
RESUMEN

El proyecto está basado en determinar el porcentaje de espermatozoides unidos al hialuronano cualitativamente en pacientes teratozoospermicos determinando su relación con la edad e índice de masa corporal en la Clínica de Reproducción Asistida "BioGEPA" Cuenca Ecuador.

Se trabajó con un total de 50 muestras seminales: 10 muestras de pacientes que resultaron excluidos, debido a la presencia de una o varias patologías espermáticas diferentes a la propuesta; 10 muestras de sujetos normozoospermicos como grupo control, 30 muestras de pacientes teratozoospermicos en edades comprendidas de < 35 años; entre 35 – 40 años y > 40 años, ambos provenientes de distintas ciudades del Ecuador, las cuales representaron el grupo de estudio.

Se trabajó con tablas gráficas determinando relaciones porcentuales, que correlacionaron los resultados de edad e índice de masa corporal frente al test de fijación HBA (unión al hialuronano) demostrando los resultados estadísticamente con el programa SPSS 16 para Windows, determinando que no existe relación con la edad ($p < 0.05$), pero si una relación marcada frente al índice de masa corporal ($p > 0,05$), sobre todo en pacientes obesos donde las puntuaciones de subfertilidad < al 80 % y al 20 % son relevantes. Se determinó el porcentaje de espermatozoides obteniendo: 18 pacientes con grado de teratozoospermia leve mostraron puntuaciones de HBA entre 60 % y 95 %; 8 pacientes con grado de teratozoospermia moderado mostraron puntuaciones entre 50 % y 85 %; y 4 pacientes con grado de teratozoospermia severo mostraron puntuaciones entre 10 % y 45 % respectivamente.

Palabras claves: Espermatozoide, hialuronano, HBA (Ensayo de Unión al Hialuronano), teratozoospermia, edad, índice de masa corporal.

ABSTRACT

The project is based on determining the percentage of spermatozoa bound to hyaluronan in patients teratozoospermicos qualitatively determining their relation with the age and body mass index in Assisted Reproduction Clinic "BioGEPA" Cuenca Ecuador.

We worked with a total of 50 semen samples: 10 patient samples were excluded due to the presence of one or several different sperm pathologies proposal; 10 normozoospermic samples as control group, 30 samples of patientsteratozoospermicos with ages of <35 years, between 35-40 years and > 40 years, both from different cities of Ecuador, which represented the study group.

Worked with graphic tables determining percentage ratios that correlated the results of age and body mass index versus fixation test HBA (hyaluronan binding) showing the results statistically using SPSS 16 for Windows, determining no association with age ($p < 0.05$), but if a relationship marked for BMI ($p > 0.05$), especially in obese patients where subfertility scores <50% and 20% are relevant. We determined the percentage of spermatozoa obtained: 18 patients showed slight degree of teratozoospermia HBA scores between 60% and 95%, 8 patients showed moderate degree of teratozoospermia scores between 50% and 85%, and 4 patients with severe grade of teratozoospermia scores showed between 10% and 45% respectively.

Keywords: Sperm, hyaluronan, HBA (Hyaluronan Binding Assay), teratozoospermia, age, body mass index.

CONTENIDO

1. MARCOTEÓRICO.....	15
1.1 APARATO REPRODUCTOR MASCULINO	15
1.1.1 COMPONENTES Y FUNCIONES	15
1.2 ESPERMATOGÉNESIS	16
1.2.1 DIVISIÓN CELULAR ESPERMÁTICA.....	17
1.2.2 REGULACIÓN HORMONAL.....	19
1.2.3 ESPERMIOGÉNESIS	21
1.3 SEMEN.....	23
1.3.1 COMPOSICIÓN	23
1.3.2 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	24
1.3.3 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS.....	26
1.3.4 EVALUACIÓN	27
1.4 SUCESOS PREVIOS A LA FECUNDACIÓN	30
1.4.1 EXPULSIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES EN EL SACO VAGINAL.....	30
1.4.2 CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA	30
1.4.3 CUMULUS OOPHORUS	32
1.4.4 ZONA PELÚCIDA	32
1.4.5 ACROSOMA	34
1.4.6 FUSIÓN.....	36
1.5 ADHESIÓN DEL ESPERMATOZOIDE AL HIALURONANO	37
1.5.1 FUNDAMENTO	37
1.5.2 COMPOSICIÓN DEL HIALURONANO.....	37
1.5.3 PROTEÍNAS DE EXPRESIÓN ESPERMATOGÉNICA.....	38
1.5.4 IMPORTANCIA	39
1.6 ANDROLOGÍA.....	40
1.6.1 FUNCIONES COMPLEMENTARIAS DEL ANDRÓLOGO	41
1.6.2 CONSULTA.....	41
1.7 TERATOZOOSPERMIA	42
1.7.1 PREVALENCIA	42
1.7.2 CAUSAS.....	42
1.7.3 DIAGNÓSTICO	43
1.7.4 PROCEDIMIENTOS ASISTIDOS Y TRATAMIENTO.....	45
1.7.5 PREVENCIÓN Y CONTROL	49
1.8 ÍNDICE DE MASA CORPORAL.....	50



2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
2.1 UBICACION GEOGRAFICA	51
2.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACION.....	51
2.3 UNIVERSO Y MUESTRA	51
2.3.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	52
2.4 CRITERIOS DE INCLUSION.....	52
2.5 CRITERIOS DE EXCLUSION.....	53
2.6 MATERIALES.....	53
2.7 TOMA DE MUESTRA	54
2.7.1 MANEJO DE MUESTRAS	55
2.8 TÉCNICAS	55
2.8.1 ANÁLISIS MICROSCÓPICO PREVIO.....	55
2.8.2 MACROSCOPIA	56
2.8.3 MICROSCOPIA.....	57
2.9 ADHESIÓN DEL ESPERMATOZOIDE AL HIALURONANO (HBA CUALITATIVO ORIGIO).....	66
2.9.1 TÉCNICA.....	66
2.9.2 PRECISIÓN	67
2.9.3 UTILIDAD	67
2.9.4 PRECAUCIÓN	67
2.9.5 CONTROL DE CALIDAD	67
2.9.6 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	68
3. RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSION.....	69
3.1 DATOS, RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	69
3.2 ESTADÍSTICA ANALÍTICA	84
3.3 DISCUSIÓN	86
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	92
4.1 CONCLUSIONES.....	92
4.2 RECOMENDACIONES	93
BIBLIOGRAFÍA	95
ANEXOS.....	100
UNIDADES DE MEDIDA.....	117
INDICE DE ABREVIATURAS.....	118
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	119



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Andrés Patricio Cisneros Arcos, autor de la tesis **“DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ESPERMATOZOIDES UNIDOS AL HIALURONANO EN PACIENTES TERATOZOOSPÉRMICOS Y SU RELACIÓN CON LA EDAD E ÍNDICE DE MASA CORPORAL APLICADOS EN LA CLÍNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA “BioGEPa” CUENCA ECUADOR”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, a 30 de Enero del 2013



Andrés Patricio Cisneros Arcos

CI: 0104810981

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Andrés Patricio Cisneros Arcos, autor de la tesis **“DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ESPERMATOZOIDES UNIDOS AL HIALURONANO EN PACIENTES TERATOZOOSPÉRMICOS Y SU RELACIÓN CON LA EDAD E ÍNDICE DE MASA CORPORAL APLICADOS EN LA CLÍNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA “BioGEPa” CUENCA ECUADOR”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, a 30 de Enero del 2013

Andrés Patricio Cisneros Arcos

CI: 0104810981

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Doris Amelia Saquisili Minchala, autora de la tesis **“DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ESPERMATOZOIDES UNIDOS AL HIALURONANO EN PACIENTES TERATOZOOSPÉRMICOS Y SU RELACIÓN CON LA EDAD E ÍNDICE DE MASA CORPORAL APLICADOS EN LA CLÍNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA “BioGEPa” CUENCA ECUADOR”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, a 30 de Enero del 2013

Doris Amelia Saquisili Minchala.

CI: 0301615829

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Doris Amelia Saquisili Minchala, autor de la tesis **“DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ESPERMATOZOIDES UNIDOS AL HIALURONANO EN PACIENTES TERATOZOOSPÉRMICOS Y SU RELACIÓN CON LA EDAD E ÍNDICE DE MASA CORPORAL APLICADOS EN LA CLÍNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA “BioGEPa” CUENCA ECUADOR”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, a 30 de Enero del 2013

Doris Amelia Saquisili Minchala

CI: 0301615829

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ESPERMATOZOIDES UNIDOS AL
HIALURONANO EN PACIENTES TERATOZOOSPÉRMICOS Y SU RELACIÓN CON
LA EDAD E ÍNDICE DE MASA CORPORAL APLICADOS EN LA CLÍNICA DE
REPRODUCCIÓN ASISTIDA “BioGEPa” CUENCA ECUADOR”**

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES:

**ANDRÉS PATRICIO CISNEROS ARCOS
DORIS AMELIA SAQUISILI MINCHALA**

DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. YOLANDA ELIZALDE RAAD.
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

ASESORES:

**DR. EDUARDO BACULIMA B.
MÉDICO GINECÓLOGO**

**DRA. ANDREA CABRERA A.
LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA “BioGEPa”
CUENCA – ECUADOR**

2012

AGRADECIMIENTO

“Al enfrentarnos a la vida real, un nuevo reto lleno de grandes ideas, fortalecerá nuestras capacidades como miembros importantes del sector profesional de la salud al ser Bioquímicos Farmacéuticos, pues asociaremos nuestras bases y conocimientos al desarrollo del bienestar humano como pilar fundamental de la sociedad”.

Extendemos nuestros sinceros agradecimientos para:

Dra. Yolanda Elizalde Raad, por su amistad sincera y compromiso legal, para apoyarnos durante nuestro recorrido y permitirnos alcanzar nuestra meta que es el de realizarnos profesionalmente en este ámbito del cual estamos orgullosos de serlos.

Dra. Andrea Cabrera Andrade, por su amistad desinteresada y conocimiento profundo sobre el proyecto a realizarse, quien nos asesoró de manera clara y eficaz para culminar con éxito nuestro cometido.

Dr. Eduardo Baculima, por su colaboración para realizar nuestra parte práctica de la tesis en la Clínica de su digna dirección, del cual estamos inmensamente agradecidos.

Y a todos nuestros maestros por impartirnos sus conocimientos durante este largo trayecto de vida universitaria que nos ha servido para aportar en la mayor medida posible nuestras vivencias y anécdotas hacia los demás.

Andrés y Doris.

DEDICATORIA

“DIOS ES LA FUERZA VITAL QUE ILUMINA NUESTRAS DECISIONES PARA UN CAMINO CORRECTO, SIN EL CUAL LA VIDA NO TENDRÍA NINGÚN SENTIDO”.

A la mujer de mis ojos, mi madre querida, desde donde estés, gracias por tu dedicación, tiempo, educación y amor para emprenderme tus valiosas enseñanzas y así lograr ser una persona honesta y correcta.

A mi padre Patricio, mis hermanas Andrea y Fernanda, por sus consejos valiosos y anécdotas vividas, estoy inmensamente agradecido ya que constituyen una parte importante de mi corazón.

Y a mis familiares, amigos y demás conocidos, por compartir muchos momentos de alegría y tristeza, les estaré por siempre agradecido.

“LA VIRTUD DEL BUEN VIVIR ESTA EN LOS VERDADEROS VALORES QUE NOS PERMITEN CRUZAR LA SENDA DEL BIEN”.

Andrés.

DEDICATORIA

Para:

Dios, por que ha estado conmigo en cada paso que doy, cuidándome y dándome fuerzas para seguir adelante.

Mis padres, Néstor y Luisa quienes han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento.

Mis hermanos, Néstor, William y Lenin por estar conmigo apoyándome siempre, los quiero mucho.

A mi sobrino, Jeremías que vea en mi un ejemplo a seguir.

Mis amigos Andrés, Adriana y Mónica juntos hemos compartido momentos buenos y malos, les llevo en mi corazón.

A todos mis familiares que siempre estuvieron pendientes de mí en especial a mis tíos Fidel y Rosita que me acogieron en su hogar como una hija más.

Con todo mi amor y cariño.

Doris.

INTRODUCCIÓN

Se considera que las tasas de embarazo han ido disminuyendo debido a los diversos problemas de infertilidad que afectan aproximadamente al 15% de las parejas. Aproximadamente el 21% de los casos se deben a un factor masculino, 33% se deben a un factor femenino, 40% es de tipo mixto y el 6% restante es por causas inexplicables.

El “Consejo Internacional de Difusión de Información sobre Infertilidad” determina: “Una pareja se considera infértil, cuando no han concebido después de más de 12 meses de mantener relaciones sexuales sin protección, o después de 6 meses si la mujer tiene más de 35 años de edad”.

Los datos de la Organización Mundial de la Salud 2010 (OMS 2010) demuestran que en una de cada cuatro parejas que consultan por problemas de fertilidad, existen anomalías en los dos miembros.

Al verse dificultada la posibilidad de fecundación por una baja calidad seminal que afecta los caracteres morfológicos y de madurez espermática; existen diversos factores externos como: ambiente contaminado, malos hábitos (alcohol o tabaco), sedentarismo, índice de masa corporal, edad, que confluyen la problemática actual; a la vez que existen otros factores de causa endócrina, genética, psicológica, testicular que alteran la fertilidad en el varón.

La prueba de HBA busca que los gametos masculinos maduros que hayan externalizado sus receptores y de mejor morfología se unan de manera segura al ácido que se encuentra en la matriz extracelular que rodea al óvulo de forma artificial, ayudando a mejorar la posibilidad de fertilización, en parejas cuya causa de infertilidad es de factor masculino. (1), (2), (3).

Se trabajó con pacientes de la Clínica de Medicina Reproductiva y Ginecología “BioGEPA”, la cual constituye un centro de prestigio internacional y cuenta con la acreditación de la Red Latinoamericana de Medicina Reproductiva, que tiene como función controlar, educar y promover la capacitación permanente en técnicas de reproducción asistida en diferentes centros de medicina reproductiva en Latinoamérica, EEUU y Europa.

OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS

Objetivo General:

- Determinar el porcentaje de espermatozoides unidos al hialuronano en pacientes teratozoospermicos de la Clínica “BioGEPA” Cuenca Ecuador y su influencia en la fertilidad, durante el período comprendido de Mayo a Noviembre del 2012.

Objetivos Específicos:

- Relacionar el porcentaje de espermatozoides unidos al hialuronano con la edad.
- Relacionar el porcentaje de espermatozoides unidos al hialuronano con el índice de masa corporal.

HIPÓTESIS:

“El análisis de fijación de Espermatozoides al hialuronano (HBA) está relacionado con la edad e índice de masa corporal en pacientes teratozoospermicos”.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.

1.1 APARATO REPRODUCTOR MASCULINO

El aparato reproductor masculino es la asociación de órganos, glándulas y estructuras anexas que permiten la madurez, producción, almacenamiento y expulsión de espermatozoides al exterior, cumpliendo con el rol fundamental de la fecundación. (4).

1.1.1 COMPONENTES Y FUNCIONES

Testículos: Son productores de hormonas (testosterona principalmente) y células sexuales, que se encuentran constituidos por los túbulos seminíferos que contienen a las células de sertoli, dando lugar a las células masculinas para su formación.

Epidídimo: Favorece la maduración y almacenaje de espermatozoides.

Conducto Deferente: Da lugar al transporte rápido de espermatozoides.

Conducto Eyaculador: Provoca la conducción de espermatozoides.

Pene: Órgano de la copulación que se estimula frente al deseo sexual o placentario.

Uretra: Favorece la salida de semen durante la eyaculación.

Vesículas Seminales: Secreción de líquido seminal que contiene fructosa, donde los espermatozoides metabolizan la misma para obtener energía necesaria que les permita desplazarse a través del aparato reproductor femenino.

Próstata: Secreta líquido prostático que contiene cantidades importantes de fosfatasa ácida, ácido cítrico, zinc, enzimas proteolíticas que determinan la coagulación y licuefacción posterior a la eyaculación del semen.

Glándulas Bulbo Uretrales: Formación de moco lubricante que permite la neutralización ácida de las secreciones prostáticas y vaginales. (4).



Figura 1: Estructura del Aparato Reproductor Masculino.

Fuente: www.nebraskamed.com/health-library/234299/factor-de-la-infertilidad-masculina.

1.2 ESPERMATOGÉNESIS

El proceso mediante el cual se obtiene gametos masculinos maduros, a partir de una célula germinal primordial se conoce como espermatogénesis.

A partir del instante previo a la pubertad, la espermatogénesis ocurre en los túbulos seminíferos testiculares, donde se encuentran las células de sertoli situadas entre las espermatogonias y espermatocitos primarios, que cumplen con las siguientes funciones:

- Dan sostén y nutrición a las células en diferenciación.
- Forman la barrera hematoencefálica, impidiendo la entrada de células sanguíneas.
- Regulan el desarrollo y la función temprana de las células de leydig, favoreciendo la secreción de testosterona. (5), (6).

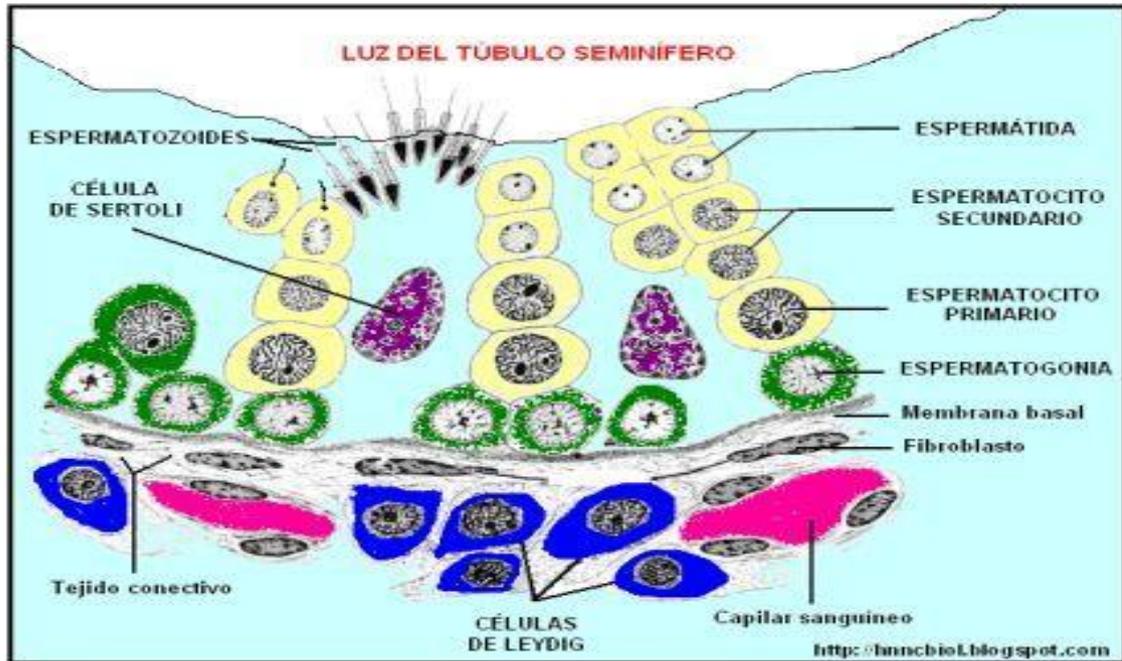


Figura 2: Proceso de espermatogénesis.

Fuente: hnncbiol.blogspot.com/2008/01/espermatogenesis.html.

1.2.1 DIVISIÓN CELULAR ESPERMÁTICA

Poco antes de la pubertad los cordones sexuales testiculares se ahuecan y se convierten en túbulos seminíferos, donde las células germinales primordiales de las cuales forman parte, dan origen a las células madre de los espermatogonios; a partir de esta población surgen células que dan lugar a los espermatogonios tipo A que contienen 46 cromosomas compuesto por 22 pares de autosomas y un par sexual (X y Y), provocando el comienzo de la espermatogénesis.

Las células tipo A formadas de núcleo con cromatina laxa y nucléolo próximo a su membrana nuclear llevan a cabo un número limitado de divisiones mitóticas para formar un clon de células, produciendo espermatogonios tipo B con núcleo de cromatina densa y nucléolo en posición central, las cuales se dividen y constituyen los espermatocitos primarios diploides ($2n - 2c$), con 46 cromosomas.

Durante la interfase los espermatoцитos primarios ($2n - 2c$) se transforman en ($2n, 4c$); pues al enfrentar una primera división meiótica darán lugar a los espermatoцитos secundarios ($1n-2c$), transformándose en células haploides (23 cromosomas). Al enfrentar una segunda división meiótica los espermatoцитos secundarios se convertirán en espermátidas ($1n-1c$), cada espermátida con un número haploide de cromosomas. (5), (6).

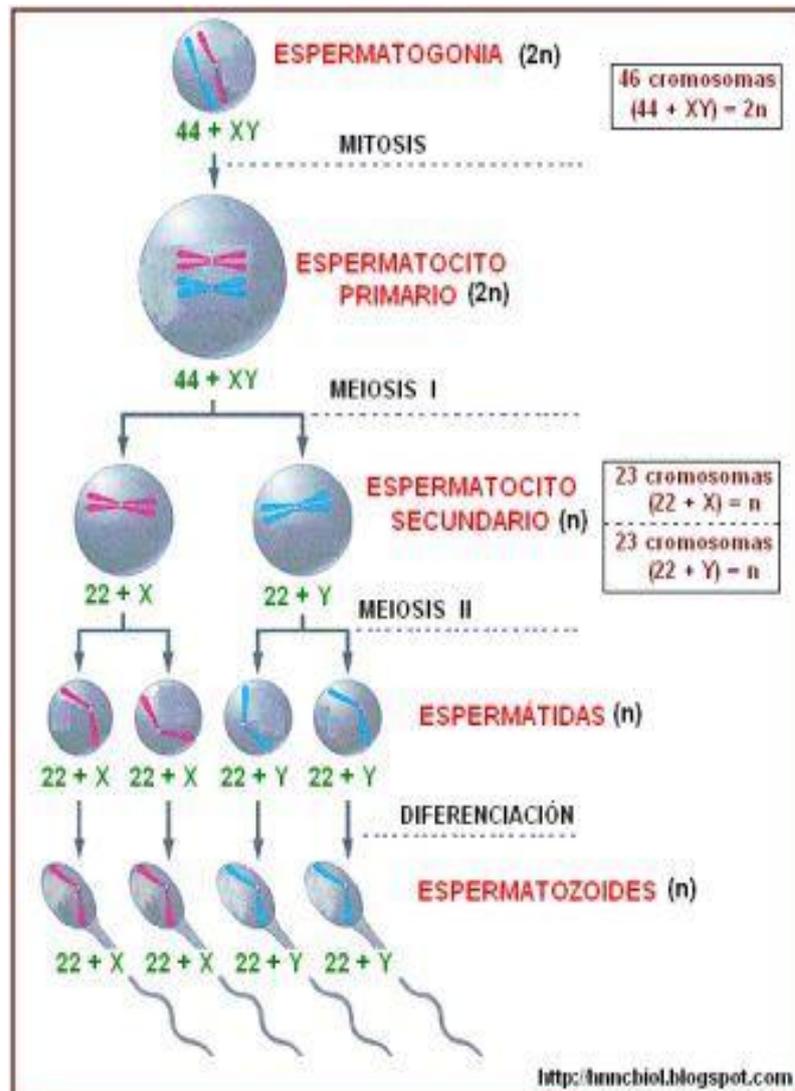


Figura 3: Proceso de División Celular Espermiática.

Fuente: hncbiol.blogspot.com/2008/01/espermatogenesis.html.

1.2.2 REGULACION HORMONAL

El efecto de la regulación hormonal tiene su acción central a través del hipotálamo, mediante la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) que estimula la hipófisis, particularmente la adenohipófisis, para desencadenar la activación o inhibición de hormonas durante la espermatogénesis; éstas son:

Hormona Luteinizante (LH): Es una hormona glicoproteica que estimula las células de que se encuentran fuera de los túbulos seminíferos, induciendo la producción de testosterona.

Prolactina (PRL): Es una hormona peptídica que aumenta el número de receptores para (LH) y actúa en forma sinérgica para estimular la producción de andrógenos.

Testosterona: Es una hormona esteroide que se produce en los testículos, la cual se distribuye en los tejidos del cuerpo convirtiéndose en dihidrotestosterona, donde se une a las células de Sertoli para promover la espermatogénesis.

Inhibina: Son producidas por las células de Sertoli, que actúan como reguladores negativos de la secreción de hormona folículo estimulante (FSH) en la adenohipófisis y la GnRH por el hipotálamo. Las células de Sertoli tienen receptores para (FSH), cuando reciben este estímulo convierten parte de la testosterona en estrógenos.(7),(8).

