

**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Evaluación de parámetros seminales de jóvenes  
Universitarios de la ciudad de Lima – Perú

Tesis para optar el Título Profesional de  
Licenciado en Biología

Martin Daniel Arbaiza Barnechea

Lima, Perú

2015

### **Dedicatoria:**

Con todo mi cariño y mi amor para la persona más importante en mi vida, mi madre que hizo todo lo posible para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a Cecilia Jesús Barnechea Maltesse por siempre mi corazón y mi agradecimiento, por todos los esfuerzos que ha hecho a lo largo de estos años, para que no perdiera el rumbo y pudiera finalizar esta etapa de mi vida, a ella, le dedico esta tesis.

## AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que, de una manera u otra, han participado en la elaboración de esta tesis, y en especial:

- A mi director, el Ing. Mg. Sc. Próspero Cabrera Villanueva por sus consejos y fe incondicional en este proyecto.
- A mis codirectores, el M. Sc. Blgo. Hugo Mauricio Gonzáles Molfino y a la Dra. Verónica Rubin de Celis Massa, por su paciencia, trabajo y correcciones, sin las cuales no hubiera podido terminar esta tesis.
- A toda mi Familia, mi madre Cecilia Jesús Barnechea Maltesse, mis hermanos Daryl Arbaiza Barnechea y Dany Arbaiza Barnechea, por darme aliento y ser parte de mi vida porque ustedes son mi alegría y mi motivo para seguir creciendo profesionalmente.
- A Stephane Gordillo por su constante aliento y preocupación, apoyándome para perseverar y cumplir mis metas, por estar conmigo y acompañarme en este camino, gracias por todo mi princesa.
- A Belma Delgado por sus consejos y sugerencias para poder realizar mi tesis, siempre dispuesta a contestar cualquiera de mis dudas y ayudarme de ser necesario.
- A Sergio Vargas y Susan Gamarra les agradezco su amistad, gracias por haber hecho de esta etapa un trayecto de vivencia que nunca voy a olvidar.
- A Olga Maltesse mi Nona in memoriam.
- A todas las personas que de una manera u otra influyeron en mí para darme un consejo o apoyo, sin el cual yo no sería la persona que soy.
- Este trabajo se ha realizado gracias al financiamiento del Banco Nacional de Semen sin cuya aportación no hubiese sido posible realizar esta tesis.

## RESUMEN

A nivel mundial se está dando un fenómeno que cada vez es más común, la infertilidad. En la actualidad la edad es considerada un factor determinante en la calidad seminal, existe una relación directa entre la edad y el aumento del daño en el ADN espermático. El objetivo de este estudio fue evaluar las características seminales en jóvenes universitarios mediante espermogramas utilizando el sistema computarizado de análisis seminal C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer, ISAS v1.2) para la evaluación morfológica

Se calcularon los estadísticos descriptivos, frecuencias y coeficientes de variación para todos los parámetros seminales procedentes de 30 jóvenes universitarios voluntarios de 18 a 30 años de edad. Con el fin de determinar si los hábitos de los jóvenes considerados en la investigación tuvieron efecto en alguno de los parámetros seminales se realizó la prueba exacta de Fisher, en el caso de variables nominales, y una prueba de T de student o de U de Mann Whitney, previa verificación de la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk, en el caso de las variables cuantitativas. Todos los análisis se realizaron con un nivel de confianza de 95% en el software SPSS v.21

En conclusión no se encontraron asociaciones significativamente estadísticas entre los hábitos y los distintos parámetros seminales y se determinó que solo los criterios de pH, volumen, vitalidad, motilidad, concentración y recuento total, cumplen con los valores establecido por la Organización Mundial de Salud y la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), a diferencia del 76.7% las muestras seminales que no cumple con los criterios de morfología. Se observó que existían alteraciones morfológicas en la cabeza y la pieza intermedia de los espermatozoides, comparándolo con los valores considerados normales por la OMS se obtuvo que las principales áreas afectadas fueron la longitud, el ancho, el área, la elipticidad y la elongación de la cabeza al igual que el ancho de la pieza intermedia, y al compararlo con los valores de la ESHRE se obtuvo que las principales áreas afectadas fueron el ancho, el área y la elipticidad de la cabeza.

Palabras clave: Infertilidad, Espermogramas, Espermatozoides,

## **ABSTRACT**

Worldwide is taking a phenomenon that is becoming more common, infertility. Today's age is considered an important factor in semen quality, there is a direct relationship between age and the increased damage in DNA sperm. The aim of this study was to evaluate the seminal characteristics in young students by Spermograms and use a computerized semen analysis C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer, ISAS v1.2) for morphological evaluation

Descriptive statistics and frequencies for all semen parameters considered in this study were calculated. The coefficient of variation was calculated by dividing the standard deviation to the average and expressed in percentage. In order to determine whether the habits of young people considered in the investigation had any effect on semen parameters Fisher's exact test was performed, in the case of nominal variables, and student T test or Mann Whitney, after verification of normality with the Shapiro-Wilk test, in the case of quantitative variables. All analyzes were performed with 95% confidence in the SPSS v.21 software

In conclusion not significantly statistical associations between the habits and different sperm parameters were found and determined that only the criteria of pH, volume, vitality, motility, concentration and total count, meet values set by the World Health Organization and the European Society of Human Reproduction and Embryology, unlike 76.7% of young people who do not meet the requirements criteria of morphology. It was found that there were obvious morphological changes in the anatomical parts of the head and the intermediate piece, comparing the values considered normal by WHO, was obtained that the main affected areas were the length, width, area, ellipticity and elongation of the head as the width of the intermediate piece, and when compared with the values that were obtained ESHRE relevant affected areas were the wide area and the ellipticity of the head.

Keywords: Infertility, Semen analysis, Sperm

# ÍNDICE

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>ANTECEDENTES:</b>	<b>4</b>
2.1	FISIOLOGÍA ANDROLÓGICA: INFERTILIDAD	4
2.2	FISIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN MASCULINA	5
2.3	TESTÍCULOS	5
2.4	ESPERMATOGÉNESIS	6
2.5	TRANSPORTE DE ESPERMATOZOIDES Y MADURACIÓN EN EL EPIDÍDIMO	8
2.6	ESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE	8
2.7	CAPACIDAD ESPERMÁTICA	9
2.8	INFLUENCIA DE LA EDAD EN LA CALIDAD SEMINAL	10
2.9	UTILIZACIÓN DEL SISTEMA COMPUTARIZADO DE EVALUACIÓN SEMINAL (C.A.S.A)	10
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>12</b>
3.1	OBJETIVO GENERAL:	12
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	12
<b>4.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS:</b>	<b>13</b>
4.1	<b>POBLACIÓN DE ESTUDIO</b>	<b>13</b>
4.1.1	<i>Tamaño de Muestras</i>	13
4.1.2	<i>Criterios de Admisión y Exclusión</i>	13
4.2	<b>RECOLECCIÓN DE MUESTRAS</b>	<b>14</b>
4.2.1	<i>Lugar de Ejecución</i>	14
4.2.2	<i>Consideraciones Éticas</i>	14
4.3	<b>ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS</b>	<b>14</b>
4.4	<b>EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DE LAS MUESTRAS SEMINALES</b>	<b>14</b>
4.4.1	<i>Apariencia</i>	14
4.4.2	<i>Aspecto</i>	14
4.4.3	<i>Volumen</i>	14
4.4.4	<i>Licuefacción</i>	15
4.4.5	<i>Viscosidad</i>	15
4.4.6	<i>pH</i>	15
4.5	<b>EVALUACIÓN MACROSCÓPICAS DE LA MUESTRAS SEMINALES:</b>	<b>15</b>
4.5.1	<i>Motilidad</i>	15
4.5.2	<i>Vitalidad</i>	16
4.5.3	<i>Concentración</i>	16
4.5.4	<i>Morfología</i>	17
<b>5.</b>	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</b>	<b>18</b>

<b>6.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>19</b>
<b>6.1</b>	<b>RESULTADOS DEL ANÁLISIS SEMINAL PARÁMETROS MACROSCÓPICOS:</b>	<b>19</b>
	6.1.1 <i>Volumen</i>	19
	6.1.2 <i>pH</i>	20
<b>6.2</b>	<b>RESULTADOS DEL ANÁLISIS SEMINAL PARÁMETROS MICROSCÓPICO</b>	<b>20</b>
	6.2.1 <i>Motilidad</i>	20
	6.2.2 <i>Vitalidad</i>	21
	6.2.3 <i>Concentración</i>	21
	6.2.4 <i>Morfología</i>	21
<b>6.3</b>	<b>ANÁLISIS MORFOLÓGICO EN C.A.S.A (COMPUTER – ASSISTED SPERM ANALYZER ISAS )</b>	<b>22</b>
	6.3.1 <i>Evaluación anatómica de la cabeza espermática:</i>	22
	6.3.2 <i>Evaluación anatómica de la pieza intermedia se obtuvo que:</i>	24
<b>7.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>26</b>
<b>7.1</b>	<b>ASPECTOS MACROSCÓPICOS</b>	<b>27</b>
	7.1.1 <i>Volumen</i>	27
	7.1.2 <i>pH</i>	27
<b>7.2</b>	<b>ASPECTOS MICROSCÓPICOS</b>	<b>27</b>
	7.2.1 <i>Motilidad</i>	27
	7.2.2 <i>Vitalidad</i>	28
	7.2.3 <i>Concentración</i>	28
<b>7.3</b>	<b>ANÁLISIS MORFOLÓGICO EN C.A.S.A (COMPUTER – ASSISTED SPERM ANALYZER ISAS )</b>	<b>29</b>
	7.3.1 <i>Evaluación anatómica de la cabeza espermática:</i>	30
	7.3.2 <i>Evaluación anatómica de la pieza intermedia espermática:</i>	32
<b>8.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>34</b>
<b>9.</b>	<b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>35</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>39</b>

<b>1.</b>	<b>TABLAS:</b>	<b>39</b>
1.1	RECEPCIÓN DE MUESTRA	39
1.2	CONSENTIMIENTO INFORMADO	40
1.3	CUESTIONARIO DONANTE DE SEMEN	42
1.4	COLORACIÓN PAPANICOLAOU MODIFICADA PARA ESPERMATOZOIDES OMS 2010.	46
1.5	DIFERENCIAS ACEPTABLES ENTRE DOS PORCENTAJES DE MOTILIDAD ESPERMÁTICA	47
1.6	TABLA DE DILUCIÓN	48
1.7	DIFERENCIAS ACEPTABLES ENTRE DOS PORCENTAJES	48
1.8	FORMATO DE RECEPCIÓN DE MUESTRA	49
1.9	INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA SEMINAL	50
1.10	VALORES NORMALES REFERENCIALES Y DIFERENTES DESVIACIONES	51
1.11	FACTOR DE CONVERSIÓN PARA CÁMARA DE NEUBAUER	52
1.12	HÁBITOS DE LOS VARONES JÓVENES	53
1.14	VARIABLES NOMINALES DEL ANÁLISIS SEMINAL.	55
<b>2.</b>	<b>FIGURAS I:</b>	<b>56</b>
2.1	PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN DE EOSINA	56
2.2	TÉCNICA PARA REALIZAR UNA EXTENSIÓN DE SEMEN	56
2.3	GRÁFICA DEL INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95% DOS PORCENTAJES MOTILIDAD	57
2.4	GRÁFICA DEL INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95% DOS RECIENTOS CÁMARA NEUBAUER	58
2.5	LECTURA DE UNA LÁMINA PARA UNA EVALUACIÓN SEMINAL	58
2.7	DETALLES DE LA CÁMARA DE NEUBAUER	60
2.8	MATERIALES UTILIZADOS PARA LAS EVALUACIONES SEMINALES	61
2.9	TINCIÓN PAPANICOLAOU MODIFICADA PARA ESPERMATOZOIDES, SEGÚN LA OMS 2010	61
2.10	ESPERMATOZOIDE ANORMAL CON DOBLE CABEZA TEÑIDO CON PAPANICOLAOU	62
2.11	ESPERMATOZOIDE CONSIDERADO NORMAL	62
2.12	ESPERMATOZOIDE ANORMAL CON DOBLE COLA	63
2.13	ESPERMATOZOIDE ANORMAL CON COLA DOBLADA	63
2.14	ESPERMATOZOIDES ANORMALES	64
2.15	ESPERMATOZOIDES ANORMALES	64
2.16	CÉLULAS INMADURAS	65
2.17	ESPERMATOZOIDE ANORMAL	65
2.18	EVALUACIÓN DEL EYACULADO SEMINAL EN EL LABORATORIO DEL BNS - UNALM	66
2.19	EQUIPO C.A.S.A (COMPUTER ASSISTED SPERM ANALYZER, ISAS vs1.2)	66
2.20	PROGRAMA C.A.S.A (COMPUTER ASSISTED SPERM ANALYZER, ISAS vs.1.2)	67

## **1. INTRODUCCIÓN:**

A nivel mundial se está dando un fenómeno que cada vez es más común, la infertilidad. En el transcurso de los años la postergación del embarazo, ya sea por factores socioeconómicos, cambios en la conducta reproductiva, mayor expectativa de vida, desarrollo laboral, profesional, anticonceptivos y el mejoramiento de las técnicas de reproducción asistida, han desencadenado un aumento progresivo en la edad en la que mujeres y hombres logran el primer embarazo.

En la actualidad la edad es considerada un factor determinante en la calidad seminal, existe una relación directa entre la edad y el aumento de daño en el ADN espermático, lo que con lleva a una disminución en la concentración y la motilidad espermática (Cánovas et al, 2008; Horta et al 2011, Avalos, et al 2012).

La Organización Mundial de la Salud considera que existe infertilidad masculina cuando hay alteración del espermatograma fundamentalmente en la calidad seminal, definida por la concentración de espermatozoides, la motilidad y morfología, asociada a alteraciones propias del líquido seminal. El espermatograma es una herramienta estándar para valorar la infertilidad masculina a través del análisis del líquido seminal, un buen estudio aporta una base para integrar una investigación complementaria y llegar a un diagnóstico etiológico preciso, que permitirá tratar a los pacientes exitosamente. En la actualidad estudios epidemiológicos determinan que las causas de esterilidad compartida de forma exclusiva obedecen a las alteraciones en el factor masculino en más del 50% de los casos (Crazzolaria, S 2007; Serrano, T 2011; Serrano, T 2012).

