

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA TÉCNICA DE SELECCIÓN  
ESPERMÁTICA EN LA CALIDAD EMBRIONARIA OBTENIDA EN TÉCNICAS  
DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**

**Por**

**DRA. PATRICIA DORIE JAEN ANIEVES**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

**DICIEMBRE 2025**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA TÉCNICA DE SELECCIÓN  
ESPERMÁTICA EN LA CALIDAD EMBRIONARIA OBTENIDA EN TÉCNICAS  
DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**

Aprobación de la tesis:

Dra. C. Selene Marysol García Luna

Directora de tesis

Dr. Otto Hugo Valdés Martínez

Co-Director de tesis

Dr. Óscar Rubén Treviño Montemayor

Coordinador de Investigación

Departamento de Ginecología y Obstetricia

  
~~Dr. Lezmez Dionicio Valdés Chapa~~

Jefe de Enseñanza

Departamento de Ginecología y Obstetricia

Dr. med. Abel Guzmán López

Jefe del Departamento de Ginecología y Obstetricia

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de Estudios de Posgrado

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Centro Universitario de Medicina Reproductiva donde se desarrolló este trabajo, expreso mi más sincero agradecimiento por haber proporcionado el espacio académico, clínico y humano indispensable para la realización de esta tesis. Su disposición para facilitar el acceso a los recursos, pacientes, asesoría y apoyo logístico fue fundamental para el desarrollo del estudio, así como para fortalecer mi formación como especialista, siempre en un entorno de rigor científico, de ética y de compromiso con la salud de los pacientes.

A la facultad de Medicina y el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, agradezco la sólida formación académica brindada a lo largo de este posgrado, así como el respaldo institucional que hizo posible la realización de este trabajo de investigación. La exigencia académica, el fomento del pensamiento crítico y la formación integral recibida constituyen un pilar fundamental en mi preparación como especialista en Ginecología y Obstetricia

A mi directora de tesis, la Dra. Selene García, agradezco profundamente la guía académica, el acompañamiento constante y la confianza depositada en este proyecto. Sus conocimientos, experiencia y espíritu crítico enriquecieron cada etapa del trabajo, orientándome no solo en el desarrollo metodológico y científico, sino también en la formación profesional y humana. Su compromiso y dedicación fueron determinantes para culminar este objetivo.

A mi co-director de tesis, el Dr. Otto Valdés expreso mi sincero agradecimiento por su disposición, apertura y respaldo académico durante el desarrollo de este trabajo. Su trayectoria, capacidad analítica y visión crítica aportaron un marco sólido que enriqueció el enfoque científico del estudio. Valoró profundamente su profesionalismo, su trato respetuoso y la oportunidad de aprender de su experiencia, la cual constituye un referente importante en mi formación como especialista.

Finalmente, pero no con menor importancia, a mi familia, mi más profundo agradecimiento; gracias por su apoyo incondicional en este camino largo y exigente, su comprensión ante las ausencias, su paciencia en los momentos de cansancio y su amor constante hizo posible que este sueño se hiciera realidad. Cada sacrificio realizado, cada palabra de aliento cuando las fuerzas parecían agotarse y cada muestra de confianza hicieron posible la culminación de esta etapa académica, que también es fruto de su acompañamiento y entrega, los amo profundamente.

## **DEDICATORIA**

A mi papá, por enseñarme desde siempre que el esfuerzo, la disciplina y el trabajo constante no solo forman el carácter, sino que dan frutos que trascienden el tiempo. Su ejemplo fue la base silenciosa que me sostuvo cuando el camino se volvió exigente y me recordó que todo logro verdadero requiere constancia y compromiso.

A mamá, por su amor incondicional, por su apoyo inquebrantable y por estar presente incluso en los momentos en los que las palabras no eran suficientes. Su acompañamiento, comprensión y entrega fueron un refugio constante a lo largo de este proceso, y siguen siendo la fuerza que me impulsa a seguir adelante.

A Denisse, Daniella y Diana por caminar conmigo en cada etapa, por sus palabras de ánimo, su paciencia y su presencia sincera. Su apoyo fue fundamental para resistir los momentos difíciles y celebrar cada pequeño avance, recordándome siempre que no estaba sola; que estábamos lejos, pero no tan lejos, únicamente a un vuelo de distancia.

A Buba, mi compañero fiel en las noches de desvelo, su compañía silenciosa y amor genuino me ayudaron a sostenerme cuando todo parecía demasiado.

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	iii
DEDICATORIA .....	v
ÍNDICE.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS .....	vii
LISTA DE TABLAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMEN .....	x
ABSTRACT .....	xii
Introducción.....	1
Antecedentes y Marco Teórico.....	4
JUSTIFICACIÓN .....	7
HIPÓTESIS .....	8
OBJETIVOS .....	8
MATERIAL Y MÉTODOS .....	9
Población/Universo de trabajo.....	9
Criterios de selección .....	9
Análisis estadístico .....	13
RESULTADOS.....	13
DISCUSIÓN .....	19
CONCLUSIONES.....	27
BIBLIOGRAFÍA .....	28
ANEXOS .....	31
BIOGRAFÍA.....	32

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

- ADN** Ácido desoxirribonucleico
- CA0** LensHooke ®, Dispositivo para la separación espermática
- CeUMeR** Centro Universitario de Medicina Reproductiva
- DFI** índice de fragmentación del ADN espermático
- DGC** Centrifugación en gradiente de densidad
- ERO** Especies reactivas de oxígeno
- FIV** Fertilización in vitro
- FSH** Hormona folículo estimulante
- GIFT** Transferencia intratubárica de gametos
- HA** Ácido hialurónico
- HA-ICSI** Inyección intracitoplasmática de espermatozoides asistida con ácido hialurónico
- HTF** Human tubal fluid
- ICSI** Inyección intracitoplasmática de espermatozoides
- IMSI** Inyección intracitoplasmática de espermatozoides morfológicamente seleccionados
- IIU** Inseminación intrauterina
- LH** Hormona luteinizante
- MACS** Clasificación celular por activación magnética
- MCS** Microdispositivo microfluídico
- mROS** Especies reactivas de oxígeno mitocondriales
- OMS** Organización Mundial de la Salud
- PGT** Pruebas genéticas preimplantación
- SCH** Dispositivo swimcount Harvester
- sORP** Potencial de óxido-reducción estático
- SOP** Síndrome de ovario poliquístico
- SU** Swim up
- TE** Transferencia de embriones
- TRA** Técnicas de Reproducción Asistida

## **LISTA DE TABLAS**

<b>Número</b>	<b>Título de tabla</b>	<b>Página</b>
1.	Características basales de las muestras	27

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Número</b>	<b>Título de figuras</b>	<b>Página</b>
1.	Diagrama de flujo de la metodología del estudio	24
2.	Comparación de la concentración espermática según la técnica de capacitación	28
3.	Comparación de la motilidad espermática según la técnica de capacitación	29
4.	Comparación del estrés oxidativo según la técnica de capacitación	29
5.	Fertilización según la técnica de capacitación	30
6.	Porcentaje de embriones obtenidos según la técnica de capacitación	31
7.	Número de embriones de buena calidad según la técnica de capacitación	31

## **RESUMEN**

**Introducción:** La selección espermática es una parte fundamental de las técnicas de reproducción asistida (TRA) tanto en inseminación intrauterina (IIU) como en la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Las técnicas tradicionales de selección espermática involucran centrifugación, que incrementa las especies reactivas de oxígeno y a su vez la fragmentación del ADN. Los microfluidos buscan imitar la selección natural al permitir que los espermatozoides móviles atraviesen microcanales sin someterse a centrifugación. Estudios previos muestran que estos métodos producen menor daño oxidativo, aunque la evidencia sobre su impacto en la calidad embrionaria aún es limitada y variable.

**Objetivo general:** Evaluar si la selección espermática por microfluidos con el dispositivo CA0 (LensHooke®), mejora el desarrollo y calidad embrionaria en comparación de la técnica de gradientes de densidad en procedimientos de ICSI.

**Material y métodos:** Se realizó un estudio clínico experimental doble ciego con 17 muestras seminales procesadas mediante ambas técnicas. Posteriormente, se efectuó ICSI con un número equivalente de ovocitos hermanos por cada método. Se evaluaron: concentración, motilidad espermática, estrés oxidativo (sORP), tasas de fertilización y calidad embrionaria en los días 2, 3 y 5.

**Resultados:** La técnica de gradientes de densidad recuperó espermatozoides de manera más eficiente (concentración) y con mejores características (motilidad) y aumenta las tasas de fertilización, aunque sin impacto significativo en el número de embriones en D2, D3 y D5. A pesar del menor estrés oxidativo observado con CA0, esta técnica no mostró ventajas en el desarrollo embrionario.

**Conclusiones:** Aunque los métodos basados en microfluidos ofrecen beneficios fisiológicos, no necesariamente se traducen en un mejor desarrollo embrionario.