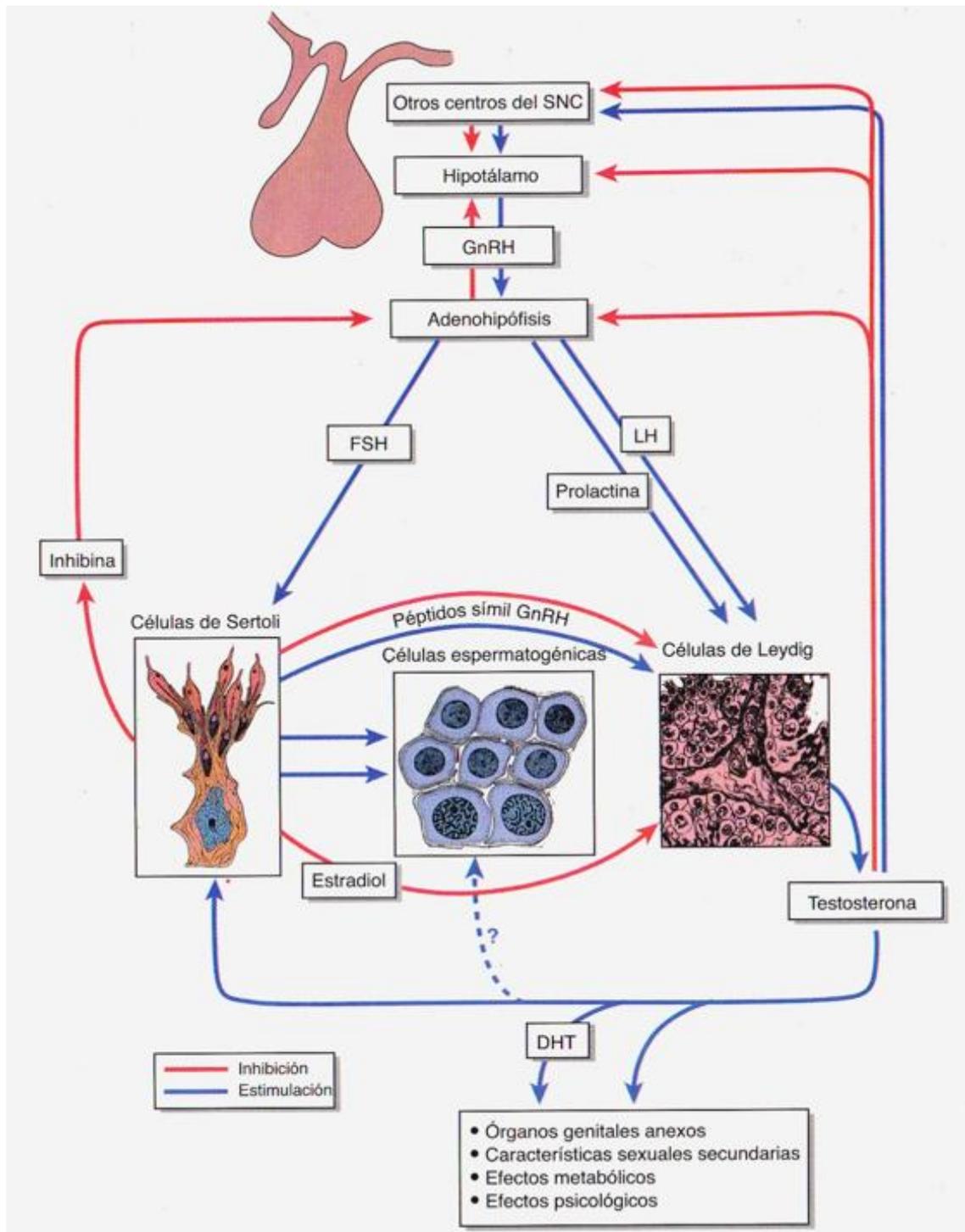


Figura 4: Regulación hormonal de la función reproductora masculina en la Espermatogénesis (Ross-803).

Fuente: es.scribd.com/doc/52465625/4-ESPERMATOGENESIS.

1.2.3 ESPERMIOGÉNESIS

Posteriormente las espermátides irán madurando hasta formar los espermatozoides íntegros, que interactuarán en los diversos procesos previos a la fecundación.

En el proceso de transformación se establecen los siguientes hechos:

- Reducción del tamaño nuclear, donde ocurre la condensación de su material genético debido a la sustitución de histonas por protaminas.
- Formación de la vesícula acrosómica a partir del aparato de Golgi.
- Crecimiento flagelar a partir de la región centriolar, donde las mitocondrias que contienen ATP (AdenosínTrifosfato) se acomodan en la parte proximal del mismo, para brindarle energía, permitiendo el movimiento del gameto.
- Reducción de su citoplasma, donde se separa y forma el cuerpo residual.

El tiempo total de la espermatogénesis y espermiogénesis dura aproximadamente 64 días. (7),(8).

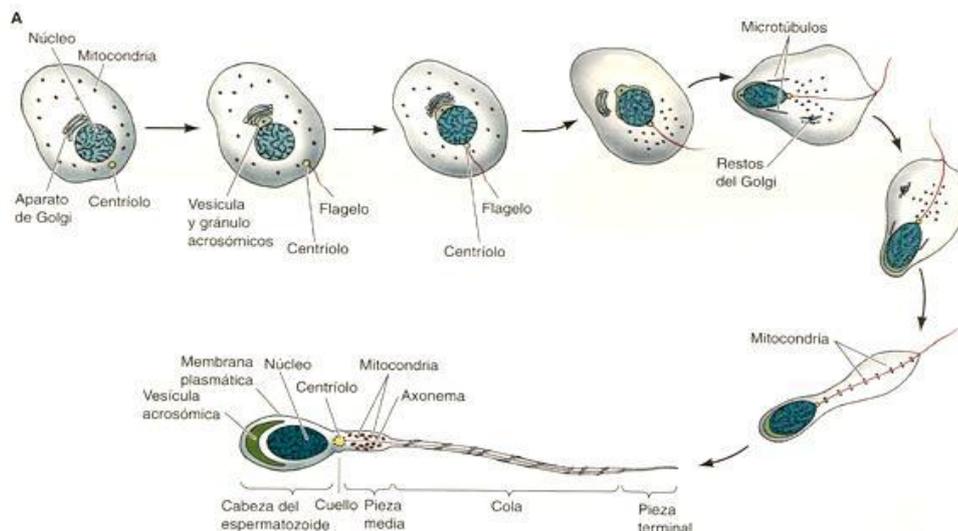


Figura 5: Proceso de Espermiogénesis.

Fuente: commons.wikimedia.org/wiki/File:Espermiog%C3%A9nesis.jpg.

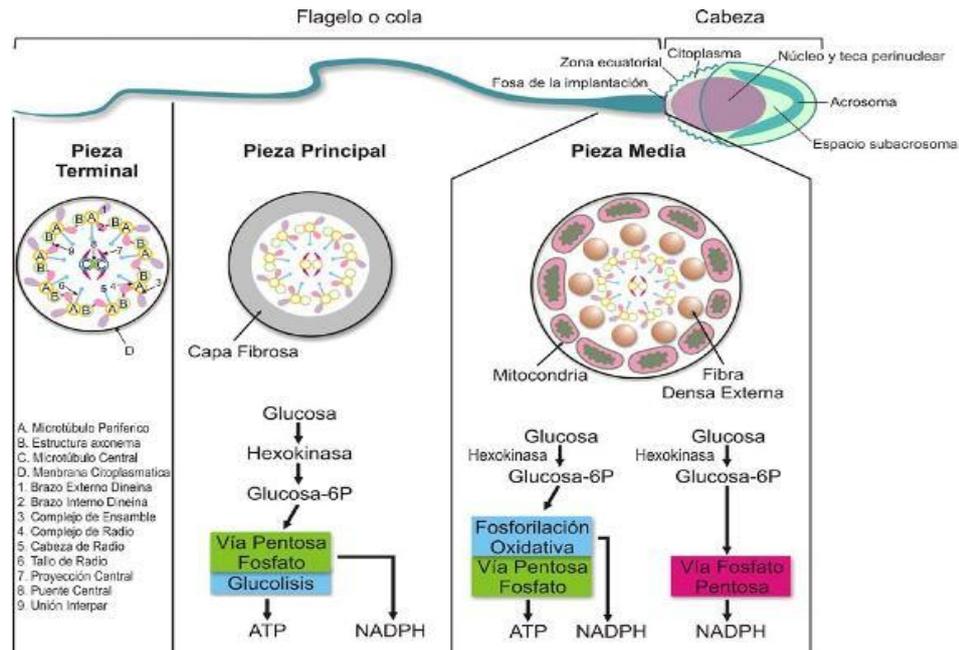


Figura 6: Morfología del espermatozoide y metabolismo energético que realiza esta célula a partir de glucosa en la pieza principal y en la pieza media.

Fuente: www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902006000400008.

Según los criterios estrictos de Kruger, un espermatozoide se considera normal cuando presenta:

Cabeza: De forma oval sin presencia de vacuolas, cuya longitud ocupa aproximadamente 4 a 5 micras con un diámetro transversal de aproximadamente 2,5 a 3,5 micras.

Acrosoma: Que ocupa un 40 a 70 % de su superficie.

Flagelo: Único con inserción hacia la cabeza de forma axial, midiendo 45 micras aproximadamente.

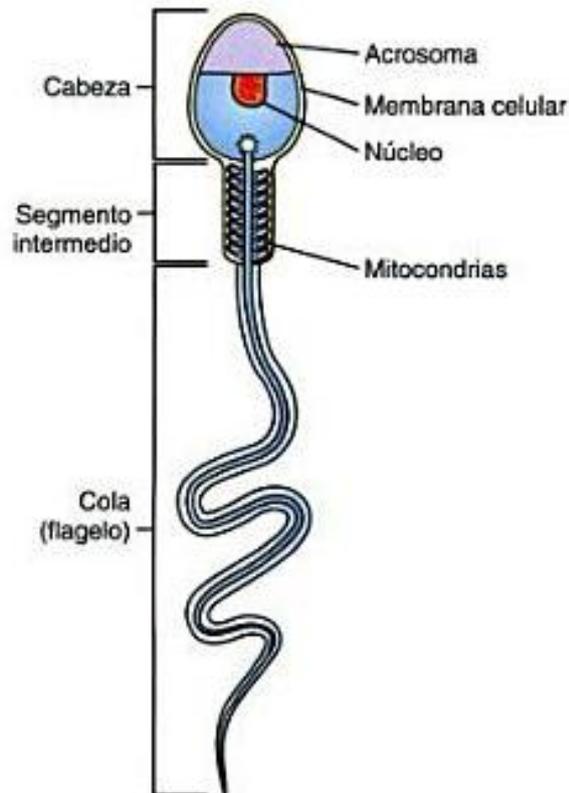


Figura 7: Estructura de los Espermatozoides Normales.

**Fuente: Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales 5ta Edición.
Strasinger – Di Lorenzo. Página 208.**

1.3 SEMEN

1.3.1 COMPOSICIÓN

El semen es un líquido semipegajoso formado por espermatozoides (5%) provenientes del epidídimo, líquido seminal (60-70 %) proveniente de las vesículas seminales, líquido prostático (20-30 %) proveniente de la próstata y glándulas bulbo uretrales (5%) que se localizan debajo de la próstata.

El líquido seminal, viscoso contiene una gran cantidad de fructosa, donde los espermatozoides metabolizan la misma para obtener energía necesaria que les permita desplazarse a través del aparato reproductor femenino; la falta o carencia de fructosa hace que los espermatozoides no contengan una movilidad adecuada.

El líquido prostático que es ácido contiene grandes cantidades de fosfatasa ácida, ácido cítrico, zinc, enzimas proteolíticas que determinan la coagulación y licuefacción posterior a la eyaculación del semen.

Las glándulas bulbos uretrales se encuentran bajo la forma de moco espeso y alcalino cuya función es la neutralización de la acidez de las secreciones prostáticas y de la vagina, porque de lo contrario los espermatozoides disminuirán su movilidad. (9), (10).

Según el "WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition. OMS Año 2010" determina las siguientes características:

1.3.2 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

Volumen: Refiere la cantidad total de muestra seminal eyaculada, la cual refleja la función de las vesículas seminales, así como la permeabilidad de los conductos eyaculadores.

Un volumen puede encontrarse disminuido en los siguientes casos:

- Obstrucción parcial o total de las vías seminales (menor a 1,5 mL).
- Síndrome de ausencia funcional de los conductos eyaculadores (menor a 1mL).
- Síndrome de Klinefelter.
- Hipogonadismohipogonadotrópico.
- Aspermia en pacientes con eyaculación retrógrada. (11), (12), (13), (14).

Color y Olor: El olor del semen es característico a cloro, debido a hipoclorito. El color es gris opalescente, blancuzco o ligeramente amarillento debido a un compuesto llamado flavinas o por los días de abstinencia.

Las variaciones en cuanto a color ocurre en las siguientes situaciones:

- **Apariencia Opaca**: La concentración de esperma es muy bajo.
- **Color Pardo Rojizo**: Paso importante de glóbulos rojos.
- **Color Amarillo Fuerte**: Ictericia, consumo de vitaminas, drogas o infección.

pH: El pH de semen refleja el balance entre los valores de pH de las diferentes secreciones de la glándula accesoria, principalmente la secreción vesicular seminal alcalina y la secreción prostática acida.

El pH seminal puede verse alterado frente a las siguientes circunstancias:

- Infección seminal (pH >8).
- Déficit funcional de las vesículas seminales (<7,2). (11), (12), (15).

Viscosidad: Se caracteriza por una pegajosidad homogénea, pudiendo ser reconocida por las propiedades elásticas de la muestra, que se adhiere fuertemente para sí mismo.

Cuando la viscosidad se encuentra aumentada puede reflejar un claro signo de infección. (11), (14).

Licuefacción: El líquido seminal tiene aspecto de un coágulo semisólido debido a la presencia de sustancias como el fosfato de espermina y algunas similares al fibrinógeno, en lo posterior se irá descoagulando hasta formar una mezcla líquida homogénea.

1.3.3 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

Concentración: Es el proceso relacionado con la formación y madurez que experimentan los espermatozoides; conteniendo millones de gametos en el eyaculado.

La cantidad de espermatozoides puede verse disminuida frente a:

- Elevación de gonadotrofinas (FSH y LH) y disminución de testosterona y dihidrotestosterona en plasma, lo cual no se observa con cifras mayores. (< 10 000 000 esp /mL).
- Daño severo del epitelio germinal (azoospermia secretora).
- Aplasia germinal o síndrome de células de Sertoli.
- Detención de la maduración espermática.



- Obstrucción total de las vías seminales (azoospermia obstructiva). (11), (12), (13),(16).

Movilidad: En condiciones normales va a permitir a los espermatozoides auto propulsarse hasta la trompa una vez que han sido eyaculados en la vagina.

La movilidad espermática puede verse disminuida (menor del 5 %), en el Síndrome de cilias inmóviles, trastorno de causa genética- irreversible, donde los pacientes son estériles; el diagnóstico de certeza se realiza por medio de la microscopia electrónica. (17).

Vitalidad: Permite distinguir espermatozoides vivos de muertos, donde sus membranas pueden estar intactas o no, así como su DNA y acrosoma que lleva el espermatozoide, podrían encontrarse afectados.

Morfología: Nos va a indicar si los espermatozoides maduraron de forma adecuada durante el proceso de espermiogénesis.

La morfología espermática disminuida (menor al 4 %), puede observarse en un gran número de trastornos como el varicocele, la sepsis seminal, el estrés, la exposición a agentes externos nocivos, etc. (11), (14).

Aglutinación: La aglutinación se refiere a los espermatozoides móviles aferrándose el uno al otro, cabeza-cabeza, cola-cola, o en forma mixta. La motilidad es a menudo vigorosa con una sacudida frenética, pero a veces los espermatozoides están tan aglutinados que su motilidad está limitada.

La aglutinación aumentada es una alteración que puede deberse a trastornos inmunológicos o infecciones. (13), (14).

Agregación: La adherencia de espermatozoides uno a uno de hebras móviles, conduce a la formación de agregados que impide la movilidad normal de los gametos, ocasionando conflictos durante la fecundación.

La agregación aumentada es una alteración que puede deberse a trastornos inmunológicos o infecciones. (13), (14).

Células redondas: El semen eyaculado invariablemente contiene otras células además de los espermatozoides, entre ellas se incluyen células epiteliales de la uretra, células espermatogénicas inmaduras de distintos tipos, hematíes o leucocitos.

La presencia de células redondas puede deberse a:

- Irritación del epitelio germinal (Presencia de células espermatogénicas inmaduras).
- Infección de las vesículas seminales (Mayor a 1000000 de leucocitos/mL). (11), (13).

1.3.4 EVALUACIÓN

Cuando todos los parámetros evaluados dentro del espermiograma son normales, es decir se encuentran dentro de los límites referenciales el hombre es normozoospermico, de lo contrario sufriría alteraciones que afectarían su fertilidad. (Ver Tablas 1.1 y 1.2).

VALORES REFERENCIALES DE NORMOZOOSPERMIA

PARÁMETROS	VALOR REFERENCIAL MÍNIMO
Licuefacción	Total a los 60 minutos
Volumen de semen	Rango: (1,4 – 1,7) / Promedio:1,5 ml
Color	Gris opalescente
Olor	Característico a Cloro
pH	≥7,2
Viscosidad	Filo mucoide < 2 cm de longitud.
Nº total de espermatozoides/eyaculado/mL	Rango: (33-46) / Promedio: 39 millones
Nº de espermatozoides/mL	Rango:(12-15) / Promedio:15 millones
Motilidad total (progresiva + no progresiva)	Rango:(38-42) / Promedio: 40 %
Motilidad progresiva	Rango:(31-34)/ Promedio:32 %
Vitalidad	Rango: (55-63)/ Promedio:58 %
Morfología espermática*	Rango:: (3-4)/ Promedio:4 %
Células Redondas	< 1 x 10 ⁶ /ml
Aglutinación	< 10 % de esp. aglutinados
Agregación	< 10 % de esp. Agregados

Tabla 1.1: Parámetros de Noormozoospermia con intervalos de confianza del 95 %.

Fuente: “WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition. OMS Año 2010. Página 224”.

VALORES REFERENCIALES DE LAS ALTERACIONES ESPERMÁTICAS

DIAGNÓSTICO	VALOR INFERIOR A
Oligozoospermia	< 15 millones de espermatozoides/ml.
Astenozoospermia	< al 32 % de espermatozoides móviles con buen desplazamiento (progresivos rápidos) y < al 40 % de espermatozoides con movilidad total (progresivos rápidos + progresivos lentos).
Teratozoospermia	< 4 % de Espermatozoides con Morfología Normal.
Astenoteratozoospermia	Hay disminución de las 2 variables.
Oligoastenoteratozoospermia	Hay disminución de las 3 variables.
Oligoteratozoospermia	Hay disminución de las 2 variables.
Oligoastenozoospermia	Hay disminución de las 2 variables.
Azoospermia	No hay espermatozoides en el eyaculado
Necrozoospermia	< al 58 % de espermatozoides vivos.
Aspermia	No existe eyaculado.

Tabla 1.2: Alteraciones Espermáticas.

Fuente: "WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition.OMS Año 2010. Página 226".

1.4 SUCESOS PREVIOS A LA FECUNDACIÓN

1.4.1 EXPULSIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES EN EL SACO VAGINAL

Durante el acto sexual, millones de espermatozoides son expulsados en el fondo del saco vaginal, incrementándose su pH inmediatamente de 4.3 a 7.2 para acercarlos hacia el cérvix, donde aproximadamente unos 200 llegan hasta el sitio de fecundación para entrar en contacto con el óvulo atravesando la corona radiada y la zona pelúcida. (18).



Figura 8: Espermatozoides viajan a través del saco vaginal.

Fuente: www.proyecto-bebe.es/seminograma_espermiograma.htm.

1.4.2 CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA

Es el proceso mediante el cual el espermatozoide enfrenta una serie de transformaciones en su membrana, presentándose los siguientes eventos:

Eliminación de glicoproteínas y proteínas seminales que se encuentran en la superficie del acrosoma: Con el fin de formar complejos de señalización de fusión de membranas (reacción acrosomal).

Remoción del colesterol: El fluido oviductal es rico en albúminas y HDL (Colesterol bueno), capaces de retirar el colesterol de la membrana espermática, haciendo más fluida al producir la ruptura de la unión de las caveolinas con las proteínas de fusión.

Cambios en el potencial de membrana con apertura de canales de Calcio y activación de AMPc: Proporcionan al gameto una movilidad muy activada, la salida de colesterol induce la activación de los canales de Ca^{++} dependientes de voltaje y de los canales de HCO_3^- . El ingreso de éste último al citosol, activa la adenilciclase dependiente de HCO_3^- (ACs) que aumenta las concentraciones de AMP cíclico, activando, a su vez, la proteína quinasa A1 (PKA1), provocando la fosforilación de la tirosina en proteínas flagelares. (19),(20).

La capacitación tiene lugar en el útero y las trompas de Falopio, cuyo proceso dura alrededor de 7 horas. (19),(20).

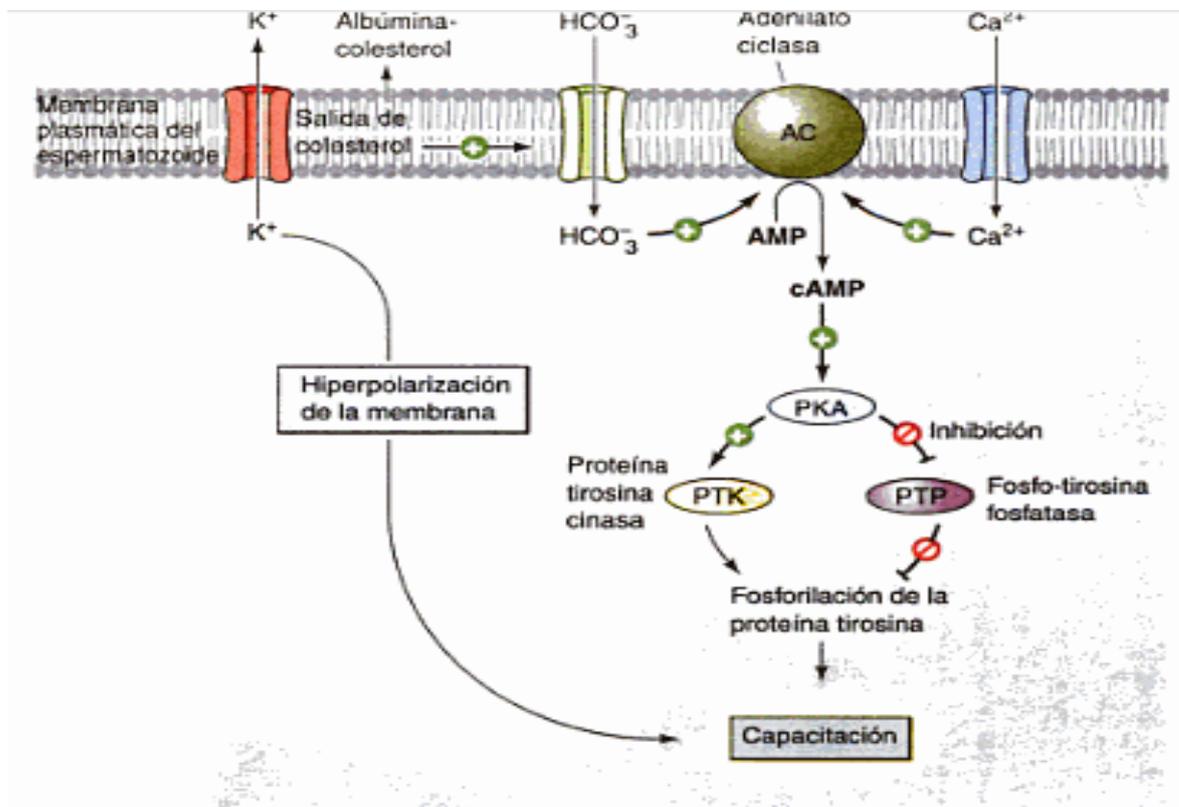


Figura 9: Modelo de Capacitación Espermática.

Fuente: Kopf, G.S. 1998. Acrosome reaction. In E. Knobil and J. D. Neill (eds.). Encyclopaedia of Reproduction, vol. 1. Academic Press, San Diego, pp. 17-27.

1.4.3 CUMULUS OOPHORUS

Es aquella porción del óvulo, constituida por células de la granulosa y una matriz extracelular, compuesta por ácido hialurónico principalmente, cuyas funciones son:

- Provocar la reacción acrosómica de espermatozoides previamente capacitados impulsados por su hiperactivación.
- Dar entrada al espermatozoide en la zona pelúcida.(21).

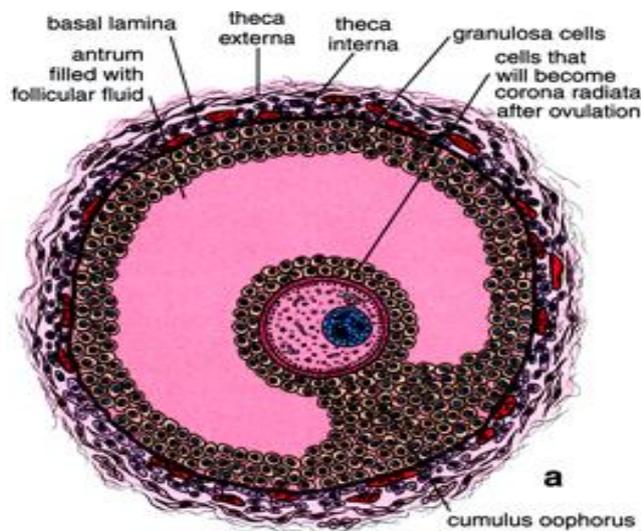


Figura 10: Estructura del CumulusOophorus.