La varicoceles, oligospermia, azoospermia, anormalidades espermáticas, problemas en fragmentación de ADN y la baja motilidad espermática son solo algunos de los principales problemas que se pueden encontrar afectando al factor masculino. No existen estudios a nivel nacional o local sobre evaluación seminal en jóvenes peruanos, los principales problemas son analizados en adultos que se encuentran con problemas de infertilidad, al no poder concebir naturalmente.

Los problemas en el área de reproducción humana tienden a ser diferentes en cada país, ya sea por factores ambientales, calidad de vida, tecnología, entre otros. De manera similar, los estudios de poblaciones sobre este tema varían según el área estudiada (Berdugo, J 2009 y Fisch, H 2013).

Los resultados seminales que se obtienen son muy difíciles de extrapolar a otra población, debido a que generalmente los parámetros seminales y la tasa de fertilidad son evaluados en muestras homogéneas de individuos (individuos que van a ser vasectomizados, donantes regulares de semen o individuos sanos con fertilidad probada) los cuales no necesariamente reflejan el estado reproductivo de la población general. Adicionalmente, estos estudios no tienen en cuenta limitaciones relacionados con la población como abstinencia sexual, factores ambientales, estilo de vida y la metodología usada para el análisis seminal. (Fisch, H 2013)

Los estudios sobre parámetros seminales en la poblaciones y su variación relacionada con la geografía, han sido realizados principalmente en el hemisferio norte (Berdugo, J 2009), muy poca información existe sobre este tema en la poblaciones del trópico.

En el transcurso de los años se ha logrado mejorar los sistemas de evaluación seminal para de esta manera eliminar la subjetividad inherente a la técnica, ya que la evaluación microscópica de la calidad del semen depende de la persona que la realice.

El sistema computarizado de análisis de semen C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer, ISAS v 1.2) ha sido usado para reducir la variabilidad lo que se correlaciona significativamente con la fertilidad. Con el objetivo de solventar el problema de la subjetividad y de la variabilidad de algunos de los parámetros convencionales del espermograma clásico se empezó a utilizar este sistema, el cual permite valorar de forma rápida, precisa y fiable tanto las variables cinéticas (Krause and Viethen, 1999 y Mortimer, en el 2000) como las morfométricas utilizado (Hidalgo et al., en 2008).

La importancia de este trabajo es, que permite establecer una base de medidas estadísticas actuales de los parámetros seminales evaluados para realizar comparaciones estadísticas que contribuyan a ampliar la perspectiva de las investigaciones en Perú, ya que actualmente no existen datos de análisis seminal con muestras variadas y al azar, teniendo en cuenta factores específicos como la metodología, abstinencia sexual, , toma de muestra y evaluación morfológica mediante el sistema computarizado de análisis seminal C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer, ISAS vs.), en jóvenes universitarios peruanos.

## **2. ANTECEDENTES:**

La Andrología es la ciencia biomédica que estudia al varón, principalmente en sus aspectos reproductivos, con la finalidad de resolver uno de los grandes problemas médicos, la infertilidad masculina. (Gonzales, 1992)

### **2.1 Fisiología andrológica: Infertilidad**

La infertilidad en el varón no es un hecho infrecuente como se pretendía establecer en el pasado; así de acuerdo a un estudio multicéntrico realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 51,2% de los casos de infertilidad es responsable el varón y a esto se le denomina Factor Masculino. (OMS, 2010).

Actualmente se define la infertilidad como la incapacidad para tener hijos después de haber mantenido doce meses de relaciones sexuales sin uso de métodos contraceptivos. Esta infertilidad puede ser primaria o secundaria. (Dohle, 2010).

Se dice que la Infertilidad masculina es primaria cuando el varón nunca ha logrado fecundar a una mujer, sea esta su actual pareja o no, y en quien se demuestra alguna alteración en la calidad del líquido seminal.

Se dice que la Infertilidad masculina es secundaria cuando el varón ha tenido un hijo anteriormente o ha producido un embarazo anterior y en la actualidad muestra una alteración en la calidad del líquido seminal y no ha logrado fecundar a su mujer después de doce meses de relaciones sexuales sin uso de métodos contraceptivos.

Cuando los parámetros de evaluación del líquido seminal no demuestran ninguna anormalidad se habla de una infertilidad no explicada.

Cuando se detecta una alteración en el espermatozoide, y/o en la calidad del líquido seminal, sin embargo las causas de estas alteraciones no pueden ser demostradas, se habla de una infertilidad idiopática.

En el 2003 Olmedo, et al., definieron la infertilidad y sus posibles causas, evaluando antecedentes científicos, para llegar a la conclusión que la

infertilidad afecta del 16% al 20% de las parejas en edad reproductiva, destacando los factores que influyen, tales como la edad, Hiperprolactinemia, Hipogonadismo, hipogonadotropico, ovarios poliquísticos, endometriosis, entre otros. Al igual que Serrano, et al, en el 2011 en su estudio descubrió que la infertilidad masculina participa en casi el 50% de los casos como factor de infertilidad.

## **2.2 Fisiología de la reproducción masculina**

El estudio de la fisiología de la reproducción del varón incluye principalmente al sistema nervioso central (cerebro, hipotálamo), adenohipofisis, testículos y glándulas sexuales accesorias, Secundariamente intervienen otras glándulas endocrinas (tiroides, páncreas, adrenales), así como el sistema nervioso vegetativo (simpático y parasimpático).

De la perfecta interacción entre todos estos sistemas es que se obtendrá una adecuada producción de espermatozoides, así como una adecuada capacidad copulatoria.

En este sistema actúan tanto neurotransmisores como hormonas en un complejo mecanismo de regulación, constituyendo así el eje Sistema Nervioso Central – Hipotálamo – Hipófisis – Testicular. (Dohle, 2010)

## **2.3 Testículos**

Durante la quinta semana de la vida fetal se desarrolla una gónada indiferenciada a partir de tres estructuras: el epitelio germinal (celómico), células mesenquimatosas y células germinales primordiales. Las células germinales se originan en la cara dorsal del intestino primitivo a la cuarta semana de vida fetal, y migran hacia la región lumbar, donde se localiza la gónada primitiva. El epitelio germinal (celómico) da origen a los túbulos seminíferos, las células mesenquimatosas a las células de Leydig y las células germinales primordiales a las espermatogonias. (Gonzales, 1992)

La diferenciación del testículo ocurre entre la 6ª. y 8ª. Semana de vida intrauterina, y depende tanto de la presencia de un inductor en el brazo corto del cromosoma Y, como de las células de Sertoli de los túbulos seminíferos que producen la hormona inhibitoria de Müller (MIH) que inhibe la formación

de trompas de Falopio, útero y porción superior de la vagina. Las células de Leydig secretan testosterona, que permiten la diferenciación del conducto de Wolff en epidídimo, conducto deferente y vesículas seminales (Decimo segunda semana). La testosterona por acción de la 5 alfa – reductasa se convierte en dihidro – testosterona (DHT). La DHT favorece la formación del glándula, del cuerpo del pene, de los escrotos y de la próstata. (Dohle, 2010)

Los testículos en el adulto están localizados en el escroto y miden de 3.6 a 6.5 cm en diámetro mayor y tienen un volumen de 15 a 30 ml. (Montoya, 2009)

## **2.4 Espermatogénesis**

La producción de espermatozoides se lleva a cabo en los cientos de túbulos seminíferos que constituyen más del 97% del volumen del testículo. Los espermatozoides pasan a través de los túbulos y drenan en la red testis. Los espermatozoides así como las secreciones del testículo salen de la red testis al epidídimo vía los conductillos eferentes. (Griswold, 1995)

La espermatogénesis es un proceso continuo y largo, por la cual unas pocas células madres, denominada espermatogonias, localizadas en la base de los túbulos seminíferos se dividen por mitosis para mantener su número y para producir cíclicamente espermatocitos primarios que por meiosis van a producir espermátides haploides que se van a diferenciar en espermatozoides que se liberan a la luz tubular. (Gonzales, 1992).

La espermatocitogénesis es el proceso por el cual las espermatogonias se dividen por mitosis y llegan hasta el espermatocito primario.

La meiosis permite el intercambio del material genético entre los cromosomas homólogos y la producción de espermátides haploides.

En la espermatogénesis, las espermátides se diferencian de células esféricas con núcleo esférico en células elongadas.

Las células espermatogénicas se hallan distribuidas de manera ordenada desde la membrana basal a la luz tubular. Las espermatogonias son las células que descansan cerca a la membrana basal, y cerca de ellas más centralmente se encuentran los espermatocitos primarios, espermatocitos

secundarios (que difícilmente se observan por su corta vida media), y espermátides.

La división de la generación final de la espermatogonias produce espermátocitos primarios. Los espermátocitos primarios se diferencian hasta espermátides a través de dos divisiones meióticas sucesivas. En la segunda división meiótica que convierte al espermátocito primario en secundario se reduce el número de cromosomas de 46 a 23. (Griswold, 1995)

La profase de la primera división meiótica es larga y se reconocen 3 estadios: leptoteno, zigoteno y paquitenio. Durante el paquitenio que dura 16 días en el hombre, ocurre el intercambio del material genético y de origen maternal y paternal.

Los estadios finales de la profase meiótica son el diploteno y la diakinesis cuando los pares de cromosomas están parcialmente separados: La separación final ocurre durante la metafase y anafase.

Después de la telofase se forma el espermátocito secundario. El proceso de meiosis ocurre en un medio condicionado por las células de Sértoli con el que las células germinales permanecen en íntimo contacto durante su diferenciación a espermátides. Las células germinales requieren lactato como fuente energética, la cual es producida sólo por las células de Sértoli con el que las células germinales permanecen en íntimo contacto durante su diferenciación a espermátides. El proceso por el cual las espermátides se transforman en espermatozoides se denomina espermatogénesis, en la cual no hay división celular sino solamente diferenciación. Este proceso incluye la condensación de la cromatina nuclear y reubicación del núcleo a la periferia de la célula, la formación del capuchón acrosomial sobre la extremidad apical del núcleo y el desarrollo a partir de los centriolos del aparato encargado de la motilidad de los espermatozoides. (Griswold, 1995)

La maduración de las espermátides ocurre en la célula de Sértoli. Las espermátides más maduras se encuentran insertadas por la cabeza en las células de Sértoli. El plasminógeno activador sintetizado en la célula de Sértoli parece intervenir en el proceso de espermiación, que consiste en la liberación de la espermátide a la luz tubular. (Montoya, 2009)

## **2.5 Transporte de espermatozoides y maduración en el epidídimo**

El transporte del espermatozoide desde que es liberado a la luz tubular hasta que está listo para salir en la eyaculación dura 7 – 10 días. En el espermatozoide testicular ocurren cambios anatómicos, bioquímicos funcionales conforme pasa por el epidídimo. El epidídimo es un túbulo simple, enrollado sobre sí mismo, que tiene una longitud de 4 – 5 metros divididos en cabeza, cuerpo y cola. En el epidídimo, las contracciones regulares de la pared del conducto parecen proveer la fuerza necesaria para movilizar los espermatozoides. Aunque es reconocido que los espermatozoides del epidídimo (cabeza) carecen de capacidad fertilizante, los recientes estudios de fertilización in vitro han demostrado que esto es incorrecto; lo que sucede es que la capacidad fertilizante aumenta a medida que los espermatozoides progresan de la cabeza a la cola. (Gonzales, 1992)

En el epidídimo los espermatozoides maduran y pueden ser almacenados. La maduración implica una serie de cambios estructurales que conllevan a la adquisición de la motilidad, disminución de la gota citoplasmática en la pieza intermedia, cambios eléctricos en la superficie de la membrana, aumento en el contenido de AMPc, modificación de la forma del acrosoma y adquisición de proteínas de superficie que se creen son factores descapacitantes. (Dohle, 2010)

## **2.6 Estructura del espermatozoide**

El espermatozoide está compuesto de cabeza y cola. La cola o flagelo puede ser subdividida en cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal.

La cabeza contiene principalmente al núcleo. La cromatina del núcleo está altamente condensada; esto con la finalidad de hacerla metabólicamente inerte y más resistente a la digestión. La parte anterior del núcleo es cubierto por el acrosoma, estructura procedente del aparato del Golgi y formado por dos membranas, la interna y la externa en cuyo interior se encuentran carbohidratos y enzimas proteolíticas. (Gonzales, 1992)

El acrosoma está compuesto de dos segmentos:

- a) El segmento anterior más grueso y conteniendo las enzimas hidrolíticas.
- b) El segmento ecuatorial, más corto y adelgazado.

Por fuera de la membrana externa del acrosoma se encuentra la membrana plasmática.

El espermatozoide capacitado realiza la reacción acrosomal que implica la vesiculación de la membrana externa y la liberación de las enzimas proteolíticas. Entre estas enzimas se encuentran la acrosina que posee actividad tipo tripsina, y la hialuronidasa. (Griswold, 1995)

La cola es el motor del espermatozoide y consiste fundamentalmente de dos microtúbulos centrales rodeados por nueve pares de microtúbulos.

Los dobletes tienen dos brazos de dineína, una proteína con actividad de ATPasa. Estos brazos de dineína son esenciales para la motilidad. Los dobletes de microtúbulos están conectados entre sí y con microtúbulos centrales. Los brazos de dineína de un doblete se unen al doblete adyacente y, a través de la hidrólisis de ATP, producen un cambio conformacional que resulta en el movimiento de los dobletes. El calcio y la calmodulina también parecen intervenir en este proceso. (Gonzales, 1992)

## **2.7 Capacidad espermática**

La capacitación espermática es el proceso en el cual el espermatozoide adquiere la capacidad para penetrar un óvulo. Durante la capacitación ocurren cambios en la membrana del espermatozoide, entre los que se encuentran, la remoción de ciertos antígenos del plasma seminal, cambios en la carga eléctrica de la membrana. Cuando el espermatozoide entra en contacto con el óvulo ocurren nuevos cambios, donde hay ruptura de las membranas del acrosoma. Esto permite la salida del material enzimático del acrosoma, un factor parecido a la neuraminidasa, una enzima dispersante de la corona, y una proteasa denominada (acrosina). Este último proceso se denomina reacción acrosomial y juega un rol importante en la penetración del espermatozoide para su fusión con la membrana del óvulo.

