

3. RESULTADOS

3.1 . EFECTO DEL DTSP SOBRE LA RESISTENCIA DE LA ZP A LA DIGESTIÓN CON PRONASA Y SOBRE LOS RESULTADOS DE FIV EN LA ESPECIE PORCINA

3.1.1. Experimento 1

Utilizando el DTSP a una concentración de 0'60 mg/ml, los resultados obtenidos demuestran que esta sustancia provoca un aumento significativo en el tiempo de digestión con pronasa (TDP) de ovocitos porcinos madurados *in vitro* en comparación con el grupo control (tabla 3.1). Este aumento supuso un incremento de 57 veces respecto al grupo control, del tiempo medio necesario para la digestión completa de la ZP.

Tabla 3.1. Efecto del DTSP (0'60 mg/ml) sobre la resistencia a la digestión con pronasa de la ZP porcina.

Tratamiento ovocitos porcinos	N	Tiempo digestión pronasa (s)
CONTROL	50	65'4 ± 4'9 ^a
DTSP (0'60 mg/ml)	54	3.743'6 ± 169'4 ^b (x 57)

^{a, b}: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.01).

3.1.2. Experimento 2

El DTSP a la concentración de 0'60 mg/ml afectó a los tres parámetros evaluados tras la fecundación *in vitro* en la especie porcina, (porcentaje de penetración, porcentaje de monospermia y número medio de espermatozoides por ovocito, tabla 3.2). En relación al porcentaje de penetración, el DTSP provocó una disminución significativa del mismo, superior al 25%. En cuanto al porcentaje de monospermia se observó un aumento significativo del número de ovocitos fecundados que fueron penetrados por un solo espermatozoide, que pasó del 7'5% al 37%. Paralelamente, el número medio de espermatozoides por ovocito, muy elevado en el grupo control (12'7) experimentó una drástica disminución en los ovocitos preincubados con DTSP.

Tabla 3.2. Efecto de la preincubación de ovocitos en DTSP (0'60 mg/ml) sobre diferentes parámetros relacionados con la fecundación *in vitro* en la especie porcina.

Tratamiento ovocitos porcinos	N	Penetración (%)	Monospermia (%) ¹	E/O
CONTROL	149	97'9 ± 1'2 ^a	7'5 ± 2'2 ^a	12'7 ± 0'5 ^a
DTSP (0'60 mg/ml)	149	71'1 ± 3'7 ^b	36'8 ± 4'7 ^b	2'8 ± 0'2 ^b

a, b : Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$).

¹ Monospermia (%): porcentaje de ovocitos monospermáticos del total de ovocitos penetrados.

E/O: número medio de espermatozoides por ovocito

3.1.3. Experimento 3

Al igual que en el experimento anterior, cuando el DTSP se empleó a una concentración de 0'60 mg/ml, se observó una disminución en el porcentaje de penetración, y un aumento en el porcentaje de monospermia, a pesar de las diferencias de los resultados, debido a que el experimento 2 y 3 se realizaron en distintos momentos y con diferentes controles.

Cuando la concentración de DTSP empleada fue menor (0'06 mg/ml ó 0'30 mg/ml), la penetración no disminuyó, mientras que si observó un efecto sobre el porcentaje de monospermia, que fue muy superior en los grupos tratados. Con la concentración de 0'06 mg/ml, este porcentaje supuso un aumento del 20% aproximadamente; sin embargo, cuando se empleó la concentración de 0'30 mg/ml de DTSP, la monospermia alcanzó valores próximos al 50%, manteniendo un elevado porcentaje de penetración, lo cual hizo que el rendimiento final del proceso alcanzara valores cercanos al 48%. Además, se observó una disminución progresiva del número de espermatozoides por ovocito al aumentar la concentración de DTSP.

En resumen, se observa que el uso del DTSP a cualquiera de las concentraciones utilizadas provocaba un aumento significativo del porcentaje de monospermia y del rendimiento total de la FIV. Este rendimiento es máximo a la concentración de 0'30 mg/ml de DTSP.