Fuente: encycl.opentopia.com/enimages/2179/2178091/Mature_Graffian_follicle.jpg.

1.4.4 ZONA PELÚCIDA

La zona pelúcida (ZP) es una lámina glicoproteica de varias micras de espesor, cuyo componente celular secretado por el ovocito en desarrollo, se llama membrana vitelina. Está compuesta por proteínas (70%), hexosa (20%), ácido siálico (3%) y sulfato (3%).

Existen tres glicoproteínas en la matriz de la zona pelúcida, fuertemente glicosiladas:

ZP1 (200 KDa): Entrecruza los filamentos como una malla tridimensional, la cual no determina la selectividad espermática.

ZP2 (120KDa): Contiene filamentos que le permite actuar como posible ligando disparador de la reacción acrosómica.

ZP3 (83KDa): Tiene filamentos, en el que actúa como un receptor del espermatozoide, funciona como molécula de adhesión y secretagoga para la exocitosis acrosomal, determinando un proceso de selección espermática que confiere la especie – especificidad. (22).

Dentro de las funciones que cumple la zona pelúcida se encuentran las siguientes:

1. Inducción de la reacción acrosómica.
2. Favorece el bloqueo de espermatozoides (poliespermia).
3. Permite la interacción entre el espermatozoide y el ovocito. (22).

Mecanismo De Adherencia: El fenómeno de adherencia del espermatozoide a la zona pelúcida ovular interviene por la galactosiltransferasa en la superficie de su cabeza, produciendo la unión de los oligosacáridos de la ZP3 a una proteína tirosin quinasa, reconociendo a su vez con su proteína de superficie sp56 (proteína sperm 56 Da) situada en el acrosoma intacto, los oligosacáridos presentes en dicha proteína.



Figura 11: Penetración de la Zona Pelúcida por espermatozoides capacitados.

Fuente: Lennart Nilsson. The Miracle of Life, 1990.

1.4.5 ACROSOMA

Los espermatozoides contienen en el extremo apical de su cabeza un pequeño depósito que se conoce como acrosoma, el cual tiene forma piramidal, compuesto por una membrana interna y otra externa que rodean la parte anterior del núcleo, el mismo que es originado por unión entre las vesículas del aparato de Golgi, donde se encuentran enzimas hidrolíticas importantes como:

Hialuronidasa: Es una enzima hidrolítica, que se encuentra en la zona anterior de la cabeza de los espermatozoides, cuya función principal es degradar la corona radiada durante el proceso de fecundación, favoreciendo la separación progresiva de las células del cúmulo que rodean al ovocito por efecto colaborativo de varios espermatozoides, mediante la hidrólisis del ácido hialurónico.

Acrosina: Es una enzima hidrolítica que rompe la zona pelúcida del ovocito, la cual actúa sobre residuos hidrocarbonados, que permiten la entrada del espermatozoide ayudado por el movimiento de su flagelo.

Otras enzimas que existen en el acrosoma espermático son: proteinasa ácida, arilaminidasa, arilasulfatasa, colagenasa, esterasa, fosfolipasa C, neurominidasa, beta galactosidasa, beta glucuronidasa y proacrosina, las cuales influyen en la ruptura de las capas del ovocito para su penetración.(23).

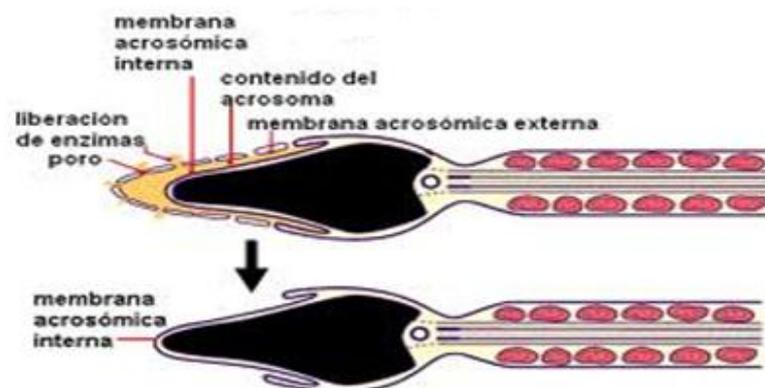


Figura 12: Estructura del Acrosoma.

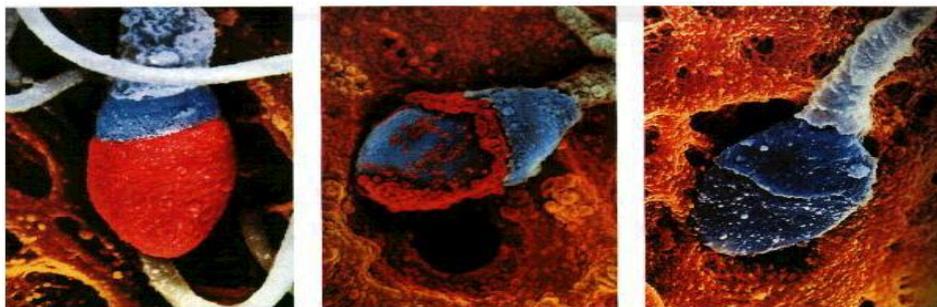
Fuente: www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/capitulo_17.htm.

Reacción Acrosómica: La Reacción Acrosómica ocurre en varios sitios de la superficie del espermatozoide, dado que en un ambiente adecuado como el canal endo cervical los espermatozoides tienen sus acrosomas intactos hasta un margen de 3 días.

La fusión entre la membrana plasmática del ovocito y la membrana externa del acrosoma, produce la liberación del contenido acrosomal, protegiendo al espermatozoide por la membrana acrosomal interna.

La existencia de proteínas antes mencionadas, ayudan a la fusión de la membrana interna del acrosoma, produciendo la liberación del contenido espermatozoidal al citosol ovular: mitocondrias, núcleo condensado y centrosoma del cuello, provocando el desprendimiento del flagelo hacia el exterior.

“La reacción acrosomal es muy variable de un espermatozoide a otro; por eso se piensa que, los pocos espermatozoides que llegan a la masa del ovocito indican un proceso de selección”. (23).



Acrosoma intacto

Desprendimiento

Paso del espermatozoide

Figura 13: Reacción Acrosómica.

Fuente: www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Acrosina&lang=2.

Tomado de: Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

Mecanismo De Acción: Esencialmente la unión entre un componente gelatinoso del ovocito con la membrana plasmática del espermatozoide, provoca el incremento de pH intracelular causado por un reflujo de hidrogeniones e influjo de sodio que es calcio independiente y la despolarización es calcio dependiente.

Un alto nivel del calcio intracelular induce la fusión de la membrana acrosomal externa con la membrana plasmática circundante y la liberación del contenido acrosomal.(24).

Se ha encontrado a la proteína G formando parte de la membrana plasmática y membrana acrosomal externa del gameto, donde los segundos mensajeros potenciales serían: adenilciclase que genera AMPc, fosfolipasa, que induce a inositoltrifosfato y diaciglicerol, fosfolipasa D generadora de ácido fosfatídico y fosfolipasa A que genera ácido araquidónico.

Algunos espermatozoides pueden sufrir de manera precoz la reacción acrosómica cuando están en contacto con la masa del cumulus, pero la mayoría no lo hacen hasta entrar en contacto con la zona pelúcida. (24).

La penetración de la (ZP) se conseguiría mediante la acción coordinada de las enzimas acrosomales liberadas en la reacción acrosómica y la potente fuerza de empuje desarrollada por el movimiento del espermatozoide, que agita la cola de lado a lado y la cabeza de delante hacia atrás.(24).

1.4.6 FUSIÓN

El espermatozoide atraviesa el espesor de la (ZP) para alcanzar el espacio perivitelino, donde la membrana plasmática del espermatozoide localizada sobre el segmento ecuatorial se une a la membrana plasmática del ovocito, y se inicia en ese punto la fusión de ambas membranas.

En el proceso de fusión está implicada una proteína presente en la membrana plasmática del espermatozoide, la bindina, que ha quedado liberada tras desprenderse el acrosoma y que se unirá a la membrana del ovocito creando un canal por donde pasará el espermatozoide al interior del ovocito.

Reacción de Zona y Reacción Cortical: Los gránulos corticales son pequeñas organelas esféricas originadas en el complejo de Golgi, que se sitúan en posición periférica bajo la membrana plasmática del ovocito que contiene enzimas y mucopolisacaridasas, cuya exocitosis provoca la inactivación por hidrólisis de la ZP3, favoreciendo la reacción cortical humana que desencadena la activación del ovocito, provocando un bloqueo poli espermático. (25),(26).

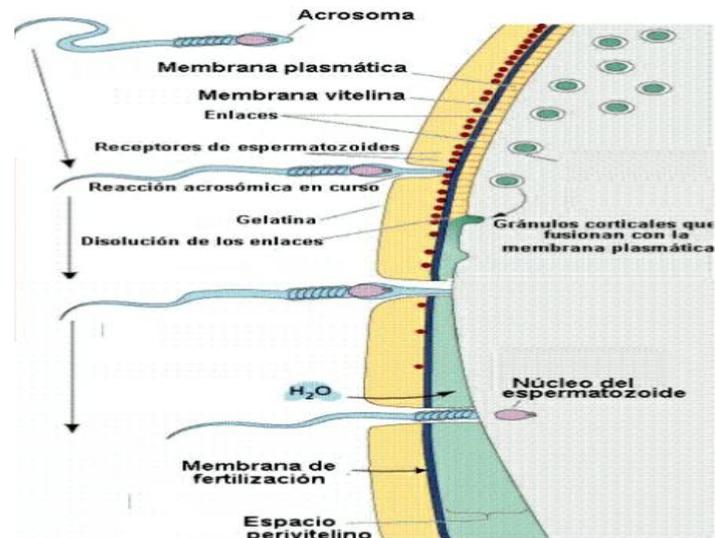


Figura 14: Mecanismo de Reacción Cortical.

Fuente: www.slideshare.net/azanero33/clase-9-fecundacion-e-implantacion.

Al fusionarse, un único espermatozoide entero es desenvainado de la cabeza produciéndose el ingreso del pro núcleo masculino al citoplasma del ovocito donde las mitocondrias maternas pasarán y las micro vellosidades serán absorbidas.(27).

Posteriormente luego de una sucesión de acontecimientos, producirse un nuevo núcleo diploide, iniciándose una nueva vida.(28).

La fusión es dependiente de la temperatura, pH, y calcio. La cantidad y calidad de espermatozoides determinan su fusión al ovo cito.(29).

1.5 ADHESIÓN DEL ESPERMATOZOIDE AL HIALURONANO

1.5.1 FUNDAMENTO

El Hialuronano o Ácido Hialurónico (HA), es el componente más importante de la matriz extracelular del Cumulus Oophorus que rodea al óvulo de la mujer. Este compuesto orgánico facilita la entrada del espermatozoide hacia la (ZP) a través de su enzima proteolítica, la hialuronidasa, que proviene de la familia de proteínas hyaladherin. (30).

1.5.2 COMPOSICIÓN DEL HIALURONANO

El (HA), es un mucopolisacárido ácido conformado por la repetición de un disacárido constituido por el ácido glucorónico y la N- acetil glucosamina, unidos entre sí por enlaces glucosídicos β (1 \rightarrow 3) y los disacáridos mediante enlaces β (1 \rightarrow 4). (31).

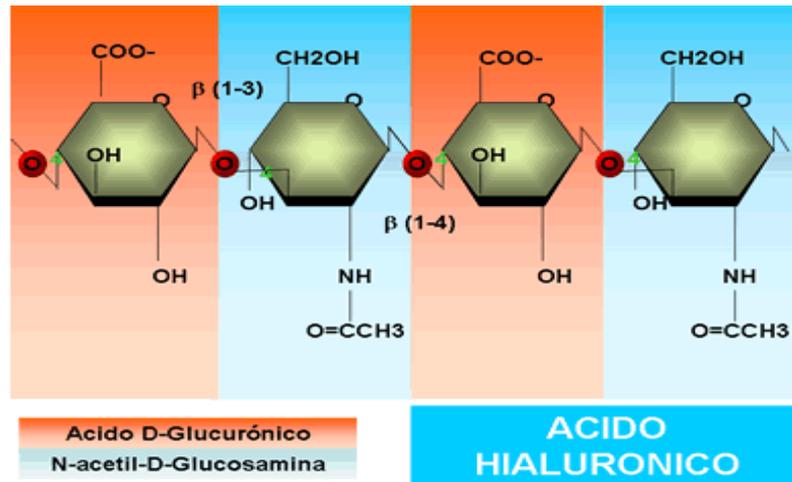


Figura 15: Estructura del Ácido Hialurónico.

Fuente: lisdiane.blogspot.com/2010/11/iii-glucosaminoglicanos-y.html.

1.5.3 PROTEÍNAS DE EXPRESIÓN ESPERMATOGÉNICA

Entre las principales se encuentran:

Chaperona HspA2: Son proteínas de choque térmico, comúnmente moleculares, que ayudan a otro tipo de proteínas en su transporte. Conformado por un único exón de 1.920 pb.(32). Se encuentra ubicado en la especie humana locus 14q24.1 y se expresa especialmente en las células espermáticas.(33).

Sperm Creatina Cinasa (CK): Los niveles elevados se han demostrado en una serie de estudios que se han asociado con trastornos de la función espermática y reducción de las tasas de embarazo. (33).

Proteína HABP1: Son glicoproteínas ácidas de unión al hialuronano, localizado en el cromosoma humano 17 p13.3. Se sintetiza como una proteína precursora de 282 aminoácidos, la cual es sometida a modificación post- traduccional, dando lugar a la forma madura de 209 aminoácidos por escisión proteolítica de 73 aminoácidos en el extremo N- terminal.

Intervienen en los procesos de espermatogénesis y como receptor para moléculas pro inflamatorias. Se une a moléculas que contienen el dominio globular C1q, múltiples isoformas de la PKC, hrk mitocondrial, adrenérgicos y receptores GABA-A, el factor de empalme del ARNm ASF/SF2, y el factor de transcripción CBF. (33).

1.5.4 IMPORTANCIA

El test de HBA, permite determinar el porcentaje de formas espermáticas maduras e inmaduras en el semen, pronostica un resultado de infertilidad y se correlaciona con otros procesos en reproducción asistida tal como es el FIV.

La unión al (HA) indica la culminación correcta de los eventos espermiogénicos, mediados por la proteína chaperona HspA2. (34), (35). Su ausencia determina deficiencias a nivel de meiosis, reparación de ADN, unión al hialuronano, así como otros pasos de la maduración espermática.

El espermatozoides que se une al hialuronano es un componente de la unión en la interacción con el óvulo y está asociado a una elevada integridad genómica, mejorando la calidad paterna al cigoto. Los espermatozoides unidos se diferencian de los espermatozoides no unidos por sus colas en movimiento, con cabezas que no hacen ningún movimiento progresivo.(36).

La unión al hialuronano diferencia la integridad funcional y el potencial fertilizador alto o bajo, tiene muchas menos roturas de fibra única de ADN, y una frecuencia de 4 a 6 veces menor de aneuploidías cromosómicas. (37),(38).

La motilidad del espermatozoides se estimula al unirse al hialuronano.(39),(40),(41). En consecuencia los espermatozoides que han obtenido una correcta capacitación, se cree que llegan a aumentar los sitios de unión o receptores presentes en la membrana espermatozoidal, ya que con un acrosoma intacto, el ácido hialurónico prepara el semen fecundante para la inducción de la reacción del acrosoma mediada por la masa del cúmulo o zona pelúcida, denotando un espermatozoides maduro, y la proporción de un espermatozoides maduro, indica la madurez del espermatozoides en una muestra de semen.

El espermatozoides incapaz de unirse al hialuronano, comprende muchos aspectos en su inmadurez: Retiene citoplasma e histonas, muestra morfología aberrante con mayor frecuencia y tiene una menor integridad genómica que el que se une al hialuronano.

Durante las inclusiones citoplasmáticas, las etapas finales de maduración de los espermatozoides, un espermatozoide normal debe deshacerse de exceso de citoplasma. Los defectos en el desarrollo normal de la espermatozoide pueden resultar en exceso de citoplasma que se mantuvo cerca de la cabeza del espermatozoide. (42).

En el pronóstico de fertilidad, no es necesario que todo el espermatozoide sea capaz de unirse al hialuronano, pero la porción de espermatozoides capaces de unirse al hialuronano debe alcanzar un nivel efectivo para lograr una buena probabilidad de fertilidad. Es probable que la unión por encima del nivel efectivo no mejore más la fertilidad.

La HBP1, presente en la superficie de los espermatozoides con movilidad muy baja, establece que la infertilidad masculina está asociada con el nivel de HBP1 en los espermatozoides, donde la fosforilación de HBP1 de espermatozoides móviles sugiere su implicación en la señalización celular. (30).

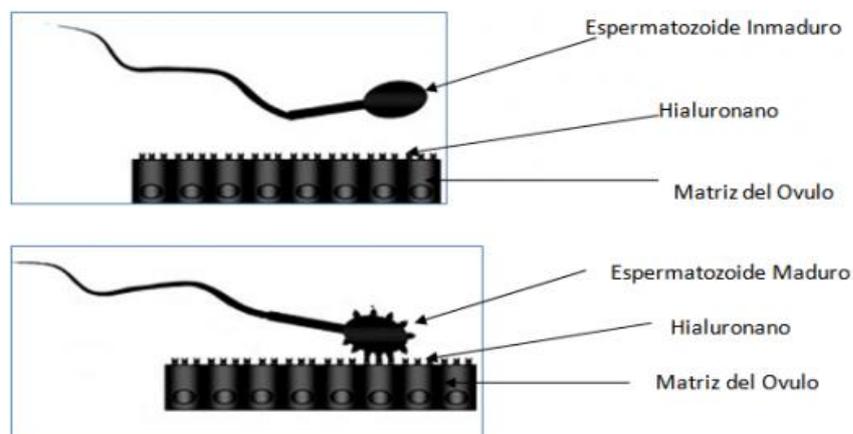


Figura 16: Denotaciones de Madurez e Inmadurez Espermática frente al test de HBA.

Fuente: innaifest.com/servicios/test-de-madurez-espermatoca-hba.

1.6 ANDROLOGÍA

La andrología es una ciencia especializada en diagnosticar las alteraciones que se establecen a nivel del aparato reproductor masculino así como confrontar los problemas relacionados con la sexualidad, a fin de buscar primordialmente una solución temprana a los problemas de infertilidad en el varón. (43).

Es importante saber que el estudio del factor masculino no solo debe limitarse al análisis del semen en el hombre, sino también a un estudio complementario de fertilidad en mujeres, donde las expectativas de embarazo son escasas.

La búsqueda de métodos de detección y técnicas que favorecen al avance de la medicina reproductiva, son canalizados por expertos médicos que formen de manera exclusiva parte de la unidad de reproducción asistida, donde puedan encontrar la mejor forma de evaluar el factor masculino.

Cabe recalcar que la experiencia y los conocimientos deben ser actualizados en cuanto a campos que abarcan desde la embriología y la genética reproductiva hasta la endocrinología o la micro cirugía. Estas ramas deben estar ligados a estudios analíticos, factores psicógenos o efectos producidos por sustancias gonadotóxicas. (44),(45).

1.6.1 FUNCIONES COMPLEMENTARIAS DEL ANDRÓLOGO

Existen otras funciones importantes como:

1. Defender la fertilidad del varón
2. Establecer el diagnóstico etiológico del factor masculino
3. Descartar la coexistencia de otras enfermedades
4. Tratar específicamente el factor masculino
5. Implicar al varón en los tratamientos de reproducción asistida.

1.6.2 CONSULTA

Todo estudio en el cual el hombre consulta por infertilidad, aunque tenga su semen normal debe evaluarse mínimamente:

Anamnesis: Determina una historia clínica, donde se establezca datos y antecedentes del paciente, medicamentos que ha estado tomando, hábitos alimenticios y de carácter social, enfermedades comprometidas entre otras que pudieran estar alterando el contenido espermático.

Exploración general y genital: Examinando de manera oportuna el aparato reproductor masculino, con el fin de encontrar daños a nivel testicular (varicocele, criptorquidia, tumores) o alteraciones de órganos cercanos que puedan comprometer a la opresión de segmentos reproductivos en el varón.

Análisis De Semen Confirmatorio: En la búsqueda de alteraciones espermáticas de grado variable con reversión o irreversibilidad de la función reproductiva que modifica la fertilidad del varón. (44),(45).

Es importante que el andrólogo tenga un buen criterio para explicar al paciente sobre la causa que está promoviendo su infertilidad y cómo puede afectar su estado psicológico, coadyuvando con alternativas que mejoren su estilo de vida.

1.7 TERATOZOOSPERMIA

La teratozoospermia es una alteración espermática que afecta la integridad morfológica de los espermatozoides en más de un 95 % de los mismos, haciendo que no puedan movilizarse hasta el óvulo y penetrarlo. (46).

1.7.1 PREVALENCIA

No se conocen datos explícitos sobre los casos de teratozoospermia, pero se sabe que un 21 % de los casos de infertilidad es debido al factor masculino.

1.7.2 CAUSAS

Algunos factores establecidos por la “Sociedad Americana de Medicina Reproductiva”, que se relacionan con infertilidad masculina son:

Pre-Testiculares: Problemas endócrinos, como diabetes mellitus o problemas de tiroides.

Factores Testiculares: Defectos genéticos en el cromosoma Y, Síndrome de Klinefelter, seminoma, Fallo idiopático, Criptorquidia. Varicocele, Paperas, Trauma, Hidrocele.

Post-Testiculares: Obstrucción de conductos deferentes. Defectos en el gen de la Fibrosis quística, Prostatitis, eyaculación retrógrada, hipospadias, Impotencia, Consumo de tabaco, edad, antimicrobianos, Infecciones Genitales.

Desórdenes Hipotalámicos: Síndrome de Kallmann. Hiperprolactinemia, Hipopituitarismo. Hipogonadismo debido a causas varias.

Factores Psicológicos: Drogas, alcohol.

1.7.3 DIAGNÓSTICO

Se puede estimar un diagnóstico presuntivo, mediante el análisis de anamnesis, exploración del aparato genital y un examen confirmatorio, donde se pueda llegar a la causa precisa que está originando la alteración.

Espermiograma: Confirma de manera oportuna cualquier daño que enfrenten los espermatozoides en el contenido seminal, para lo cual se evalúa todos los parámetros en cuestión, tanto microscópicos como macroscópicos.

Según el “WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition “establece:

Para verificar la morfología espermática, existen técnicas valederas que tiñen las estructuras espermáticas para diferenciar formas normales de anormales entre las cuales se encuentran:

- **Papanicolau**: Es una tinción de carácter poli crómica, que colorea al núcleo y el citoplasma. Conserva de forma correcta los detalles nucleares, evidenciando el patrón de cromatina; que permite apreciar los grados de diferenciación celular y actividad metabólica. Utiliza tres colorantes:
 1. Alcohol que puede ser de 50, 70 u 80 °, previo a la inmersión en hematoxilina, fija las estructuras.
 2. Hematoxilina, que tiñe selectivamente los núcleos.
 3. Orange G y la Eosina Alcohol 50, que tiñe los citoplasmas, para consecuentemente dar lugar al aclaramiento de las estructuras.

- **Diff Quick:** Es una técnica rápida de tinción tipo Romanovsky (diferenciación de estructuras celulares), que colorea su núcleo, cabeza y citoplasma, la cual consta de tres soluciones:
 1. **Fijador:** Alcohol metanol 96°, fija las estructuras.
 2. **Solución 1:** Eosina "Y" en una solución tamponada con fosfato pH (6,6) y 0,1 % (p/v) de azida sódica como conservante, tiñe el citoplasma.
 3. **Solución 2:** Colorante de tiazina en solución tamponada con fosfato pH (6,6), tiñe el núcleo y cabeza.

Nota: En ambas técnicas deben evaluarse espermatozoides enteros.

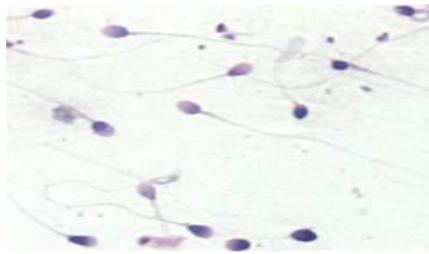


Figura 17: Morfología Espermática.

Fuente: www.reproduccionasistida.org/analisis-de-la-morfologia-de-los-espermatozoides/morfologia-de-espermatozoides-2/.

Cuando el conteo de espermatozoides con morfología normal es menor al 4 %, nos encontramos ante una teratozoospermia que puede ser de grado variable, desde moderado hasta severo.