El desarrollo temprano del embrión depende en gran medida del ovocito, lo que limita el impacto directo de la técnica de selección espermática.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Sperm selection is a fundamental part of assisted reproductive technologies (ART) in both intrauterine insemination (IUI) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Traditional sperm selection techniques involve centrifugation, which increases reactive oxygen species and, consequently, DNA fragmentation. Microfluidics aim to mimic natural selection by allowing motile sperm to pass through microchannels without undergoing centrifugation. Previous studies show that these methods produce less oxidative damage, although evidence regarding their impact on embryo quality is still limited and variable.

**General objective:** To evaluate whether microfluidic sperm selection using the CA0 device (LensHooke®) improves embryo development and quality compared to density gradient centrifugation in ICSI procedures.

**Materials and methods:** A double-blind experimental clinical study was conducted with 17 semen samples processed using both techniques. Subsequently, ICSI was performed with an equivalent number of sister oocytes for each method. Sperm concentration, motility, oxidative stress (sORP), fertilization rates, and embryo quality were evaluated on days 2, 3, and 5.

**Results:** The density gradient technique recovered sperm more efficiently (concentration) and with better characteristics (motility) and increased fertilization rates, although without a significant impact on the number of embryos on days 2, 3, and 5. Despite the lower oxidative stress observed with CA0, this technique did not show advantages in embryonic development.

**Conclusions:** Although microfluidic-based methods offer physiological benefits, they do not necessarily translate into better embryonic development. Early embryonic development depends largely on the oocyte, which limits the direct impact of the sperm selection technique.

## **INTRODUCCIÓN**

La infertilidad definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la enfermedad del sistema reproductivo masculino y femenino que se refiere a la imposibilidad de concebir después de 12 meses o más de relaciones sexuales sin protección, la infertilidad se puede clasificar en primaria y secundaria, la infertilidad primaria es la incapacidad de lograr un embarazo y la secundaria es la incapacidad de conseguir el embarazo con el antecedente de una concepción previa (1).

Mundialmente se estima que de 10 al 25% de las parejas, es decir de 48 a 180 millones de parejas en edad reproductiva sufren de infertilidad, en cuanto a México, estudios recientes muestran que aproximadamente un 17% de las mujeres reportan infertilidad, siendo el factor ovulatorio, tubárico y desconocido, las causas más frecuentes, esta prevalencia, varía según las características demográficas y estilos de vida (2). En la mujer, la capacidad de lograr un embarazo va a estar condicionado a diferentes procesos fisiológicos donde la ovogénesis, foliculogénesis, la ovulación regular, contar con trompas de Falopio permeables y un útero capacitado para la implantación son indispensables en muchos casos. Por otra parte, en el hombre, la espermatogénesis y parámetros seminales normales tienen un rol fundamental (3).

Las causas de infertilidad están compuestas por el factor femenino, el cual compromete cerca del 30 a 40% de los casos, El factor masculino está involucrado en alrededor del 50% de las parejas infériles, 30% sólo por factor masculino y 20% son causas compartidas (4). Dentro del factor femenino los trastornos ovulatorios representan el 25% de los diagnósticos de infertilidad, y el 70% de las pacientes con anovulación tienen síndrome de ovario poliquístico (4), además infertilidad tubárica, definida como la incapacidad de las trompas para recoger un ovocito del ovario debido a distintas patologías pélvicas representan entre el 11 y el 67% de diagnósticos de infertilidad, dentro de estas afecciones destacan los defectos anatómicos que obstruyan la luz de esta o disfunción de

los cilios dificulta este proceso, como en la enfermedad pélvica inflamatoria no tratada, endometriosis tubárica o el antecedente de salpingoclasia (4); y no menos importantes las causas uterinas en patologías donde se dificulta la implantación como en adherencias intrauterinas, malformaciones müllerianas, pólipos intrauterinos, miomas y endometriosis.

Las causas que se engloban en el factor masculino son todas aquellas patologías congénitas o adquiridas que afectan la producción de espermatozoides, su transporte o su función, la azoospermia es la ausencia de espermatozoides en la eyaculación, en 40% de los casos se debe a obstrucción de los conductos seminales debido a vasectomía, infección o trauma, la azoospermia no obstructiva se debe por la incapacidad intrínseca de los testículos de producir espermatozoides, en la gran mayoría de los casos, el factor masculino se denomina idiopático ya que puede ser adjudicado a factores ambientales, otra posible etiología de infertilidad masculina está relacionada con problemas sexuales como la disfunción eréctil o eyaculación precoz (5).

La OMS recomienda para el diagnóstico de la infertilidad utilizar las herramientas determinadas por la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia para la evaluación inicial. En esta, el primer paso es el análisis del fluido seminal donde se debe de pedir al paciente abstinencia de 2 a 5 días antes de producir la muestra que se obtiene por medio de la masturbación. Si el análisis seminal da resultados normales se procede con la evaluación femenina con la medición de los niveles de LH, FSH, prolactina, perfil tiroideo, progesterona, estradiol y hormona antimülleriana, igualmente la anatomía del aparato reproductor femenino se estudia por medio del ultrasonido transvaginal para descartar patologías estructurales (6).

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) se definen según Zegers-Hochschild et al. como toda aquella intervención donde se manipule in vitro los ovocitos, espermatozoides o embriones con la finalidad de la reproducción, este término

engloba la fertilización in vitro (FIV), la transferencia de embriones (TE), la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), biopsia de embriones, pruebas genéticas previas a la implantación (PGT), inseminación intrauterina (IIU), transferencia intratubárica de gametos (GIFT), criopreservación de gametos y embriones, donación de ovocitos y embriones, entre otras técnicas (7-9).

Las TRA más empleadas en la actualidad son la IIU, la FIV y la ICSI. Estas tienen en común la necesidad de seleccionar a los espermatozoides con mejores características, específicamente: concentración, motilidad y formas normales para su empleo en cualquiera de ellas.

Las técnicas de reproducción asistida han surgido como estrategia para ayudar a las parejas a lograr la concepción. Desde la descripción de la FIV en 1932, el nacimiento de Louise Brown el primer nacido vivo del proceso de FIV realizado por el Dr. Patrick Christopher Steptoe y el fisiólogo Robert Geoffrey Edwards en 1978, seguido del primer embarazo logrado con ovocitos donados en 1983, el primer nacimiento de la transferencia de embriones congelados en 1984 y el primer embarazo por medio de ICSI en 1992, hasta la actualidad donde se siguen explorando alternativas para mejorar los procesos aumentando la calidad y la eficacia (10). Uno de estos procesos consiste en las técnicas de preparación espermática, las cuales, varían en: las características de la muestra a procesar, la necesidad de personal altamente capacitado, el tiempo de procesamiento y el costo asociado a su uso.

Recientemente, han surgido alternativas novedosas que están disponibles en el mercado y que carecen de evaluaciones de su impacto en etapas más avanzadas de la TRA de elección. Además, uno de los objetivos de la medicina reproductiva es incrementar las tasas de éxito de las pacientes que se someten a TRA, por lo que la mejora de la calidad embrionaria está directamente relacionada con esta necesidad. Por lo que en esta propuesta se pretende evaluar si el uso del dispositivo CA0 que emplea microfluidos para la selección espermática

proporciona una mejor calidad embrionaria en comparación con la técnica de gradientes de densidad que es comúnmente utilizada (11).

En el contexto de la fertilización in vitro (FIV), la calidad de los embriones se evalúa en varios días de desarrollo, siendo los más comunes el día 2, día 3 y día 5 después de la fertilización. (12)

#### **Día 2 (48 horas post-fertilización):**

El embrión generalmente ha llegado a la fase de mórula. Es un conjunto compacto de células que se están dividiendo rápidamente, pero no se ha formado una cavidad interna (blastocito).

#### **Día 3 (72 horas post-fertilización):**

En este día, los embriones han avanzado a la fase de blastocisto temprano, con una estructura más definida y mayor organización interna. El embrión debe tener más de 6 células, pero todavía no está completamente organizado en una cavidad (blastocito).

#### **Día 5 (Blastocisto):**

Por último, en día 5 el embrión ha alcanzado la fase de blastocisto. Un blastocisto es más avanzado, ya que ha formado una cavidad interna (blastocito), y el embrión está más organizado.

### **ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO**

La selección espermática se emplea de rutinariamente en laboratorios de TRA en todo el mundo, se han utilizado gran variedad de metodologías, entre estas: el Swim up (SU), centrifugación por gradientes de densidad (DGC), potencial zeta, clasificación celular activada magnéticamente (MACS), entre otras. El objetivo de estas es proveer de una muestra libre de 'contaminantes', células inflamatorias o espermatozoides con motilidad y morfología alteradas mientras que seleccionan una muestra óptima para su posterior uso en TRA (13).

Estudios previos han demostrado que las técnicas que involucran pasos de centrifugación dañan el esperma o son perjudiciales para este. Ya que generan radicales libres, que pueden indirectamente dañar el material genético del espermatozoide, ocasionando su fragmentación, lo cual puede traducirse en fallos de fertilización o mal desarrollo embrionario. Además, de que en estas se elimina el plasma seminal que contiene antioxidantes, que representan una medida de protección ante las especies reactivas de oxígeno (ERO) (13).

