

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**EVALUACIÓN DE LA INCUBACIÓN POST CAPACITACIÓN A 37 C
VS 25 C SOBRE LOS PARÁMETROS DE MOTILIDAD
ESPERMÁTICA**

Por:

DR. RICARDO PÉREZ GARZA

**Como requisito para obtener el grado de
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

Monterrey Nuevo León. Diciembre 2023
**EVALUACIÓN DE LA INCUBACIÓN POST CAPACITACIÓN A 37 C VS 25
C SOBRE LOS PARÁMETROS DE MOTILIDAD ESPERMÁTICA**

Aprobación de la tesis:



Dr. Luis Humberto Sordia Hernandez
Director de Tesis



Dr. Med. Abel Guzmán López
Jefe del departamento de Ginecología y Obstetricia

~~**Dr. Med. Lezmes-Dionisio Valdes Chapa**
Jefe de Enseñanza
Departamento de Ginecología y Obstetricia~~



Dr. Med. Osear Rubén Treviño Montemayor
Coordinador de Investigación
Departamento de Ginecología y Obstetricia



Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido de manera significativa a la realización de esta tesis de especialidad médica. Este logro no habría sido posible sin el apoyo, la orientación y la inspiración de muchas personas excepcionales.

En primer lugar, deseo expresar mi profundo agradecimiento al Dr. Luis Humberto Sordia Hernandez mi supervisor de tesis, cuya experiencia, paciencia y orientación han sido fundamentales en cada etapa de este proyecto. Su dedicación a la excelencia académica y su capacidad para motivarme han sido una fuente constante de inspiración.

Agradezco sinceramente al personal del CEUMER por proporcionar el entorno propicio para llevar a cabo este estudio. La colaboración y el apoyo de mis colegas han enriquecido mi experiencia y contribuido al éxito de esta investigación.

Quisiera expresar mi gratitud a los pacientes que participaron en este estudio. Su generosidad al compartir su tiempo y experiencias ha sido fundamental para la obtención de datos significativos y la aplicación práctica de los hallazgos de esta investigación.

Agradezco a mi familia por su amor incondicional, paciencia y apoyo durante todo este proceso. Su comprensión y aliento han sido mi mayor motivación.

Finalmente, dedico este logro a mis amigos y seres queridos, cuyo apoyo moral y emocional ha sido fundamental en los momentos más desafiantes. Gracias por creer en mí y alentarme a alcanzar mis metas.

TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
Tabla 1. Evaluación inicial de las muestras incluidas en el estudio.	32
Tabla 2. Resultados de la evaluación cinemática.	33
Tabla 3. Concentración (M/mL) de las muestras según su velocidad.	33
Tabla 4. Concentración (M/mL) de las muestras post capacitación según su velocidad.	34
Tabla 5. Concentración (M/mL) de las muestras post capacitación según su velocidad.	34
Tabla 6. Comparativa de los parámetros cinemáticos post capacitación.	35

LISTA DE ABREVIATURAS

UANL: Universidad Autónoma de Nuevo León

TRA: técnicas de reproducción asistida

NHS: National Health Service de Reino Unido

OMS: Organización Mundial de la Salud

LH: hormona luteinizante

FSH: hormona foliculoestimulante

SDF: fragmentación de ADN

IUI: inseminación intrauterina

FIV-ET: fertilización in vitro y transferencia de embriones

GIFT: transferencia intrafalopiana de gametos

SUZI: inseminación de esperma subzonal

PZD: disección parcial de la zona

ICSI: inyección intracitoplasmática de espermatozoides

DGC: centrifugación en gradiente de densidad

CASA: computer asissted semen analysis

VAP: velocidad de trayectoria media

VSL: velocidad en línea recta

VCL: velocidad curvilínea

ALH: amplitud lateral del desplazamiento de la cabeza

BCF: frecuencia de cruzamientos

STR: rectitud

LIN: linealidad

HOST: test hipoosmótico

AR: reacción acrosomal

IQR: rango inter quartil

AKAP: proteína de anclaje A-kinasa

AMPc: adenosin monofosfato cíclico

CAPITULO I

RESUMEN

“Evaluación de la incubación post capacitación a 37 C vs 25 C sobre los parámetros de motilidad espermática”

Introducción.- La capacitación espermática es fundamental para lograr una fertilización *in vitro* eficiente. Sin embargo, la movilidad espermática puede verse modificada por la temperatura del medio.

Objetivo general.- Evaluar el efecto de la incubación a 37° C y a temperatura ambiente (25° C) posterior a la capacitación espermática sobre los parámetros de motilidad.

Metodología.- Se realizó un estudio observacional, transversal analítico, a partir del análisis de muestras seminales obtenidas para reproducción asistida de pacientes con 2-5 días de abstinencia sexual. Se incluyeron muestras de esperma de veinte pacientes. Cada muestra fue evaluada inicialmente y posterior a la capacitación espermática. Después de la capacitación, la muestra se dividió en 2 alícuotas, una se mantuvo a temperatura ambiente y la otra se incubó a 37 °C durante una hora, después de la cual se evaluaron los parámetros de motilidad. Se midieron los siguientes parámetros de motilidad espermática: velocidad curvilínea ($\mu\text{m/s}$), velocidad de trayectoria media ($\mu\text{m/s}$), velocidad en línea recta ($\mu\text{m/s}$), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (μm) y la frecuencia de cruzamientos. Se compararon los parámetros de motilidad espermática entre los grupos empleando como prueba inferencial la T de muestras pareadas, observando que la mayoría de los parámetros cinemáticos mejoraron posterior a la incubación a 37 °C.

Palabras clave.- Capacitación espermática, CASA, semen, motilidad espermática.

CAPITULO II

INTRODUCCIÓN

La infertilidad es un problema de salud mundial que afecta a millones de personas en edad de procrear en todo el mundo. Los datos disponibles indican que entre 48 millones de parejas y 186 millones de personas tienen infertilidad en todo el mundo. Se trata de una enfermedad del sistema reproductivo masculino o femenino consistente en la imposibilidad de conseguir un embarazo después de 12 meses o más de relaciones sexuales habituales sin protección ¹.

Generalmente, la mitad de los casos se deben a factor masculino y la otra mitad a factor femenino ². Por tanto, se han desarrollado métodos para ayudar a las parejas con infertilidad a resolver su problema ³. La evaluación médica de la infertilidad se recomienda para una pareja que, a pesar de tener relaciones sexuales regulares sin utilizar métodos anticonceptivos, no ha conseguido un embarazo después de un año de intentarlo ⁴.

La Encuesta en Salud Reproductiva en México, en el 2003, incorporó un módulo sobre fertilidad, que constan de 16 preguntas las cuales indagarán sobre la prevalencia de la infertilidad en mujeres en edad reproductiva y sexualmente activas. Se valoraron las acciones tomadas para el tratamiento de esta, servicios de salud consultados y tratamiento administrado. Se describió que el 67.5% de las pacientes con infertilidad primaria y el 47.7% de casos de infertilidad secundaria requirieron servicios de reproducción asistida ⁵.

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) comprenden diversos tratamientos destinados a resolver los trastornos de fertilidad. La fertilización *in vitro* es una técnica de reproducción asistida que consiste en extraer óvulos de los ovarios de la

paciente y fertilizarlos con esperma *in vitro*. Este óvulo fertilizado se desarrolla en el laboratorio donde posterior a 3-5 días el embrión puede transferirse al útero de la paciente o criopreservarse para una posterior transferencia embrionaria ⁶.

Previo a la fertilización, los espermatozoides deben ser capacitados *in vitro* y seleccionados para conseguir una muestra libre de contaminantes y factores decapacitantes, así como obtener la mayor cantidad de espermatozoides viables, móviles y capaces de llegar a fecundar el ovocito. Aunque la capacitación se ha realizado habitualmente a temperatura ambiente (25° C), estudios recientes sugieren que la incubación a temperaturas cercanas a 37° C mejora la motilidad y la morfología de los espermatozoides ⁷, sin embargo, se requiere mayor evidencia al respecto.

Las técnicas convencionales de selección espermática únicamente seleccionan y recuperan a los espermatozoides con mejor movilidad y morfología, pero carecen de certeza si esos espermatozoides fecundarán exitosamente debido a que no toman en cuenta las anomalías funcionales o fisiológicas que pueden contribuir a la infertilidad masculina ^{8,9}.

