

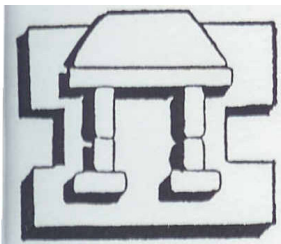


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**ESTANDARIZACIÓN DE NUEVOS PARÁMETROS
QUE COMPLEMENTAN LOS MICROSCÓPICOS
TRADICIONALES EN EL ESTUDIO DE SEMEN DE
VARONES CON FERTILIDAD COMPROBADA COMO
UNA MEJORA DEL MÉTODO**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
MARGARITA NORA GONZÁLEZ RUIZ**



DIRECTOR DE TESIS: M. en C. ERIC MONROY PÉREZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**ESTANDARIZACIÓN DE NUEVOS PARÁMETROS QUE
COMPLEMENTAN LOS MICROSCÓPICOS
TRADICIONALES EN EL ESTUDIO DE SEMEN DE
VARONES CON FERTILIDAD COMPROBADA, COMO
UNA MEJORA DEL MÉTODO.**

AUTOR:

MARGARITA NORA GONZÁLEZ RUIZ

ASESORES:

**M. EN C. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS
M. EN C. ERIC MONROY PEREZ
DR. SERGIO VACA PACHECO
BIOL. SUSANA E. GONZÁLEZ ALMAZAN
DR. SERGIO CHAZARO OLVERA**

LABORATORIO DEL HOSPITAL CENTRAL MILITAR Y ESCUELA MEDICO MILITAR.

DEDICATORIAS

... A **tí Señor** “por permitirme la gracia de la vida y por tu infinita bondad” por darme unos padres maravillosos que siempre me han apoyado y han estado junto a mí en todos y cada uno de mis logros...

... A **mis padres** (Ney y Yola) con todo el amor y respeto del mundo, por alentarme siempre a seguir adelante, por su incondicional apoyo, por su ejemplo de vida, y por hacer hasta lo imposible por darme lo que he necesitado, tanto para vivir como para alcanzar mis metas dentro del ámbito profesional.

... A **mis hermanos** (Paty, “Bibis”, Orquis, Omar, Carlita) por crecer a mi lado, por compartir la vida conmigo, por soportar mi mal genio, mis frustraciones y mis desalientos, por su apoyo, su cariño, **por ser mis hermanos**, por su infinita fé en la vida y en la raíz de la cual provienen.

... A **mis sobrinos** (Ares, Emiliano, Erik y Helios) por la esperanza de vida que con ustedes continúa, por ser la nueva generación, en la que crecerán nuevos sueños y nuevos retos.

“Porque uno muere cuando renuncia a sus sueños”, gracias a todos ustedes por no permitirme renunciar a los míos.

AGRADECIMIENTOS

Gracias:

A mi director de tesis. M. En C. Eric Monroy Pérez, por aceptar serlo, por su apoyo y sugerencias en la realización de este trabajo.

A mis sinodales: M. En C. Gloria Luz Paniagua Contreras (por su paciencia y apoyo para lograr titularme) **al Dr. Sergio Vaca Pacheco, Dr. Sergio Chazaro Olvera y Biol. Susana E. González Almazán.** Por sus recomendaciones y sugerencias.

A los compañeros médicos del Hospital Central Militar: (José Antonio Vázquez Galeana, Pedro Rosas, y Guillermo Antonio) que me ayudaron en la realización de este trabajo

A todas aquellas personas que a lo largo de la vida he conocido, porque me han dejado algún aprendizaje importante, el cual he podido asimilar y valorar con el paso de los años. Gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

I: <u>INTRODUCCION</u>	1
1.1 <u>Factor masculino</u>	1
1.1.1 Anamnesis	2
1.1.2 Examen físico	9
1.1.3 Examen del semen	9
1.1.4 Parámetros estándar para valoración del semen	11
II: <u>ANTECEDENTES</u>	19
III: <u>JUSTIFICACIÓN</u>	25
IV: <u>OBJETIVOS</u>	26
4.1 <u>OBJETIVO GENERAL</u>	26
4.2 <u>OBJETIVOS PARTICULARES</u>	26
V: <u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	27
5.1 Toma de la muestra	27
5.2 Variables	28
VI: <u>RESULTADOS</u>	33
VII: <u>DISCUSION</u>	49
VIII: <u>CONCLUSIONES</u>	59
IX: <u>BIBLIOGRAFIA</u>	60
X: <u>ANEXOS</u>	63
Anexo A: Instrucciones para la colecta y envío de una muestra de semen.	63
Anexo B: Cuestionario	64
Anexo C: Formulario para el análisis de semen	66
Anexo D: TABLAS	67
Anexo E: FIGURAS	73
ABREVIATURAS	79

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	VALORES DE REFERENCIA DEL ESPERMOGRAMA.....	12
TABLA 2.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN EDAD.....	67
TABLA 3.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN ESTADO CIVIL.....	67
TABLA 4.	No. DE HIJOS EN EL GRUPO DE FC.....	67
TABLA 5.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN MÉTODO ANTICONCEPTIVO.....	68
TABLA 6.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE ESPERMATÓZOIDES.....	68
TABLA 7.	RELACIÓN DE FACTORES DE RIESGO QUE COMPROMETEN LA ESPERMATOGÉNESIS.....	69
TABLA 8.	CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO SEMINAL VALORADOS A LOS 60 MINUTOS (ASPECTO Y LICUEFACCIÓN).....	69
TABLA 9.	VOLUMEN PROMEDIO DEL LÍQUIDO SEMINAL EN AMBOS GRUPOS.....	69
TABLA 10.	VISCOSIDAD DEL LÍQUIDO SEMINAL VALORADA A LOS 60 MINUTOS.....	70
TABLA 11.	RELACIÓN DE ALTERACIONES MORFOLÓGICAS ESPERMÁTICAS.....	70
TABLA 12.	COMPARACIÓN ENTRE LAS OBSERVACIONES MORFOLÓGICAS ENTRE MICROSCOPIA SIMPLE vs MICROSCOPIA CON FOCAL.....	70
TABLA 13.	RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA PROMEDIO.....	71
TABLA 14.	MOTILIDAD ESPERMÁTICA.....	71
TABLA 15.	VITALIDAD ESPERMÁTICA DETERMINADA POR EOSINA AMARILLENTO.....	71
TABLA 16.	COMPARACIÓN DE LA VITALIDAD ENTRE LA TINCIÓN DE EOSINA AMARILLENTO Y EOSINA-NIGROSINA.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN EDAD.....	33
FIGURA 2.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN ESTADO CIVIL.....	34
FIGURA 3.	No. DE HIJOS EN EL GRUPO DE FC.....	35
FIGURA 4.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN MÉTODO ANTICONCEPTIVO.....	36
FIGURA 5.	RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE ESPERMATOZOIDES....	37
FIGURA 6.	RELACIÓN DE FACTORES DE RIESGO QUE COMPROMETEN LA ESPERMATOGÉNESIS.....	38
FIGURA 7.	CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO SEMINAL VALORADOS A LOS 60 MINUTOS (ASPECTO Y LICUEFACCIÓN).....	39
FIGURA 8.	VOLUMEN PROMEDIO DEL LÍQUIDO SEMINAL EN AMBOS GRUPOS.....	40
FIGURA 9.	VISCOSIDAD DEL LÍQUIDO SEMINAL VALORADA LOS 60 MINUTOS.....	41
FIGURA 10.	RELACIÓN DE PORCENTAJES DE MALFORMACIONES ESPERMÁTICAS.....	42
FIGURA 11.	COMPARACIÓN ENTRE LAS OBSERVACIONES MORFOLÓGICAS ENTRE MICROSCOPIA SIMPLE vs MICROSCOPIA CON FOCAL.....	43
FIGURA 12.	DEFECTOS DE CABEZA OBSERVADOS CON MICROSCOPIA SIMPLE Y MICROSCOPIA CON FOCAL..	43
FIGURA 13.	DEFECTOS DE CUELLO OBSERVADOS CON MICROSCOPIA SIMPLE Y MICROSCOPIA CON FOCAL..	44
FIGURA 14.	DEFECTOS DE COLA OBSERVADOS CON MICROSCOPIA SIMPLE Y MICROSCOPIA CON FOCAL.....	44
FIGURA 15.	RELACIÓN DE CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA POR MILILITRO.....	45
FIGURA 16.	MOTILIDAD ESPERMÁTICA.....	46
FIGURA 17.	VITALIDAD ESPERMÁTICA DETERMINADA POR EOSINA AMARILLENTO.....	47

FIGURA 18.	COMPARACIÓN DE LA VITALIDAD ENTRE LA TINCIÓN DE EOSINA AMARILLENTO Y EOSINA-NIGROSINA.....	48
FIGURA 19.	MEDICION DEL VOLUMEN Y VISCOSIDAD DEL LÍQUIDO SEMINAL.....	73
FIGURA 20.	DETERMINACION DEL PH	73
FIGURA 21.	PREPARACIÓN DE LA DILUCIÓN DEL SEMEN CON FORMOL AL 10%	74
FIGURA 22.	MONTAJE DE LA DILUCIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL EN LA CÁMARA DE NEUBAUER PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA.	74
FIGURA 23.	MICROFOTOGRAFÍA DONDE SE OBSERVAN ALGUNOS ESPERMATOZOIDES (sin tinción) SOBRE LA CÁMARA DE NEUBAUER PARA LA CUENTA ESPERMÁTICA (40X) (microscopio óptico).	75
FIGURA 24.	PREPARACIÓN DE LA EXTENSIÓN DE UN FROTIS (EOSINA-NIGROSINA) PARA SU POSTERIOR ANÁLISIS EN EL MICROSCOPIO CON FOCAL.	76
FIGURA 25.	FOTOGRAFÍA QUE MUESTRA UN ESPERMATOZOIDE CON DEFECTO DE COLA (EOSINA-NIGROSINA 40X).....	77
FIGURA 26.	MICROFOTOGRAFÍA DE FROTIS DE LÍQUIDO SEMINAL EN LA QUE SE OBSERVAN ESPERMATOZOIDES VIVOS AL MOMENTO DE LA FIJACIÓN (sin tinción) Y ESPERMATOZOIDES MUERTOS (color rojo). (Eosina-Nigrosina, 20X).....	78

RESUMEN

La medición total del número de espermatozoides no define la capacidad fertilizante. El análisis de semen proporciona información básica sobre las condiciones clínicas del varón, debiendo estandarizarse las técnicas de recolección y examen de semen con la finalidad de que los resultados sean confiables y den información válida acerca de la fertilidad del individuo.

El propósito fundamental de este trabajo fue establecer una línea de investigación para la aplicación y estandarización de nuevos parámetros y opcionales en la evaluación del análisis de semen, en una población sana con y sin fertilidad comprobada en el laboratorio del Hospital Central Militar.

Se estudiaron 117 hombres voluntarios entre los 18 a 40 años (55 con fertilidad comprobada "FC" con hijos menores de uno, dos y tres años de vida; y 62 sin fertilidad comprobada "FNC"), se les aplicó un cuestionario que incluía las preguntas: edad, estado civil, número de hijos, frecuencia de relaciones sexuales, infecciones de vías urinarias o venéreas, varicocele o criptorquídea, tratamiento farmacológico en caso de que lo hubiere, exposición a sustancias tóxicas, antecedentes de tabaquismo, etilismo, entre otros. Se les realizaron estudios de espermatobioscopía en fresco que incluían los parámetros que comúnmente se valoran en el Hospital Central Militar: aspecto, grado de licuefacción, volumen, viscosidad de la muestra, pH, concentración espermática, motilidad, morfología (evaluada mediante microscopía óptica convencional en laminillas en fresco y en laminillas teñidas con eosina-nigrosina bajo un microscopio con focal con procesador de imágenes Modelo AxioCam HRC marca Zeiss, y usando los criterios de clasificación de trastornos morfológicos del manual de la OMS) adicionalmente a estos parámetros se valoró la vitalidad espermática (mediante el uso de técnicas de eosina-amarillenta observada bajo un microscopio óptico convencional y en laminillas teñidas con eosina-nigrosina analizadas bajo un microscopio con focal con procesador de imágenes).

De todos los parámetros valorados se obtuvieron promedios, media y desviación estándar, haciéndose una comparación entre los resultados obtenidos del grupo con fertilidad comprobada "FC" y el grupo de fertilidad no comprobada "FNC". Con respecto a la morfología y vitalidad se compararon los resultados obtenidos en microscopía óptica y microscopía con focal con procesamiento de imágenes, mediante una prueba de análisis de varianza, tomando como significativos los valores de $P < 0.05$.

En ambos grupos la población predominante fue sana, aunque entre los factores de riesgo que pudieron alterar el proceso de espermatogénesis en ambos grupos (FC y FNC), se observó el predominio del tabaquismo FC (29.09%) y FNC (18%). No se observaron diferencias significativas entre el grupo "FC" y el "FNC" en las evaluaciones de los parámetros de semen (aspecto, volumen, viscosidad, concentración espermática, pH y vitalidad) analizados bajo microscopía convencional; pero se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos sistemas de análisis de microscopía usados (microscopía óptica convencional "MOC" contra microscopía con focal "MCF" en laminillas teñidas con eosina-nigrosina), con respecto a la evaluación de la morfología espermática para ambos grupos de estudio (formas anormales bajo "MOC" = $8.16\% \pm 1.97$, formas anormales bajo "MCF" = $32.20\% \pm 3.48$), observándose un aumento en el conteo de las formas anormales, en las laminillas teñidas con eosina-nigrosina y observadas bajo microscopía con focal.

Con respecto a la comparación entre vitalidad, en ambos grupos de estudio, analizados mediante la tinción de eosina amarillenta vista bajo "MOC" y la tinción de eosina-nigrosina valorada con "MCF" no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, ni entre ambas técnicas. Sin embargo se observó un aumento (14% más) en la determinación del número de espermias inmóviles pero vivos (con

la coloración vital de eosina-amarillenta) con respecto al número de espermias determinados como formas inmóviles muertas en las evaluaciones de la motilidad espermática.

Al comparar nuestros resultados con los mencionados en la literatura mundial al respecto, pudimos concluir que la población estudiada es clínicamente sana y que los valores obtenidos de los parámetros evaluados en el líquido seminal aquí estudiado, cumplen con los estándares de normalidad señalados por la OMS por lo que pueden ser usados como parámetros confiables en los intervalos de edad mencionados y empleados de manera comparativa en otros estudios de fertilidad. Así mismo el uso de medidas complementarias como las tinciones de eosina-amarillenta para valoración de vitalidad y eosina-nigrosina para la valoración del análisis morfológico bajo microscopía con focal discriminan entre los espermatozoides vivos de los muertos de manera confiable e incrementan la exactitud diagnóstica de manera efectiva, debiéndose integrar al protocolo de investigación del paciente con problemas de fertilidad en el Hospital Central Militar.

INTRODUCCION:

La Esterilidad se define como la incapacidad de concebir luego de mantener durante un año vida sexual regular sin anticoncepción. (*American Society for Reproductive Medicine*).⁽¹⁻⁸⁾. Se considera que la esterilidad es primaria cuando la pareja no ha obtenido embarazo; mientras que es secundaria si ya han tenido algún logro reproductivo antes de presentar la dificultad actual, (aunque no tengan hijos vivos).^(1,2,4,5)

El estudio básico de la pareja estéril comprende la evaluación de las siguientes áreas: ^(2,5, 8-11)

- Factor ovárico endócrino
- Factor tubo peritoneal
- Factor masculino
- Migración espermática.

La medición total de espermatozoides eyaculados, no define la capacidad fertilizante de los que llegan al sitio de fertilización ^(1-3,5,8,9,10,12,13). Aun así el análisis del semen provee información esencial sobre el estado clínico del individuo. La recolección y examen del semen deben ser realizados, mediante técnicas estandarizadas, si se pretende que los resultados provean información válida acerca de la fertilidad del individuo.^(1-5,14-16)

1.1. Factor masculino:

Aproximadamente 50 % de las parejas estériles presentan un factor masculino, aislado o asociado a factor femenino. Por lo tanto la evaluación del factor masculino es una etapa fundamental en la valoración de la pareja estéril.^(2-5,12)

Asimismo es prudente recordar que la esterilidad puede ser la forma de presentación de enfermedades limitantes para la vida, tales como tumores testiculares.

La evaluación básica inicial de la esterilidad de la pareja es atributo del ginecólogo y si ésta es normal, no es necesario que el paciente tenga una consulta andrológica especializada. Sin embargo, si se detecta alguna anormalidad en el examen físico del paciente, o si el espermograma está alterado, es preferible que sea el andrólogo quien lleve a cabo la evaluación más adecuada del paciente. ⁽¹²⁾.

a. Evaluación básica del factor masculino:

Comprende 3 elementos: anamnesis, examen físico y espermograma. Esta evaluación básica no revela datos anormales, es suficiente como estudio del factor masculino. ^(1,5,8,12,16,17).

1.1.1. Anamnesis.

Se debe interrogar acerca de:

i. Infecciones:

Los gérmenes más frecuentes son los gramnegativos (*E.coli*, *S. faecalis*, enterobacterias) micoplasmas (*hominis* y *Ureaplasma urealitycum*) y *Chlamydia trachomatis*. ^(8,12). En cuanto a las infecciones virales, el herpes genital y virus del papiloma humano alteran la calidad del semen de uno a tres meses después del evento. En estos casos el estudio debe repetirse cada 3 a 6 meses para un diagnóstico preciso. ^(3,14)

Las causas inflamatorias, infecciosas y el varicocele ocupan el 60% de la etiología de infertilidad masculina y en el

semen se encuentra una variedad de alteraciones que van desde la oligospermia leve hasta la azoospermia y astenoteratozoospermia.
(1,5,15)

ii. Varicocele.

Es una de las causas más frecuentes de alteraciones de la fertilidad masculina y consiste en la dilatación del plexo pampiniforme que condiciona hipertermia, hipoxia por estasis sanguínea, reflujo venoso de catecolaminas provenientes de la vena renal.^(2,5,7)

iii. Alteraciones endócrinas.

10 a 15% de las alteraciones son de etiología endócrina. Entre las más frecuentes se encuentran: 1) hiperprolactinemia, hiperestrogenismo que ocasionan astenoteratozoospermia. 2) Hipogonadismo hipogonadotrófico debido a alteraciones hipotalámicas (deficiencia selectiva de hormona liberadora de gonadotropinas (Gn RH), meningioma o craneofaringioma, idiopáticas, síndrome de kallmann, eunucoidismo) o hipofisarias (prolactinoma, hipofisectomías parciales o totales, radioterapia); todos estos padecimientos condicionan disminución parcial o total de hormonas folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), testosterona (T) y Gn RH, con alteraciones variables de la espermatogénesis manifestadas como: hipospermia, oligozoospermia severa y azoospermia. 3) Síndrome de Cushing, diabetes mellitus ocasionan niveles anormales de testosterona y eyaculación retrógrada. La tirotoxicosis y el hipotiroidismo se han asociado a oligoastenospermia.^(4,5,8,12,15)

iv. Daño testicular.