Los efectos observados sobre los parámetros evaluados tras la FIV utilizando ovocitos tratados con DTSP, demuestran un efecto significativo sobre la penetración cuando se utiliza una concentración de 0'60 mg/ml de DTSP, mientras las concentraciones de 0'30 y 0'06 mg/ml no afectan a este parámetro. Por el contrario, la monospermia y el número medio de espermatozoides por ovocito se ve afectada por cualquier de las concentraciones utilizadas, observándose una mejora del

rendimiento final de la FIV, cuyos valores son de 5'0 % para el control frente al 23'8, 47'6 y 37'8 % para las concentraciones ascendentes (0'06, 0'30 y 0'60 mg/ml) de DTSP utilizadas.

Tabla 3.3. Efecto de la preincubación de ovocitos con DTSP a diferentes concentraciones sobre los resultados de fecundación *in vitro* en la especie porcina.

Tratamiento ovocitos porcinos	N	Penetración (%)	Monospermia (%)	E/O
CONTROL	83	97'6 ± 1'7 ^a	5'2 ± 2'5 ^a	5'2 ± 0'3 ^a
DTSP (0'06 mg/ml)	94	91'5 ± 2'9 ^a	26'0 ± 5'1 ^b	2'9 ± 0'9 ^b
DTSP (0'30 mg/ml)	83	94'0 ± 2'6 ^a	50'7 ± 5'8 ^c	1'9 ± 0'1 ^c
DTSP (0'60 mg/ml)	78	60'3 ± 5'6 ^b	62'2 ± 7'3 ^c	1'6 ± 0'2 ^c

a, b, c: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$).

E/O: Número medio de espermatozoides por ovocito

3.2. EFECTO DEL DTSP SOBRE LA RESISTENCIA DE LA ZP A LA DIGESTIÓN CON PRONASA Y SOBRE LOS RESULTADOS DE FIV EN LA ESPECIE BOVINA

3.2.1. Experimento 4

Los ovocitos de vaca madurados *in vitro* e incubados en DTSP durante 30 minutos fueron más resistentes a la digestión con pronasa que los ovocitos no tratados (Tabla 3.4). El tiempo medio para los ovocitos tratados fue aproximadamente 14 veces mayor que para el grupo control.

Tabla 3.4. Efecto del DTSP (0'60 mg/ml) sobre la resistencia a la digestión con pronasa de la ZP bovina.

Tratamiento ovocitos bovinos	N	Tiempo digestión pronasa (s)
CONTROL	70	124'2 ± 5'9 ^a
DTSP (0'60 mg/ml)	74	1.777'9 ± 64'0 ^b (x 14)

^{a, b}: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.01).

3.2.2. Experimento 5

El tratamiento de los ovocitos bovinos con DTSP antes de la FIV provoca una drástica disminución de la penetración, de modo que existen diferencias significativas entre los grupos Control y DTSP para esta variable. A la misma vez, el porcentaje de ovocitos monospermicos, también se ve afectado por el tratamiento, observándose

un incremento significativo de la monospermia en el grupo tratado respecto al control. Una vez calculado el rendimiento final de la técnica, teniendo en cuenta las dos variables antes indicadas (penetración y monospermia), se observa que el rendimiento es mayor en el grupo control (50%) que en el grupo tratado con DTSP (36'9%).

Tabla 3.5. Efecto de la preincubación de ovocitos en DTSP (0'60 mg/ml) sobre diferentes parámetros relacionados con la fecundación *in vitro* en la especie bovina.

Tratamiento ovocitos bovinos	N	Penetración (%)	Monospermia (%)	E/O
CONTROL	74	91'9 ± 3'2 ^a	54'4 ± 6'1 ^a	1'68 ± 0'1
DTSP (0'60 mg/ml)	64	57'8 ± 6'2 ^b	63'9 ± 8'1 ^b	1'58 ± 0'1

^{a, b}: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.01).