Por tanto, en el presente estudio se evaluará el efecto de la incubación post capacitación espermática a 37°C y a temperatura ambiente (25°C) sobre los parámetros de motilidad. Lo anterior podría ayudar a identificar si la incubación a 37°C posterior a la capacitación mejora los parámetros de motilidad espermática. Los resultados del estudio, por tanto, ayudarán a elegir las condiciones ideales para mantener la muestra posterior a realizar la capacitación espermática y previo a la fertilización *in vitro*.

CAPITULO III

ANTECEDENTES

Definición y epidemiología de infertilidad

La infertilidad se define como la incapacidad de lograr un embarazo clínico después de un periodo de 12 meses o más de relaciones sexuales regulares no protegidas (infertilidad primaria). La infertilidad secundaria se refiere a las parejas que han podido quedar embarazadas al menos una vez, pero que posteriormente no lo logran ^{10, 11}. La frecuencia de las relaciones sexuales se debe de mantener cada 2-3 días ¹².

A nivel mundial se estima que la infertilidad afecta al 15% de las parejas en edad reproductiva. Siendo los hombres los responsables del 20-30% del total de los casos, sin embargo, ellos contribuyen al 50% de los casos en general. En algunas regiones del mundo, las tasas de infertilidad son mucho más altas, alcanzando alrededor del 30%, como el sur de Asia, África subsahariana, Medio Oriente, Norte de África, Europa central y Asia central ^{13, 14}.

En México, aproximadamente una sexta parte de las parejas que aspiran a tener descendencia enfrentan dificultades para lograr la concepción. Anualmente, en el país se identifican más de 2 mil nuevas causas de infertilidad. Según datos del INEGI, en el año 2005, la población en edad reproductiva en México se estimaba en 34 millones de personas ¹⁵.

Según el NHS Choices en el 2014, de cada 100 parejas que intenten lograr un embarazo de manera natural, el 84% lograrán la concepción al año de intentarlo, 92% a los 2 años y el 93% después de los 3 años. Si después de 3 años no se tiene

éxito con este método, la probabilidad de lograr el embarazo por este medio será del 25% o menos ¹⁶. Es de relevancia que la pareja discuta este problema para poder tomar decisiones conjuntas que respeten los deseos de ambos para que cualquier tratamiento de fertilidad pueda tener un buen manejo.

En América, un informe de la Encuesta Nacional de Crecimiento Familiar 2006-2010 estimó que el 6% de las mujeres casadas de entre 15 y 44 años en los Estados Unidos son infértiles ¹⁷. En México, Vargas y col., evaluaron las características generales de pacientes con infertilidad, encontrando un predominio de infertilidad primaria (63.7%), seguido de infertilidad secundaria (36.2%). La población estudiada manifestó alta frecuencia de causas mixtas (88.7%). El factor que con mayor frecuencia se vio alterado fue el endocrino-ovárico (82.7%), seguido del factor cervical (80%), factor masculino (38%) y el factor tuboperitoneal (29%) ¹⁸.

Por otra parte, González reportó la frecuencia de subfecundidad y de infertilidad en la población general de mujeres mexicanas utilizando la base de datos de la Encuesta Nacional de Salud Reproductiva del 2003. Se reportó que el 11% de las mujeres que ya habían tenido alguna relación sexual eran subfecundas y el 4% infértiles. El 15% del total de las entrevistadas experimentó alguna vez durante su vida fértil un periodo de infertilidad de 12 meses o más ¹⁹.

Etiología de infertilidad

Cuando se experimentan problemas de fertilidad, las causas pueden ser múltiples y superponerse, los factores asociados pueden ser anatómicos, fisiológicos, genéticos, ambientales y adquiridos, incluso es posible que la causa sea una combinación de ellos entre ambas personas, siendo las causas más comunes de infertilidad en hombres y mujeres, el factor masculino, anovulación, enfermedad de las trompas de Falopio, uterina, endometriosis e infertilidad inexplicada ^{20, 21}.

De acuerdo con la investigación llevada a cabo en el Hospital Juárez de México, las causas más comunes de infertilidad en mujeres dentro de las pacientes que acudieron al Departamento de Biología de la Reproducción Humana en 1999 fueron los problemas en la ovulación (31.2%), seguido del factor tuboperitoneal (27.5%), el factor cervical (5.5%), el factor uterino (4.6%), y la condición de endometriosis (3.7%). Además, en México, el síndrome de ovario poliquístico se presenta como la anomalía más común en el factor endocrino-ovárico, afectando al 35% de los casos ²².

El factor masculino se considera una alteración en la concentración y/o motilidad y/o morfología de los espermatozoides. Para su estudio se recomienda realizar dos espermogramas, con 1 y 4 semanas de diferencia. Resultados alterados se utiliza como una medida sustituta de la fecundidad masculina ²³. El 40% de las causas de infertilidad masculina son idiopáticas, pero se ve una relación estrecha entre los fallos de tratamientos de reproducción asistida con causas genéticas, estilo de vida no saludable o factores del medio ambiente que pueden provocar falla testicular ²⁴.

La OMS publicó en 2021, la sexta edición de un manual para el análisis del semen humano. Los hombres con parámetros de esperma por debajo de los valores normales podrían sugerir infertilidad por factor masculino (menos de 15 millones de espermatozoides/mL). Las afecciones más importantes son la baja concentración de espermatozoides (oligospermia), la movilidad deficiente de los espermatozoides (astenospermia) y la morfología anormal de los espermatozoides (teratospermia) ¹.

Se ha descrito que hasta el 90% de los problemas de infertilidad masculina están relacionados con el recuento de espermatozoides y existe una asociación positiva entre los parámetros anormales del semen y el recuento de espermatozoides. El problema con el recuento, la motilidad y la morfología de los espermatozoides se debe a la desorganización del mecanismo de control, incluidos los factores pretesticulares, testiculares y posttesticulares ²⁵.

Dentro de las razones anteriores a la etapa pretesticular se incluyen afecciones relacionadas con el hipotálamo, como el Síndrome de Kallman, así como deficiencias específicas de hormona luteinizante (LH) u hormonal foliculoestimulante (FSH), y trastornos congénitos hipogonadotrópicos. Además, se encuentran problemas en la glándula pituitaria, como insuficiencia pituitaria, hiperprolactinemia y el uso de hormonas externas, entre otros ²⁶.

Los factores de origen testicular que pueden influir en la calidad del esperma abarcan desde anomalías cromosómicas, la anorquia bilateral, exposición a sustancias gonadotóxicas, episodios de orquitis, lesiones traumáticas en los testículos y enfermedades sistémicas, entre otras causas adicionales ²⁶.

Las causas que afectan el transporte de espermatozoides (ya sean congénitas, adquiridas o funcionales), junto con las alteraciones en la movilidad y la función de los espermatozoides, representan los factores post testiculares que pueden presentarse ²⁶.

Algunos términos importantes que se deben conocer para describir los factores que se relacionan con las anormalidades en el esperma son ²⁷:

- Aspermia: el paciente no produce semen
- Azoospermia: el paciente produce semen, pero este no contiene espermatozoides
- Oligospermia: la concentración de esperma es menor de 15 millones por mililitro.
- Astenospermia: Menos del 40% del esperma eyaculado presenta movimiento.
- Teratospermia: Menos del 4% de los espermatozoides tienen una forma normal.

El análisis de semen es una prueba simple que evalúa la formación y madurez de los espermatozoides, así como su interacción en el líquido seminal. También proporciona información no solo sobre la producción de espermatozoides (recuento), sino también sobre la calidad de los espermatozoides (motilidad, morfología). Más recientemente se ha estudiado la fragmentación del ADN espermático (SDF) reconocido como una herramienta valiosa para la evaluación de la fertilidad masculina debido a que se ha relacionado con múltiples factores mediados por una serie de eventos celulares, como la apoptosis espermática, el estrés oxidativo y la anomalía en el empaquetamiento de la cromatina durante la espermatogénesis ²⁸.

Técnicas de reproducción asistida

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) se definen como el conjunto de técnicas desarrolladas para aumentar la probabilidad de lograr un embarazo en parejas que tienen problemas para concebir de manera natural, implican manipulaciones tanto de ovocitos como de espermatozoides in vitro ²⁰.

Las TRA tienen como objetivo superar las barreras naturales a la fertilización con la posibilidad de procrear un hijo genéticamente relacionado, se incluyen, inseminación intrauterina (IIU), fertilización in vitro y transferencia de embriones (FIV-ET), transferencia intrafalopiana de gametos (GIFT), inseminación de esperma subzonal (SUZI), disección parcial de la zona (PZD) e inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ^{29, 30}.