Este daño incluye: 1) primario, el cual puede ser: a) trastornos de la diferenciación sexual como las disgenesias gonadales secundarias a alteraciones cromosómicas (Síndrome de Klinefelter, varón XYY, varón XX, síndrome de Noonan, síndrome de Prader Willi, síndrome de Lawrence – Moon – Bardet – Biedl, distrofia muscular miotónica, adrenoleucodistrofia, enfermedad de Kennedy), b) disgenesias gonadales familiares puras, hermafroditismo verdadero; c) aplasia germinal; d) microdeleciones del gen Sry, fracciones A ZF a,b,c y DAZ, asociadas a detención de la maduración a nivel del espermatozoido primario o espermátide; e) síndrome de resistencia androgénica; en estas alteraciones se observa con mayor frecuencia azoospermia y menos frecuentemente oligospermia severa; f) criptorquidia uni o bilateral: 2) Secundario: traumatismo testicular, torsión testicular (cuenta espermática anormal), epidídimo – orquitis y acción de sustancias tóxicas.^(4,5,8,12)

En el caso de criptorquidia es importante indagar si fue unilateral o bilateral (peor pronóstico en la criptorquidia bilateral), a qué edad fue tratado y qué tipo de tratamiento recibió (peor pronóstico si requirió tratamiento quirúrgico por fracaso del tratamiento médico).

v. Alteraciones de conductos excretores y glándulas accesorias.

Estas alteraciones pueden ser: 1) Congénitas, tales como la agenesia, atresia o hipoplasia de vesículas seminales. La agenesia de los conductos deferentes se ha asociado con fibrosis quística (enfermedad letal autonómica recesiva por mutación del gen CFTR). 2) Obstructivas a nivel del epidídimo, deferente o conductos eyaculadores secundarias a infecciones (tuberculosis genital,

gonorrea, sífilis y epididimitis por *Chlamydia trachomatis*) ^(5,7,8), produce alteraciones en la motilidad espermática. 3) Obstrucción quirúrgica por vasectomía. La obstrucción parcial o total del epidídimo o deferente condiciona volumen de plasma seminal normal, oligozoospermia severa o azoospermia. La obstrucción total o parcial de los conductos eyaculadores se manifiesta por hipospermia y azoospermia u oligozoospermia severa. La corrección del cuello de la vejiga con reimplantación puede condicionar eyaculación retrógrada, oligozoospermia y anomalías en la alcalinidad. ^(5,8,15,17)

vi. Enfermedades sistémicas.

La insuficiencia renal crónica, caracterizada por uremia, puede combinarse con impotencia, infertilidad y oligoastenospermia probablemente en relación con el decremento plasmático de testosterona.

En hombres con SIDA avanzado ocurre hipospermia, decremento marcado en la cuenta espermática y de formas anormales, hipospermatogénesis e infiltrado linfocítico. ^(5,17)

El ejercicio intenso se ha asociado con bajos niveles de testosterona y oligospermia. ⁽⁵⁾

El síndrome de Kartagener asociado al síndrome de inmovilidad ciliar ocasiona defectos de la movilidad del flagelo del espermatozoide.

vii. Agentes tóxicos.

aa. Químicos.

Ciertas actividades pueden ocasionar disfunción testicular al exponer a las gónadas a tóxicos, como ocurre en: panaderos, trabajadores en contacto directo con contaminantes industriales (disulfuro de carbono, hidrocarburos clorinados, insecticidas y fungicidas) o ambientales.

Los efectos citotóxicos de fármacos, pesticidas y otros xenobióticos se asocian a oligospermia. Los efectos de estos pueden manifestarse en el sistema nervioso central, eje hipotálamo – hipófisis – testículo o directamente sobre testículos. Esto se manifiesta como oligospermia, azoospermia y/o teratospermia.⁽⁵⁾

Medicamentos como sulfasalazinas, cimetidina, colchicina, nitrofurantoína, espironolactona, flutamida, se han implicado como agentes gonadotóxicos. Los esteroides androgénicos exógenos con propiedades anabólicas deprimen la secreción de gonadotropina e interfieren con la espermatogénesis normal, produciendo hipoespermatogénesis. Las benzodiazepinas interfieren con la esteroidogénesis. La terapia antitumoral (ciclofosfamida, metotrexate, doxorubicina, mecloretamina y clorambucil) ocasiona oligozoospermia o azoospermia, ya que repletan el epitelio germinal dependiendo de la dosis. Varios amebicidas pueden dar disminución reversible de las células germinales. El propanolol y fármacos antihipertensivos se han asociado ocasionalmente con astenospermia. Este fármaco es eficaz como espermicida cuando se administra en tabletas vaginales. La exposición *in utero* a dietilelbestrol se acompaña de quistes de epidídimo y anormalidades espermáticas funcionales. La sulfasalazina reduce la movilidad espermática y la densidad, pero sus efectos son reversibles al suspender el tratamiento.^(5,12)

La ingestión de alcohol reduce la testosterona sérica, así como la lesión del conducto deferente, e irritación de la próstata (aumento de la viscosidad del líquido seminal dificultando la movilidad) .^(5,18). El alcoholismo crónico asociado con fibrosis hepática y cirrosis lleva hacia la atrofia testicular con falla gonadal. La ingesta de café se ha asociado a efecto gonadotóxico. La nicotina e hidrocarburos policíclicos aromáticos causan atrofia testicular, bloqueo de la espermatogénesis, mutaciones del DNA y aumento de espermatozoides anormales. La marihuana produce decremento del tamaño testicular, cambios degenerativos en la espermatogénesis, disminución de la motilidad y teratozoospermia ^(18,19). La cocaína y los narcóticos inhiben la función reproductiva de manera transitoria. Este riesgo es mayor en adolescentes debido a que los eventos endocrinos asociados con la pubertad son dependientes del funcionamiento y desarrollo normales del eje hipotálamo – hipófisis – testículo.^(5,18)

ab. Físicos.

La radioterapia disminuye la cuenta de espermatozonias Ad. Una dosis única de 600 rads causa esterilidad permanente; 250 rads, esterilidad durante 12 meses; 200 a 360 rads determinan esterilidad virtual dentro de los 4 meses después de la exposición, con un rango variable hasta 21 meses. Durante este tiempo se observa oligospermia, azoospermia y anormalidades en la morfología espermática.

Las ondas electromagnéticas y el ultrasonido se han asociado a compromiso de la función testicular. El ultrasonido altera las cargas de proteínas y el punto isoeléctrico de la membrana celular, generando radicales libres y peróxidos. La hipertermia asociada a criptorquidia, testículo retráctil, enfermedades agudas febriles, baño

sauna, uso de suspensorios y calzones ajustados, varicocele y paraplegia, ocasionan daños de los espermatoцитos y posiblemente de espermatozoides maduros, con oligospermia 3 semanas después de un episodio febril y hasta 2 meses después.^(5,9,13)

viii. Antecedentes quirúrgicos :

Se han publicado casos de ligadura iatrogénica de los conductos deferentes durante una herniorrafia.⁽⁵⁾

ix. Otros.

Hábitos sexuales y urinarios: descartar disfunciones sexuales, y alteraciones prostáticas que pueden alterar el plasma seminal; conocer la frecuencia de relaciones sexuales y su relación con el ciclo menstrual.

Lamentablemente, sólo en 10-20% de los hombres estériles se identifica una causa posible de tratamiento. Aún así, en algunas enfermedades existe controversia sobre si el tratamiento es eficaz a los fines reproductivos, como en el caso del varicocele en el que la tasa de embarazo luego del tratamiento quirúrgico oscila en la literatura mundial entre 0 y el 55 %.^(1,5,8)

Hasta hace pocos años, la mayor parte de los casos de esterilidad masculina se manejaban con tratamientos empíricos-gonadotrofinas, clomifeno, testolactona y vitaminas, entre otros. Se indicaba una técnica de fertilización asistida cuando no se lograba un mejoramiento de la calidad del semen; pero la baja calidad espermática es a su vez determinante de peores resultados con estas técnicas.⁽¹²⁾

La introducción de la técnica ICSI (inyección intracitoplásmica de espermatozoides) resuelve este problema y ofrece una opción

terapéutica aún a los casos más desfavorables; ya que sus resultados no están influenciados por la concentración, movilidad o morfología espermáticas. El desarrollo del ICSI se considera como el progreso más significativo en esterilidad masculina en los últimos años, si bien todavía necesita ser evaluada en un tiempo más prolongado.^(2,3,5,6)

1.1.2. Examen físico:

En el examen general se buscan estigmas físicos de síndromes cromosómicos (síndrome de Klinefelter), distribución del vello, ginecomastia.

En el examen genital, el tamaño y consistencia de los testículos son el dato más importante. Los testículos atróficos expresan disminución de túbulos seminíferos con células espermáticas. La palpación de los testículos puede evidenciar la presencia de un tumor (Seminoma). Para evaluar las venas espermáticas es necesario examinar al paciente primero acostado y luego parado, realizando la maniobra de Valsalva. Esta maniobra pone en evidencia el varicocele.^(1,4,7,12) Si el examen no revela un varicocele evidente, el Doppler es el método más útil para complementar el examen clínico.⁽¹⁵⁾

1.1.3. Examen del semen:

El semen normal es una combinación de espermatozoides suspendidos en las secreciones del testículo, epidídimo, próstata, vesículas seminales y glándulas bulbouretrales que se mezclan con los primeros en el momento de la eyaculación. El resultado de la combinación de todo esto es un líquido viscoso denominado eyaculado.^(1,4,5,7,12)

i. Espermograma basal:

La muestra es obtenida mediante masturbación o por medio de un recolector seminal especial usado durante una relación sexual (no es apropiado el uso de condones comerciales debido a que contienen espermicidas). No es recomendable el *coitos interruptus* debido a que se puede perder la primera parte de la muestra o bien está contaminarse con secreciones y pH vaginales, que modifican la motilidad. En caso de requerirse examen bacteriológico se debe indicar al paciente orinar previo a la toma, lavarse las manos y el pene antes de recoger la muestra en un recipiente estéril. La abstinencia sexual previa debe ser de 3-4 días. La muestra se debe entregar en el laboratorio dentro de la hora de su obtención y mantenerla a la temperatura corporal (37°C) durante su transporte. Para lo cual es ideal disponer de un local que permita intimidad para la recolección y que se ubique cerca del laboratorio.^(1,16,20,21)

Nunca se debe hacer diagnóstico con un único espermograma; deben evaluarse por lo menos 2 o 3 muestras separadas entre sí por intervalos de 6-8 semanas. Asimismo, los resultados pueden presentar una curva oscilante, influenciada por distintos factores (estres, tabaquismo) y por ende, nunca se le debe informar a un hombre con un espermograma alterado que no puede tener hijos, salvo en el caso de la azoospermia.^(1,2,4,9,12)

Si el primer espermograma es normal y se desea una evaluación más completa (esterilidad sin causa aparente) se puede planificar un segundo estudio sin abstinencia sexual previa, pero con frecuencia habitual de relaciones sexuales con la pareja. ^(1,2,5,15,12).

La forma tradicional del espermograma se efectúa considerando licuefacción, aspecto, volumen, viscosidad y p H, los cuales son valorados mediante microscopía de campo oscuro o de campo claro

alejando el condensador. Se valora siempre la misma cantidad, sobre la misma variedad de portaobjetos y cubreobjetos, con un espesor de muestra de 20 micras. Esto permite un cálculo apropiado de la concentración de espermatozoides, para determinar si la dilución a utilizar es adecuada para evaluar con precisión su concentración.^(1,5,8,12) .

Una variante actual es la introducción de videomicroscopía y computadoras para la lectura de espermogramas.^(22,23) Esta técnica se conoce como análisis computado del semen y ofrece una evaluación más ágil de las muestras. Sin embargo puede ofrecer resultados inexactos en muestras con baja concentración de espermatozoides.

Los valores de referencia para el espermograma se sintetizan en la tabla 1.

1.1.4. Parámetros estándar para valoración del semen.

i. Parámetros obligatorios:

Los parámetros obligatorios en todo laboratorio son:

- Licuefacción
- Aspecto
- Volumen
- Viscosidad
- p H
- Estimación preliminar de la concentración de espermatozoides
- Motilidad
- Elementos celulares diferentes a espermatozoide
- Aglutinación

TABLA 1.

VALORES DE REFERENCIA DEL ESPERMOGRAMA.

Volumen	2.0 ml o más
PH	7.2 o más
Concentración	20 x 10 ⁶ espermatozoides/ ml o más
Concentración en total eyaculado	40 x 10 ⁶ espermatozoides por eyaculado o más
Movilidad	50% o más con progresión anterógrada (categorías a y b). o 25% o más con progresión lineal rápida (categoría a) dentro de los 60 minutos de la eyaculación
Morfología	*
Viabilidad	50% vivos o más, por ejemplo excluyendo el colorante
Leucocitos	Menor de 1 x 10 ⁶ /ml
MAR-test	Menos del 50% de espermatozoides con partículas adheridas.

Tomado de: O.M.S. Manual de Laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. ED. Panamericana, ed 4, 2001.

Nota: Los rangos de referencia anteriormente citados, se basan en la experiencia clínica de varios investigadores que han estudiado poblaciones de hombres fértiles sanos. Estos no son valores de semen mínimos necesarios para lograr la concepción. En los casos obtenidos por evaluación de la fertilidad *in vivo* o *in vitro* en una población subfértil, la categorización antigua se ha cambiado de valores normales a valores de referencia. Por lo que varones con valores de semen inferiores a los indicados pueden ser fértiles.^(7,14,27) .

La evaluación convencional (OMS) consideraba normal la presencia de más del 50 % de formas normales. Mediante estudios aportados por diversos investigadores de programas de Reproducción Asistida se ha sugerido que cuando la morfología de espermatozoides baja del 15% de formas normales utilizando métodos estandarizados de la OMS, la tasa de fertilidad *in vitro* disminuye.^(1,5)

ii. Los parámetros adicionales en todo laboratorio son:

- Vitalidad espermática
- Evaluación de la concentración espermática
- Análisis de las características morfológicas
- Clasificación de la morfología
- Prueba para la detección de anticuerpos unidos a la superficie (inmunobeads y antiglobulinas) .⁽¹⁾.

La vitalidad espermática se estudia mediante diversas pruebas entre las que se encuentran: prueba de eosina amarillenta (espermatozoides muertos – color rojo) .^(1,5); prueba de eosina amarillenta – nigrosina (espermatozoides muertos – color rojo) .⁽¹⁾; azul tripano, rosa de bengala y café Bismarck.

iii. Entre las pruebas optativas se encuentran:

- Cálculo de índice de defectos seminales múltiples
- Prueba de hinchazón hiposmótica
- Cultivo de semen
- Análisis bioquímico para la función de las glándulas sexuales accesorias
- Análisis seminal asistido por computadora
- Prueba de penetración del ovocito de hámster sin zona pelúcida

Con la prueba de hinchazón del espermatozoide en medio hiposmótico de fructosa y citrato de sodio, se hincha la cola sólo cuando está vivo.⁽¹⁾.

El espermocultivo y urocultivo están indicados cuando en el semen se encuentran células redondas, las cuales corresponden a neutrófilos (peroxidasa positiva), linfocitos o células de la progenie espermática. Si están aumentados los neutrófilos, deben descartarse infecciones genitales y/o urinarias por este método.

La prueba MAR: (*L Mixed Antiglobulin Reaction*) es la medición de anticuerpos antiespermatozoide unidos a la superficie de los gametos en semen fresco. Es positivo (para alteración inmunológica) con valores mayores al 40 %.

Las alteraciones de la bioquímica seminal frecuentemente se deben a secuelas infecciosas:

La fructosa es el indicador de la función de las vesículas seminales. También sirve como indicador de permeabilidad de la vía seminal. Disminuye en las vesiculitis, obstrucción parcial de conductos eyaculadores. Si la disminución es muy marcada y se asocia a azoospermia, indica la obstrucción completa de conductos eyaculadores o agenesia de deferentes.⁽¹⁾ .

El ácido cítrico es el indicador de la función de la próstata. Aumenta en prostatitis aguda por *Mycoplasma* o gérmenes comunes. Disminuye en prostatitis crónicas.

La glicerilfosforilcolina es el indicador de la función del epidídimo y también es útil en el diagnóstico de permeabilidad de la vía seminal. Está aumentada en epididimitis aguda. Desciende en epididimitis crónica o en obstrucción parcial de conductos

eyaculadores. Si la disminución es muy marcada y se asocia a azoospermia y disminución marcada de fructosa, indica la obstrucción completa de conductos eyaculadores o agenesia de deferentes.

iv Pruebas de investigación:

- Pruebas funcionales del espermatozoide
- Especies de oxígeno reactivo e infertilidad masculina
- Pruebas de unión a la zona pelúcida
- Determinación de la reacción acrosomal
- Análisis seminal asistido por computadora: morfología

v. Métodos complementarios para el estudio del hombre con problemas de fertilidad:

Se acude a ellos ante la evidencia de alteraciones en el espermograma. Previo a la derivación del paciente al especialista, se pueden solicitar algunos estudios sencillos a fin de poder asesorar a la pareja sobre su pronóstico reproductivo y orientarla a un centro dotado de la complejidad adecuada para su caso. Estos estudios comprenden:

- Perfil hormonal básico: FSH, LH, testosterona y estradiol por RIA.
- Espermocultivo y urocultivo.
- *Swim Up*: permite la separación de los espermatozoides móviles traslativos del plasma seminal al mismo tiempo que logra la capacitación de los mismos, de manera que sean capaces de penetrar al ovocito.

Se usa con fines pronósticos y terapéuticos. De acuerdo al número total de espermatozoides móviles conseguido luego del

procedimiento, se puede elegir el método de fertilización asistida a emplear:

Más de 5×10^6 espermatozoides: Semen adecuado para Inseminación intrauterina. Puede intentarse con peores resultados con muestras de hasta 3×10^6 . Entre $1,5$ y 3×10^6 espermatozoides: Pueden intentarse técnicas de fertilización asistida de alta complejidad: GIFT, FIV. Con menos de $1,5 \times 10^6$ espermatozoides, sólo es posible lograr el embarazo mediante ICSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides) .^(1,3,6).

5. Nomenclatura de algunas variables del semen.

i. Volumen:

Sus alteraciones comprenden:

Aspermia: Ausencia de semen

Hipospermia: Menos de 2 ml de eyaculado

Hiperespermia: más de 6 ml de eyaculado.

ii. Concentración:

Sus alteraciones comprenden:

Azoospermia: Ausencia de espermatozoides en el eyaculado.

Oligozoospermia: menos de 20×10^6 /ml.

Polizoospermia: más de 250×10^6 /ml.

iii. Movilidad:

El espermograma convencional se evalúa mediante el porcentaje de espermatozoides una gota de 10µl aproximadamente que presentan movilidad en las distintas categorías ^(1-3,6,15), el manual de la OMS refiere que dicho estudio debe ser realizado a temperatura de 20 a 24°C y esta debe ser estandarizada en cada laboratorio, ya que las características de este ambiente afectan la motilidad. ⁽¹⁾

Grado (a) ó (3): traslativos rápidos.

Grado (b) ó (2): traslativos lentos.

Grado (c) ó (1): móviles *in situ*, movimiento oscilante.

Grado (d) ó (0): inmóviles.

El análisis computarizado del semen provee otros parámetros para la evaluación de la motilidad:

Velocidad: Valores normales: 30- 50 mic/seg

Linearidad: Valores normales: 5-8.

La alteración de la movilidad se denomina astenozoospermia y se define como la presencia de menos de 50 % de espermatozoides traslativos, o la alteración de la velocidad y linearidad por debajo de valores establecidos.

iv. Morfología:

Enfermedades como el varicocele pueden alterar la morfología de los espermatozoides, circunstancia conocida como

teratozoospermia. Es importante al leer un espermograma saber con qué criterio se analizó este parámetro.

v. Vitalidad:

Se define como necrozoospermia cuando todos los espermatozoides de la muestra están muertos.