Este desarrollo embrionario y el manejo de las puntuaciones de calidad en embriones de acuerdo a los aspectos utilizados por los diferentes laboratorios de FIV en el mundo, son importantes dado que permite por medio de una revisión en lapsos de tiempo, verificar las distintas etapas del desarrollo y transición por las que pasa el embrión, de esta manera por medio de los hallazgos morfológicos, controlar y extrapolar, los procesos a niveles intracelulares, estos procesos incluyen entre otras cosas, la simetría celular, la fragmentación citoplasmática, la simetría celular, todas ellas valorables por medio de la escala de Gardner, la cual se implementa por parte de la mayoría de los embriólogos en el mundo (14).

Las ERO incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos, tanto inorgánicos como orgánicos, estos se forman de manera natural dentro del metabolismo del oxígeno, y tienen un papel importante en la señalización celular. Los espermatozoides tienen diferentes mecanismos antioxidantes, por un lado, los enzimáticos, destacando el superóxido dismutasa, citocromo oxidasa, glutatión peroxidasa, además el plasma seminal va a ser una fuente potente de antioxidantes. Sin embargo, en hombres infériles se documentan niveles altos de ERO generalmente debido a un incremento en la producción de ERO, no relacionada a una reducción en la capacidad antioxidante del plasma seminal (5, 9).

Dentro de los efectos de las ERO, estas alteran la membrana celular mediante la peroxidación lipídica, la cual genera una cascada de cambios degenerativos sobre la organización y función de la membrana del espermatozoide, además producen ruptura del material genético o Ácido Desoxirribonucleico (ADN) y

degradación proteica, generando así, pérdida de la movilidad espermática y afectando la fertilidad (5, 9).

En el campo de los microfluidos se aplican diferentes métodos para la selección espermática, la motilidad del espermatozoide es una característica que no solo se define como el movimiento anterógrado, más bien es la combinación de movimientos anisotrópico y harmónicos que determinan la dirección y la distancia que recorre, el diseño de los chips de microfluidos se basan en esta capacidad del espermatozoide de autopropulsión en flujos laminares y microcanales que están inspirados en el tracto genital que separa los espermatozoides según su motilidad y estamina, sin comprometer la integridad del ADN. La reotaxia espermática es la habilidad de los espermatozoides de nadar en la dirección opuesta en la que el líquido que los rodea fluye, esto se determina por interacciones hidrodinámicas del flujo que rodea al espermatozoide y su flagelo que igualmente se toma en cuenta para el diseño del chip de microfluidos nos permite modelar los entornos biofísicos y químicos que se encuentra los espermatozoides, al mismo tiempo estudiar la dinámica de la migración espermática a nivel cuantitativo, por esto surgieron diferentes modelos para imitar los aspectos del microambiente espermático. Las características claves de un dispositivo de microfluidos es recrear una plataforma fisiológica de los canales, flujos y fluidos de un sistema vivo, además, la precisión de las pequeñas estructuras, permiten controlar el entorno biofísico y bioquímico a nivel cuantitativo (1, 2, 15).

Por lo anterior, se han desarrollado técnicas que eliminan la necesidad de pasos de centrifugación, con la tecnología de microfluidos como es el caso de Zymot Multi device ® (DxNow, Gaithersburg) y más recientemente de CA0 (LensHooke ®) (13).

En los últimos años se han introducido varios dispositivos médicos para la separación de espermatozoides, Qualis ®, Zech-selector, Miglis ®, entre otros. Sin embargo, algunas de sus características han impedido su implementación en TRA, por lo que se plantea la necesidad de una técnica de preparación espermática que nos permita el aislamiento de espermatozoides de alta calidad

manteniendo condiciones de alta eficiencia: no invasiva, eficaz en tiempo, rentable y de fácil operación (11, 16).

El dispositivo CA0 LensHooke ®, nos brinda la posibilidad de mantener todas las competencias anteriormente mencionadas, por medio de un proceso de selección espermática de forma natural, donde la motilidad de los espermatozoides va a permitir la selección de estos de forma autopropulsada, dentro de un microambiente que comprende una membrana de filtro microporosa incorporada, siendo un dispositivo, fácil de operar, eficaz en la selección de espermatozoides y útil en la implementación de TRA, implementa un tiempo de incubación óptimo de 30 minutos, sin embargo puede tener alta motilidad total en muestras normozoospérmicas en tiempos cercanos a los 5 minutos (6-8, 16).

## **JUSTIFICACIÓN**

El CA0 LensHooke ® es un dispositivo que emplea la tecnología de microfluidos para la selección espermática, dado que su uso implica la eliminación de pasos de centrifugación, se prevé que esto disminuirá el estrés oxidativo y el daño que le causa a los espermatozoides, por lo que potencialmente mejoraría la calidad de los embriones con los espermatozoides obtenidos por este método, mejorando así los resultados de las técnicas de reproducción asistida.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La alta prevalencia de infertilidad a nivel mundial hace imperativo desarrollar y evaluar nuevas estrategias que nos permitan lograr mayores tasas de embarazo. Los estudios disponibles indican que los dispositivos para la selección espermática por microfluidos podrían tener un rol importante en la calidad embrionaria por lo que su uso representaría una estrategia novedosa e innovadora para disminuir el estrés oxidativo durante la selección espermática. Por lo que es importante saber cuál es el impacto que podría tener en técnicas de reproducción asistida de alta complejidad, es así como surge la pregunta de investigación:

¿Pueden los espermatozoides seleccionados por la técnica de microfluidos, específicamente el CA0 de LensHooke ®, en comparación con los espermatozoides seleccionados mediante gradientes de densidad mejorar la calidad embrionaria?

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis nula**

La calidad de los embriones generados con espermatozoides obtenidos mediante LensHooke ® CA0 es igual a la de aquellos generados con espermatozoides obtenidos mediante gradientes de densidad.

### **Hipótesis alternativa**

La calidad de los embriones generados con espermatozoides obtenidos mediante LensHooke ® CA0 es superior a la de aquellos generados con espermatozoides obtenidos mediante gradientes de densidad.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

Evaluar si el uso del dispositivo de selección espermática LensHooke ® CA0, se asocia a un mejor desarrollo embrionario en comparación con el uso de gradiente de densidad.

### **Objetivos específicos:**

- Comparar los parámetros de concentración y motilidad espermática después de la preparación espermática con ambas técnicas.
- Comparar el nivel de estrés oxidativo (sORP) después de la preparación espermática con ambas técnicas.
- Comparar las tasas de fertilización después del ICSI con ambas técnicas.
- Comparar la calidad embrionaria en los días 2, 3 y 5 de los embriones

obtenidos al emplear el esperma obtenido por las dos técnicas.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

El presente estudio es un ensayo clínico experimental, doble ciego, no aleatorizado y comparativo. Se incluyeron muestras seminales de 17 pacientes sanos procesadas mediante ambas técnicas: gradientes de densidad y CA0; posteriormente, se efectuó ICSI con un número equivalente de ovocitos hermanos por cada método.

Este estudio será doble ciego, en el que la embrióloga que preparara la muestra asignará un código a cada una de las muestras que provienen de los métodos de separación a comparar mientras que la embrióloga que realice el procedimiento no conocerá el método que se empleó para la preparación de la muestra espermática. Además, el analista tampoco lo conocerá hasta que se haya concluido el análisis.

### **Población/Universo de trabajo**

Dirigido a parejas con indicación de TRA en el Centro Universitario de Medicina Reproductiva (CeUMeR).

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **Criterios de inclusión**

- Mujeres de 18 a 43 años
- Hombres de ≥18 años
- Con un volumen de muestra seminal de ≥ 2 mL
- Firma del formato de consentimiento informado.

### **Criterios de exclusión**

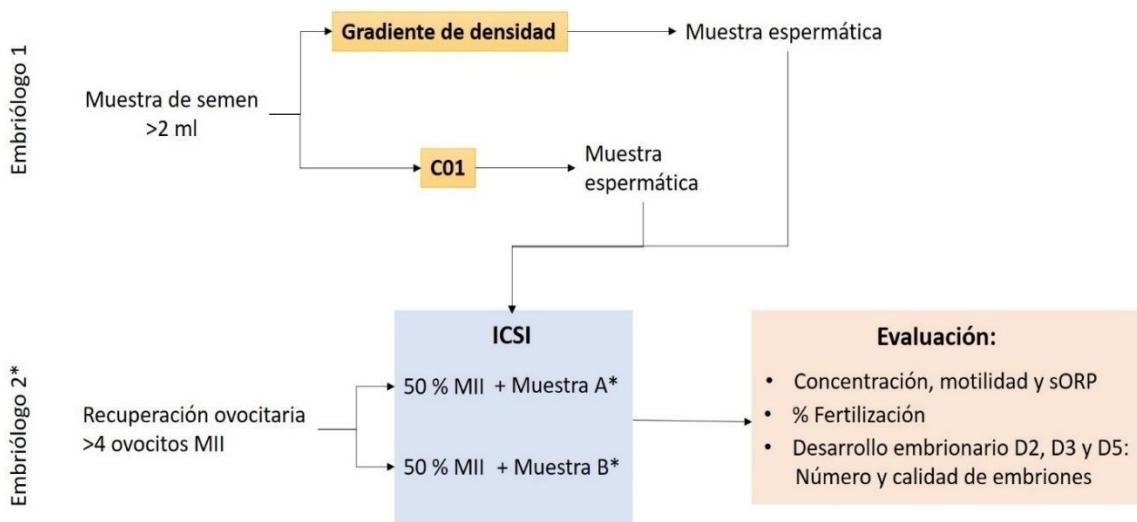
- Uso de esperma u óvulos congelados
- Con más de 6 días de abstinencia sexual o masturbación

## Criterios de eliminación

- Con menos de 4 ovocitos maduros para la TRA
- Muestras con criptozoospermia, astenozoospermia severa, o condiciones que no permitan su procesamiento por las técnicas empleadas en este protocolo.

