

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Evaluación comparativa sobre la calidad seminal
de hombres de acuerdo a la versión de la OMS
1999 vs 2010**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Giuliana Paredes Montero

Lima, Perú

2017

DEDICATORIA

En especial a mis padres, a mi madre Marcela y a mi padre Julio por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos valores y motivación en mi carrera y sobre todo en la realización de esta Tesis pero ante todo por su amor.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios, que permite que todo sea posible.

A mi asesor, el Mg. Mauricio Gonzales Molfino por su apoyo constante en la realización y culminación de la tesis.

A mi amiga Zulema por su gran apoyo y motivación para la elaboración de la tesis.

RESUMEN

El estudio de la calidad seminal hoy en día es importante debido al conocimiento del factor masculino en los casos de infertilidad de la pareja siendo cada vez más común en la población. El objetivo de este estudio fue comparar a un mismo grupo de hombres (jóvenes y adultos) sobre la calidad seminal, clasificados por dos criterios de normalidad diferentes: según criterios OMS 1999 vs OMS 2010 mediante el espermatograma. Se estudió una población de 100 varones quienes brindaron muestras seminales de manera voluntaria con un rango de edad de 20 a 50 años. Se analizaron las características macroscópicas de volumen y pH, y las microscópicas de motilidad, morfología y concentración siguiendo el protocolo establecido por la OMS 2010 para determinar la totalidad de individuos que presentan los valores normales para cada uno de los parámetros al calificar en ambas OMS así como también se realizó la prueba del índice de kappa para cada variable para determinar la concordancia entre ambas OMS. Como resultados se obtuvo una concordancia mayor en el volumen, concentración y morfología asimismo el 100% de los varones analizados no calificó con los criterios establecidos con la OMS 1999 y solo un 24% calificó con los criterios de la OMS 2010 observándose un mayor porcentaje para no calificar en la morfología y la motilidad en ambos manuales. En conclusión los nuevos valores propuestos en los parámetros seminales de la última edición van más acorde con la población masculina de Lima por otro lado por la disminución de estos valores de referencia se estaría retrasando el tratamiento de fertilidad.

Palabras clave: calidad seminal, espermatozoide, infertilidad, OMS.

ABSTRACT

The study of seminal quality nowadays is important due to the knowledge of the male factor in cases of infertility of the couple being more common in the population. The aim of this study was to compare the same group of men (young and adult) about seminal quality, classified by two different normality standards: according to WHO 1999 vs WHO 2010 using the spermatogram. A population of one hundred men who volunteer on providing semen samples with an age range of 20-50 years was studied. The macroscopic characteristics of volume and pH, the microscopic characteristics of motility, morphology and concentration were analyzed following the protocol established by the WHO 2010 to determine the totality of individuals who present the normal values for each of the parameters when qualifying in both WHO as well as The kappa index test was also performed on each variable to determine the concordance between the two WHO. As a result, a mayor concordance was found in volume, concentration and morphology, and 100% of the men analyzed did not meet the standard established with the WHO 1999 and only 24% qualified with the WHO 2010 standard, observing a higher percentage for not to qualify in morphology and motility in both manuals. In conclusion, the new values proposed in the seminal parameters of the last edition match better with the male population of Lima. On the other hand, due to the decrease of these reference values, the treatment of fertility might be delaying.

Key words: seminal quality, sperm, infertility, WHO.

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
ÍNDICE	6
ÍNDICE DE TABLAS	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MARCO TEÓRICO.....	11
2.1 Estructura del espermatozoide	11
2.3 El esperma.....	12
2.4 Espermatogénesis.....	12
2.5 Causas frecuentes de la infertilidad	14
2.5.1 Varicocele	14
2.5.2 Criptorquidia	14
III. ANTECEDENTES.....	16
IV. HIPÓTESIS.....	25
V. MÉTODO.....	26
5.1 Lugar de ejecución	26
5.2 Tipo y Diseño de la Investigación.....	26
5.2.1 Tipo de investigación	26
5.2.2 Diseño de la investigación	26
5.3 Variables	26
5.4 Muestreo.....	26
5.5 Procedimientos y análisis de datos.....	27
5.5.1 Población de Estudio.....	27
5.5.2 Análisis del líquido seminal	27
5.6 Análisis Estadístico	28
5.7 Ética.....	29
VI. RESULTADOS.....	30
6.1 Resultados del análisis seminal de los parámetros macroscópicos	30
6.2 Resultados del análisis seminal de los parámetros microscópicos.....	30

VII. DISCUSIÓN	32
VIII. CONCLUSIONES	35
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
X. ANEXOS	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N^a 1 : Porcentajes de 100 varones de la ciudad de Lima que califican para cada parámetro seminal para ambos manuales de la OMS	42
Tabla N^a 2 : Escala de Valorización del Índice de Kappa según López de Ullibari y Pita Fernández (1999)	42
Tabla N^a 3 : Valores de los índices de concordancia y no concordancia y su calificación según los parámetros estudiados	43
Tabla N^a 4 : Individuos calificados como normozoospermicos, según ambos manuales de calificación de la OMS	43

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la infertilidad es un problema de gran envergadura a nivel mundial como lo demuestran diversos estudios en el tema, según la Organización Mundial de la Salud existen en el mundo ochenta millones de parejas con problemas de fertilidad aproximadamente, esta puede ser primaria o secundaria, la OMS la define como la incapacidad de completar un embarazo sin tomar medidas anticonceptivas durante un año de relaciones frecuentes.

Hoy en día se conoce que la infertilidad no solo recae en la mujer como se creía en el pasado sino que se ha determinado el factor masculino con una responsabilidad para el varón siendo este originado por una alteración en la calidad seminal y diagnosticada mediante el espermograma por ser una herramienta básica de rutina para evaluar la calidad reproductiva del hombre sobretodo al ser no invasiva.

La calidad del semen depende de muchos factores como los genéticos, la calidad de vida (consumo de alcohol y tabaco), varicocele, las infecciones sexuales, sector geográfico, anormalidades en el espermatozoide, exposición a diversos contaminantes naturales y antropogénicos, así como también problemas en la fragmentación del ADN ligado sobre todo a la edad del varón debido a que disminuye la calidad del líquido seminal con una disminución en la motilidad, vitalidad y morfología siendo este último un parámetro a tener en cuenta ya que se asocia a la capacidad de fertilización en la cual las formas normales están altamente relacionadas con la capacidad fecundante importante para la realización de la fecundación *in vitro*.

En el Perú los criterios de salud pública se encuentran obsoletos por lo tanto no la consideran como una enfermedad importante ya que no esta

incluida en el concepto de salud de la OMS así como también las enfermedades no transmisibles (ENT) dentro de ellas la infertilidad, siendo contradictorio con lo que señalan las cifras en la actualidad que una de cada cinco parejas presenta problemas de infertilidad se convierte en un problema de salud pública siendo 40% casos mujeres, 40% casos los hombres y 20% ambos, por tal motivo no solo se generaría consecuencias micro en la vida de los individuos que la padecen sino también consecuencias macro a nivel del Estado, por lo cual la demanda de clínicas de fertilidad ha ido en aumento en los últimos años siendo un sector aún en crecimiento en nuestro país.