II. ANTECEDENTES:

El espermatozoide fue objeto de estudio desde los albores de la microscopía en 1678. Su morfología, motilidad y el papel que desempeña en la reproducción no le permitían pasar inadvertido, pero durante muchos años fue estudiado en forma aislada de su propio medio líquido, el cual, según la mayoría de los autores, solo cumplía funciones de vehículo.

La morfología del gameto masculino fué relacionada con la fertilidad por numerosos autores, como Moench, MacLeod, Hartman y Schoenfeld.⁽³⁰⁾ Igualmente Freund publica un profuso estudio morfológico mediante microscopía óptica. Sin embargo, recién a partir de los estudios de Mann, que abarcaron desde sus primeras publicaciones en 1944 hasta el extenso trabajo sobre el tema en 1954, se comenzaron a estudiar los diversos componentes del plasma seminal. En todos estos casos, el estudio del espermatozoide y del plasma seminal fue relacionado con los procesos de reproducción y considerado un parámetro de fertilidad masculina.⁽³⁰⁾

Eliasson⁽²⁸⁾ preconiza que el espermograma puede ser utilizado no solo para estudiar el espermatozoide y su capacidad reproductora sino también como medida de la función secretora de las glándulas sexuales accesorias, para el diagnóstico y tratamiento de las mismas, teniendo en cuenta que de este modo el estudio ofrece una visión integrada de hechos recientes, como la síntesis y secreción de los compuestos del plasma seminal (bajo control androgénico) y los sucesos de gametogénesis.

El estudio integral del semen ha servido no solo como base fundamental en los estudios de la fertilidad masculina, sino también como control de la vasectomía o para constatar el éxito en una reanastomosis posvasectomía. (Boyce en Italo 1989).⁽³⁰⁾

En la actualidad se han realizado numerosos estudios enfocados al análisis e interpretación de los diferentes componentes del semen, como son los de :

Johanisson (2000)⁽²⁹⁾ quien al evaluar las diferencias morfológicas entre las células redondas de origen espermatogénico y no espermatogénico (como neutrófilos, linfocitos y macrófagos) en el semen. Encontró que la presencia específicamente de neutrofilos en el semen se consideraba como una reacción inflamatoria subsecuente a una infección en el tracto genital masculino. En este artículo se discutía también la influencia potencial de las células inflamatorias en las muestras de semen sobre la Infertilidad y subfertilidad del individuo.

Tomlinson et al. (2001)⁽²¹⁾ compararon la concentración de esperma y motilidad empleando el hemocitómetro de Neubauer y las cámaras de un solo paso. Las Comparaciones mostraron enormes discrepancias entre los conteos, concluyeron que existía una diferencia significativa entre ambos métodos para el conteo espermático, pero que no existieron diferencias en la evaluación de la motilidad progresiva entre los dos métodos.

Coetzee et al (2001)⁽²³⁾ evaluaron la correlación entre los resultados de la morfología normal de espermias basándose en los criterios estrictos y pautas de la organización mundial de la salud, obtenidos a través de dos sistemas de análisis de semen asistidos por computadora en laminillas teñidas con las técnicas de Diff-Quik y Papanicolau. Ellos Encontraron diferencias fundamentales entre los dos sistemas de clasificación computarizados y pobres correlaciones entre los resultados de ambos sistemas, sugiriendo

con base en sus resultados, que el método de Diff-Quik es el más indicado para realizar las evaluaciones de la morfología espermática en el análisis asistido por computadora.

Guzick et al (2001) ⁽¹⁴⁾ evaluaron los parámetros de concentración, motilidad y morfología de espermias en muestras de semen de hombres fértiles e infértiles, para determinar los valores umbrales de fertilidad y subfertilidad con respecto a esos parámetros. Ellos reportan en ese estudio los valores umbral para la concentración, motilidad y morfología que de acuerdo a sus investigaciones pueden ser usados para hacer esa distinción pero concluyen que ninguna de las mediciones, ni los valores que ellos encontraron son un discriminador poderoso para diagnosticar esterilidad.

Trummer et al (2002) ⁽¹⁹⁾ evaluaron los efectos del cigarro sobre los parámetros del análisis de semen (enfocándose principalmente al número de células inmaduras y leucocitos en los eyaculados) así como a la medición de las concentraciones de la hormona testosterona en hombres fumadores activos y exfumadores no fértiles. Ellos no encontraron diferencias significativas entre los diversos parámetros del análisis de semen entre los fumadores y los exfumadores, concluyendo que el fumar no afecta el análisis de los parámetros convencionales del semen, pero incrementa significativamente el número de células redondas y leucocitos en los eyaculados.

Algunos otros estudios se han enfocado a tratar de estandarizar las diversas técnicas del análisis de semen con la finalidad de reducir las variaciones en los resultados de los diferentes laboratorios. Entre ellos podemos citar los siguientes:

Cooper et al (2002) ⁽³¹⁾ Estudiaron en el Instituto de Medicina Reproductiva (IRM), de Munster, Alemania tres programas de aseguramiento de la calidad externa en Europa evaluando la concentración espermática, motilidad, y morfología del espermatozoide. Los resultados mostraron que entre los laboratorios participantes las evaluaciones de las concentraciones de espermatozoides eran bien determinadas en los tres programas, pero que existieron diferencias marcadas en las evaluaciones de la motilidad y morfología espermática, siendo esta última donde se observaron las mayores discrepancias. Para superar esto, ellos propusieron la introducción de un sistema de análisis de espermatozoides asistido por computadora con valores designados que ayudaran a rectificar la situación y que los programas de control de calidad externo desarrollaran un programa interior para supervisar sus materiales y métodos de valoración.

Bjorndahl et al (2002) ⁽¹⁶⁾ Realizaron un estudio con la finalidad de disminuir la alta variabilidad en los resultados del análisis de semen (que incluían los parámetros de concentración de espermatozoides, motilidad, vitalidad y morfología). Implementando un curso de entrenamiento estandarizado, que aplicaron en 20 países con ayuda del grupo de interés especial en Andrología (SIGA) de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE). Concluyeron que un curso de entrenamiento comprensivo y estructurado conduce a sustanciales reducciones en la variabilidad de los resultados entre los observadores del análisis de semen, pues proporciona un fondo teórico completo y un entrenamiento práctico, que incrementa las habilidades técnicas del personal de laboratorio que realiza análisis de semen.

Keel BA, et al (2002) ⁽²⁰⁾ Realizaron un estudio para determinar el nivel de estandarización en la evaluación del análisis de semen entre los laboratorios clínicos enrolados en la Asociación Americana de Bioanalistas en Andrología de el programa de prueba de la habilidad de los Estados Unidos; valorando concentración espermática, volumen de semen, motilidad y morfología de los espermias. Ellos reportaron que, pocos laboratorios cumplieron con el control de calidad para la cuenta de espermias, motilidad, y morfología, existiendo grandes discrepancias en los resultados entre los diferentes laboratorios. Concluyendo que existía una falta significativa de estandarización en el cumplimiento y reporte del análisis de semen entre laboratorios de los Estados Unidos.

Boone et al, (2000) ⁽²²⁾ Determinaron la viabilidad de usar muestras de semen previamente grabadas sobre video para los sistemas de control de calidad de los análisis de semen asistidos por computadora intra e interlaboratorios, ellos evaluaron los diversos parámetros del análisis de semen internamente (en una academia de investigación del medioambiente) y por cuatro laboratorios externos. Sus resultados sugirieron algunas diferencias significativas para cada variable examinada intralaboratorio. Pero no fueron detectadas diferencias significativas en la evaluación de la concentración de espermia y motilidad entre los laboratorios participantes, cuando los diferentes laboratorios usaron los mismos parámetros para analizar el mismo espécimen de semen de videotape. Con estos resultados ellos concluyeron que los especímenes de semen de videotape pueden servir como control de calidad para las pruebas intra e interlaboratorio para los sistemas de análisis de semen asistidos por computadora.

Oral et al, (2002) ⁽²⁶⁾ Realizaron un estudio de examen de semen en hombres infértiles, cuyo objetivo fué analizar las concordancias entre las preparaciones en fresco contra las teñidas con el método modificado de Diff-Quik de acuerdo al criterio estricto (clasificación de Kruger) para la evaluación de la morfología espermática. Ellos argumentan que la falta de estandarización en la evaluación de la morfología del espermatozoide es la principal razón para la utilidad de este parámetro, como auxiliar en el diagnóstico y tratamiento de la subfertilidad humana, basándose en que de todos los parámetros de semen, la morfología del espermatozoide parece ser uno de los más poderosos indicadores del potencial de fertilización en el hombre, *in vitro* e *in vivo*. A partir de sus resultados ellos concluyeron que la preparación en fresco es conveniente solamente para establecer el porcentaje de los espermatozoides morfológicamente normales, pero para determinar el porcentaje de defectos de los espermatozoides, se recomienda la tinción de las laminillas.

Existen numerosos “índices de fertilidad”, elaborados en función de distintos cálculos matemáticos, con valores de las determinaciones del conteo, morfología, motilidad, etc, que son expresiones de escaso valor indicativo y que únicamente demuestran la falta de información disponible en ese momento y no pueden ser aceptados en la actualidad como expresiones reales de la fertilidad.

Con base en todos estos antecedentes enfatizamos la necesidad de atenerse a condiciones de estandarización para llegar a la real validez de las determinaciones y a la factibilidad de igualdad de interpretaciones por los distintos centros clínicos.

III. JUSTIFICACIÓN:

La medición total del número de espermatozoides eyaculados no define la capacidad fertilizante. El análisis del semen proporciona información básica sobre las condiciones clínicas del varón. Deben estandarizarse las técnicas de recolección y examen del semen si se pretende que los resultados sean confiables y den información válida acerca de la fertilidad del individuo y por consiguiente la posibilidad de tratamiento.

El establecimiento de parámetros de vitalidad espermática mediante diversas pruebas colorimétricas, aunado al análisis computarizado en un procesador de imágenes (captura, digitalización y análisis computarizado, además de videograbación) en una población sana con y sin fertilidad comprobadas establecerá un parámetro de comparación útil para enriquecer las posibilidades diagnósticas de los hombres que acuden al Laboratorio Central del Hospital Central Militar para estudio del líquido seminal como parte de los análisis complementarios en la valoración de la pareja estéril y abrirá una línea de investigación cuyos beneficios se verán a corto y mediano plazos.

IV. OBJETIVOS:

4.1 OBJETIVO GENERAL:

Establecer una línea de investigación para la aplicación y estandarización de nuevos parámetros complementarios y opcionales en la evaluación del líquido seminal en el Hospital Central Militar.

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES:

- Implementar parámetros de utilidad para la evaluación de vitalidad espermática mediante los métodos colorimétricos de eosina amarillenta, eosina amarillenta – nigrosina en varones con fertilidad comprobada (hijos menores de dos años) y sin fertilidad comprobada (sin hijos) que puedan aplicarse como estándares para pacientes con sospecha de infertilidad.
- Valorar la utilidad de la aplicabilidad del procesador de imágenes del microscopio confocal para complementar la evaluación de muestras de líquido seminal en varones con fertilidad comprobada (hijos menores de un año) y sin fertilidad comprobada (alumnos de la Escuela Médico Militar) que puedan aplicarse como estándares para diagnóstico de pacientes con sospecha de infertilidad.

V. MATERIAL Y METODO:

5.1 Toma de la muestra

En el Laboratorio de Microbiología del Hospital Central Militar; Laboratorios de Histología y Embriología de la Escuela Médico Militar se estudiaron 117 hombres, voluntarios (55 con fertilidad comprobada y 62 con fertilidad no comprobada), bajo los siguientes criterios de inclusión: 18 a 40 años de edad; hijos menores de un año de vida (en el grupo de fertilidad comprobada). Se documentaron los antecedentes de infección de vías urinarias o venéreas, varicocele o criptorquídea, ausencia de tratamiento farmacológico 90 días antes de donar la muestra. Se les solicitó abstención de masturbación y relaciones sexuales por un mínimo de 48 hrs. y no mayor de 7 días. Previo a la toma de la muestra se les proporcionó un cuestionario (Anexo B), con las siguientes preguntas: edad; estado civil; número de hijos; edad de los hijos; número de relaciones sexuales por semana, en caso de parejas estables; enfermedades de transmisión sexual, que afecten la producción espermática; antecedentes quirúrgicos del sistema gonadal; antecedentes de tabaquismo, etilismo, actividades deportivas extenuantes, uso de ropa ajustada y exposición a sustancias tóxicas. Para la realización de la espermatobioscopía. Se eliminaron del estudio todos aquellos pacientes que no reunieron los criterios antes descritos y que proporcionaron muestra seminal alterada con orina o que no informaron tener vasectomía.

Se entregó a los participantes una hoja de instrucciones sobre la manera de recoger y trasladar el semen (Anexo A). La muestra se obtuvo mediante masturbación y eyaculación dentro de un recipiente estéril, de vidrio, boca ancha, el cual se etiquetó con nombre (y/o número de identificación), fecha y hora de recolección.

A la hora de recolección de la muestra, se empezó el análisis del semen y se abrió la hoja de recolección de datos individuales (Anexo C).

5.2 Variables

A. ASPECTO Y GRADO DE LICUEFACCIÓN.

Con respecto al aspecto, se determinó el color de la muestra. El grado de licuefacción se valoró por la presencia de grumos mediante inspección a simple vista y a temperatura ambiente.

B. VOLUMEN Y VISCOSIDAD DE LA MUESTRA.

El volumen se midió con una pipeta de plástico graduada, nueva y estéril; la viscosidad se valoró aspirando la muestra en pipetas de 7ml y permitiendo la libre caída de las gotas (goteo individual continuo o goteo individual no continuo con formación de filamento). (figura 19).

C. p H.

El pH se midió mediante papel de pH (rango de 0-14) colocando una gota en el papel y leyendo inmediatamente. (figura 20).

D. PORCENTAJE DE FORMAS ANORMALES.

Mediante microscopía óptica convencional y microscopía con focal con procesamiento de imágenes, se contaron 200 espermatozoides teñidos con tinciones vitales de Eosina - nigrosina a 40x, considerando las siguientes alteraciones espermáticas: defectos de cabeza, cuello y cola. Se tomaron fotografías y se analizaron los resultados obtenidos.

E. CONCENTRACIÓN DE ESPERMATOZOIDES.

La concentración de espermatozoides se valoró mediante microscopía óptica convencional a 40 X, utilizando para el conteo la cámara de Neubauer y el contador de células mecánico. La unidad de medida fue en millones/mililitro. Previo a la colocación de la muestra en la cámara de Neubauer, se hizo una estimación al microscopio convencional, de un campo a 40X (equivalente a 1 nl)⁽¹⁾, de la concentración aproximada de espermatozoides en $10^6/\text{ml}$. Esta estimación fue utilizada para decidir la dilución en formol al 1.0% a emplear: menos de 15 espermatozoides, dilución de 1:5; 15-40 espermatozoides, dilución de 1:10; 40 - 200 espermatozoides, dilución de 1:20; mayor de 200 espermatozoides, dilución de 1:50 (figura 21). Se colocó el cubreobjetos de la cámara de Neubauer; se depositó, por los bordes de los dos compartimientos principales, una gota de eyaculado, la cual difundió por capilaridad en toda la cámara (10 μl aproximadamente), teniendo cuidado de no mover el cubreobjetos (figura 22). Se dejó reposar la muestra 5 minutos para permitir la sedimentación celular y se procedió al conteo. Se contó primero una cuadrícula de las 25 (cada una subdivida a su vez en 16) con que cuenta cada compartimiento de la cámara Neubauer (figura 23). La valoración se efectuó de la siguiente forma: menos de 10 espermatozoides, conteo de las 25 celdas; 10 – 40 espermatozoides, conteo de 10 celdas; mas de 40 espermatozoides, conteo de 5 celdas. Todas las celdas consideradas correspondieron a los ángulos superior e inferior y central de la cámara. El resultado de ambas cámaras se comparó, se descartaron los datos de aquellas muestras en las que la diferencia entre celdas fue mayor al 5% (en estos casos se realizó nuevamente la medición) (figura 24). Los resultados así obtenidos se promediaron y analizaron utilizando el factor de conversión

correspondiente a cada dilución y el número de celdas contadas en la cámara de Neubauer. ⁽¹⁾

F. MOTILIDAD.

La motilidad se determinó mediante microscopía óptica, contando 200 espermatozoides, en 10 μ l de muestra, por laminilla, por paciente. Para la medición de esta variable, se dividió imaginariamente cada campo en cuatro cuadrantes; se cuantificó un solo cuadrante, comenzando por contar en orden progresivo los siguientes parámetros A, B, C, D. A continuación se realizaba el mismo procedimiento en los cuadrantes restantes. Este conteo se registró con el auxilio de un contador manual de células, a fin de suspender el conteo cuando se obtuvieran 200 células. Cabe enfatizar, que cuando el número de espermatozoides obtenidos en una sola progresión en un cuadrante era de 200, se realizaba el conteo de las restantes progresiones, seguido por la determinación del porcentaje de cada progresión tomando como 100% el número total de espermatozoides medidos en la laminilla. Los grados de progresión se clasificaron de acuerdo a los siguientes parámetros ⁽¹⁾:

- A ó 3 progresión traslativa rápida
- B ó 2 progresión lenta
- C ó 1 movimiento *in situ*
- D ó 0 sin movimiento

G. VITALIDAD

La vitalidad espermática se estudió mediante el conteo microscópico de 200 células teñidas con eosina amarillenta 0.5% (espermatozoides vivos – color rosa; espermatozoides muertos – color rojo), para lo cual se colocó en un portaobjetos, una gota de

10 μ l aproximadamente, de esperma con una gota de eosina amarillenta al 1%; después se mezcló con un palillo de madera y se dejó reposar un minuto; posteriormente se colocó un cubreobjetos y se observó en un microscopio convencional a 40X. El campo se dividió de la misma forma que para la valoración de motilidad. Se consideraron primero los espermatozoides vivos, seguidos de los muertos.

Tinción de eosina amarillenta – nigrosina (espermatozoides vivos al momento de realizar la tinción – color transparente; espermatozoides muertos – color rojo). Se realizó al mismo tiempo que la tinción anterior. Se colocó en un portaobjetos, una gota de semen de 10 μ l con dos gotas de eosina amarillenta, se mezclaron con un palillo de madera y se dejó reposar la muestra por espacio de un minuto. Se agregaron tres gotas de nigrosina y se realizó el mezclado mecánico. Finalmente se hizo el corrimiento de la muestra con la ayuda de otro portaobjetos deslizado sobre la preparación con un ángulo de 45°. Se dejó secar el frotis a temperatura ambiente, se cubrió con un cubreobjetos fijado con resina entellan. Se rotuló y almacenó para su análisis posterior en el procesador de imágenes del microscopio con focal Modelo AxioCam HRC, marca ZEISS, de la Escuela Médico Militar. La valoración se llevó a cabo tomando 5 campos a 20X, los cuales fueron capturados en el procesador de imágenes. El grado de aglutinación se evaluó al mismo tiempo que la motilidad en el microscopio óptico convencional.

En todas las variables se obtuvo promedios, media y desviación estandar. Los resultados obtenidos en microscopía óptica y con focal con procesamiento de imágenes, fueron comparados entre sí con respecto a las tinciones vitales, mediante prueba de análisis de varianza, tomando como significativos valores de $P < 0.05$.

