la información. La información obtenida se utilizará estrictamente para fines de investigación.

Para la realización de este estudio se consideró la ley General de Salud,<sup>21</sup> para mantener la integridad de los pacientes que fueron sometidos a dicho estudio.

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

Se solicitará la evaluación del Comité Médico Local de Investigación Centro de Fertilidad IECH, Monterrey N.L. para llevar a cabo un estudio retrospectivo de cohorte, comparativo transversal.

1. Se recolectó toda la información de los procedimientos de alta complejidad que se realizaron en el centro de fertilidad IECH en un periodo comprendido del año 2018 al 2020, en el que se usaron muestras heterólogas congeladas.
2. Se recolectó la información de los procedimientos de alta complejidad dentro del centro del mismo periodo comprendido, en el que se usaron muestras en fresco de esperma normal.
3. Se dividirá en grupos, para conocer la respuesta de las muestras congeladas en óvulos donados y óvulos homólogos y se comparará con la muestra en fresco de esperma normal.
4. Se comparan las dos muestras para: saber la calidad de blastocisto obtenido de estas dos técnicas, analizará el porcentaje de fertilización, estudiar cómo influye FIV e ICSI de congelados en el desarrollo de las células, conocer los resultados de beta positiva en las pacientes manejadas con estas células, determinar si las técnicas modificaron la incidencia de frecuencia cardíaca fetal o nacido vivo.

## RESULTADOS

### Comparativa general

Se estudiaron 225 registros de estimulación entre el 2018 al 2020 que cumplieron las condiciones de ingreso del estudio. Los ciclos analizados fueron 93 (41.33%) de pacientes con uso de muestra heteróloga congelada, y 132 (58.67%) con uso de muestra homóloga en fresco en rangos de normalidad.

En la demografía de la muestra, las pacientes con esterilidad primaria fue más frecuente usar (81.72%,  $P=0.0011$ , OR 2.81 [1.5 - 5.3]) muestra heteróloga, al igual que una mayor proporción de Factor Masculino (60.22%,  $P<0.001$ , OR) con diferencia significativa. No existió diferencia en la edad (M 38.54,  $\pm 5.32$ ,  $P=0.0706$ ) entre los grupos.

El tiempo de esterilidad se observó mayor (M 5.09,  $\pm 3.15$ ,  $P=0.0054$ ) en el grupo de muestra heteróloga congelada. No hubo diferencia en la presencia de Miomas en la muestra (4.3%,  $P=0.1625$ , OR 5.89 [0.65 - 53.55]). No encontramos diferencia en endometriosis (2.15%,  $P=0.475$ , OR 0.46 [0.09 - 2.34]), y aunque común, tampoco hubo diferencias en presencia de alteraciones ováricas (87.1%,  $P=0.3868$ , OR 0.68 [0.29 - 1.58]), tubáricas (7.53%,  $P=0.197$ , OR 0.52 [0.21 - 1.29]). La mayor parte de las pacientes no tenían tratamientos previos (56.52%,  $P=0.0306$ , OR 1.82 [1.06 - 3.12]). TABLA 1

**TABLA 1.**

		GRUPO 1 Heterólogo Congelado N 93, 41.33%	GRUPO2 Homologo Fresco N 132, 58.67%	P	OR
		M, DE	M, DE		
Edad	años	38.54 $\pm$ 5.32	37.14 $\pm$ 5.9	0.0706	
Tiempo De Esterilidad	años	5.09 $\pm$ 3.15	4.05 $\pm$ 2.42	0.0054	
		N, %	N, %		
Tratamiento	FIV/ICSI	47, 50.54%	63, 47.73%	0.687	1.12 [0.66 - 1.9]
	Transf Embrio	45, 48.39%	69, 52.27%	0.5902	0.86 [0.5 - 1.46]
	FET	1, 1.08%	0, 0%	0.4133	
Tipo esteriliad	Primaria	76, 81.72%	81, 61.36%	0.0011	2.81 [1.5 - 5.3]
	Secundaria	17, 18.28%	51, 38.64%	0.0011	0.36 [0.19 - 0.67]
FM		56, 60.22%	0, 0%	<0.001	
Miomas		4, 4.3%	1, 0.76%	0.1625	5.89 [0.65 - 53.55]
Endometriosis		2, 2.15%	6, 4.55%	0.475	0.46 [0.09 - 2.34]
Ovarico		81, 87.1%	120, 90.91%	0.3868	0.68 [0.29 - 1.58]
Tubarico		7, 7.53%	18, 13.64%	0.197	0.52 [0.21 - 1.29]
Desconocida		0, 0%	2, 1.52%	0.5129	
TXPREVIOS	Ninguno	52, 56.52%	55, 41.67%	0.0306	1.82 [1.06 - 3.12]
	IU-HE	6, 6.52%	10, 7.58%	0.9999	0.85 [0.3 - 2.43]
	FIV	34, 36.96%	67, 50.76%	0.0558	0.57 [0.33 - 0.98]

No encontramos diferencias en la AMH (M 1.82,  $\pm$ 2.72, P=0.1041), FSH (M 10.05,  $\pm$ 10.41, P=0.8723) o LH al analizar (M 6.85,  $\pm$ 7.99, P=0.7523) el perfil hormonal. Tampoco se observaron modificaciones en la TSH (M 2.64,  $\pm$ 3.3, P=0.1708) o Prolactina (M 19.5,  $\pm$ 10.84, P=0.288), de modo que las condiciones entre los grupos eran similares. La dosis total de gonadotropinas se detectó superior en el grupo de muestra heteróloga congelada (M 2341.86,  $\pm$ 672.73, P=0.0382). Así como tuvieron más días de estimulación (M 8.83,  $\pm$ 1.25, P=0.0013).

No hubo diferencia en el método de estimulación (50.55%, P=0.3425, OR 1.3 [0.76 - 2.23]), ni en las pacientes que recibieron preparación endometrial (48.35%, P=0.4993, OR 0.83 [0.49 - 1.42]). Existió un mayor uso de Antagonista (60.47%, P=0.0019, OR 2.51 [1.43 - 4.41]) en las pacientes con muestra heteróloga congelada. En cambio, se observó para Agonista un bajo uso en relación (39.53%, P=0.0019, OR 0.4 [0.23 - 0.7]). La mayor parte de las pacientes con uso de muestra heteróloga congelada recibieron OVIDREL (54.65%, P=<0.001, OR 23.9 [9.49 - 60.18]). TABLA 2

**TABLA 2.**

		<b>GRUPO 1</b>	<b>GRUPO 2</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
		<b>Heterólogo Congelado</b>	<b>Homólogo Fresco</b>		
		<b>N 93, 41.33%</b>	<b>N 132, 58.67%</b>		
		<b>M, DE</b>	<b>M, DE</b>		
	AMH	1.82 $\pm$ 2.72	1.27 $\pm$ 1.84	0.1041	
	FSH	10.05 $\pm$ 10.41	10.58 $\pm$ 14.05	0.8723	
	LH	6.85 $\pm$ 7.99	6.32 $\pm$ 5.8	0.7523	
	TSH	2.64 $\pm$ 3.3	2.12 $\pm$ 1.36	0.1708	
	PRL	19.5 $\pm$ 10.84	17.23 $\pm$ 14.29	0.288	
	DOSIS DE GONADOTROPINAS	2341.86 $\pm$ 672.73	2111.53 $\pm$ 858.61	0.0382	
	DIAS DE ESTIMULACION	8.83 $\pm$ 1.25	8.28 $\pm$ 1.16	0.0013	
		<b>N, %</b>	<b>N, %</b>		
PROTOCOLO	CC/IA	0, 0%	0, 0%	0.9999	
	CC+GINAD	1, 1.1%	3, 2.27%	0.647	0.48 [0.05 - 4.67]
	Gonadotropinas	46, 50.55%	58, 43.94%	0.3425	1.3 [0.76 - 2.23]
GnRH	Prep Endometrial	44, 48.35%	70, 53.03%	0.4993	0.83 [0.49 - 1.42]
	Antagonista	52, 60.47%	47, 37.9%	0.0019	2.51 [1.43 - 4.41]
	Agonista	34, 39.53%	77, 62.1%	0.0019	0.4 [0.23 - 0.7]
HCG	OVIDREL	47, 54.65%	6, 4.8%	<0.001	23.9 [9.49 - 60.18]
	HCG	35, 40.7%	119, 95.2%	<0.001	0.03 [0.01 - 0.09]
	Agonista	4, 4.65%	0, 0%	0.0265	