En las últimas décadas se ha incrementado la preocupación por la calidad seminal en jóvenes y adultos debido a la evidencia que demuestra el declive de los parámetros seminales convencionales como lo evidencian los nuevos Límites de Referencia Inferior en la última edición de la Organización Mundial de la Salud, así mismo es conveniente llevar a cabo este estudio ya que permite establecer una visión general actual de los parámetros seminales evaluados en hombres peruanos y de esta manera determinar así el porcentaje de individuos que califican con los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud 2010 aportando en el conocimiento de nuevos datos para futuras investigaciones desde la perspectiva social, económica de un país, y sobre todo en el plano de salud pública, por tal motivo el objetivo de este estudio fue comparar la calidad seminal de jóvenes y adultos clasificados por los criterios de la OMS 1999 vs OMS 2010 así mismo se observaron los parámetros macrocópicos y microscópicos comparando los resultados con ambos criterios, determinando así el % de individuos que califican con la OMS 1999 y la OMS 2010.

II. MARCO TEÓRICO

La célula germinal masculina se produce en la gónada (testículo) mediante un proceso permanente de división de las células germinales o espermatogonias. El proceso continuo de división denominado espermatogénesis está controlado hormonalmente por el eje hipófisis-hipotálamo-gónada. A partir de cada espermatogonia se producen cuatro espermatoцитos haploides que permanecen unidos entre sí por puentes citoplasmáticos y a la vez están en comunicación con la célula nutricia o de Sertoli; estas últimas, a partir de moléculas señalizadoras, inducen el proceso denominado espermiogénesis o metamorfosis que convierte las espermátides en espermatozoides (Olivera *et al*, 2006).

2.1 Estructura del espermatozoide

El espermatozoide es una célula haploide que consta de tres regiones la cabeza, el segmento intermedio o cuerpo y cola. La cabeza contiene principalmente al núcleo haploide con la cromatina del núcleo altamente condensada cubierta la parte anterior de la cabeza por el acrosoma, estructura procedente del aparato del Golgi la cual esta formada por dos membranas, la interna y la externa en cuyo interior se encuentran carbohidratos y enzimas hidrolíticas como la hialuronidasa y la acrosina que facilitan la penetración del espermatozoide al ovocito (Toro, 2009).

Durante la eyaculación los espermatozoides son liberados del epidídimo, donde se almacenan, a través del conducto deferente y se mezclan con las secreciones de la próstata y otras glándulas para conformar el semen. La cola le da la movilidad al espermatozoide proveniente de la conversión de ATP en ADP+ P que lo provee la carga mitocondrial de la pieza intermedia de la cola. El espermatozoide adquiere la capacidad de mover el flagelo en su tránsito por el epidídimo, pero el movimiento empieza después de la eyaculación, este proceso es conocido como la activación del esperma.

La reacción acrosomal (RA) implica la vesiculización de las membranas plasmática y acrosomal externa con la liberación del contenido acrosomal. Durante la RA el espermatozoide adquiere la capacidad de fusionarse con la membrana citoplasmática externa de oocito esto fundamental para el paso a través de la zona pelúcida (Munuce, 2008).

2.3 El esperma

El esperma es el líquido expulsado por el hombre durante la eyaculación. Ese líquido se compone de un 10% de células reproductoras, los espermatozoides, fabricado por los testículos almacenados en el epidídimo y el 90% es un líquido seminal que viene de las glándulas anexas, próstata y vesícula seminal, con contribuciones menores de las glándulas bulbouretrales conociéndose esta data por la comparación del volumen del semen pre y post-vasectomía. El esperma contiene, además de los espermatozoides, tres componentes principales que le dan su color y su gusto: la carnitina, el zinc y la fructosa (Cepeda 2013 ; OMS 2010).

2.4 Espermatogénesis

Es el complejo proceso mediante el cual las espermatogonias tras una serie de divisiones y diferenciación celular dan lugar a espermatozoides. Se distinguen tres etapas o fases.

A) Fase espermatogonial. Es la fase proliferativa. La espermatogonia se divide por mitosis. Se distinguen dos tipos de espermatogonias: la A que permanece en el compartimento basal del túbulo seminífero y la espermatogonia B que pasa, previa rotura de las "tight junctions" al compartimento luminal y se transforma en espermatocito I preleptoténico. En resumen es la multiplicación y renovación por mitosis de las células germinales primordiales, las espermatogonias.

B) Fase espermatocitaria. Comprende dos divisiones meióticas celulares, de espermatocito I a espermatocito II y de este a espermátide. De un

espermatocito I que tiene 23 cromosomas bivalentes, es decir con cuatro cromátides cada uno, se forman cuatro espermatozoides resultando las espermátides reduciéndose la dotación cromosómica a la mitad, para dar lugar a células haploides.

La meiosis, en síntesis, permite que se mantengan de generación en generación el número de cromosomas de la especie pues los gametos, masculino y femenino, aportan cada uno 23 cromosomas, la mitad de los cromosomas de la especie humana. El intercambio génico, que ocurre durante la profase I, produce diversidad génica en la descendencia respecto a los progenitores.

C) Fase espermiogénica. En esta fase no hay división celular, solo diferenciación celular. El espermátide, célula redonda, contiene 23 cromosomas; es por tanto haploide. Procede de la división celular del espermatocito II y se transforma en espermatozoide. Los cambios más evidentes son la transformación del aparato de Golgi en acrosoma, la elongación del núcleo pasando de redondo a elíptico; el desarrollo del flagelo espermático a partir del centriolo distal; y la eliminación del citoplasma. A ello hay que añadir la condensación de la cromatina, cambios metabólicos y la localización de las mitocondrias alrededor de la parte proximal del flagelo, formando "la pieza intermedia".

Espermiación. Es la liberación de los espermatozoides de su relación con la célula de Sertoli, quedando libres en la luz del túbulo seminífero para poder ser transportados a través de los tubos rectos, rete testis y conductos eferentes hasta el epididímo donde adquirirán la movilidad traslativa, en resumen es la diferenciación y maduración de las espermátides, para originar gametos masculinos, en un proceso conocido como espermiogénesis (Marina, 2003 y Bassas, 2001).

2.5 Causas frecuentes de la infertilidad

2.5.1 Varicocele

Es la dilatación patológica del plexo pampiniforme del cordón espermático, su incidencia en la población en general es del 15% pero aumenta entre 19 y 41% en la población infértil. Pudiendo ser unilateral o bilateral, suele ser progresivo con deterioro paulatino en la función de los testículos. Los varicoceles están asociados con la disminución de la cuenta espermática y la movilidad de los espermatozoides afectando la espermatogénesis ya que el drenaje venoso defectuoso dificulta el intercambio de calor por contracorriente en el cordón espermático o cual eleva la temperatura escrotal, así como también con niveles anómalos de testosterona y de hormonas foliculoestimulantes (FSH). Siendo una causa corregible quirúrgicamente mas común de la infertilidad en varones (Álvarez *et al*, 2011 y Cepeda, 2013).