Con la capacitación del espermatozoide, se observan dos fenómenos: una hipermotilidad y un aumento en la velocidad del espermatozoide que son necesarias para mediar la capacidad del espermatozoide para penetrar la zona pelúcida del óvulo. (Gonzales, 1992)

## **2.8 Influencia de la edad en la calidad seminal**

Cánovas, et al., en el 2008 realizó un estudio estadístico no paramétrico (prueba de Kruskal-Wallis) relacionando el recuento espermático y motilidad con la edad, concluyendo que la edad está íntimamente relacionada con la disminución de la concentración, la motilidad y con el aumento de los espermatozoides inmóviles, del mismo modo Avalos, et al. En el 2012 demostró al estudiar 2441 casos de varones, durante 5 años que existe esta tendencia. Horta, et al., en el 2011 realizó un estudio de 62 varones donde se compararon 2 grupos de estudio, la edad promedio del primero fue de 25 años entre 17 y 35 años, y la edad promedio del segundo fue de 48 años entre 40 y 56 años, demostrando que la tendencia actual a ser padres en la madurez se asocia a una disminución de la integridad genética de los espermatozoides. Los individuos mayores de 40 años presentaron un aumento en la fragmentación del ADN espermático que podría explicar la reducción de la fertilidad reportada.

## **2.9 Utilización del sistema computarizado de evaluación seminal (C.A.S.A)**

El sistema computarizado de análisis de semen C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer) ha sido usado para reducir la variabilidad y se ha encontrado una correlación significativa con la fertilidad, sin embargo, el sistema no está exento de algunos errores humanos.

Con el objetivo de solventar el problema de la subjetividad y de la variabilidad de algunos de los parámetros convencionales del espermograma clásico se empezó a investigar la forma de automatizar el análisis del movimiento espermático mediante el uso de sistemas informáticos. Los primeros valores objetivos se obtuvieron con métodos directos como la micrografía investigado por Overstreet et al., en 1979 e indirectos, espectrofotometría o velocímetro laser de doppler estudiado por Jouannet et al., en 1977. Posteriormente, con el desarrollo de la tecnología de digitalización de la imagen de video, se incorporaron al mercado los sistemas semiautomáticos usados en el proyecto de Jagoe et al., 1986 y automáticos por Davis and Katz, 1989, genéricamente denominados con las siglas C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer), los cuales permiten

valorar de forma rápida, precisa y fiable tanto las variables cinéticas usadas por Krause and Viethen, 1999 y Mortimer, en el 2000 como las morfométricas utilizado por Hidalgo et al., en 2008 para evaluar espermatozoides humanos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general:**

Evaluar las características de muestras seminales de jóvenes universitarios mediante espermatograma.

#### **3.2 Objetivos específicos:**

- Determinar el porcentaje y frecuencia de jóvenes que presentan alteraciones en algún parámetro espermático.
- Utilizar el sistema computarizado de análisis de semen (C.A.S.A-Computer Assisted Sperm Analyzer), para la evaluación morfológica
- Establecer medidas estadísticas actuales de los parámetros seminales procedentes de jóvenes universitarios de la ciudad de Lima, Perú.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS:**

### **4.1 Población de Estudio**

#### **4.1.1 Tamaño de Muestras**

Se evaluó el muestra seminal de 30 jóvenes universitarios que asistieron de manera voluntaria a las instalaciones del Banco Nacional de Semen, y donaron en tres distintas oportunidades, un total de 90 muestras fueron analizadas siguiendo el esquema indicado por la OMS 2010.

#### **4.1.2 Criterios de Admisión y Exclusión**

- Tener la aprobación del Comité de Ética.
- El ser estudiante universitario de la ciudad de Lima.
- Tener entre 18 y 30 años de edad.
- Ser informado adecuadamente mediante el consentimiento informado para su participación en el estudio de manera voluntaria.
- Completar un cuestionario epidemiológico y clínico que explore hábito tabáquico, fármacos, consumo de alcohol y drogas; además de enfermedades graves tales como hepatitis, VIH, etc. También se recogió información de estados febriles durante los últimos días.
- Se tuvo en cuenta que los participantes donaron su muestra de manera voluntaria.

## **4.2 Recolección de Muestras**

### **4.2.1 Lugar de Ejecución**

Las muestras fueron donadas en las instalaciones del Banco Nacional de Semen de la Universidad Nacional Agraria La Molina y luego llevadas al Laboratorio donde se realizó el procesamiento seminal siguiendo el esquema de la Organización Mundial de la Salud del 2010.

### **4.2.2 Consideraciones Éticas**

Dentro de las consideraciones éticas para la ejecución de este proyecto este pasó por la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Ricardo Palma.

## **4.3 Análisis de las muestras**

Todas las evaluaciones seminales realizadas a continuación se basaron en el esquema establecido por la Organización Mundial de la Salud del 2010.

## **4.4 Evaluación microscópica de las muestras seminales**

### **4.4.1 Apariencia**

Se evaluó el aspecto de la muestra describiendo el color

### **4.4.2 Aspecto**

Se determinó el grado de homogeneidad de la muestra

### **4.4.3 Volumen**

Para evaluar el volumen, se pesó cada frasco estéril previo a la colección de manera individual en una balanza analítica y luego se pesó posterior a la toma de muestra y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{P1 inicial} - \text{P2 final} = \text{Peso total} = \text{Vol. total eyaculado}$$

Asumiendo que la densidad del semen es 1g/ml. (Densidad del semen varía entre 1.043 y 1.102 g/ml (Huggins et al., 1942; Brazil et al., 2004; Cooper et al., 2007). El valor referencial del volumen seminal debe ser 1.5 – 6 ml.

#### **4.4.4 Licuefacción**

Se dejó la muestra reposar entre 5 a 40 minutos para observar el grado de licuefacción de la muestra, si esta no se licua agregar un volumen igual de dilutor (solución salina) con una pipeta de 2mL y mezclar (el factor de dilución luego será indicado para el recuento espermático).

#### **4.4.5 Viscosidad**

Con una pipeta estéril de 2mL se evaluó la muestra aspirando el contenido seminal y permitiendo la caída libre de gotas y se observó la longitud del filamento del eyaculado.

#### **4.4.6 pH**

Para del pH se homogenizo la muestra y se colocó una gota de semen con una pipeta Pasteur estéril, se dispersar sobre una tira de pH de rango 6.0 a 10.0, y se esperó a que el color se tornara uniforme (<30 segundos) y se comparó con las tonalidades de rangos de pH.

### **4.5 Evaluación macroscópicas de la muestras seminales:**

#### **4.5.1 Motilidad**

Para la evaluación seminal se utilizó un Microscopio BOECO de contraste de fases con platina térmica a 37°C, los cubreobjetos y portaobjetos fueron sometidos al calor previamente en una plancha caliente a 37°C.

La muestra se homogenizo aspirando 10 veces con un pipeta de plástico estéril 1,5 mm de diámetro luego, se realizó en una primera observación a 100x, usando un ocular 10x y objetivo 10x. Para evaluar agregaciones, las aglutinaciones y células no espermáticas, posteriormente se colocó el objetivo en 40x y se realizó la observación a 400x lo que nos permitió

realizar la estimación de la dilución necesaria para calcular la concentración espermática, y la motilidad.

Para evaluar la motilidad se colocó una alícuota 10ul de la muestra seminal en una lámina portaobjeto temperada a 37°C y una lámina cubre objeto por duplicado, lo que permite que se obtenga una profundidad de campo de 20 micras, para que no se obstaculice el libre movimiento de los espermatozoides. Se dejó reposar por 1 minuto y se evaluó.

Primero se contaron los espermatozoides con motilidad progresiva, luego los espermatozoides con motilidad no progresiva y por último los inmóviles. Se realizó un doble conteo y se evaluaron 3 campos de 200 espermatozoides respectivamente.

#### **4.5.2 Vitalidad**

Se tomó un frotis del eyaculado y se procedió a realizar la coloración supra vital, se mezcló una alícuota de 5ul de semen con 5 ul de solución de eosina preparada al 0.5%, en un portaobjeto y se cubrió con un cubreobjetos se dejó en reposo por 30 segundos y se observó a 400x.

Se realizó un conteo de 200 espermatozoides por campo bajo un microscopio de fase de contraste.

#### **4.5.3 Concentración**

Se siguió el mismo esquema efectuado para la evaluación motilidad, se procedió a montar el portaobjeto con 10ul de muestra seminal y se cubrió con el cubreobjetos. Se dejó en reposo 1 minuto a 37°C y se situó en el microscopio. Según el número de espermatozoides que se contaron se realizó una determinada dilución.

Espermatozoides por campo de 400x	Dilución (semen + diluyente)
<15	1:5 (1+4) $\left( \frac{10\mu\text{l}}{\text{semen}} + \frac{40\mu\text{l}}{\text{dilutor}} \right)$
15 - 40	1:10(1+9) $\left( \frac{10\mu\text{l}}{\text{semen}} + \frac{90\mu\text{l}}{\text{dilutor}} \right)$
40 - 200	1:20 (1+19) $\left( \frac{5\mu\text{l}}{\text{semen}} + \frac{95\mu\text{l}}{\text{dilutor}} \right)$
> 200	1:50 (1+49) $\left( \frac{5\mu\text{l}}{\text{semen}} + \frac{245\mu\text{l}}{\text{dilutor}} \right)$

Se cargó ambas sub-cámaras de la cámara de Neubauer, con 10ul de semen diluido previamente y se analizó bajo un microscopio de fase de contraste a 400x, se evaluó la muestra luego de 5 minutos de reposo contando 200 espermatozoides.

Los resultados fueron evaluados calculando la suma y diferencia de los dos contajes.

Para diluciones 1/5, 1/20, 1/50, se aplicó la siguiente fórmula:

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

#### 4.5.4 Morfología

Se tomó un frotis del eyaculado y se procedió a realizar la tinción de Papanicolaou modificada para espermatozoides humanos.

Se tomaron en cuenta los parámetros de cabeza y pieza media espermática utilizando el sistema computarizado CASA (Computer Assisted Sperm Analyzer ISAS vs.), el cual fue programado con los estándares para la evaluación morfológica en espermatozoides humanos.

## **5. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Se calcularon los estadísticos descriptivos y frecuencias para todos los parámetros seminales considerados en el presente estudio. El coeficiente de variación se calculó dividiendo la desviación estándar con el promedio y se expresó en porcentaje. Con el fin de determinar si los hábitos de las personas consideradas en la investigación tuvieron efecto en alguno de los parámetros se realizó la prueba exacta de Fisher, en el caso de variables nominales, y una prueba de T de student o de U de Mann Whitney, previa verificación de la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk, en el caso de las variables cuantitativas. Todos los análisis se realizaron con un 95% de confianza en el software SPSS v.21 para Windows.

## **6. RESULTADOS**

De los donantes que fueron 30 jóvenes, el 13,3% reportaron ser fumadores activos, 40% consumidores de alcohol y 10% tenían antecedentes de hepatitis (Tabla 1).

### **6.1 Resultados del análisis seminal parámetros macroscópicos:**

Dentro de las muestras analizadas en este proyecto el 73.3% obtuvo una apariencia blanquecina, 16.7% blanquecino amarillento, 3.3% traslucido, 6.7% opaco. El 100% de las muestras evaluadas resultaron ser homogéneas y tuvieron una licuefacción completa.

El 73.3% de las muestras evaluadas presentaron una viscosidad normal, el 20% ligeramente aumentada, 3.3% medianamente aumentada y 3.3% altamente aumentada.

El nivel de aglutinación encontrado en las muestras que no presentaron aglutinación fue del 50%, a diferencia del 36.7% que presentó aglutinación grado 1 y el 13.3% grado 2.

El 46.7% de las muestras no presentaron agregaciones, se encontró que el 46.7% de las muestras analizadas presentó agregaciones de grado 1 y el 6.7% grado 2.

#### **6.1.1 Volumen**

Para el criterio de volumen se obtuvo una media de  $2.6 \pm 0.9$ , con un mínimo de 0.7 y un máximo de 4.4 en las evaluaciones seminales con una diferencia de rango de 3.7 y un coeficiente de variación de 34.6%, para el percentil 5% se registró un valor 1 y para el percentil 95%, un valor de 4.

Se menciona un caso aislado de un donante que registro en las tres 3 repeticiones un volumen promedio anormal altamente elevado de 7ml con una concentración de 80 millones de espermatozoides por ml y 560 millones de concentración total de eyaculado.

### **6.1.2 pH**

Se obtuvo una media de 7.7+/- 0.4, con un mínimo de 7.2 y un máximo de 9.0 en la evaluaciones seminales con un diferencia de rango de 1.8 y un coeficiente de variación de 5.2%, para el percentil 5% se registró un valor 7.3 y para el percentil 95%, un valor de 8.7.

## **6.2 Resultados del análisis seminal parámetros microscópico**

### **6.2.1 Motilidad**

#### **Motilidad progresiva:**

Se obtuvo una media de 46+/-14.6, con un valor mínimo de 26 y un máximo de 70 en la evaluaciones seminales con un diferencia de rango de 44 y un coeficiente de variación de 31.7%, para el percentil 5% se registró un valor 26 y para el percentil 95%, un valor de 69.5.

#### **Motilidad no progresiva:**

Se obtuvo una media de 9+/-6.3, con un mínimo de 4 y un máximo de 35 en la evaluaciones seminales con un diferencia de rango de 31 y un coeficiente de variación de 70%, para el percentil 5% se registró un valor 4 y para el percentil 95%, un valor de 26.2.