Al estudiar la producción de gametos, se observaron más folículos (M 13.17,  $\pm$ 5.26, P=<0.001) y consecuentemente más óvulos (M 11.23,  $\pm$ 4.91, P=0.0119) con diferencia significativa, en el grupo de muestra heteróloga congelada, pero no más células MII (M 10.8,  $\pm$ 5.7, P=0.0674). Por lo que se trabajó con un número similar de óvulos MII en ambos grupos. No existió diferencia en el porcentaje de fertilización (M 63.71,  $\pm$ 21.08, P=0.9773) o en el porcentaje de

recuperación de blastocisto (M 21.44,  $\pm$ 18.15, P=0.2522). No encontramos diferencias en las pacientes que vitrificaron (52.69%, P=0.4999, OR 1.22 [0.72 - 2.08]). TABLA 3

**TABLA 3**

	unidades	GRUPO 1	GRUPO 2	P
		Heterólogo Congelado	Homólogo Fresco	
		N 93, 41.33%	N 132, 58.67%	
		M, DE	M, DE	
FOLICULOS		13.17 $\pm$ 5.26	10.61 $\pm$ 4.25	<0.001
OVULOS		11.23 $\pm$ 4.91	9.73 $\pm$ 3.9	0.0119
MII		10.8 $\pm$ 5.7	9.62 $\pm$ 3.89	0.0674
PercentFERT		63.71 $\pm$ 21.08	63.62 $\pm$ 22.65	0.9773
FERTILIZARON		6.67 $\pm$ 3.32	6.25 $\pm$ 3.35	0.3577
FIV CONVENSIONAL		2.89 $\pm$ 3.34	2.52 $\pm$ 2.95	0.3722
ICSI		3.77 $\pm$ 2.59	3.71 $\pm$ 2.62	0.8605
Pblasto		21.44 $\pm$ 18.15	24.25 $\pm$ 18.04	0.2522
EMBDIA3VITR		0.11 $\pm$ 0.6	0.07 $\pm$ 0.7	0.6608
EMBDIA5VITRIFICADOS		0.82 $\pm$ 1.13	0.75 $\pm$ 1.15	0.6641
EMBDIA6VIT		0.26 $\pm$ 0.61	0.23 $\pm$ 0.68	0.7906
SETRANSFIRIO		1.08 $\pm$ 0.28	1.06 $\pm$ 0.24	0.8178
TRANSFERIDOS		1.46 $\pm$ 0.79	1.54 $\pm$ 0.69	0.4478
DIATRANSFERIDO		4.23 $\pm$ 1.63	4.45 $\pm$ 1.33	0.2641
VITRIFICO		1.05 $\pm$ 1.36	0.97 $\pm$ 1.38	0.6507

Como es de esperar, sabemos que al capacitar las muestras encontraremos cambios significativos en los valores del conteo espermático o espermograma, veremos valores que disminuyen en relación a los de la muestra inicial, así como valores importantes que aumentan pos capacitación, lo que hace referencia que se está trabajando con los de mejor calidad. Como lo vemos a continuación: La concentración (M 89.21,  $\pm$ 42.95, P=<0.001) fue más alta previa al proceso, así como la cuenta total (M 244.36,  $\pm$ 227.26, P=<0.001). La motilidad progresiva aumento (M 82.89,  $\pm$ 5.61, P=<0.001), así como la motilidad total (M 92.11,  $\pm$ 4.4, P=<0.001).

TABLA 4

**TABLA 4**

Espermograma		Pre	Pos-Capacitacion	P
	unidades	M, DE	M, DE	
VOLPRE		2.89 $\pm$ 2.14	1.01 $\pm$ 0.09	<0.001
CUENTA		89.21 $\pm$ 42.95	47.96 $\pm$ 35.02	<0.001
CT		244.36 $\pm$ 227.26	47.93 $\pm$ 35.07	<0.001
MP		40.75 $\pm$ 7.29	82.89 $\pm$ 5.61	<0.001
MT		54.95 $\pm$ 34.29	92.11 $\pm$ 4.4	<0.001
CTM		135.98 $\pm$ 129.78	53.12 $\pm$ 104.89	<0.001

Al comparar estos exámenes entre los grupos encontramos en los parámetros del espermograma menos volumen antes del tratamiento de la muestra (M 0.99,  $\pm 0.24$ ,  $P < 0.001$ ), y una concentración total más baja (M 91.77,  $\pm 31.98$ ,  $P < 0.001$ ), pero una cuenta por mililitro sin diferencia (M 91.38,  $\pm 30.79$ ,  $P = 0.5245$ ), También no encontramos diferencia en la Motilidad Progresiva (M 39.81,  $\pm 9.14$ ,  $P = 0.1026$ ), Motilidad Total (M 52.73,  $\pm 5.45$ ,  $P = 0.4303$ ). Observamos un aumento en las formas normales (M 3.19,  $\pm 0.73$ ,  $P < 0.001$ ).

En los valores post capacitación no encontramos diferencias en los volúmenes (M 1.01,  $\pm 0.1$ ,  $P = 0.8098$ ). Las muestras congeladas tuvieron una cuenta comparativamente más baja (M 34.59,  $\pm 16.47$ ,  $P < 0.001$ ), así como una concentración total menor (M 34.59,  $\pm 16.47$ ,  $P < 0.001$ ), una menor motilidad progresiva (M 81.32,  $\pm 6.7$ ,  $P < 0.001$ ) y motilidad total (M 90.54,  $\pm 4.99$ ,  $P < 0.001$ ), pero se encontraron una mayor cantidad de formas normales (M 3.76,  $\pm 0.89$ ,  $P = 0.0229$ ). TABLA 5

**TABLA 5**

		Heterólogo Congelado N 93, 41.33%	Homólogo Fresco N 132, 58.67%	P
Pre	unidades	M, DE	M, DE	
	VOLPRE	0.99 $\pm 0.24$	4.25 $\pm 1.84$	<0.001
	CUENTA	91.38 $\pm 30.79$	87.66 $\pm 49.92$	0.5245
	CT	91.77 $\pm 31.98$	354.37 $\pm 243.57$	<0.001
	MP	39.81 $\pm 9.14$	41.42 $\pm 5.54$	0.1026
	MT	52.73 $\pm 5.45$	56.46 $\pm 44.29$	0.4303
	CTM	48.25 $\pm 19.34$	196.51 $\pm 138.76$	<0.001
	Morfología	3.19 $\pm 0.73$	2.41 $\pm 0.84$	<0.001
<b>Post Capacitación</b>				
	VOLPRE	1.01 $\pm 0.1$	1.01 $\pm 0.09$	0.8098
	CUENTA	34.59 $\pm 16.47$	57.52 $\pm 41.18$	<0.001
	CT	34.59 $\pm 16.47$	57.6 $\pm 41.15$	<0.001
	MP	81.32 $\pm 6.7$	84.02 $\pm 4.38$	<0.001
	MT	90.54 $\pm 4.99$	93.19 $\pm 3.59$	<0.001
	CTM	31.33 $\pm 14.76$	68.16 $\pm 133.95$	0.0105
	Morfología	3.76 $\pm 0.89$	3.45 $\pm 1.04$	0.0229

En los resultados donde se evaluó la tasa de embarazo (39.13%,  $P = 0.7807$ , OR 0.9 [0.52 - 1.55]) no encontramos diferencia en la incidencia de este, al compararlo con las pacientes con uso de muestra en fresco. Tampoco existió diferencia en la frecuencia en que se encontró FCF presente (37.63%,  $P = 0.8902$ , OR 0.96 [0.55 - 1.66]) y en la continuación del embarazo (34.41%,  $P = 0.7792$ , OR 0.92 [0.53 - 1.6]). TABLA 06