2.5.2 Criptorquidia

Es la ausencia de al menos uno de los testículos en el escroto, y puede ser unilateral siendo el derecho el más frecuente o bilateral. La criptorquidia es la endocrinopatía más frecuente y la malformación congénita más frecuente de los genitales externos masculinos. Aparece en un 3-9% de los varones nacidos a término, y en más del 30% de los pretérminos, estando en relación directa con la edad gestacional, el pronóstico de fertilidad en pacientes operados de criptorquidia y su precocidad del tratamiento se ve influido por la edad de la intervención, la localización previa intraabdominal o en canal inguinal si la criptorquidia es uni o bilateral.

El número de espermatogonias y gonocitos hallados en la sección del túbulo seminífero se correlacionan positivamente con la cantidad de espermatozoides en el varón adulto, por lo que el retraso en el tratamiento aumenta el riesgo de afectación de la fertilidad (Lechuga y Lechuga, 2011).

III. ANTECEDENTES

Chávez *et al;* (2012) estudiaron la relación entre la calidad del semen y la edad en 2441 casos de varones entre 20 a 50 años, durante 5 años en relación a los parámetros establecidos por la OMS (recuento espermático, morfología y motilidad) se encontraron con un descenso de la motilidad espermática conforme avanza la edad debido a la calidad de vida, el estrés y otros factores así como un aumento de la cantidad de espermatozoides debido posiblemente a la frecuencia de la actividad sexual en este caso la morfología espermática se mantuvo constante. Tomando el mismo rango de edades Cánovas *et al;* (2008) determinaron dos parámetros muy importantes en la medición de la calidad espermática en un total de 156 pacientes primero el recuento del número de espermatozoides y el número de formas móviles concluyendo que la edad está íntimamente relacionada con la disminución del número de espermatozoides, del número de formas móviles y con el aumento de las inmóviles.

Arbaiza, (2015) En la evaluación de los parámetros seminales en 30 jóvenes universitarios entre los 18 a 30 años de edad obteniendo así el 90% de las muestras seminales analizadas cumplen con los criterios exigidos por la OMS 2010 referente a los valores de pH, concentración y recuento total, y el 70% con los criterios de vitalidad, motilidad progresiva, por otro lado Godoy *et al;* (2009) en el estudio de 100 sujetos con un rango de edad de 20 a 40 años un 79% concuerden con los criterios establecidos en la OMS 1992 principalmente en motilidad, vitalidad, morfología y concentración, otros estudios como el realizado por Horta *et al;* (2011) determinaron la asociación entre la edad y la fragmentación del ADN espermático en 62 voluntarios entre 18 y 56 años previstas para el análisis de semen separandolos en dos grupo de 31 varones cada uno el primero de menos de cuarenta años (grupo control) y el segundo grupo de más de cuarenta años de edad la fragmentación del ADN espermático fue

estudiada por 2 ensayos diferentes como método directo TUNEL (Kit) y como método indirecto SCD (dispersión de la cromatina espermática) obteniendo una comparación con sus contrapartes más jóvenes, pacientes de más de 40 años de edad tenían una mayor proporción de espermatozoides con fragmentación del ADN por TUNEL ($20 \pm 1,3$ y $24 \pm 1,9\%$, respectivamente, $p < 0,05$) y la SCD ($22 \pm 1,4$ y $26 \pm 1,6 \%$ respectivamente, $p < 0,05$) con una correlación coeficiente de 0,8. No se observaron diferencias entre los grupos para otros parámetros seminales deduciendo así que la fragmentación del ADN espermático aumenta con la edad en los hombres explicándose la reducción de fertilidad reportada en este grupo etario.

Lalinde *et al;* (2014) tiene como objetivo recopilar los principales aspectos relacionados con el efecto del estilo de vida (actividad física y sedentarismo) sobre la calidad seminal la cual puede verse influenciada por factores ambientales o propios del estilo de vida encontrándose dentro la práctica de actividad física, los resultados de los estudios han sido contradictorios, por lo que la relación entre ambos no está claramente establecida como la señalan Wise *et al;* (2011) no observaron asociación entre la actividad física regular tanto moderada como vigorosa y los parámetros seminales, a excepción del subgrupo de individuos que montaban bicicleta regularmente, en los que la concentración espermática disminuyó por el contrario Campos *et al;* (2011) observaron valores significativamente aumentados para el volumen del eyaculado, la concentración, la movilidad espermática y el porcentaje de normozoospermia en hombres clasificados como físicamente activos habitualmente respecto a los físicamente activos ocasionales y los sedentarios que acudieron a un centro de fertilidad. Chavarro *et al;* (2010), no encontraron diferencias en la concentración, la movilidad y la morfología espermática en relación al incremento en el IMC, sin embargo, observaron que el número total de espermatozoides por eyaculado fue menor en los hombres con $IMC \geq 35$ Kg/m², los cuales a su vez, tenían mayor cantidad

de espermatozoides con daño en el ADN frente a los hombres con IMC normal, además el volumen del eyaculado fue menor a medida que aumentaba el IMC como también lo señala Guerrero *et al;* (2014) el índice de masa corporal no tuvo repercusión en la calidad espermática de los pacientes subfértiles el único valor que mostró significación estadística en la población estudiada respecto al índice de masa corporal fue la concentración espermática ; sin embargo, al realizar la regresión lineal univariada de cada variable estudiada no hubo resultados estadísticamente significativos. Lalinde *et al;* (2014) concluye que se necesita del aumento en el conocimiento acerca de la influencia que tienen diversos aspectos involucrados en la práctica de actividad física, sobre los parámetros espermáticos, no obstante, se ha propuesto que la práctica de actividad física podría tener efectos positivos sobre la calidad seminal, así como tiene diferentes beneficios para la salud. De igual modo implementar diferentes pruebas funcionales complementarias (pruebas para detectar la integridad de la cromatina y del ADN espermático) puede contribuir a un mejor diagnóstico en los problemas de fertilidad del hombre. Así como una buena actividad física puede contribuir a la mejora o al cumplimiento de los parámetros normales de la calidad seminal también puede verse influida por la alimentación como señala Rodríguez *et al;* (2008) estudiando el efecto del tratamiento con ácido fólico y zinc, en pacientes masculinos subfértiles con diagnóstico de astenospermia (movilidad), oligospermia (concentración) y/o teratospermia (morfoloía) inicialmente con un total de 94 pacientes quedándose solo 59 pacientes que cumplieron con el tratamiento los cuales se les administro un tratamiento con ácido fólico (5 mg) y zinc (50 mg) diarios, por un período de 90 días, encontrándose que la motilidad total aumento de 44,37 % a 55,2 %. Las formas espermáticas normales pasaron de 54,1 % a 55,46 % y las formas anormales disminuyeron de 44,29 % a 44,25 % concluyendo que este tratamiento con ácido fólico y zinc, mejora significativamente la motilidad total y la morfología espermática, en el hombre subfértil. Por tal motivo la relación entre una buena nutrición y un estilo de vida saludable tienen un efecto

positivo en la fertilidad reafirmando Mallok *et al;* (2011) realizando una actualización bibliográfica y un análisis crítico del tema del estrés oxidativo e infertilidad masculina incluyendo una revisión de artículos científicos, entre el 2000 y 2010, el cual es el resultado del desequilibrio entre la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) y los antioxidantes puede originar daños o deformidades en los espermatozoides y eventualmente infertilidad masculina, las (ERO) se producen por diversos mecanismos en el semen, por espermatozoides inmóviles o con problemas de movilidad, leucocitos y por espermatozoides normales morfológicamente pero funcionalmente anormales registrándose la peroxidación lipídica de la membrana espermática y la fragmentación del ADN tanto nuclear como mitocondrial alterando la estructura y función de la membrana. Los daños oxidativos del esperma se reflejan en una disminución de la movilidad espermática, terazoospermia, aumento en el índice de leucocitos, incremento en la viscosidad del semen, alteraciones de la integridad de la membrana espermática en el ensayo de hinchamiento por osmolaridad, bajo índice de fecundación en los intentos de rutina de fecundación *in vitro*, baja movilidad espermática después de la incubación con el ovocito y bajo desarrollo de blastocitos en ausencia de factores femeninos claros (edad materna avanzada/ reserva ovárica pobre).