#### **Motilidad progresiva más motilidad no progresiva:**

El cual registro una media de 55.2+/-14.5, con un mínimo de 30 y un máximo de 77 con un diferencia de rango de 47 y un coeficiente de variación de 26.3%, para el percentil 5% se registró un valor 31 y para el percentil 95%, un valor de 76.5.

#### **Espermatozoides inmóviles:**

Se determinó una media de 43.4+/-13.9, con un mínimo de 23 y un máximo de 68 en las evaluaciones seminales con una diferencia de rango de 45 y un coeficiente de variación de 32%, encontrando que 23.6 fue lo obtenido para el percentil 5% y 66.4 para el percentil 95%.

### **6.2.2 Vitalidad**

Para el criterio de vitalidad se obtuvo una media de  $64 \pm 9.2$ , con un mínimo de 42 y un máximo de 81 con una diferencia de rango de 39 y un coeficiente de variación de 14.4%, para el percentil 5% se registró un valor 46.4 y para el percentil 95%, un valor de 80.45.

### **6.2.3 Concentración**

#### **Concentración por ml:**

Se obtuvo una media de  $61.8 \pm 27.8$ , con un mínimo de 20.7 y un máximo de 140.9 en la evaluación seminal con una diferencia de rango de 120.2 y un coeficiente de variación de 45%, para el percentil 5% se registró un valor 21 y para el percentil 95%, un valor de 127.5.

#### **Concentración Total:**

Se registró una media de  $156 \pm 81.9$ , con un mínimo de 34.4 y un máximo de 304.3 con una diferencia de rango de 269.9 y un coeficiente de variación de 52.5%, para el percentil 5% se registró un valor 39 y para el percentil 95.

### **6.2.4 Morfología**

Se evaluó la morfología las láminas teñidas con la coloración Papanicolaou modificada para espermatozoides y se analizaron en el sistema computarizado de análisis de semen CASA (Computer – Assisted Sperm Analyzer ISAS vs.).

### **6.3 Análisis morfológico en C.A.S.A (Computer – Assisted Sperm Analyzer ISAS vs.)**

#### **6.3.1 Evaluación anatómica de la cabeza espermática:**

##### **Evaluación morfológica normal acrosomal:**

Se obtuvo una media de 76.1+/- 10.5, con una diferencia de un rango de 42.5 con un mínimo de 47.5 y un máximo de 90 y un coeficiente de variación de 13.8%, para el percentil 5% se registró un valor 55 y para el percentil 95%, un valor de 90.

##### **Para la Longitud ( $\mu\text{m}$ ):**

Se estableció una media 3.8+/- 0.2, se obtuvo la diferencia de rango de 1.1 con un mínimo de 3.2 y un máximo de 4.3 y un coeficiente de variación de 5.3%, para el percentil 5% se registró un valor 3.3 y para el percentil 95%, un valor de 4.2.

##### **El Ancho ( $\mu\text{m}$ ):**

Con una media de 1.4+/- 0.1, también se obtuvo la diferencia de rango de 0.5 con un mínimo de 1.1 y un máximo de 1.6 y un coeficiente de variación de 7.1%, para el percentil 5% se registró un valor 1.1 y para el percentil 95%, un valor de 1.6.

##### **El Área ( $\mu\text{m}^2$ ):**

Se obtuvo una media de 4.1+/- 0.3, con un mínimo de 3.6 y un máximo de 4.9, con una diferencia de rango de 1.3 y un coeficiente de variación de 7.3%, para el percentil 5% se registró un valor 3.7 y para el percentil 95%, un valor de 4.8.

##### **El Perímetro ( $\mu\text{m}$ ):**

Registro una media de 10+/- 0.7, con un mínimo de 8.8 y un máximo de 11.7 y un coeficiente de variación de 7%, para el percentil 5% se registró un valor 8.9 y para el percentil 95%, un valor de 11.4.

**La elipticidad:**

Con una media de 2.9+/- 0.4, se obtuvo una diferencia de rango de 1.6 con un mínimo de 2.1 y un máximo de 3.7 y un coeficiente de variación de 13.8%, para el percentil 5% se registró un valor 2.1 y para el percentil 95%, un valor de 3.7.

**La elongación:**

Con una media de 0.5+/- 0.1 registro un 0% de cumplimiento en comparación con los valores considerados normales por la OMS entre 0.12 y 0.25, a diferencia cuando lo comparamos con los valores de ESHRE con valores entre 0.1 y 3, se obtuvo un 100% de cumplimiento, con una diferencia de rango de 0.3, con un mínimo de 0.3 y un máximo de 0.6 en la evaluación morfológica con un coeficiente de variación de 20%, para el percentil 5% se registró un valor 0.3 y para el percentil 95%, un valor de 0.5.

**La rugosidad:**

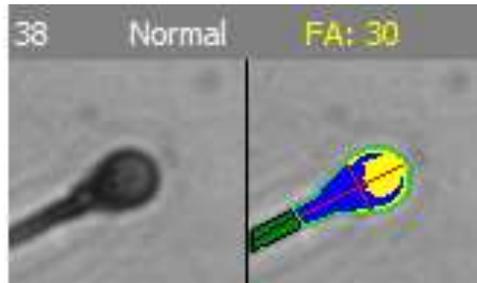
Con una media de 0.5+/- 0.1, con un diferencia de rango de 0.8, con un mínimo de 0.1 y un máximo de 0.9 y un coeficiente de variación de 20%, para el percentil 5% se registró un valor 0.3 y para el percentil 95%, un valor de 0.8.

**La regularidad:**

Se obtuvo una media de 1+/- 0.1, con un 80% de cumplimiento en comparación con los valores considerados normales entre 0.9 y 11 tanto por la OMS como por ESHRE, con un diferencia de rango de 0.3 con un mínimo de 0.8 y un máximo de 1.1 en la evaluación morfológica y un coeficiente de variación de 10%, para el percentil 5% se registró un valor 0.8 y para el percentil 95%, un valor de 1.

**La región acrosomal (%):**

Coloreada de amarillo con una media de 40+/- 2.6, con un diferencia de rango de 6.5, con un mínimo de 33.9 y un máximo de 45.2 y un coeficiente de variación de 6.5%, para el percentil 5% se registró un valor 35.7 y para el percentil 95%, un valor de 44.6.



Aumento: (1000x)

6.3.2 Evaluación anatómica de la pieza intermedia se obtuvo que:

**El Ancho ( $\mu\text{m}$ ):**

Se obtuvo una media de  $0.7 \pm 0.1$ , con un diferencia de rango de 0.3, con un mínimo de 0.6 y un máximo de 0.9 y un coeficiente de variación de 14.3%, para el percentil 5% se registró un valor 0.6 y para el percentil 95%, un valor de 0.9.

**El ancho normal (%):**

Se consiguió una media de  $86.8 \pm 6.3$ , con un mínimo de 62.5 y un máximo de 92.5 en la evaluación morfológica con un diferencia de rango de 30 y un coeficiente de variación de 7.3%, para el percentil 5% se registró un valor 66.6 y para el percentil 95%, un valor de 92.5.

**El Área ( $\mu\text{m}^2$ ):**

Se obtuvo una media de  $1.5 \pm 0.1$ , con un diferencia de rango de 0.5, con un mínimo de 1.3 y un máximo de 1.8 y un coeficiente de variación de 6.7%, para el percentil 5% se registró un valor 1.3 y para el percentil 95%, un valor de 1.7.

**El porcentaje de inserción normal de la pieza intermedia:**

Se obtuvo una media de  $83.2 \pm 4.2$ , con un mínimo de 72.5 y un máximo de 90 en la evaluación morfológica con un diferencia de rango de 17.5 y un coeficiente de variación de 5.1%, para el percentil 5% se registró un valor 73.9 y para el percentil 95%, un valor de 90.

### **El Angulo de inserción de la pieza intermedia:**

Se consiguió una media de 13.5+/- 3.3, con un 100% de cumplimiento para ambos criterios en comparación con los valores considerados normales por la OMS entre 0 -60, al igual que ESHRE con valores entre 0 – 30, con diferencia de rango de 11.3, con un mínimo de 9 y un máximo de 20.7 y un coeficiente de variación de 24.4%, para el percentil 5% se registró un valor 9.1 y para el percentil 95%, un valor de 19.6.

Se consideraron agrupar las variables nominales del análisis seminal de los 30 varones jóvenes considerados en el presente estudio en la tabla 4. Se compararon todas las variables nominales del análisis seminal (apariencia, licuefacción, aspecto, viscosidad, aglutinación, agregación) y los criterios seminales (volumen, pH, vitalidad, concentración, motilidad y morfología) con los hábitos de los varones jóvenes de entre 18 y 30 años considerados en el presente estudio (fumador, consumo de alcohol y antecedentes de hepatitis) mediante la prueba T de student o de U de Mann Whitney, previa verificación de la normalidad con la prueba de Shapiro = Wilk, y no se encontró ningún efecto de los hábitos de las personas evaluadas en este estudio con alguno de los parámetros evaluados.

## 7. DISCUSIÓN

De la literatura revisada, este es el primer estudio que evalúa los parámetros seminales en base a los espermogramas y el análisis morfológico en C.A.S.A (Computer – Assisted Sperm Analyzer ISAS vs.) de la población joven de Lima –Perú.

En el presente estudio se reveló que los valores encontrados superan los estándares recomendados por la OMS 2010 (pH, volumen, concentración, recuento total, vitalidad y Motilidad). Solo la Morfología se encontró disminuida en comparación con la OMS, con un valore del 76.7% de incumplimiento con una media de 11.6+/-3.3, con un mínimo de 7.5 y un máximo de 20 en las evaluaciones seminales.

Alrededor del mundo este parámetro también ha sido encontrado por debajo de lo considerado normal, Crazzolara, S et al. 2007 al evaluar una población Suiza de 34 individuos con una media de 9, y un rango de variación entre 1 – 17. De igual forma Navarro et al. 2010, analizó 109 sujetos de una población Chile – Arica, encontrando una media de 15+/-7.9, con un mínimo y máximo entre 0 – 43,1, y Henao et al. 2013 evaluó una población de Colombia de 30 individuos, encontrando una media de 11.2, con un mínimo y máximo de 5 – 22.5.

Algunos autores estiman que la motilidad y la concentración son mejores predictores de fertilidad que la morfología espermática (Natella et al, 2006), mientras que otros dan mayor importancia a la morfología o a la cinética de desplazamiento espermatozoide. (Munuce et al, 2006). En nuestro caso encontramos que la morfología es el mejor indicador de la fertilidad porque en esta se pueden observar las causas de las principales complicaciones.

Brazil, C en el 2004 nos indica en su investigación, que otra razón que podría explicar esta variación, sería las diferencias que pueden existir entre laboratorios referente a la subjetividad y variabilidad interpersonal al momento de evaluar las muestras seminales, lo que también fue reportado por Fisch, H 2013

## **7.1 Aspectos macroscópicos**

### **7.1.1 Volumen**

Las variaciones observadas en el volumen seminal en el presente estudio son similares a las reportadas por, Navarro et al. 2010, quienes reportan en su estudio un volumen con una media de  $2.9\pm 1.6$ , con un mínimo y máximo entre 0.3 – 8.5, Henao et al. 2013 obtuvo una media de  $2.7\pm 1.3$ , con un mínimo y máximo de 1.5 – 6. Crazzolaria, S et al. 2007 obtuvo una media de 2.6, con un rango de variación entre 0.5 – 5.8, similar a lo obtenido en este estudio con una media de  $2.6\pm 0.9$ , con un mínimo y máximo entre 0.7 – 4.4, también se obtuvo un valor de cumplimiento del 90% en comparación con los registros de la OMS y ESHRE que clasifican como valores aceptados normales 1.5 – 6.

### **7.1.2 pH**

El pH con una media de  $7.7\pm 0.4$ , con un min y máximo entre 7.2 – 9 en comparación con la OMS 2010 se encontró que el 96.7% cumplía con los criterios establecidos con valores mayores o iguales a  $\geq 7.2$  similar comparándolo con ESHRE 1998 se encontró un 90% de cumplimiento el cual registra valores entre 7.2-8.0, semejante a lo obtenido por Navarro et al. 2010 que reporto en su estudio un pH con una media de  $7.6\pm 0.5$ , con un mínimo y máximo entre 7 – 8, Henao et al. 2013 obtuvo una media de  $7.8\pm 0.4$ , con un min y máximo de 7 – 8.5. Crazzolaria, S et al. 2007 obtuvo una media de 8, con un min y máximo de variación entre 7.4 – 8.3.

## **7.2 Aspectos microscópicos**

### **7.2.1 Motilidad**

Para la Motilidad progresiva (a) según la OMS y ESHRE, la motilidad progresiva tiende a tener valores normales superiores a  $\geq 32$  de motilidad, la media obtenida fue de  $46\pm 14.6$ , por lo que solo se registró un 7.3% de cumplimiento.

Se evaluó el criterio de motilidad progresiva más motilidad no progresiva (a+b) la media obtenida fue de  $55.2\pm 14.5$  y se determinó un valor de cumplimiento del 76.7% en comparación con la OMS, con valores considerados normales superiores a  $\geq 40$ , a diferencia de ESHRE que no se determinó por ausencia de valores, similar a lo obtenido por Navarro et al.

2010 que reporto en su estudio una Motilidad progresiva (a) con una media de 19.2+/-18.6 con un min y máximo 0 – 85 y para Motilidad total (a + b) una media de 42.2+/-23.2 con un min y máximo entre 0 - 90, Henao et al. 2013 en su estudio obtuvo una media para Motilidad progresiva (a) de 61.1+/-12.1 con un mínimo y máximo 42 – 90 y para Motilidad total (a + b) media de 69.3+/-10 con un min y máximo entre 52 - 91, Crazzolaro, S et al. 2007 en su investigación obtuvo una media para Motilidad progresiva (a) de 36+/-12.1 con un min y máximo 11 – 61 y para Motilidad total (a+b) media de 42 con un min y máximo entre 15 – 66.