VALORES REFERENCIALES DEL GRADO DE TERATOZOOSPERMIA

DIAGNÓSTICO	VALOR INFERIOR A
Teratozoospermia Leve	< 4% Morfología normal
Teratozoospermia Moderada	Entre 1y 3 % Morfología normal
Teratozoospermia Severa	≤ 1% Morfología normal

Tabla 1.3: Grados De Teratozoospermia.

Fuente: "WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition. OMS Año 2010".

1.7.4 PROCEDIMIENTOS ASISTIDOS Y TRATAMIENTO

Existen algunos procedimientos y sustancias que ayudan al hombre a mejorar las probabilidades de paternidad, aumentando las expectativas de un embarazo deseado, entre las cuales se encuentran:

Inseminación Intrauterina (IIU): El (IIU), es una técnica que puede realizarse con el semen del esposo o semen de donante. Antes de realizar la inseminación se procesa la muestra mediante la técnica llamada Capacitación Espermática que consiste en limpiar las impurezas, en mejorar la calidad y movilidad de los espermatozoides para así obtener una muestra apta que pueda ser depositada dentro de la cavidad uterina.

Una vez lista la muestra, esta es cargada en un catéter que es de un material especial, adecuado y descartable para ser introducida en la cavidad uterina.

La paciente luego de la inseminación descansa 30 minutos en sala de recuperación y es dada de alta. Esta práctica debe efectuarse en pacientes con teratozoospermia moderada en cuyas mujeres su edad es menor a los 35 años y que cuenten con trompas permeables. (Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador).

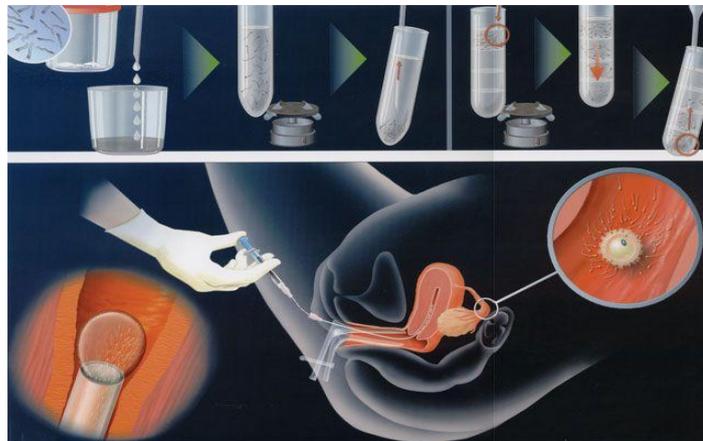


Figura 18: Inseminación Intrauterina.

Fuente: geneticasebasrubio.blogspot.com/2010_07_01_archive.html.

Fertilización In Vitro (FIV): El (FIV), es la unión del óvulo de una mujer y el espermatozoide de un hombre en un plato de laboratorio. In vitro significa “por fuera del cuerpo”. Fecundación significa que el espermatozoide se ha fijado y ha ingresado al óvulo.

Existen cinco pasos básicos para el procedimiento:

Estimulación Folicular: A la mujer se le administran hormonas, comúnmente llamados fármacos para la fertilidad, con el fin de incrementar la producción de óvulos. Durante este paso, la mujer será sometida a ecografías regulares para examinar los ovarios ya exámenes de sangre para verificar los niveles hormonales.

Aspiración Folicular: Se lleva a cabo una cirugía menor, llamada aspiración folicular, para retirar los óvulos del cuerpo de la mujer y es un procedimiento que normalmente se realiza en forma ambulatoria en un quirófano estéril.

A la mujer se le administran medicamentos de tal manera que no sienta dolor durante el procedimiento. Utilizando imágenes de ultrasonido como guía, el médico inserta una aguja delgada a través de la vagina y dentro del ovario y los sacos (folículos) que contienen los óvulos. La aguja se conecta a un dispositivo de succión, que extrae los óvulos y el líquido fuera del folículo, uno a la vez.

Inseminación y fecundación: El espermatozoide del hombre se coloca junto con los óvulos de mejor calidad y se almacenan en una cámara ambientalmente controlada. La mezcla de espermatozoide y óvulo se denomina inseminación. El espermatozoide generalmente entra en un óvulo unas cuantas horas después de la inseminación.

Cultivo del embrión: Cuando el óvulo fertilizado se divide, se convierte en un embrión y el personal de laboratorio lo vigilará regularmente para asegurarse de que esté creciendo de manera apropiada. En aproximadamente cinco días, el embrión tiene varias células que se están dividiendo activamente. Las parejas que tienen un riesgo alto de transmitir un trastorno genético (hereditario) a un hijo pueden considerar la posibilidad de hacerse un diagnóstico genético preimplantatorio. El procedimiento se hace aproximadamente de 3 a 4 días después de la fecundación.

Transferencia del embrión: Los embriones son colocados dentro del útero de la mujer de 3 a 5 días después del retiro y fecundación del óvulo. El procedimiento se hace en el quirófano estéril mientras la mujer está despierta. El médico inserta un tubo delgado (catéter) que contiene los embriones dentro de la vagina, a través del cuello uterino hasta el interior del útero. Si un embrión se pega o se implanta en el revestimiento del útero y crece allí, se produce el respectivo embarazo.

Se puede colocar más de un embrión dentro de la vagina al mismo tiempo, lo cual puede llevar a gemelos o trillizos con una tasa baja porcentual. Esta práctica debe efectuarse en pacientes con teratozoospermia moderada en la que la mujer es mayor a 35 años. (Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador).

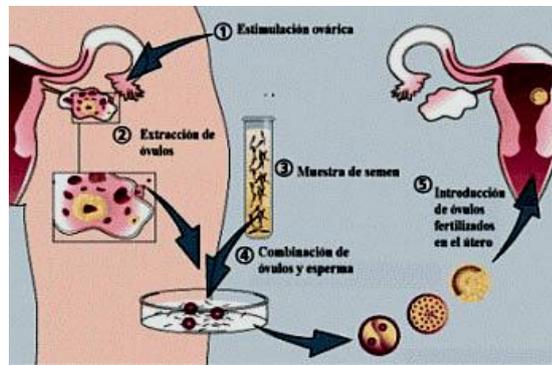


Figura 19: Procedimiento para la Fertilización In Vitro (FIV).

Fuente: www.bebes.net/2009/05/22/fecundacion-in-vitro-paso-a-paso/.

Micro Inyección Intracitoplasmática Espermática (ICSI): El (ICSI), es una técnica de fertilización de un óvulo por un espermatozoide directamente en la inyección seleccionada en el citoplasma. Con el desarrollo de micro manipulación, este proceso se ha convertido en una parte importante de técnicas de reproducción asistida para el tratamiento de los casos de infertilidad por factor masculino.

Con esta técnica el óvulo puede ser fecundado, no sólo con semen fresco con alteraciones leves o moderadas sino también con el espermatozoide siguiendo un procedimiento congelado y descongelado, espermatozoide de concentración anormal, la movilidad o la morfología, o incluso los espermatozoides que han sido recuperados de cirugía. Esta práctica debe efectuarse en pacientes con teratozoospermia severa. (Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador).

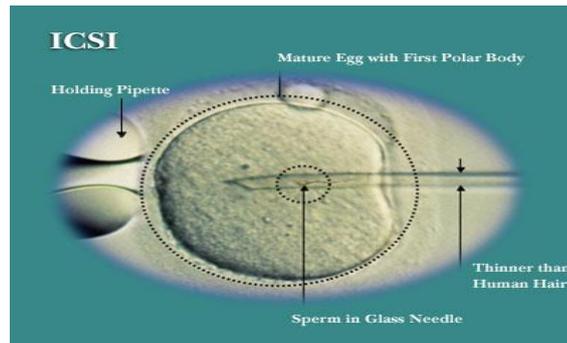


Figura 20: Microinyección Intracitoplasmática De Espermatozoides (ICSI).

Fuente: www.goivf.com/about_us/breakthroughs-icsi.php4.

Selección del Espermatozoide por Unión al Ácido Hialurónico (PICSI): El (PICSI), es una técnica que permite preseleccionar el espermatozoide a utilizar en un ICSI. Se realiza el mismo día que se efectúa el procedimiento de ICSI, con una muestra de semen en las mismas condiciones para dicho proceso antes mencionado. Los espermatozoides obtenidos serán colocados en una placa especialmente para realizar PICSI. La placa contiene pequeñas gotas de material sintético con similares características a la zona pelúcida.

Aquellos gametos maduros que no tienen fragmentación en su ADN serán capaces de adherirse a la zona pelúcida artificial. Los espermatozoides que queden adheridos a la placa de PICSI, sufrirán un proceso selectivo, y serán utilizados para inyectar en el citoplasma del óvulo. (Clínica de Reproducción Asistida "BioGEPa" Cuenca Ecuador).

Este procedimiento es apto para pacientes que:

- Repiten un tratamiento de ICSI con baja calidad de embriones en tratamientos previos.
- Presentan antecedentes de abortos.
- Hayan realizado un estudio de fragmentación de ADN espermático.
- Tienen teratozoospermia severa.

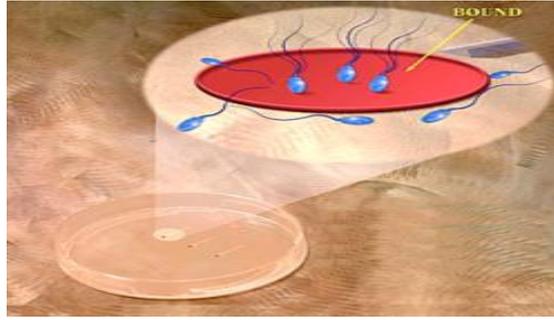


Figura 21: Selección de espermatozoides por PICSI.

Fuente:innaifest.com/servicios/tecnica-picsi.

Medicamentos: Existen aminoácidos y antioxidantes que ayudan a mejorar la calidad espermática tales como:

L- Carnitina: Es un aminoácido que se sintetiza en el hígado, riñón y cerebro a partir de la lisina y metionina, protegiendo el esperma mediante la reducción de niveles demasiado elevados de radicales libres. Se recomienda una dosis oral de 3 g/día de levocarnitina durante 4 meses. (Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador).

Vitamina C: Es un antioxidante que está estrechamente relacionado con una calidad espermática reducida, que protegería a los espermatozoides de agentes oxidantes como la nicotina, la que daña su material genético (ADN). Se recomienda tomar 1000 mg / día durante 4 meses. (Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador).

Vitamina E: Es un antioxidante que proviene de la familia de los tocoferoles que capturan los radicales libres, evitando las reacciones en cadena que protegen la calidad espermática. Se recomienda tomar 600 mg/día durante 4 meses. (Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador).

1.7.5 PREVENCIÓN Y CONTROL

Ejercicio: Practicar deportes o realizar ejercicio al menos 30 minutos al día.

Dieta: Consumir frutas por su contenido en fructuosa y aceites esenciales vegetales, evitar grasas saturadas y carbohidratos altos en calorías; sin descuidar los requerimientos de otros importantes compuestos y nutrientes que aportan de manera sana al organismo.

Hábitos: Evitar el consumo de tabaco y alcohol.

El paciente no debe esperar tener alguna molestia o dificultad que le impida ser fértil, es conveniente que se realice un examen periódico cada 3 meses con el fin de descartar alteraciones que pueden afectar su contenido espermático. (Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador).

1.8 ÍNDICE DE MASA CORPORAL

Es una medida de superficie corporal que se representa mediante las siglas (IMC), que relaciona la edad con la talla del paciente. Se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$IMC = \frac{\text{Peso del Paciente (Kg)}}{\text{Talla del Paciente (m}^2\text{)}} \quad (1)$$

GRUPO	IMC (Kg/m ²)
➤ Infra peso	<18,50
• Delgadez Severa	<16
• Delgadez Moderada	16-16,99
• Delgadez Aceptable	17-18,49
➤ Normal	18,50-24,99
➤ Sobre Peso	>25
• Pre Obeso	25-29,99
➤ Obeso	>30
• Obeso Tipo 1	30-34,99
• Obeso Tipo 2	35-39,99
• Obeso Tipo 3	>40

Tabla 1.4: Clasificación de la OMS del estado nutricional de acuerdo con el Índice de Masa Corporal(IMC).

Fuente: es.wikipedia.org/wiki/%C3%8Dndice_de_masa_corporal.

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

El análisis se realizó durante los meses de Junio a Noviembre del año 2012, en la Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca –Ecuador, sector Paucarbamba, edificio WORK CENTER; demostrando el siguiente plan de actividades: (VER ANEXO 1).

2.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

- **TIPO DE INVESTIGACIÓN:** Descriptivo correlacional.
- **PLANTEAMIENTO DEL DISEÑO:** No Experimental.

2.3 UNIVERSO Y MUESTRA

La investigación se realizó en varones cuyas edades comprendidas fueron entre 19 y 55 años. Los diferentes grupos de investigación estuvieron conformados por pacientes de la Clínica BioGEPA que asistieron a consulta de fertilidad representando el grupo estudio y sujetos de la Universidad de Cuenca que representaron el grupo control, ambos provenientes de distintas ciudades del Ecuador.

Cada sujeto fue previamente informado del proyecto a realizarse, proporcionándole datos claros y entendibles que le permitieran participar del estudio haciendo uso de un consentimiento informado el cual fue establecido y asesorado por la Dra. Andrea Cabrera A. y el Dr. Eduardo Baculima B.

Posteriormente se procedió a la toma de datos personales (talla y peso) y de consulta para su inmediata recolección (frascos estériles). (VER ANEXO 2 y 2.1).

A cada muestra se le realizó un espermograma según los requerimientos de la OMS año 2010 para clasificarla o descartarla según el grupo de análisis, previo a la aplicación de la técnica HBA ORIGIO.

2.3.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de muestra se estableció de acuerdo al porcentaje de pacientes que asistieron a la Clínica “BioGEPA”, en busca de un tratamiento de fertilidad.

- Se realizó el cálculo del tamaño de la muestra mediante la siguiente fórmula estadística:

$$n = \frac{N}{1 + \frac{e^2(N-1)}{Z^2 pq}} \quad (2)$$

N= Tamaño de la Población (45).

e= Error tolerado (0,05).

Z= Nivel de confianza (1,96).

pq= varianza nominal (0,25).

n= Tamaño de la Muestra.

Obteniendo un total de 40 muestras.

2.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- **Grupo Control:** 10 Pacientes con diagnóstico de normozoospermia.
- **Grupo Estudio:** 30 Pacientes con diagnóstico de teratozoospermia en diversos grados (leve, moderado, severo).

Las mismas que se encontraron divididas en distintas edades:

1. 10 pacientes < 35 años.
2. 10 pacientes 35- 40 años.
3. 10 pacientes > 40 años.

2.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- 10pacientes que resultaron de un diagnóstico con una o varias patologías espermáticas diferentes, independientes del tamaño de la muestra.
- Se descartó a todo paciente, que reveló:
 1. Astenozoospermia.
 2. Astenoteratozoospermia.
 3. Oligozoospermia.
 4. Oligoastenozoospermia.
 5. Oligoteratozoospermia.
 6. Oligoastenoteratozoospermia.
 7. Necrozoospermia.
 8. Aspermia.
 9. Azoospermia.

2.6 MATERIALES

1. Laboratorio de Reproducción Asistida “BioGEPA”,
2. Cofia.
3. Guantes estériles.
4. Mascarilla.
5. Uniforme proporcionado por la clínica.
6. Recipientes estériles para la recolección de muestras.
7. Balanza Peso Talla Health - O- Meter 500 K.
8. El método de investigación será empleando el kit marca comercial ORIGIO: Consta cada Kit en placas para 10 análisis (Lado A y B).
9. Microscopio de Campo Claro OLYMPUS.
10. Pipeta automática BOECO de varianza 10 - 100 uL.
11. Porta y Cubreobjetos.
12. Eosina en Solución Salina 0.9% para Vitalidad Espermática.
13. Kit Diff Quick para Morfología Espermática.
14. Tiras reactivas HUMAN.
15. Cámara para concentración MAKLER.
16. Jeringuillas.
17. Programa Estadístico SPSS 16para Windows.

2.7 TOMA DE MUESTRA

De acuerdo a las recomendaciones de la OMS año 2010, se indica:

“Para una toma de muestra correcta es importante proporcionar a cada individuo suficiente información en la cual se le entregara un documento de apoyo en caso de que alguna instrucción durante la recolección no quede claramente entendida”.

Cada paciente deberá basarse en las siguientes instrucciones:

1. Cumplir con un período de 3 a 4 días de abstinencia sexual.
2. En caso de tener teléfono celular apagarlo para evitar cualquier tipo de interferencia.
3. Debe lavar sus manos con agua y jabón, después lavará sus genitales solo con agua.
4. El frasco recolector debe ser estéril para evitar contaminaciones y ligeramente abierto para no tener contratiempos durante la expulsión, el cual es proporcionado por la Clínica.
5. Se procederá a recolectar la muestra mediante masturbación. La recolección de la muestra debe ser completa, vertiendo todo el contenido en el recipiente y dejar cerrado.
6. Al paciente se le entregaran revistas o películas de apoyo para su estimulación.
7. Al final el paciente volverá a lavar sus manos. (VER ANEXO 3).

- **Nota Importante:**

1. Los periodos mayores de abstinencia suelen aumentar el volumen y disminuir la movilidad espermática.
2. Si la muestra es incompleta, se deberá hacer una segunda recolección con un período igual de 2 a 7 días de abstinencia sexual.

- **NOTA:** Las muestras fueron obtenidas en un cuarto privado diseñado por la Clínica BioGEPa.

2.7.1 MANEJO DE MUESTRAS

- **Higiene y protección personal:** Las muestras de semen pueden ser un riesgo potencial para la salud, como por ejemplo el Virus de inmunodeficiencia humana (VIH), los virus de la hepatitis o el virus del herpes simple y debería por consiguiente ser manipulado como un Bio riesgo.
Por tanto el análisis debe realizarse con las adecuadas normas de bioseguridad para evitar cualquier tipo de contaminaciones. (VER ANEXO 4).
- **Recepción y transporte de muestras:** Tras la recolección de la muestra, el transporte debe realizarse a temperatura ambiente hasta el laboratorio. Debe tardar en llegar a la clínica 45 minutos como tiempo máximo, en caso de haberse efectuado en un sitio apartado de la Clínica, para evitar que los espermatozoides mueran por contacto externo y no generen resultados erróneos durante el análisis. (VER ANEXO 5).
- **Procesamiento de las muestras en el laboratorio:** Una vez que la muestra ha sido receptada en el laboratorio, esta debe ser analizada tan pronto como sea posible, para dar un resultado confiable, el tiempo máximo para el procesamiento es de una hora aproximadamente. La muestra debe permanecer en una incubadora a una temperatura no mayor de 33-34°C (temperatura testicular). (VER ANEXO 5).

2.8 TÉCNICAS

Se realizó un espermograma por cada muestra de paciente, recibida la muestra en el laboratorio y se procedió a la determinación de acuerdo con los métodos propuestos en el "WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition" OMS 2010.

2.8.1 ANÁLISIS MICROSCÓPICO PREVIO: El análisis de semen deberá comenzar con una inspección simple que consiste en realizar un fresco de la muestra al poco tiempo de la licuefacción, preferentemente a los 30 minutos y no más tiempo del expuesto, para prevenir la deshidratación o los cambios en la temperatura que afectan la calidad del semen.

➤ **Técnica:**

Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos. Observar con lente de 20 o 40 X. (VER ANEXO 5).

2.8.2 MACROSCOPIA:

- **Volumen:** Determina la cantidad total de muestra seminal posterior al eyaculado.

➤ **Técnica:**

Extraer la muestra del recipiente con una jeringa, proporcionando el volumen total de la muestra, posteriormente se regresa el contenido a través de las paredes del recipiente, para evitar la aparición de burbujas. (VER ANEXO 6).

- **pH:** Determina la acidez o alcalinidad de la muestra.

➤ **Técnica:**

1. Homogenizar la muestra de seminal.
2. Esparcir una gotita de semen uniformemente encima del papel de pH.
3. Esperar que se forme color en la zona inoculada para volverse uniforme (< 30 segundos).
4. Comparar el color con la tira de calibración leer el pH. (VER ANEXO 7).

- **Viscosidad:** Propiedad de la muestra que tiende a oponerse a su flujo cuando se le aplica una fuerza.

➤ **Técnica:**

Con una jeringuilla se extrae la muestra seminal por las paredes del recipiente y se deja caer por la gravedad, observando la longitud del filo mucoso que se forma. (VER ANEXO 8).



- **Licuefacción:** Determina el tiempo en que la muestra tarda en formar una mezcla líquida homogénea, que ocurre entre 15 minutos y de manera total en el lapso máximo de una hora. Este hecho se diferencia por microscopía, en la habilidad de los espermatozoides inmovilizados para lograr moverse.

➤ **Técnica:**

Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos. Observar con lente de 20 o 40 X.

- **Color:** Observar las variaciones de color a simple vista:
 1. **Color gris u opalescente.** La muestra es normal.
 2. **Apariencia Opaca.** La concentración de esperma es muy bajo.
 3. **Color Pardo Rojizo.** Paso importante de glóbulos rojos.
 4. **Color Amarillo.** Ictericia, consumo de vitaminas o drogas o infección, días de abstinencia (levemente amarillento). (VER ANEXO 8).

2.8.3MICROSCOPIA

- **Consideraciones:** Un microscopio de contraste de fase se recomienda para todas las preparaciones de semen fresco, y la observación con el objetivo 20, 40, 100x. Esto provee una visión general de la muestra, para dar a conocer:
 1. La agregación o aglutinación de esperma.
 2. La presencia de células aparte de espermatozoides, por ejemplo células epiteliales, (leucocitos y las células germinales no desarrolladas plenamente), y cabezas apartadas de esperma o colas.
 3. Valoración de motilidad de esperma.
 4. Valoración de Vitalidad.
 5. Valoración de la Morfología.
 6. La determinación requerida para la valoración de la concentración espermática se realiza en cámara de Makler.
- **Nota Importante:**
 1. Si el número de espermatozoides por el campo visual varían considerablemente, la muestra no es homogénea. En tal caso, la muestra de semen debería mezclarse nuevamente.

2. La falta de homogeneidad también puede resultar de consistencia anormal, licuefacción anormal, agregación de espermatozoides o aglutinación de esperma.

- **Agregación espermática:** Determina la existencia de agregados espermáticos en diversos estados.

➤ **Técnica:**

Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos. Observar con lente de 20 o 40 x, donde se visualizan las siguientes formas:

- Espermatozoides con una célula epitelial (a).
- Debris (b).
- Solamente espermatozoides (c y d). (VER ANEXO 9).

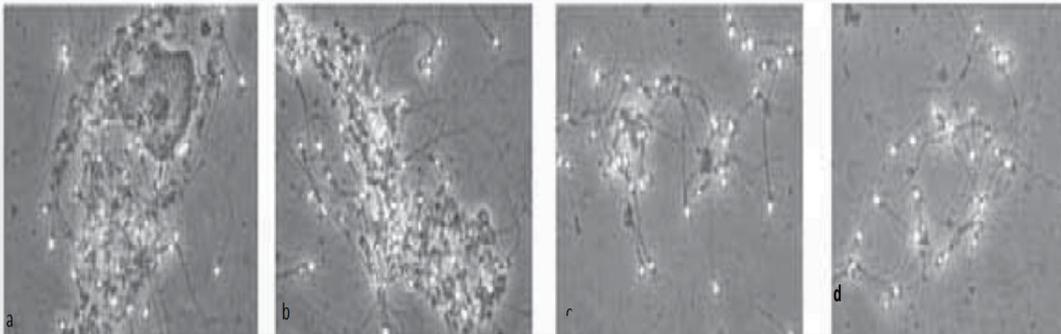


Figura1: Tipos de Agregación Espermática.

Fuente: “WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition. OMS Año 2010. Página 19”.

- **Aglutinación espermática:** Determina la aglutinación de los espermatozoides en diferentes grados.

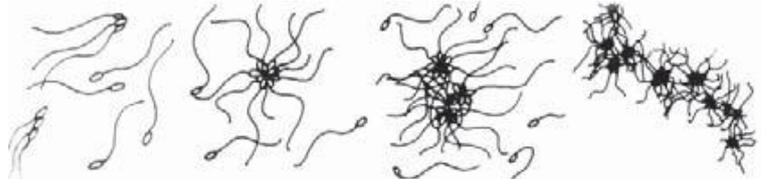
➤ **Técnica:**

Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos. Observar con lente de 20 o 40 x. (VER ANEXO 9).

- **Grados de aglutinación espermática:** Según Rose et al., 1976 existen diferentes grados de aglutinación:
 1. **Grado1:** Leve, aglutinación < a 10%, muchos espermatozoides están libres. (Cabeza – Cabeza).
 2. **Grado 2:** Moderado, aglutinación entre 10–50%, hay espermatozoides libres. (Cola – Cola).
 3. **Grado3:** Grande, aglutinación > a 50% espermatozoides, algunos espermatozoides todavía libres. (Punta de Cola – Punta de Cola).
 4. **Grado4:** Abundante, todos los espermatozoides se aglutinan y el aglutinado esta interconectado (Cabezas y colas enredadas), existiendo un último grado mixto formado por la acción de los otros grados descritos anteriormente.