## PROCEDIMIENTO

La muestra se capacitó mediante dos técnicas: gradientes de densidad y microfluidos con el dispositivo CA0 (LensHooke®). (Figura 1).



\*El embriólogo que realice el procedimiento de ICSI estará ciego a que tratamiento se empleo para la preparación de cada muestra.

**Figura 1.- Diagrama de flujo de la metodología del estudio**

Las muestras de semen fueron colectadas mediante masturbación en un recipiente estéril, con un periodo de abstinencia de 2 a 5 días. Fueron evaluados los parámetros macroscópicos (aspecto, volumen, licuefacción) y microscópicos de acuerdo a los parámetros establecidos en el manual de la 6 edición para el análisis de las muestras de semen de la Organización Mundial de la Salud. Brevemente, se colocó una alícuota de 10 µm de la muestra en la

cámara mackler, evaluando la concentración total de espermatozoides en el eyaculado y de espermatozoides por mililitro, la motilidad progresiva (a+b), motilidad in situ (c) y no progresiva (d). El resto de la muestra fue procesada mediante dos técnicas de capacitación espermática: gradientes de densidad y microfluidos con el dispositivo CA0 (LensHook®).

## **Capacitación espermática**

### ***Centrifugación mediante gradientes de densidad***

Se realizó un primer lavado de la muestra (v/v muestra y HTF con HEPES suplementado al 5% con HSA). Se centrifugó durante 5 minutos a 1300 rpm. Posterior al lavado, se retiró el sobrenadante y se resuspendió con cuidado en 1 ml.

Para el gradiente de densidad, se prepararon soluciones al 90% y 45% de PureSperm(Nidacon); posteriormente, en un tubo cónico estéril de 15 ml se colocó 1 ml de la solución al 90% y arriba, se colocó lentamente 1 ml de la solución al 45% teniendo cuidado de no mezclar las capas. Se colocó 1 ml de semen previamente lavado y se centrifugó a 1100 rpm durante 15 minutos, tras lo cual, con ayuda de una pipeta pasteur de vidrio estéril de 9 pulgadas, se recuperó el pellet y se colocó en otro tubo cónico estéril con 2ml de HTF con HEPES para su posterior lavado (centrifugado a 1300 rpm durante 5 minutos). Por último, se retiró completamente el medio de lavado y se resuspendió el pellet en 0.5 ml de HTF con HEPES.

### ***Preparación con la CA0 (LensHook®)***

El dispositivo CA0 cuenta con tres componentes, la cámara inferior, la cámara superior y la tapa. La cámara superior tiene incorporado un filtro de membrana de policarbonato y un compartimento para facilitar la recuperación de espermatozoides.

Para la capacitación con éste dispositivo, se siguieron las recomendaciones del fabricante. Brevemente, se agregó 1 ml de la muestra de semen al canal de la cámara inferior, ensamblándose posteriormente la cámara superior, asegurándonos de que embone correctamente. Inmediatamente después, se

colocaron 0.9 ml de HTF con HEPES en la cámara superior, se colocó la tapa y se incubó a 37°C durante 30 minutos. Pasado éste tiempo, se recuperaron 0.5 ml de la muestra ya capacitada.

Una vez capacitadas ambas muestras, se evaluaron sus características microscópicas.

### ***Inyección Intracitoplasmática de espermatozoides***

Cada una de las muestras post-capacitación se etiquetaron como técnica A o B; éstas fueron empleadas en la ICSI, con un número equivalente de ovocitos por técnica. La preparación de la muestra con ambas técnicas (gradientes de densidad y CA0), la ICSI, así como la evaluación de la fertilización y desarrollo embrionario, fueron realizadas por embriólogos con experiencia, siguiendo los procedimientos estándar del CeUMeR. La valoración de la división embrionaria fue basada en los criterios de la ASEBIR, la cual evalúa la morfología embrionaria de manera detallada como el número de células/blastómeras, simetría, fragmentación, multinucleación y vacuolas.

### **Medición de estrés oxidativo**

La evaluación del estrés oxidativo (sORP) se realizó en el equipo MIOXSYS, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Brevemente, se insertó el sensor en el equipo, se agregaron 30 µl de la muestra de semen al puerto de muestra del sensor, los datos se registraron y posteriormente se normalizaron empleando la siguiente formula.

$$sORP_{normalizado} = \frac{sORP_{en mV}}{\text{Concentración de espermatozoides en la muestra}}$$

Se consideraron con embriones de buena calidad aquellos con una evaluación de grado 1 y 1-2, con 2-3 células para el día 2; 7-8 células para el día 3; y para el día 5 se consideraron blastos a y b (BA y BB).

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente estudio fue sometido para su evaluación y aprobación por el Comité de Ética en Investigación y Comité de Investigación del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González", con un resultado favorable con número de aprobación GI24-00020.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se analizó la muestra seminal inicialmente y posterior a su capacitación por dos métodos: gradientes de densidad y el dispositivo basado en microfluidos CA0 (LensHooke®). Las variables evaluadas incluyeron: concentración espermática, motilidad espermática (tipos A, B, C y D), estrés oxidativo (sORP normalizado), tasa de fertilización normal y calidad embrionaria en los días 2, 3 y 5 de desarrollo.

Para comparar ambos métodos se utilizaron pruebas estadísticas para datos pareados. La distribución de las variables se analizó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las variables con distribución normal se describieron mediante media y desviación estándar (DE) y se compararon mediante la t de Student pareada. Las variables con distribución no normal se describieron como mediana y rango intercuartílico (RIC) y se compararon mediante la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ .

Todos los análisis se realizaron en el software GraphPad Prism® versión 10.4.1 para Windows (San Diego, California, USA).

## **RESULTADOS**

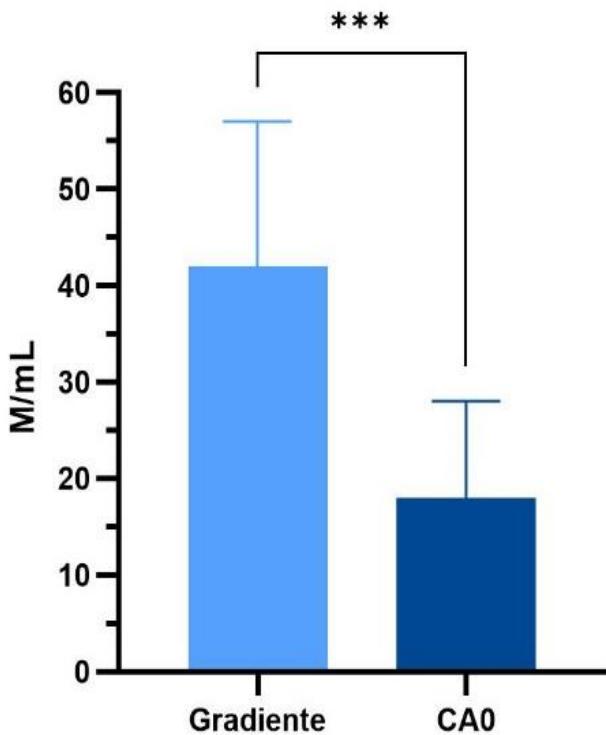
Se incluyeron 17 muestras seminales en el estudio. Las características basales se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.-** Características basales de las muestras

	<b>Valor</b>
<b>Edad pareja (años)</b>	34.2 ± 6.57
<b>Edad varón (años)</b>	35.5 ± 5.42
<b>Días de abstinencia</b>	3 (3-5)
<b>Volumen (mL)</b>	2.9 (2.45- 4)
<b>Concentración (M/mL)</b>	77 (44-119)
<b>Motilidad</b>	<b>a%</b>
	0
	<b>b%</b>
	51 (42.5-60.5)
<b>c%</b>	6 (5.50-8)
	38 (33.5-51)