H. MORFOLOGIA

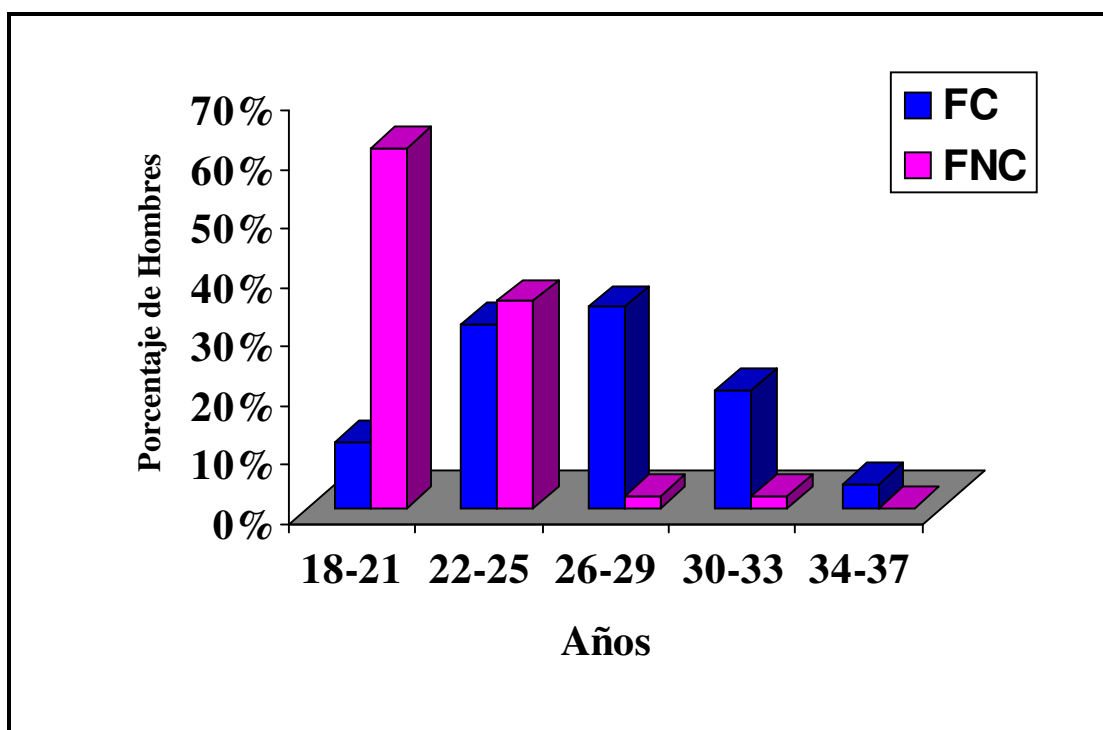
La morfología fue valorada por microscopía convencional en la forma descrita para las dos variables anteriores, en frotis en fresco y sin tinción. Además se evaluaron por microscopía con focal a 40X, las muestras teñidas con Eosina – Nigrosina. Se realizó el conteo individual y total de las anomalías de cabeza, cuello y cola, las cuales se descontaron del número total de células y se clasificaron con base en la clasificación de trastornos morfológicos del espermatozoide del Manual de la OMS ⁽¹⁾. El conteo de formas anormales se efectuó por un morfológico, una bióloga y 3 pasantes de medicina, los cuales desconocían el grupo de estudio al que pertenecía la laminilla.

VI. RESULTADOS:

A. ENCUESTA.

Se estudiaron 117 pacientes con edades promedio de 23.5 ± 4.1 años de edad. La edad promedio del grupo con fertilidad comprobada fue de 26.4 ± 3.78 años de edad y la del grupo de fertilidad no comprobada fue de 21.0 ± 2.6 años de edad (Tabla 2, figura 1).

FIGURA 1.
RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN EDAD

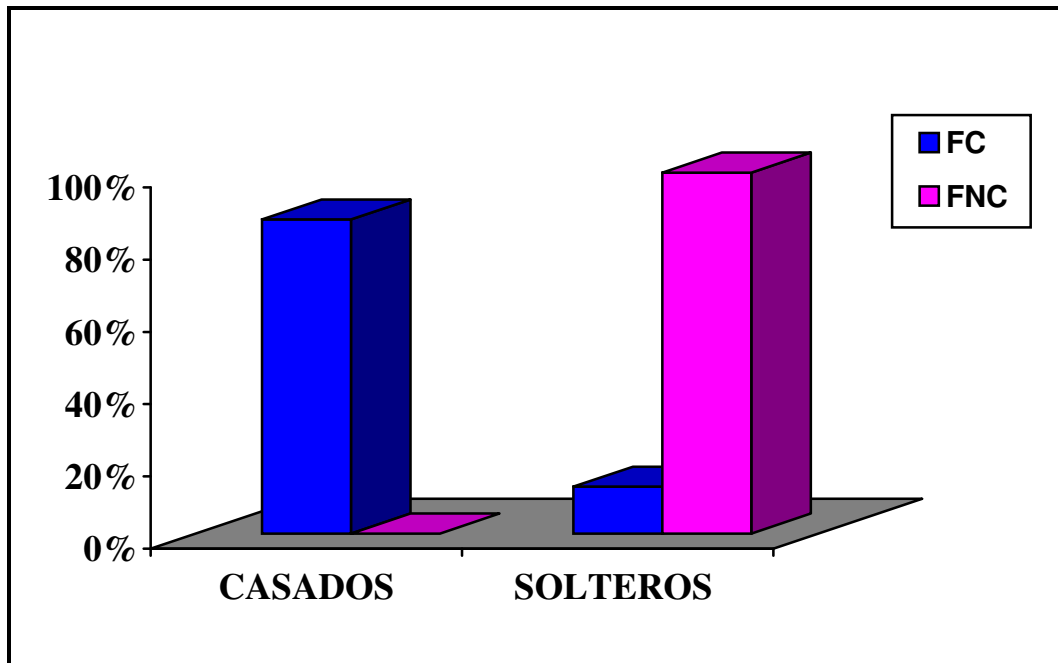


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

En el grupo con fertilidad comprobada el estado civil predominante fue el de casados 48 (87.27%) y en el de fertilidad no comprobada de solteros 62 (100%) (Tabla 3, figura 2).

FIGURA 2.
RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN ESTADO CIVIL

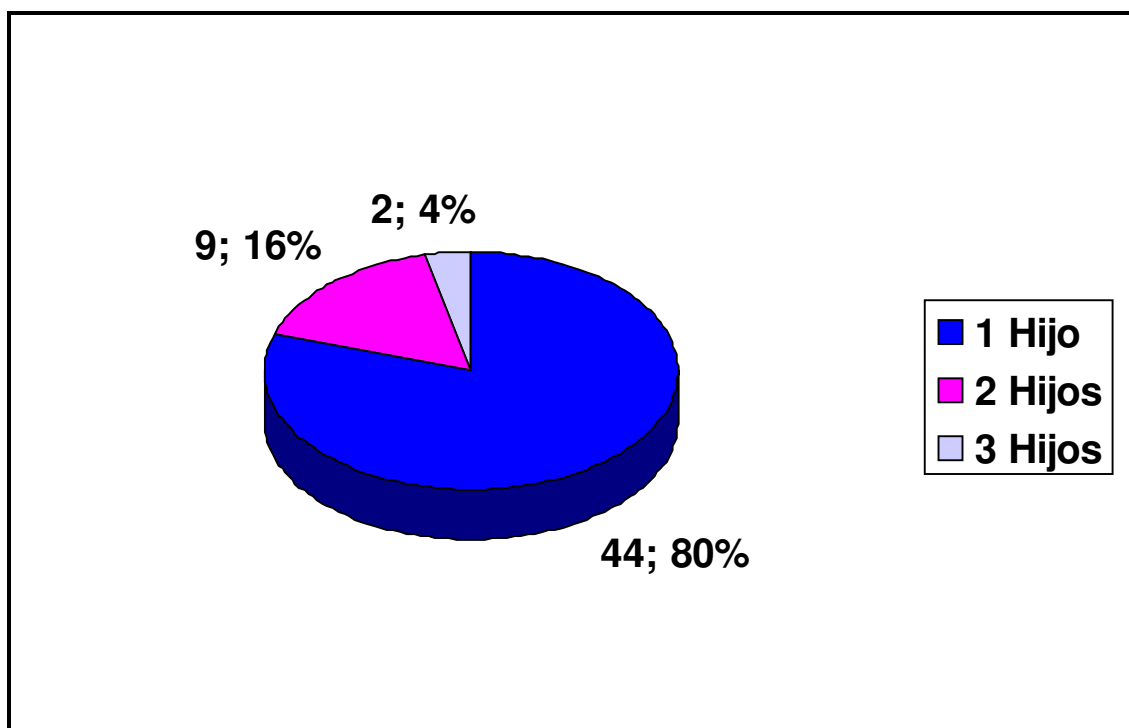


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

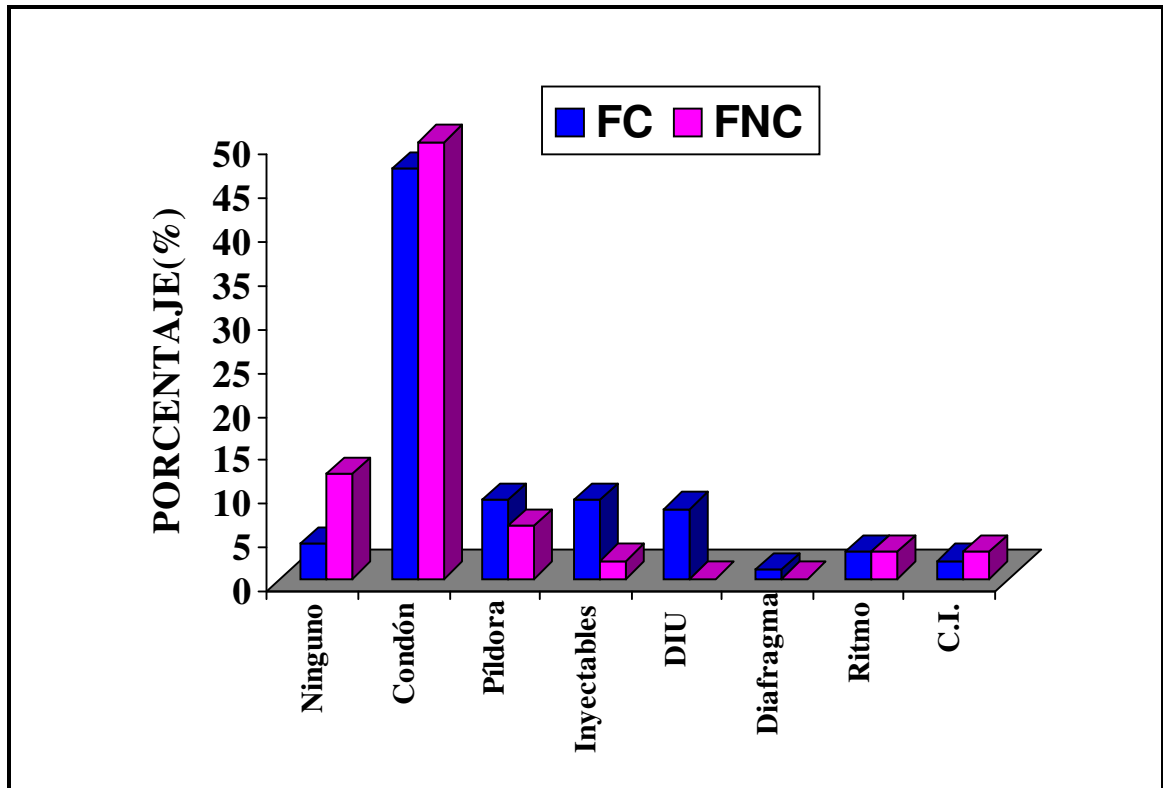
En relación al número de hijos, en el grupo de fertilidad comprobada, 44 (80%) tenían un solo hijo, 9 (16.36%) 2 hijos, 2 (3.63%) 3 o más hijos. En el grupo de fertilidad no comprobada, el 100% no tenía hijos (Tabla 4, figura 3).

FIGURA 3.
N_o. DE HIJOS EN EL GRUPO DE FERTILIDAD
COMPROBADA



En ambos grupos de estudio, el método anticonceptivo empleado con mayor frecuencia fue el condón; 47 (85.45%) del grupo con fertilidad comprobada y 50 (80.64%) del grupo con fertilidad no comprobada. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 5, figura 4).

FIGURA 4.
RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN MÉTODO ANTICONCEPTIVO
EMPLEADO

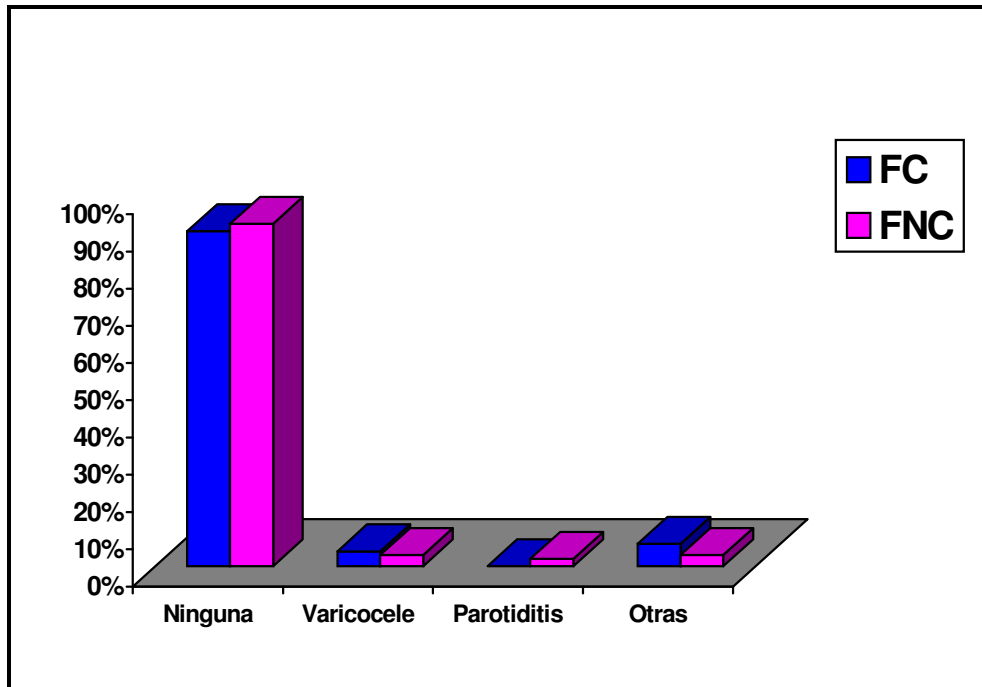


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

En ambos grupos la población predominante fue sana; 50 (90.90%) del grupo con fertilidad comprobada y 57 (91.93%) del grupo con fertilidad no comprobada. Sin embargo en el grupo con fertilidad comprobada, 2 (3.63%) tuvieron antecedentes de varicocele. En el grupo con fertilidad no comprobada, 2 (3.22%) tuvieron varicocele, 1 (1.61%) parotiditis. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos de estudio (Tabla 6, figura 5).

FIGURA 5.
RELACION DE PACIENTES SEGÚN ENFERMEDADES QUE
AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE ESPERMATOZOIDES

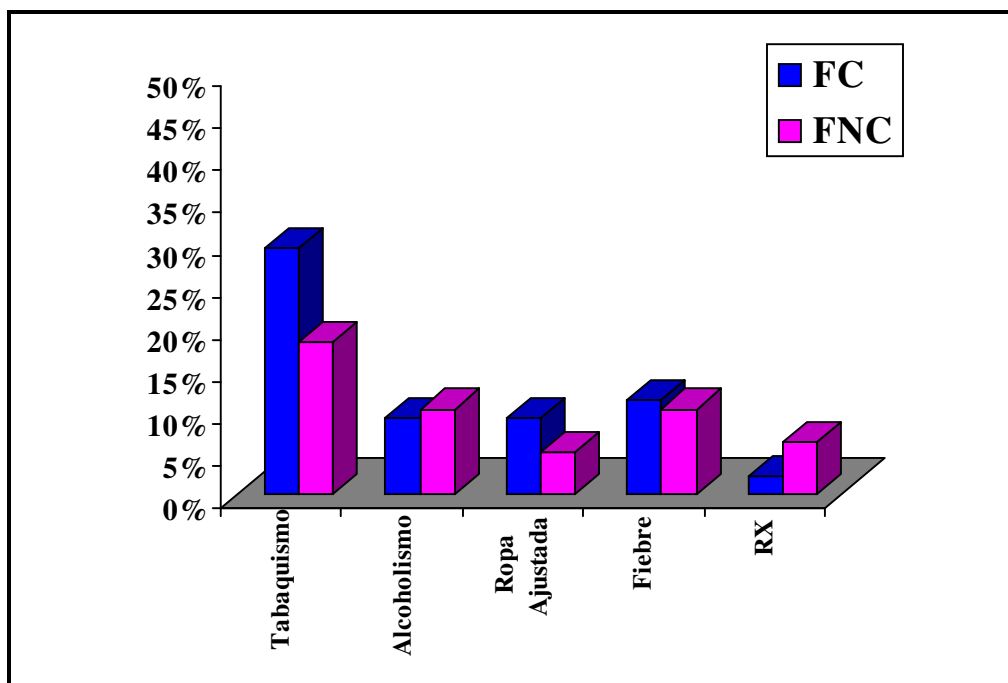


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

Entre los factores de riesgo encontrados en el grupo con fertilidad comprobada, predominó el tabaquismo con 16 (29.09%) casos, seguido por enfermedades febriles al tiempo de recolección de la muestra 6 (11%) casos, alcoholismo 5 (9.09%) casos y uso de ropa ajustada 5 (9.09%) casos. En el grupo con fertilidad no comprobada, predominó el tabaquismo en 11 (18%) casos, seguido de alcoholismo 6 (10%) casos, y episodios febriles 6(10%) (Tabla 7, figura 6).

FIGURA 6.
FACTORES DE RIESGO QUE COMPROMETEN LA
ESPERMATOGÉNESIS



NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

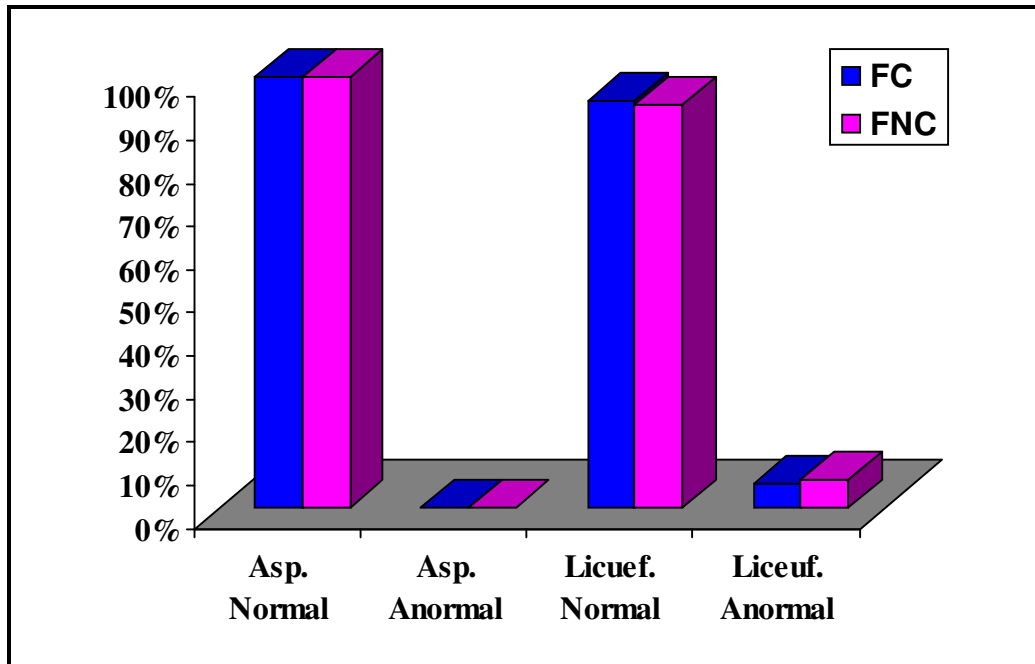
FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

B. MUESTRA.

El aspecto del líquido seminal fue normal en ambos grupos, la muestra se observó color blanco opalescente en los 117 casos estudiados. Con respecto al grado de licuefacción, en el grupo con fertilidad comprobada, 52 (94.5%) casos completaron la licuefacción a los 60 minutos; en el grupo con fertilidad no comprobada, 58 (93.54%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 8, figura 7).