La técnica de FIV requiere espermatozoides en concentración y función óptima para completar con éxito la secuencia de eventos que conducen a la fertilización. Mientras que la ICSI implica la inyección directa de un espermatozoide en el ovocito. Esta técnica está indicada para tratar la infertilidad por factor masculino severo, la cual puede deberse a la falta de espermatozoides en el eyaculado debido a una

espermátogénesis gravemente alterada (azoospermia no obstructiva) u obstrucción del tracto reproductivo no reconstruible (azoospermia obstructiva) ³¹.

La ICSI puede realizarse con espermatozoides eyaculados frescos o criopreservados, espermatozoides epididimarios o testiculares extraídos microquirúrgicamente. En el año 2000, la proporción de ciclos de ICSI que se realizaban a escala mundial fue de 47.6%, y para el año 2010 representó el 66% ³², ³³, lo que denota un incremento en su uso.

Capacitación y selección espermática

La capacitación espermática se define como una serie de cambios bioquímicos y fisiológicos por los cuales el espermatozoide termina su maduración y supera barreras fisiológicas dentro del tracto genital femenino, con lo cual se adquiere la capacidad para llevar a cabo los procesos necesarios para fecundar al óvulo, tales como la hiperactivación y la reacción acrosomal ³⁴.

Cuando hablamos de pacientes que requieren someterse a TRA, es necesario que este proceso de capacitación y selección espermática se lleve a cabo *in vitro*, para imitar los procesos que se dan *in vivo* y de esta manera se obtenga una muestra libre de contaminantes y factores decapacitantes, con un número suficiente de espermatozoides viables, móviles y funcionales para la fecundación ^{35, 36}.

Selección espermática

La selección espermática se realiza mediante swim-up y centrifugación en gradiente de densidad (CGD), que son las técnicas principales que se utilizan para separar los espermatozoides móviles funcionales de los otros componentes del semen en los ciclos de TRA. El swim-up está diseñado para aislar espermatozoides altamente móviles y CGD está diseñado para separar los espermatozoides según el empaque de los cromosomas por su densidad. Los gradientes de densidad posibilitan la

separación de la muestra de espermatozoides según la capacidad de los espermatozoides para desplazarse a través de diferentes medios con variaciones en su densidad. Los espermatozoides de mayor calidad y movilidad tendrán la capacidad de llegar hasta el fondo del tubo, superando la creciente densidad de los medios y estos serán los espermatozoides que se seleccionaron para llevar a cabo la TRA. Ambos son útiles para seleccionar células espermáticas de morfología y motilidad adecuadas ^{37, 38}.

Se realiza una migración espermática, que produce una subpoblación de espermatozoides con una mejor morfología, basado en el proceso de distribución diferencial de defectos morfológicos entre la pieza intermedia y el flagelo en espermatozoides con morfología normal o anormal de cabeza. Cuando se realiza la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), habitualmente se selecciona espermatozoides móviles que tienen una morfología de cabeza “aparentemente” normal ³⁹.

Capacitación espermática

En el caso de la inseminación intrauterina (IIU), los espermatozoides capacitados son disparados dentro de la cavidad uterina por medio de un catéter. Esto significa que los espermatozoides aún tendrán que superar algunas barreras fisiológicas del tracto reproductor femenino. En cambio, en la técnica de FIV los espermatozoides, ya no tienen que superar estas barreras. En el caso de una FIV convencional, los espermatozoides que son depositados en donde se encuentra el ovocito aún tendrán que superar la zona pelúcida. No obstante, cuando se trata de un procedimiento a través de ICSI, sólo un espermatozoide será inyectado en el interior del ovocito; a pesar de ello, no se puede saber si este espermatozoide, de entre toda la población, será el más adecuado para fecundar al ovocito ⁴⁰.

En cuanto a la metodología, para que se produzca la capacitación espermática se requiere un medio de cultivo que contenga ³⁹:

- (i) Una concentración de CO_3H^- de al menos 20Mm.
- (ii) Un mínimo de 10mg/ml de albúmina humana
- (iii) Una concentración de CaCl_2 de 1.5mM
- (iv) Y que las suspensiones de espermatozoides sean incubadas a 37°C durante al menos 4 horas ⁴¹.

Se deben colocar las suspensiones en el incubador de CO_2 a 37°C después de haber sido procesadas. Es muy importante ajustar bien el tiempo de intervalo entre la preparación de las muestras y su uso para TRA. La capacitación puede producirse en 1 ó 2 horas, sin embargo, puede llegar a tardar 8 horas o más. Por lo tanto, se puede producir una sobrecapacitación que podría llevar a un “agotamiento bioquímico”, por ello se recomienda que una vez procesadas las muestras, sean incubadas a temperatura ambiente hasta 1 hora antes de realizar la técnica correspondiente y después de este período, se introduzcan en el incubador de CO_2 a 37°C ³⁹.

Los medios de cultivo deben tener un pH que esté dentro de límites indicados para los espermatozoides (de 7.0 a 8.0), lo cual permite que puedan incubarse a temperatura ambiente sin estar expuestos a una atmósfera de CO_2 al 5%. Una vez que se haga la FIV convencional, los espermatozoides disponen de tiempo suficiente para poder capacitarse. En el caso de la inseminación IIU, la capacitación tiene lugar a nivel del istmo de las trompas. La capacitación de los espermatozoides implica una serie de cambios en su estructura y movilidad que les permiten atravesar la densa membrana que rodea al ovocito. Esto posibilita que el espermatozoide se fusione con el óvulo, dando lugar a la formación del embrión ³⁹.

Parámetros de motilidad espermática

La tecnología CASA (Computer Assisted Semen Analysis) es un sistema de análisis automatizado que permite el análisis de la cinemática de la motilidad de los espermatozoides, así como la concentración de espermatozoides y el porcentaje de

movilidad en las preparaciones lavadas. El análisis CASA puede usarse en el diagnóstico de infertilidad humana para identificar subpoblaciones de espermatozoides con la cinemática adecuada para penetrar en el moco cervical o que muestran motilidad hiperactivada en condiciones de capacitación. Los parámetros que evalúa son: motilidad, concentración, morfología, fragmentación de ADN, vitalidad, y reacción del acrosoma ⁴². En la Tabla 1 se describen los parámetros de motilidad espermática.

Por otra parte, el examen microscópico del semen incluye la evaluación de motilidad, vitalidad, recuento y morfología de los espermatozoides. La temperatura para evaluar la motilidad y progresión del espermatozoide idealmente debe ser a 37°C. Sin embargo, se puede hacer entre 20 y 24 °C siempre y cuando sea constante para que no afecte la motilidad de los espermatozoides ya que estos son muy sensibles a cambios de temperatura. Para ello, se utiliza una muestra de semen no diluida de 10 µl. Para el cual se debe adoptar un sistema que permita el recuento de 200 espermatozoides por placa, con una magnificación de 400X a 600X con el fin de clasificar su motilidad de acuerdo a los parámetros de motilidad A, B, C y D.

43

- (i) Motilidad tipo A: el espermatozoide con motilidad rápida, a una velocidad de progresión de ≥ 25 $\mu\text{m/s}$ a 37°C, equivalente a la mitad de la cola en distancia de 0 a 5 cabezas.
- (ii) Motilidad tipo B: espermatozoides con motilidad progresiva lenta, a una velocidad de progresión entre 5-25 $\mu\text{m/s}$ a 37°C, lo que equivale a la mitad de la cola en distancia.
- (iii) Motilidad tipo C: espermatozoides con motilidad no progresiva.
- (iv) Motilidad tipo D: espermatozoides inmóviles ⁴³.

Tabla 1. Parámetros de motilidad espermática ⁴⁴.

Parámetro	Abreviatura	Unidad	Descripción
Velocidad de trayectoria media	VAP	µm/s	Distancia de seguimiento promedio de la cabeza del espermatozoide por unidad de tiempo
Velocidad en línea recta	VSL	µm/s	Ganancia total de espacio por la cabeza del espermatozoide por unidad de tiempo
Velocidad curvilínea	VCL	µm/s	Distancia total recorrida por la cabeza del espermatozoide por unidad de tiempo
Amplitud lateral del desplazamiento de la cabeza	ALH	µm	Ancho del movimiento de la cabeza
Frecuencia de cruzamientos	BCF	Hz	Frecuencia de cruce entre la línea de trayectoria curvilínea y media
Rectitud	STR	%	VSL/VAP
Linealidad	LIN	%	VSL/VAP

Estudios previos sobre el efecto de la temperatura en los parámetros de motilidad espermática.