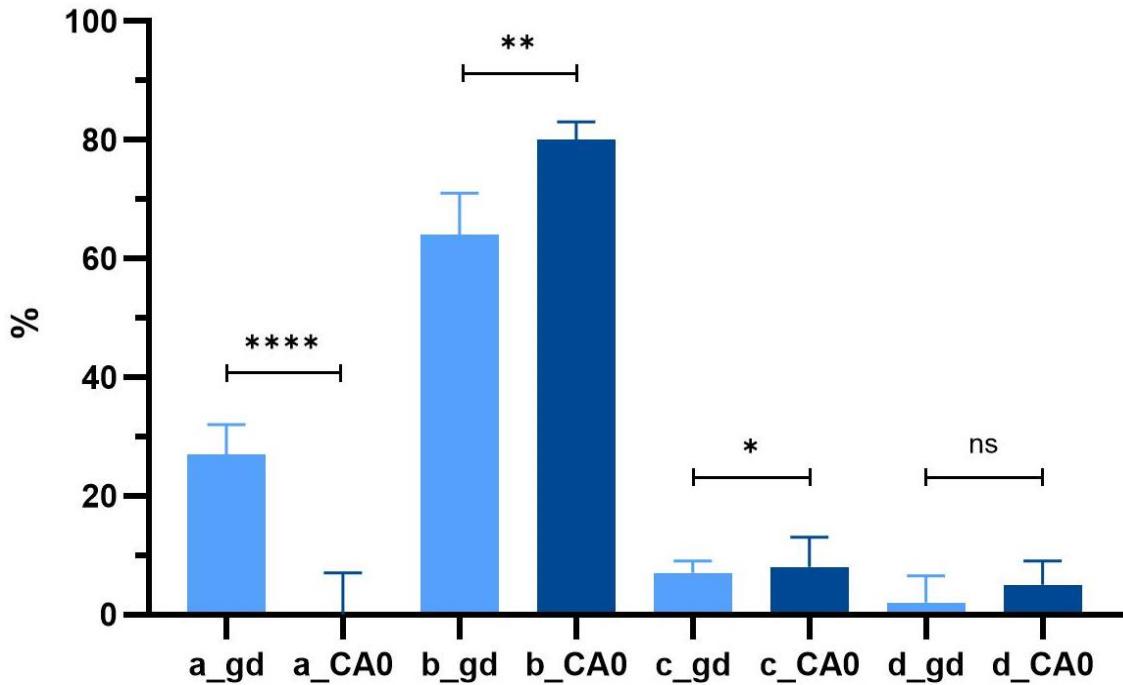
Posteriormente, se compararon los principales parámetros de calidad espermática después de la capacitación por ambas técnicas.

Con el objetivo de evaluar las técnicas de capacitación espermática, se compararon los principales parámetros de calidad espermática de la misma muestra mediante cada técnica. Se observó que la concentración de espermatozoides obtenida fue significativamente mayor en los gradientes de densidad ( $p= 0.0003$ ), con 42 M/mL (IQR 16-60 M/mL), en comparación con 18 M/mL (IQR 5-29 M/mL) obtenidos mediante la técnica de microfluidos (Figura 2).



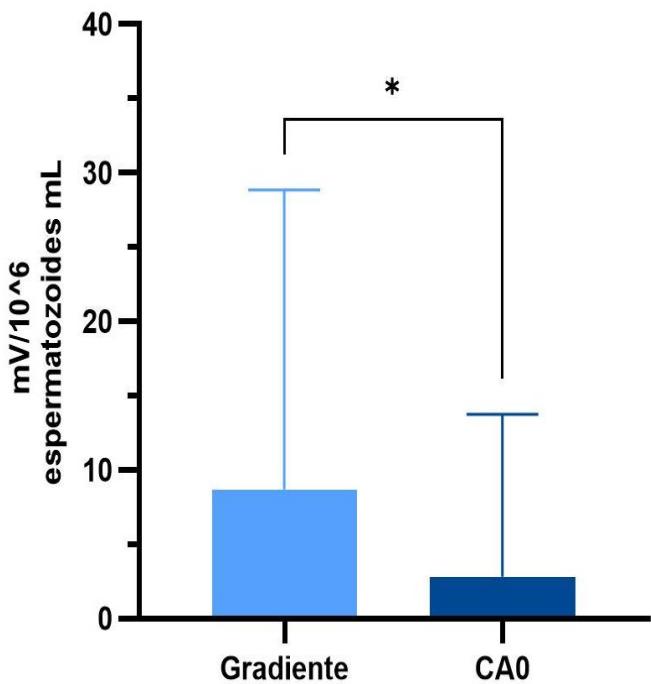
**Figura 2.-** Comparación de la concentración espermática según la técnica de capacitación.

Posteriormente se compararon las formas móviles obtenidas en ambas técnicas. La técnica de gradiente de densidad recuperó significativamente más formas móviles del tipo progresivo rápido tipo A que la técnica de microfluidos ( $p <0.0001$ ) con un 27% (IQR 13.5 - 39.5%) y 0% (0-9%), respectivamente. El dispositivo CA0 mostró una mayor recuperación de formas móviles de tipo B ( $p=0.007$ ) con 80% (IQR 74.5–83.5%) y de tipo C ( $p=0.04$ ) con 8% (IQR 5.25–13.5%) en comparación con 64% (IQR 54.5 – 75%) y 7% (IQR 3.5–9%) obtenidos con el gradiente de densidad. No se observaron diferencias en el porcentaje de formas con motilidad D ( $p=0.09$ ), (Figura 3).



**Figura 3.-** Comparación de la motilidad espermática según la técnica de capacitación.

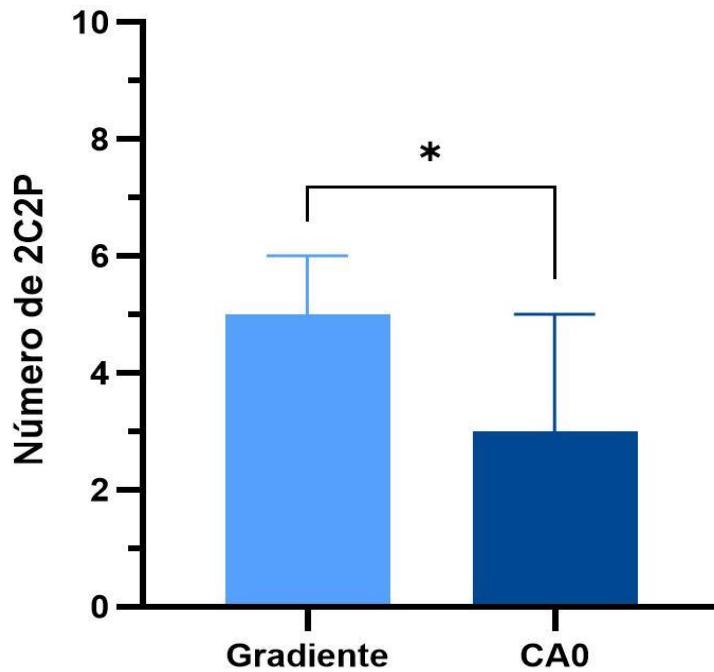
Puesto que una de las ventajas de la técnica de microfluidos es la generación de menos estrés oxidativo. Se compararon los niveles de estrés oxidativo entre ambas técnicas y se encontraron niveles significativamente más elevados en la técnica de gradiente, con 8.69 (IQR 8.25 – 23.5), en comparación con 2.82 (IQR 0.00–6.45) en la técnica CA0, ( $p=0.04$ ) (Figura 4).



**Figura 4.- Comparación del estrés oxidativo según la técnica de capacitación.**

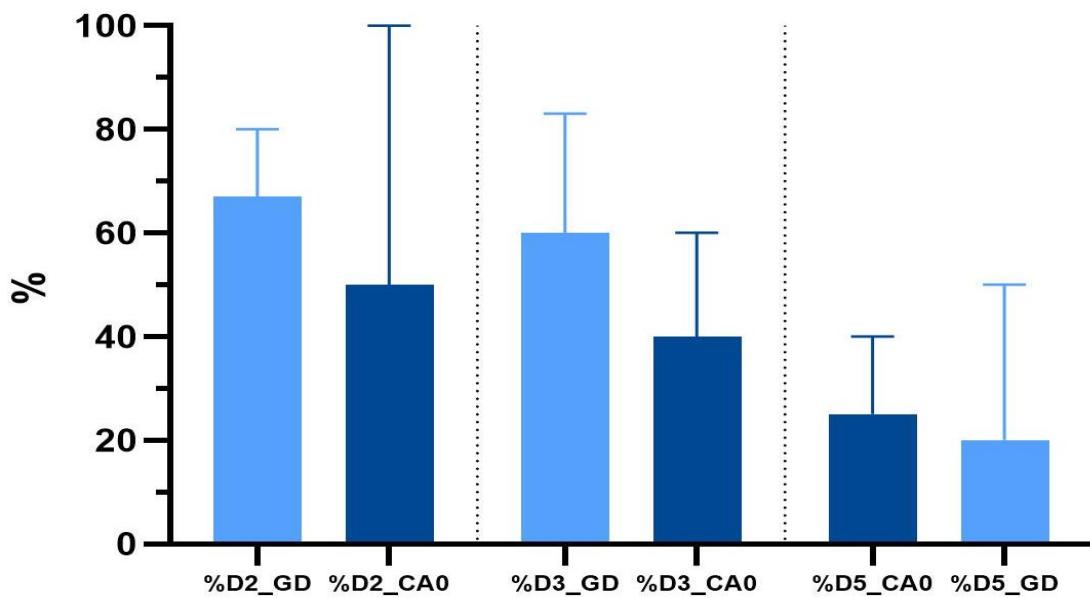
Para evaluar el efecto del estrés oxidativo en el desarrollo embrionario, se compararon las tasas de fertilización y de desarrollo embrionario de óvulos sometidos a ICSI con espermatozoides capacitados mediante gradiente y microfluidos con el dispositivo CA0.