### **7.2.2 Vitalidad**

Para el criterio de vitalidad se obtuvo un 70% de cumplimiento cuando se comparó con los valores de la OMS y ESHRE estos determinan que los valores normales de vitalidad tienden a ser superiores a  $\geq 58\%$ , y la media que se obtuvo en esta investigación fue de del 64+/-9.2 con un min y máximo entre los 45 – 81 similar a lo obtenido por Henao et al. 2013 que obtuvo una media de 75.3+/-8.8, con un mínimo y máximo de 60 – 91, Navarro et al. 2010 en su estudio reporto una vitalidad media de 77.9+/-19.2, con un min y máximo 0 – 100.

### **7.2.3 Concentración**

En esta investigación se obtuvo una media de 61.8+/-27.8, con un mínimo de 20.7 y un máximo de 140.9, cuando se comparó con la OMS 2010 que registra valores considerados normales superiores a  $\geq 20$  millones de espermatozoides por ml se obtuvo un 100% de cumplimiento, de igual manera al compararlo con ESHRE con valores de  $\geq 15$  millones por ml, similar a lo obtenido por Navarro et al. 2010 que reporto en su estudio una concentración con una media de 62.8+/-62.3, con un min y máximo 0.45 – 380, Henao et al. 2013 obtuvo una media de 80.6+/-58.7, con un mínimo y máximo de 26 – 300. Crazzolaro, S et al. 2007 obtuvo una media de 60, con un min y máximo entre 1 – 224.

Para el recuento total de concentración se encontró una media de 156+/-81.9, con un mínimo de 34.4 y un máximo de 304.3 estos datos tuvieron un valor de cumplimiento del 96.7%, en comparación con los criterios de la OMS y ESHRE, los cuales registran valores superiores a  $\geq 39$  millones de espermatozoides por eyaculado, similar a lo obtenido por Navarro et al. 2010 que reporto en su estudio una concentración con una media de 170.5+/-

181.4, con un mínimo y máximo entre 1.71 – 1.140, Crazzolara, S et al. 2007 obtuvo una media de 160, con un min y máximo entre 1 – 636.

### **7.3 Análisis morfológico en C.A.S.A (Computer – Assisted Sperm Analyzer ISAS vs.)**

Los valores obtenidos de Longitud de cabeza, anchura, área, perímetro, rugosidad, anchura de la pieza intermedia, área son menores a los reportados en los trabajos de investigación realizados en distintas poblaciones. Aulesa, C et al. 2008, Maree, L et al. 2010, Bellastella, G et al. 2010.

Esto es explicado por Katz, DF et al 1986 en su estudio, confirmo que las medidas de la cabeza de los espermatozoides disminuyen por el estrés ocasionado durante el proceso de tinción, específicamente durante la dispersión del colorante y el secado al aire, esto produce el hinchamiento de las células inmaduras de la cabeza, la perdida de gotas citoplasmáticas y la reducción del tamaño de la cabeza lo cual luego fue corroborado por Bellastella, G et al. 2010. Otro factor que influye es la tinción utilizada para evaluar morfológicamente a los espermatozoide según Maree, L et al. 2010, que comparo 3 tinciones Papanicolaou, Rapidiff y SpermBlue, la longitud de cabeza, anchura, área, perímetro, elipticidad, elongación, rugosidad, región acrosomal, anchura de la pieza intermedia, área y ángulo de inserción tienden a aumentar o disminuir en comparación con el semen fresco dependiendo de la tinción utilizada. Lo cual luego fue corroborado por que Aksoy, E et al. 2012.

A diferencia de los valores de elipticidad y elongación que se encuentran aumentado en comparación con los reportes de Maree, L et al. 2010.

Los valores de región acrosomal son similares a los reportados por Aulesa, C et al. 2008, Maree, L et al. 2010, Bellastella, G et al. 2010. y el ángulo de inserción en comparación con los valores de Aulesa, C et al. 2008 son similares.

### 7.3.1 Evaluación anatómica de la cabeza espermática:

Al comparar los valores obtenidos en longitud cabeza ( $\mu\text{m}$ ) con una media de  $3.8\pm 0.2$  con un min y máximo entre los 3.2 – 4.3 con los criterios de la OMS que estiman valores normales entre 4 y 5.5 se encontró un 0% de cumplimiento, a diferencia de lo estimado por ESHRE con valores entre 3 y 7, alcanzando un 100% cumplimiento, esto es explicado por Berdugo, J 2009 y Fisch, H 2013, que indican que los problemas en el área de reproducción humana tienden a ser diferentes en cada país, ya sea por factores ambientales, calidad de vida, tecnología, entre otros. De manera similar, los estudios de poblaciones sobre este tema varían según el área estudiada. Aulesa, C et al. 2008 obtuvo una media de 4.93, con un mínimo y máximo de 4.8 – 5.07, Maree, L et al. 2010 en su estudio reportó una media de  $4.28\pm 0.27$ . Bellastella, G et al. 2010 en su estudio obtuvo una media de 4.33, con un mínimo y máximo 3.40– 5.32.

El Ancho de cabeza ( $\mu\text{m}$ ), registro una media de  $1.4\pm 0.1$  con un mínimo y máximo entre los 1.1 – 1.6 en comparación con los valores reportados por la OMS que varían entre 2.5 y 3,7 se encontró que un 0% de las muestras cumplían el criterio al igual que con ESHRE que indica que los valores normales varían entre 2 y 5, distinto también a lo obtenido por Aulesa, C et al. 2008 que obtuvo una media de 2.93 con un mínimo y máximo entre los 2.84– 3.01. Maree, L et al. 2010 en su estudio reportó una media de  $2.65\pm 0.19$ . Bellastella, G et al. 2010 en su estudio obtuvo una media de 2.90, con un mínimo y máximo 2.40– 3.59. Esto es explicado por Katz, DF et al 1986 en su estudio, confirmo que las medidas de la cabeza de los espermatozoides disminuyen por el estrés ocasionado durante el proceso de tinción, específicamente durante la dispersión del colorante y el secado al aire, esto produce el hinchamiento de las células inmaduras de la cabeza, la pérdida de gotas citoplasmáticas y la reducción del tamaño de la cabeza.

Al comparar el Área ( $\mu\text{m}^2$ ) de la cabeza una media de  $4.1\pm 0.3$  con un min y máximo entre los 3.6 – 4.9 con los datos de la OMS 2010 se obtuvo que un 0% cumplía con los criterios establecidos, con valores registrados considerados normales entre 9 y 15.5 al igual que con ESHRE con valores entre 9 y 16, distinto también a lo obtenido por Aulesa, C et al. 2008 que obtuvo una media de 11.9 con un mínimo y máximo entre los 11.43 – 12.5. Maree, L et al. 2010 en su estudio reportó una media de  $9.26\pm 0.99$ . Esto es explicado por Bellastella, G et al. 2010 en su estudio obtuvo una media de

10.21, con un mínimo y máximo 6.84– 13.83 e indico que las medidas de la cabeza de los espermatozoides disminuyen considerablemente por el estrés ocasionado durante el proceso de tinción.

Los valores de perímetro de la cabeza ( $\mu\text{m}$ ), con una media  $10\pm 0.7$  con un min y máximo entre los 3.6 – 4.9 comparado con los valores de la OMS con valores registrados considerados normales 11.5 y 15.5 y con los de ESHRE entre 0.5 y 18.5, se encontró que para ambos criterios se obtuvo tan solo un 3.3% cumplimiento, del mismo modo al compararlo con otros trabajos de investigación se encontró lo mismo, Aulesa, C et al. 2008 obtuvo una media de 13.7 con un mínimo y máximo entre los 13.3– 14.19. Bellastella, G et al. 2010 en su estudio obtuvo una media de 12.43, con un mínimo y máximo 10.03– 14.51. Esta disminución es explicada por Maree, L et al, en su estudio reporto una media de  $11.83\pm 0.69$  e indicó que esta reducción de la cabeza espermática es influida por la tinción utilizada para evaluar morfológicamente a los espermatozoide.

Al compararlo los valores obtenidos en elipticidad la cabeza ( $\mu\text{m}$ ), con una media  $2.9\pm 0.4$  con un mínimo y máximo entre los 2.1 – 3.7 con los criterios de la OMS alcanzó un valor de cumplimiento del 0% con valores considerados normales entre 1.23 y 1.75, se encontró también que al comparar con los valores de ESHRE que registran valores entre 1 y 3 se obtuvo un 56.7% de cumplimiento, y mayor a lo encontrado por Maree, L et al. 2010 en su estudio que reporto una media de  $1.63\pm 0.11$ . Estos valores aumentados pueden ser explicado por Aksoy, E et al. 2012 que indica que los valores de elipticidad de cabeza tienden a aumentar en comparación con el semen fresco dependiendo de la tinción utilizada.

La elongación de la cabeza ( $\mu\text{m}$ ), con una media  $0.5\pm 0.1$  con un mínimo y máximo entre los 0.3 – 0.6 al compararlo con los valores considerados normales por la OMS entre 0.12 y 0.25 se encontró un 0% de cumplimiento, a diferencia con los valores de ESHRE que van entre 0.1 y 3, se obtuvo un 100% de cumplimiento, mayor a lo obtenido por Maree, L et al. 2010 en su estudio reporto una media de  $0.23\pm 0.03$ . Estas diferencias encontradas son explicadas por Fisch, H 2013, que indican que los problemas en el área de reproducción humana tienden a ser diferentes en cada país, ya sea por factores ambientales, calidad de vida, tecnología, entre otros.

Se obtuvo una media de  $0.5 \pm 0.1$  con un mínimo y máximo entre los 0.1– 0.9 para la rugosidad de la cabeza ( $\mu\text{m}$ ) y al compararlo con los criterios considerados normales por la OMS con valores entre 0.81 y 0.92 se obtuvo un 3.3% cumplimiento a diferencia cuando comparamos con los criterios de ESHRE con valores entre 0.1 y 3 se obtuvo un 100% de cumplimiento, los datos obtenidos son menores a lo reportado por Maree, L et al. 2010 en su estudio reporto una media de  $0.83 \pm 0.02$ .

La regularidad ( $\mu\text{m}$ ) obtuvo una media de  $1 \pm 0.1$  con un mínimo y máximo entre los 0.8– 1.1, con un 80% de cumplimiento en comparación con los valores considerados normales entre 0.9 y 11 tanto por la OMS como por ESHRE lo cual es menor a lo reportado por Maree, L et al. 2010 en su estudio con una media de  $0.96 \pm 0.01$ .

Al comparar los valores obtenidos en la región Acrosomal (%) con una media  $40 \pm 2.6$  con un mínimo y máximo entre los 33.9 – 45.2 con los valores considerados normales por la OMS entre 40 y 70% se obtuvo un 53.3% de cumplimiento a diferencia cuando se comparó con ESHRE con valores entre 25 y 70 obteniéndose, se obtuvo un 100% de cumplimiento, similar a lo obtenido por Aulesa, C et al. 2008 que describió que esta región contiene enzimas hidrolíticas esenciales para que el espermatozoide pueda penetrar en el óvulo, mediante la reacción Acrosómica, el obtuvo una media de 44.34 con un min y máximo entre los 41.9 – 46.7. Maree, L et al. 2010 en su estudio reporto una media de  $32.76 \pm 7.43$ . Bellastella, G et al. 2010 en su estudio obtuvo una media de 49, con un mínimo y máximo 23.88– 65.86.

### **7.3.2 Evaluación anatómica de la pieza intermedia espermática:**

Al comparar los valores obtenidos para el ancho ( $\mu\text{m}$ ) de la pieza intermedia se obtuvo una media de  $0.7 \pm 0.1$  con un mínimo y máximo entre los 0.6– 0.9 con los valores considerados normales por la OMS entre 0 y 0.6 se obtuvo un 3.3% de cumplimiento, a diferencia al compararlo con ESHRE que se obtuvo un 100% de cumplimiento, los datos obtenidos fueron menores a lo reportado por Aulesa, C et al. 2008 en su estudio reporto una media de 1.19 con un mínimo y máximo entre los 1.14 – 1.24.

Se relacionó el área ( $\mu\text{m}^2$ ) de la pieza intermedia obtenida con una media de  $1.5 \pm 0.1$  con un mínimo y máximo entre los 1.3 – 1.8 con los valores considerados normales tanto para la OMS como para ESHRE con valores considerados normales que varían entre 0 y 15 y se obtuvo un 100%

de cumplimiento, los datos obtenidos fueron menores a lo reportado por Aulesa, C et al. 2008 en su estudio con una media de 2.56 con un mínimo y máximo entre los 2.47– 2.65.

Para el ángulo de inserción ( $^{\circ}$ ) se alcanzó una media de 13.5+/3.3 con un mínimo y máximo entre los 9 – 20.7 al compararlo con los valores considerados normales por la OMS entre 0 -60, al igual que con ESHRE con valores entre 0 – 30 se obtuvo para ambos un 100% de cumplimiento para ambos criterios en comparación con, similar a lo obtenido por Aulesa, C et al. 2008 que en su estudio reportó una media de 13.8 con un mínimo y máximo entre los 12.5 – 15.1.

Actualmente, no es posible comparar los datos obtenidos con otros estudios nacionales porque en Perú, solo se han reportado estudios clínicos en pacientes infértiles y estudios de casos de donantes de semen. Gonzales, GF 2001 y Chávez, J 2012.

## 8. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos podemos concluir que:

- 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.
- El 23% de las muestras seminales analizadas cumplen con el criterio de morfología normal, distando alteraciones en la cabeza y pieza intermedia de los espermatozoides para el caso de los criterios exigidos por ESHRE (1998).
- No se encontró ninguna alteración de los espermogramas en muestras procedentes de jóvenes que afirmaban que fumaban.