Nallella *et al;* (2006) estiman que la motilidad y la concentración de los espermatozoides proporcionan información más precisa que la morfología espermática (criterios de la OMS y de Tygerberg) durante la evaluación de la infertilidad siendo contradictorio con numerosos estudios que han demostrado que el análisis de la morfología espermática puede resultar útil para predecir la tasa de fertilización en programas de fecundación *in vitro* (FIV), ya que el porcentaje de formas normales está altamente relacionado con la capacidad fecundante *in vivo* Marnet *et al;* (2000) así mismo Munuce *et al;* (2006) dan mayor importancia a la morfología o a la cinética de desplazamiento los espermatozoides, morfológicamente mejores serían aquellos que presentan mejores características de movimiento, como lo

señalan diversos estudios pasados realizados por el mismo autor en diferentes años, Kruger *et al;* (1987) demostraron el valor de analizar la morfología del espermatozoide como un parámetro para predecir el resultado de la fecundación y tal vez el resultado del embarazo en un programa de FIV en el cual se dividieron los pacientes en dos grupos en el grupo I (25 pacientes) la morfología de los espermatozoides normales era <14%, y en el grupo II (71 pacientes) la morfología de los espermatozoides normales era > 14%, se utilizó un análisis de regresión múltiple para evaluar los diferentes parámetros: la concentración, motilidad y morfología contra las variables dependientes, la fecundación y el clivaje. No se encontró diferencia significativa entre los dos grupos en cuanto a la motilidad. El único factor que se correlacionó significativamente con la fecundación y el clivaje era la morfología de los espermatozoides normales. La tasa de fecundación (por ovocito) y la tasa de clivaje fueron del 49,4% y 47,6% en el grupo I y en el grupo II 88,3% y el 87%. lo que indica que en el grupo en el que la morfología normal es de 14% o menos, hay una tasa estadísticamente significativa inferior en la fecundación. Demostrando así que la morfología normal de los espermatozoides es un buen indicador de la fecundación y el clivaje en el sistema FIV humano en pacientes con una concentración por encima de 20 millones de espermatozoides por ml y una motilidad de arriba 30 por ciento con un pronóstico mayor reflejado en la tasa de fecundación con un 64% en comparación con el 6,7% con los resultados obtenidos en una morfología menor del 14%, continuando con su misma teoría de enfatizar la morfología en los estudios de calidad seminal Grow *et al;* (1994) investigaron el valor predictivo de la morfología de los espermatozoides evaluados por los criterios estrictos a los resultados de la FIV realizando así un análisis retrospectivo de todos los ciclos de FIV (1987-1992), los pacientes fueron asignados a uno de tres grupos en función de los espermatozoides: patrón P (pobre) (<4% de formas normales), patrón G (bueno) (4% al 14% de formas normales), y patrón N (normal) (> formas normales 14%). Este patrón de la morfología se relaciona con otras características del semen y la fecundación *in vitro* se obtuvo que la tasa de

fecundación fue significativamente diferente entre los tres grupos de morfología, $P < G < N$. Patrón N produjo una media tasa de fecundación de más del 85%, independientemente de baja motilidad o la concentración. En un estudio de cohortes, Patrón P produjeron una menor tasa de implantación y la menor tasa de embarazo en curso, independientemente de la menor tasa de fecundación finalizando que la morfología estricta es un excelente biomarcador de la capacidad fecundante del espermatozoide, independientemente de la motilidad y la concentración. Patrón P puede denotar un peor pronóstico para el establecimiento un embarazo, incluso después de que se consigue una tasa de fecundación satisfactoria posteriormente. Lozano et al (2014) identificaron cual es la cantidad mínima (concentración) necesaria de espermatozoides móviles que se requiere para realizar la inseminación intrauterina, evaluar la morfología estricta de Kruger y la movilidad espermática realizándolo antes y después de la capacitación por migración ascendente analizándose así 35 muestras de semen de hombres infértiles, se lavaron alícuotas de 1 mL de semen fresco, se centrifugaron y sobre el centrifugado se colocó una capa de medio de capacitación Ham's F-10 suplementado con albúmina y antibióticos (penicilina/estreptomicina) para lograr una migración ascendente observándose los valores de movilidad y formas normales espermáticas significativamente aumentados en las muestras después de la capacitación. Fue posible recuperar $\geq 2 \times 10^6$ espermatozoides móviles aún en muestras aparentemente inapropiadas por hipospermia u oligozoospermia severa, pero con un total del eyaculado al menos de 5 millones de espermatozoides móviles lo que permitió un elevado porcentaje de recuperación de espermatozoides móviles (REM). La técnica de migración ascendente con lavado previo permite obtener espermatozoides de mejor morfología y mejor movilidad después de la capacitación. La posibilidad de obtener altos porcentajes de (REM) siendo esencial la presencia de espermatozoides progresivos sobre los 5×10^6 en el total del eyaculado permite la inseminación intrauterina como técnica de reproducción asistida en pacientes oligozoospermicos antes de elegir FIV

o inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) del espermatozoide cuando el factor masculino es la causa de infertilidad.

Los criterios establecidos en la morfología por Kruger *et al;* (1993) son señaladas en la OMS 2010 en los cuales los espermatozoides normales deben tener tanto la cabeza y cola deben ser normales, los espermatozoides en borderline son considerados anormales, la cabeza debe tener una forma ovalada, la región acrosómica ocupa un 40 y 70 % del área de la cabeza no presenta vacuolas grandes y no más de 2 vacuolas pequeñas no ocupando más del 20% de la cabeza y en la región postacrosómica no presencia de vacuolas, la pieza media delgada, regular aproximadamente de la misma longitud que la cabeza del espermatozoide, y pieza principal calibre uniforme a lo largo de la longitud debe ser mas delgada que la pieza media. Es importante enfatizar que el exceso de citoplasma residual (ECR) se considera anomalía cuando esta en exceso y supera 1/3 de la cabeza del espermatozoide, no es gota citoplasmática siendo estos componentes normales de espermatozoides humanos fisiológicamente funcionales.