- **Nota Importante:**
 1. La aglutinación aguda puede afectar la valoración de motilidad de esperma y concentración.
 2. La presencia de aglutinación no es prueba suficiente para deducir la causa inmunológica de esterilidad, excepto la presencia de anti esperma anticuerpos.

A. Cabeza a cabeza



B. Cola a cola



C. Punta de cola con punta de cola



D. Mixto



E. Cabezas y colas enredadas



Figura 2: Grados de aglutinación espermática.

Fuente: “WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Fifth edition. OMS Año 2010. Página 20”.

- **Células Redondas:** Se observa tipos de células, las cuales intervienen en el contenido seminal de forma invasiva o no invasiva, como son células germinales, leucocitos o glóbulos rojos.

➤ **Técnica:**

Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos. Observar con lente de 20 o 40 x. (VER ANEXO 9).

- **Concentración espermática:**

1. **Por mililitro:** Determina la cantidad de espermatozoides por mL de muestra seminal.

➤ **Técnica:**

1. Homogenizar la muestra seminal.
2. Tomar de 7 a 10 uL de semen y colocarlos en una cámara de MAKLER (1mm² de área, 10μ de profundidad, 100 cuadrados), cerrar y observar en un microscopio de campo claro con lente de 20 o 40 X.
3. Contar 10 cuadrados de los 100 y ese valor se multiplica por 10⁶ que constan en la cuadrícula. Podemos valernos de un contador hematológico. (VER ANEXO 10).

2. **Concentración Total:** Determina el total de espermatozoides en la muestra, el mismo que se calcula bajo la siguiente fórmula:

$$CT = \frac{Mill}{mL} * VolumenTotal de la Muestra. (3)$$

- **Motilidad de esperma:** La motilidad de esperma dentro de semen debería ser evaluada tan pronto como sea posible después de la licuefacción de la muestra, preferentemente a los 30 minutos, para limitar los efectos perniciosos de deshidratación, pH o cambios en la temperatura.

➤ **Técnica:**

1. Homogenizar la muestra seminal.
2. Colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos, dejando en reposo 60 segundos. Observar con lente de 20 o 40 x.
3. Evaluar aproximadamente 200 espermatozoides y obtener el porcentaje para las diferentes categorías. Se recomienda realizar este parámetro por duplicado.
4. Comparar los valores duplicados para revisar si son aceptables. Si es así, proceda con los cálculos. Si no, prepare nuevas muestras. Podemos valernos de un contador hematológico. (VER ANEXO 11).



- **Categorías Del Movimiento De Esperma:**

1. **Grado 0:** Inmóviles.
2. **Grado 1:** Movimiento lento pero sin desplazamiento.
3. **Grado 2:** Movimientos de vaivén o progresivos lentos y movimientos circulares.
4. **Grado 3:** movimiento progresivo, rápido y rectilíneo.

- **Nota Importante:**

1. El procedimiento puede ser realizado a temperatura ambiente.
2. El uso de una retícula del lente con cuadrícula, se recomienda para límite del área mirado; esto deja la misma área del tobogán, para ser evaluado en ambas etapas.

- **Vitalidad De esperma:** Evalúala integridad de la membrana de las celdas, es especialmente importante para muestras con menos del 40% espermatozoides progresivamente móviles. El porcentaje de celdas viables normalmente excede la de celdas móviles.

- **Fundamento:** La eosina es un compuesto ácido cuya propiedad está basada en su polaridad negativa, lo que le permite enlazarse con constituyentes celulares de carga positiva. Por ello colorea componentes y orgánulos citoplasmáticos, colágeno y fibras musculares, pero no los núcleos. Aquellos componentes que se tiñen con eosina son conocidos como acidófilos o eosinófilos, color naranja

- **Coloración con eosina solamente:**

- **Preparación de Reactivos:**

1. Disolver 0,9 g de NaCl en 100 ml de agua destilada.
2. Colocar 0,5 g de Eosina "Y" en la mezcla anterior y homogenizar.

➤ **Técnica:**

1. Homogenizar la muestra seminal.
2. Tomar 7 a 10 uL de semen sobre un portaobjetos.
3. Agregar una pequeña gota del colorante de eosina, y mezclar con la punta de una pipeta, se desliza y se coloca un cubreobjetos.
4. Esperar 30 segundos y observar con lente de 20 o 40 x por campo.
5. Contar 200 células distribuidas en el preparado.
6. Determinar el porcentaje de espermatozoides vivos o muertos, a partir de 200 células contadas.
7. Los espermatozoides vivos en el momento de la coloración no se tiñen. Los muertos se observarán de color rosado o rojo. Podemos valernos de un contador hematológico. (VER ANEXO 12).

• **Nota Importante:**

1. Realizar el frotis en un lugar seco, la humedad deteriora las pruebas.
2. El colorante debe mantenerse durante su uso a 30°C en una estufa para evitar el shock térmico y resultados falsos.

- **Morfología espermática:** Determina los espermatozoides con morfología normal o anormal.

➤ **Fundamentos:**

1. Metanol 96°, fija las estructuras espermáticas.
2. Colorante de Eosina, tiñe el citoplasma.
3. Colorante de Tiazina, tiñe de color azul-violeta oscuro los núcleos de las células. (espermatozoides).

• **Tinción con Diff Quick:**

• **Reactivos:**

1. **Fijador:** Alcohol Metanol 96°.
2. **Solución 1:** 1 g/L de Eosina Y en una solución tamponada con fosfato (pH: 6,6) y 0,1 % (p/v) de azida sódica como conservante.
3. **Solución 2:** 1,25 g/L de colorante de tiazina (0,625 g /L de AZURE A y 0,625 g/L de azul de metileno) en solución tamponada con fosfato (pH: 6,6).

➤ **Técnica:**

1. Homogenizar la muestra seminal.
2. Realizar un extendido de la muestra sobre un portaobjetos, y esperamos que se seque.
3. Colocar la placa en el fijador durante 15 segundos y esperar que se seque.
4. Teñir el portaobjetos en la solución 1 durante 10 segundos y solución 2 durante 5 segundos, drenando el exceso de solución verticalmente sobre papel absorbente entre cada paso.
5. Sumergir el portaobjetos en agua corriente 10 a 15 veces para eliminar el exceso de tinción.
6. Dejar secar el portaobjetos completamente en forma vertical.
7. Observar en un microscopio de campo claro con lente de 100 x, colocar una gota de aceite de inmersión, y proceder a contar.
8. Realizar el conteo de 200 espermatozoides, determinando el porcentaje de todas las formas normales y anormales, los espermatozoides toman una coloración púrpura. Podemos valernos de un contador hematológico. (VER ANEXO 13).

➤ **Anormalidades en la Morfología Espermática:**

• **Anormalidades en la Cabeza:**

1. **Tamaño:** Pequeña o muy grande.
2. **Forma y cantidad:** Puntiguda, alfiler, dos cabezas, deforme.

• **Anormalidades de cola y cuello:** Doble cola, cuello deforme.

- **Espermatozoide Normal:** Único de cabeza, cuello y cola en tamaño y forma característico.

Sperm Morphology

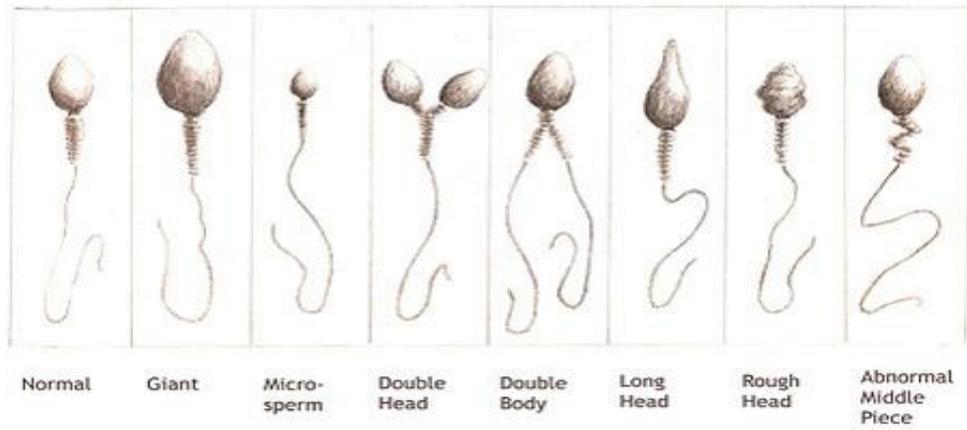


Figura 3: Morfología Alterada y Normal de los Espermatozoides.

Fuente: www.andrologiaonline.com.ar/guia-pacientes.htm.

2.9 ADHESIÓN DEL ESPERMATOZOIDE AL HIALURONANO (HBA CUALITATIVO ORIGIO).

PROCEDENCIA: EEUU, New Jersey.

- **FUNDAMENTO:** Consiste en una placa fijada con hialuronano artificial, donde los espermatozoides más capacitados y maduros se unirán de manera segura al componente, obteniendo un porcentaje de esperma unido al hialuronano, ocurriendo la selección de espermatozoides para poder fertilizar al óvulo. (Fertilización natural).

2.9.1 TÉCNICA:

1. Homogenizar la muestra seminal y realizar la prueba a temperatura ambiente (25°C).
2. Mezclar y pipetear 7-10 uL de muestra cerca del centro de la cámara.
3. Colocar el cubre placa cuadrículada CELL UV, con la parte impresa hacia arriba sobre la cámara, evitando la formación de burbujas de aire. Esto se puede lograr bajando lentamente el cubre placa a un ángulo.
4. Permitir que la placa repose a temperatura ambiente (25 °C) al menos durante 10 minutos con el fin de que el esperma entre en contacto con la capa de hialuronano inmovilizado, pero no más de 20 minutos, o caso contrario el esperma de motilidad débil perderá motilidad.
 - 4.1 El movimiento progresivo del esperma móvil unido se detendrá, pero el movimiento activo de las colas se mantendrá. El esperma muerto y sin motilidad no mostrará ningún movimiento de colas. El esperma móvil que no se una permanecerá nadando libremente.
 - 4.2 Contar la clase predominante (unido o no unido) de esperma móvil unido hasta haber contado al menos 100 espermatozoides o 100 casillas de la cuadrícula, contar la otra clase de esperma móvil no unido en el mismo número de casillas de la cuadrícula. (Los espermatozoides sin motilidad no se cuentan). Podemos valernos de un contador hematológico.

5. Calcular el porcentaje de espermatozoides motiles adheridos al hialuronano de la siguiente manera: (VER ANEXO 14).

$$\% \text{ Unidos} = \frac{100 * \text{Espermatozoides móviles unidos}}{\text{Espermatozoides móviles unidos} + \text{Espermatozoides móviles no unidos}} \quad (4)$$

Reporte: Porcentaje (%).

2.9.2 PRECISIÓN: La precisión del ensayo depende del número de espermatozoides contados. Cuanto más se cuente, menos será la varianza (5%). Es preferible contar al menos 100 espermatozoides móviles en total; los resultados son aceptables si se cuentan 30 espermatozoides móviles en total.

Nota: Cuando no se observe ninguna unión, repita el análisis de la muestra en un portaobjetos diferente para confirmar el resultado.

2.9.3 UTILIDAD:

1. Análisis estándar del semen en el diagnóstico de la sospecha de infertilidad masculina.
2. Análisis para la determinación del curso correcto de tratamiento con FIV y PICSI de la infertilidad.

2.9.4 PRECAUCIÓN: No utilice portaobjetos HBA para seleccionar espermatozoides para ICSI o FIV. Los portaobjetos no son estériles, contienen endotoxinas y pueden ser embriotóxicos. La adquisición de este kit no permite la selección de espermatozoides en portaobjetos HBA.

2.9.5 CONTROL DE CALIDAD: Se puede utilizar semen maduro fresco para demostrar la reacción de unión entre espermatozoides e hialuronano; sin embargo, no hay controles de semen fresco disponibles comercialmente. Es aconsejable que los usuarios establezcan sus propias fuentes de semen de control fresco y desarrollen un historial asociado de puntuaciones HBA normales y anómalas. La reacción de

unión entre espermatozoides e hialuronano no resulta alterada por la congelación y descongelación del espermatozoides. De manera similar, el espermatozoides procesado mediante distribución contra corriente o preparación en gradiente se une normalmente al hialuronano.

2.9.6 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS: El porcentaje de espermatozoides unido al hialuronano va desde prácticamente cero hasta el 100%. Sobre la base de correlaciones con la morfología normal del espermatozoides, se estima que el nivel de HBA que diferencia entre las expectativas superiores e inferiores de infertilidad siendo aproximadamente del 80%, apreciándose en la siguiente tabla:

PUNTUACIÓN HBA (% DE UNIÓN)	INTERPRETACIÓN	DIAGNÓSTICO
≥ 80 % de Unión	Madurez y función fisiológica normal	Fértil
< 80 % de Unión	Madurez y función fisiológica disminuidas	Subfértil

Tabla 2.1: Interpretación de Resultados para Técnica HBA.

Fuente: "Manual de Apoyo Set de Reactivos HBA ORIGIO".



Figura 4: Placa HBA Cualitativo para Espermatozoides.

Fuente: www.origio.com/products/midatlantic%20devices/hba.aspx.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

Para el respectivo análisis del proyecto se vio conveniente la aplicación de tablas gráficas, como alternativa de fácil entendimiento y posterior discusión, proporcionando los datos y resultados por cada paciente.

3.1 DATOS, RESULTADOS Y ANÁLISIS: Se trabajó con un total de 50 muestras seminales, donde se estableció:

- **GRUPO CONTROL:** 10 muestras de sujetos normozoospermicos de acuerdo a los criterios de la OMS año 2010, las cuales sirvieron de grupo control frente al análisis de comparación del grupo de estudio, donde se aprecian los siguientes datos y resultados:

Código	Edad (Años)	Peso (Kg)	Altura (Metros)	IMC (Kg/m ²)
1C	42	90.1	1.71	30.81
2C	35	73.9	1.66	26.81
3C	22	69	1.74	22.79
4C	24	75.1	1.72	25.38
5C	25	64.4	1.57	26.12
6C	25	80.3	1,74	26.52
7C	36	82	1.65	30.11
8C	25	66.81	1.72	22.58
9C	23	71.43	1.74	23.59
10C	22	68.76	1.78	21.70

Tabla 3.1: Datos obtenidos de edad e índice de masa corporal (Grupo Control: Sujetos normozoospermicos).

Código	Volumen (mL)	pH (UpH)	Color	Viscosidad	Licuefacción (Min)
1C	2.5	8	Normal	Normal	55
2C	1.6	7.8	Normal	Normal	55
3C	2.8	7.8	Normal	Normal	60
4C	2.4	7.8	Normal	Normal	30
5C	2	7.4	Normal	Normal	60
6C	1.5	7.8	Normal	Normal	60
7C	2.7	7.4	Normal	Normal	60
8C	1.9	8	Normal	Normal	50
9C	2.5	7.4	Normal	Normal	50
10C	2	7.8	Normal	Normal	60

Tabla 3.2: Datos obtenidos en el análisis de macroscopía espermática (Grupo Control: Sujetos normozoospermicos).

Código	Concentración (mill /mL – total)	Movilidad (%)	Células Redondas (mill/mL)	Aglutinación (%)	Agregación (%)	Vitalidad (%)	Morfología Normal (%)
1C	16000000 - 40000000	35	100000	0	5	60	5
2C	40000000- 64000000	34	100000	0	5	62	6
3C	110000000-308000000	51	100000	0	0	74	9
4C	47000000 -112800000	59	100000	0	0	70	5
5C	50000000- 100000000	72	100000	0	0	81	6
6C	42000000- 63000000	39	100000	0	0	62	6
7C	26000000-70200000	62	300000	0	0	80	6
8C	160000000-144000000	32	600000	0	0	74	6
9C	47000000-117500000	48	100000	0	0	69	6
10C	32000000-64000000	44	100000	0	0	63	5

Tabla 3.3: Datos obtenidos en el análisis de microscopía espermática (Grupo Control: Sujetos normozoospermicos).

Código	Diagnóstico	Criterio	Espermatozoides Móviles Unidos (número)	Espermatozoides Móviles no Unidos (número)	Porcentaje de Espermatozoides Unidos al Hialuronano (HBA) (%)	Resultado
1C	Normozoospermia	Inclusión	122	23	84	Fértil
2C	Normozoospermia	Inclusión	110	24	82	Fértil
3C	Normozoospermia	Inclusión	133	19	87	Fértil
4C	Normozoospermia	Inclusión	132	25	84	Fértil
5C	Normozoospermia	Inclusión	125	15	89	Fértil
6C	Normozoospermia	Inclusión	152	16	90	Fértil
7C	Normozoospermia	Inclusión	87	14	86	Fértil
8C	Normozoospermia	Inclusión	100	22	82	Fértil
9C	Normozoospermia	Inclusión	109	15	88	Fértil
10C	Normozoospermia	Inclusión	105	11	91	Fértil

Tabla 3.4: Resultados obtenidos en el análisis de espermatozoides unidos al hialuronano (Grupo Control: Sujetos normozoospermicos).

- **GRUPO EXCLUSIÓN:** 10 muestras de pacientes con Alteraciones Espermáticas Diferentes, las cuales resultaron del análisis previo mediante un espermiograma, conformando el grupo exclusión, a quienes no se les aplicó la Técnica HBA (Ensayo de Unión al Hialuronano), apreciándose los siguientes datos y resultados:

Código	Edad (Años)	Peso (Kg)	Altura (Metros)	IMC (Kg/M2)
1D	22	72.8	1.78	22.97
2D	22	96.2	1.85	28.1
3D	43	89.9	1.81	27.44
4D	38	77.4	1.69	27.09
5D	39	69.8	1.67	25.02
6D	26	75.3	1.65	27.65
7D	34	115.7	1.81	35.31
8D	45	65.2	1.76	21.04
9D	34	94.1	1.83	28.09
10D	31	67.6	1.68	23.95

Tabla 3.5: Datos obtenidos de edad e índice de masa corporal (GrupoExclusión).

Código	Volumen (mL)	pH (UpH)	Color	Viscosidad	Licuefacción (Min)
1D	1.5	7.8	Normal	Aumentada	>60
2D	1.8	7.8	Normal	Aumentada	>60
3D	2	7.8	Opaco	Normal	60
4D	2.5	7.8	Opaco	Normal	55
5D	2	7.4	Normal	Aumentada	>60
6D	2	7.8	Opaco	Normal	60
7D	1.5	7.8	Opaco	Normal	60
8D	2	8	Opaco	Normal	50
9D	2	7.4	Normal	Aumentada	>60
10D	2	7.4	Normal	Aumentada	>60

Tabla 3.6: Datos obtenidos en el análisis de macroscopía espermática (Grupo Exclusión).

Código	Concentración (mill /mL – total)	Movilidad (%)	Células Redondas (mill/mL)	Aglutinación (%)	Agregación (%)	Vitalidad (%)	Morfología Normal (%)
1D	32000000-48000000	27	100000	0	>10	59	5
2D	41000000-73800000	28	500000	0	>10	58	4
3D	13000000-26000000	26	100000	0	0	58	4
4D	14000000-35000000	28	100000	0	>10	58	4
5D	25000000-50000000	29	100000	0	>10	58	4
6D	12500000-25000000	28	300000	0	0	58	3
7D	14000000-21000000	24	100000	>10	0	59	2
8D	13500000-27000000	27	100000	0	0	58	2
9D	92000000-138000000	28	100000	0	>10	59	4
10D	22000000-44000000	28	100000	0	>10	58	4

Tabla 3.7: Datos obtenidos en el análisis de microscopía espermática (Grupo Exclusión).

Código	Diagnóstico	Criterio	Espermatozoides Móviles Unidos (número)	Espermatozoides Móviles no Unidos (número)	Porcentaje de Espermatozoides Unidos al Hialuronano (%)	Resultado
1D	Astenozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
2D	Astenozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
3D	Oligozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
4D	Oligoastenozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
5D	Astenozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
6D	Oligoastenoteratozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
7D	Oligoastenoteratozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
8D	Oligoastenoteratozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
9D	Astenozoospermia	Exclusión	-	-	-	-
10D	Astenozoospermia	Exclusión	-	-	-	-

Tabla 3.8: Resultados obtenidos sin análisis de espermatozoides unidos al hialuronano (Grupo Exclusión).

- **ANÁLISIS:** Revelaron los siguientes porcentajes:

Diagnóstico	Número	Porcentaje (%)
Astenozoospermia	5	50
Oligoastenoteratozoospermia	3	30
Oligoastenozoospermia	1	10
Oligozoospermia	1	10
TOTAL	10	100

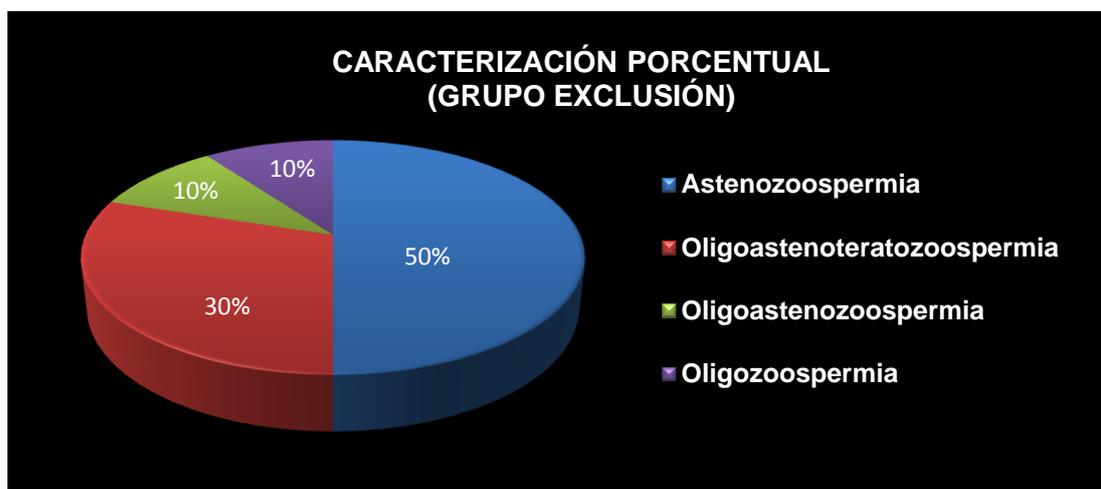


Tabla Gráfica 3A: Porcentaje de pacientes con Alteraciones Espermáticas Diferentes.

- **GRUPO DE ESTUDIO:** 30 pacientes teratozoospermicos, que representaron el grupo de estudio, provenientes de distintas ciudades del Ecuador, que asistieron por consulta de fertilidad a la Clínica de Reproducción Asistida “BioGEPA” Cuenca Ecuador, divididas en las siguientes edades:
- **10 Pacientes teratozoospermicos <35 años:** Muestran los siguientes datos y resultados:

Código	Edad (Años)	Peso (Kg)	Altura (Metros)	IMC (Kg/m ²)
1E1	30	97	1.57	39.35
1E2	30	95	1.53	38.34
1E3	24	84	1.63	31.61
1E4	24	60.45	1.77	19.29
1E5	31	80	1.70	27.68
1E6	31	65	1.70	22.49
1E7	22	67.3	1.60	26.28
1E8	23	80.5	1.66	29.21
1E9	29	78	1.77	24.89
1E10	28	65	1.64	24.16

Tabla 3.9: Datos obtenidos de edad e índice de masa corporal (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos < 35 años).

Código	Volumen (mL)	pH (UpH)	Color	Viscosidad	Licuefacción (Min)
1E1	2.9	7.8	Normal	Normal	60
1E2	3.5	7.8	Normal	Normal	60
1E3	1.8	8	Normal	Normal	60
1E4	1.5	7.8	Normal	Normal	40
1E5	1.8	8.1	Normal	Normal	55
1E6	2	8	Normal	Normal	60
1E7	1.8	7.8	Normal	Normal	60
1E8	1.6	7.8	Normal	Normal	60
1E9	2	7.4	Normal	Normal	60
1E10	2.5	7.8	Normal	Normal	60

Tabla 3.10: Datos obtenidos en el análisis de macroscopía espermática (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos < 35 años).

Código	Concentración (mill /mL – total)	Movilidad (%)	Células Redondas (mill/mL)	Aglutinación (%)	Agregación (%)	Vitalidad (%)	Morfología Normal (%)
1E1	15000000 - 43500000	32	100000	0	5	59	≤1
1E2	25000000- 87500000	34	100000	0	0	58	≤1
1E3	46000000- 36800000	57	500000	0	0	79	2
1E4	26000000- 39000000	45	100000	0	0	68	3
1E5	30000000-54000000	45	32000000	0	0	75	3
1E6	60000000-120000000	35	2000000	0	0	82	3
1E7	35000000- 63000000	34	100000	0	0	60	2
1E8	72000000- 115200000	34	100000	0	0	62	3
1E9	34000000-68000000	42	100000	0	5	71	3
1E10	43000000-107500000	38	100000	0	0	63	3

Tabla 3.11: Datos obtenidos en el análisis de microscopía espermática
(Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos < 35 años).