E/O: Número medio de espermatozoides por ovocito

3.3. EFECTO DEL FO SOBRE LA RESISTENCIA DE LA ZP A LA DIGESTIÓN CON PRONASA Y SOBRE LOS RESULTADOS DE FIV EN LA ESPECIE PORCINA

3.3.1. Experimento 6

La ZP de los ovocitos ovulados, fue resistente a la digestión con pronasa durante un tiempo aproximado de 3 horas y 45 minutos, mientras que el tiempo para los ovocitos de MIV fue muy inferior, entorno a 1 minuto (Tabla 3.6). En el caso de los ovocitos porcinos madurados *in vivo* (foliculares), el TDP fue ligeramente superior

al de folículos preovulatorios, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Por último, para el grupo de ovocitos de MIV que se incubaron durante 30 minutos en FO (Ovocitos MIV + 30 min FO), se obtuvo un TDP muy elevado, con una media superior a 3'5 horas, similar a los tiempos obtenidos para los ovocitos ovulados. A pesar de que el número de ovocitos ovulados utilizados fue reducido debido a la dificultad de su obtención, teniendo en cuenta la gran variación de los valores, el análisis estadístico indicó que las diferencias eran significativas para un valor de $P < 0.01$. Los tiempos de digestión obtenidos para el grupo "Ovocitos MIV + 30 min FO" fueron aproximadamente 200 veces mayores que los del grupo "Ovocitos MIV" y entorno a 130 veces superiores al grupo "Ovocitos madurados *in vivo* (foliculares)".

Tabla 3.6. Valoración de la resistencia de la ZP a la digestión con pronasa en ovocitos porcinos.

Origen de los ovocitos	N	Tiempo digestión pronasa (s) (TDP)
Ovocitos MIV	54	63'5 ± 2'9 ^a
Ovocitos ovulados	11	13.691'9 ± 1228'1 ^b
Ovocitos madurados <i>in vivo</i> (foliculares)	22	96'8 ± 4'2 ^a
Ovocitos MIV + 30 min FO	52	12.657'1 ± 829'0 ^b

^{a, b}: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$).

3.3.2. Experimento 7.

Los ovocitos preincubados en FO, e incubados a continuación en medio de FIV, muestran un TDP que van disminuyendo a lo largo del tiempo. Esta disminución es drástica en los primeros 15 minutos, y continúa disminuyendo, hasta las 5 horas. En ese momento los ovocitos todavía muestran un TDP muy superior a los ovocitos no tratados con FO, pero inferior a los ovocitos tratados con FO y sometidos a digestión con pronasa seguidamente. El TDP para ovocitos no tratados obtenido en este experimento fue similar al observado en otros ($63'7 \pm 2'3$ s; n=83).

Tabla 3.7. Reversibilidad del efecto del FO sobre el endurecimiento de la ZP porcina.

Tratamiento ovocitos porcinos	N	Tiempo digestión pronasa (s) (TDP)
30 min FO	101	$10.587'1 \pm 577'1$ ^a
30 min FO + 15 min TALP	50	$2737'0 \pm 239'8$ ^b
30 min FO + 40 min TALP	49	$2.250'6 \pm 198'7$ ^{b, c}
30 min FO + 60 min TALP	50	$2.017'0 \pm 186'8$ ^{b, c}
30 min FO + 80 min TALP	47	$1.995'7 \pm 187'7$ ^{b, c}
30 min FO + 100 min TALP	49	$1.502'6 \pm 69'3$ ^{b, c}
30 min FO + 120 min TALP	57	$1.295'4 \pm 77'4$ ^{b, c}
30 min FO + 160 min TALP	59	$991'2 \pm 53'5$ ^{b, c}
30 min FO + 240 min TALP	64	$815'9 \pm 100'4$ ^c
30 min FO + 300 min TALP	29	$675'1 \pm 46'8$ ^c

a, b, c, d. Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$). **FO:** Fluido oviductal.