**TABLA 6**

		<b>GRUPO 1</b> <b>Heterólogo Congelado</b> <b>N 93, 41.33%</b>	<b>GRUPO 2</b> <b>Homólogo Fresco</b> <b>N 132, 58.67%</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
		<b>M, DE</b>	<b>M, DE</b>		
<b>PIE</b>	Beta Positiva	36, 39.13%	53, 41.73%	0.7807	0.9 [0.52 - 1.55]
	Negativo	56, 60.87%	74, 58.27%	0.7807	1.11 [0.64 - 1.93]
<b>EMB CONTINUO</b>	Clínico FCF	35, 37.63%	51, 38.64%	0.8902	0.96 [0.55 - 1.66]
	Si	32, 34.41%	48, 36.36%	0.7792	0.92 [0.53 - 1.6]
	No	58, 62.37%	81, 61.36%	0.8902	1.04 [0.6 - 1.8]
	Sin resultado	3, 3.23%	3, 2.27%	0.6932	1.43 [0.28 - 7.26]

### Donación de Óvulos

Se estudiaron 46 ciclos de donación de óvulos en fresco, con uso de muestra heteróloga congelada y 70 ciclos de donación en fresco, con uso de muestra homóloga en fresco. La edad de las pacientes fue similar (M 40.87,  $\pm 5.52$ ,  $P=0.7153$ ), pero tuvieron más tiempo con problemas de esterilidad (M 5.89,  $\pm 2.83$ ,  $P=0.0052$ ). Encontramos diferencias esperadas en el tipo de infertilidad, siendo más ocurrencia la secundaria (82.35%,  $p=0.0127$ , OR 5.25 [1.34 - 20.51]), sin encontrar problemas ováricos (53.09%,  $p=0.4726$ , OR 0.81 [0.46 - 1.43]) o tubáricos (28.57%,  $p=0.9999$ , OR 1.4 [0.19 - 10.15]). La mayor parte de las pacientes no tenían tratamientos de fertilidad previos (48.08%,  $p=0.9999$ , OR 1.03 [0.48 - 2.21]). TABLA 7

**TABLA 7**

		<b>GRUPO 3</b> <b>Heterólogo Congelado</b> <b>Donación</b> <b>N 46, 39.66%</b>	<b>GRUPO 4</b> <b>Homólogo Fresco</b> <b>Donación</b> <b>N 70, 60.34%</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
		<b>M, DE</b>	<b>M, DE</b>		
Edad	años	40.87 $\pm 5.52$	40.51 $\pm 4.84$	0.7153	
Tiempo De Esterilidad	años	5.89 $\pm 2.83$	4.33 $\pm 2.86$	0.0052	
		N, %	N, %		
Tratamiento	FIV/ICSI	1, 2.13%	1, 1.59%	0.9999	1.35 [0.08 - 22.12]
	Transf Embrio	44, 97.78%	69, 100%	0.3947	
	FET	1, 100%	0, 0%	0.9999	
Tipo esteriliad	Primaria	32, 42.11%	46, 56.79%	0.0795	0.55 [0.29 - 1.04]
	Secundaria	14, 82.35%	24, 47.06%	0.0127	
FM		26, 46.43%	0, 0%	0.9999	
Miomas		0, 0%	0, 0%	0.9999	
Endometriosis		43, 53.09%	70, 58.33%	0.4726	0.81 [0.46 - 1.43]
Ovarico		43, 53.09%	70, 58.33%	0.4726	0.81 [0.46 - 1.43]
Tubarico		2, 28.57%	4, 22.22%	0.9999	1.4 [0.19 - 10.15]
Desconocida		0, 0%	0, 0%	0.9999	
TXPREVIOS	Ninguno	25, 48.08%	26, 47.27%	0.9999	1.03 [0.48 - 2.21]
	IU-HE	2, 33.33%	4, 40%	0.9999	0.75 [0.09 - 6.23]
	FIV	19, 55.88%	40, 59.7%	0.8313	0.86 [0.37 - 1.97]

En las características hormonales, las pacientes con uso de espermatozoides congelados tuvieron una Hormona antimülleriana ligeramente más alta (M 1.3,  $\pm 3.25$ ,  $P=0.0168$ ), sin encontrar diferencias en el resto de las mediciones hormonales.

Las pacientes donadoras que participaron en el programa, donde se utilizó sus óvulos donados en fresco, con muestra congelada heteróloga de espermatozoides requirieron más dosis de gonadotropinas (M 2045.73,  $\pm 489.8$ ,  $P<0.001$ ), y tuvieron más días de estimulación (M 9.12,  $\pm 1.65$ ,  $P=0.0017$ ). Se usó antagonista más comúnmente para la estimulación (13.46%,  $p=0.0621$ , OR 7.16 [0.85 - 60.53]) TABLA 8

**TABLA 8**

		<b>GRUPO 3</b> <b>Heterólogo Congelado</b> <b>Donación</b> <b>N 46, 39.66%</b>	<b>GRUPO 4</b> <b>Homólogo Fresco</b> <b>Donación</b> <b>N 70, 60.34%</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
		<b>M, DE</b>	<b>M, DE</b>		
	AMH	1.3 $\pm 3.25$	0.33 $\pm 0.42$	0.0168	
	FSH	12.99 $\pm 13.4$	14.62 $\pm 19.18$	0.7914	
	LH	8.12 $\pm 10.7$	8.04 $\pm 7.78$	0.98	
	TSH	2.81 $\pm 2.71$	2.05 $\pm 1.08$	0.0624	
	PRL	19.43 $\pm 8.77$	20.06 $\pm 17.55$	0.8549	
	DOSIS DE GONADOTROPINAS	2045.73 $\pm 489.8$	1725.41 $\pm 291.55$	<0.001	
	DIAS DE ESTIMULACION	9.12 $\pm 1.65$	8.33 $\pm 0.96$	0.0017	
		N, %	N, %		
PROTOCOLO	CC/IA	0, 0%	0, 0%	0.9999	
	CC+GINAD	0, 0%	0, 0%	0.9999	
	Gonadotropinas	2, 4.35%	0, 0%	0.1932	
	Prep Endometrial	44, 100%	70, 100%	0.9999	
GnRH	Antagonista	7, 13.46%	1, 2.13%	0.0621	7.16 [0.85 - 60.53]
	Agonista	34, 100%	69, 89.61%	0.1036	
HCG	OVIDREL	22, 46.81%	0, 0%	0.0353	
	HCG	18, 51.43%	70, 58.82%	0.4449	0.74 [0.35 - 1.58]
	Agonista	1, 2.5%	0, 0%	0.9999	

También se encontró una mayor cantidad de folículos (M 14.44,  $\pm 5.43$ ,  $P=0.0012$ ), así como de óvulos (M 12.48,  $\pm 5.18$ ,  $P=0.0368$ ), pero no más óvulos MII (M 12.33,  $\pm 6.5$ ,  $P=0.0703$ ). Un dato importante es que no se encontraron diferencias en los porcentajes de fertilización (M 65.05,  $\pm 17.53$ ,  $P=0.5301$ ), ni en el porcentaje de recuperación de blastos (M 19.82,  $\pm 13.96$ ,  $P=0.1904$ ). TABLA 9