Saravia y Espinoza; (2011) analizaron las nuevas y actuales referencias del quinto manual de la OMS 2010, los parámetros en la calidad seminal y su relación en la fecundidad y en la investigación de la salud reproductiva determinando que se hace imperativo homogenizar este examen en los laboratorios andrológicos o de investigación en Latino América y el mundo puesto que los nuevos valores indicados como “límite de referencia inferior” (LIR) en el estudio del análisis seminal realizados por varios autores (2003 al 2010) cumplirían con los estándares actuales para ser considerada una población con capacidad de fertilidad. Sin embargo los nuevos criterios de límites inferiores de referencia, aún resultan controversiales para muchos autores los cuales recomiendan una nueva revisión aumentando los parámetros de concentración, motilidad y morfología, valores de referencia que consideran muy bajos de tal manera de poder determinar claramente una población masculina fértil de población masculina subfértil. El estudio de estos parámetros se considera un importante marcador biológico para

evaluar la magnitud de las exposiciones a diferentes factores químicos ambientales y laborales, destacándose como un método de medición no invasivo. La OMS sugiere que cada región geográfica y cada laboratorio debería realizar análisis retrospectivo para determinar sus propios valores referenciales de los parámetros seminales, de esta manera los estudios de poblaciones sobre este tema varían según el área estudiada como señala Acosta *et al;* (2016) en la comparación al evaluar los parámetros seminales en varones atendidos en centros de fertilidad de Perú (Chiclayo 27 msnm) en 102 pacientes y México (México D.F 2240 msnm) en 115 pacientes analizándose las muestras siguiendo los criterios OMS 2010 se determinó que la morfología espermática (78,3%) y la motilidad progresiva (24,5%) fueron los parámetros seminales más afectados en México y Perú respectivamente. Se encontró diferencias significativas en la mediana en los parámetros de concentración ($10^6/ml$) (36,60 vs 76,50), movilidad progresiva (33,00% vs 49,20%), morfología normal (2,00% vs 5,00%), vitalidad (75,00% vs 85,00%) en la población total de México y Perú respectivamente. Del total de los pacientes en ambos lugares un 56% en Perú y un 13% en México concordó con los criterios establecidos por la última edición de la OMS, en relación al valor alto de prevalencia de alteraciones entre Chiclayo y México D.F se pueden dar por las diferencias geográficas, étnicas y genéticas que existe intra e interpoblaciones esto se puede dar debido a la diferencia de altitudes induciendo a hipoxia, siendo esto negativo para la fertilidad masculina por la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) así como el gran porcentaje de espermatozoides anormales obtenidos en México D.F se pudiera dar por la presencia de contaminantes atmosféricos (plomo) este tipo de contaminante afecta la calidad seminal.

El espermatograma es una prueba esencial en el análisis y la valoración de la infertilidad para el estudio de enfermedades masculinas incluyendo la evaluación de los espermatozoides definida por la concentración, la motilidad y la morfología; el líquido seminal y la presencia de otras células,

como los leucocitos y las bacterias (OMS, 2010). El análisis del semen aporta información importante en cuanto al proceso de espermatogénesis, la función de los espermatozoides y la función de las glándulas accesorias. En respuesta a la gran necesidad de estandarizar o sistematizar los procedimientos asociados al análisis seminal, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado sucesivas ediciones del “Manual para el Examen del Semen Humano y la Interacción Moco Semen (1980, 1987, 1992 y 1999)”, las cuales han servido de guía para los laboratorios de andrología clínica en los últimos manuales se acordó cambiar el concepto de “valor de referencia” por el de “límite de referencia inferior” (LRI, al 5º percentil) Sarabia y Munuce, (2011) señalan algunos cambios en la evaluación de la calidad seminal de acuerdo a los criterios del manual OMS 1999 han sido modificados en el actual manual OMS 2010 donde los rangos de valores normales en los parámetros de motilidad y morfología han reducido , por lo tanto al calificar las muestras como normales o anormales las evaluaciones se vuelven mas permisivas (Catanzariti *et al*; 2013). Los parámetros establecidos según la OMS 2010, los siguientes valores son considerados los criterios de normalidad: volumen seminal 1,5 mL, pH $\geq 7,2$, concentración espermática $15 \times 10^6/\text{ml}$, conteo total de espermatozoides 39×10^6 , vitalidad 58%, en movilidad se divide en: movilidad total 40% y movilidad progresiva 32%, Morfología $\geq 4\%$, Leucocitos $< 1 \times 10^6 /\text{ml}$, la licuefacción total a los 60 minutos. (OMS, 2010) varían en la disminución de la mayoría de los parámetros como señala la OMS 1999, los siguientes valores son considerados los criterios de normalidad: volumen seminal 2 mL, pH 7,2-7.8, concentración espermática, $20 \times 10^6/\text{ml}$, conteo total de espermatozoides 40×10^6 , vitalidad 75%, en movilidad se divide en: movilidad total no detalla y movilidad progresiva 50%, morfología 15%, leucocitos $< 1 \times 10^6 /\text{ml}$, la licuefacción total a los 60 minutos. (OMS,1999)

IV. HIPÓTESIS

Existe concordancia entre los criterios de calificación sugeridos por la OMS 2010 y OMS 1999, de los parámetros macroscópicos y microscópicos.

V. MÉTODO

5.1 Lugar de ejecución

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Biotecnología Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma (URP).

5.2 Tipo y Diseño de la Investigación

5.2.1 Tipo de investigación

Investigación básica

Investigación descriptiva

Investigación transversal

5.2.2 Diseño de la investigación

Investigación No Experimental

5.3 Variables

Las variables descriptivas en este estudio a medir y observar son los parámetros macroscópicos (Volumen y pH) y los parámetros microscópicos (Concentración, Motilidad, y Morfología).

5.4 Muestreo

Las muestras de semen fueron tomadas por masturbación y se colectaron en frascos de boca ancha estéril con un período de abstinencia sexual de 3 a 7 días y estas fueron identificadas con los datos personal y analizadas

en el Laboratorio de Biotecnología Animal siguiendo las pautas de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2010).

5.5 Procedimientos y análisis de datos

5.5.1 Población de Estudio

Se evaluaron un total de 100 individuos con un rango de edad de 20 a 50 años de los cuales 35 de ellos entre los 20 a 35 años y 65 entre los 36 a 50 años.

5.5.2 Análisis del líquido seminal

- **Evaluación macroscópica de las muestras seminales**

- **Volumen**

El volumen del eyaculado fue medido aspirando toda la muestra con una pipeta graduada.

- **pH**

Para la determinación del pH, se utilizó cintas de pH a intervalos de 6,5 a 10 y se comparó con las tonalidades de rangos de pH.

- **Evaluación microscópica de las muestras seminales**

- **Motilidad**

Se montó el portaobjetos con 10 μ l de semen y se cubrió con el portaobjetos. Se dejó en reposo 1 minuto y se observó bajo un microscopio de campo claro. Se realizó el conteo de 200 espermatozoides con el objetivo de 40x en un total de por lo menos 5 campos. Se clasificó según los siguientes parámetros: motilidad progresiva (PR), motilidad no progresiva (NP) e inmóviles (IM). Primero se contaron los espermatozoides con motilidad progresiva, luego los espermatozoides con motilidad no progresiva y por último los inmóviles, siguiendo el sentido de las agujas del reloj.