3.3.3. Experimento 8

En este experimento, el porcentaje de penetración de los ovocitos porcinos no mostró diferencias entre el grupo control y el grupo experimental (30 min FO), en el cual los ovocitos habían sido, previamente a la FIV, incubados con FO.

Sin embargo, la variable monospermia se vio afectada por el tratamiento, mostrando diferencias significativas entre ambos grupos. A su vez, también el número de espermatozoides por ovocito (E/O) mostró diferencias significativas entre los dos grupos, comprobándose una relación inversamente proporcional entre la monospermia y la variable E/O. En cuanto al rendimiento final de la FIV para el grupo control se obtuvo un 7'7% frente al 25'3 % del grupo tratado con FO, lo que supone un incremento considerable, debido al efecto del tratamiento de los ovocitos con FO.

Tabla 3.8. Efecto del FO sobre diferentes parámetros relacionados con la fecundación *in vitro* en la especie porcina.

Tratamiento ovocitos porcinos	N	Penetración (%)	Monospermia (%)	E/O
CONTROL	147	95'5 ± 2'2 ^a	8'1 ± 2'3 ^a	8'2 ± 0'4 ^a
30 min FO	157	87'3 ± 2'7 ^a	29'0 ± 3'9 ^b	2'7 ± 0'2 ^b

^{a, b}: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.001).

3.4. EFECTO DEL FO SOBRE LA RESISTENCIA DE LA ZP A LA DIGESTIÓN CON PRONASA EN LA ESPECIE BOVINA

3.4.1. Experimento 9

La ZP de los ovocitos bovinos ovulados obtenidos tras el lavado de los oviductos fue altamente resistente a la digestión con pronasa (más de 31.000 segundos, 250 veces superior al control (Tabla 3.9), al igual que se observó anteriormente para la especie porcina (Tabla 3.6). Cuando los ovocitos bovinos se obtuvieron de folículos preovulatorios, este tiempo disminuyó hasta valores medios de 235 segundos. Por el contrario, la incubación en FO, de los ovocitos bovinos madurados *in vitro*, provocó un incremento en el TDP de más de 34 veces respecto al tiempo observado en el grupo control.

Tabla 3.9. Valoración de la resistencia de la ZP a la digestión con pronasa en ovocitos bovinos madurados *in vivo* o *in vitro* bajo diferentes condiciones.

Origen de los ovocitos	N	Tiempo digestión pronasa (s) (TDP)
Ovocitos MIV	70	124'2 ± 5'9 ^a
Ovocitos ovulados	7	31.448 ± 4.856 ^c
Ovocitos madurados <i>in vivo</i> (foliculares)	19	234'7 ± 11'4 ^a
Ovocitos MIV + 30 min FO	25	4.301'1 ± 441'7 ^b

^{a, b, c}: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.01). **FO**: Fluido oviductal.

3.4.2. Experimento 10

En la tabla 3.10 se muestran los datos obtenidos sobre la reversibilidad del efecto del FO sobre la ZP bovina.

Los resultados reflejan que el efecto de endurecimiento sobre la ZP consecuencia de la incubación en FO, disminuye cuando los ovocitos tras el FO se incuban en medio de FIV, de forma parecida a lo que ocurre en porcino.

Tras 15 minutos en medio de FIV, los ovocitos que habían sido previamente incubados en FO, presentan un TDP entorno a 47 minutos, lo que supone una disminución frente a los 72 minutos de los ovocitos cuya digestión se realizó inmediatamente tras la incubación en FO, sin incubar en medio TALP.

Los tiempos de digestión con pronasa fueron inversamente proporcionales al tiempo que habían permanecido en el medio de FIV los ovocitos, después del tratamiento con FO. Transcurridas 5 horas en el medio de FIV, el TDP de los ovocitos era próximo a los 17 minutos, frente a los 2 minutos aproximadamente ($102'5 \pm 4'2$ s; n=36) que se obtuvo en ovocitos no tratados. Se evaluó el TDP de ovocitos de MIV no tratados, con el fin de comprobar la efectividad de la pronasa en el momento de realizar el experimento, obteniendo valores próximos a los observados, para el mismo tipo de ovocitos, en otros experimentos.