Se encontraron diferencias significativas ( $p=0.03$ ) en el número de ovocitos que fertilizaron normalmente, es decir, que presentaron 2 cuerpos polares y 2 pronúcleos (2CP2PN). (Figura 5).



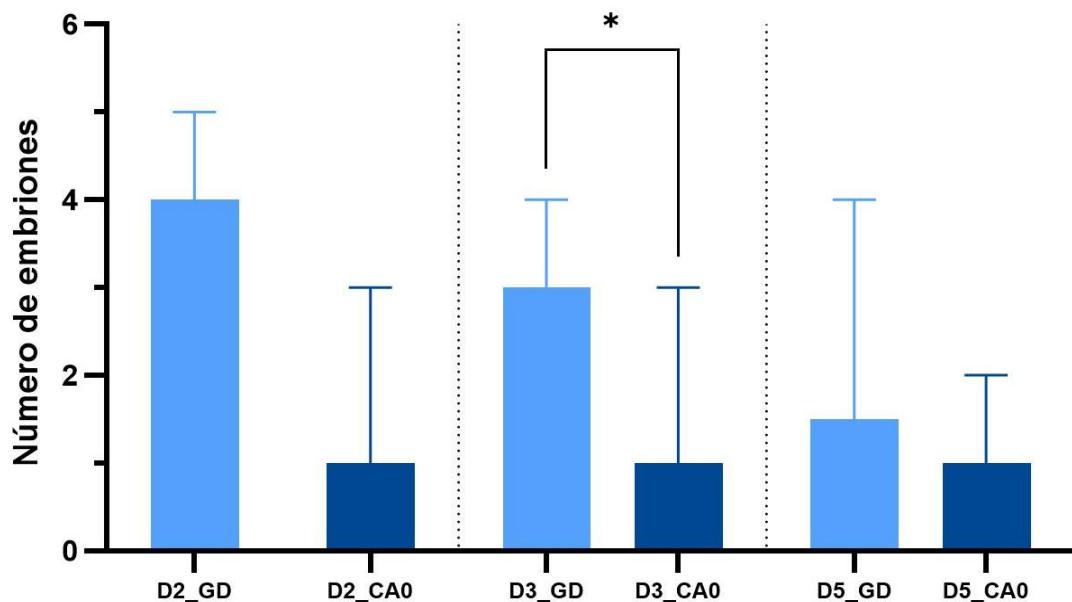
**Figura 5.-** Número de ovocitos que fertilizaron (2CP2PN) según la técnica de capacitación.

No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de embriones obtenidos en el día 2 ( $p=0.41$ ), 3 ( $p=0.10$ ) y 5 ( $p=0.97$ ) de desarrollo embrionario entre ambas técnicas (Figura 6).



**Figura 6.-** Porcentaje de embriones obtenidos según la técnica de capacitación.

Sin embargo, al comparar los embriones generados por cada técnica según su calidad (número de células, simetría y fragmentación), se observó un mayor número de embriones de buena calidad por gradiente de densidad con 3 (IQR 1.5- 4.5) en comparación con CA0 con 1 (IQR 1-3.5), siendo esto estadísticamente significativo ( $p=0.01$ ). No se observaron diferencias con respecto a los días 2 y 5 de desarrollo embrionario (Figura 7).



**Figura 7.-** Número de embriones de buena calidad según la técnica de capacitación.

## DISCUSIÓN

Recientemente Zhang et al., 2024 realizaron una revisión basada en estudios experimentales, clínicos, ensayos controlados y revisiones previas en ART; para analizar la evolución de las técnicas de selección espermática desde métodos convencionales (Swim-up y gradientes de densidad) hasta estrategias avanzadas (microfluidos, MACS, selección electroforética, IMSI, análisis de ADN espermático), evaluando su utilidad para mejorar la calidad embrionaria, tasas de embarazo y nacidos vivos, así como su aplicabilidad clínica futura (17). En la cual

describen que los métodos convencionales como Swim-up y gradientes de densidad (DGC) seleccionan espermatozoides principalmente por motilidad y densidad, son técnicas ampliamente disponibles y estandarizadas. Una de sus limitaciones es que no detectan daño molecular ni fragmentación del ADN y que la centrifugación puede inducir estrés oxidativo y daño espermático.

Las técnicas avanzadas de selección espermática basadas en microfluidos seleccionan espermatozoides móviles y morfológicamente normales sin centrifugación y se asocian con menor fragmentación del ADN y mejor integridad funcional; por otro lado MACS (Magnetic-Activated Cell Sorting) elimina espermatozoides apoptóticos mediante anexinas; reduciendo la fragmentación del ADN y mejorando las tasas de embarazo, sobre todo combinado con DGC.

Las técnicas avanzadas de selección espermática representan una evolución necesaria en la reproducción asistida, al permitir una evaluación más precisa de la calidad del espermatozoide a nivel molecular y funcional. Aunque los métodos convencionales continúan siendo útiles, su capacidad predictiva es limitada frente a técnicas como microfluidos, MACS o HA-ICSI, especialmente en casos de factor masculino complejo o fallos previos de FIV/ICSI. (17)

Diversos estudios han demostrado que la centrifugación por gradientes de densidad selecciona principalmente espermatozoides con mejor cinética, morfología y potencial funcional, al separar células inmaduras, restos celulares y espermatozoides muertos. Este proceso genera una población enriquecida de gametos con características óptimas para la capacitación espermática y la fecundación.

Serrano-Albal et al., 2024 realizaron un estudio experimental comparativo *in vitro*, que evaluó el efecto de dos métodos de selección espermática: centrifugación por gradientes de densidad (DGS) y selección espermática mediante microfluidos (MCS); sobre los parámetros espermáticos y los resultados de fertilización *in vitro*

(IVF), utilizando el modelo porcino como sistema experimental. Incluyendo 3 grupos semen sin selección (control), selección espermática por gradientes de densidad (DGS), selección espermática por microdispositivo microfluídico (MCS; ZyMot ®).

Los resultados mostraron que ambos métodos redujeron significativamente la concentración espermática, siendo la reducción mayor con MCS. La motilidad progresiva fue mayor con DGS ( $75.9 \pm 4.0\%$ ). en comparación con MCS ( $73.0 \pm 3.8\%$ ). MCS seleccionó una población con menor proporción de espermatozoides anormales. Ambos métodos redujeron el índice de fragmentación del ADN. No se observaron diferencias significativas entre DGS y MCS en cuanto a la formación de blastocistos y calidad embrionaria. (18)

En nuestro estudio, la técnica de gradiente de densidad recuperó significativamente más formas móviles del tipo progresivo rápido que la técnica de microfluidos, el dispositivo CA0 mostró una mayor recuperación de formas móviles de tipo B y tipo C en comparación con los obtenidos con el gradiente de densidad. Esto coincide con los hallazgos reportados en la literatura, concluyendo que la selección espermática mediante microfluidos (MCS) es una alternativa no invasiva, reproducible y fisiológicamente más cercana a la selección natural en el tracto reproductivo femenino. Aunque la centrifugación por gradientes (DGS) produce mayores valores de motilidad progresiva, el método MCS logra seleccionar espermatozoides con mejor integridad estructural y menor daño del ADN, con mejor calidad embrionaria medida por número celular en blastocisto. Estos hallazgos respaldan el uso de técnicas de selección espermática libres de centrifugación, especialmente cuando se busca proteger la integridad nuclear y minimizar el daño inducido por el procesamiento del semen. Desde un punto de vista clínico, una mayor concentración espermática posterior al procesamiento se ha asociado con mejores tasas de capacitación espermática y mejores resultados en técnicas de reproducción asistida como IIU y FIV. (18)

Chávez et. al. en 2025 realizaron un estudio experimental comparativo que incluyó muestras seminales de donadores normozoospérmicos ( $n = 12$ ) y pacientes con teratozoospermia ( $n = 46$ ). Cada muestra se dividió y procesó mediante DGC y mediante el dispositivo CA0 ®; evidenciando que la recuperación espermática obtenida con CA0 ® fue comparable a la obtenida con DGC, con una ligera ventaja en número de espermatozoides recuperados en muestras normozoospérmicas. Los parámetros de motilidad fueron similares entre ambos métodos, observándose una leve reducción de espermatozoides inmóviles cuando se utilizó CA0 ®. En cuanto a los desenlaces reproductivos, no se observaron diferencias significativas en las tasas de fertilización obtenidas por FIV o ICSI cuando se utilizaron espermatozoides seleccionados por CA0 ® en comparación con DGC. Concluyendo que dispositivo LensHooke CA0 ® es un método de selección espermática seguro, eficaz y comparable a la centrifugación por gradientes de densidad, tanto en términos de calidad espermática como de resultados de fertilización. Su principal ventaja radica en ser un método no invasivo, rápido, reproducible y con menor manipulación y estrés celular, al no requerir centrifugación. (19)

Liu et al., 2023 realizó un estudio prospectivo que evaluó el impacto de diferentes tipos de especies reactivas de oxígeno (ROS) espermáticas —en particular ROS mitocondriales (mROS) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ )— sobre el desarrollo embrionario temprano en ciclos de fertilización in vitro (FIV), considerando el estado ovulatorio femenino, un factor que había sido poco explorado en estudios previos.