Algunos autores han centrado sus investigaciones en el efecto de la temperatura sobre los parámetros de motilidad espermática. En 2020, Wang y cols., evaluaron la asociación entre la temperatura ambiente y la calidad del espermatozoide en Wuhan, China en 1,780 hombres. Para ello, se realizó un análisis descriptivo de los datos ambientales y los parámetros de los espermatozoides en las cinco ventanas de exposición (lag 0-9, lag 10-14, lag 15-69, lag 70-90 y lag 0-90 días) días antes del análisis del semen y la interacción entre la temperatura y PM_{2.5}. Encontraron que, el incremento de 1 °C en la temperatura ambiente por encima de los umbrales se asoció con una disminución de 2.038 (1.292 ~ 2.783), 1.814 (1.217 ~ 2.411), 1.458

(1.138 ~ 1.777), 0.934 (0.617 ~ 1.251) y 1.604 (1.258 ~ 1.951) en el porcentaje de morfología normal de los espermatozoides en lag 0-9, lag 10-14, lag 15-69, lag 70-90 y lag 0-90 días, respectivamente. Los valores p de interacción de PM_{2.5} y la temperatura fueron en su mayoría menores de 0.05 en cinco ventanas de exposición. Cuando los niveles de exposición a la temperatura ambiente estaban por encima de los umbrales, se observó una disminución de 0.979 (0.659-1.299) y 3.559 (0.251 ~ 6.867) en el porcentaje de morfología normal de los espermatozoides por aumento de 1 ° C en la temperatura con un retraso de 0 a 90 días en el PM_{2.5} ≤ grupo P₅₀ y PM_{2.5} > grupo P₅₀, respectivamente. Se concluyó que, la exposición a la temperatura ambiente tiene un efecto de umbral en todo el proceso y en cada una de las etapas clave de la espermatogénesis ⁴⁵. Entonces, parece que un aumento excesivo de la temperatura del entorno puede afectar negativamente la capacidad del esperma para moverse de manera progresiva. No obstante, es importante tener en cuenta que este estudio se llevó a cabo en un lugar específico (Wuhan, China) y que los resultados podrían no ser aplicables a otras áreas geográficas. Además, otros factores ambientales pueden influir en la calidad del esperma.

Zhou y cols., (2020) evaluaron la asociación entre temperatura ambiental y calidad del semen mediante un estudio longitudinal de 10,802 hombres en China, encontrando que, la exposición a la temperatura del aire <13 °C, cada 5 °C de temperatura más baja se asoció significativamente con una disminución de 1.94×10⁶/ml en la concentración de espermatozoides, 7.12×10⁶ del recuento total, 0.77% de la motilidad total, 0.81% de la motilidad progresiva, 6.48×10⁶ del recuento total de espermatozoides móviles y 5.87×10⁶ del total de espermatozoides progresivos. Cuando la exposición a la temperatura del aire fue ≥13°C, cada incremento de 5°C de temperatura se asoció significativamente con una disminución de 0.70×10⁶/ml en la concentración, 4.09×10⁶ del recuento total, 1.01% de motilidad total, 1.06% de motilidad progresiva, 4.31×10⁶ total de espermatozoides móviles y 4.20×10⁶ de móviles progresivos. Se concluyó que, es importante reducir la exposición a temperaturas ambientales extremas para mantener la calidad del semen. Específicamente, se encontró que la exposición a temperaturas ambientales

extremadamente altas o bajas se asoció con una disminución en la concentración de espermatozoides, la motilidad y la morfología normal de los espermatozoides ⁴⁶.

La reacción acrosomal es importante porque es un proceso que permite al espermatozoide cruzar la zona pelúcida del ovocito y fusionarse con su membrana, lo que es esencial para la fertilización. Durante la reacción acrosomal, el contenido del acrosoma se libera y ayuda al espermatozoide a penetrar en el ovocito. Vidaurri y cols., (2013) determinaron el efecto de la temperatura en la reacción acrosomal espontánea en muestras seminales previas a procedimientos de reproducción asistida. Para ello procesaron las muestras de semen obtenidas de 10 pacientes normoespérmicos. Se utilizó el marcador óptico fluorescente fura ff-AM que permite detectar el incremento de calcio intracelular, posteriormente cada muestra se dividió en: muestras capacitadas incubadas a temperatura ambiente (25°C) y muestras capacitadas incubadas a 37°C. Los autores no encontraron diferencia significativa en la tasa de reacción acrosomal espontánea entre muestras seminales capacitadas mantenidas a temperatura ambiente y las incubadas a 37°C, aún después de cuatro horas de la capacitación. Sin embargo, la reacción acrosomal espontánea tuvo un ligero aumento en las muestras incubadas a 37°C, después de la adición de progesterona, el influjo de calcio fue menor. Se concluyó que los espermatozoides mantenidos a 25°C tienen la misma probabilidad de realizar una reacción acrosomal que los incubados a 37°C ⁴⁷.

Mansilla (2016) determinaron que la temperatura alta es esencial para la función de los espermatozoides humanos preservados durante el proceso de desvitrificación. Para ello, se evaluó la motilidad de los espermatozoides mediante el sistema CASA y la función de la membrana de los espermatozoides mediante un test hiposmótico (prueba HOST), que es un procedimiento sencillo y económico, que posibilita la valoración de la funcionalidad íntegra de la envoltura plasmática del esperma. Encontraron que, la motilidad progresiva de los espermatozoides incubados a 38, 40 y 42 °C fue de $26.4 \pm 8.4\%$; $56.6 \pm 16.3\%$ y $65.4 \pm 15\%$, respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas entre las temperaturas de 38 y 40 °C y

38 y 42 °C ($p < 0.05$). La función de la membrana plasmática evaluada por la prueba HOST se conservó mejor a 42 °C ($76.3 \pm 2.0\%$) en comparación con 40 °C ($43 \pm 2\%$) y 38 °C ($65.6 \pm 1.5\%$). Se concluyó que, la temperatura óptima para preservar los parámetros fisiológicos de los espermatozoides vitrificados descongelados es de 42°C ⁴⁸.

Estandiari y cols., (2002) evaluaron los efectos de la temperatura sobre las características de movimiento de los espermatozoides y las especies reactivas de oxígeno. Para ello, recolectaron muestras de semen de 12 pacientes infértiles y 12 donantes sanos y se utilizó el análisis CASA para evaluar la motilidad y características de los espermatozoides. Encontraron que, la motilidad, la velocidad curvilínea (VCL), la velocidad en línea recta (VLR), la velocidad de trayectoria promedio (VAP) y la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) disminuyeron significativamente con respecto a los valores iniciales tanto en los pacientes como en los donantes después de la incubación a 4° C. El porcentaje de motilidad fue más alto y los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) fueron más bajos en las muestras que se incubaron a 37 °C. Se concluyó que, las muestras de semen deben ser almacenadas a 37 °C, después de la recolección, transporte y procesamiento. Además, concluyeron que los radicales de oxígeno resultan nocivos para los espermatozoides debido a su capacidad para ocasionar deterioro oxidativo en las células del espermatozoide, lo que podría influir en su capacidad de movimiento, forma y función ⁴⁹.

CAPITULO IV

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los cambios necesarios para que los espermatozoides fertilicen a los ovocitos *in vivo* se agrupan bajo el nombre de “capacitación” y luego se modificaron para especificar que los espermatozoides deben residir en el tracto reproductivo femenino para adquirir esta capacidad, este conocimiento llevó al desarrollo de la fecundación *in vitro* ⁵⁰.

Durante la capacitación, los espermatozoides experimentan un cambio en el patrón de motilidad llamado hiperactivación y se vuelven competentes para experimentar un evento secretor fisiológico conocido como reacción acrosómica. La hiperactivación es fundamental para la fertilización porque facilita la liberación de espermatozoides del reservorio oviductal y la penetración a través del cúmulo oóforo y la zona pelúcida que rodea al óvulo. Además los espermatozoides capacitados pueden nadar quimiotácticamente cerca del óvulo utilizando gradientes de progesterona ^{51, 52}.

Con respecto a los espermatozoides humanos, algunos informes han descrito cómo la temperatura influye en la motilidad, la reacción acrosómica espontánea y la capacidad de los espermatozoides para penetrar en el óvulo. Sin embargo, el efecto de la temperatura de incubación en la reacción acrosomal espontánea en espermatozoides humanos capacitados está poco estudiado ⁵³. La reacción acrosomal es un proceso vital donde las membranas del espermatozoide se fusionan, liberando enzimas para atravesar la zona pelúcida del óvulo y comienza tras el contacto del espermatozoide con moléculas en la zona pelúcida ⁵⁴.