FIGURA 7.

CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO SEMINAL A LOS 60 MINUTOS

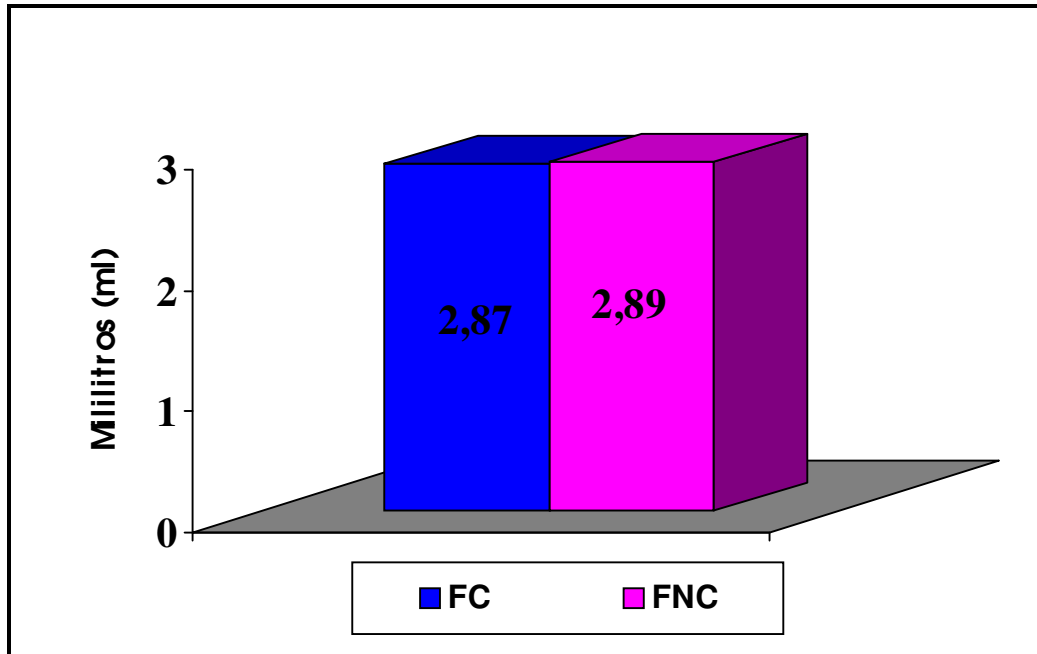


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

El volumen promedio del líquido seminal en el grupo con fertilidad comprobada fue de 2.87 ± 1.26 ml; en el grupo con fertilidad no comprobada fue de 2.89 ± 1.30 ml. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 9, figura 8).

FIGURA 8
VOLUMEN PROMEDIO DEL LÍQUIDO SEMINAL EN AMBOS
GRUPOS

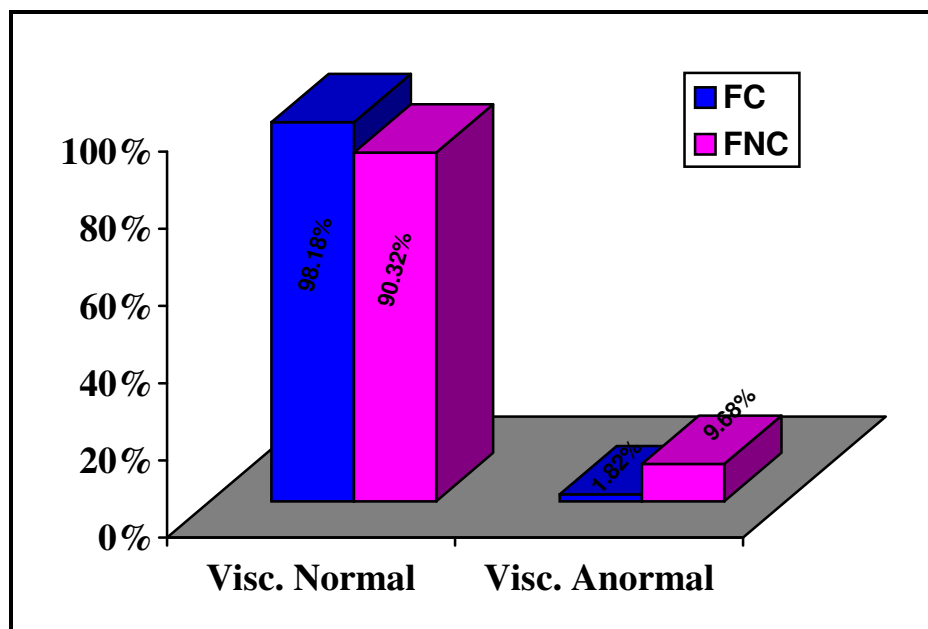


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

En relación a la viscosidad, esta se clasificó como goteo individual continuo (normal) y goteo individual no continuo (anormal). La viscosidad fue normal en 54 (98.18%) de las muestras de fertilidad comprobada y en 56 (90.32%) del grupo con fertilidad no comprobada. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 10, figura 9).

FIGURA 9.
VISCOSIDAD DEL LÍQUIDO SEMINAL VALORADA A LOS 60
MINUTOS



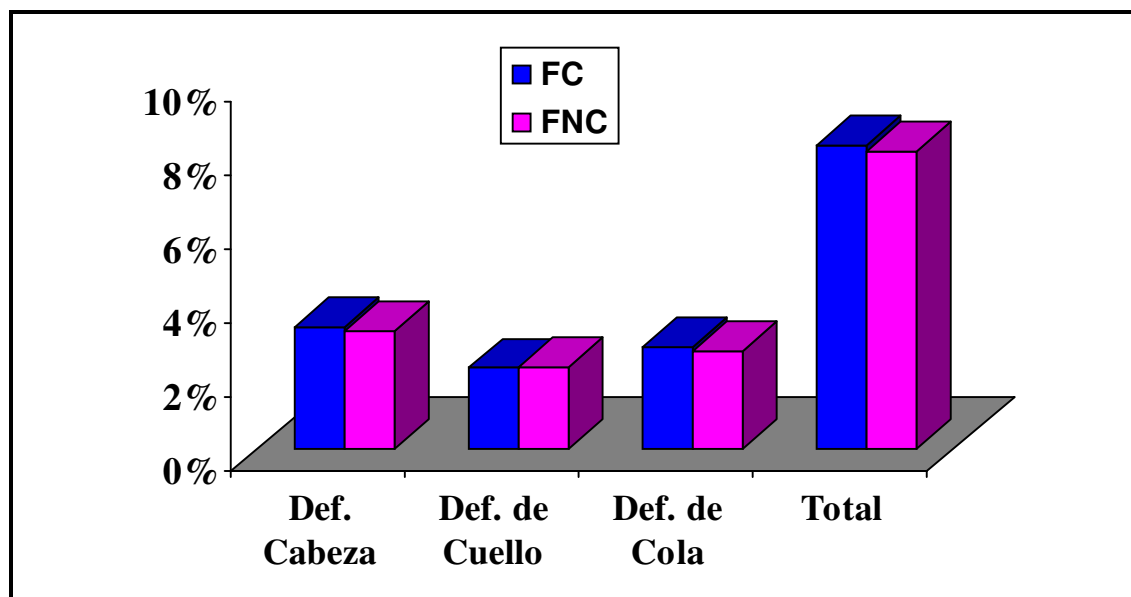
NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

El pH del líquido seminal en el grupo de fertilidad comprobada fue de 7.89 ± 0.31 ; en el grupo de fertilidad no comprobada fue de 7.92 ± 0.33 . No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

El porcentaje total de formas anormales, medido por microscopía convencional, en el grupo con fertilidad comprobada fue de 8.23 ± 4.24 . Los defectos se distribuyeron de la siguiente forma: cabeza 3.29 ± 1.28 , cuello 2.18 ± 0.94 , cola 2.76 ± 1.28 . En el grupo de fertilidad no comprobada el porcentaje total de defectos fue de 8.06 ± 6.36 , distribuidos como sigue: cabeza 3.20 ± 1.36 , cuello 2.22 ± 1.10 , cola 2.64 ± 1.07 . No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 11, figura 10).

FIGURA 10.
RELACIÓN EN EL PORCENTAJE DE MALFORMACIONES
ESPERMÁTICAS.



NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

El porcentaje total de formas anormales, medido por microscopía convencional, en ambos grupos de estudio fue de 8.16 ± 1.97 . Los defectos se distribuyeron de la siguiente forma: cabeza 3.23 ± 1.33 , cuello 2.25 ± 1.06 , cola 2.67 ± 1.21 . El porcentaje total de formas anormales, medido por microscopía con focal, en ambos grupos de estudio fue de 32.20 ± 3.48 , distribuidos como sigue: cabeza 7.02 ± 2.12 , cuello 3.72 ± 1.70 , cola 21.45 ± 4.41 . Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos sistemas de análisis de microscopía con respecto a malformaciones totales, malformaciones de cabeza, malformaciones de cuello y malformaciones de cola $p < 0.05$ (Tabla 12, figura 11,12,13,14 y 25).

FIGURA 11.

COMPARACIÓN ENTRE MORFOLOGÍA NORMAL UTILIZANDO MICROSCOPIA SIMPLE VS. MICROSCOPIA CON FOCAL.

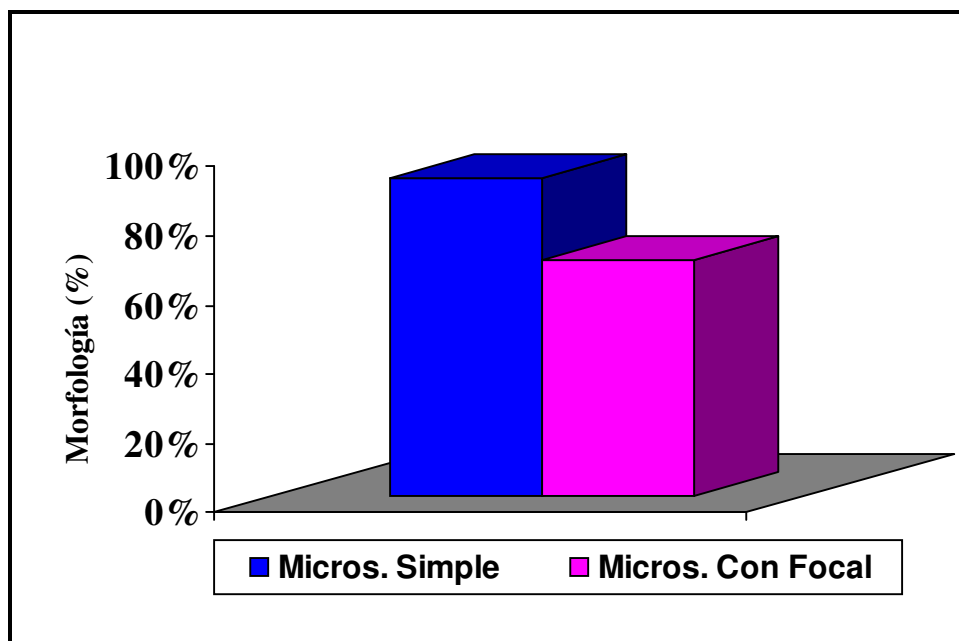


FIGURA 12.

DEFECTOS DE CABEZA OBSERVADOS CON MICROSCOPIA SIMPLE Y MICROSCOPIA CON FOCAL.

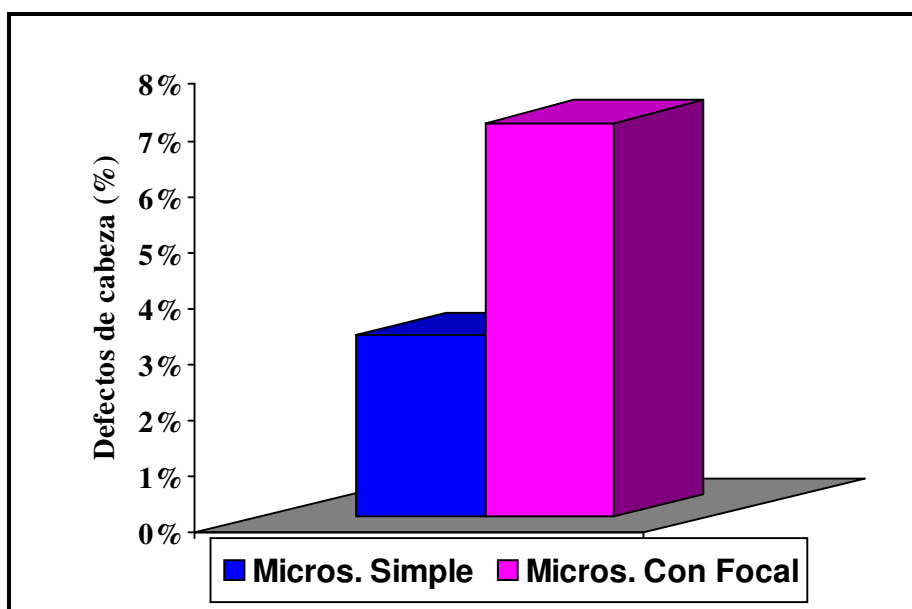


FIGURA 13.
DEFECTOS DE CUELLO OBSERVADOS CON MICROSCOPIA
SIMPLE Y MICROSCOPIA CON FOCAL.

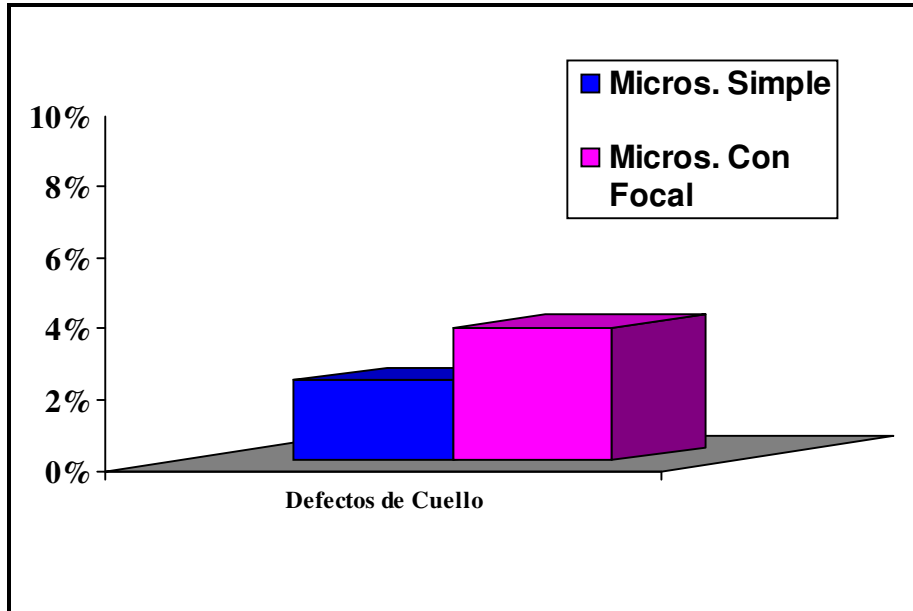
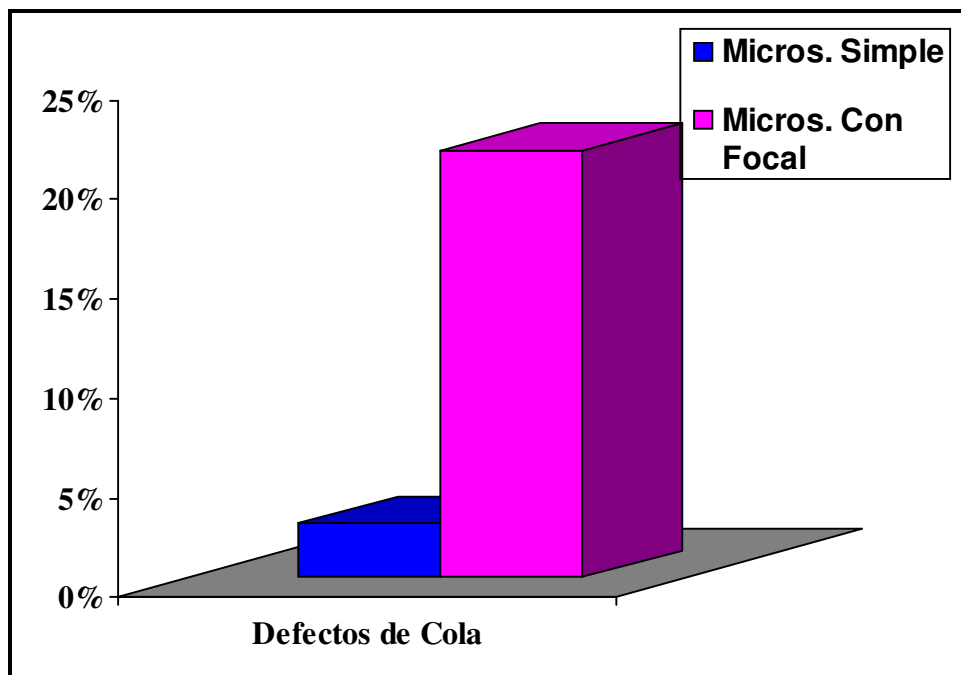
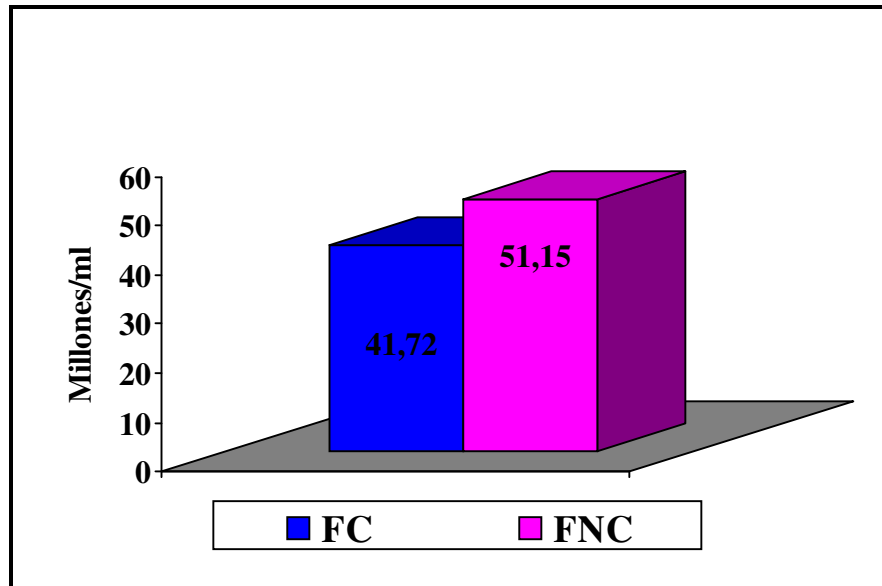


FIGURA 14.
DEFECTOS DE COLA OBSERVADOS CON MICROSCOPIA
SIMPLE Y MICROSCOPIA CON FOCAL.