**TABLA 9**

		<b>GRUPO 3</b> <b>Heterólogo Congelado</b> <b>Donación</b> <b>N 46, 39.66%</b>	<b>GRUPO 4</b> <b>Homólogo Fresco</b> <b>Donación</b> <b>N 70, 60.34%</b>	<b>p</b>
unidades		<b>M, DE</b>	<b>M, DE</b>	
	FOLICULOS	14.44 ±5.43	11.73 ±3.37	0.0012
	OVULOS	12.48 ±5.18	10.89 ±2.92	0.0368
	MII	12.33 ±6.5	10.7 ±2.96	0.0703
	PercentFERT	65.05 ±17.53	67.16 ±17.72	0.5301
	FERTILIZARON	7.43 ±2.99	7.36 ±3.13	0.8943
	FIV CONVENSIONAL	3.48 ±3.36	2.66 ±3.39	0.2033
	ICSI	3.96 ±2.57	4.63 ±2.57	0.1707
	Pblasto	19.82 ±13.96	23.28 ±13.75	0.1904
	EMBDIA3VITR	0.07 ±0.44	0 ±0	0.219
	EMBDIA5VITRIFICADOS	0.78 ±1.13	0.99 ±1.36	0.4024
	EMBDIA6VIT	0.24 ±0.48	0.29 ±0.66	0.6818
	SETRANSFIRIO	1 ±0	1.06 ±0.23	0.4943
	TRANSFERIDOS	1.43 ±0.65	1.56 ±0.71	0.3537
	DIATRANSFERIDO	4.67 ±1.14	4.57 ±1.28	0.6603
	VITRIFICO	0.96 ±1.23	1.26 ±1.45	0.2493

En resultados de pruebas de embarazo, observamos que no existe diferencia en la probabilidad de tener una beta positiva (47.22%,  $p=0.6686$ , OR 0.8 [0.34 - 1.87]), solo una ligera menor probabilidad de tener FCF en el grupo de congelado heterólogo (48.57%,  $p=0.6616$ , OR 0.78 [0.33 - 1.84]), sin significancia estadística. En ambos grupos, las FCF detectadas, más de la mitad de ellas continuaron como embarazo (50%,  $p=0.6504$ , OR 0.78 [0.32 - 1.91]), sin diferencia estadística. De modo que, usando óvulos donados, y fertilizando con muestra congelada o en fresco, no existe diferencia en la progresión de embarazo una vez implantados los embriones. TABLA 10

**TABLA 10**

		<b>GRUPO 3</b> <b>Heterólogo Congelado</b> <b>Donación</b> <b>N 46, 39.66%</b>	<b>GRUPO 4</b> <b>Homólogo Fresco</b> <b>Donación</b> <b>N 70, 60.34%</b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
		<b>M, DE</b>	<b>M, DE</b>		
<b>PIE</b>	Beta Positiva	17, 47.22%	28, 52.83%	0.6686	0.8 [0.34 - 1.87]
	Negativo	29, 51.79%	39, 52.7%	0.9999	0.96 [0.48 - 1.93]
<b>EMB CONTINUO</b>	Clínico FCF	17, 48.57%	28, 54.9%	0.6616	0.78 [0.33 - 1.84]
	Si	0, 0%	0, 0%	0.9999	
	No	16, 50%	27, 56.25%	0.6504	0.78 [0.32 - 1.91]
	Sin resultado	30, 51.72%	40, 49.38%	0.8639	1.1 [0.56 - 2.16]

## Grupos de edad.

Evaluamos a 23 pacientes jóvenes (menor de 35 años) con uso de esperma congelado heterólogo, y las comparamos con el mismo grupo de edad (46) con uso de muestra en fresco, adicionalmente comparamos las mayores de 35 años (70 congelado y 86 fresco). En el grupo de pacientes jóvenes con uso de muestra heteróloga congelada existe menos probabilidad de infertilidad primaria (30.26%,  $p=0.245$ , OR 0.66 [0.34 - 1.29]), y tiempo de esterilidad relativamente similar (M 3.39,  $\pm 2.85$ ,  $P=0.8821$ ) pero sin diferencias en otros antecedentes, solo una menor probabilidad de no tener involucro ovárico (23.46%,  $p=0.1176$ , OR 0.59 [0.31 - 1.12]). Pocas pacientes carecieron de tratamientos previos (28.85%,  $p=0.8359$ , OR 0.91 [0.4 - 2.08]). En el grupo de jóvenes y muestra congelada pocos casos usaron antagonistas como estimulación (34.62%,  $p=0.009$ , OR 0.33 [0.14 - 0.75]). TABLA 11 y 13

**TABLA 11**

		Heterólogo Congelado Jóvenes N 23, 33.33%	Homólogo Fresco Jóvenes N 46, 66.67%	P	OR
		<b>M, DE</b>	<b>M, DE</b>		
Edad	años	31.57 $\pm$ 1.78	30.83 $\pm$ 3.29	0.3188	
Tiempo De Esterilidad	años	3.39 $\pm$ 2.85	3.3 $\pm$ 1.9	0.8821	
		<b>N, %</b>	<b>N, %</b>		
Tratamiento	FIV/ICSI	16, 34.04%	35, 55.56%	0.0336	0.41 [0.19 - 0.9]
	Transf Embrio	7, 15.56%	11, 15.94%	0.9999	0.97 [0.35 - 2.73]
	FET	0, 0%	0, 0%	0.9999	
Tipo esteriliad	Primaria	23, 30.26%	32, 39.51%	0.245	0.66 [0.34 - 1.29]
	Secundaria	0, 0%	14, 27.45%	0.0145	
	FM	14, 25%	0, 0%	0.9999	
	Miomas	0, 0%	0, 0%	0.9999	
Endometriosis		2, 100%	0, 0%	0.0357	0.81 [0.46 - 1.43]
	Ovarico	19, 23.46%	41, 34.17%	0.1176	0.59 [0.31 - 1.12]
	Tubarico	0, 0%	8, 44.44%	0.0573	
	Desconocida	0, 0%	2, 100%	0.9999	
TXPREVIOS	Ninguno	15, 28.85%	17, 30.91%	0.8359	0.91 [0.4 - 2.08]
	IU-HE	1, 16.67%	5, 50%	0.3069	0.2 [0.02 - 2.39]
	FIV	7, 20.59%	24, 35.82%	0.1704	0.46 [0.18 - 1.23]

**TABLA 12**

		Heterólogo Congelado	Homólogo Fresco	P	OR
		Mayores de 35	Mayores de 35		
		N 70, 44.87%	N 86, 55.13%		
		M, DE	M, DE		
Edad	años	40.83 ±3.89	40.52 ±3.85	0.6244	
Tiempo De Esterilidad	años	5.63 ±3.06	4.45 ±2.58	0.01	
		N, %	N, %		
Tratamiento	FIV/ICSI	31, 65.96%	28, 44.44%	0.0336	2.42 [1.11 - 5.29]
	Transf Embrio	38, 84.44%	58, 84.06%	0.9999	1.03 [0.37 - 2.89]
Tipo esteriliad	FET	1, 100%	0, 0%	0.9999	
	Primaria	53, 69.74%	49, 60.49%	0.245	1.5 [0.78 - 2.92]
	Secundaria	17, 100%	37, 72.55%	0.0145	
FM		42, 75%	0, 0%	0.9999	
Miomas		4, 100%	1, 100%	0.9999	
Endometriosis		0, 0%	6, 100%	0.0357	
Ovarico		62, 76.54%	79, 65.83%	0.1176	
Tubarico		7, 100%	10, 55.56%	0.0573	
Desconocida		0, 0%	0, 0%	0.9999	
TXPREVIOS	Ninguno	37, 71.15%	38, 69.09%	0.8359	
	IU-HE	5, 83.33%	5, 50%	0.3069	
	FIV	27, 79.41%	43, 64.18%	0.1704	

**TABLA 13**

		Heterólogo Congelado	Homólogo Fresco	P	OR
		Jóvenes	Jóvenes		
		N 23, 33.33%	N 46, 66.67%		
		M, DE	M, DE		
AMH		3.87 ±4.25	2.11 ±2.28	0.0616	
FSH		6.29 ±2.55	6.23 ±4.21	0.9743	
LH		6.52 ±2.17	3.81 ±2.49	0.0266	
TSH		3.41 ±5.15	2.07 ±1.58	0.1548	
PRL		20.11 ±10.27	17.94 ±19.73	0.6639	
DOSIS DE GONADOTROPINAS		2380.68 ±671.39	2254.83 ±1025.43	0.6039	
DIAS DE ESTIMULACION		8.45 ±0.67	8.2 ±1.46	0.4479	
		N, %	N, %		
PROTOCOLO	CC/IA	0, 0%	0, 0%	0.9999	
	CC+GINAD	0, 0%	3, 100%	0.25	
	Gonadotropinas	17, 36.96%	31, 53.45%	0.1148	0.51 [0.23 - 1.13]
GnRH	Prep Endometrial	5, 11.36%	11, 15.71%	0.5896	0.69 [0.22 - 2.13]
	Antagonista	18, 34.62%	29, 61.7%	0.009	0.33 [0.14 - 0.75]
HCG	Agonista	4, 11.76%	14, 18.18%	0.5776	0.6 [0.18 - 1.98]
	OVIDREL	9, 19.15%	4, 66.67%	0.0266	0.12 [0.02 - 0.75]
	HCG	11, 31.43%	40, 33.61%	0.9999	0.91 [0.4 - 2.03]
	Agonista	2, 50%	0, 0%	0.9999	