## 9. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Auger J.; Kunstmann JM.; Czyglik F.; Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med.* 1995 Feb. 2; 332(5):281–285.
2. Aulesa, C; Cabrera, M; Benítez, M Y Martínez, M. Evaluación del sistema automatizado Sperm Class Analyzer (SCA) para análisis del semen. *Revista del Laboratorio Clínico*, Volume 5, Issue 2, April 2012, Pages 75-80
3. Aksoy, E; Murad, T; Duman, S y Cuce, G. Assessment of Spermatozoa Morphology under Light Microscopy with Different Histologic Stains and Comparison of Morphometric Measurements. *Int. J. Morphol.* 30(4):1544-1550, 2012.
4. Avalos E.; Barriento, R.; Chávez, J.; García, A., y Yarleque J. Relación entre la calidad del semen y la edad, *Rev. Med Hered* 23(3): 183-187, 2012.
5. Brazil C., Swan S.H., Drobnis E.Z., Treece C, Wang C. Standardized methods for semen evaluation in a multicenter research study. *J Androl.* 2004; 25:635-44.
6. Berdugo, J.; Andrade-Rocha, F.; y Cardona-Maya, W. Parámetros seminales en hombre fértiles de dos poblaciones suramericanas. *Arch. Esp. Urol.*, Madrid. 62(8), 2009
7. Chávez J, Yarlequé J, Avalos E. Relación entre calidad del semen y la edad. *Rev Med Hered.* 2012; 23(3):183-7.
8. Crazzolaria, S; Wunder , D; Nageli, E; Bodmer, C; Graf, S; Birkhauser, M. Semen parameters in a fertile Swiss population. *Swiss med wkly.* 137:166-172, 2007.

9. Cánovas, J.; Cadenas, V.; Gasset, R.; Fernández, J.; Sánchez, A. y García, J. Relación entre la edad y la calidad del estudio seminal. Experiencia en el área sanitaria 14 de la agencia valenciana de la salud. Arch. Esp. Urol., 61(6):705-10, 2008.
10. Capilla, G.; Góngora, A., y Trejo, P. Criopreservación espermática, impacto sobre la tasa de sobrevivencia y repercusión al futuro. Rev. Acta Medica grupo ángeles. 1(3)133-137, 2003.
11. Connell, M.O.; Lewis, S.E.M., y McClure, N. The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. Human reproduction. 17(3):704-709., 2002.
12. Dohle, G.R.; Diemer T.; Giwercman, A.; Jungwirth, A.; Kopa, Z., y Krausz C. Guía clínica sobre la infertilidad masculina, European Association of Urology, 1-69, 2010.
13. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Monographs. Manual on Basic Semen Analysis (2002). Ed. U. Kvist and L. Bjorndahl. Oxford University Press.
14. Fisch, H y Braun, S. Trends in global semen parameter values Asian Journal of Andrology 15, 169–173, 2013.
15. Flores, R.; Rodríguez, C.; Mallok, A., y Martínez, G. Relación entre indicadores clínicos del espermograma y variables redox en infertilidad masculina. Revista cubana de Farmacia. 25(3):361-379. 2011.
16. González, GF. Andrología endocrina. Andrología. fertilidad e infertilidad. GF Gonzáles Editor, IIA - UPCH 1992:13-20.
17. Gonzales GF, Cordova A, Gonzales C, Chung A, Vega K, Villena A. *Lepidiummeyerii* (Maca) improved semen parameters in adult men. Asian J Androl. 2001 Dec; 3(4):301-3.

18. Griswold M. 1995. Intereactions between germ cells and Sertoli cells in the testis. *Biol. Reprod.* 52: 211-216.
19. Henao, S y Cardona, M.; Evaluación de los parámetros seminales en 30 hombres con fertilidad probada y breve revisión de la literatura. *Rev cubana de Obstetricia y Ginecología.* 39(4) 368-382. 2013
20. Ho LM, Lim AS, Lim TH, Hum SC, Yu SL, Kruger TF. Correlation between semen parameters and the Hamster Egg Penetration Test (HEPT) among fertile and subfertile men in Singapore. *J Androl* 2007; 28: 158-63.
21. Horta F; Madariaga, M.; García, A.; Hartel, S. y Smith, R. Aumento del daño en el DNA espermático en varones mayores de 40 años. *Rev. Med. Chile,* 139(3), 2011. In press.
22. Kochman, R. Har-Nir, R. Ein-Mor, E.; Shoshan, V.; Green Field, C.; Eldar, I.; Bdolah, y Hurwitz, A. Is the Quality of Donated Semen Deteriorating? Findings from a 15 Year Longitudinal Analysis of Weekly Sperm Samples. *IMAJ* 14: 372-377, 2012.
23. Montoya, A. Espermatogramas, *Medicina y Laboratorio*, ed. Medica Colombiana S.A Vol15 (3-4):145-169, 2009.
24. Munuce M, Cardona-Maya W, Berta C. ¿Existe asociación entre la morfología normal del espermatozoide y su cinética de desplazamiento? *Actas Urológicas Españolas* 2006; 591-7.
25. Nallella K, Sharma R, Aziz N, Agarwal A. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertil Steril* 2006; 85: 629-34.
26. Navarro, E., y Sarabia, L. Evaluación y Estandarización de la Calidad del Espermograma: Nuevos Límites inferiores de Referencia. *Int. J. Morphol.*, Vol. 29(3):885-890, 2011.

27. Navarro, E., Cortés A., Monreal J., Ferreccio C., Análisis de las variables del espermograma en jóvenes sanos en Arica-Chile. Rev. Med. 138(12): 1510-1516, 2010.
28. Olmedo, S.; Chillik, C.; y Kopelman, S. Definición y causas de la infertilidad, Rev. Colombiana de obstetricia y ginecología 54(4): 228-248, 2003.
29. Palacios A., y Teppa, A. Evaluación actual de la infertilidad masculina. Rev. Investigación clínica. 45(4): 355-370,2004.
30. Serrano T. Una visión actual de la infertilidad masculina. Rev. Med Reprod 2011; 4(3):103-109.
31. Vásquez D., y Vásquez, F. Espermograma y su utilidad clínica, salud Uni norte. Barranquilla (Col.) 2007; 23 (2): 220-230, 2007.
32. World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 1- 287, 2010.

## 10. ANEXOS

### 1. TABLAS:

#### 1.1 Recepción de Muestra

Donante: \_\_\_\_\_ EDAD: \_\_\_\_\_ FN: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

- Días de Abstinencia Sexual

---

- Días de Abstinencia Alcohólica

---

- Uso de Medicamentos

---

- Presencia de fiebre, gripe, proceso viral o bacteriano

---

- Método de colecta de muestra

---

- Perdida de fracción seminal

---

## **1.2 Consentimiento informado**

### **HOJA INFORMATIVA**

#### **Introducción**

Lo invito a participar en el estudio titulado: "Evaluación de parámetros seminales de jóvenes universitarios de la ciudad de Lima - Perú".

#### **Propósito del Estudio**

Se realiza este estudio con la finalidad de evaluar la calidad seminal de adolescentes universitarios de la ciudad de Lima mediante espermogramas. El objetivo es desarrollar un antecedente que permita dar a conocer las alteraciones más frecuentes que se puedan encontrar, para dar un mejor manejo y un tratamiento oportuno. Se estima que Alrededor del 40% de las causas de esterilidad obedecen a alteraciones en el factor masculino. A nivel nacional y local no existen estudios de evaluación seminal en adolescentes, los principales problemas son analizados en adultos que se encuentran ya con problemas de infertilidad, y no pueden concebir naturalmente. Antes de 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 entregara una hoja informativa con las recomendaciones para una correcta toma de muestra.
2. Luego se le requerirá donar un total de tres (3) muestras 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 se 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, si no se mantiene la higiene adecuada.

## **Confidencialidad**

Guardaremos su información con códigos y no con nombres. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrará ninguna información que permita la identificación de las personas que participan en este estudio. La muestra será usada por única vez para esta investigación.

## **Uso de futuras muestras**

Deseamos conservar sus muestras almacenadas de forma indefinida en el Laboratorio del Banco Nacional Semen de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Estas muestras serán usadas para evaluar algunas pruebas diagnósticas adicionales. Estas muestras solo serán identificadas con códigos. Si usted no desea que sus muestras permanezcan almacenadas ni utilizadas posteriormente, usted puede seguir participando del estudio.

Autorizo a tener mis muestras de semen sean almacenadas Si..... No.....

Cada vez que se utilice sus muestras pediremos autorización a un Comité Institucional de Ética y estas solo serán usadas en estudios de fertilidad con su autorización.

## **Derechos del paciente**

Si usted decide participar en el estudio, podrá retirarse de éste en cualquier momento, o no participar en una parte del estudio sin perjuicio alguno.

Si tiene alguna duda adicional acerca del estudio, por favor pregunte al investigador, o llamar al Ing. M. Sc. Prospero Cabrera Villanueva, Jefe S.R.A – Banco Nacional de Semen al teléfono 943634366

## **Declaración del participante**

He tenido la oportunidad de hacer preguntas y acepto voluntariamente participar en este estudio.

Entiendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones. Si luego tengo más preguntas acerca del estudio, puedo comunicarme con el investigador.

### **Participante**

Nombre:

DNI:

**Fecha**

**Firma**

### **Testigo**

Nombre:

DNI:

**Fecha**

**Firme**

### **Investigador**

Nombre:

DNI

**Fecha**

**Firme**

### 1.3 Cuestionario donante de semen

Preguntas Sí / No	SI	NO
1. ¿Ha sido rechazado como donante en alguna ocasión?		
2. ¿Ha donado sangre en los últimos 2 meses?		
3. ¿Se encuentra bien de salud?		
4. ¿Está actualmente en lista de espera para consulta o exploración médica en urología o aspectos reproductivos?		
5. ¿Está tomando o ha tomado en los últimos días, algún medicamento?		
6. ¿Ha tenido fiebre acompañada de dolor de cabeza y malestar general? (en las 2 últimas semana)		

#### En el último mes:

7. ¿Ha recibido alguna vacuna?		
8. ¿Ha estado en contacto con una persona que tuviese una enfermedad infecciosa contagiosa?		

**En los últimos 6 meses:**

<b>Preguntas Sí / No</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
9. ¿Ha consultado a un médico por algún problema de ámbito reproductivo?		
10. ¿Ha sido sometido a una endoscopia: colonoscopia, gastroscopia, etc.?		
11. ¿Ha sido sometido a una intervención quirúrgica?		
12. ¿Ha sido tratado con acupuntura realizada por una persona que no es médico?		
13. ¿Se ha colocado un “piercing” en algún lugar del cuerpo, incluido la oreja?		
14. ¿Se ha hecho un tatuaje?		
15. ¿Ha tenido contacto con la sangre de otra persona por pinchazo accidental o salpicadura?		
16. ¿Ha convivido o mantenido contacto íntimo con alguien que tuviese hepatitis o ictericia o fuera portador del virus de la hepatitis?		
17. ¿Ha realizado algún viaje (turismo, laboral, ONG, visita a la familia) a África, América, Asia u Oceanía?		

**En alguna ocasión, a lo largo de su vida:**

<b>Preguntas Sí / No</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
18. ¿Ha tenido una enfermedad grave que haya exigido control médico periódico?		
19. ¿Ha tenido hepatitis, ictericia o problemas de hígado?		
20. ¿Ha tenido algún problema hemorrágico o enfermedad de la sangre tal como anemia o exceso de glóbulos rojos?		
21. ¿Ha recibido alguna transfusión de sangre o de factores de la coagulación?		
22. ¿Ha recibido un injerto de tejido proveniente de otra persona (duramadre, cornea, etc.)?		
23. ¿Es usted portador/a del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) o Virus del SIDA, cree que podría serlo, o tiene dudas sobre si lo es?		
24. ¿Es usted portador/a de alguno de los virus de la hepatitis (B, C) o piensa que podría serlo?		
25. ¿Se ha inyectado drogas (heroína, esteroides para aumentar la musculatura, etc.) alguna vez en su vida, incluso si fue una sola vez y hace mucho tiempo?		
26. ¿Ha aceptado alguna vez dinero, drogas u otro tipo de pago a cambio de mantener relaciones sexuales?		

<b>Preguntas Sí / No</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
27. ¿Ha mantenido, en los últimos 6 meses relaciones sexuales (sexo vaginal, anal o bucal) con:		
• Más de una persona diferente.		
• Alguna persona portadora del virus del SIDA (VIH)		
• Persona que cambia frecuentemente de pareja		
• Persona que haya podido pincharse drogas intravenosas		
• Persona que ejerce la prostitución		
• Persona residente u originaria de zonas del mundo donde el virus del SIDA está muy extendido (África, Caribe y Asia)		
28. ¿Ha padecido alguna enfermedad de transmisión sexual (sífilis, gonorrea, etc.)?		
29. ¿Presenta fiebre, gripe, proceso viral o bacteriano?		
30. ¿Es Fumador habitual?		
31. ¿Es consumidor de alcohol habitual?		