Tabla 3.10. Reversibilidad del efecto del FO sobre el endurecimiento de la ZP bovina.

Tratamiento ovocitos bovinos	N	Tiempo digestión pronasa (s) (TDP)
30 min FO	25	4.301'1 ± 441'6 ^a
30 min FO + 15 min TALP	50	2.843'6 ± 234'3 ^b
30 min FO + 40 min TALP	49	2.816'1 ± 225'1 ^b
30 min FO + 60 min TALP	50	2.085'6 ± 241'2 ^{b, c}
30 min FO + 80 min TALP	47	1.933'7 ± 196'6 ^{b, c}
30 min FO + 100 min TALP	49	1.571'3 ± 143'7 ^{b, c}
30 min FO + 120 min TALP	57	1.385'6 ± 141'4 ^{b, c}
30 min FO + 160 min TALP	59	1.191'0 ± 124'6 ^{b, c}
30 min FO + 240 min TALP	64	1.410'5 ± 205'2 ^{b, c}
30 min FO + 300 min TALP	29	1.037'3 ± 130'9 ^c

a, b, c: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.01). **FO:** Fluido oviductal.

3.5. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LA ZP PORCINA PARA INDUCIR LA REACCIÓN ACROSÓMICA EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS

3.5.1. Experimento 11

Tras la incubación de los espermatozoides humanos y los ovocitos porcinos se observó la adhesión de un reducido número (10-20) de espermatozoides a la ZP. La evaluación de la RA de los espermatozoides adheridos, reveló que el porcentaje de RA fue significativamente mayor en este, que en los otros grupos. No se observaron diferencias significativas atribuibles al medio de incubación utilizado (TALP o IVF Medicult[®]), observándose para ambos medios porcentajes de inducción RA similares (TALP: $38'6 \pm 5'4$; IVF Medicult[®]: $38'0 \pm 5'0$), mientras que en los grupos sin ovocitos, los valores de RA eran similares a los obtenidos en el grupo control 0 h.

Tabla 3.11. Porcentajes de espermatozoides humanos con reacción acrosómica en muestras coincubadas con o sin (control) ovocitos porcinos en dos medios de cultivo diferentes.

Grupo	N	% RA
Control 0 h	6	$22'2 \pm 1'8^a$
Control 2'5 h IVF**	6	$23'7 \pm 6'0^a$
Control 2'5 h TALP	6	$24'7 \pm 1'5^a$
IVF 2'5 h Ovocitos MIV	6	$60'6 \pm 5'3^b$
TALP 2'5 h Ovocitos MIV	6	$63'2 \pm 5'7^b$

N: Número de microgotas evaluadas (conteniendo 15 ovocitos por microgota).

** Medio IVF Medicult[®].

a, b: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$).

3.5.2. Experimento 12.

Utilizando el medio IVF (Medi-Cult ®Universal IVF) se observaron de nuevo diferencias en el % de RA de los espermatozoides adheridos a la ZP respecto a los grupos control. En el grupo con ovocitos sin ZP (IVF 2'5 h ovocitos MIV sin ZP) los valores de RA no mostraron diferencias significativas respecto a los grupos sin ovocitos. Sin embargo la RA si era significativamente diferente respecto al grupo con ovocitos completos (IVF 2'5 h ovocitos MIV completos), en el que se obtuvo una inducción de RA del $33'6 \pm 3'7$ %.

Los datos obtenidos para el grupo "IVF 2'5 h ovocitos MIV completos", se representan individualmente en el Gráfico 3.1, observándose valores que oscilan entre el 15% y el 58% de reacción acrosómica inducida, según la muestra.

Tabla 3.12. Porcentajes de espermatozoides humanos con RA en muestras coincubadas con ovocitos porcinos (madurados *in vitro* y libres o no de ZP) o sin ovocitos (grupo control) en medio Medi-Cult ®Universal IVF.