Los parámetros hormonales en las jóvenes no se encontraron diferentes. Solamente los niveles de LH en las pacientes con uso de muestra congelada fueron significativamente mayores (M 6.52,  $\pm$ 2.17, P=0.0266). No encontramos diferencias en los días de estimulación (M 8.45,  $\pm$ 0.67, P=0.4479) o la cantidad de dosis (M 2380.68,  $\pm$ 671.39, P=0.6039).

Encontramos diferencias significativas en los folículos encontrados (M 14.7,  $\pm$ 6.03, P=<0.001), más óvulos (M 12.83,  $\pm$ 6.02, P=0.0037) y más MII (M 11.74,  $\pm$ 5.96, P=0.0323) en las pacientes con muestra heteróloga, pero no hubo diferencia en el porcentaje de fertilización (M 60.11,  $\pm$ 18.8, P=0.2695) o el porcentaje de blastos (M 24.67,  $\pm$ 16.04, P=0.7197) en día 5. Pero hubo una ligera mayor vitrificación. TABLA 13 Y 15

En las pacientes mayores de 35, si encontramos que aquellas con muestra en fresco tenían más causa de infertilidad secundaria. Con diferencias en la dosis de estimulación (M 2328.52,  $\pm$ 677.97, P=0.0153) y cantidad de folículos observados (M 12.67,  $\pm$ 4.92, P=0.044) en las pacientes con uso de muestra heteróloga congelada, pero esto no conllevó a un mayor porcentaje de fertilización (M 64.89,  $\pm$ 21.78, P=0.4599) o diferencias en este rubro para los grupos. TABLA 12, 14 Y 16

**TABLA 14**

		Heterólogo Congelado Mayores de 35 N 70, 44.87%	Homologo Fresco Mayores de 35 N 86, 55.13%	P	OR
		M, DE	M, DE		
	AMH	1.19 $\pm$ 1.62	0.92 $\pm$ 1.5	0.3207	
	FSH	11.3 $\pm$ 11.75	13.98 $\pm$ 17.82	0.5846	
	LH	6.94 $\pm$ 8.99	8.29 $\pm$ 6.86	0.5721	
	TSH	2.37 $\pm$ 2.37	2.15 $\pm$ 1.22	0.5435	
	PRL	19.25 $\pm$ 11.17	16.79 $\pm$ 9.66	0.2334	
	DOSIS DE GONADOTROPINAS	2328.52 $\pm$ 677.97	2033.69 $\pm$ 748.37	0.0153	
	DIAS DE ESTIMULACION	8.95 $\pm$ 1.37	8.32 $\pm$ 0.97	0.0015	
		N, %	N, %		
PROTOCOLO	CC/IA	0, 0%	0, 0%	0.9999	
	CC+GINAD	1, 100%	0, 0%	0.25	
	Gonadotropinas	29, 63.04%	27, 46.55%	0.1148	1.96 [0.89 - 4.32]
	Prep Endometrial	39, 88.64%	59, 84.29%	0.5896	1.45 [0.47 - 4.51]
GnRH	Antagonista	34, 65.38%	18, 38.3%	0.009	3.04 [1.34 - 6.91]
	Agonista	30, 88.24%	63, 81.82%	0.5776	1.67 [0.51 - 5.5]
HCG	OVIDREL	38, 80.85%	2, 33.33%	0.0266	8.44 [1.33 - 53.51]
	HCG	24, 68.57%	79, 66.39%	0.9999	1.1 [0.49 - 2.48]
	Agonista	2, 50%	0, 0%	0.9999	

**TABLA 15**

		Heterólogo Congelado	Homologo Fresco	P
		Jóvenes	Jóvenes	
		N 23, 33.33%	N 46, 66.67%	
	unidades	M, DE	M, DE	
	FOLICULOS	14.7 ±6.03	9.5 ±4.48	<0.001
	OVULOS	12.83 ±6.02	9.02 ±4.34	0.0037
	MII	11.74 ±5.96	8.98 ±4.36	0.0323
	PercentFERT	60.11 ±18.8	66.22 ±22.68	0.2695
	FERTILIZARON	6.78 ±3.44	5.78 ±3.37	0.2521
	FIV CONVENSIONAL	3.57 ±3.99	2.76 ±2.79	0.3334
	ICSI	3.22 ±2.15	3.02 ±2.45	0.7463
	Pblasto	24.67 ±16.04	26.41 ±20.27	0.7197
	EMBDIA5VITRIFICADOS	1.17 ±1.37	0.61 ±0.93	0.0472
	EMBDIA6VIT	0.43 ±0.95	0.22 ±0.79	0.3155
	SETRANSFIRIO	1 ±0	1.02 ±0.15	0.8377
	TRANSFERIDOS	1.48 ±0.9	1.7 ±0.63	0.2462
	DIATRANSFERIDO	3.96 ±1.94	4.54 ±1.03	0.1041
	VITRIFICO	1.48 ±1.53	0.61 ±0.86	0.0035

**TABLA 16**

		Heterólogo Congelado	Homologo Fresco	P
		Mayores de 35	Mayores de 35	
		N 70, 44.87%	N 86, 55.13%	
	unidades	M, DE	M, DE	
	FOLICULOS	12.67 ±4.92	11.21 ±4.02	0.044
	OVULOS	10.7 ±4.41	10.12 ±3.61	0.3643
	MII	10.49 ±5.62	9.97 ±3.6	0.4841
	PercentFERT	64.89 ±21.78	62.24 ±22.64	0.4599
	FERTILIZARON	6.63 ±3.31	6.5 ±3.34	0.8104
	FIV CONVENSIONAL	2.67 ±3.1	2.38 ±3.04	0.5608
	ICSI	3.96 ±2.7	4.08 ±2.64	0.773
	Pblasto	20.38 ±18.77	23.09 ±16.74	0.3419
	EMBDIA5VITRIFICADOS	0.14 ±0.69	0.1 ±0.87	0.7649
	EMBDIA6VIT	0.7 ±1.03	0.83 ±1.25	0.5
	SETRANSFIRIO	0.2 ±0.44	0.24 ±0.61	0.6125
	TRANSFERIDOS	1.09 ±0.3	1.08 ±0.28	0.9153
	DIATRANSFERIDO	1.46 ±0.76	1.45 ±0.71	0.9757
	VITRIFICO	4.31 ±1.52	4.4 ±1.47	0.736

La probabilidad de encontrar una beta positiva en pacientes jóvenes con uso de esperma congelado heterólogo fue reducida (25%,  $p=0.1199$ , OR 0.47 [0.19 - 1.19]) pero no de forma significativa. En contraste, la probabilidad de beta positiva en pacientes mayores de 35 años con uso de muestra congelada fue mayor (75%,  $p=0.1199$ , OR 2.13 [0.84 - 5.4]) pero sin significancia estadística. Al estudiarse la frecuencia cardiaca, no encontramos diferencia en la progresión de los embarazos tanto para las jóvenes con muestra congelada (25%,  $p=0.5577$ , OR 0.77 [0.35 - 1.69]) como para las pacientes mayores de 35 años (77.14%,  $p=0.1048$ , OR 2.36 [0.9 - 6.21]). TABLA 17 y 18