Código	Diagnóstico	Criterio	Espermatozoide s Móviles Unidos (número)	Espermatozoide s Móviles no Unidos (número)	Porcentaje de Espermatozoide s Unidos al Hialuronano (%)	Resultado
1E1	Teratozoospermia Severa	Inclusión	32	43	42	Subfértil
1E2	Teratozoospermia Severa	Inclusión	18	24	42	Subfértil
1E3	Teratozoospermia Moderada	Inclusión	42	30	58	Subfértil
1E4	Teratozoospermia leve	Inclusión	44	20	68	Subfértil
1E5	Teratozoospermia Leve	Inclusión	90	8	*92	Fértil
1E6	Teratozoospermia Leve	Inclusión	49	4	*92	Fértil
1E7	Teratozoospermia Moderada	Inclusión	38	29	56	Subfértil
1E8	Teratozoospermia Leve	Inclusión	70	20	78	Subfértil
1E9	Teratozoospermia Leve	Inclusión	76	20	79	Subfértil
1E10	Teratozoospermia Leve	Inclusión	56	18	76	Subfértil

Tabla 3.12: Datos obtenidos en el análisis de espermatozoides unidos al
hialuronano (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos < 35 años).

- **10 Pacientes teratozoospermicos entre 35 – 40 años:** Muestran los siguientes datos y resultados:

Código	Edad (Años)	Peso (Kg)	Altura (Metros)	IMC (Kg/m ²)
2E1	36	71	1.80	21.91
2E2	37	84	1.75	27.42
2E3	36	89	1.70	30.79
2E4	39	79	1.75	25.79
2E5	40	71	1.82	21.43
2E6	38	74	1.68	26.21
2E7	37	69	1.82	20.83
2E8	37	72	1.61	27.77
2E9	39	68	1.76	21.95
2E10	38	66	1.56	27.12

Tabla 3.13: Datos obtenidos de edad e índice de masa corporal (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos entre 35- 40 años).

Código	Volumen (mL)	pH (UpH)	Color	Viscosidad	Licuefacción (Min)
2E1	2.2	7.5	Normal	Normal	60
2E2	3	7.8	Normal	Normal	60
2E3	9	8	Normal	Normal	60
2E4	2.5	7.8	Normal	Normal	50
2E5	1.5	8	Normal	Normal	55
2E6	1.8	8	Normal	Normal	30
2E7	3	7.8	Normal	Normal	45
2E8	2	7.8	Normal	Normal	55
2E9	2	7.4	Normal	Normal	60
2E10	1.5	7.8	Normal	Normal	60

Tabla 3.14: Datos obtenidos en el análisis de macroscopía espermática (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos entre 35- 40 años).

Código	Concentración (mill /mL – total)	Movilidad (%)	Células Redondas (mill/mL)	Aglutinación (%)	Agregación (%)	Vitalidad (%)	Morfología Normal (%)
2E1	92000000- 202400000	42	400000	0	0	62	3
2E2	50000000-150000000	70	200000	0	0	85	3
2E3	21000000-189000000	36	100000	0	0	58	≤1
2E4	56000000-140000000	57	400000	0	0	75	3
2E5	20000000-40000000	34	100000	0	0	59	2
2E6	25000000- 45000000	72	100000	0	0	65	2
2E7	28000000-76000000	44	100000	0	5	61	3
2E8	31000000-62000000	46	100000	0	5	66	3
2E9	29000000-58000000	51	100000	0	0	68	3
2E10	36000000-54000000	39	500000	0	0	65	2

Tabla 3.15: Datos obtenidos en el análisis de microscopía espermática
(Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos entre 35- 40 años).

Código	Diagnóstico	Criterio	Espermatozoides Móviles Unidos (número)	Espermatozoides Móviles no Unidos (número)	Porcentaje de Espermatozoides Unidos al Hialuronano (%)	Resultado
2E1	Teratozoospermia Leve	Inclusión	63	21	75	Subfértil
2E2	Teratozoospermia Leve	Inclusión	85	15	*85	Fértil
2E3	Teratozoospermia Severa	Inclusión	20	60	25	Subfértil
2E4	Teratozoospermia Leve	Inclusión	92	16	*85	Fértil
2E5	Teratozoospermia Moderada	Inclusión	51	49	51	Subfértil
2E6	Teratozoospermia Moderada	Inclusión	56	35	61	Subfértil
2E7	Teratozoospermia Leve	Inclusión	74	18	*80	Fértil
2E8	Teratozoospermia Leve	Inclusión	112	17	*87	Fértil
2E9	Teratozoospermia Leve	Inclusión	96	19	*83	Fértil
2E10	Teratozoospermia Moderada	Inclusión	64	30	68	Subfértil

Tabla 3.16: Datos obtenidos en el análisis de espermatozoides unidos al
hialuronano (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos entre 35- 40 años).

- **10 Pacientes teratozoospermicos > 40 años:** Muestran los siguientes datos y resultados:

Código	Edad (Años)	Peso (Kg)	Altura (Metros)	IMC (Kg/m ²)
3E1	42	72.11	1.73	24.09
3E2	48	73	1.71	24.96
3E3	51	78	1.72	26.36
3E4	42	89	1.74	29.39
3E5	42	95	1.88	26.87
3E6	41	69	1.67	24.74
3E7	44	77	1.65	28.28
3E8	49	81	1.71	27.70
3E9	42	76	1.70	26.29
3E10	45	84	1.76	27.11

Tabla 3.17: Datos obtenidos de edad e índice de masa corporal (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos > 40 años).

Código	Volumen (mL)	pH (UpH)	Color	Viscosidad	Licuefacción (Min)
3E1	2	7.8	Normal	Normal	60
3E2	3.5	8	Normal	Normal	50
3E3	2	7.9	Normal	Normal	60
3E4	3.5	8	Normal	Normal	60
3E5	2.5	7.8	Normal	Normal	55
3E6	2	8	Normal	Normal	60
3E7	2	8	Normal	Normal	50
3E8	2	8	Normal	Normal	60
3E9	3	7.8	Normal	Normal	55
3E10	1.5	7.8	Normal	Normal	60

Tabla 3.18: Datos obtenidos en el análisis de macroscopía espermática (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos > 40 años).

Código	Concentración (mill /mL – total)	Movilidad (%)	Células Redondas (mill/mL)	Aglutinación (%)	Agregación (%)	Vitalidad (%)	Morfología Normal (%)
3E1	82000000- 164000000	44	100000	0	0	64	3
3E2	20000000- 70000000	69	100000	0	5	81	3
3E3	31000000- 62000000	38	100000	0	0	60	2
3E4	46000000- 161000000	61	100000	0	0	70	3
3E5	24000000- 60000000	33	100000	0	0	59	3
3E6	35000000- 70000000	70	100000	0	5	63	≤ 1
3E7	39000000- 78000000	42	100000	0	0	62	2
3E8	34000000- 68000000	44	100000	0	0	61	3
3E9	49000000- 147000000	56	200000	0	0	65	2
3E10	26000000- 39000000	42	200000	0	5	65	3

Tabla 3.19: Datos obtenidos en el análisis de microscopía espermática
(Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos > 40 años).

Código	Diagnóstico	Criterio	Espermatozoides Móviles Unidos (número)	Espermatozoides Móviles no Unidos (número)	Porcentaje de Espermatozoides Unidos al Hialuronano (%)	Resultado
3E1	Teratozoospermia Leve	Inclusión	88	19	*82	Fértil
3E2	Teratozoospermia Leve	Inclusión	52	17	77	Subfértil
3E3	Teratozoospermia Moderado	Inclusión	73	17	*81	Fértil
3E4	Teratozoospermia Leve	Inclusión	85	16	*84	Fértil
3E5	Teratozoospermia Leve	Inclusión	64	15	77	Subfértil
3E6	Teratozoospermia Severa	Inclusión	14	86	14	Subfértil
3E7	Teratozoospermia Moderado	Inclusión	30	17	64	Subfértil
3E8	Teratozoospermia Leve	Inclusión	70	21	77	Subfértil
3E9	Teratozoospermia Moderado	Inclusión	69	28	71	Subfértil
3E10	Teratozoospermia Leve	Inclusión	76	48	61	Subfértil

Tabla 3.20: Datos obtenidos en el análisis de espermatozoides unidos al
hialuronano (Grupo Estudio: Pacientes teratozoospermicos >40 años).

Nota: El diagnóstico es referido en los diversos grados: **Leve, Moderado y Severo.**

- **ANÁLISIS:** Para caracterizar los respectivos resultados, se ha considerado realizar un análisis minucioso relacionando cada una de las variables, subdividiendo en escalas de subfertilidad $< 80\%$, $< 50\%$ y $< 20\%$; para obtener un criterio más acertado sobre la influencia real de los datos y el análisis estadístico en pacientes teratozoospermicos, que se presenta a continuación:
- **RANGO DE PUNTUACIONES HBA:** Revelaron los siguientes porcentajes:

Diagnóstico	Número	Porcentaje (%)	Puntuaciones HBA
Teratozoospermia leve	18	60	Entre 60 – 95 %
Teratozoospermia Moderada	8	26,66	Entre 50 – 85 %
Teratozoospermia Severa	4	13,34	Entre 10 – 45 %
TOTAL	30	100	

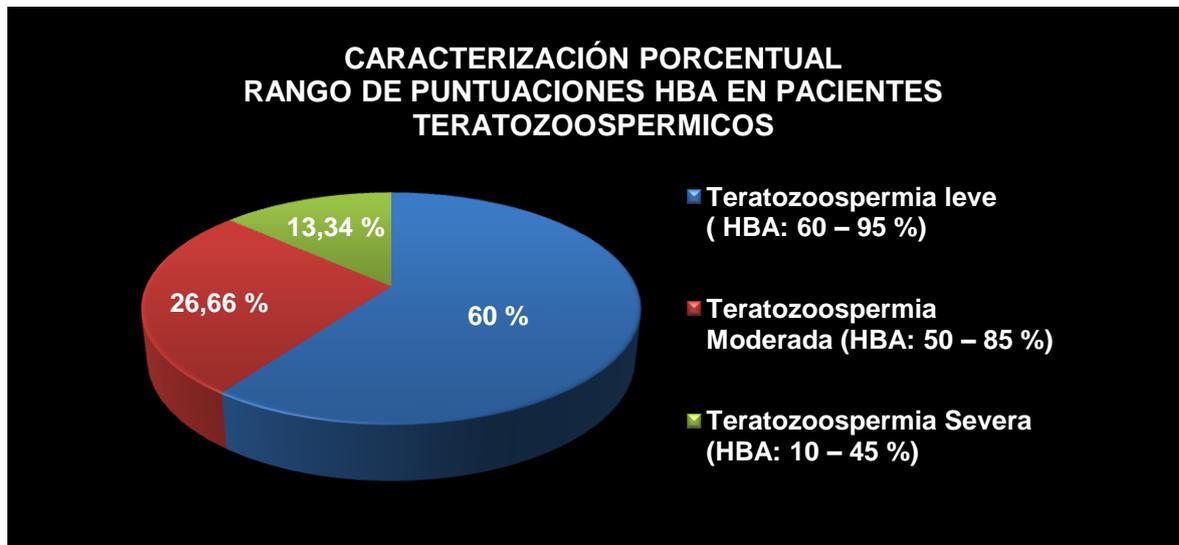


Tabla Gráfica 3 B: Porcentaje de pacientes teratozoospermicos frente al rango de puntuaciones HBA en los tres grupos de edades.

- **RELACIÓN EDAD- GRADO DE TERATOZOOSPERMIA:** Revelaron los siguientes porcentajes:

GRUPO (Teratozoospermia)	Leves	Porcentaje (%)	Moderados	Porcentaje (%)	Severos	Porcentaje (%)	TOTAL
	< 35 años	6	60	2	20	2	
35 – 40 años	6	60	3	30	1	10	10
>40 años	6	60	3	30	1	10	10
TOTAL	18		8		4		30

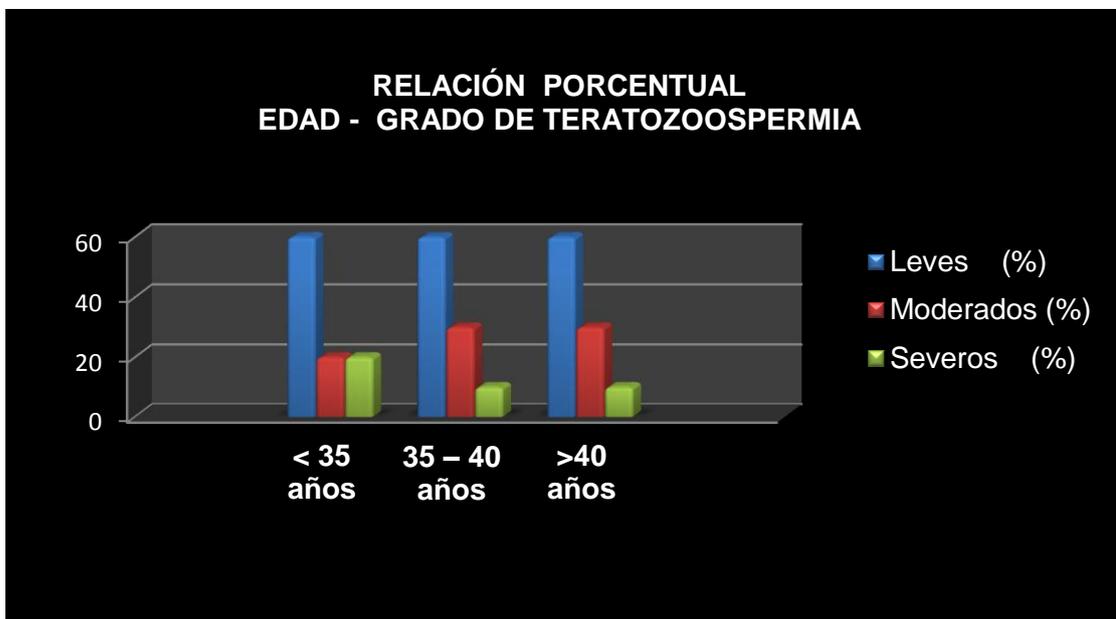


Tabla Gráfica 3C: Porcentaje de pacientes teratozoospermicos (Relación: Edad –Grado de Teratozoospermia).

- **RELACIÓN INDICE DE MASA CORPORAL- GRADO DE TERATOZOOSPERMIA:** Revelaron los siguientes porcentajes:

GRUPO (Teratozoospermia)	Leves	Porcentaje (%)	Moderados	Porcentaje (%)	Severos	Porcentaje (%)	TOTAL
Normal	9	81,82	1	9,09	1	9,09	11
Sobrepeso	9	60	6	40	0	0	15
Obeso	0	0	1	25	3	75	4
TOTAL	18		8		4		30

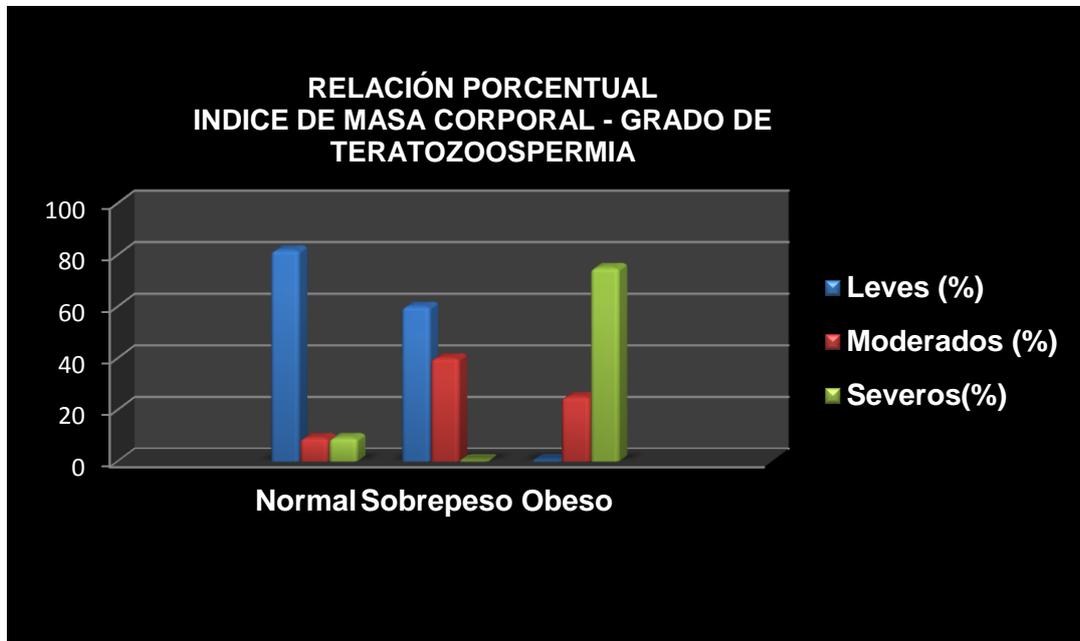


Tabla Gráfica 3D: Porcentaje de pacientes teratozoospermicos (Relación: Índice de Masa Corporal- Grado de Teratozoospermia).

- **RELACIÓN GRADO DE TERATOZOOSPERMIA- FIJACIÓN CON HBA:**
Revelaron los siguientes porcentajes:

GRUPO (Teratozoospermia)	Fértil (> 80 %)	Porcentaje (%)	Subfértil (< 80 %)	Porcentaje (%)
Leves	9	50	9	50
Moderados	1	12,5	7	87,5
Severos	0	0	0	0
TOTAL	10		16	
Subfértil (< 50 %)	Porcentaje (%)	Subfértil (< 20 %)	Porcentaje (%)	Total
0	0	0	0	18
0	0	0	0	8
3	75	1	25	4
3		1		30

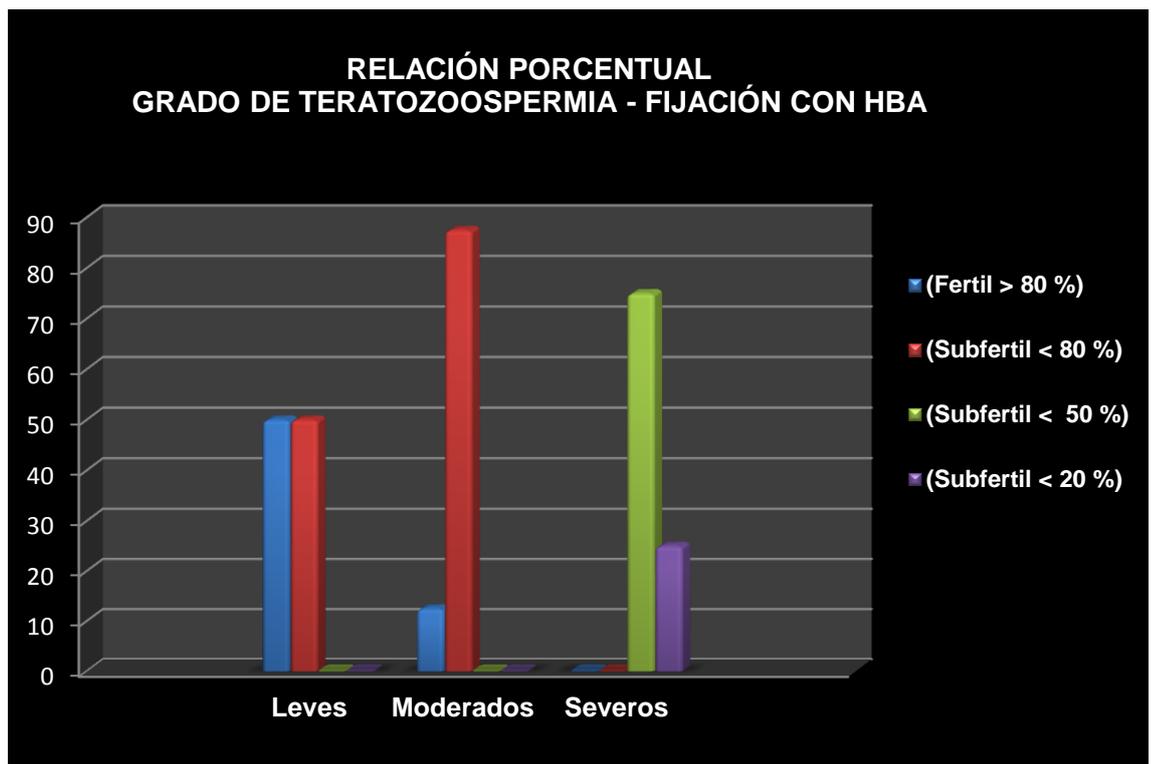


Tabla Gráfica 3E: Porcentaje de pacientes teratozoospermicos (Relación: Grado de Teratozoospermia – Fijación con HBA).

3.2 ESTADÍSTICA ANALÍTICA: Para comprobar los resultados se realizó un estudio estadístico mediante el programa estadístico SPSS 16 ("Statistical Product and Service Solutions") para Windows, mediante la aplicación de (p) estadística de probabilidad o nivel de significancia $\alpha = 0.05$, determinando:

- **RELACIÓN EDAD- FIJACIÓN CON HBA:** El análisis muestra el porcentaje de pacientes fértiles y subfértiles frente a la edad; demostrando que los valores de (p) son menores al 0,05.

GRUPO (Teratozoospermia)	Fértil (> 80 %)	Porcentaje (%)	Subfértil (< 80 %)	Porcentaje (%)
< a 35 años	2	20	6	60
35 a 40 años	5	50	4	40
> a 40 años	3	30	6	60
TOTAL	10		16	
Subfértil (< 50 %)	Porcentaje (%)	Subfértil (< 20 %)	Porcentaje (%)	p
2	20	0	0	0,015
0	0	1	10	0,017
0	0	1	10	0,013
2		2		30

*La fertilidad no está relacionada con la Edad con una $p < 0,05$.

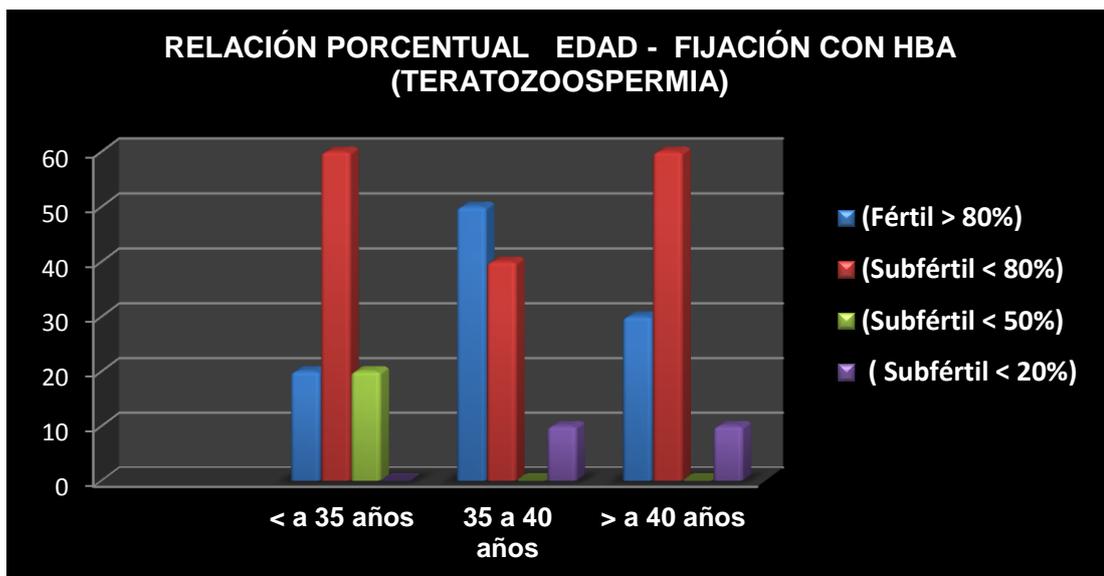
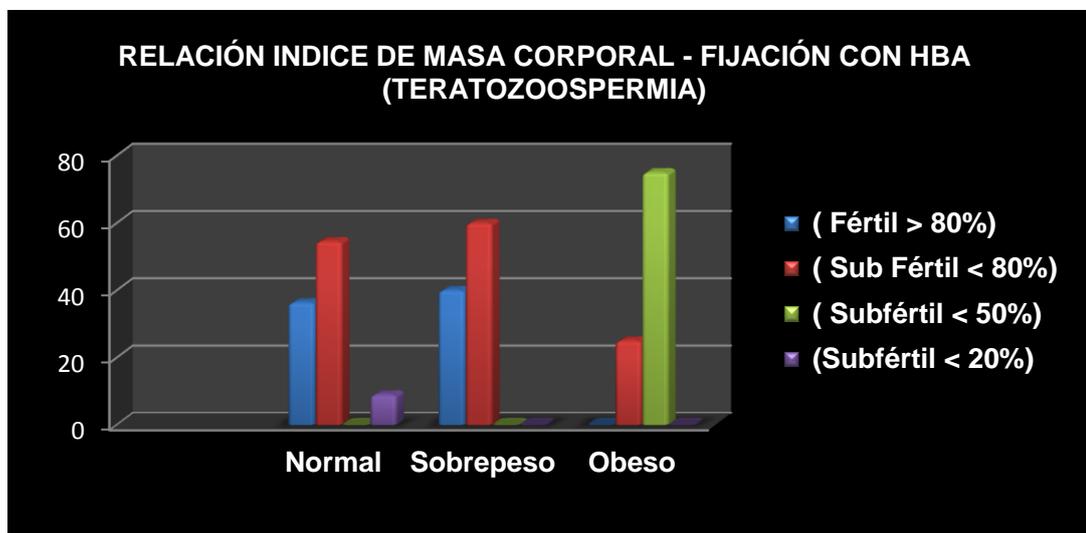


Tabla Gráfica 3F: Porcentaje de pacientes teratozoospermicos
(Relación: Edad– Fijación con HBA).