Se incluyeron 393 ciclos de FIV, de los cuales 90 correspondieron a pacientes con infertilidad anovulatoria (SOP) y 303 a pacientes con ovulación normal. El análisis mostró que una alta proporción de espermatozoides mROS-positivos mejoró la tasa de 2PN (OR = 1,325; IC del 95 %: 1,103-1,595), la tasa de utilización de embriones en el día 3 (OR = 1,362; IC del 95 %: 1,151-1,614) y la tasa de embriones de buena calidad en el día 3 (OR = 1,391; IC del 95 %: 1,089-

1,783) en pacientes con infertilidad anovulatoria. Un alto porcentaje de espermatozoides mROS-positivos y peróxido de hidrógeno tuvo efectos adversos sobre el desarrollo embrionario y blastocisto en la etapa de segmentación en pacientes con infertilidad normoovulatoria.

Las ROS espermáticas actúan como una “espada de doble filo” en la FIV. Su efecto depende del tipo de ROS, su nivel, y de manera crucial, del estado ovulatorio femenino. En mujeres con infertilidad anovulatoria, una cantidad adecuada de mROS espermático puede favorecer el desarrollo embrionario temprano, mientras que en mujeres con ovulación normal, niveles elevados de ROS resultan deletéreos. (20)

Gualtieri R, et al publicaron una revisión narrativa exhaustiva de la literatura que analizó el estrés oxidativo espermático generado durante la manipulación in vitro en las TRA, su impacto sobre la función espermática y las consecuencias potenciales en la fertilización y el desarrollo embrionario, así como revisar las estrategias propuestas para minimizar el daño oxidativo inducido en laboratorio. Demostrando que, aunque niveles bajos de ROS son esenciales para procesos fisiológicos como la capacitación, hiperactivación y reacción acrosomal, el exceso de ROS durante la manipulación in vitro (especialmente la centrifugación, el uso de gradientes, la eliminación de plasma seminal) genera estrés oxidativo espermático, con efectos deletéreos bien documentados, relacionado con reducción en las tasas de fertilización, alteraciones en la segmentación embrionaria, menor desarrollo hasta blastocisto y los resultados de FIV/ICSI (21).

Nuestro estudio apoya la literatura actual donde el aumento de la generación de estrés oxidativo inducido durante la manipulación espermática in vitro representa un factor iatrogénico relevante que puede comprometer la calidad espermática y el desarrollo embrionario.

Se realizó un estudio prospectivo observacional en muestras seminales de 12 hombres infértilles divididos aleatoriamente en 3 grupos y fue procesada mediante swim-up, gradientes de densidad y un dispositivo de selección microfluídica sin centrifugación. Se evidenció que la selección microfluídica mostró una motilidad total y progresiva significativamente mayor en comparación con la centrifugación por gradientes de densidad y el método swim-up. Asimismo, presentó el menor índice de fragmentación del ADN, significativamente inferior al observado con gradientes de densidad y swim-up; además de que los niveles de superóxido mitocondrial fueron significativamente menores en los espermatozoides seleccionados por técnica microfluídica, lo que sugiere una reducción del estrés oxidativo mitocondrial. Por lo que se apoya que la selección espermática mediante microfluídica es un método eficaz para aislar espermatozoides con mejor motilidad, morfología y menor fragmentación del ADN, probablemente debido a la reducción del estrés oxidativo asociado a la ausencia de centrifugación (22).

El estudio más reciente Meseguer F, et al. 2025 estudiaron el estrés oxidativo en dos técnicas de selección espermática (microfluidos y gradientes de densidad) evidenciando que la técnica microfluídica utilizando el dispositivo SwimCount Harvester (SCH) reduce de manera significativa el índice de fragmentación del ADN espermático (DFI) en comparación con la técnica convencional de Swim-up; confirmando así que el uso de SCH representa una estrategia más fisiológica de selección y calidad espermática, al evitar la centrifugación, reduciendo el estrés oxidativo y el daño del ADN. La mejora observada en calidad embrionaria y tasa de blastocistos utilizables respalda la hipótesis de que la integridad genómica del espermatozoide influye más en etapas embrionarias avanzadas que en la fertilización inicial. (23)

Nuestro estudio demostró que la técnica de microfluidos genera menor estrés oxidativo. Se compararon los niveles de estrés oxidativo entre ambas técnicas y se encontraron niveles significativamente más elevados en la técnica de gradientes de densidad, demostrando así que, al disminuir el estrés oxidativo

generado en el procesamiento de la muestra, disminuye la fragmentación del ADN y mejora la calidad embrionaria significativamente.

En otro estudio Guler et al., 2021 compararon el efecto de dos métodos de preparación espermática —centrifugación por gradientes de densidad (DGC) y selección espermática mediante chip microfluídico— sobre los parámetros seminales y el desarrollo embrionario temprano y tardío, en pacientes con asteno-teratozoospermia sometidos a ICSI. Se realizó un estudio prospectivo comparativo donde cada muestra seminal se dividió en dos partes; Preparación por DGC y Preparación por chip microfluídico (Fertile Ultimate®).

La concentración espermática fue significativamente mayor con DGC. La motilidad total y progresiva fue significativamente mayor en el grupo microfluídico. No se observaron diferencias significativas entre DGC y microchip en cuanto a tasas de fertilización y Proporción de embriones G1 y G2 en día 3. No hubo diferencias significativas en blastocistos pobres, entre ambos métodos; sin embargo, la proporción de blastocistos excelentes en día 5 fue significativamente mayor en el grupo microfluídico comparado con DGC ( $p = 0.029$ ). Este hallazgo indica mejor calidad embrionaria tardía asociada a la selección por microfluidos.

(24)

Contrario a la literatura, nuestro estudio mostró diferencias significativas en el número de ovocitos que fertilizaron; sin embargo no se observaron diferencias significativas en el desarrollo embrionario entre ambas técnicas lo cual es congruente con los citado en la literatura, sobre la calidad embrionaria temprana, que depende mayormente del ovocito, cuyos factores mitocondriales y citoplasmáticos determinan el desarrollo durante las primeras divisiones; y que la contribución espermática al desarrollo embrionario temprano es limitada y que factores ovocitarios desempeñan un papel predominante en la calidad embrionaria. La preparación seminal, aunque mejora parámetros espermáticos, no necesariamente se traduce en un impacto directo sobre la calidad del embrión, particularmente en etapas avanzadas como el desarrollo a blastocisto.

En la literatura, Yetkinel et al., 2019 realizaron un estudio para determinar si la selección espermática mediante chip microfluídico (Fertile Chip®) mejora los resultados de ICSI en parejas con infertilidad inexplicada, comparada con la técnica convencional swim-up, evaluando fertilización, calidad embrionaria y resultados clínicos. Fue un ensayo clínico prospectivo, aleatorizado y controlado que evaluó a 122 parejas con infertilidad inexplicada asignados aleatoriamente Grupo microfluídico: selección espermática con Fertile Chip® y Grupo control: técnica convencional swim-up.

En este, no se encontraron diferencias significativas en Fertilización: 63.6 % (microfluídico) vs 57.4 % (swim-up) ( $p= 0.098$ ). El número total de embriones fue similar entre grupos; en el grupo microfluídico presentó un número significativamente mayor de embriones grado 1, que apoya los resultados del presente estudio. Demostrando así que la selección espermática mediante chip microfluídico no mejora las tasas de fertilización comparada con la técnica swim-up convencional. Sin embargo, sí se asocia a una mejor calidad embrionaria, reflejada por un mayor número de embriones grado 1 y un mayor número de embriones criopreservables, lo que sugiere un potencial beneficio en resultados acumulativos a largo plazo. (25)

En un estudio reciente publicado en Julio 2025, Meseguer F, et al. realizaron un estudio prospectivo, doble ciego, en 100 parejas sometidas a ICSI con el objetivo de evaluar el desempeño de un nuevo dispositivo microfluídico de selección espermática (SwimCount Harvester, SCH) en comparación con la técnica convencional de Swim-up, analizando parámetros de calidad espermática, así como indicadores de desempeño en laboratorio de FIV. Cada muestra seminal se dividió aleatoriamente en uno de los dos grupos y los ovocitos maduros recuperados se dividieron equitativamente y fueron micro inyectados con espermatozoides seleccionados por cada técnica. Posteriormente, los embriones se cultivaron en incubadores time-lapse, permitiendo la evaluación morfocinética.