– **Concentración**

Se realizó una dilución de 1:20 (190 ul solución de Weigman y 10 ul de semen) y se cargo la cámara de Neubauer con 10ul de la dilución. Se observó bajo un microscopio de campo claro con el objetivo de 40x contando 200 espermatozoides o hasta terminar la fila. Se tomó en cuenta a aquellos espermatozoides que se encuentren en el interior del cuadrado, contándose los de la línea vertical izquierda y horizontal inferior. Una vez que se obtuvo el número de espermatozoides y las filas contadas, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración} = \frac{N^{\circ} \text{ spz}}{N^{\circ} \text{ filas}} \times \frac{1 \text{ fila}}{20 \text{ nl}} \times \text{Factor Dilución} = C \times 10^6 \text{ spz/ml}$$

El cálculo de la concentración total de espermatozoides en el eyaculado se obtiene multiplicando la concentración de espermatozoides por el volumen del eyaculado.

– **Morfología**

Se colocó 5 ul de semen en el extremo de una lámina portaobjetos y se hizo el extendido utilizando otro portaobjetos. Se dejó secar al aire y se realizó la coloración con la técnica Diff-Quick, una vez secó y utilizando aceite de inmersión, se observó bajo el microscopio de campo claro contándose 200 espermatozoides siguiendo la técnica estricta de Kruger (Kruger et al, 1987) para su clasificación según las características morfológicas de la cabeza, pieza intermedia y cola.

5.6 Análisis Estadístico

El análisis estadístico de las muestras se realizó con el software SPSS versión 24 con un 95% de confiabilidad utilizando la estadística de contraste para analizar los datos con el Índice de kappa.

5.7 Ética

Consideraciones éticas:

Se le solicitó a cada individuo su consentimiento escrito de inclusión en el estudio, y se le indicó las normas para la toma de muestra de semen (Anexo N°01).

VI. RESULTADOS

6.1 Resultados del análisis seminal de los parámetros macroscópicos

Con respecto al volumen del total de 100 individuos, 87 califica con la OMS 2010 y 76 con la OMS 199. Por otro lado, el grado de concordancia entre ambas OMS al calificar este parámetro es de (0,642) 64.2% obtenido con el índice de kappa considerándose como buena concordancia como lo señala López de Ullibari y Pita Fernández; (1999) indicando que los resultados de la OMS 2010 replican en alguna medida los resultados de la OMS 1999. (Tabla 1, 2 y 3)

Con respecto al pH del total de 100 individuos, 100 califica con la OMS 2010 y 5 con la OMS 1999. Por otro lado, el grado de concordancia entre ambas OMS al calificar este parámetro es de (0,000) 0.0% obtenido con el índice de kappa considerándose como concordancia pobre como lo señala López de Ullibari y Pita Fernández; (1999). (Tabla 1, 2 y 3)

6.2 Resultados del análisis seminal de los parámetros microscópicos

Con respecto a la motilidad progresiva de un total de 100 individuos, 87 califica con la OMS 2010 y 26 con la OMS 1999. Por otro lado, el grado de concordancia entre ambas OMS al calificar este parámetro es de (0,197) 19,7% obtenido con el índice de kappa considerándose como pobre concordancia como lo señala López de Ullibari y Pita Fernández; (1999). (Tabla 1, 2 y 3)

Con respecto a la concentración espermática de un total de 100 individuos, 82 califica con la OMS 2010 y 79 con la OMS 1999. Por otro lado, el grado

de concordancia entre ambas OMS al calificar este parámetro es de (0,905) 90,5% obtenido con el índice de kappa considerándose como muy buena concordancia como lo señala López de Ullibari y Pita Fernández; (1999) indicando que los resultados de la OMS 2010 replican en alguna medida los resultados de la OMS 1999. (Tabla 1, 2 y 3)

Con respecto a la concentración total de un total de 100 individuos, 87 califica con la OMS 2010 y 86 con la OMS 1999. Por otro lado el grado de concordancia entre ambas OMS al calificar este parámetro es de (0,957) 95,7% considerándose como muy buena concordancia como lo señala López de Ullibari y Pita Fernández; (1999) indicando que los resultados de la OMS 2010 replican en muy buena medida los resultados de la OMS 1999. (Tabla 1, 2 y 3)

Con respecto a la morfología de un total de 100 individuos, 39 califica con la OMS 2010 y 0 con OMS 1999. Por otro lado, el grado de concordancia entre ambas OMS al calificar este parámetro es de (0,000) 0,0% considerándose como pobre concordancia como lo señala López de Ullibari y Pita Fernández; (1999). (Tabla 1,2 y 3)

De los 100 individuos, el 24% de ellos calificó con todos los parámetros analizados con la OMS 2010 y un 0 % con la OMS 1999. (Tabla 4)

VII. DISCUSIÓN

Hoy en día la problemática de la infertilidad en muchas parejas a nivel global ha llevado a la OMS a continuos cambios como se evidencia en sus sucesivas ediciones publicadas (1980, 1987, 1992 , 1999 y 2010) en relación a los valores de los parámetros establecidos en el estudio de la calidad seminal en concordancia con la población actual para su estandarización mundial por lo cual se tuvo que realizar una nueva revisión en la cual se acordó cambiar el concepto de “valores de referencia” por el de “Límites de Referencia Inferior” (LRI) obtenidos al analizar los datos de casi 4500 varones fértiles en 8 países y 3 continentes (Saravia y Munuce, 2011), aún con la nueva versión existe controversia de los nuevos valores entre los investigadores que recomiendan una nueva revisión como es el caso de los parámetros de morfología, concentración y motilidad aumentándolos de tal manera de poder determinar claramente la población fértil de la población masculina infértil como concluyen Espinoza-Navarro y Sarabia (2011), como se observo en el estudio en el cual el porcentaje de individuos considerados como infértiles según la OMS 1999 en la actualidad son considerados fértiles debido a la diferencia entre los valores establecidos entre ambos manuales de la OMS para cada parámetro seminal al mostrar una disminución en los valores de la nueva edición de la OMS siendo de un 18% la diferencia de los valores de la motilidad progresiva entre ambas OMS, un 11% en la morfología, de 5 millones en la concentración/ml y de 1 millón la diferencia en la concentración total debido a que los valores son mas distantes entre ambos manuales mayor es el rango por lo cual hay una mayor probabilidad que aumente el porcentaje de varones que califican para dichos parámetros al contrario de la diferencia de los valores en la concentración/ml y concentración total por lo que disminuye la probabilidad al ser el margen más pequeño.

En el presente estudio los valores obtenidos de los 100 varones analizados el 100% de ellos no califica con todos los valores de referencia

de la OMS 1999 llegando a considerarse como individuos infértiles en comparación con el 24% que califica con todos los límites inferiores de referencia establecidos por la OMS 2010 en el manual del procesamiento del semen humano considerándolos como individuos fértiles en la actualidad presentando para cada parámetro los siguientes porcentajes de calificación 100% pH, 82% concentración espermática, un 87% de la concentración total, 74% con la motilidad progresiva y 39% en la morfología contrastando con los resultados obtenidos en el estudio realizado por Arbaiza, (2015) resultando que un 90% de los individuos califican con los criterios referente a los valores de pH, concentración espermática y concentración total, el 70% con la motilidad progresiva y un 23% con la morfología observándose esta diferencia en los porcentajes debido al tamaño de la muestras en cada estudio pero lo más resaltante es rango de edades que se tuvo en cuenta al realizar ambos estudios, el primero con un rango de edad de 20-50 años y el segundo de 18-30 años, con un tamaño de muestra de 30 varones, siendo la edad un factor importante en la evaluación de la calidad seminal debido a que está íntimamente relacionada con la disminución de la morfología y la motilidad.