Por lo anterior, se pretende determinar si las variaciones de la temperatura: (25° temperatura ambiente y 37° incubación) afectan los parámetros de la motilidad espermática, y por tanto se plantea la siguiente pregunta de investigación.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Tiene la temperatura un efecto sobre los parámetros de motilidad espermática post capacitación espermática?

JUSTIFICACIÓN

La infertilidad es un problema frecuente y la fertilización *in vitro* es el método de reproducción asistida más frecuentemente utilizado para lograr el embarazo de las parejas infértiles.

Realizar el presente estudio es trascendente ya podría aportar información valiosa acerca de la temperatura ideal para mantener la muestra después de aplicada la técnica de separación y, de esta manera, mejorar los parámetros de motilidad.

Medir la capacidad espermática a distintas temperaturas y parámetros de movilidad es importante dado que los espermatozoides morfológicamente normales nadan más rápido y más recto, además de exhibir mayor frecuencia de golpe flagelar.

Por tanto, realizar este estudio puede tener implicaciones importantes pues ayudará a identificar la temperatura ideal post capacitación espermática y previo a la fertilización *in vitro*, aportando información de interés científico y de utilidad para la práctica clínica.

CAPITULO V

HIPÓTESIS

Hipótesis alterna (H1)

La incubación post capacitación a 37 °C vs 25 °C incrementa los parámetros de motilidad espermática.

Hipótesis nula (H0)

No hay diferencia en los parámetros de utilidad espermática cuando la muestra capacitada es incubada a 37° C o 25° C.

CAPITULO VI

OBJETIVOS

General

Evaluar si existe mejoría de la capacitación espermática a temperatura de incubación (37° C) vs temperatura ambiente (25° C) sobre los parámetros de motilidad.

Evaluar si incrementan los parámetros de motilidad al incubar la muestra postcapitación a 37° C o 25°C.

Específicos

1. Describir las características generales de los pacientes.
2. Comparar la velocidad curvilínea, velocidad de trayectoria media, la velocidad en línea recta, la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza y la frecuencia de cruzamientos de los espermatozoides capacitados a 37° C y 25°C.

CAPITULO VII

MATERIAL Y MÉTODOS

- **Diseño de estudio:**

Se realizó un estudio observacional, transversal, analítico.

- **Lugar de trabajo:**

Centro Universitario de Medicina Reproductiva, UANL

- **Población de estudio:**

Muestras seminales de pacientes mayores de 18 años obtenidas para procedimientos de reproducción asistida en el Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González".

- **Criterios de inclusión:**

- Muestras seminales de individuos mayores de 18 años.
- Con 2-5 días de abstinencia sexual previo a proporcionar la muestra.

- **Criterios de no inclusión:**

- Muestras con volumen inferior a 1 mL

- **Criterios de eliminación:**

- Muestras seminales en las que no se hubiese podido realizar la capacitación espermática.
- Pacientes con información incompleta al final del estudio.

Procedimiento

Para la TRA se le indico a los pacientes la colecta de la muestra espermática, siguiendo los protocolos estándar. Las muestras fueron sometidas a capacitación espermática por medio de gradientes de densidad.

Posteriormente, se separaron en dos alícuotas, de 50 microlitros cada una. Una fue incubada durante 1 hora a 37 ° C o se mantuvieron a temperatura ambiente de 25 ° C.

La evaluación de los parámetros cinemáticos o de motilidad de la muestra en el analizador de esperma asistido por computadora (CASA) IVOS Hamilton Thorne, versión 12.3 serie 9617. Se ajustó la temperatura de la platina a 25° C para mantener las condiciones de 37° C según el caso y se registraron los siguientes parámetros de motilidad espermática: velocidad curvilínea, velocidad de trayectoria media, velocidad en línea recta, amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza y la frecuencia de cruzamientos.

Se realizo la prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los datos se distribuían normalmente en el software, GraphPad Prism 8.9.2. Posteriormente, los análisis estadísticos fueron realizados con el software IBM SPSS 21.0.

Cálculo o tamaño de la muestra

El cálculo del tamaño de muestra se realizó con la fórmula de diferencia de medias, esperando una diferencia promedio en el porcentaje de movilidad de 1% entre grupos y una varianza de 1%, con un intervalo de confianza de 95%, un poder de 80%. Conforme a la siguiente fórmula

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * 2 * \sigma^2}{d^2}$$

Donde,

$Z_{\alpha/2}$ es el valor crítico de una distribución normal a $\alpha/2$ (por ejemplo, para un intervalo de confianza de 95%, α es 0.05 y el valor crítico es 1.96) = 1.96

Z_{β} es el valor crítico de una distribución normal a β (por ejemplo, para un poder de 80%)

d = es la diferencia esperada en el porcentaje de movilidad = 1%

σ^2 = es la varianza esperada en el porcentaje de movilidad = 1%

n=16 muestras

Los valores de referencia fueron tomados de la literatura: Marín-Briggiler, C. I., Tezón, J. G., Miranda, P. V., & Vazquez-Levin, M. H. (2002). Effect of incubating human sperm at room temperature on capacitation-related events. *Fertility and sterility*, 77(2), 252–259. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(01\)02982-x](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)02982-x)

VARIABLES del estudio

En la siguiente tabla se enlistan las variables consideradas en este estudio.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA	TIPO DE VARIABLE
Edad	Tiempo en años que ha transcurrido desde el nacimiento hasta la inclusión en el estudio	Tiempo de vida del paciente al momento dar la muestra	Años	Cuantitativa discreta
Temperatura	Magnitud física que indica la energía interna de un cuerpo, de un objeto o del medio ambiente en general, medida por un termómetro	Medida marcada al momento de la incubación	Ambiente 25° Calor 37°	Cualitativa nominal
Velocidad curvilínea	Distancia total recorrida por la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria real por unidad de tiempo	Distancia en tiempo registrada en el análisis	$\mu\text{m/s}$	Cuantitativa continua
Velocidad de trayectoria media	Distancia recorrida por el espermatozoide a lo largo de la trayectoria media de	Distancia recorrida	$\mu\text{m/s}$	Cuantitativa continua

	circulación en el periodo de observación.	registrada en el análisis		
Velocidad en línea recta	Distancia en línea recta entre el primer y último punto de su trayectoria, y da la ganancia de espacio neto en el período de observación, medida en unidad de tiempo	Distancia en línea recta registrada en el análisis	$\mu\text{m/s}$	Cuantitativa continua
Amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza	Altura máxima (o media) de la amplitud del movimiento oscilatorio de la trayectoria curvilínea	Amplitud registrada durante el análisis	μm	Cuantitativa continua
Frecuencia de cruzamientos	Número de veces que la trayectoria curvilínea cruza la lineal y el desplazamiento lateral de la cabeza como la altura máxima (o media) de la amplitud del movimiento oscilatorio de la trayectoria curvilínea.	Número de eventos registrados durante el análisis	No. de eventos	Cuantitativa discreta

Análisis estadístico

En la estadística descriptiva se reportan frecuencias y porcentajes para variables categóricas. Para las variables cuantitativas se reportan medidas de tendencia central y dispersión (media/mediana; desviación estándar/rango intercuartil), previa valoración de la distribución de las variables por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Un valor de $p \leq 0.05$ se tomó como estadísticamente significativo. Todos los análisis estadísticos se realizarán en el paquete estadístico GraphPad Prism Version 8 para Windows.

Confidencialidad

Se guardó la confidencialidad de los participantes y los datos mediante la asignación de una clave alfanumérica para cada una de ellas. La base de datos, no incluirá datos personales de los participantes del estudio. Esto de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales, a la NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico (apartados 5.4, 5.5 y 5.7).

Aspectos éticos.

Este estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital Universitario “José Eleuterio González” con número de registro GI22-00008.

CAPITULO VIII

RESULTADOS

En el presente estudio se incluyeron 22 muestras de pacientes cuyas parejas se sometieron a procedimientos de reproducción asistida de alta complejidad. La edad promedio de los participantes de este estudio fue de 37.4 ± 6.2 años. La mediana de los días de abstinencia fue de 4 días con un rango inter cuartil (IQR) de 2-9 días.