#### 1.4 Coloración Papanicolaou modificada para espermatozoides OMS 2010.

World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

La muestra fijada en alcohol al 95% se procede a:

Alcohol 80%	-----	30 segundos
Alcohol 50%	-----	2 minutos
Agua destilada	-----	30 segundos
Hematoxilina de Harris	-----	4 minutos
Agua destilada	-----	30 segundos
Chorro de agua de grifo	-----	5 minutos
Alcohol 50%	-----	30 segundos
Alcohol 80%	-----	30 segundos
Alcohol 95%	-----	15 minutos
Naranja G-6	-----	1 minuto
Alcohol 95%	-----	2 minutos
Verde EA-50	-----	1 minuto
Alcohol 95%	-----	2 minutos

### 1.5 Diferencias aceptables entre dos porcentajes de Motilidad espermática

MEDIA (%)	DIFERENCIA ACEPTABLE	MEDIA (%)	DIFERENCIA ACEPTABLE
0	1	66-76	9
1	2	77-83	8
2	3	84-88	7
3-4	4	89-92	6
5-7	5	93-95	5
8-11	6	96-97	4
12-16	7	98	3
17-23	8	99	2
24-34	9	100	1
35-65	10		

Diferencias aceptables entre dos porcentajes de Motilidad espermática, calculados a partir de dos recuentos de 200 spz (400 spz), (OMS. 2010). World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

## 1.6 tabla de dilución

Espermatozoides por campo de 400x	Dilución (semen + diluyente)
<15 ezp	1:5 (1+4) $\left( \frac{10\text{ul}}{\text{semen}} + \frac{40\text{ul}}{\text{dilutor}} \right)$
15 – 40 ezp	1:10(1+9) $\left( \frac{10\text{ul}}{\text{semen}} + \frac{90\text{ul}}{\text{dilutor}} \right)$
40 – 200 ezp	1:20 (1+19) $\left( \frac{5\text{ul}}{\text{semen}} + \frac{95\text{ul}}{\text{dilutor}} \right)$
> 200 ezp	1:50 (1+49) $\left( \frac{5\text{ul}}{\text{semen}} + \frac{245\text{ul}}{\text{dilutor}} \right)$

Esquema de tabla de dilución, calculados a partir del manual de la OMS 2010. World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

## 1.7 Diferencias aceptables entre dos porcentajes

SUMA	DIFERENCIA ACEPTABLE	SUMA	DIFERENCIA ACEPTABLE
144-156	24	329-346	36
157-169	25	347-366	37
170-182	26	367-385	38
1083-196	27	386-406	39
197-211	28	407-426	40
212-226	29	427-448	41
227-242	30	449-470	42
243-258	31	471-492	43
259-274	32	493-515	44
275-292	33	516-538	45
293-309	34	539-562	46
310-328	35	563-587	47

Tabla 3. Diferencias aceptables entre dos porcentajes, calculados a partir de dos recuentos de 200 spz (400 spz), cámara de Neubauer (OMS. 2010). World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

### 1.8 Formato de recepción de muestra

DONANTE			Edad	
		Hora de Emisión		
DÍAS DE ABSTINENCIA		Hora de Evaluación		
VOLUMEN		CONCENTRACIÓN x 10 <sup>6</sup> /ml		
COLOR		Nº TOTAL DE ESP x 10 <sup>6</sup> /ml		
LICUEFACCIÓN				
pH		MOTILIDAD	(P) Progresiva Móvil	
ASPECTO			(NP) No Progresiv Mov	
VISCOSIDAD			(I) Inmóvil	
ERITROCITOS		MORFOLOGÍA	Normal	
LEUCOCITOS			Anormal	
CÉLULAS REDONDAS			Cabeza	
AGLUTINACIÓN			Pieza Intermedia	
AGREGACIONES			Cola	
Observaciones				Inmaduro
Conclusiones				Ind. Terato

## 1.9 Instrucciones para la toma de muestra seminal

### Instrucciones para la toma de muestra seminal

1. Tres (3) días de abstinencia sexual.
2. Abstenerse de beber alcohol días previos al análisis.
3. Abstenerse de fumar días previos al análisis.
4. En caso de presentar fiebre, gripe, proceso viral o bacteriano, informar al investigador
5. Obtener el semen solo por masturbación y recoger TODO el eyaculado, si se pierden algunas gotas o se derrama, informarlo
6. Recoger el semen solo en un frasco estéril suministrado por el Laboratorio. No es válido en preservativo (condón)
7. Traerlo al Laboratorio dentro de la primera hora después de recogerlo en posición vertical para no volcar el contenido.
8. Evite el exceso de frío o de calor. Transporte la muestra a una temperatura corporal, evite la exposición a la luz.
9. No aplicar pomadas, ni jabón quirúrgico en el miembro (Pene), al menos ocho (8), horas antes de recoger el semen, lavarse bien las manos y los genitales solo con agua

Cualquier pregunta adicional, favor consultar con el investigador.

### 1.10 Valores Normales referenciales y diferentes desviaciones

VALORES NORMALES DE REFERENCIA (OMS 2010)	DESVIACIONES DE LAS VARIABLES DEL SEMEN NORMAL (NOMENCLATURA)			
Volumen (1.5 ml a 6 ml)	Hiperspermia (Severa 0 - 0.5) Moderada (0.6 - 1.9) Severa (1.1 - 1.5)			Hiperspermia (>6ml)
pH (7.2 a mas)	pH ACIDO < 7.2 ml			
Viscosidad	Altamente aumentada (>6cm)	Medianamente aumentada (2-6 cm)		Ligeramente aumentada (1-2 cm)
Concentración ( $\geq 15 \times 10^6$ spz/ml)	Oligozoospermia Severa 0.2 - $5 \times 10^6$ spz/ml	Oligozoospermia Moderada 6 - $10 \times 10^6$ spz/ml	Oligozoospermia Leve 11 - $15 \times 10^6$ spz/ml	Criptoospermia $0.1 \times 10^6$ spz/ml - 1 spz
	Polizoospermia > $250 \times 10^6$ spz/ml		Azoospermia 0 spz	
Motilidad ( $P \geq 32\%$ ó $P+NP \geq 40\%$ )	Astenoospermia severa 0 - 10 % P		Astenoospermia moderada 11 - 21 % P	Astenoospermia leve 22 - 32 % P
Morfología (Normales $\geq 14\%$ )	Teratoospermia severa 0 - 4% Normales		Teratoospermia moderada 5 - 9% Normales	Teratoospermia leve 10 - 14% Normales

### 1.11 Factor de conversión para cámara de Neubauer

Espermatozoides por campo de 400x	Dilución (semen + diluyente)	Factores de conversión Números de Cuadrados Grandes contados			Morfología Dilución
		25 (<10spz)	10 (10 - 40 spz)	5 ( $\geq$ 40 spz)	
<15 ezp	1:5 (1+4)	20	8	4	1:1 (20ul c/u)
15 - 40 ezp	1:10(1+9)	10	4	2	1:3
40 - 200 ezp	1:20 (1+19)	5	2	1	1:5
> 200 ezp	1:50 (1+49)	2	0.8	0.4	1:10

### 1.12 Hábitos de los varones jóvenes de entre 18 y 30 años considerados en el presente estudio

Hábitos	n	Proporción %
Fumador activo	4	13.3
Consumo de alcohol	12	40
Antecedentes de hepatitis	3	10

### Características del análisis seminal de 30 varones jóvenes de entre 18 y 30 de Lima, Perú, 2014.

Criterio	Valores OMS	% cumple criterios	Según ESHRE, 1998	% cumple criterios	Media ± DE	Mínimo	Máximo	Rango	CV (%)	Percentil 5%	Percentil 95%
pH	≥7.2	96.7	7.2-8.0	90	7.7 ± 0.4	7.2	9.0	1.8	5.2	7.3	8.7
Volumen	1.5 - 6	90	1.5-6	90	2.8 ± 1.2	0.7	4.4	3.7	34.6	1	4
Concentración (x10 <sup>6</sup> /ml)	≥20	100	≥15	100	61.8 ± 27.8	20.7	140.9	120.2	45	21	127.5
Recuento total (x10 <sup>6</sup> )	≥39	96.7	≥39	96.7	156 ± 81.9	34.4	304.3	269.9	52.5	39	295.4
Vitalidad (%)	≥58	70	≥58	70	64 ± 9.2	42	81	39	14.4	46.4	80.45
Motilidad progresiva (%)	≥32	73.3	≥32	73.3	46 ± 14.6	26	70	44	31.7	26	69.5
Motilidad progresiva (%) no	ND	ND	ND	ND	9 ± 6.3	4	35	31	70	4	26.2
MP+NP (%)	≥40	76.7	ND	ND	55.2 ± 14.5	30	77	47	26.3	31	76.5
Inmóvil (%)	ND	ND	ND	ND	43.4 ± 13.9	23	68	45	32	23.6	66.4

CV: Coeficiente de variación. ND: Data no disponible

### 1.13 Medidas de la anatomía morfología espermática C.A.S.A.

Parte anatómica	Valores OMS	% cumple criterios	Según ESHRE, 1998	% cumple criterios	Media ± DE	Mínimo	Máximo	Rango	CV (%)	Percentil 5%	Percentil 95%
<b>CABEZA</b>											
Morfología normal acrosomal (%)	ND	ND	≥40	100	76.1 ± 10.5	47.5	90	42.5	13.8	55	90
Longitud (µm)	4-5.5	0	3-7	100	3.8 ± 0.2	3.2	4.3	1.1	5.3	3.3	4.2
Ancho (µm)	2.5-3.7	0	2-5	0	1.4 ± 0.1	1.1	1.6	0.5	7.1	1.1	1.6
Área (µm <sup>2</sup> )	9-15.5	0	9-16	0	4.1 ± 0.3	3.6	4.9	1.3	7.3	3.7	4.8
Perímetro (µm)	11.5-15.5	3.3	9.5-18.5	3.3	10 ± 0.7	8.8	11.7	2.9	7	8.9	11.4
Elipticidad	1.23-1.75	0	1-3	56.7	2.9 ± 0.4	2.1	3.7	1.6	13.8	2.1	3.7
Elongación	0.12-0.25	0	0.1-3	100	0.5 ± 0.1	0.3	0.6	0.3	20	0.3	0.5
Rugosidad	0.81-0.92	3.3	0.1-3	100	0.5 ± 0.1	0.1	0.9	0.8	20	0.3	0.8
Regularidad	0.9-1.1	80	0.9-1.1	80	1 ± 0.1	0.8	1.1	0.3	10	0.8	1
Región acrosomal (%)	40-70	53.3	25-70	100	40 ± 2.6	33.9	45.2	11.3	6.5	35.7	44.6
<b>PIEZA INTERMEDIA</b>											
Ancho (µm)	0-0.6	3.3	0-3	100	0.7 ± 0.1	0.6	0.9	0.3	14.3	0.6	0.9
Ancho normal (%)	ND	ND	ND	ND	86.8 ± 6.3	62.5	92.5	30	7.3	66.6	92.5
Área (µm <sup>2</sup> )	0-15	100	0-15	100	1.5 ± 0.1	1.3	1.8	0.5	6.7	1.3	1.7
Inserción normal (%)	ND	ND	ND	ND	83.2 ± 4.2	72.5	90	17.5	5.1	73.9	90
Ángulo de inserción (°)	0-60	100	0-30	100	13.5 ± 3.3	9	20.7	11.3	24.4	9.1	19.6
<b>COLA</b>											
Morfología anormal (%)	ND	ND	ND	ND	16.9 ± 6.2	7	30	23	36.7	7.6	28.4

CV: Coeficiente de variación. ND: Data no disponible

#### 1.14 Variables nominales del análisis seminal.

<b>Parámetro</b>	<b>Clasificación</b>	<b>n</b>	<b>Porcentaje %</b>
<b>Apariencia</b>	Blanquecino	22	73.3
	Blanquecino amarillento	5	16.7
	Blanquecino traslúcido	1	3.3
	Blanquecino opaco	2	6.7
<b>Licuefacción</b>	Completa	30	100
<b>Aspecto</b>	Homogéneo	30	100
<b>Viscosidad</b>	Normal	22	73.3
	Ligeramente aumentada (1 cm)	1	3.3
	Ligeramente aumentada (1.5 cm)	2	6.7
	Ligeramente aumentada (2 cm)	3	10
	Medianamente aumentada (2.5 cm)	1	3.3
	Altamente aumentada (6 cm)	1	3.3
<b>Aglutinación</b>	No	15	50
	Grado 1	11	36.7
	Grado 2	4	13.3
<b>Agregaciones</b>	No	14	46.7
	Grado 1	14	46.7
	Grado 2	2	6.7

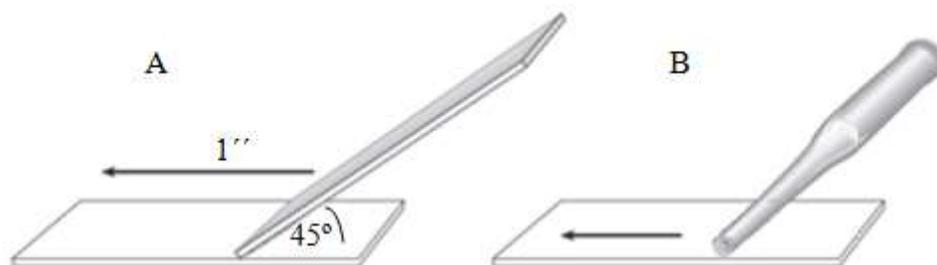
## 2. FIGURAS I:

### 2.1 Preparación de solución de eosina

PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN DE EOSINA	
Eosina Y -----	0,67 g
NaCl -----	0,9 g
Agua -----	100 ml

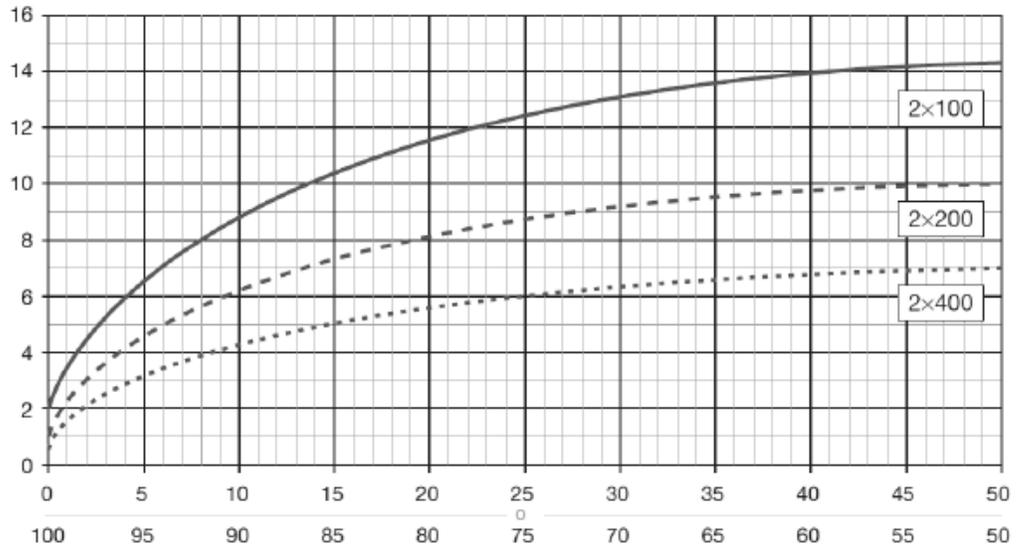
Preparación de la solución de Eosina al 0.5% (OMS, 2010). World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