En cuanto a los tratamientos de fertilidad que se utilizan para mejorar la calidad seminal es a través del uso de antioxidantes como lo menciona Rodríguez *et al;* (2008) con el uso de ácido fólico y zinc obteniendo un aumento en la motilidad y morfología, por lo tanto una dieta rica en antioxidantes ya sea el caso de administración por vía oral previene la oxidación de las células por los radicales libres que causan daño en las estructuras celulares recalculándolo Mallok *et al;* (2011) con un aumento excesivo de radicales libres puede causar estrés oxidativo causando daño en los espermatozoides debido a que la membrana del espermatozoide humano contiene una elevada proporción de ácidos grasos poliinsaturados, por lo tanto su susceptibilidad a la peroxidación lipídica es muy elevada, la molécula que más se ha involucrado en el daño de los espermatozoides es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) aunque no es un radical libre está incluido en el grupo de especies reactivas de oxígeno (ERO) sugiriendo un daño

en el esperma en los parámetros de movilidad y morfología provocando así problemas en la fertilidad masculina.

Por otro lado un 24% de los varones de la ciudad de Lima (161 msnm) calificó con los criterios establecidos por la OMS 2010 constatando este valor con el estudio ofrecido por Acosta *et al;* (2016) al comparar dos poblaciones de varones la primera de la ciudad de Chiclayo (27 msnm) y la segunda de la ciudad de México DF (2240 msnm) donde el 56% y 13% respectivamente calificó con la OMS 2010 concordando con el estudio que la diferencia de porcentajes se puede dar debido a la diferencia de altitudes induciendo a hipoxia, siendo esto negativo para la fertilidad masculina por la producción de especies reactivas de oxígeno lo cual origina un descenso en estos parámetros comprobando así la sugerencia de la OMS que cada región geográfica y cada laboratorio debería realizar análisis retrospectivo para determinar sus propios valores.

VIII. CONCLUSIONES

1. La nueva clasificación del manual del OMS va mas acorde con la población actual de Lima calificando un 24% que se encuentran dentro de los límites de referencia propuestos en contraposición del 0% que no clasifico con la OMS 1999.
2. Se evidencia que con la actual OMS de los 100 individuos analizados 13% es hipospérmico, 18% es oligospérmico, 61% es terazoospérmico y un 26% es astenozoospérmico debiéndose a la edad de los varones.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta, L; Cuapio, P;Rivas, C;Salazar, C;Téllez,S.(2016).Evaluación de los parámetros seminales en varones atendidos en centros de fertilidad de Perú y México. Rev. Iberoam. Fert Rep Hum.33: 25-30
2. Álvarez, D; Guardiola, A; Cuello, C; Barrera, E; Fernández, J. (2011) Varicocele e infertilidad: índices de resistencia y pulsatilidad en ramas capsulares de la arteria testicular y su relación con la cuenta espermática. Anales de Radiología México. 4:296-302.
3. Arbaiza,M. (2015).Evaluación de parámetros seminales de jóvenes Universitarios de la ciudad de Lima-Perú. Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología. Universidad Ricardo Palma. pp1-67.
4. Bassas,L. (2001). Espermatogénesis e Infertilidad. Revista Ibero-america de Fertilidad.18:11-17.
5. Campos, M; Delgado, E; Morgado, S; Sanchez-Correa, B; Gonzales, M; Gordillo, J; De Julián y Fernández de Velasco, J; Tarazona, R; García, J. (2011). Influencia del ejercicio físico y el índice de masa corporal sobre la calidad espermática: análisis en pacientes de reproducción asistida. Revista de Embriología Clínica y Biología de la Reproducción ASEBIR.16: 25 – 32
6. Cánovas,J;Cadenas,V;Molina,R;Fernández, J;Sánchez,A; García,J. (2008). Relación entre la edad del varón y la calidad del estudio seminal. Experiencia en el área sanitaria 14 de a agencia valenciana de la salud. Arch. Esp. Urol. 61: 705-710.
7. Catanzariti, F; Cantoro, U; Lacetera, V; Muzzonigro, G; Polito, M. (2013).Comparison between WHO (World Health Organization) 2010 and WHO 1999 parameters for semen analysis - interpretation of 529 consecutive samples. Arch Ital Urol Androl.85:125-129

8. Cepeda, B. (2013). Prevalencia de espermograma alterado en pacientes entre 25 a 45 años. Aprove. Sauc. 8. Guayaquil. Tesis presentada como requisito para optar por el grado de Magíster en bioquímica clínica. Universidad de Guayaquil. pp1-56
9. Chavarro, J; Toth, T; Wright, D; Meeker, J; Hauser, R. (2010). Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril.* 93: 2222-2231
10. Chávez, J; Yarleque, J; Avalos, E; Barrientos, R; García, A. (2012). Relación entre la calidad del semen y la edad. *Med Hered.* 23: 183-187
11. Espinoza-Navarro, O; Sarabia, L. (2011). Evaluación y Estandarización de la Calidad del Espermograma: Nuevos Límites Inferiores de Referencia. *Int. J. Morphol.* 29: 885-890
12. Godoy, L; Villalobos, B; Ruíz, S; Rojas, A; Díaz, M; Jarero, L. (2009). Estudio y Análisis de la calidad del semen en pacientes jóvenes de 20 a 40 años, y su relación con los parámetros señalados por la Organización Mundial de la Salud (OMS). *Bioquímica.* 34: 111
13. Guerrero, L; Cortés, J; Rosales de León, J; Aguilar, A; García, G (2014) Efecto del índice de masa corporal en la calidad espermática de pacientes subfértiles. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción.* 6: 137-144
14. Grow, D; Oehninger, S; Seltman, H; Toner, J; Swanson, R; Kruger, T; Muasher, S. (1994). Sperm morphology as diagnosed by strict criteria: probing the impact of teratozoospermia on fertilization rate and pregnancy outcome in a large in vitro fertilization population. *Fertil Steril.* 62: 559-567.
15. Horta, F; Madariaga, M; García, A; Hartel, S; Smith, R. (2011). Aumento del daño en el DNA espermático en varones mayores de 40 años. *Rev. Med. Chile.* 139: 306-312
16. Kruger, T; Acosta, A; Simmons, K; Swanson, R; Matta, J; Veeck, L; Morshedi, M; Brugo, S. (1987). New method of evaluating sperm

morphology with predictive value for human in vitro fertilization. *Urology*.30: 248-251