- **RELACIÓN ÍNDICE DE MASA CORPORAL – FIJACIÓN CON HBA:** El análisis muestra el porcentaje de pacientes fértiles y subfértiles frente al índice de Masa Corporal; demostrando que el valor de (p) es mayor a 0,05; debido a que el conjunto de variables con respecto al Índice de Masa Corporal son nominales, se efectuó el cálculo de un solo valor para (p).

GRUPO (Teratozoospermia)	Fértil (> 80 %)	Porcentaje (%)	Subfértil (< 80 %)	Porcentaje (%)
Normal	4	36,36	6	54,54
Sobrepeso	6	40	9	60
Obeso	0	0	1	25
TOTAL	10		16	
Subfértil (< 50 %)	Porcentaje (%)	Subfértil (< 20 %)	Porcentaje (%)	p
0	0	1	9	0,381
0	0	0	0	
3	75	0	0	
3		1		
*La fertilidad está relacionada con el IMC con una $p > 0,05$.				



**Tabla Grafica 3G: Porcentaje de pacientes teratozoospermicos
(Relación: Índice de masa corporal – Fijación con HBA).**

Este estudio descriptivo correlacional mostró que los resultados son estadísticamente significativos ($p < 0,05$), al relacionar la edad y estadísticamente no significativos ($p > 0,05$) al relacionar el Índice de Masa Corporal con el test HBA en pacientes teratozoospermicos en los grupos de edades variadas.

3.3 DISCUSIÓN: En la actualidad los diferentes estilos de vida que enfrenta la humanidad han aumentado sustancialmente los problemas de salud en la última década, debido a los cambios alimenticios, el consumo de cigarrillo, alcohol, entre otras causas; la infertilidad masculina se ha incrementado sustancialmente en un 40%, disminuyendo de esta manera las tasas de embarazo.

Una de las alteraciones más importantes sobre la infertilidad en el varón se debe a Teratozoospermia donde los gametos masculinos sufren mal formaciones en las cabeza, sección media y cola, observándose un desarrollo inadecuado de la cromatina y por ende de su ADN. Este cambio puede deberse a posibles fallos durante la espermatogénesis y a un desequilibrio de la regulación hormonal, provocando un descenso principalmente en la concentración de testosterona y aumento en la concentración de FSH Y LH.

Durante el proceso previo a la fecundación los espermatozoides contienen receptores específicos de hialuronano que facilitan la unión con el ácido hialurónico del ovocito y su posterior paso a través de la zona pelúcida, para luego de una serie de acontecimientos ser fertilizado, hecho importante que se asemeja con el test de HBA que contiene una capa de hialuronano artificial para observar el porcentaje de espermatozoides móviles adheridos, constituyéndose en una de las técnicas de diagnóstico de la infertilidad masculina que corroborara en el desarrollo de otras técnicas en reproducción asistida como el FIV, ICSI y PCSI para la producción de una tasa más alta de embarazos y reducción en la tasa de abortos. (47).

En el grupo de pacientes estudiados en la presente investigación, al relacionar los parámetros de **edad** frente al **grado de teratozoospermia** se destacaron niveles porcentuales no relevantes: **< 35 años** (Leves: 60%; Moderados: 20 %; Severos: 20 %); **35 – 40 años** (Leves: 60 %; Moderados: 30 %; Severos: 10 %); **> 40 años** (Leves: 60 %; Moderados: 30 %; Severos: 10 %). Donde se observó que existe mayor porcentaje de teratozoospermia leve en los tres grupos de edades, que está representado por un 60%; frente a pacientes con grado moderado y severo que tienen porcentajes menores, sin existir entre ellos una diferencia significativa, encontrándose entre 30% y 20% respectivamente. Determinando de esta manera que no se evidencia una influencia directa de la edad sobre el grado de Teratozoospermia.

Después se relacionó los parámetros de **Edad** frente al test de **Fijación HBA** en donde se obtuvieron resultados no relevantes: < **35 años** (Fértiles > 80 %: 20 %; Subfértiles < 80 %: 60%; Subfértiles < 50 %: 20 %; Subfértiles < 20 %: 0) ($p= 0,015$); **35 – 40 años** (Fértiles > 80 %: 50 %; Subfértiles < 80 %: 40%; Subfértiles < 50 %: 0 %; Subfértiles < 20 %: 10%) ($p= 0,017$); > **40 años** (Fértiles > 80 %: 30 %; Subfértiles < 80 %: 60 %; Subfértiles < 50 %: 0%; Subfértiles < 20 %: 10 %) ($p= 0,013$). Obteniendo la existencia de porcentajes más altos con fertilidad > 80 % en pacientes de 35 – 40 años frente a pacientes <35 años y > 40 años donde los descensos son ligeros en un 20% y 30% respectivamente. A nivel de subfertilidad < 80 % entre las edades de <35 a 35-40 existe un descenso de un 20%, y comparado con los pacientes > 40 años se destaca un porcentaje similar. Posteriormente se analizó subfertilidad <50% y <20% en donde se observó que en los pacientes <35 años, es nulo la existencia de una subfertilidad <20%, caso que no ocurre con las edades de 35-40 y > 40 años que en ellos si se observó la presencia de pacientes que tuvieron un HBA menor del 20% (Unión de espermias al Hialuronano).

Esto denota que al confluir los resultados en las escalas referidas por el kit HBA que recomienda el manejo de Fértiles >80% y Subfértiles < 80%, no se hubiera podido observar un porcentaje importante de subfertilidad en aquellos pacientes que tienen una unión al hialuronano <50% y <20%. Por ello en los posteriores análisis se consideró la utilización de los parámetros subfertilidad <50% y subfertilidad <20%.

En estudios realizados en 226 espermogramas que ingresaron a la Unidad de Medicina Reproductiva GESTAMOS en Taolima, que se ha encontrado que un 52,5 % de los casos se manifestó con morfología normal y un aumento de anomalías en 47,5 % de los casos con respecto a la edad en un 0,0041% por año ($p = 0,05$).

La morfología anómala brinda información sobre el estado del epitelio germinal y da una idea clara sobre la integridad genética del espermatozoide; de este modo, el aumento en la morfología anómala de la cabeza del espermatozoide se explica por dichos factores, además de asociarse con la edad y con el aumento de aneuploidias humanas (48) y mutaciones (49).

En algunas investigaciones que se realizaron, encontraron que con el progreso de la edad al existir un retroceso en la función testicular, las concentraciones de testosterona libre y total tienden a disminuir, registrándose un incremento en la producción de Hormonas (LH) y (FSH), provocando un descenso de los receptores de dihidro testosterona.



Este fenómeno explica que el aumento de exposición a estrógenos durante el período intrauterino o la infancia, disminuye la cantidad de células de Sertoli. (50). Hecho posible que puede afectar la integridad morfológica espermática.

Algunos informes han asociado un aumento en la incidencia de ciertas anomalías morfológicas con la edad. Se ha destacado un aumento en el porcentaje de espermatozoides microcefálicos y espermatozoides con anomalías de cola con el aumento de edad. (51).

También se observó que la edad está positivamente correlacionada con el porcentaje de microcefalia, macrocefalia, duplicado cabeza y de cola enroscada y se correlacionó negativamente con el porcentaje de espermatozoides sin cola. (52).

Al confrontar estas investigaciones se destaca que el aumento de alteraciones morfológicas está relacionado con la edad y favorablemente con la adhesión de espermatozoide al hialuronano; que sobre las investigaciones realizadas en este proyecto no refiere resultados de relevancia que relacionen directamente la morfología y la unión del espermatozoide al hialuronano con el progreso de la edad, lo que nos indicaría que cada paciente presenta características diferentes de un país a otro o que el tamaño de muestra no fue significativo para comprobar resultados más contundentes.

Al analizar los porcentajes de **IMC** frente al **grado de teratozoospermia** se observó porcentajes relevantes: **Normal** (Leves: 81,82 %; Moderados: 9,09%; Severos: 9,09 %); **Sobrepeso** (Leves: 60 %; Moderados: 40 %; Severos: 0 %); **Obeso** (Leves: 0 %; Moderados: 25 %; Severos: 75 %).

En los pacientes con IMC normal presentaron un porcentaje elevado del 81,82 % con el grado de teratozoospermia leve donde se aprecia un descenso del 72 % considerablemente hacia moderados y se mantiene estable en severos.

En pacientes con sobrepeso existe un porcentaje alto del 60% que presentaron grado de teratozoospermia leve, donde disminuye ligeramente un 20 % hacia moderados y considerablemente con un 40 % hacia obesos.

En pacientes obesos se encuentra comprometida la morfología espermática, pues presentó 25% con teratozoospermia moderada frente a un 75% de teratozoospermia severa. Donde se aprecia una correlación directa; a mayor peso existen porcentajes más elevados en teratozoospermia moderada y severa.

Al relacionar el **índice de masa corporal** frente al **test de fijación HBA**, se obtuvieron resultados importantes: **Normal**(Fértiles > 80 %: 36,36 %; Subfértiles < 80 %: 54,54 %; Subfértiles < 50 %: 0 %; Subfértiles < 20 %:9 %); **Sobrepeso** (Fértiles > 80 %:40 %; Subfértiles < 80 %: 60 %; Subfértiles < 50 %: 0 % Subfértiles < 20 %: 0%); **Obesidad** (Fértiles> 80 %: 0 %; Su fértiles< 80 %:25 %; Subfértiles < 50 %: 75 %; Subfértiles < 20 %: 0 %); $p= 0,381$.

En pacientes con sobrepeso el porcentaje es alto en quienes presentaron subfertilidad < 80% frente a normales y obesos donde los porcentajes son menores en un 20 % y 30 % aproximadamente.

En pacientes obesos es notoria la diferencia ya que los porcentajes son predominante altos en las escalas de subfertilidad < 80 % y < 50 % en un 25 % y 75 %.

Las alteraciones ocurren con mayor frecuencia en aquellos individuos que presentan obesidad mórbida (IMC>40). (53), (54). Se ha establecido una correlación positiva entre el IMC y la morfología Espermática. (55). En un estudio realizado se obtuvieron los datos de muestras de semen de 520 hombres que fueron agrupados calculados en base a los valores del IMC (normal, 20-24 kg / m², sobrepeso, 25-30 kg / m², obesidad, kg> 30 / m²). Los datos recogidos incluyen la altura y peso del paciente, el volumen de semen, la concentración de espermatozoides, la motilidad espermática por ciento, la morfología espermática por ciento (formas normales), y la integridad de espermatozoides cromatina, determinando que los hombres que presentan un IMC mayor de 25 kg / m² tienen menos cromatina intacta normal móviles espermatozoides por eyaculado. Por lo tanto, para asegurar el potencial de fertilidad máxima, los pacientes pueden ser advertidos para reducir el peso corporal. (56).

Ratificando de esta manera una correlación positiva del test de fijación HBA, ya que con el incremento sustancial del Índice de Masa Corporal sobre todo en Obesos, donde las puntuaciones de unión al hialuronano son menores en relación a las diferentes escalas de subfertilidad, nos proporciona datos más confiables y que los estilos de vida entre uno y otro paciente pueden ser similares.

Ciertas proteínas de expresión como la Chaperona HspA2 y Sperm Creatin Kinasa muestran proporcionalidad con la unión de espermatozoides al ácido hialurónico. (47).

Un aumento de la fragmentación de la cadena del ADN espermático también podría estar relacionado con la entrega inadecuada de las enzimas de reparación del ADN y a una detención en la transición de proteínas histonas – protaminas como secuencia de reemplazo, una probable consecuencia de la disminución de la actividad HspA2 proteína chaperona. (34), (35), (36), (37). Defectos en la cromatina de los espermatozoides se han relacionado con fallos en la reproducción natural y asistida, (38), (39), reflejando daños en la morfología del espermatozoide.

Al relacionar el **Grado de Teratozoospermia** frente al test de **Fijación HBA**, se destaca porcentajes significativos importantes: **Leves** (Fértiles > 80 %: 50 %; Subfértiles < 80 %: 50 %; Subfértiles < 50 %: 0 %; Subfértiles < 20 %: 0 %) ; **Moderados** (Fértiles > 80 %: 12,50 %; Subfértiles < 80 %: 87,50 %; Subfértiles < 50 %: 0 %; Subfértiles < 20 %: 0 %); **Severos** (Fértiles > 80 %: 0 %; Subfértiles < 80 %: 0 %; Subfértiles < 50 %: 75 %; Subfértiles < 20 %: 25 %). En Pacientes con Teratozoospermia leve, existen porcentajes más altos de espermatozoides unidos en pacientes Fértiles 50% y subfértiles 50% y en pacientes con teratozoospermia moderada existe un porcentaje inferior de los pacientes con fertilidad > 80% en comparación con los de grado leve, en donde se explica que el HBA selecciona a los espermatozoides de mejor morfología. Además en la teratozoospermia moderada existe un mayor porcentaje de pacientes sub fértiles 87.50%. Para poder demostrar la afectación en los pacientes de grado severo se realizó la subdivisión de dos escalas adicionales subfértiles < 50 y < 20, observándose que estos pacientes la unión al hialuronano no es mayor al < 50 %, determinando una relación directa de la afección de los grados de teratozoospermia a la unión del hialuronano.

Estudios realizados en tres estados de los EEUU (Connecticut, California y Pennsylvania), demuestran que la puntuación HBA está relacionada de manera significativa con la morfología espermática sobre la base de los datos combinados, al analizarse datos mediante una tabla de contingencia mutua utilizando la morfología (clasificada como Subfértil si era < 5% de morfología normal, o de lo contrario fértil y la puntuación HBA (clasificada como Subfértil si era < 80% de unión, o de lo contrario fértil > 80 %). (57), (58), (59), (60).

Lo que determina que la teratozoospermia está relacionada con la fijación de espermatozoides al hialuronano, que al correlacionar los resultados respectivos con otros estudios verifican que los daños morfológicos espermáticos tienen una relación directa sobre el test HBA.



Después de analizar minuciosamente estos hechos se puede determinar que la morfología del esperma está ampliamente relacionada con la disminución en las puntuaciones de HBA e importantemente sobre el Incremento en el Índice de Masa Corporal en pacientes con Teratozoospermia pero no significativamente sobre el progreso de la edad.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

4.1 CONCLUSIONES:

4.1.1 De los 30 pacientes analizados se concluye que:

- Al determinar el porcentaje de espermatozoides unidos al hialuronano en pacientes teratozoospermicos; 18 pacientes (60 %) con grado de teratozoospermia leve mostraron puntuaciones de HBA entre **60 % y 95%**; 8 pacientes (26,66 %) con grado de Teratozoospermia moderado mostraron puntuaciones entre **50 % y 85 %**; y 4 pacientes (13,34 %) con grado de teratozoospermia severo mostraron puntuaciones entre **10 % y 45 %** respectivamente. Proporcionando datos importantes sobre el aumento de casos de infertilidad masculina debido a Teratozoospermia Leve.

Con respecto a:

4.1.2 Edad:

- Se determinó que no existe ninguna influencia directa entre ambos parámetros(**$p < 0,05$**), debido a que los resultados proporcionados no reflejaron descensos o aumentos importantes sobre las escalas de subfertilidad que se menciono con anterioridad, es decir las puntuaciones de HBA se ha relacionado mas con alteraciones morfológicas espermáticas que con el progreso de la edad, donde los resultados tienen porcentajes similares entre los tres grupos de edades para su estudio respectivo, obteniendo de esta manera un criterio más acertado sobre el diagnóstico aplicado, pese a la afirmación de otras investigaciones que si demostraron una relación marcada, comprobando que no se cumple el planteamiento de la hipótesis nula para dicha variable.

4.1.3 Índice de masa corporal:

- Se determinó que existe una relación significativa entre ambos parámetros ($p > 0,05$), ya que el incremento del mismo disminuye la función morfológica y con ello las puntuaciones del test de HBA, manifestándose niveles altos del 25 % y 75 % en pacientes obesos con diagnóstico de subfertilidad < al 50 % y < al 20 % respectivamente, comprobando que si se cumple el planteamiento de la hipótesis nula para dicha variable.

4.2 RECOMENDACIONES:

- 4.2.1 Se recomienda seguir investigando el tema actual con un número más alto de muestras para obtener datos más confiables y accesibles.
- 4.2.2 Debido al incremento de las tasas de trastornos metabólicos u hormonales en la actualidad, aplicar esta técnica a pacientes con diabetes mellitus, hipertiroidismo o hipotiroidismo, ya que el incremento o disminución en los niveles de insulina como las hormonas tiroideas (T3, T4, TSH), repercuten sobre la cantidad de testosterona secretada que interviene en el proceso de espermatogénesis; teniendo un gran impacto sobre la infertilidad masculina.
- 4.2.3 Debido a los cambios de estilo de vida, aplicar esta técnica en fumadores activos como pasivos, comparando la cantidad de alteraciones morfológicas producidas en los unos como los otros; debido a que la fragmentación del material genético espermático se produce porque el tabaco provoca un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante la nicotina.



4.2.4 Debido a su gran importancia, aplicar esta técnica para determinar el curso correcto para el tratamiento con (FIV) que confluyen múltiples investigaciones, generando un diagnóstico más acertado al desarrollo del aumento en las tasas de embarazo, a más de ello las tasas de aborto en relación con la teratozoospermia tienen un aporte sustancial sobre el PICSI que al igual que en el test de HBA se selecciona a los espermatozoides de buena morfología por unión al hialuronano. La diferencia entre estas dos técnicas es que el PICSI, se selecciona el espermatozoide para la Inyección (ICSI) en el momento del procedimiento; aconsejando de esta manera su implementación hacia las clínicas de reproducción asistida para la selección correcta de la técnica en procedimientos biomédicos.



BIBLIOGRAFÍA

1. **VANDERZEALMEN P, HIEMER A, RUBNER P.** Blastocyst development after sperm selection at high magnification is associated with size and number of nuclear vacuoles. *Reprod Biomed Online*. 2008, pp. 17 (5): 617-627.
2. **PARMEGIANI L, COGNIGNI GE, CIAMPAGLIA W.** Efficiency of hyaluronic acid (HA) sperm selection. *J Assist Reprod Genet*. 2010, pp. 27 (1): 13-16.
3. **GONGORA RODRIGUEZ Alfredo, SANCHEZ GONZALEZ Sergio, CUBILLOS GARCIA Sandra, CUNEO PARETO Silvio.** Fragmentación del ADN del espermatozoide y su influencia en la fertilidad de la pareja.. 2011, *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción*, pp. 3 (3): 105-111.
4. **STARR C.** *Biology: A Human Orphosis*, Wadsworth, Belmont. 5a Ed. 1997. p. 600.
5. **ALBERTS B.** et al: *Molecular Biology of the Cell*. 4ta ed. New York : Garland Science, 2002. p. 600.
6. **CROW JF.** The origins, patterns and implications of human spontaneous mutation. 2000, *Nature Rev Genet*, pp. 1:40-47.
7. **CARLSON M Bruce.** *Embriología Humana y Biología del Desarrollo*. 3a ed. s.l. : Mosby, 1996. pp. 13-16.
8. **ALBERTS Bruce, JOHNSON Alexander, LEWIS Julian.** *Molecular Biology of the Cell*. 5a ed. s.l. : Garland Science, 1996. p. Capítulo 21.
9. **OVERSTREET JW, KATZ DF.** Semen analysis *Urol Clin North Am* 14. 1987. pp. (3): 441-449.
10. **Organization, World Health.** *WHO Laboratory Mnual for the Examination of Human Semen and Sperm- Cervical Interaction* Cambridge University Press. London : s.n., 1999.
11. **PEREZ M, PADRON RS.** Composición y estudio del semen. *Temas de Reproducción Masculina y diferenciación sexual*. La Habana : Científico- Técnica, 1990. pp. 36-47.
12. **WHO.** Task Force on the diagnosis and treatment of infertility. Towards more objectivity in the manegement of male infertility. *Int J Androl*. 1987. Vol. Suppl 7.
13. **RS, PADRON.** *Temas de Reproducción Masculina y diferenciación sexual*. La Habana : Científico - Técnica, 1990. pp. 48-63; 64-76; 80-164.
14. **PADRON RS, ARCE B.** *Diagnóstico y Tratamiento de la Infertilidad*. Simposio Cuba-OMS. Barcelona : Espaxs, 1973. pp. 44-127.
15. **WHO.** *WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. Cambridge University. 3a ed. 1992.



16. **PADRON RS, COLUNGA C.** Perfil hormonal en pacientes infértiles como normo, oligo y azoospermia..1984, Rev Cubana Invest Biomed, pp. 3:129-34.
17. **ZAMBONI L.** Sperm structure and its relevance to infertility. An electron microscopic study. Arch Pathol Lab Med. 1992, pp. 116:325-44.
18. **MILLER KF, GOLBERG JM, FALCONE T.** Follicle size and implantation of embryos from in vitro fertilization. 1996, Obstet Gynec, pp. 13:62-6.
19. **NAZ RK, MOTRE C, et al.** Hexokinasa present in human sperm is not tyrosine phosphorylated but its antibodies effect fertilizing capacity. J Androl. 1996, pp. 17 (2): 143-40.
20. **BAKER MA, LEWIS B, HETHERINGTON L, AITKEN RJ.** Development of the signalling pathways associated with sperm capacitation during epididimal maturation. Mol Reprod Dev. 2003, pp. 64:446-457.
21. **ALBERT B, BRAY D, LEWIS J, et al.** Molecular Biology of the Cell. 3a ed Germ Cells and fertilization. NYLondon : Garland Publishing Inc, 1994. pp. 1011-1034.
22. **BARROS C, CROSBY JA, MORENO RD.** Early steps of sperm egg interactions during mammalian fertilization. Cell Biol Int. s.l. : FASEB J, 1996, pp. 144:33-9.
23. **NOLAN JP, HAMMERSTEDT RH.** Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. s.l. : FASEB J, 1997, pp. 11:670-82.
24. **BREITBART H, SPUNGIN B.** The biochemistry of the acrosome reaction. Mol Hum Reprod. 1997, pp. 3:195-202.
25. **ABBOT A, DUCIBELLA T.** Calcium and the control of mammalian cortical granule exocytosis. s.l. : Front Biosci, 2001. 6: D792-D806.
26. **COHEN D, ELLERMAN D, CUASNICU P.** Mammalian sperm-egg fusion: evidence that epididymal protein DE plays a role in mouse gamete fusion. Biol Reprod. 2000, pp. 63: 462-468.
27. **GUZMAN AM, PALOMAR M.** Sistemas moleculares en las interacciones celulares I: fecundación en mamíferos. Gine Obst Mex. 1992, pp. 60 (11): 299-306.
28. **SPITZER D et al.** Different proteins patterns derived from follicular of mature and immature human follicle. Human Reprod. 1996, pp. 11 (4): 798-807.
29. **LOWAS DB, SANTIS M, KEEFE T.** A bridge intracytoplasmic sperm injection- high inseminations human follicle. Human Reprod. 1996, pp. 11(4):789-807.
30. **Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad Jawaharlal Nehru, Nueva Dehli 110067, India.** www.pubmed.com. [Online] 2007.
31. **PEYRON L.** Intraarticular hyaluronan injections in the treatment of osteoarthritis: state or art review. J Rheumatol. 1993, pp. 20 Suppl 39: 10-5.