**TABLA 17**

		Heterólogo Congelado Jóvenes N 23, 33.33%	Homólogo Fresco Jóvenes N 46, 66.67%	P	OR
PIE	Beta Positiva	M, DE	M, DE		
		9, 25%	22, 41.51%	0.1199	0.47 [0.19 - 1.19]
EMB CONTINUO	Clínico FCF	14, 25%	23, 31.08%	0.5566	0.74 [0.34 - 1.61]
		8, 22.86%	21, 41.18%	0.1048	0.42 [0.16 - 1.11]
		Si	0, 0%	0.9999	
		No	20, 41.67%	0.155	0.47 [0.17 - 1.25]
	Sin resultado	14, 24.14%	26, 32.1%	0.3461	0.67 [0.31 - 1.44]

**TABLA 18**

		Heterólogo Congelado Mayores de 35 N 70, 44.87%	Homólogo Fresco Mayores de 35 N 86, 55.13%	P	OR
PIE	Beta Positiva	M, DE	M, DE		
		27, 75%	31, 58.49%	0.1199	2.13 [0.84 - 5.4]
EMB CONTINUO	Clínico FCF	42, 75%	51, 68.92%	0.5566	1.35 [0.62 - 2.95]
		27, 77.14%	30, 58.82%	0.1048	2.36 [0.9 - 6.21]
		Si	0, 0%	0.9999	
		No	28, 58.33%	0.155	2.14 [0.8 - 5.74]
	Sin resultado	44, 75.86%	55, 67.9%	0.3461	1.49 [0.69 - 3.18]

## DISCUSIÓN

A pesar de su uso rutinario en tratamientos de reproducción asistida (TAR), se ha sugerido que la criopreservación de espermatozoides puede causar daño celular y reducir la proporción de espermatozoides completamente funcionales en una muestra. El parámetro más importante que puede verse afectado por la congelación de espermatozoides es la motilidad, que está altamente correlacionada con el éxito de la FIV.<sup>37</sup> En nuestros resultados de los espermogramas, al comparar los grupos encontramos en los valores pre capacitación, un volumen y una concentración total más baja en el grupo de esperma congelado. Pero no se encontraron diferencias significativas cuando se comparó la cuenta por mililitro, la motilidad progresiva y la motilidad total. Además de tener un aumento significativo en las formas normales en comparación con las muestras en fresco. En los valores post capacitación como es de esperar los valores disminuyen en relación a la pre capacitación y otros mejoran a causa de esta misma, por lo que las muestras congeladas tuvieron una cuenta comparativamente más baja, una concentración total menor, menor motilidad progresiva y menor motilidad total, pero se encontraron una mayor cantidad de formas normales. Lo que ocurrió con las muestras de donante durante los procedimientos de congelación y descongelación, es que solo una pequeña parte de la muestra total congelada se descongela para ser utilizada en los procedimientos de

FIV, por lo que es lógico ver que al ser solo una parte veremos un volumen y conteo total menor, en contraste con esta situación, ocurre en una muestra en fresco donde toda la muestra es recolectada y contada, lo que tiene un mayor volumen, una mayor concentración total, y una mayor cuenta total motil, porque los espermatozoides con un mayor volumen total también representan una mayor proporción. Sin embargo, a pesar del pequeño volumen de las muestras congeladas y descongeladas vemos cómo otros parámetros son comparables a las muestras en fresco; como los recuentos por mililitro, la motilidad progresiva y la motilidad total, debido a que son muestras de mejor calidad.

En diversos estudios se ha reportado que con semen criopreservado las tasas de fertilización son más bajas en FIV convencional que con semen en fresco, lo cual es una preocupación importante para los profesionales de la infertilidad. Sin embargo, con la introducción, ICSI se ha podido superar los efectos perjudiciales asociados con la congelación y descongelación ya que a pesar de que la concentración y movilidad espermática se ven disminuidas, para la ICSI solo se necesita un espermatozoide viable para la fertilización. Nuestros resultados muestran que la tasa de fertilización del semen de donantes congelados y descongelado es similar a la de muestras en fresco. No existió diferencia significativa en el porcentaje de fertilización (M 63.71,  $\pm$ 21.08,  $P=0.9773$ ) o en el porcentaje de recuperación de blastocisto (M 21.44,  $\pm$ 18.15,  $P=0.2522$ ), o en la tasa de embarazo (39.13%,  $P=0.7807$ , OR 0.9 [0.52 - 1.55]). En relación con uno de los estudios mencionados publicado en el 2007 por Edson Borges Jr y col. Sus resultados con esperma en rango normal dieron tasas de fertilización más altas con esperma en fresco 73.8% en comparación con esperma criopreservado 68.7%. Con tasas similares de fertilización, implantación y embarazo cuando se evaluó esperma en fresco y congelado con características normozoospermia y oligozoospermia. Cuando se utilizaron muestras de semen astenozoospermia y oligoastenozoospermia, la tasa de fertilización normal fue mayor con espermatozoides en fresco en comparación con criopreservados, con tasas de implantación y embarazo similares. Aunque no valoramos los espermogramas alterados, podemos ver que estos resultados son equiparables a los de nuestro estudio, con tasas de fertilización, implantación y embarazo similares tanto con esperma congelado como en fresco en rango normal.

En base al estudio realizado por Colleen Miller y colaboradores (2020) no observaron diferencias entre los espermatozoides congelados versus los frescos con ovocitos donados en la media de fertilización, media de blastocistos o embarazo clínico. Dando soporte a nuestros resultados, cuando se comparó el uso de muestras de espermatozoides congelados y frescos

con ovocitos donados, no encontrando diferencias estadísticamente significativas en las tasas de fertilización, tasas de blastocisto y el resultado del embarazo.

Recientemente han sugerido que las fallas repetidas después de ICSI pueden ser causadas por el efecto de los espermatozoides.<sup>30</sup> Los espermatozoides humanos tienen una participación altamente dinámica y esencial en la embriogénesis que claramente va más allá del proceso de fertilización. Sin embargo, se ha descrito que el ovocito humano es capaz de reparar algunas de las anomalías dentro del ADN paterno.<sup>33</sup> El ovocito está equipado con una maquinaria que se encarga de reparar el daño del ADN en ambos genomas parentales después de la fertilización.<sup>34</sup> Sin embargo, la capacidad de reparación no depende solo del tipo y la extensión del daño del ADN, sino principalmente de la calidad del ovocito, que puede depender de la edad, el entorno ovárico y el genotipo materno.<sup>35,36</sup> Algunos autores mencionan que en presencia de defectos en los ovocitos, tanto la calidad del embrión como la posibilidad de formación de blastocisto se ven influidas por la inyección de espermatozoides congelado y descongelado.<sup>34</sup> Esto no coincide con lo obtenido en este trabajo ya que se obtuvieron resultados similares, al usar óvulos donados en fresco o incluso óvulos homólogos, la tasa de fertilización, la tasa de blastocisto y el resultado del embarazo entre los dos grupos fueron comparables. Lo que nos hace pensar que el uso de óvulos donados no cambió el comportamiento evolutivo de los embriones al usar gametos masculinos de diferentes fuentes. Lo que indica que el espermatozoides congelado y descongelado tiene suficiente potencial para el desarrollo embrionario temprano y el embarazo sostenido.

Aunque es evidente que durante la criopreservación los espermatozoides están expuestos a factores estresantes físicos y químicos, que expresan cambios adversos, que pueden causar daño a la ultraestructura de la cabeza del espermatozoides, al sistema metabólico del espermatozoides, a la composición de lípidos de la membrana y a el estado de los acrosomas,<sup>31,32</sup> que se verá reflejado principalmente en una menor capacidad de fertilización y una vida útil más corta. A pesar de esto, nuestros resultados de investigación y de estudios similares sugieren que el uso de muestras congeladas no tiene implicaciones en las tasas de fertilización, tasas de formación de blastocistos, tasas de embarazo clínico comparadas con espermatozoides en fresco. Por lo que al momento de recomendar la criopreservación o el uso de gametos congelados, podemos decir que es una opción aceptable, siendo útil para pacientes varones con deseos de preservación de fertilidad, aquellos con diagnóstico de factor masculino severo que desean usar el banco de espermatozoides donado, para pacientes con distintos problemas, desde enfermedades graves como cáncer, hasta situaciones donde no se puede contar con la pareja en el momento de los procedimientos y es necesario la congelación de los gametos para su uso posterior.