### 2.2 Técnica para realizar una extensión de semen



Técnica para realizar una extensión de semen. A) En muestras de viscosidad normal, se utiliza un porta a 45° para el arrastre de una gota en un segundo; B) En muestras viscosas, previamente tratadas, se emplea una pipeta Pasteur (OMS. 2010). World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

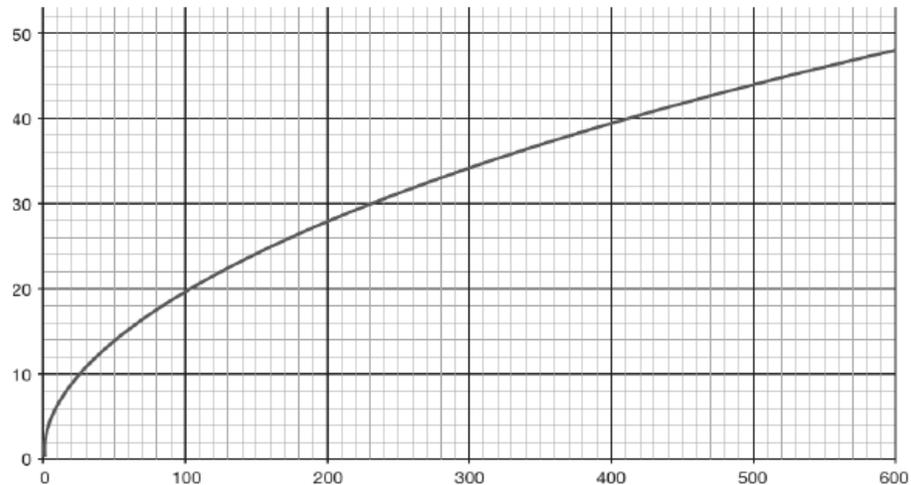
**2.3 Gráfica del intervalo de confianza del 95% para dos porcentajes Motilidad (OMS, 2010).**



Gráfica del intervalo de confianza del 95% para dos porcentajes Motilidad (OMS, 2010). En la cual se evalúa calculando la suma y diferencia de los dos contajes, para evaluar diferencias entre los dos porcentajes. Lo que equivale al máximo error esperado entre dos contajes en el 95% de los casos cuando el único error es el atribuible al contaje. Si el error fue mayor se realizó dos nuevas preparaciones World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

## 2.4 Gráfica del intervalo de confianza del 95% para dos recuentos cámara de Neubauer

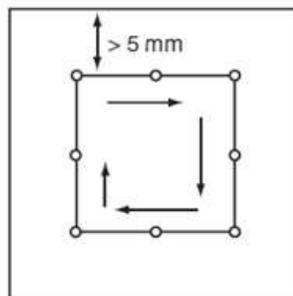
*Estudio básico del espermiograma*



Los resultados fueron evaluados calculando la suma y diferencia de los dos contajes, Si el error fue mayor se realizó dos nuevas preparaciones. World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

## 2.5 Lectura de una lámina para una evaluación seminal

B

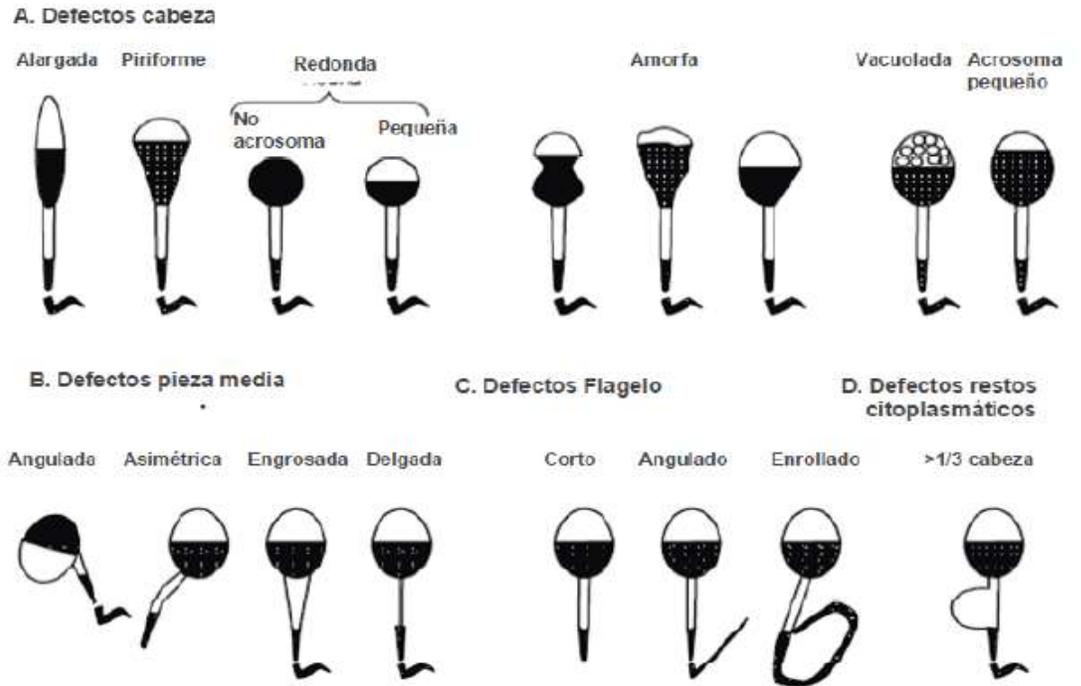


3

Imagen de la correcta forma de lectura de una lámina para una evaluación seminal (OMS, 2010). World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

## 2.6 Defectos morfológicos de los espermatozoides

*Manual de Laboratorio para el Análisis del Semen*



Clasificación de los defectos morfológicos de los espermatozoides, OMS 2010. World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010

## 2.7 Detalles de la cámara de Neubauer

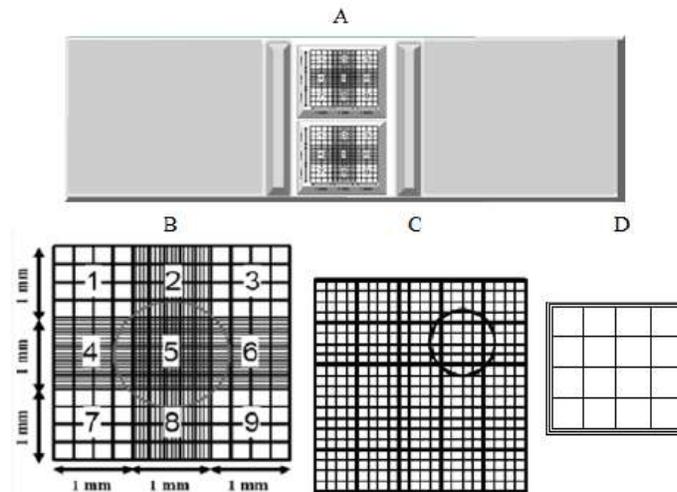


Ilustración 3. Detalles de la cámara de Neubauer A) Consta de dos subcamaras, B) cada subcamara tiene 9 rejillas; C) La rejilla 5 está formada por 25 cuadrados grandes; D) Cada cuadrado grande está enmarcado por una triple línea, y se divide en 16 cuadrados pequeños. (OMS, 2010). World Health Organization. "WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen" Cambridge: Cambridge University. Fifth Edition, 2010



2.8 Materiales utilizados para las evaluaciones seminales



2.9 Tinción Papanicolaou modificada para espermatozoides, según la OMS 2010



Aumento: (1000x)

2.10 Espermatozoide anormal con doble cabeza teñido con Papanicolaou



Aumento: (1000x)

2.11 Espermatozoide considerado Normal



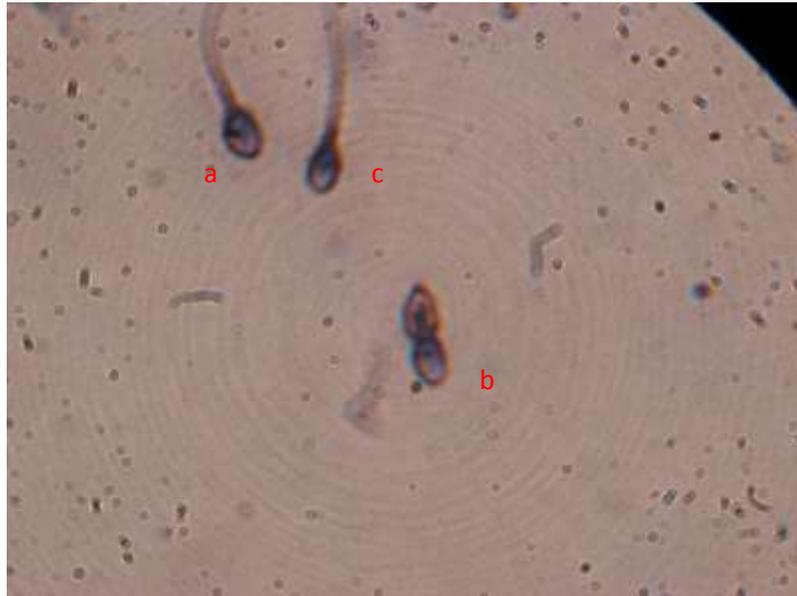
Aumento: (1000x)

### 2.12 Espermatzoide anormal con doble cola



Aumento: (1000x)

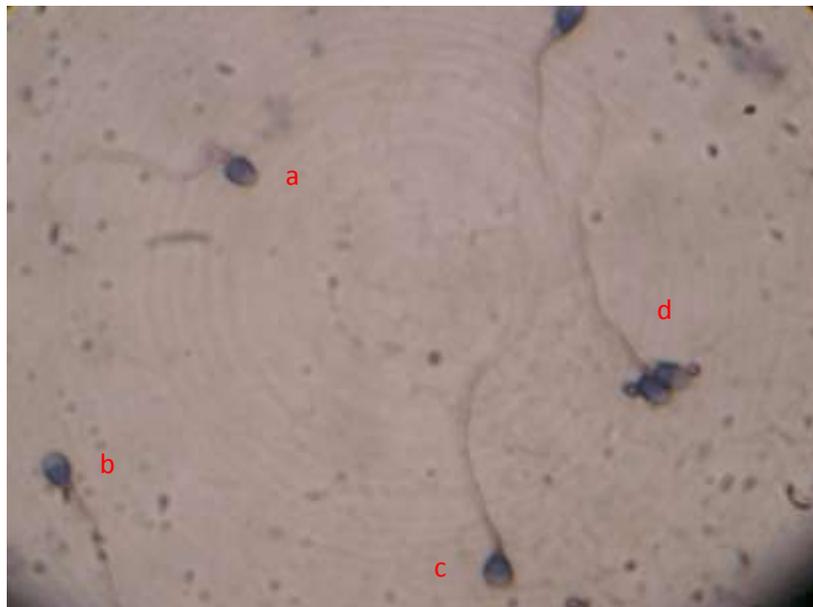
### 2.13 Espermatzoide anormal con cola doblada



a: anormal de cabeza , b: anormal de cola doblada, c: anormal de cabeza

Aumento: (400x)

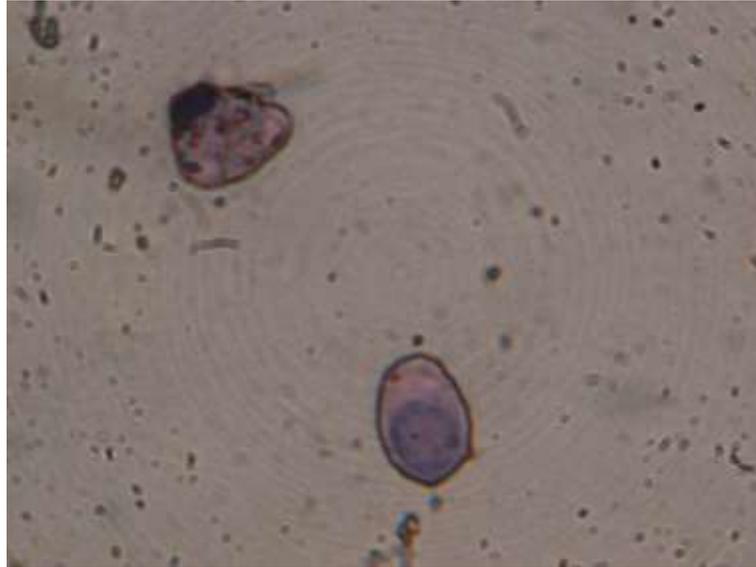
## 2.14 Espermatozoides anormales



a: anormal de cabeza y pieza intermedia , b: anormal de cabeza, c: anormal de cabeza, d: anormal doble cabeza

Aumento: (400x)

## 2.15 Espermatozoides anormales



Espermátidas Aumento: (400x)

#### 2.16 Células inmaduras



Anormal de cabeza lanceolada y cola doblada

Aumento: (400x)

#### 2.17 Espermatozoide anormal



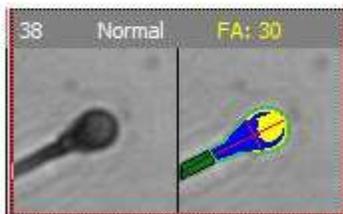
2.18 Evaluación del eyaculado seminal en el laboratorio del BNS - UNALM



2.19 Equipo C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer, ISAS vs1.2)



Espermatozoide		Clase del Espermatozoide		Pieza Intermedia	
Cabeza		Forma		Tamaño	Inserción
Tamaño		Elipticidad		Área	Distancia
Área	4.242	Rugosidad	0.672	Anchura	Ángulo
Perímetro	8.904	Elongación	0.374		
Longitud	3.352	Regularidad	0.949		
Anchura	1.529				



2.20 Programa C.A.S.A (Computer Assisted Sperm Analyzer, ISAS vs.1.2)