La concentración espermática en el grupo con fertilidad comprobada fue de 41.72 ± 13.45 millones de espermatozoides por mililitro; en el grupo de fertilidad no comprobada fue de 51.15 ± 31.37 millones de espermatozoides por mililitro. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 13, figura 15).

FIGURA 15
RELACIÓN DE CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA POR MILILITRO

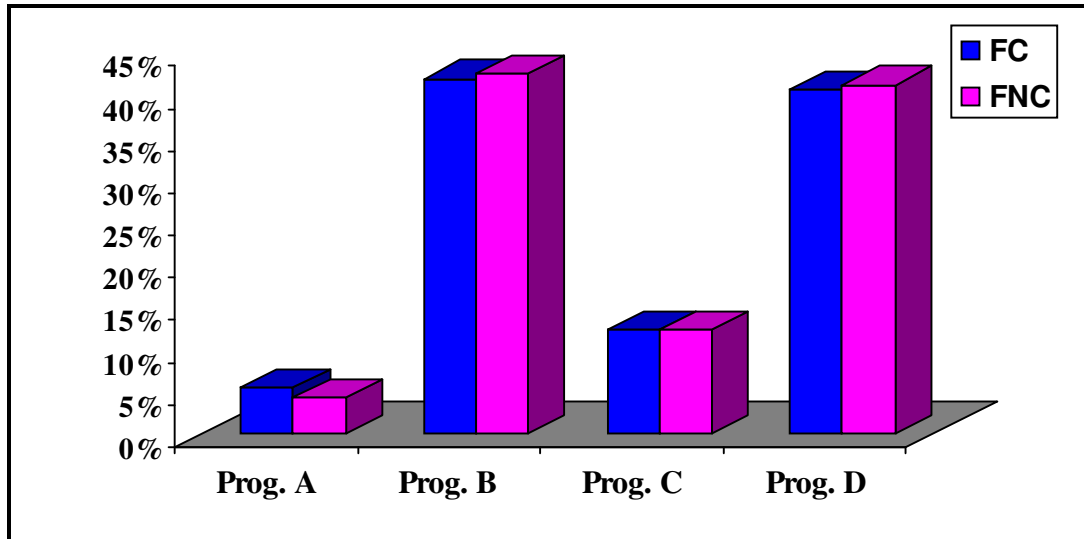


NOTA: FC= Fertilidad comprobada

FNC= Fertilidad no comprobada

La motilidad espermática en el grupo de fertilidad comprobada fue de 59.46 ± 12.62 , dividida en la siguiente forma: tipo A, 5.31 ± 4.95 ; tipo B, 41.90 ± 7.85 ; tipo C, 12.25 ± 7.11 ; tipo D, 40.54 ± 12.62 . En el grupo de fertilidad no comprobada fue de 58.82 ± 12.55 , dividida en la siguiente forma: tipo A, 4.15 ± 4.77 , tipo B, 42.45 ± 10.51 , tipo C, 12.21 ± 5.97 ; tipo D, 41.17 ± 12.55 (Tabla 14, figura 16).

FIGURA 16.
MOTILIDAD ESPERMÁTICA

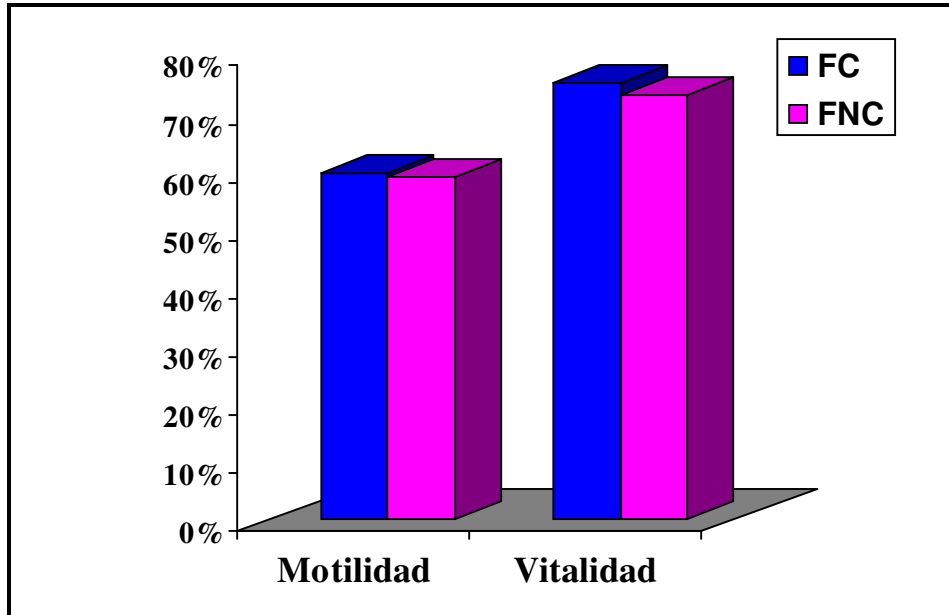


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada.

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

En relación a la vitalidad observada por tinción con eosina amarillenta al 5%, se observó lo siguiente en el microscopio óptico a 40X (200 células): en el grupo de fertilidad comprobada 74.85 ± 8.05 estaban vivos a la hora de obtenida la muestra; en el grupo de fertilidad no comprobada 72.86 ± 9.29 estaban vivos a la hora de obtenida la muestra. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 15, figura 17,).

FIGURA 17.
VITALIDAD ESPERMÁTICA DETERMINADA CON EOSINA AMARILLENTA

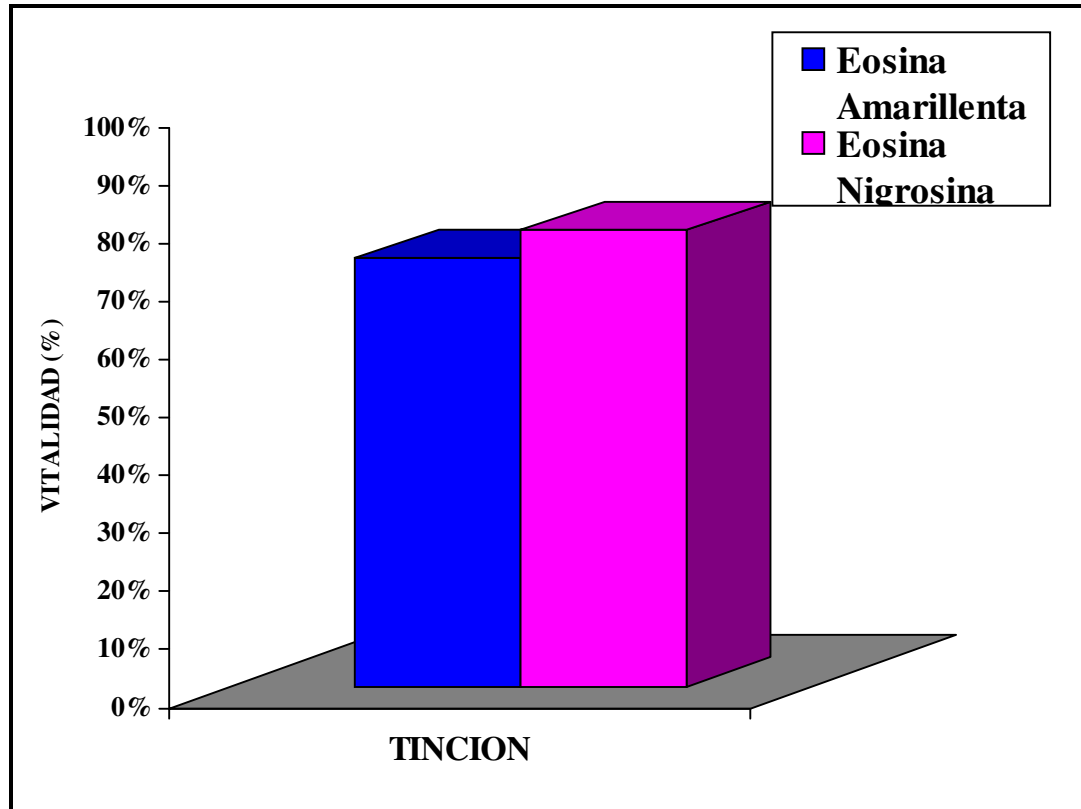


NOTA: FC= Grupo de Fertilidad comprobada

FNC= Grupo de Fertilidad no comprobada.

En relación a la comparación entre vitalidad, en ambos grupos de estudio, observada por tinción con eosina amarillenta al 5%, en el microscopio convencional, se observó lo siguiente: 73.71 ± 8.2 estaban vivos a la hora de obtenida la muestra; en el grupo de tinciones con Eosina – Nigrosina y valorados por microscopía con focal, 78.53 ± 8.18 estaban vivos a la hora de obtenida la muestra. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 16, figura 18, y 26).

FIGURA 18
COMPARACIÓN DE VITALIDAD UTILIZANDO LAS TINCIONES
DE EOSINA AMARILLENTA Y EOSINA-NIGROSINA



VII. DISCUSIÓN:

En este estudio se evaluaron pacientes jóvenes de entre 23.5 ± 4.1 años de edad (18 – 37) (Tabla 2, figura 1) con la idea de establecer parámetros de normalidad que puedan utilizarse con posterioridad en pacientes con problemas de fertilidad en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Central Militar. Durante el tiempo del estudio, no fue factible obtener pacientes sin hijos, o con hijos menores de un año, entre el rango de edades de más de 37 años, sin embargo se sugiere que éstos sean analizados en estudios posteriores a fin de obtener parámetros de confiabilidad en hombres de mayor edad. En la literatura mundial el rango de edades varía de 18 a 60 años, debido a cualquiera de estas causas: a) varones que acuden a las diversas clínicas de fertilidad y, b) a que la mayor parte de los varones tienen hijos entre estos rangos de edades ⁽¹⁴⁾

El estado civil no fue un parámetro determinante en el estudio, excepto por el requisito de no tener hijos (grupo con fertilidad no comprobada), hecho que en un alto porcentaje se relaciona con la soltería del varón (Tabla 3, figura 2). En la literatura mundial los estudios están dirigidos a personas casadas con problemas de concepción ^(2,6,12,14) y este parámetro se relaciona con la vida sexual activa. En nuestro estudio y con objeto de establecer parámetros de normalidad se consideró a hombres solteros, aparentemente sanos, con vida sexual no encausada a la reproductividad y a hombres casados con hijos menores de un año de edad, en quienes la fertilidad está comprobada.

En este estudio, el número de hijos predominante en el grupo de fertilidad comprobada fue de uno, este evento es fortuito, ya que el único requisito indispensable en este sentido, era el tener un hijo menor de 2 años de edad, de acuerdo a como marca la norma

internacional ^(14,16), no obstante, la OMS recomienda que sean menores a 1 año, por lo que así se consideró en nuestro estudio⁽¹⁾ (Tabla 4, figura 3).

El método anticonceptivo más empleado a nivel mundial entre los varones es el condón, debido a que los hormonales antiespermatogénesis, estudiados hasta la fecha, tienen un bajo margen de seguridad, por lo que la anticoncepción queda en manos de la pareja en la mayoría de los casos. En este estudio, entre la población con fertilidad no comprobada, el uso de condones se relaciona tanto con la prevención de enfermedades venéreas, como con la de anticoncepción debido a que en su mayoría no cuentan con una pareja sexual fija. En el caso de los pacientes con fertilidad comprobada, el objetivo del empleo del condón es para planificar y espaciar los embarazos de la pareja (Tabla 5, figura 4). En la literatura mundial el uso de anticonceptivos en el varón, coincide con nuestro estudio, en cuanto al empleo del condón, seguido del uso de anovulatorios por parte de la pareja. ^(1,2,5,12)

En nuestro estudio se buscaron pacientes sanos debido a que uno de los objetivos del estudio era establecer parámetros de normalidad que puedan ser utilizados en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Central Militar. Sin embargo, observamos que una de las alteraciones que con mayor frecuencia presenta la población masculina estudiada es el varicocele y la parotiditis ^(2,5,7,8,15) (Tabla 6, figura 5), así como la presencia de enfermedades febriles que pueden afectar la fertilidad cuando ocurren tres semanas antes del coito. Por lo anterior es importante hacer del conocimiento del personal militar con deseos de procreación, el tratamiento oportuno de estos factores de riesgo relativo para su fertilidad como se refiere en la investigación bibliográfica efectuada y corroborada en este estudio en los hallazgos de la evaluación de las muestras. En la literatura mundial, la espermatobioscopía se

relaciona con varones que tienen problemas con la concepción de hijos y los cuales han recibido tratamiento hormonal para aumento de concentración del número de espermatozoides debido a infecciones venéreas, orquidopexia, antecedente de hernia inguinal, varicocele, uso de anabólicos, exposición a sustancias tóxicas, disfunción eréctil, enfermedades del eje hipotálamo – hipófisis – testículo, entre otras ^(1,2,5,8,15,18). Los resultados de nuestro estudio podrán ser utilizados como parámetros normales para la evaluación de pacientes con este tipo de problemas y delimitará aquellos que requieran apoyo de la clínica de fertilidad, los cuales acuden a valoración en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Central Militar.

En comparación con la marihuana y el alcohol, muy poco es lo que se sabe de los efectos del tabaco sobre el comportamiento y funciones sexuales, aunque a lo largo de la historia se han emitido distintas opiniones sobre esta relación. Algunos autores han mencionado que la pubertad se manifiesta casi medio año antes en los hombres que fumaron, aún cuando se desarrollaran más tardíamente entre los fumadores las características sexuales secundarias. También se ha dicho que disminuye la libido. Entre los efectos sobre la motilidad espermática, ésta se encuentra disminuida, además del decremento en la cantidad y calidad de los espermatozoides (macrocefalia, inmadurez) ^(1,5,18,19). Este hecho no fue comprobado en nuestro estudio debido a que no era un objetivo diferenciar entre las características del líquido seminal de pacientes fumadores con no fumadores, no obstante que se detectó esta característica en 29.09% y 18% de los casos con fertilidad comprobada y fertilidad no comprobada respectivamente. La determinación de la importancia de este factor debe ser sujeto de estudios posteriores y con poblaciones más grandes para obtener datos concluyentes que mencionen el número de cigarrillos por día

y la edad de inicio del tabaquismo, aunado a experimentación en animales de laboratorio (Tabla 7, figura 6).

El efecto de la ingesta de alcohol en forma aguda (0.4 a 0.8 g/kg) se asocia a presencia de espermatozoides acefálicos y con cola arrollada; en el alcoholismo crónico el efecto es gradual y afecta el proceso de la espermatogénesis en forma inversa el proceso de maduración espermática, es decir, al principio se afectan las formas maduras y en casos avanzados las espermatogonias ⁽¹⁸⁾. Otro efecto del alcohol observable en la espermatobioscopia es la reducción de la motilidad por el exceso de moco en el semen debido a la irritación prostática por la eliminación de los productos del metabolismo del alcohol ⁽²⁶⁾. En nuestro estudio la población consumidora de alcohol en ambos grupos fue menor del 10%, la ingesta fue referida como ocasional. No se cuantificó la cantidad de alcohol, el tiempo transcurrido desde la última ingesta o la concentración sanguínea debido a que no era objeto del estudio; sólo se tomó como referencia su presencia (Tabla 7, figura 6).

El uso de ropa ajustada presiona los testículos contra la pared abdominal por lo que evita la eliminación normal de temperatura gonadal mediante el sistema de contracorriente. El aumento de la temperatura testicular afecta el proceso de espermatogénesis, de acuerdo a investigaciones realizadas a nivel mundial. Este parámetro fue encontrado en 9.09% de los pacientes con fertilidad comprobada y 4.8% de los de fertilidad no comprobada, aunque no se valoró la significancia de este hecho por no ser objeto de este estudio, para ello sería necesario aumentar el número de pacientes ^(2,5,15) (Tabla 7, figura 6).

La exposición a rayos X afecta la división celular y por consiguiente la espermatogénesis, reduciendo la concentración espermática a corto plazo. Sin embargo cabe destacar que sólo afecta a espermatogonias tipo A que inician el ciclo mitótico o

espermatogonias tipo B que experimentan meiosis. El proceso total de la espermatogénesis, espermiotelirosis y maduración de las células gaméticas masculinas en el varón, dura aproximadamente 74 ± 4 días, por lo que esperar un período de 3 meses antes de la concepción, es suficiente para la eliminación de espermatozoides que pudieran haber sido dañados por este agente físico. En nuestro estudio sólo se detectó en 1.18% de los pacientes con fertilidad comprobada (Tabla 7, figura 6) ⁽⁵⁾.

El aspecto de las muestras de líquido seminal en su totalidad, fue color gris opalescente similar al reportado en la literatura mundial ^(1,2,3,5,14). El grado de licuefacción valorado a los 60 minutos, como marcan los estándares mundiales, reflejó que en nuestro estudio las muestras fueron normales, ya que en el 94.5% y 93.5% de los grupos con fertilidad comprobada y no comprobada respectivamente fue total y sin presencia de grumos (Tabla 8, figura 7). ^(1,5,14)

Según la literatura mundial el volumen del líquido seminal normal es de 2 a 6 ml ^(1-4,5,12,14,17). Las muestras de nuestro estudio pueden considerarse de volumen normal ya que se obtuvieron 2.87 ± 1.26 ml en el grupo con fertilidad comprobada y 2.89 ± 1.30 ml; en el grupo con fertilidad no comprobada (Tabla 9, figura 8).

De acuerdo a los parámetros de la OMS el líquido seminal debe tener un goteo individual continuo al término de una hora para considerarse normal. Los parámetros anteriores permiten deducir que el grado de viscosidad de nuestras muestras fue normal, ya que en ellas 98.18% y 90.32% de los grupos de fertilidad comprobada y no comprobada respectivamente cumplieron con dicho parámetro (Tabla 10, figura 9). ^(1-5,12,14,17)

El pH normal del líquido seminal es de 7.2 a 8.0 según la OMS ^(1,2,3,5), aunque algunos autores lo consideran normal entre 7.5 y 8.3 ⁽²⁶⁾. En la presente investigación el pH del grupo de fertilidad

comprobada fue de 7.92 ± 0.33 y en el de fertilidad no comprobada 7.89 ± 0.31 , por lo que se consideraron ambos parámetros dentro de los estándares de normalidad.

Con base en los parámetros de normalidad de la OMS, en el líquido seminal se pueden encontrar hasta 15% de formas anormales^(1-5,14). Este parámetro se ha modificado en los últimos años debido a la implementación de métodos computarizados para la determinación de la morfología y a las técnicas de fertilidad asistida. Las formas anormales más frecuentemente reportadas en la literatura mundial son los defectos de cabeza y la discinesia^(1,2,3,7,14). En la presente investigación, las formas anormales fueron del 8.23 en el grupo con fertilidad comprobada y de 8.03 en el de fertilidad no comprobada valoradas mediante técnica de microscopía convencional. Sin embargo, nuestros resultados variaron de manera estadísticamente significativa al ser evaluados mediante frotis con eosina – nigrosina y el microscopio con focal con sistema de procesamiento de imágenes. Este hecho se puede deber a que al fijar la muestra y teñirla, además de tener la versatilidad de un sistema de microscopía que realiza las cuentas y elimina el error humano, la valoración tiene mayor exactitud y confiabilidad. Sin embargo, este estudio complementa los anteriores, no los elimina. Desde ambos puntos de vista diagnósticos, podemos considerar ambas poblaciones como normales. En ambos grupos y por ambos estudios microscópicos, la mayoría de defectos se deben a malformaciones de la cabeza, al igual que en la literatura mundial (Tablas 11,12 figuras 10-14).