## **CONCLUSIÓN**

La criopreservación de espermatozoides es una técnica importante del manejo de la fertilidad en TAR, pero el daño criogénico a los componentes celulares puede tener efectos perjudiciales sobre la función de los espermatozoides. Con la capacidad que tienen los ovocitos de reparación del ADN, se observa que el uso de una muestra heteróloga congelada puede no tener implicaciones en el desenlace del embarazo. Lo que nos pone a considerar que en donación de óvulos usando diferentes fuentes de gametos masculinos no existe diferencia en la progresión de los resultados de embarazo una vez transferidos los blastocistos.

Hemos demostrado en el presente estudio que los espermatozoides congelados y descongelados pueden usarse de manera eficiente para TAR después de la congelación y descongelación, sin comprometer significativamente el resultado. Por lo que los hombres con parámetros seminales normales, o aquellos con baja concentración y motilidad espermática, la criopreservación es un método factible y el pronóstico es aceptable. Siendo además, una opción para aquellas parejas con deseos de la fertilidad que necesiten de bancos de espermatozoides y con esto lograr conseguir formar una familia y les sea posible llevar un bebe vivo y sano a casa.

Aunque los espermatozoides criopreservados se han utilizado eficazmente para ayudar a la reproducción durante décadas, se recomienda que se realicen estudios de seguimiento a largo plazo en la descendencia obtenida de espermatozoides criopreservados en las generaciones futuras para evaluar completamente su seguridad biológica.

### **RECURSOS HUMANOS:**

Dr. Julio Cesar Rosales de Leon. Investigador principal: quien se encargo de asesorar aspectos clínicos de la investigación y de vigilar la recolección de los datos.

Dr. Jesús Arnulfo Roiz Castro. Tesista quien se encargó de realizar el protocolo, la recolección de los datos, su análisis e interpretación, así como la redacción del escrito final.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Colleen Miller, M.D.,<sup>1</sup> Chandra Shenoy, M.D.,<sup>1</sup> Yulian Zhao, Ph.D.,<sup>2</sup> Stephanie Duong, M.S.,<sup>1</sup> Matthew Hathcock, M.S.<sup>1</sup> 1 Mayo Clinic, Rochester, MN; 2 Department of Obstetrics and Gynecology, Mayo Clinic, Rochester, Mn. Outcomes Of Frozen Oocyte Donor In Vitro Fertilization (Ivf) Cycles Using Fresh Versus Frozen Sperm. P-412 4:30 PM Sunday, October 18, 2020
2. Shane T. Russell, Ajay X. Nehra, Donna R. Session, David L. Walker, Alan R. Thornhill. Mayo Fdn, Rochester, MN. Back-Up frozen semen sample use in men planning on giving fresh semen samples for in vitro fertilization (IVF). Wednesday, October15, 2003 3:00PM
3. B. Pinto, M. J. Putman, S. Marynick, N. Broyles, R. D. Dickerson, L. Zhang. Role of back-up frozen semen in couples undergoing in vitro fertilization (IVF).. Volume 82, Supplement 2, S265, September 01, 2004
4. Mahmood Morshedi, Ph.D.t Sergio Oehninger, M.D. L. L. Veeck, M.L.T. Hakan Ertunc, M.D. Silvina Bocca, M.S. Anibal A. Acosta, M.D. Cryopreserved thawed semen for in vitro fertilization: results from fertile donors and infertile patients. Fertility And Sterility Copyright 10 1990 The American Fertility Society
5. Mahony, M. C., Morshedi, M., Scott, R. T., De Villiers, A. and Erasmus, E.: Role of spermatozoa cryopreservation in assisted reproduction. In: Human Spermatozoa in Assisted Reproduction. Edited by A. A. Acosta, R. J. Swanson, S. B. Ackerman, T. A. F. Kruger, J. A. Van Zyl and R. Menkveld. Baltimore: Williams & Wilkins Co., chapt. 10, p. 100, 1990
6. Triana, V.: Artificial insemination and semen banks in Italy. In: Human Artificial Insemination and Semen Preservation. Edited by G. David and W. Price. New York: Plenum, p. 51, 1980
7. Matheson, G. W., Calborg, L. and Gemze, C.: Frozen human semen for artificial insemination. Am J Obstet Gynecol, 104: 495, 1969.
8. Bunge, R. G. and Sherman, J. K.: Fertilizing capacity of frozen human spermatozoa. Nature, 172: 767, 1953
9. Sherman, J. K.: Cryopreservation of human semen. In: CRC Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility. Edited by B. A. Keel and B. W. Webster. Boston: CRC Press, Inc., chapt. 13, p. 229, 1990.
10. Edson Borges Jr., M.D., Ph.D.,<sup>a</sup> Lia Mara Rossi, Ms.C.,<sup>a</sup> Christiany Victor Locambo de Freitas, Ms.C.,<sup>a</sup> Patrícia Guilherme, Ms.C.,<sup>a</sup> Tatiana Carvalho S. Bonetti, Ms.C.,<sup>a</sup> Assumpto Iaconelli, M.D.,<sup>a</sup> and Fabio Firmbach Pasqualotto, M.D., Ph.D.<sup>a,b</sup> Fertilization and pregnancy outcome after intracytoplasmic injection with fresh or cryopreserved ejaculated spermatozoa. (Fertil Steril 2007;87:316–20. ©2007 by American Society for Reproductive Medicine.)

11. Barratt CLR, Clements S, Kessopoulou E. Semen characteristics and fertility tests required for storage of spermatozoa. *Hum Reprod* 1998;13:1–7.
12. Polge C, Smith AU, Parker AS. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperature. *Nature* 1949;164: 666–7.
13. Royere D, Barthelemy C, Hamamah S, Lansac J. Cryopreservation of spermatozoa: a 1996 review. *Hum Reprod Update* 1996;2:553–9.
14. Smith KD, Rodriguez-Rigau LJ, Steinberger E. The influence of ovulatory dysfunction and timing of insemination on the success of artificial insemination donor (AID) with fresh or cryopreserved semen. *Fertil Steril* 1981;36:496–502.
15. Subak LL, Adamson GD, Boltz NL. Therapeutic donor insemination: a prospective randomized trial of fresh versus frozen sperm. *Am J Obstet Gynecol* 1992;70:313–6.
16. Ashkenazi J, Dicker D, Feldberg D, Goldman JA. Fresh versus frozen thawed semen for initial and late insemination in IVF-ET cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991;42:115-7.
17. Lansac J, Thepot F, Mayaux MJ, Czyglick F, Wack T, Selva J, et al. Pregnancy outcome after artificial insemination or IVF-ET with frozen semen donor: a collaborative study of the French CECOS Federation on 21597 pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997;74:223–8
18. Stanic P, Tandara M, Sonicki Z, Simunic V, Radakovic B, Suchanek E. Comparison of protective media and freezing techniques for cryopreservation of human semen. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;91:65–70.
19. Ranganathan P, Mahran AM, Hallak J, Agarwal A. Sperm cryopreservation for men with nonmalignant, systemic diseases: a descriptive study. *J Androl* 2002;23:71–5.
20. Hammadeh ME, Greiner S, Rosenbaum P, Schmidt W. Comparison between human sperm preservation medium and TEST-yolk buffer on protecting chromatin and morphology integrity of human spermatozoa in fertile and subfertile men after freeze-thawing procedure. *J Androl* 2001;22:1012–8.
21. Kelly MP, Corson SL, Gocial B, Batzer FR, Gutmann JN. Discontinuous Percoll gradient preparation for donor insemination: determinants for success. *Hum Reprod* 1997;12:2682–6.
22. Rose NR et al. (1976) Techniques for detection of iso- and auto-antibodies to human spermatozoa. *Clinical and Experimental Immunology*, 23: 175-199.
23. Johannisson E et al. (2000) Evaluation of ‘round cells’ in semen analysis: a comparative study. *Human Reproduction Update*, 6: 404-412.
24. Anger JT, Gilbert BR, Goldstein M. Cryopreservation of sperm: indication, methods and results. *J Urol* 2003;170:1079–84.