Se realizó una evaluación inicial de la muestra de esperma, obteniendo los siguientes resultados: La mediana del volumen de la muestra espermática fue de 3 mL (IQR 1.9-4.3 mL). Un pH de 8 y la vitalidad promedio fue de $74.47 \pm 15.10\%$. La mediana de la concentración total fue de 60.1 (IQR 23.4-98.7) M/mL. (Tabla 1)

Tabla 1. Evaluación inicial de las muestras incluidas en el estudio

Parámetro	Valor, (n)
Volumen (mL)	3 (1.9-4.3) ^b , (22)
pH	8 (7-8.2) ^b , (10)
Concentración (M/mL)	60.1 (23.4-98.7) ^b , (60)
Vitalidad (%)	74.47 ± 15.10 ^a , (19)

^aMedia \pm SD, ^bmediana (rango inter cuartil)

En cuanto a los parámetros cinemáticos se evaluaron el VAP, el VSL, el VCL, el ALH, BCF, STR, y LIN en las 22 muestras, los cuales se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la evaluación cinemática

	Media ± SD
VAP	45.84 ± 9.93
VSL	35.62 ± 11.16
VCL	70.25 ± 16.24
ALH	3.14 ± .68
BCF	21.67 ± 3.14
STR	77.50 ± 11.31
LIN	54.04 ± 6.89

Además, el analizador, nos proporcionó una cuantificación en millones de acuerdo a la velocidad de las células móviles, clasificándolas a su vez como rápidas, media, lenta y estáticas (Tabla 3)

Tabla 3. Concentración (M/mL) de las muestras según su velocidad

	Media ± SD	Mediana (IQR)
Rápida	27.10 ± 31.48	17.60 (3.30-38.85)
Media	13.99 ± 48.07	2.30 (0.47-5.65)
Lenta	12.84 ± 17.48	6.90 (1.45-15.22)
Estáticas	24.83 ± 20.22	20.25 (7.75-38.77)

Para su capacitación espermática, el 100% de las muestras (n=22) fueron sometidas a gradientes de densidad. El volumen de resuspensión posterior a la capacitación espermática, fue de 0.4 ml con un rango intercuartil de 0.4 a 0.5 mL. En cuanto a la concentración post capacitación se obtuvo que la concentración total fue de 4.7 M/mL, con 4.2 M/mL de células móviles y 2.2 M/mL de células móviles progresivas (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración (M/mL) de las muestras post capacitación según su velocidad

	Mediana (IQR)	Media \pm SD
Concentración total (M/mL)	4.70 (2.27-26.90)	30.78 \pm 55.63
Concentración móvil (M/mL)	4.2 (2.07-20.12)	28.91 \pm 55.29
Concentración progresiva (M/mL)	2.2 (0.5-8.92)	12.16 \pm 23.89

Además, en cuanto a la clasificación de acuerdo a la velocidad de las células, se observó que la mayor proporción de las células obtenidas posterior a la capacitación espermática (gradientes de densidad) fueron del tipo rápida (Tabla 5)

Tabla 5. Concentración (M/mL) de las muestras post capacitación según su velocidad

	Media \pm SD	Mediana (IQR)
Rápida	30.82 \pm 53.63	4.05 (1.27-34.77)
Media	1.455 \pm 2.41	0.6 (0.1-1.225)
Lenta	3.12 \pm 5.2	0.5 (0.1-5.675)
Estáticas	1.48 \pm 2.33	0.55 (0.275-1.625)

Posteriormente se compararon los parámetros cinemáticos de las muestras incubadas a 25 °C y 37°C. La mayoría de los parámetros fueron estadísticamente significativos, siendo superiores en las alícuotas que fueron incubadas a 37 °C. (Tabla 6)

Tabla 6. Comparativa de los parámetros cinemáticos post capacitación.

	25 °C	37 °C	p-valor
VAP	43.70 (34.42-51.42)	58.15 (55-66.95)	0.000*
VSL^a	32.10 ± 8.88	52.04 ± 14.04	0.000*
VCL	73.65 (57.60-80.42)0	90.80 (84.12-102.97)	0.000*
ALH	3.55 (3.10-3.90)	3.80 (3.10-4.22)	0.523
BCF	18.40 (16.80-20.52)	23.20 (20.25-26.50)	0.052
STR^a	75.31 ± 6.49	82.63 ± 6.75	0.001*
LIN	45.50 (42.75-48.25)	53.50 (47.75-59)	0.001*
ELONGATION	66.77 ± 7.20	67.72 ± 6.38	0.698

*Significativo, ^a Prueba de T pareada, ^b Prueba de signos

CAPITULO IX

DISCUSIÓN

La capacitación espermática se puede lograr *in vitro* colocando los espermatozoides en condiciones definidas, que incluyen la incubación a temperatura corporal 37° C, sin embargo, estudios previos han demostrado que la temperatura de incubación tiene un efecto modulador sobre la capacitación de los espermatozoides y la reacción acrosomal en animales⁶¹⁻⁶⁴. No obstante, el efecto de la temperatura de incubación sobre la capacitación del espermatozoides humano no se ha caracterizado completamente.

En el presente estudio se evalúa el efecto que tiene la temperatura de incubación a (37°C) vs temperatura ambiente (25°C) sobre la capacitación espermática particularmente sobre los parámetros de motilidad. Se encontró que los parámetros cinemáticos de las alícuotas que fueron incubadas a 37 °C fueron superiores a aquellas muestras incubadas a 25 °C siendo estas diferencias estadísticamente significativas para los parámetros de VAP, VSL, VCL, STR y LIN, hallazgos en concordancia con Briggiler et al., en donde los espermatozoides incubados durante 4 horas a 20°C no pudieron desarrollar hiperactivación y mostraron diferencias en los parámetros de motilidad en comparación con las células capacitadas a 37°C.⁶⁵ Este fenómeno se ha descrito también en otras especies, cuyos informes han demostrado que el desarrollo de la motilidad hiperactivada depende en gran medida de la temperatura de incubación.^{55, 56}

Particularmente en los hámsters, la vía de señalización mediante la cual se explica como la temperatura regula la hiperactivación de los espermatozoides se ve implicada la fosforilación de una proteína de 80 kd un supuesto homólogo del AKAP-82 en humanos.⁵⁶ La AKAP-82 humana y su proteína precursora, pro-hAKAP-82,

son miembros de la familia de proteínas de anclaje A-quinasa (AKAP), estas proteínas unen la proteína quinasa A a la vaina fibrosa de los espermatozoides humanos y presumiblemente localizan la actividad de la quinasa cerca de objetivos específicos en el flagelo del espermatozoide cuya regulación está mediada por la proteína quinasa dependiente de AMPc (proteína quinasa A) de esta forma, pro-hAKAP82 y hAKAP82 pueden participar en la regulación de la motilidad de los espermatozoides al igual que sus homólogos en otras especies, sin embargo, la cantidad de procesamiento de pro-hAKAP82 en los espermatozoides humanos es menor que la cantidad de procesamiento del precursor en otras especies, por lo que será necesario investigar más a fondo si los espermatozoides humanos poseen un mecanismo de regulación de la temperatura similar al observado en los hamsters.⁵⁷

Por otro lado, los resultados del presente estudio no arrojaron diferencias estadísticamente significativas para los parámetros cinemáticos de ALH, BCF y ELONGATION entre las muestras incubadas a 37 °C y 25 °C, estos resultados pueden verse explicados en parte por la variabilidad en la temporalidad de la incubación. Como podemos apreciar en el estudio conducido por Hossein and Khalili en 2017 en donde se cultivaron muestras a diferentes temperaturas (incubación a 37 vs. 25 °C) y se evaluó la motilidad total de los espermatozoides en diferentes intervalos de tiempo de 0, 24, 48 y 72 horas dando como resultado que aquellas muestras incubadas a 37 °C y 25 °C, tuvieron un incremento significativo en la motilidad en un 67% y 76% respectivamente a las 24 horas. Sin embargo, hubo un decremento en la característica de la motilidad de los espermatozoides en periodos de incubación prolongados; a las 48 horas la motilidad disminuyó a 38% y 43% (37 °C y 25 °C respectivamente) y a las 72 horas la motilidad disminuye a 12% y 15% (37 °C y 25 °C respectivamente) esta disminución del movimiento después de un cultivo prolongado puede deberse a la muerte de los espermatozoides que puede ser inducida por necrosis y apoptosis.⁵⁸ Además, existen otros factores que pudiesen alterar estos parámetros de motilidad como demostró Angelopoulos et al., en 1999 al evaluar muestras de espermatozoides con microscopio electrónico,

reportando que existen ciertas anomalías estructurales en la pieza media que alteran la motilidad, incluso después del cultivo in vitro.⁵⁹

Son diversos los factores asociados que influyen sobre las tecnologías de reproducción asistida y que impactan significativamente sobre la tasa de éxito del embarazo, ya sea directa o indirectamente, dentro de estos factores encontramos la selección del tiempo de incubación, la temperatura y los medios de cultivo adecuados para mejorar la motilidad de los espermatozoides. En el caso de las técnicas de reproducción asistida como la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) o la fertilización in vitro y transferencia de embriones (FIV-ET) la motilidad de los espermatozoides es un parámetro que se considera un estándar seguro, práctico y necesario para estimar la viabilidad de los mismos por lo que analizar aquellas variables que influye en este parámetro y su relevancia clínica traducida en determinantes directos como la formación de blastocistos, la implantación de embriones, la tasa acumulada de nacidos vivos y la tasa de éxito del embarazo es de suma importancia.