La selección espermática mediante SCH produjo una mayor concentración de espermatozoides, mayor recuento total de espermatozoides progresivos, mejor morfología espermática y una reducción significativa del índice de fragmentación del ADN, en comparación con Swim-up. La motilidad progresiva porcentual fue ligeramente superior en Swim-up, sin impacto clínico relevante. En cuanto a los resultados embrionarios: la tasa de blastocistos utilizables fue significativamente mayor con SCH (40.5% vs. 34.5%) así como la tasa de blastocistos de buena calidad. No se observaron diferencias significativas en la tasa de fertilización ni en la tasa de euploidía. (23) Siendo este uno de los estudios más recientes que apoyan y asemejan los resultados de nuestro estudio, donde la técnica microfluídica reduce la cantidad de estrés oxidativo, produce una mayor cantidad de espermatozoides y mejora la calidad morfocinética de los mismos.

Por lo que es necesario continuar con estudios que nos permitan comparar las nuevas técnicas de selección espermática avanzadas, valorando los resultados en concentraciones espermática y calidad embrionaria respecto a los métodos convencionales y ya conocidos de selección espermática.

## **CONCLUSIONES**

Los hallazgos del estudio muestran que la técnica de gradientes de densidad mejora notablemente los parámetros seminales fundamentales (concentración y motilidad progresiva), confirmando su papel como método estándar de selección espermática. Estos resultados concuerdan con estudios previos que describen que los gradientes permiten recuperar la fracción de espermatozoides más competente, eliminando células inmaduras, detritos celulares y espermatozoides inviables.

Sin embargo, esta mejora seminal no se tradujo en diferencias significativas en la tasa de fertilización ni en la calidad embrionaria. La literatura sugiere que,

cuando la calidad semen basal es adecuada, la preparación no modifica sustancialmente el resultado clínico, especialmente en técnicas como FIV e ICSI, donde existe selección manual del espermatozoide.

El aumento observado en los valores de sORP durante la técnica de selección espermática derivado de la manipulación in vitro especialmente procesos como la centrifugación, el uso de gradientes, la eliminación de plasma seminal reduce las tasas de fertilización con un menor desarrollo embrionario.

Finalmente, la ausencia de cambios en la calidad embrionaria concuerda con la evidencia de que el desarrollo temprano depende en mayor medida de los componentes ovocitarios, y que el impacto del espermatozoide en la calidad embrionaria es limitado durante los días posteriores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Raperport C, Desai J, Qureshi D, et al. The definition of unexplained infertility: A systematic review. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2023;(November 2023):880-897. doi:10.1111/1471-0528.17697
2. Farland L V., Khan SM, Missmer SA, et al. Accessing medical care for infertility: a study of women in Mexico. *F S Reports.* 2023;4(1):112-120. doi:10.1016/j.xfre.2022.11.013
3. Aderaldo JF, de Albuquerque BHDR, de Oliveira MTFC, de Medeiros Garcia Torres M, Lanza DCF. Main topics in assisted reproductive market: A scoping review. *PLoS One.* 2023;18(8 August):1-20. doi:10.1371/journal.pone.0284099
4. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2021;326(1):65-76. doi:10.1001/jama.2021.4788
5. Hsu CT, Lee CI, Lin FS, et al. Live motile sperm sorting device for enhanced sperm-fertilization competency: comparative analysis with density-gradient centrifugation and microfluidic sperm sorting. *J Assist Reprod Genet.* 2023;40(8):1855-1864. doi:10.1007/s10815-023-02838-4

6. Kamel RM. Assisted reproductive technology after the birth of Louise Brown. *J Reprod Infertil.* 2013;14(3):96-109. doi:10.4172/2161-0932.1000156
7. Pujol A, García-Péiró A, Ribas-Maynou J, Lafuente R, Mataró D, Vassena R. A microfluidic sperm- sorting device reduces the proportion of sperm with double-stranded DNA fragmentation. *Zygote.* 2022;30(2):200-205. doi:10.1017/S0967199421000484
8. Aderaldo JF, Da Silva Maranhão K, Lanza DCF. Does microfluidic sperm selection improve clinical pregnancy and miscarriage outcomes in assisted reproductive treatments? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2023;18(11 November):1-17. doi:10.1371/journal.pone.0292891
9. Henkel R. Sperm preparation: State-of-the-artphysiological aspects and application of advanced sperm preparation methods. *Asian J Androl.* 2012;14(2):260-269. doi:10.1038/aja.2011.133
10. Mónica Maribel Mata-Miranda, Gustavo Jesús Vázquez-Zapién. La fecundación in vitro: Louise Brown, a cuatro décadas de su nacimiento. *Rev Sanid Milit.* 2018;72(5-6):363-365. doi:10.56443/rsm.v72i5-6.196
11. Suarez SS, Wu M. Microfluidic devices for the study of sperm migration. *Mol Hum Reprod.* 2017;23(4):227-234. doi:10.1093/molehr/gaw039
12. Alpha Scientists in Reproductive Medicine, ESHRE SIG Embryology. Revised guidelines for embryo assessment in IVF. *Hum Reprod.* 2011;26(6):1270–1283.
13. Jahangiri AR, Ziarati N, Dadkhah E, et al. Microfluidics: The future of sperm selection in assisted reproduction. *Andrology.* 2023;(November 2022):1-17. doi:10.1111/andr.13578
14. Boiso I, Veiga A, Edwards RG. Fundamentals of human embryonic growth in vitro and the selection of high-quality embryos for transfer. *Reprod Biomed Online.* 2002;5(3):328-350. doi:10.1016/S1472-6483(10)61841-X
15. Zaha I, Naghi P, Stefan L, et al. Comparative Study of Sperm Selection Techniques for Pregnancy Rates in an Unselected IVF–ICSI Population. *J Pers Med.* 2023;13(4). doi:10.3390/jpm13040619

16. Mirsanei JS, Sheibak N, Zandieh Z, et al. Microfluidic chips as a method for sperm selection improve fertilization rate in couples with fertilization failure. *Arch Gynecol Obstet.* 2022;306(3):901- 910. doi:10.1007/s00404-022-06618-w
17. Zhang X, Liu L, Chen J, et al. Emerging trends in sperm selection: enhancing success rates in assisted reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.* 2024;22:39. doi:10.1186/s12958-024-01239-0
18. Serrano-Albal M, Yeste M, López-Plana A, et al. Effect of two different sperm selection methods on boar sperm parameters and in vitro fertilisation outcomes. *Animals (Basel).* 2024;14(18):2544. doi:10.3390/ani14182544
19. Chávez JC, Torres P, Carrasquel-Martínez G, et al. Functional parameters of spermatozoa obtained by a new selection device. *FEBS Open Bio.* 2025;15(9):1471–1484. doi:10.1002/2211-5463.70073
20. Liu X, Zhang Y, Wang Y, et al. Double-edged sword: effects of human sperm reactive oxygen species on embryo development in IVF cycles. *Reprod Biol Endocrinol.* 2023;21:53. doi:10.1186/s12958-023-01053-0
21. Gualtieri R, Kalthur G, Barbato V, Di Nardo M, De Gennaro M, Talevi R. Sperm oxidative stress during in vitro manipulation and its effects on sperm function and embryo development. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(7):1025. doi:10.3390/antiox10071025.
22. Hsu TC, Chen YF, Lin YH, et al. Comparison of swim-up, density gradient centrifugation and microfluidic sperm selection methods on sperm quality and DNA integrity. *Int J Gen Med.* 2025;18:2355–2368. doi:10.2147/IJGM.SXXXXX.
23. Meseguer F, Carrion-Sisternas L, del Arco A, Rivera-Egea R, Vidal C, Remohí JA, et al. Novel sperm selection device on the basis of microfluidics improves usable blastocyst rates, embryo morphology, and morphokinetic patterns: sibling cohort prospective study. *Fertil Steril Rep.* 2025;(in press). doi:10.1016/j.xfre.2025.09.008.
24. Guler I, Guler G, Yaprak E, et al. Sperm selection and embryo development: a comparison of the density gradient centrifugation and

- microfluidic chip sperm preparation methods in patients with asthenoteratozoospermia. *Life (Basel)*. 2021;11(9):933. doi:10.3390/life11090933
25. Yetkinel S, Kilicdag EB, Aytac PC, Haydardedeoglu B, Simsek E, Cok T. Effects of the microfluidic chip technique in sperm selection for intracytoplasmic sperm injection for unexplained infertility: a prospective, randomized controlled trial. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(3):403–409. doi:10.1007/s10815-018-1375-2
26. Scaruffi P, Stigliani S, Signore F, et al. Hyaluronic acid–sperm selection significantly improves the clinical outcome of couples with previous ICSI cycles failure. *Andrology*. 2022;10(6):1090–1101. doi:10.1111/andr.13128

## **ANEXOS**

## **BIOGRAFÍA**

Patricia Dorie Jaen Anieves, nací el 26 de mayo de 1996 en Pachuca de Soto, Hidalgo. Egresada del bachillerato por el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Hidalgo; y egresada de la Licenciatura en Médico Cirujano por la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Actualmente soy candidata para obtener el grado de especialista en Ginecología y Obstetricia en el Hospital “Dr. José Eleuterio González” y la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.