La concentración de espermatozoides considerada a nivel mundial como normal es mayor a 20 millones de espermatozoides/ml, concentración total de eyaculado mayor a 60 millones^(1-,5,12,14,17). En este estudio la concentración espermática en el grupo de fertilidad comprobada fue de 41.72 millones/ml y la del

grupo de fertilidad no comprobada de 51.15 millones/ml. Ambos valores son considerados como normales. Cabe destacar que la diferencia no significativa, observada entre nuestros dos grupos de estudio se puede deber a que en el de fertilidad comprobada la vida sexual activa tiene mayor frecuencia ya que se cuenta con una pareja estable y en su mayoría están casados. En cambio en el grupo con fertilidad no comprobada las relaciones variaban en cuanto a frecuencia por lo que existe diferencias en los días de abstinencia y la periodicidad de las relaciones sexuales entre ambos grupos. Sin embargo para obtener una explicación más concluyente sería necesario ampliar el tamaño de la muestra (Tabla 13, figura 15).

La motilidad normal global debe ser mayor del 50% según la OMS^(1-5,12,14,17). En este estudio fue de 59.45 para el grupo de fertilidad comprobada y de 58.81 en el de fertilidad no comprobada. Lo que habla de una población normal. Según algunos autores la motilidad en general se obtiene por la suma de las progresiones A + B + C; sin embargo otros autores enfatizan que la más importante es la suma de progresiones A + B a la cual denominan motilidad discriminada. En nuestro estudio la motilidad discriminada en el grupo de fertilidad comprobada fue de 46.6 y la del grupo de fertilidad no comprobada fue de 47.2. Ambos parámetros caen por debajo de la normalidad y podrían ser considerados como anormal^(1-5,12,14,17). Es necesario realizar mediciones posteriores para determinar si las diferencias observadas en nuestra población se deben a características intrínsecas de la población masculina mexicana o bien al reducido tamaño de la muestra de nuestro estudio (Tabla 14, figura 16).

La vitalidad normal según las referencias bibliográficas es de 75% a la hora de obtenida la muestra, y depende en estudios *in vitro*, de las condiciones de obtención de la muestra y de la

temperatura a la que es procesada, por lo que debe ser estandarizada en cada laboratorio^(1-5,12,14,17). En este estudio, la motilidad en el grupo con fertilidad comprobada fue de 74.85% y en el de fertilidad no comprobada de 72.86% por lo que podemos decir que los estándares son adecuados para su valoración de acuerdo con los criterios de la OMS (Tabla 15, figura 17).^(1-4,5,11,12,14,17)

Es importante destacar que el uso de colorantes vitales en preparaciones en fresco, permite la diferenciación entre los espermatozoides inmóviles pero vivos, de aquellos que están muertos. Este hallazgo podría indicar alteraciones de las mitocondrias relacionadas con la capacidad cinética de estas células. En nuestro estudio se observó 14% de espermatozoides inmóviles pero vivos, lo que refuerza la necesidad de la implementación de medidas colorimétricas vitales en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Central Militar (Tabla 14, figura 17).^(1-5,12,14,17,25)

La tinción de eosina – nigrosina es una coloración vital de gran aplicabilidad, ya que al teñir los espermatozoides vivos y muertos en el momento del estudio y ser fijada con posterioridad, permite su revaloración cuantas veces sea necesario. Sin embargo es importante destacar lo siguiente: a) la muestra debe ser realizada y fijada al mismo tiempo que la coloración de eosina amarillenta para que no existan diferencias en su evaluación; b) el colorante debe guardarse por tiempos cortos y en frasco ámbar a temperatura ambiente para evitar su degradación; c) antes de ser utilizada debe ser filtrada con papel filtro extrafino, ya que la presencia de grumos del colorante o precipitaciones del mismo, interfiere con la observación y la calidad del enfoque; d) durante la aplicación del cubreobjetos debe evitarse al máximo la formación de gotas o burbujas que interfieran con la visibilidad de la muestra (Tabla 16, figura 18, y 25-26).

Ambas técnicas colorimétricas se complementan ya que una determina las formas inmóviles pero vivas, y la otra las formas vivas pero con anomalías morfológicas. No obstante tratarse de estudios alternativos, serían de gran valor si se integraran al protocolo de estudio del líquido seminal que se lleva a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Central Militar. Los resultados obtenidos en este estudio pueden sentar las bases para la formación de parámetros de normalidad que sirvan de guía para el diagnóstico de problemas de fertilidad en el varón (Figuras 25-26).

Como punto final, es importante destacar que, en varones con problemas de fertilidad, no basta con la obtención de una muestra para establecer un diagnóstico de infertilidad o subfertilidad, por el contrario en ocasiones se requiere de la obtención de un mínimo de 3 muestras consecutivas con intervalos de descanso de una semana, e inclusive la evaluación de la muestra con vida sexual activa normal de la pareja sin períodos de abstinencia para valorar el impacto de la relación sexual en la fertilidad del varón ^(1-4,5,12,14,17). No es recomendable la obtención de la muestra a partir de la vagina debido a que sus condiciones varían por: pH vaginal; células epiteliales e inflamatorias y flora bacteriana propias de la vagina; dificultad de cuantificar la cantidad, pH, viscosidad y resto de parámetros del líquido seminal antes descritos. ^(1-3,8,15)

En todo laboratorio de diagnóstico de fertilidad es trascendente la estandarización de parámetros diagnósticos confiables, ya que ellos afectan de manera directa las posibilidades terapéuticas de la pareja con problemas de fertilidad. Este estudio contribuye a dicha estandarización.

Con el microscopio confocal y un sistema de análisis de imágenes, es posible analizar y digitalizar imágenes, además de grabarlas y verlas en televisión con mayor nitidez que los métodos

convencionales, lo que incrementa la exactitud y confiabilidad diagnóstica en pacientes con problemas de fertilidad.

VIII. CONCLUSIONES:

1. La población masculina estudiada es clínicamente sana y se encuentra dentro de los estándares mundiales, por lo que los valores obtenidos pueden ser usados como parámetros confiables en los intervalos de edad mencionados.
2. Las características del líquido seminal cumplen con los estándares de normalidad señalados por la OMS, en ambos grupos de estudio, por lo que pueden ser empleados de manera comparativa con confiabilidad en otros estudios de fertilidad.
3. La tinción de eosina-amarillenta discrimina espermatozoides vivos de los muertos de manera confiable, por lo que debe implementarse en el protocolo de investigación del paciente con problemas de fertilidad en el Hospital Central Militar.
4. La tinción de eosina-nigrosina discrimina espermatozoides vivos de los muertos, además de discernir malformaciones, por lo que debe implementarse en el protocolo de investigación del paciente con problemas de fertilidad en el Hospital Central Militar.
5. El uso de medidas complementarias tales como la valoración de la viabilidad y el análisis morfológico con el microscopio con focal integrado a un sistema computarizado, incrementan la exactitud diagnóstica de manera significativa, por lo que serán de utilidad en casos de duda diagnóstica.

IX. BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- Manual de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el espermatozoide y el moco cervical. ED. Panamericana, ed. 4, 2001.
- 2.- Machel M, Seibel M: Infertility, 2ª ed Appleton & Lange, USA 1996.
- 3.- Human Spermatozoa in Assisted Reproduction. A, Acosta; et al. ED. Williams & Wilkins. 1990.
- 4.- Francis S. Greenspan, cols. Endocrinología Básica y Clínica. 4ª ed. Manual Moderno. México 1998.
- 5.- Fernández Guzmán, Manual de biología del desarrollo, 3ª ed. Manual Moderno, México 2002.
- 6.-Gardener David Dphil. And etl, TEXTBOOK OF ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES, Laboratory and Clinical Perspectives, Ed. Martin Dunitz,2001 pages 61-88.
- 7.-Suzanne Boland P. MD. And etls, Report in Varicocele and Inferility, INFERTILITY,An AUA Best Practice Policy and ASRM Practice Committee Report, page 1-5, 2001.
- 8.- DJ Cahill MD, Management of infertility. Britain Medicine Journal,2002, volumen 325, pages 28-32.z
- 9.- Constan D, Haning R y cols: Human reproduction Little Brown, USA, 1995.
- 10.- Keye W, Chang J Rebar R y cols: Infertility evaluation and treatment, 1ª ed. Saunders, USA 1995.
- 11.- Vázquez E: Medicina Reproductiva en México. 1ª ed JGH Editores, México 2000.
- 12.-Yen S., Jaffe R. : Endocrinología de la reproducción.3º edición. Ed. Panamericana.1993.
- 13.- Austin C, Short R: Células germinales y fertilización. La prensa Médica Mexicana, México, 1982.

- 14.-Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, Cisneros P, Steinkampf MP, Hill JA, Xu D, Vogel DL; National Cooperative Reproductive Medicine Network. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N. Engl. J. Med.* 2001 Nov 8;345(19):1388-93.
- 15 .- Dawson chirs, MD.and cols. ABC de Urology: Subfertility and Male Sexual Dysfunction, *British Medical Journal*, Volumen 312(7035), April 96, pages 902-905.
- 16.-Bjorndahl L, Barratt CL, Fraser LR, Kvist U, Mortimer D. ESHRE basic semen analysis courses 1995-1999: immediate beneficial effects of standardized training. *Hum Reprod* 2002 May;17(5):1299-305.
- 17.- Lapedes J: *Urología. Interamericana. México* 1979.
- 18.- Ernest L Abel., *Marihuana Tabaco y Alcohol y la reproducción* Ed. Diaz de Santos, 1983,80-82, 153-154.
- 19.- Trummer H, Habermann H, Haas J, Pummer K.The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. *Hum Reprod* 2002 Jun;17(6):1554-1559.
- 20.- Keel BA, Stembridge TW, Pineda G, Serafy NT Sr. Lack of standarization in performance of the semen analysis among laboratories in the United States. *Fertil Steril* 2002 Sep;78(3):603-608.
- 21.--Tomlinson M, Turner J, Powell G, Sakkas D.One-step disposable chambers for sperm concentration and motility assessment: how do they compare with the World Health Organization's recommended methods? *Hum Reprod* 2001 Jan;16(1):121-124.
- 22.--Boone WR, Jones JM, Shapiro SS. Using videotaped specimens to test quality control in a computer-assisted semen analysis system. *Fertil. Steril.* 2000 Mar;73(3):636-640.
- 23.--Coetzee K, Bermes N, Krause W, Menkveld R.Comparison of normal sperm morphology outcomes from two different computer-assisted semen analysis systems. *Andrologia* 2001 May;33(3):159-63.

- 24.- Eliséiev V, Afanásiev Y, Yurina N: Histología. Mir, URSS, 1983.
- 25.--Garde JJ, Ortiz N, Garcia A, Gallego L. Use of a triple-stain technique to detect viability and acrosome reaction in deer spermatozoa. Arch. Androl. 1997 Jul-Aug;39(1):1-9.
- 26.- Oral E, Yetis O, Elibol F, Senol H, Irez T, Aksu FM. Assessment of human sperm morphology by strict criteria: comparison of wet preparation versus stained with the modified Diff-Quik method. Arch. Androl. 2002 Jul-Aug;48(4):307-314.
- 27.- Ávila B, López A, et al, Influencia del alcoholismo sobre la calidad del semen.
<http://216.232.33.100/search?q=cache:yB1phC124doC:www.1tu.sld.cu/revista/Influencia%2F...>
28. - Elliason R: Fertil. Steril. 19;344 1968.
29. - Johanisson E, Campana A, Luthi R, de Agostini A. Evaluation of 'round cells' in semen analysis: a comparative study. Hum. Reprod. Update 2000 Jul-Aug;6(4):404-12.
30. -Italo Tozzini Roberto y cols. Esterilidad e infertilidad humanas. 2da. Edición. Editorial Médica panamericana. 1989.
- 31.-Cooper TG, Bjorndahl L, Vreeburg J, Nieschlag E. Semen analysis and external quality control schemes for semen analysis need global standardization. Int J Androl 2002 Oct; 25(5):306-11.

X. ANEXOS:

ANEXO “A”

INSTRUCCIONES PARA LA COLECTA Y ENVÍO DE UNA MUESTRA DE SEMEN.

- 1.- Abstenerse de tener relaciones sexuales y masturbación en un periodo de 2 a 7 días.
- 2.- Producir la muestra vía masturbación sin utilizar lubricante artificial. Cuando no es posible la colección vía masturbación se pueden usar condones especiales (no usar condones de látex).
- 3.- Recolectar la muestra en un contenedor de vidrio o plástico limpio de boca ancha. Es importante que se recoja la totalidad del eyaculado. En el caso contrario la muestra debe de ser marcada como incompleta.
- 4.- Dentro de la hora de recolección, traer el contenedor y la muestra a laboratorio manteniéndola limpia en un bolsillo que esté cerca del cuerpo.
- 5.- La muestra puede ser producida también en una habitación cercana al laboratorio.
- 6.- Etiquetar el espécimen con el nombre, matrícula, fecha y hora de la recolección.

CUESTIONARIO

ESTE CUESTIONARIO ES CONFIDENCIAL LOS DATOS QUE SE PIDEN A CONTINUACIÓN SERVIRÁN EXCLUSIVAMENTE PARA FINES ESTADÍSTICOS Y DE INVESTIGACIÓN.

INSTRUCCIONES: Marque con una "X" cada afirmación de acuerdo a lo que realice de manera habitual. Seleccione solo una respuesta. Si tiene dudas, por favor consulte a los encargados de la administración del cuestionario. Recuerde que no existen respuestas buenas o malas, simplemente procure ser sincero.

Grado: _____
 Nombre: _____
 Edad: _____ Sexo: _____
 Empleo: _____

	si	no
1. ¿Casado?		
2. ¿tiene hijos? ¿cuántos?		
3. ¿tiene niños menores de 1 año de edad?		
4. ¿frecuencia de relaciones sexuales con pareja? _____		
5. ¿ ha utilizado métodos anticonceptivos ?		
0. Ninguno	3. Inyección	6. Ritmo
1. Condón	4. DIU	7.Coito interruptus
2. Píldora	5. Diafragma	8. otros
6. ¿ ha estado expuesto ha alguna de estas sustancias?		
0. Ninguno	6. Flutamida	12. Clorambucil
1. Funguicidas	7. Esteroides	13.Amebicidas
2. Insecticidas	8. Benzodiazepinas	14. Propanolol
3. Sulfasalazinas	9. Ciclofosfamida	15. Antihipertensivos
4. Cimetidina	10. Metrotexate	16. Doxorubicina
5. Colchicina	11. Nitrofurantoína	17. Mecloretamina
18. Otros _____		

7. ¿ ha padecido alguna de estas enfermedades de transmisión sexual ?			
0. Ninguna		3. Gonorrea	6. TB Genital
1. Herpes		4. Sífilis	7.
2. Condilomas		5. Clamidia	8. Otras
8. ¿ ha padecido alguna de estas enfermedades ?			
0. Ninguna		3. Orquitis	6. Diabetes Mellitus
1. Varicocele		4. Trauma Genital	7. Epididimitos
2. Criptorquidea		5. Parotiditis	8. Hipertensión
9. Otras _____			
			Si
			No
9. ¿ usted fuma ?			
10. ¿ usted consume bebidas alcohólicas frecuentemente ?			
11. ¿ usted realiza algún deporte de manera intensa ? ¿ cuál ? _____			
12. ¿ usa ropa interior ajustada ?			
13. ¿ ha tenido fiebre los últimos 3 meses ?			
14. ¿ se ha tomado alguna radiografía en los últimos 3 meses ?			

ANEXO "C"

FORMULARIO PARA EL REGISTRO PARA EL ANÁLISIS DE SEMEN.

AÑO NOMBRE: DIA MES

Fecha de toma de muestra			
Duración de la abstinencia			
Intervalo desde la eyaculación hasta el comienzo del análisis (minutos)			
Aspecto (1- Normal, 2- Anormal)			
Licuefacción (1- Normal, 2- Anormal)			
Consistencia (1- Normal, 2- Anormal)			
Volumen (mililitros)			
PH			
Motilidad % de espermatozoides			
a) Progresión rápida			
b) Progresión lenta			
c) Motilidad no progresiva			
d) Inmóviles			
Aglutinación % de espermatozoides			
Viabilidad % de Vivos			
Morfología % de espermatozoides			
a) Normal			
b) Defectos de cabeza			
c) Defectos de cuello o pieza media			
d) Defectos de cola			
Concentración (10^6 / mL)			

ANEXO "D"

TABLA 2. RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN EDAD

Edades	FC n (%)	FNC n (%)
18-21	6 (11)	38 (61)
22-25	17 (31)	22 (35)
26-29	19 (34)	1 (2)
30-33	11 (20)	1 (2)
34-37	2 (4)	0 (0)

TABLA 3. RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN ESTADO CIVIL.

Estado Civil	FC n (%)	FNC n (%)
Casados	48 (87)	0 (0)
Solteros	7 (13)	62 (100)

TABLA 4. NO. DE HIJOS EN EL GRUPO DE FC

No. de Hijos	FC n (%)	FNC n (%)
3	2 (3.63)	0
2	9 (16.36)	0
1	44(80)	0

TABLA 5. RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN MÉTODO ANTICONCEPTIVO EMPLEADO.

Método Anticonceptivo	FC	FNC
Ninguno	4	12
Condón	47	50
Píldora	9	6
Inyectables	9	2
DIU	8	0
Diafragma	1	0
Ritmo	3	3
Coitos interruptus	2	3

TABLA 6. RELACIÓN DE PACIENTES SEGÚN ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE ESPERMATOZOIDES.

Enfermedades	FC n (%)	FNC n (%)
Ninguna	50 (90.90)	57 (91.93)
Varicocele	2 (3.63)	2 (3.22)
Parotiditis	0 (0)	1(1.61)
Otras	3 (5.45)	2 (3.22)

TABLA 7. RELACIÓN DE FACTORES DE RIESGO QUE COMPROMETEN LA ESPERMATOGÉNESIS.

Factores de riesgo	FC n (%)	FNC n (%)
Tabaquismo	16 (29.09)	11 (18)
Alcoholismo	5 (9.09)	6 (10)
Ropa ajustada	5 (9.09)	3 (4.83)
Fiebre	6 (11)	6 (10)
RX	1(1.8)	4 (6.45)

TABLA 8 . CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO SEMINAL VALORADOS A LOS 60 MINUTOS (ASPECTO Y LICUEFACCIÓN).

Caract. Liq. Seminal	FC		FNC	
	Normal	Anormal	Normal	Anormal
Aspecto	100%	0%	100%	0%
Licuefacción	94.5%	5.5%	93.5%	6.5%

TABLA 9. VOLUMEN PROMEDIO DEL LÍQUIDO SEMINAL EN AMBOS GRUPOS.

Volumen	FC	FNC
ml	2.87± 1.26	2.89 ± 1.30

ABLA 10. VISCOSIDAD DEL LÍQUIDO SEMINAL VALORADA A LOS 60 MINUTOS.

	FC		FNC	
	Normal	Anormal	Normal	Anormal
Viscosidad	98.18%	1.82%	90.32%	9.68%

TABLA 11. RELACIÓN DE ALTERACIONES MORFOLÓGICAS ESPERMÁTICAS.