Actualmente existen pocos estudios que evalúan el impacto de la variabilidad de procesamiento del esperma sobre determinantes directos como la tasa de éxito del embarazo, uno de ellos el conducido por Sai Liu et al., en 2023, se trata de un estudio de cohorte retrospectivo con el objetivo de explorar la asociación del tiempo de preincubación sobre la tasa de fertilización, el desarrollo embrionario y los resultados clínicos en la FIV, para ello los espermatozoides fueron pre incubados a 37°C y 6% de CO₂ durante diferentes tiempos antes de la inseminación, como resultado el esperma preparado a 37°C cuatro horas antes de la inseminación en FIV obtuvo mejores resultados, siendo la tasa de fertilización y la tasa de fertilización normal significativamente menor en el grupo con tiempo de preincubación de más de cuatro horas en comparación con otros grupos de menor duración ($p < 0.01$), por lo cual se concluyó que el tiempo de preincubación de los espermatozoides a 37°C y 6% de CO₂ antes de la inseminación podría influir en la capacidad de fertilización

de los espermatozoides, la formación de blastocistos, la implantación de embriones y tasa acumulada de nacidos vivos en ciclos de FIV.⁶¹

Futuras investigaciones deberán enfocarse en analizar el impacto de las diferentes técnicas de procesamiento de esperma considerando factores como la selección del tiempo de incubación, la temperatura y los medios de cultivo adecuados para mejorar la motilidad de los espermatozoides y cómo estos parámetros actúan sobre determinantes directos como la formación de blastocistos, la implantación de embriones, la tasa acumulada de nacidos vivos y la tasa de éxito del embarazo en aquellas parejas que se someten a técnicas de reproducción asistida.

CAPITULO X

CONCLUSIÓN

Los resultados del presente estudio sugieren que la temperatura de incubación regula los mecanismos celulares implicados en la capacitación de los espermatozoides, en particular la incubación de espermatozoide a temperatura de 37 °C mostró un incremento los parámetros de motilidad espermática. Sin embargo, la comprensión completa del efecto de la temperatura en estos procesos de transducción de señales requiere un análisis más detallado, así mismo, las implicaciones que estos resultados tiene aplicados a los diferentes tipos de reproducción asistida particularmente el impacto de estos métodos sobre las tasas de éxito del embarazo aún no está claro.

CAPITULO XI

REFERENCIAS

1. Virtanen HE, Jørgensen N, Toppari J. Semen quality in the 21(st) century. *Nat Rev Urol.* 2017;14(2):120-130. doi:10.1038/nrurol.2016.261
2. Wilkes S, Chinn DJ, Murdoch A, Rubin G. Epidemiology and management of infertility: a population-based study in UK primary care. *Fam Pract.* 2009;26(4):269-274. doi:10.1093/fampra/cmp029
3. Benksim A, Elkhoudri N, Addi RA, Baali A, Cherkaoui M. Difference between Primary and Secondary Infertility in Morocco: Frequencies and Associated Factors. *Int J Fertil Steril.* 2018;12(2):142-146. doi:10.22074/ijfs.2018.5188
4. Vidal, C. (2001). Esterilidad e infertilidad humanas. Abordaje y tratamiento. *Ciencia y Vida* , 96–100.
5. Hernández, M. F., Muradás, M. C., & Sánchez, M. (2014). *Panorama de la salud sexual y reproductiva, 2014.* Retrieved from [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/400135/Hernandez -
Panorama de la salud sexual y reproductiva 2014.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/400135/Hernandez-_Panorama_de_la_salud_sexual_y_reproductiva_2014.pdf)
6. Choe J, Archer JS, Shanks AL. In Vitro Fertilization. In: ; 2021.
7. Cervantes I, Durán M, Carballo M. Capacitación espermática: una herramienta para las técnicas de reproducción asistida. *Acta Med Grup Angeles.* 2019;Supp 1:34-41.
8. Sánchez Pozo, M. C., Sánchez Prieto, I., & Bueno Rodríguez, G. (2017). Técnicas avanzadas para selección de espermatozoides. *Revista Del Laboratorio Clinico,* 10(3), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2016.12.005>
9. Lalinde Acevedo, P. C., & Cardona Maya, W. D. (2017). In vitro sperm selection: Sperm cells with improved functional characteristics. *Urologia Colombiana,* 26(1), 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.uroco.2016.04.007>

10. Chandra A, Copen CE, Stephen EH. Infertility and impaired fecundity in the United States, 1982-2010: data from the National Survey of Family Growth. *Natl Health Stat Report*. 2013;(67):1-18, 1 p following 19.
11. Sormunen T, Aanesen A, Fossum B, Karlgren K, Westerbotn M. Infertility-related communication and coping strategies among women affected by primary or secondary infertility. *J Clin Nurs*. 2018;27(1-2):e335-e344. doi:10.1111/jocn.13953
12. National Institute for Health and Care Excellence. (2013). Fertility Problems: Assessment and Treatment. NICE Clinical Guidelines (CG156). Retrieved from <https://www.nice.org.uk/guidance/cg156/chapter/Recommendations>
13. Vander Borcht M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018;62:2-10. doi:10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012
14. Inhorn, P., P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*. 2015;21(4):411-426. doi:10.1093/humupd/dmv016
15. López Hernández, O. (2012). Gaceta parlamentaria. Gaceta Parlamentaria. Retrieved from https://www.senado.gob.mx/65/gaceta_comision_permanente/documento/35481#:~:text=El%20INEGI%20indica%20que%20en,de%20manera%20temporal%20o%20permanente.
16. NHS. (2014). Infertility. Retrieved from <https://www.nhs.uk/conditions/infertility/>
17. Chandra A, Copen CE, Stephen EH. Infertility and impaired fecundity in the United States, 1982-2010: data from the National Survey of Family Growth. *Natl Health Stat Report*. 2013;(67):1-18, 1 p following 19.
18. Vargas JAV, Núñez DAO, Marín IH, Rodríguez JMT, Ayala AR. Análisis epidemiológico de la infertilidad en una población mexicana. *Ginecol Obstet Mex*. 2005;73(07):360-364.
19. González Cervera AS. Subfecundidad e infertilidad en mujeres mexicanas.

Papeles de población. 2006;12(50):277-291.

20. Masoumi SZ, Parsa P, Darvish N, Mokhtari S, Yavangi M, Roshanaei G. An epidemiologic survey on the causes of infertility in patients referred to infertility center in Fatemeh Hospital in Hamadan. *Iran J Reprod Med*. 2015;13(8):513-516. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26568755>
21. Barbieri RL. Chapter 22 - Female Infertility. In: Strauss JF, Barbieri RL, Y and JRE (Eighth E, eds. Elsevier; 2019:556-581.e7. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47912-7.00022-6>
22. Vite Vargas, J. A., Ortiz Núñez, D. A., Marín, I. H., María, J., Rodríguez, T., & Ayala, A. R. (2005). Análisis epidemiológico de la infertilidad en una población mexicana. *Ginecología y Obstetricia de México*. Retrieved from <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobs/mex/gom-2005/gom057d.pdf>
23. Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update*. 2010;16(3):231-245. doi:10.1093/humupd/dmp048
24. Sharma, A., Minhas, S., Dhillon, W. S., & Jayasena, C. N. (2021). Male infertility due to testicular disorders. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 106(2), E442–E459. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa781>
25. Butt F, Akram N. Semen analysis parameters: experiences and insight into male infertility at a tertiary care hospital in Punjab. *J Pak Med Assoc*. 2013;63(5):558-562.
26. Paz y Miño E., N., & Valencia Madera, I. (n.d.). Factor masculino de infertilidad. Retrieved from https://www.redlara.com/images/arq/loe12_fator.pdf
27. Infertility Network UK (2016) Male infertility - the effects of lifestyle. Infertility Network UK. <http://tinyurl.com/j874rp>
28. Agarwal A, Majzoub A, Esteves SC, Ko E, Ramasamy R, Zini A. Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios. *Transl Androl Urol*. 2016;5(6):935-950. doi:10.21037/tau.2016.10.03
29. Huang JYJ, Rosenwaks Z. Assisted reproductive techniques. *Methods Mol*