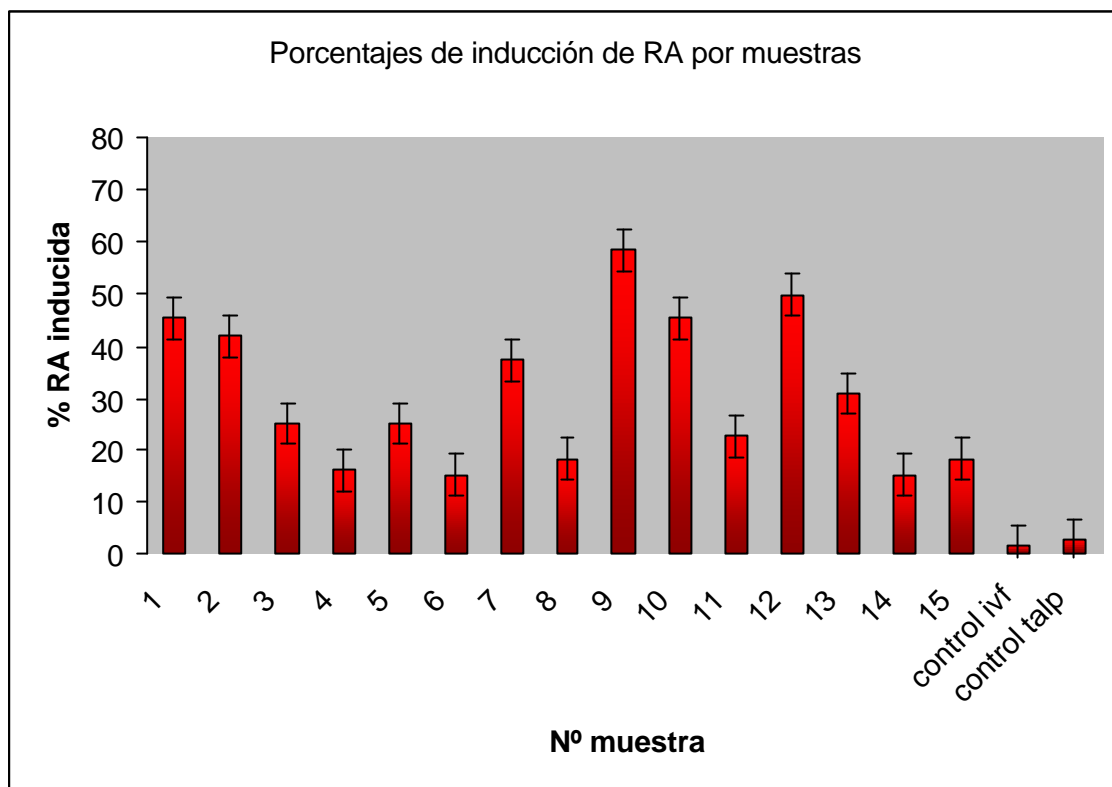
Grupo	N	% RA
Control 0 h	17	$23'5 \pm 3'6^a$
Control 2'5 h IVF**	19	$25'4 \pm 3'4^a$
IVF 2'5 h ovocitos MIV sin ZP	2	$21'0 \pm 8'5^a$
IVF 2'5 h ovocitos MIV completos	20	$55'7 \pm 3'8^b$

N: Número de microgotas evaluadas (conteniendo 15 ovocitos por microgota).

** Medio IVF Medicult®.

a, b: Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$).

Gráfico 3.1. Porcentaje de RA inducida mediante coincubación con ovocitos porcinos de 15 muestras de semen humano.



3.6. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE PENETRACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES HUMANOS EN OVOCITOS PORCINOS SIN ZP

3.6.1. Experimento 13

Tras la inseminación de los ovocitos porcinos sin ZP con espermatozoides humanos, con o sin inducción de RA según los grupos, se comprobó que no se produce fusión de los gametos heterólogos, bajo las condiciones utilizadas. De hecho, ninguno de los ovocitos porcinos libres de ZP fue penetrado por espermatozoides humanos, en ninguno de los grupos (Tabla 3.13). En algunos casos, se observaron espermatozoides adheridos al oolema, pero no se pudo demostrar la penetración al interior del ooplasma.