25. Marcus-Braun N, Braun G, Potashnik G, Har-Vardi I. Effect of cryopreservation on quality and fertilization capacity of human sperm. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;116:63–6.
26. Cohen J, Edwards RG, Fehilly CB, Fishel SB, Hewitt J, Rowland GF, Steptoe PC, Walters DE, Webster J: In vitro fertilization using cryopreserved donor semen in cases where both partners are infertile. *Fertil Steril* 43:570, 1985
27. Englert Y, Delvigne A, Vekemans M, Lejeune B, Henlisz A, de Maertelaer G, Leroy F: Is fresh or frozen semen to be used in in vitro fertilization with donor sperm? *Fertil Steril* 51:661, 1989
28. Desrosiers P, Legare C, Leclerc P, Sullivan R. Membranous and structural damage that occur during cryopreservation of human sperm may be timerelated events. *Fertil Steril* 2006;85:1744–52.
29. Edelstein A, Yavetz H, Kleiman SE, Hauser R, Botchan A, Paz G, et al. Effect of long-term storage on deoxyribonucleic acid damage and motility of sperm bank donor specimens. *Fertil Steril* 2008;90:1327–30.
30. Langley MT, Marek DM, Gardner DK, Doody KM & Doody KJ. Extended embryo culture in human assisted reproduction treatments. *Hum Reprod* (2001). 16, 902–908.
31. Donnelly ET, Steele EK, McClure N & Lewis SE. Assessment of DNA integrity and morphology of ejaculated spermatozoa from fertile and infertile men before and after cryopreservation. *Hum Reprod* (2001) 16, 1191–1199.
32. Ozkavukcu S, Erdemli E, Isik A, Oztuna D & Karahuseyinoglu S. Effects of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural morphology of human spermatozoa. *J Assist Reprod Genet* (2008) 25, 403–411.
33. Gasca S, Pellestor F, Assou S, Loup V, Anahory T, Dechaud H, De Vos J & Hamamah S. Identifying new human oocyte marker genes: a microarray approach. *Reprod Biomed Online* (2007) 14, 175–183.
34. Menezo Y, Dale B & Cohen M. DNA damage and repair in human oocytes and embryos: a review. *Zygote* (2010) 18, 357–365.
35. Marchetti F, Essers J, Kanaar R & Wyrobek AJ. Disruption of maternal DNA repair increases sperm-derived chromosomal aberrations. *Proc Natl Acad Sci USA* (2007) 104, 17725–17729.
36. Meseguer M, Santiso R, Garrido N, Garcia-Herrero S, Remohi J & Fernandez JL. Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. *Fertil Steril* (2011) 95, 124–128.

37. Nallella KP, Sharma RK, Allamaneni SS, Aziz N & Agarwal A. (2004) Cryopreservation of human spermatozoa: comparison of two cryopreservation methods and three cryoprotectants. Fertil Steril 82, 913–918.
38. J.D. Benson, E.J. Woods, E.M. Walters, J.K. Critser. Special Collection of Papers in Honor of Dr. John K. Critser. The cryobiology of spermatozoa. Theriogenology 78 (2012) 1682–1699

## ANEXOS

### Anexo. 1 Hoja de Recolección de Datos.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
CENTRO DE FERTILIDAD IECH MONTERREY N.L**

**“IMPACTO DE LA CONGELACIÓN DE SEMEN EN RESULTADOS DE FIV”**

**Número de folio**

**Fecha**

**Nombre:** \_\_\_\_\_ **Edad:** \_\_\_\_\_ **Años**

**Método ROPA:** Si ( ) No ( )

**Óvulos:** ( ) 1. Homólogo ( ) 2. Donado fresco ( ) 3. Banco Óvulos

**Donación:** ( ) 1. Completa (Óvulos-esperma) ( ) 2. Esperma Congelado  
( ) 3. Esperma Homólogo

**Tratamiento:** ( ) 1. FIV/ICSI ( ) 2. Transf. Embriones ( ) 3. FET

**Tipo de esterilidad:** ( ) 1. Primaria ( ) 2. Secundaria

**Tiempo de esterilidad:** \_\_\_\_\_ años

**Diagnóstico:**

( ) 1. Factor Masculino

( ) 2. Uterino (Miomias, Pólipo)

( ) 3. Endometriosis/Endometrioma

( ) 4. Ovario (Sop, Low Fertility, Br, Anovulación, Oligoovulación, Quistes) ( ) 5. Tubárico (Oclusión, Hidrosalpinx)

( ) 6. Cervical

( ) 7. Causa Desconocida

**( ) 8. Inmunológica**

**Laboratorios:**

**AMH:**\_\_\_\_ng/ml **FSH:** \_\_\_\_\_mUI/ml **LH:**\_\_\_\_\_mUI/ml **TSH:** \_\_\_\_\_uUI/ML

**Prolactina:**\_\_\_\_\_ng/ml

**Tratamientos previos:** ( ) 1.No ( ) 2. IIU-HE( ) 3. FIV

**Número de IIU previas:** \_\_\_\_\_ **Número de FIV previas:**\_\_\_\_\_

**Protocolo:**

( ) 1. Cc/Ia ( ) 2. Cc + Gonadotropinas

( ) 3. Gonadotropinas ( ) 4. Preparación Endometrial

**Dosis total de gonadotropinas:**\_\_\_\_\_UI

**GnRH:** ( ) 1. Antagonista ( ) 2. Agonista (Largo O Corto)

**Días de estimulación:** \_\_\_\_\_

**HCG:** ( ) 1. Ovidrel 250UI ( )2. HCG (Choragon-Choriomon) 10,000UI ( )3. Agonista

**Número de folículos aspirados:**\_\_\_\_\_ **Número de óvulos obtenidos:** \_\_\_\_\_ **Número de MII:**\_\_\_\_\_

**Numero de Fertilizados:**\_\_\_\_\_ **Blastos:**\_\_\_\_\_

**FIV:** \_\_\_\_\_ **ICSI:**\_\_\_\_\_

**Embriones vitrificados en día 3:**\_\_\_\_\_ **Embriones vitrificados en día 5:** \_\_\_\_\_ **Embriones vitrificados en día 6:** \_\_\_\_\_

**Se transfirió:**

( ) 1. Si ( ) 2. No

**Número de Transferidos:**\_\_\_\_\_ **Día de Transferencia:**\_\_\_\_\_

**Vitrifico embriones:**

( ) 1. Si ( ) 2. No

**Número total de Vitrificados:**

**PIE:** ( ) 1. Positivo ( ) 2. Negativo

**Embarazo:** ( ) 1. Negativo ( ) 2. Clínico-FCF+ ( )3. Bioquímico

**Número de sacos implantados:**

**Continuo:** ( ) 1. Si ( ) 2. No

<b>Espermograma:</b>	
<b>PRE Capacitación</b>	<b>POS Capacitación:</b>
<b>Volumen: _____ ml</b>	<b>Volumen: _____ ml</b>
<b>Cuenta por ml: _____ x6/ml</b>	<b>Cuenta por ml: _____ x6/ml</b>
<b>Cuenta total: _____ millones</b>	<b>Cuenta total: _____ millones</b>
<b>Motilidad progresiva: _____ %</b>	<b>Motilidad progresiva: _____ %</b>
<b>Motilidad total: _____ %</b>	<b>Motilidad total: _____ %</b>
<b>Cuenta total motil: _____ %</b>	<b>Cuenta total motil: _____ %</b>
<b>Morfología: _____ %</b>	<b>Morfología: _____ %</b>

Hoja de recolección realizada por **Dr. Jesús Arnulfo Roiz Castro** Médico residente de segundo Grado de la Subespecialidad en Biología de la Reproducción Humana en Centro De Fertilidad IECH Monterrey N.L.