Morfología anormal	FC	FNC
Def. de Cabeza	3.29%	3.20%
Def. de Cuello	2.18%	2.22%
Def. de Cola	2.76%	2.64%
Total	8.23%	8.06%

TABLA 12. COMPARACION ENTRE LAS OBSERVACIONES MORFOLOGICAS ENTRE MICROSCOPIA SIMPLE VS. MICROSCOPIA CON FOCAL

Morfología anormal	Observación Simple	Observación utilizando el Microscopio Con Focal
Def. de Cabeza (%)	3.2323 ±1.331	7.0202 ±2.128
Def. de Cuello(%)	2.2525 ±1.062	3.7273 ±1.701
Def. de Cola(%)	2.6768 ±1.210	21.4545 ±4.415
Total (%)	8.1616 ± 1.9722	32.202 ±3.4820

* p < 0.05
 ** p < 0.05
 *** p < 0.05
 **** P < 0.05

**TABLA 13. RELACIÓN DE CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA
(PROMEDIO)**

	FC	FNC
Concentración (10 ⁶)/ml	41.72 ±13.45	51.15 ± 31.37

TABLA 14. MOTILIDAD ESPERMÁTICA.

PROGRESION	FC (%)	FNC (%)
A o 3	5.3	4.15
B o 2	41.9	42.45
C o 1	12.25	12.21
D o 0	40.54	41.7

**TABLA 15. VITALIDAD ESPERMÁTICA DETERMINADA POR
EOSINA AMARILLENTO.**

FC		FNC	
Motilidad (%)	Vitalidad (%)	Motilidad (%)	Vitalidad (%)
59.46 ± 12.62	74.85 ± 8.05	58.82 ± 12.55	72.86 ± 9.26

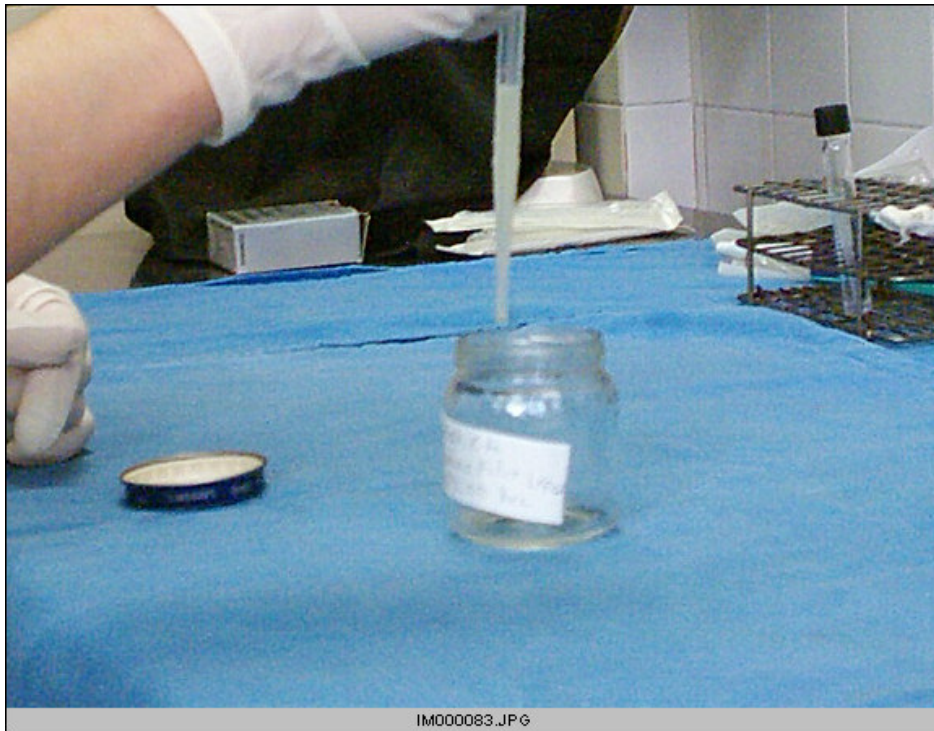
**TABLA 16. COMPARACION DE LA VITALIDAD ENTRE LA
TINCIÓN DE EOSINA AMARILLENTO Y EOSINA-
NIGROSINA**

n = 99 (%)	
Eosina Amarillenta	73.7172 ±8.285
Eosina Nigrosina	78.5306 ±8.188

p < 0.05

ANEXO E: FIGURAS

FIGURA 19.



MEDICION DEL VOLUMEN Y VISCOSIDAD DEL LÍQUIDO SEMINAL

FIGURA 20.



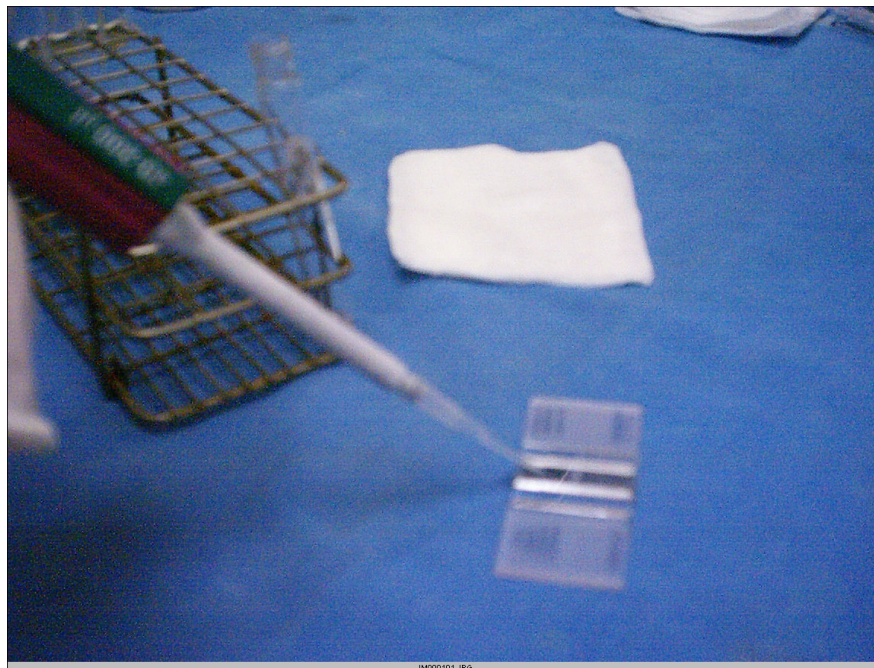
DETERMINACION DEL PH

FIGURA 21.



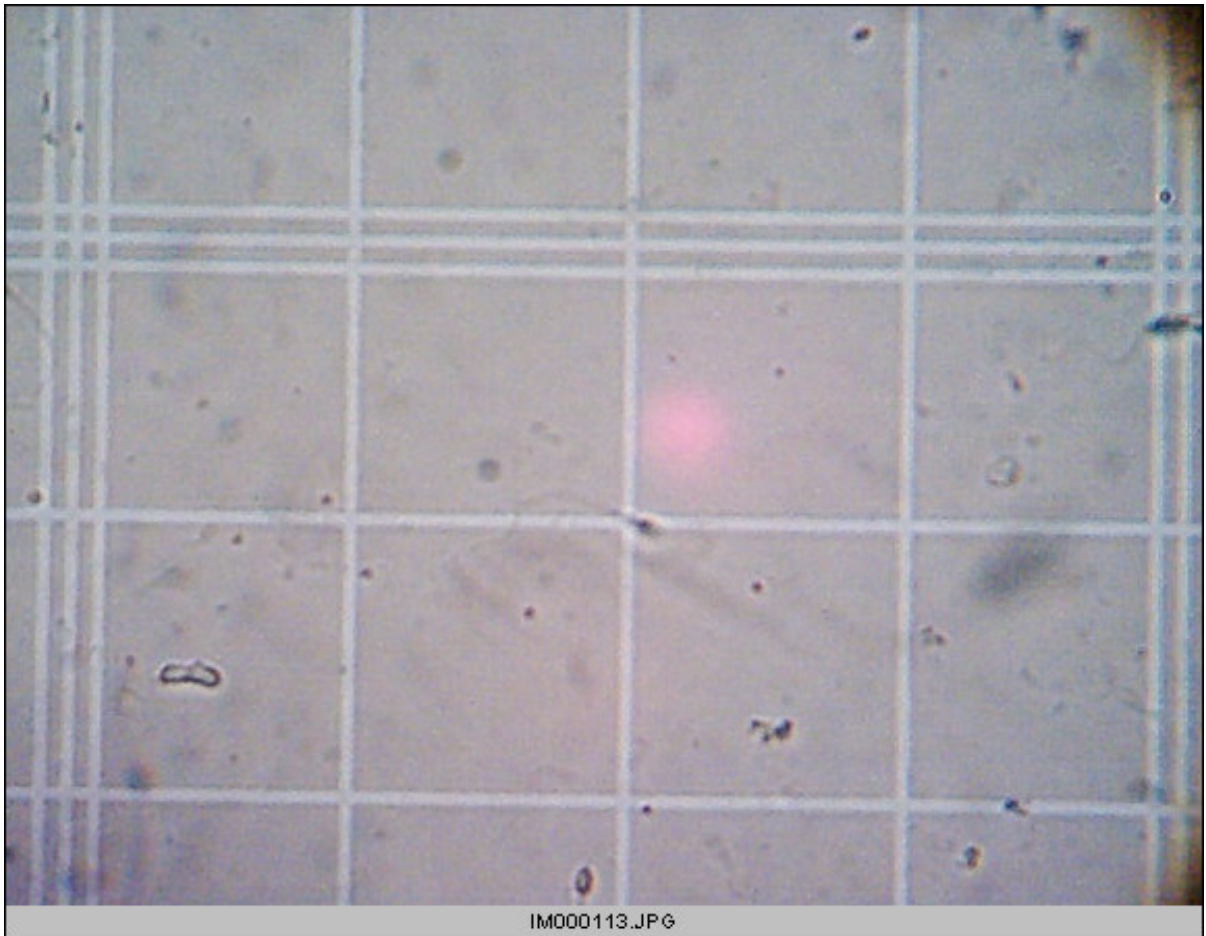
PREPARACIÓN DE LA DILUCIÓN DEL SEMEN CON FORMOL AL 1.0%

FIGURA 22.



MONTAJE DE LA DILUCIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL EN LA CÁMARA DE NEUBAUER PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA .

FIGURA 23.



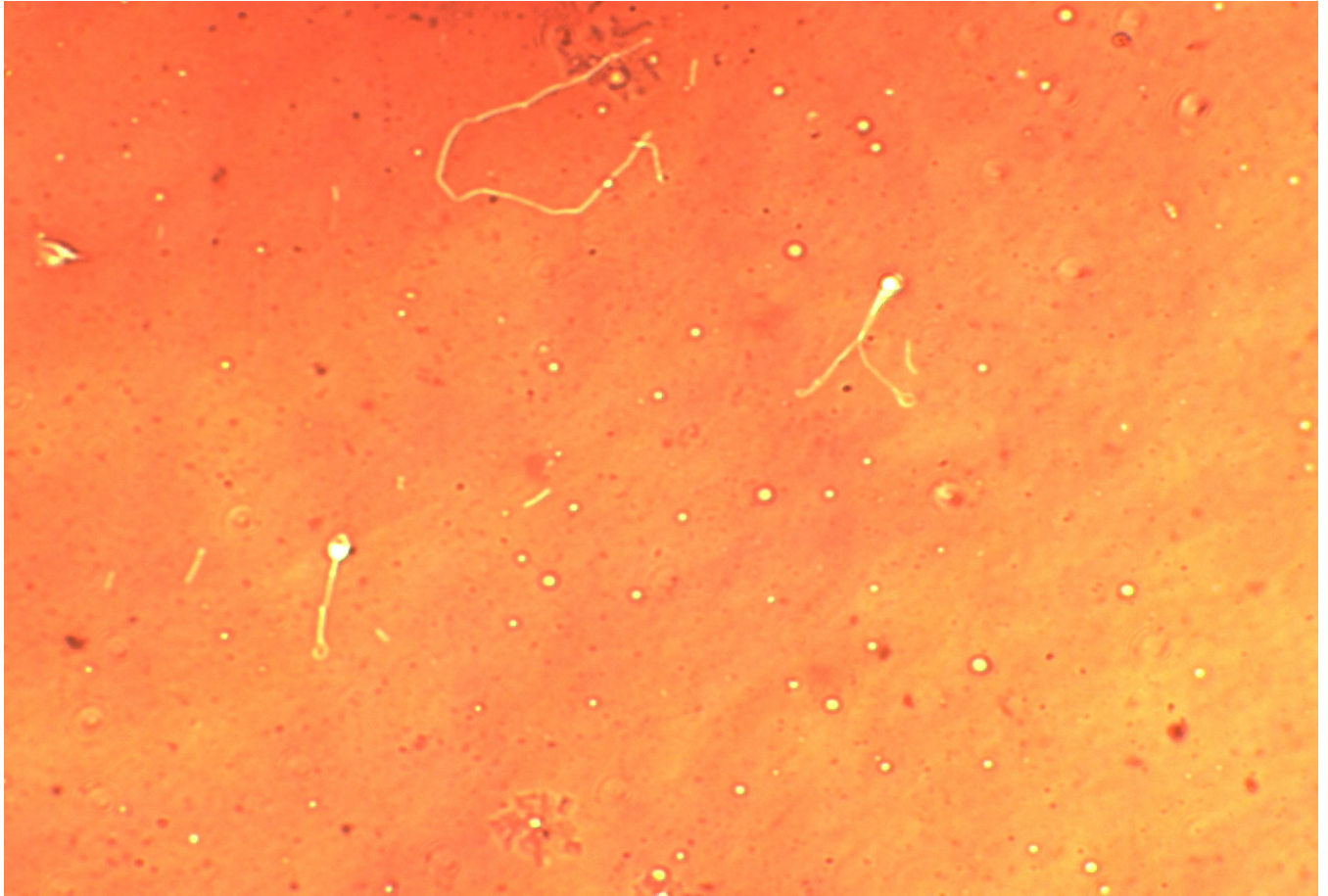
MICROFOTOGRAFÍA DONDE SE OBSERVAN ALGUNOS ESPERMATOZOIDES (sin tinción) SOBRE LA CÁMARA DE NEUBAUER PARA LA CUENTA ESPERMÁTICA (40X) (microscopio óptico).

FIGURA 24.



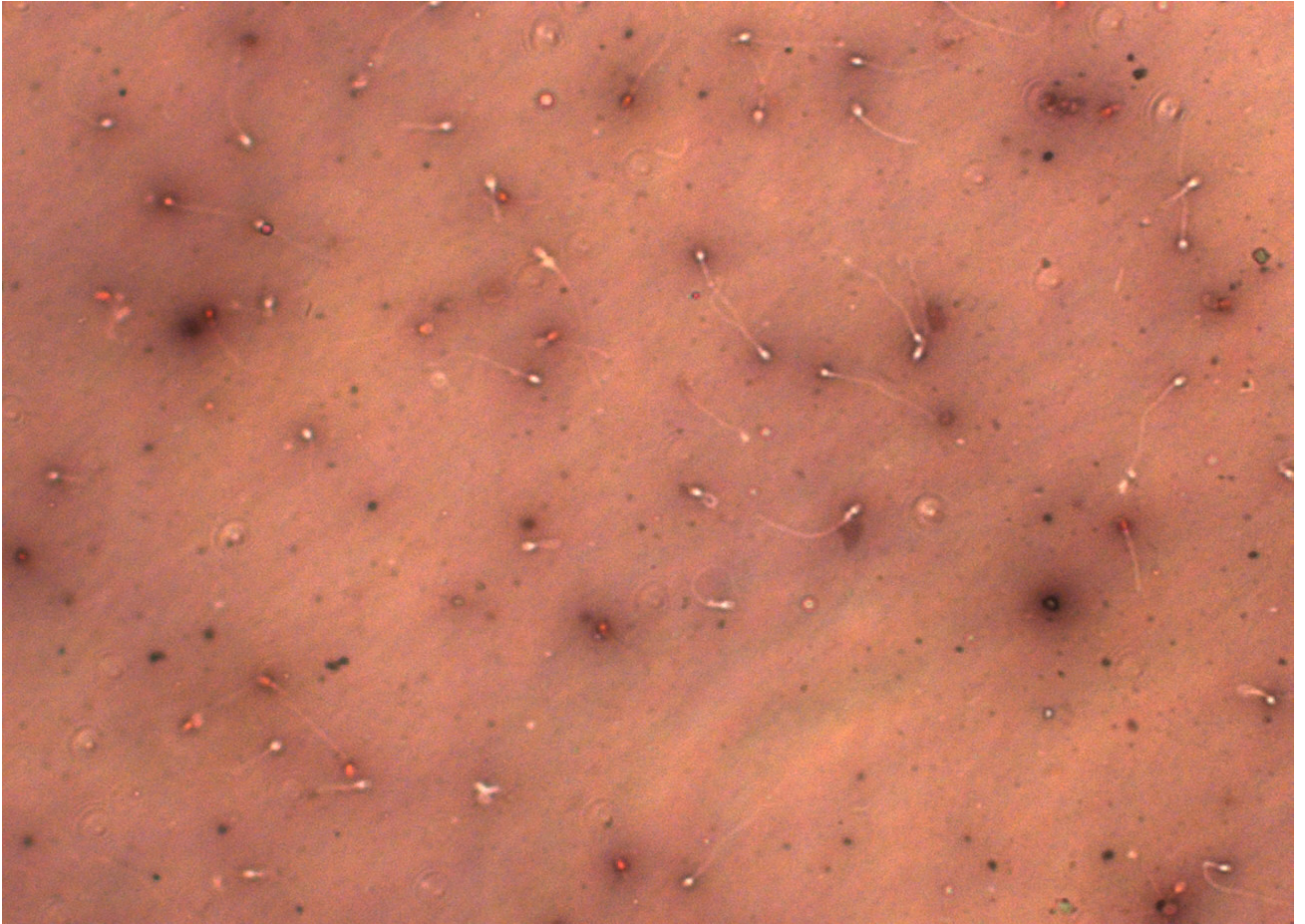
PREPARACIÓN DE LA EXTENSIÓN DE UN FROTIS (EOSINA-NIGROSINA) PARA SU POSTERIOR ANÁLISIS EN EL MICROSCOPIO CONFOCAL.

FIGURA 25.



FOTOGRAFÍA QUE MUESTRA UN ESPERMATOZOIDE CON DEFECTO DE COLA (EOSINA-NIGROSINA 40X)

FIGURA 26.



MICROFOTOGRAFÍA DE FROTIS DE LÍQUIDO SEMINAL EN LA QUE SE OBSERVAN ESPERMATOZOIDES VIVOS AL MOMENTO DE LA FIJACIÓN (sin tinción) Y ESPERMATOZOIDES MUERTOS (color rojo). (Eosina-Nigrosina, 20 X).

ABREVIATURAS

ED.	EDITORIAL
Ed.	Edición
FC.	Fertilidad comprobada
FNC.	Fertilidad no comprobada
FSH	Hormona Folículo estimulante
GnRH.	Hormona Liberadora de Gonadotropina
HCM.	Hospital Central Militar
hrs.	Horas.
ICSI.	Inyección Intracitoplásmica de espermatozoides
LH.	Hormona luteinizante
MAR.	L. Mixed. antiglobulin Reaction.
mic/seg.	Micras por segundo
ml.	Mililitros.
OMS.	Organización mundial de la salud
Ph.	Determinación logarítmica de Radicales de Hidrógeno
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
T.	Testosterona
μl.	Microlitro
°C	Grados centígrados
40x	Poder de resolución 400
20x	Poder de resolución 200
10x	Poder de resolución 100