- Biol.* 2014;1154:171-231. doi:10.1007/978-1-4939-0659-8_8
30. Gamboa Bernal GA. Las técnicas de reproducción asistida (TRA) a la luz de la bioética. *Escritos*. 2016;24(53):319-344.
 31. Hernández C. Inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI) una técnica de reproducción asistida con indicaciones. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2003;54(3):157-163.
 32. Coward RM, Mills JN. A step-by-step guide to office-based sperm retrieval for obstructive azoospermia. *Transl Androl Urol*. 2017;6(4):730-744. doi:10.21037/tau.2017.07.15
 33. Dyer S, Chambers GM, de Mouzon J, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology 2008, 2009 and 2010. *Hum Reprod*. 2016;31(7):1588-1609.
 34. Jin S-K, Yang W-X. Factors and pathways involved in capacitation: how are they regulated? *Oncotarget*. 2017;8(2):3600-3627. doi:10.18632/oncotarget.12274
 35. Maity A, Williams PL, Ryan L, Missmer SA, Coull BA, Hauser R. Analysis of in vitro fertilization data with multiple outcomes using discrete time-to-event analysis. *Stat Med*. 2014;33(10):1738-1749. doi:10.1002/sim.6050
 36. McDowell S, Kroon B, Ford E, Hook Y, Glujovsky D, Yazdani A. Advanced sperm selection techniques for assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(10).
 37. Lu F-T, Jin R-T, Xu B, et al. Direct swim-up without centrifugation is a more recommended technique for sperm preparation in conventional IVF cycles. Published online 2019.
 38. Acevedo PCL, Maya WDC. Selección espermática in vitro: espermatozoides con mejores características funcionales. *Urol Colomb*. 2017;26(1):26-33.
 39. Álvarez JG. Preparación del semen para Técnicas de Reproducción Asistida. *ASEBIR*. 2005;10:28-42.
 40. Henkel R. Sperm preparation: state-of-the-art—physiological aspects and

- application of advanced sperm preparation methods. *Asian J Androl.* 2012;14(2):260.
41. Osheroff JE, Visconti PE, Valenzuela JP, Travis AJ, Alvarez J, Kopf GS. Regulation of human sperm capacitation by a cholesterol efflux-stimulated signal transduction pathway leading to protein kinase A-mediated up-regulation of protein tyrosine phosphorylation. *Mol Hum Reprod.* 1999;5(11):1017-1026. doi:10.1093/molehr/5.11.1017
 42. Mortimer D, Mortimer ST. Computer-Aided Sperm Analysis (CASA) of sperm motility and hyperactivation. *Methods Mol Biol.* 2013;927:77-87. doi:10.1007/978-1-62703-038-0_8
 43. Montoya AIT. Espermograma. *Med Lab.* 2009;15(03-04):145-169.
 44. Vadnais ML, Althouse GC. Characterization of capacitation, cryoinjury, and the role of seminal plasma in porcine sperm. *Theriogenology.* 2011;76(8):1508-1516.
 45. Wang X, Tian X, Ye B, et al. The association between ambient temperature and sperm quality in Wuhan, China. *Environ Heal.* 2020;19:1-10.
 46. Zhou Y, Meng T, Wu L, et al. Association between ambient temperature and semen quality: a longitudinal study of 10 802 men in China. *Environ Int.* 2020;135:105364.
 47. Vidaurri PN, Flores VT, Valdez AV, Arreola RG. Determinación del efecto de la temperatura en la reacción acrosomal espontánea en muestras seminales previas a procedimientos de reproducción asistida. *Rev Mex Med la Reprod.* 2013;5(2):97-103.
 48. Mansilla MA, Merino O, Risopatron J, Isachenko V, Isachenko E, Sanchez R. High temperature is essential for preserved human sperm function during the devitrification process. *Andrologia.* 2016;48(1):111-113.
 49. Esfandiari N, Saleh RA, Blaut AP, et al. Effects of temperature on sperm motion characteristics and reactive oxygen species. *Int J Fertil Womens Med.* 2002;47(5):227-233.
 50. Ali MA, Wang Y, Qin Z, Yuan X, Zhang Y, Zeng C. Odorant and taste receptors in sperm chemotaxis and cryopreservation: Roles and

- implications in sperm capacitation, motility and fertility. *Genes (Basel)*. 2021;12(4). doi:10.3390/genes12040488
51. Zigo M, Maňásková-Postlerová P, Zuidema D, et al. Porcine model for the study of sperm capacitation, fertilization and male fertility. *Cell Tissue Res*. 2020;380(2):237-262. doi:10.1007/s00441-020-03181-1
 52. Bernecic NC, Gadella BM, Leahy T, de Graaf SP. Novel methods to detect capacitation-related changes in spermatozoa. *Theriogenology*. 2019;137:56-66. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.05.038
 53. Molina LCP, Luque GM, Balestrini PA, Marín-Briggiler CI, Romarowski A, Buffone MG. (2018). Molecular basis of human sperm capacitation. *Front Cell Dev Biol*, 6. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00072>
 54. Cardona-Maya, J., & Cadavid, A. P. (2005). Evaluación de la reacción acrosomal en espermatozoides humanos inducida por los monosacáridos manosa y N-acetilglucosamina. *Actas Urológicas Españolas*.
 55. Mahi, C. A., & Yanagimachi, R. (1973). The effects of temperature, osmolality, and hydrogen ion concentration on the activation and acrosome reaction of golden hamster spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 35, 55–66.
 56. Si Y. Temperature-dependent hyperactivated movement of hamster spermatozoa. *Biol Reprod* [Internet]. 1997 [cited 2023 Nov 26];57(6):1407 <https://doi.org/10.1095/biolreprod57.6.1407>
 57. Turner RMO, Eriksson RLM, Gerton GL, Moss SB. Relationship between sperm motility and the processing and tyrosine phosphorylation of two human sperm fibrous sheath proteins, pro-hAKAP82 and hAKAP82. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 1999 [cited 2023 Nov 26];5(9):816–24. <https://doi.org/10.1093/molehr/5.9.816>
 58. Hosseini A, Khalili MA. Improvement of motility after culture of testicular spermatozoa: the effects of incubation timing and temperature. *Transl Androl Urol*. 2017 Apr;6(2):271-276. doi: 10.21037/tau.2017.03.43. PMID: 28540235; PMCID: PMC5422686.
 59. Angelopoulos T, Adler A, Krey L, Licciardi F, Noyes N, McCullough A.

Enhancement or initiation of testicular sperm motility by in vitro culture of testicular tissue. Fertil Steril. 1999 Feb;71(2):240-3. doi: 10.1016/s0015-0282(98)00434-8. PMID: 9988391.

60. Liu S, Wu G, Wang L, Zhao Y, Lv Y, Dang N, Yao Y. The influence of preincubation time of prepared sperm before IVF on fertilization, embryo developmental competence and the reproductive outcomes. Ginekol Pol. 2023;94(2):107-112. doi: 10.5603/GP.a2021.0078. Epub 2021 Jun 9. PMID: 34105750.

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Ricardo Pérez Garza

Candidato para el Grado de Especialista en Ginecología y Obstetricia

Tesis: Evaluación de la incubación post capacitación a 37c vs 25c sobre los parametros de motilidad espermatica.

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Biografía:

Datos personales: originario de Monterrey ,Nuevo León, nacido el 02 de agosto de 1992, actualmente residente de Monterrey, Nuevo León.

Estado civil: soltero

Grado de estudio: Médico Cirujano y Partero por la Universidad de Monterrey, graduado en 2018

Trayectoria

Obtuve mis estudios de primaria y secundaria en el Instituto Necali Centro Educativo ; y la preparatoria en la Universidad de Monterrey, Campus San Pedro.

Posteriormente realicé mis estudios universitarios en la carrera de Médico Cirujano y Partero en la Facultad de Medicina de la Universidad de Monterrey.

Durante la carrera, fui parte del grupo estudiantil Jalpem, y realicé un verano de estudio en el Barcelona, España.. Realicé el internado en el Instituto Mexicano del Seguro Social en la clinica 17. Para posteriormente culminar con el servicio social en el departamento de medicina del campus UDEM. Realicé una maestria de Gestión y Dirección Sanitaria en la Universitat de Barcelona.

Inicié mi formación en la especialidad de Ginecología y Obstetricia en 2020 en el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González. Durante mis estudios de posgrado, publiqué un cartel para el congreso de la AMMR y UANL. Culminando mi especialidad con el servicio social en el Municipio de Doctor Arroyo, Nuevo León.