17. Lalinde, P; Mayorga, J; Cardona, W (2014). Relación entre la actividad física, el sedentarismo y la calidad seminal. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*.79: 323 – 329
18. Lechuga, J; Lechuga, A. (2011). Criptorquidia. *Protoc diagn ter pediatr*. Asociación Española de Pediatría. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz.1:34-43
19. López de Ullibarri, I; Pita, S. (1999). Medidas de concordancia: el índice de Kappa. *Cad Aten Primaria*.6: 169-171
20. Lozano,R; Saldivia,M; Villavicencio,A. (2014). Concentración espermática mínima requerida para inseminación intrauterina mediante capacitación por migración ascendente. *Rev Obstet Ginecol Venez*.74:177-183
21. Mallok, A; Flores, R; Alonso, C; Martínez,G. (2011). Desbalance redox en la infertilidad masculina. *Rev Cubana Farm* .45:283-296
22. Marina, S. (2003). Avances en el conocimiento de la espermatogénesis. Implicaciones clínicas. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*.20: 213-225.
23. Marnet, B; Vieitez,G; Milhet, P; Richoilley, G; Lesourd,F; Parinaud, J. (2000). Computer assisted assessment of sperm morphology: comparison with conventional techniques. *International Journal of Andrology*. 23: 22-28
24. Munuce,M; Cardona, W; Berta, C.(2006). ¿Existe asociación entre la morfología normal del espermatozoide y su cinética de desplazamiento?. *Actas Urológicas Españolas*.30: 591-597
25. Nallella, K; Sharma, R; Aziz, N; Agarwal, A. (2006). Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertil Steril*. 85: 629-634
26. Olivera,M;Ruiz,T;Tarazona,A;Giraldo,C. (2006). El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. *Rev Col Cienc Pec*. 19: 426-436

27. Roa, Isis. (2012). La infertilidad como problema de salud pública en el Perú. *Rev peru ginecol obstet.*58: 79-85
28. Rodríguez,S; Giustiniano,B; Abache,E; Hurtado,F. (2008) Tratamiento con ácido fólico y zinc en hombres subfértiles. Servicio de Fertilidad. Maternidad "Concepción Palacios".*Rev Obstet Ginecol Venez.* 68: 175-180
29. Sarabia,L; Munuce,M.(2011). Nuevos valores para el espermio-grama OMS 2010. *Rev Med Chile.* 139: 548-549
30. Toro,A. (2009). Espermograma.Medicina& Laboratorio: Programa de Educación Médica Continua Certificada Universidad de Antioquía. Editora Médica Colombiana.15: 145-169
31. Wise, L; Cramer, D; Hornstein, M; Ashby, R; Missmer, S.(2011). Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. *Fertility and Sterility.*95: 1025-1030.
32. World Health Organization.(1999). WHO Laboratory Manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge: Cambridge University. Fourth Edition.
33. World Health Organization. (2010) "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition. 1- 287

X. ANEXOS

Consentimiento informado escrito de inclusión en el estudio

HOJA INFORMATIVA

Introducción

Lo invito a participar en el estudio titulado “Evaluación comparativa sobre la calidad seminal de hombres de acuerdo a la versión de la OMS 1999 vs 2010”

Propósito del Estudio

Se realiza este estudio con la finalidad de evaluar la calidad seminal hombres con un rango de edad de 20 a 50 años de la ciudad de Lima mediante espermogramas.

El objetivo es comparar a un mismo grupo de hombres (jóvenes y adultos) sobre la calidad seminal, clasificados por dos criterios de normalidad diferentes: según criterios OMS 1999 vs OMS 2010. Antes decidir si desea participar o no, le brindaremos la información necesaria, para que pueda tomar una decisión informada, puede usted realizar todas las preguntas que desee, y se le responderá gustosamente. Este proceso se denomina consentimiento informado.

Procedimientos

Si usted acepta participar en este estudio sucederá lo siguiente:

1. Primero, Se le entregará una hoja informativa con las recomendaciones para una correcta toma de muestra.
2. Luego se le requerirá donar 1 muestra de semen para evaluar si sus espermatozoides se encuentran en buen estado.
3. Todos los procedimientos se realizarán el mismo día y tomarán aproximadamente 60 minutos.

Beneficios

Usted se beneficiará de la evaluación seminal y los exámenes auxiliares que realizara. Se le hará entrega de los resultados de manera personal, brindándole orientación, si usted lo desea. Los costos de los exámenes de semen serán cubiertos por el estudio y no le ocasionarán gasto alguno.

Riesgos

No se prevén riesgos por participar en el estudio.

La toma de muestra de semen presenta un riesgo muy pequeño de infección, sino se mantiene la higiene adecuada.

AUTORIZACIÓN DEL PACIENTE

Yo, _____, con DNI _____, (paciente) autorizo analizar la muestra de semen, obtenidas por masturbación, siguiendo las recomendaciones previamente sugeridas, y cuyo resultado será usado en el desarrollo de trabajo del Proyecto de Tesis para optar el título profesional de licenciado en Biología, que lleva el nombre: "Evaluación comparativa sobre la calidad seminal de hombres de acuerdo a la versión de la OMS 1999 vs 2010". Además otorgo el consentimiento para que los datos generados puedan ser utilizados para el estudio, sin revelar nombres y sean entregados a la brevedad posible.

En este estudio de investigación estuvo solo a cargo de personas con la debida preparación científica y bajo la vigilancia de un profesional de la salud, por otra parte, se respetó el derecho de cada individuo participante en la investigación a salvaguardar la integridad personal, se adoptaron las precauciones necesarias para respetar su intimidad y reducir al mínimo las precauciones del estudio sobre la integridad física y mental del paciente.

Firma

Tabla N^a 1 : Porcentajes de 100 varones de la ciudad de Lima que califican para cada parámetro seminal para ambos manuales de la OMS

Parámetros seminales estudiados	Valor de Referencia OMS 1999	Califica (%)	Límite de Referencia Inferior OMS 2010	Califica (%)
Volumen	2mL	76	1,5mL	87
pH	7,2 - 7,8	5	≥7,2	100
Motilidad progresiva	50%	26	32%	74
Concentración espermática	20X10 ⁶	79	15X10 ⁶	82
Concentración total	40X10 ⁶	86	39X10 ⁶	87
Morfología	≥15%	0	≥4%	39

Tabla N^a 2 : Escala de Valorización del Índice de Kappa según López de Ullibari y Pita Fernández (1999)

Valoración del Índice Kappa	
Valor de k	Fuerza de la concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 - 0.40	Débil
0.41 - 0.60	Moderada
0.61 - 0.80	Buena
0.81 - 1.00	Muy buena

Tabla N^a 3 : Valores de los índices de concordancia y no concordancia y su calificación según los parámetros estudiados

Parámetros estudiados	Valor del Índice de kappa	Calificativo	% Concordancia Total	% Concordancia Anormalidad	% Concordancia Normalidad
Volumen	0,642	Buena	89	13	76
pH	0	Pobre	5	0	5
Motilidad progresiva	0,197	Pobre	52	26	26
Concentración /ml	0,905	Muy buena	97	18	79
Concentración total	0,957	Muy buena	99	13	86
Morfología	0	Pobre	61	61	0

Tabla N^a 4 : Individuos calificados como normozoospérmicos, según ambos manuales de calificación de la OMS

Calificación	OMS	
	1999	2010
Si	0	24
No	100	76
Total	100	100