Ni la adición de progesterona (P_4) o PFF al medio provocaron ningún efecto sobre la penetración. Tampoco la inducción de la RA con ionóforo de Ca^{2+} , afecta a esa variable (Tabla 3.13). Sin embargo se comprobó que la inducción de RA funcionó correctamente, observando valores de RA próximos al 75 % cuando se utilizó P_4 o ionóforo de Ca^{2+} y del 45% cuando se utilizó el PFF, frente al 20% de RA espontánea del grupo control.

Por el contrario, se obtuvieron valores cercanos al 100% de penetración cuando se inseminaron ovocitos porcinos sin ZP con espermatozoides de cerdo, observando un elevado número de espermatozoides por ovocito (polispermia). Del mismo modo, la FIV convencional entre ovocitos y espermatozoides porcinos funcionó correctamente y se observó un alto porcentaje de penetración (86'3%) y de formación pronuclear (100%) (Tabla 3.13).

3.7. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES HUMANOS PARA FORMAR PRONÚCLEOS MASCULINOS TRAS SER INYECTADOS EN EL CITOPLASMA DE OVOCITOS PORCINOS

3.7.1. Experimento 14

Cuando se evaluó el resultado de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) humanos en ovocitos porcinos a las 18 horas se pudo observar formación de pronúcleo masculino y femenino para todas las muestras de espermatozoides humanos empleadas, en diferentes porcentajes (Tabla 3.14). Además, se observaron también algunos ovocitos divididos en ese momento (18 horas post-inyección) en las muestras procedentes de donantes sanos.

Tabla 3.13. Resultados de penetración, formación pronuclear y monospermia después de la coincubación *in vitro* de espermatozoides humanos o porcinos con ovocitos porcinos con la ZP intacta o libres de ella.

Espermatozoides	RA inducida	Ovocitos MIV	Ovocitos (N)	Penetración (%)	PNM (%)	MON (%)
Humano	Ionóforo	Sin ZP	835	0	0	-
Humano	P ₄	Sin ZP	144	0	0	-
Humano	PFF	Sin ZP	86	0	0	-
Humano	No	Sin ZP	732	0	0	-
Cerdo	No	Sin ZP	140	98'6	100	9'7
Cerdo	No	Intacto	200	86'3	100	18'2
Humano	No	Intacto	75	0	0	-

RA: Reacción acrosómica

P₄: Progesterona

PFF: Fluido folicular porcino

N: Número de ovocitos

PNM: Formación de pronúcleo masculino; se calcula sobre los ovocitos penetrados.

MON: Monospermia; se calcula sobre los ovocitos penetrados.

Tabla 3.14. Resultados de ICSI heteróloga con diferentes muestras de espermatozoides humanos y ovocitos porcinos, evaluado a las 18 horas tras la ICSI.

	N	PNM (%)	PNF (%)	División (%)	Origen
Muestra 1	9	63	45	0	Paciente
Muestra 2	7	75	100	0	Paciente
Muestra 3	11	77	77	0	Paciente
Muestra 4	10	100	66	0	Paciente
Muestra 5	10	87	75	0	Paciente
Muestra 6	12	58	75	0	Paciente
Muestra 7	5	40	40	0	Paciente
Muestra 8	11	54	64	0	Paciente
Muestra 9	14	93	100	4 (28'6)	Donante
Muestra 10	9	78	78	2 (22'2)	Donante
Muestra 11	9	89	89	3 (33'3)	Donante
Muestra 12	7	100	100	3 (42'9)	Donante

N: número de ovocitos inyectados.

PNM: formación de pronúcleo masculino; se calcula sobre los ovocitos inyectados.

PNF: formación de pronúcleo femenino; se calcula sobre los ovocitos inyectados.