32. **TAROZZI N, NADALINI M, BIZARRO D.** Sperm - hyaluronan - binding assay clinical value in conventional ivf, under Italian law. *Reprod Biomed Online*. 2009, pp. 19 (3): 35-43.
33. **COLLODEL G, MORRETI E.** Sperm morphology and aneuploidies: deffects of supposed genetic origin. *Journal Compilation Andrología*. 2006, pp. 38:208-215.
34. **DIX DJ, et al.** Targeted gene disruption of Hsp 70 - 2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis and male infertility. *Proc Natl. Acad. Sci. USA : s.n.*, 1996, pp. 93:3264-8.
35. **HUSZAR G.** Putative creatine Kinase Hisoform in human sperm is identified as the 70 Kilodalton heat shock protein Hsp A2. *Biol Reprod*. 2000, pp. 63:925-32.
36. **HUSZAR G, et al.** Sperm testing by hyaluronic acid binding: andrological laboratory assessment and sperm selection for ICSI. In *Proc. of the Sero. Simposio International conference on Biotechnology of Human Reproduction. s.l.: From research to Clinical Application, Torino, Italy, May 10-11, 2002*, pp. 149-157.
37. **JAKAB A, et al.** Intracytoplasmic sperm injection: a novel selection method for sperm with normal. Frecuency of chromosomal aneuploidies. *Fertil Steril*. 2005, pp. 84(6):1665-73.
38. **HAMAMAH S, et al.** Identification of hyaluronic acid and chondroitin sulfates in human follicular flui and their effects in human sperm motility and the outcome of in vitro fertilization. *Reprod Nutr Dev*. 1996, pp. 36:43-52.
39. **HUSZAR G, WILLETS M, CORRALS M.** Hyaluronic acid (sperm select) improves retention of sperm motility and velocity in normospermic and oligospermic specimens. *Fertil Steril*. 1990, pp. 54: 1127-34.
40. **LIN Y, et al.** A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH 20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *J Cell Bid*. 1994, pp. 125: 115-63.
41. **THALER CD, CARDULLO RA.** The initial molecular interaction between mouse sperm and the zona pellucida is complex binding even. *J Biol Chem*. 1996, pp. 271 (38): 23289-97.
42. **RANDY S, MORRIS M.D.** IVF1. [Online] 03 07, 2012. <http://www.ivf1.com/hyaluronan-binding-assay/>.
43. **SCHIRREN C.** Andrology Origin and development of a special discipline in medicine. Reflection and view in the future. *Andrología*. 1985, p. 17:117.
44. **JEQUIER AM.** Andrology, a new sub- speciality. *Br J Obstet Gynecol*. 1990, p. 97:969.
45. **POMEROL JM, ARRONDO JL.** Valoración Clínica del seminograma. *Practica Andrológica*. Barcelona : Masson Salvat, 1994, pp. 32.



46. **N, FERRANDO GILABERT.** Reproducción Asistida ORG. [Online] 05 15, 2012. <http://www.reproduccionasistida.org/tag/teratospermia/>.
47. **PRINOSILOVAP, KRUGER, SATIL, OZKAVUKCUS, LVIGUE, KOVANCIE, HUSZARG.** Selectividad de unión del ácido hialurónico para espermatozoides con morfología normal Tygerberg estricto. *Reprod Biomed Online*. 2009 Feb; pp.18 (2):177-83.
48. **BAIRD DT, COLLINS J, EGOZCUE J, EVERS LH, GIANAROLI L, LERIDON H, et al.** *Fertility and ageing. Hum Reprod Update* 2005. pp.11:261-76.
49. **LOWE X, ESKENAZI B, NELSON DO, KIDD S, ALME A, WYROBEK AJ.** Frequency of XY sperm increases with age in fathers of boys with Klinefelter syndrome. *Am J Hum Genet* 2001. pp.69:1046-54.
50. **SINGER R, SAGIV M, LEVINSKY H, COLS.** Andrological parameters in men with high sperm counts and possible correlation with age. *Archives of Andrology*. 1990, pp. 24:107.
51. **SCHWARTZ D, MJ MAYAUX, A SPIRA, MOSCATO ML, JOUANNET P, CZYGLIK F, G. DAVID.** Características del semen en función de la edad en 833 hombres fértiles. *Fétil Steril*. 1983. pp. 39:530-535. PubMed.
52. **BUJAN L, R MIEUSSET, MONDINAT C, MANSAT A, F. PONTONNIER** Morfología de los espermatozoides en los hombres fértiles y su variación relacionada con la edad. *Andrología*. 1988. pp. 20:121-128. PubMed.
53. **GIAGULLI, VA, KAUFMAN, JM, VERMEULEN, A:** Pathogenesis of the decreased androgen levels in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*; 1994, pp. 79:997-1000.
54. **ROTH, MY, AMORY, JK, PAGE, ST:** Treatment of male infertility secondary to morbid obesity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*; 2008, pp.4:415-419.
55. **QIN, DD, YUAN, W, ZHOU, WJ, CUI, YQ, WU, JQ, GAO, ES:** Do reproductive hormones explain the association between body mass index and semen quality? *Asian J Androl*; 2007, pp. 9:827-834.
56. **JENSEN TK, ANDERSSON AM, JORGENSEN N, ANDERSEN AG, CARLSEN E, PETERSEN JH, SKAKKEBAEK NE.** Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *J Androl*. 2006 May-Jun; 27.pp. (3):450-2.
57. **GUIZICK, D.S., et al.** Sperm Morphology, Motility and Concentration in Fertile and Infertile Men. *N. Engl. J. Med.* 2001. pp. 345:1388-93.



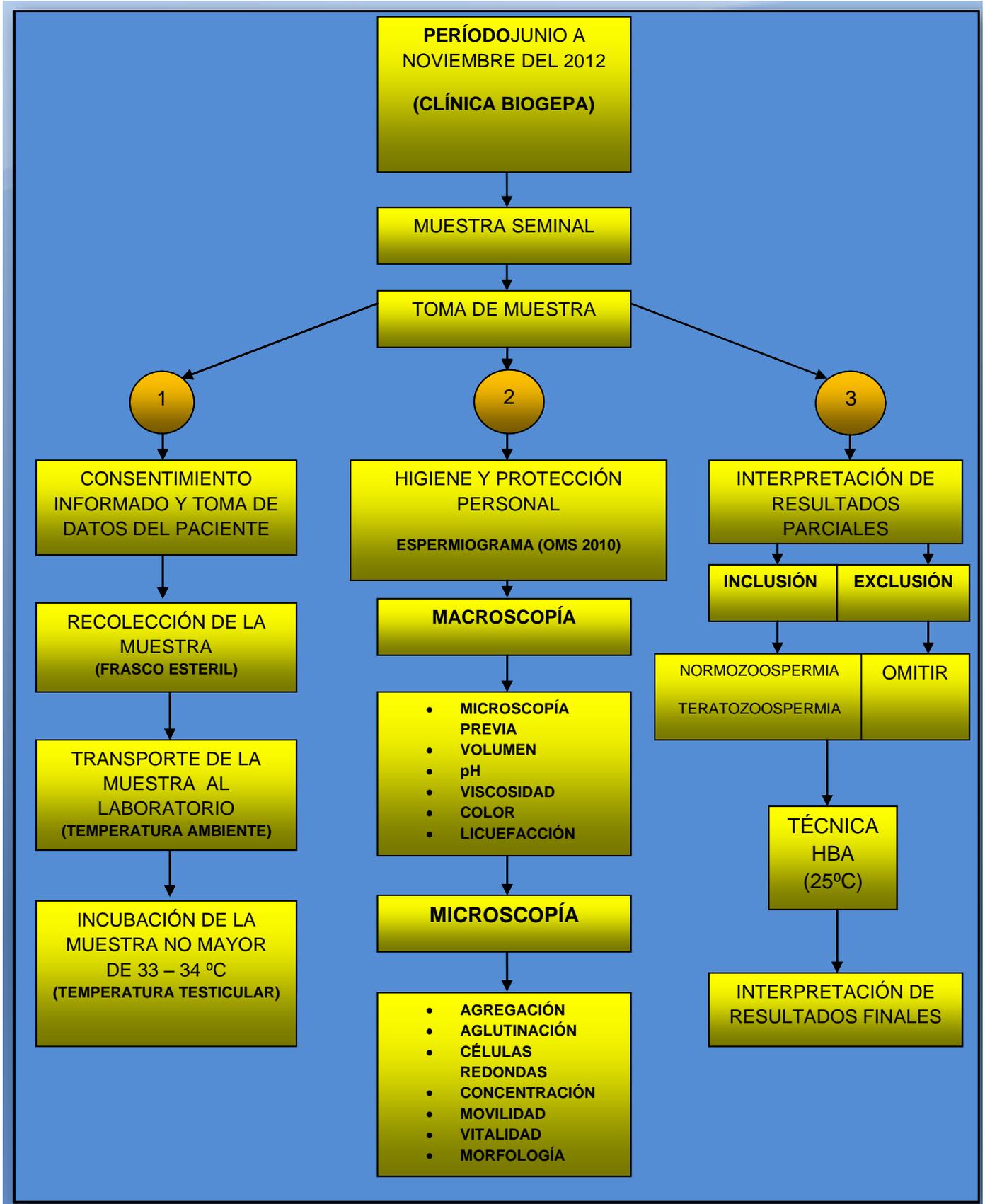
58. **GUNALP, S. et al.** A Study of Semen Parameters with Emphasis on Sperm Morphology in a Fertile Population: an Attempt to Develop Clinical Thresholds. Hum. Reprod. 2001. pp. 16:110-14.

59. **MENKVELD, R. et al.** Semen Parameters, Including WHO and Strict Criteria Morphology, in a Fertile and Subfertile Population: an Effort Towards Standardization of In-Vivo Thresholds. Hum. Reprod. 2001. pp. 16:1165-71.

60. **OMBELET, W. et al.** Semen Parameters in a Fertile Versus Subfertile Population: a Need for Change in the Interpretation of Semen Testing. Hum. Reprod. 1997. pp. 12:987-93.

ANEXOS

(ANEXO 1) Ubicación geográfica.



(ANEXO 2) Consentimiento Informado.

CLÍNICA BioGÉPA MEDICINA REPRODUCTIVA Y GINECOLOGÍA



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ESPERMATOZOIDES UNIDOS AL HIALURONANO EN PACIENTES TERATOZOOSPERMICOS Y SU RELACIÓN CON LA EDAD E IMC APLICADOS EN LA CLÍNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA BIOGÉPA CUENCA ECUADOR

OBJETIVO:

- Determinar el porcentaje de espermatozoides unidos al hialuronano en pacientes teratozoospermicos de la Clínica BioGÉPA Cuenca Ecuador y su influencia en la infertilidad.
- Relacionar la cantidad de espermatozoides unidos al hialuronano con la edad e IMC del paciente.
- Analizar la factibilidad de la técnica para implementar a los pacientes teratozoospermicos como un diagnostico más exhaustivo y mejor orientación para seleccionar la técnica de reproducción asistida.

EXPLICACION:

HIALURONIDA SA: Es una enzima hidrolítica, que se encuentra en la zona anterior de la cabeza de los espermatozoides y su función principal es degradar la corona radiada durante el proceso de fecundación.

Es decir la separación progresiva por efecto colaborativo de varios espermatozoides de las células del cúmulo que rodean al ovocito, mediante la hidrólisis del polímero que las mantiene unidas, el ácido hialurónico.

PROCEDIMIENTO:

- Es un procedimiento que consiste en un sistema, con una placa con ZP artificial, y los espermatozoides que logran unirse a ella serán seleccionados. Esta selección, además de inferir la madurez del espermatozoide, así como las propiedades bioquímicas del mismo, ha demostrado que los espermatozoides que se adhieren a la ZP artificial presentan una menor fragmentación del ADN, así como menor frecuencia de aneuploidias cromosómicas y adecuada morfología nuclear.



BENEFICIOS. Se ha establecido su utilidad clínica a través una mayor tasa de fecundación, mejoría en la calidad embrionaria y mayor tasa de implantación respecto al FIV e ICSI, por lo que su mayor utilidad ha sido en pacientes con alto porcentaje de fragmentación del ADN, así como en pacientes con ciclos previos fallidos con FIV-ICSI, y mala calidad embrionaria.

RIESGOS. Ninguno

CARTA DE ACEPTACIÓN.

PACIENTE

Yo, _____, con número de oédula _____ he leído y comprendido la información de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio, pueden ser publicados o difundidos con fines científicos, por lo cual convengo en participar en este estudio de investigación.

Firma del paciente

Fecha

INVESTIGADORES

Hemos explicado al Sr. _____ La naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Firma de los investigadores

Fecha

Sello de la Clínica



(ANEXO 2.1) Datos del paciente y ficha de análisis.



LABORATORIO DE ANDROLOGÍA BioGEPa

DATOS DEL PACIENTE

Fecha:.....Hora:.....

Nombre del paciente:.....

Edad:.....Peso:..... Altura:..... IMC:.....

Hijos:.....

Días de abstinencia:..... Lugar de Recolección:.....

Medico:.....

Observaciones:

Paperas:.....

Visita al urólogo:.....

Infecciones Genitales:.....

Procesos febriles:.....

Medicamentos que está tomando:.....

Consumo de alcohol:.....

Consumo de tabaco:.....

Teléfonos:

Convencional: Celular:.....



LABORATORIO DE ANDROLOGÍA Bio GEP A

FICHA DE ANÁLISIS

SEMEN Total: _____ Parcial _____ Hora de licuefacción: _____
 Volumen ml: pH:
 Viscosidad: Lic parcial: Lic total:
 Aglutinación: Agregación: Debris:

<p>Evaluación microscópica</p> <p>Concentración mill/ml:</p> <p>Vitalidad:</p> <p>Células Redondas mill/ml:</p> <p>Leucocitos mill/ml:</p> <p>Hemáties:</p>	<p>% Morbilidad</p> <p>Grado 0:</p> <p>Grado I:</p> <p>Grado II:</p> <p>Grado III:</p> <p>TMS (mill):</p>
<p>Morfología</p> <p>Normales:</p> <p>Amorfas cabeza:</p> <p>Amorfas p media:</p> <p>Amorfas cola:</p> <p>Índice Teratozoospermia:</p>	<p>HBA (Adhesión de espermatozoide al hialuronano):</p> <p>% de Espermatozoides Móviles Unidos:</p> <p>% de Espermatozoides Móviles no Unidos:</p> <p>% de Espermatozoides Totales Unidos:</p>

(ANEXO 3) Toma de muestra de semen y datos del índice de masa corporal.

1. Tomar el Peso y la talla del paciente para obtener su Índice de Masa Corporal respectivo. (Balanza Peso Talla Health - O-Meter 500 K).



2. Tras 3 a 4 días de abstinencia sexual, lavar las manos con abundante agua y jabón y los genitales solamente con agua. (Cuarto Privado). En caso de tener celular apagarlo para evitar interferencias.



3. Mediante Masturbación, recolectar la muestra seminal en un frasco estéril previamente abierto para evitar conflictos, procurando depositar todo el contenido en el recipiente.



4. Una vez recolectada la muestra, tapar bien el frasco, para evitar el contacto frente a agentes externos.



5. Al término de la recolección el paciente deberá volver a lavar sus manos.



(ANEXO 4) Higiene y protección personal.

1. Colocarnos el Uniforme de Protección Personal otorgado por la Clínica.



2. Lavarse las manos y antebrazos con agua.



4. Enjuagamos y secamos las manos y antebrazos.



3. Acentuar con el codo sobre el expulsor de Jabón Líquido para evitar contaminaciones y enjabonamos las manos y antebrazos.

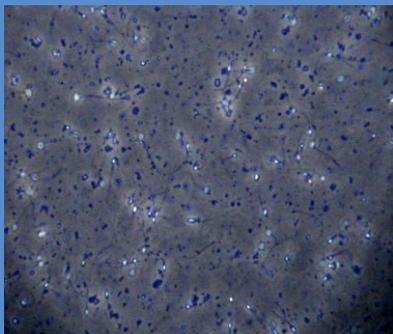
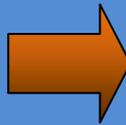


(ANEXO 5) Recepción, transporte y procesamiento de las muestras.

1. Transportar la muestra seminal a temperatura ambiente hacia el laboratorio tan pronto como sea posible, procurando que el frasco este perfectamente cerrado e Incubar la muestra a una temperatura entre 33 - 34°C (temperatura testicular).



2. Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos para visualizar el estado de la muestra (20 o 40 x).



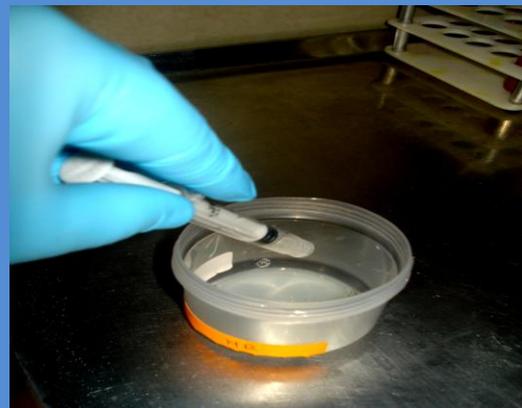
MUESTRA IDONEA

(ANEXO 6) Volumen seminal.

1. Con una jeringuilla, extraer la muestra seminal a través de las paredes del recipiente.



2. Medir el volumen y devolver el contenido por las paredes para evitar la formación de burbujas.



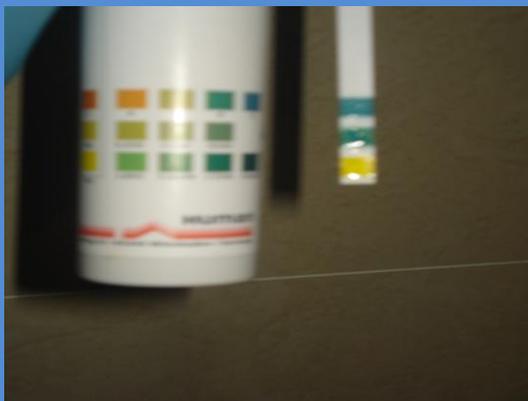
(ANEXO 7) pH seminal.

1. Homogenizar la muestra seminal y esparcir la tira reactiva uniformemente sobre el contenido seminal.



3. Comparar resultados con el test del tubo.

2. Esperar que se forme el color en la zona inoculada (<30 segundos).



(ANEXO 8) Viscosidad seminal, color.

Viscosidad

1. Durante la licuefacción realizar la extracción por las paredes del recipiente con una jeringuilla.

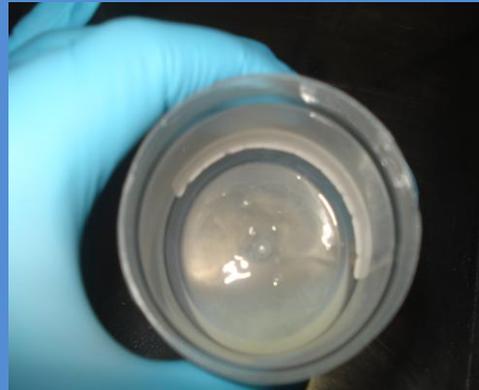


2. Dejar caer la muestra por gravedad y observar la longitud del filamento mixoide que se forma.



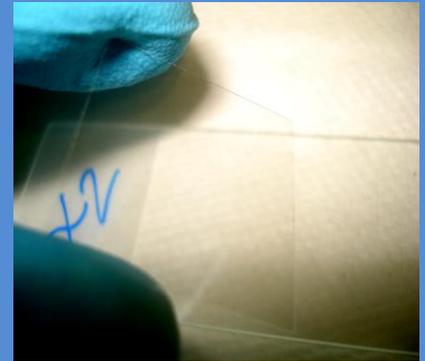
Color

1. Determina las variaciones de color presente en la muestra seminal.



(ANEXO 9) Microscopía: Agregación, aglutinación, células redondas.

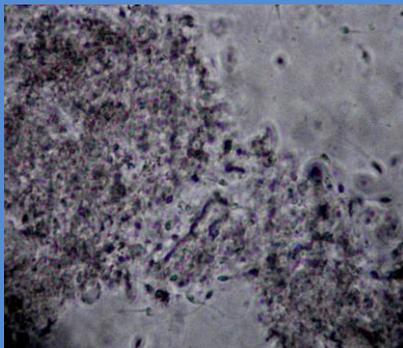
1. Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL entre un porta y cubreobjetos. Observar con lente de 20 o 40 x.



Agregación

Aglutinación

Células Redondas



DEBRIS

COLA - COLA

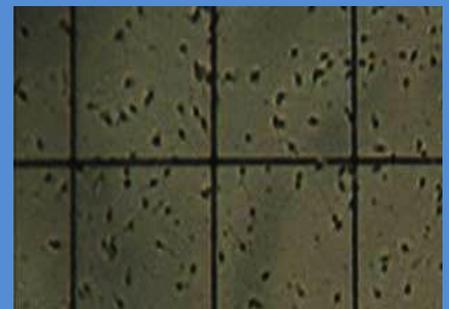
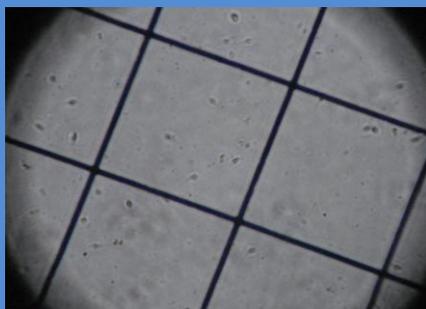
CÉLULAS GERMINALES

(ANEXO 10) **Concentración espermática.**

1. Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL de semen en el centro de la cámara de MAKLER.



2. Tapar la cámara, observar y realizar el conteo de espermatozoides con lente de 20 o 40 X (Contar todas las celdillas de una misma fila y multiplicar por 10^6 . Podemos valernos de un contador hematológico.



CONCENTRACIÓN DISMINUIDA

CONCENTRACIÓN NORMAL

(ANEXO11) **Movilidad espermática.**

1. Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 μ L entre un porta y cubreobjetos, dejando en reposo 60 segundos. Observar con lente de 20 o 40x.



2. Contar por duplicado 200 espermatozoides y definir por categorías en porcentaje. Podemos valernos de un contador hematológico.

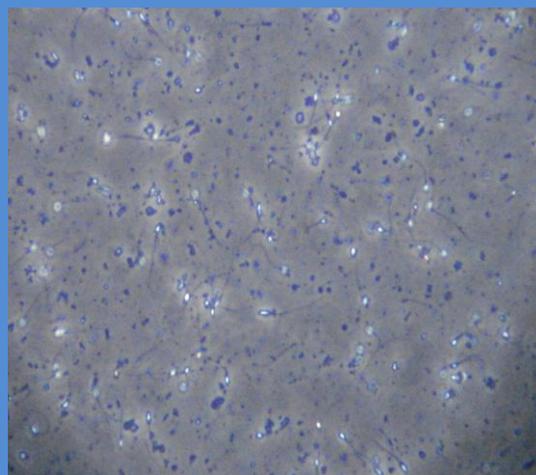
**MOVILIDAD
PROGRESIVA**



**MOVILIDAD
NO
PROGRESIVA**



INMÓVIL

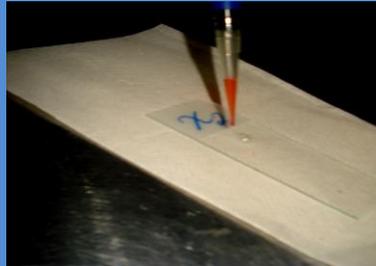


(ANEXO 12) Vitalidad espermática.

1. Homogenizar la muestra seminal y colocar de 7 a 10 uL de semen sobre un portaobjetos.



2. Eosina Solamente
2.1 Colocar una gota del reactivo de eosina sobre la muestra.



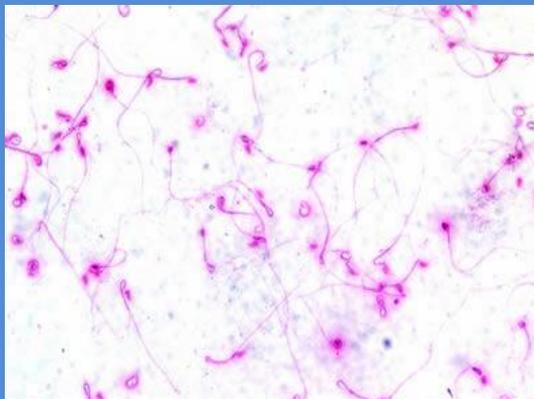
2.2 Con un cubreobjetos, mezclar y deslizar para generar una sola fase y cubrir.



3. Esperamos 30 segundos y observamos con lente de 20 o 40 x, realizando el conteo de 200 espermatozoides, determinando el porcentaje de espermatozoides muertos y vivos. Podemos valernos de un contador hematológico.

**TEÑIDOS
DE COLOR
ROSA:
MUERTOS**

**SIN TEÑIR:
VIVOS**



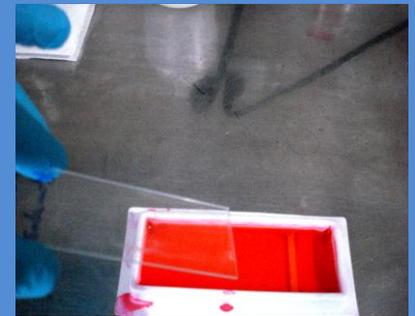
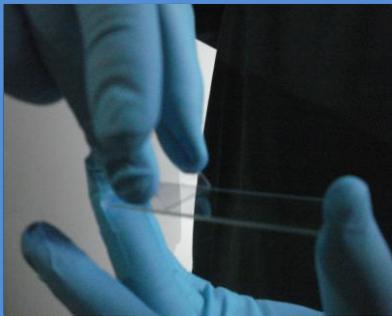
(ANEXO 13) **Morfología espermática.**

1. Homogenizar la muestra seminal, realizar un extendido de la muestra, procurando un frotas fino, sin segmentos ni formación de burbujas (micro cantidad de muestra) y esperar que se seque.

2. Kit Diff Quick

2.1 Sumergir el portaobjetos en el Fijador durante 15 segundos y esperar que se seque.

2.2 Sumergir el portaobjetos sobre la solución 1 durante 10 segundos, drenando el exceso verticalmente sobre papel absorbente.



3. Sumergir el portaobjetos en agua de 10 a 15 veces para drenar el exceso de tincura, esperar que se seque en forma vertical, colocar una gota de aceite de inmersión sobre la placa y visualizar con lente de 100X. Realizar el conteo de 200 espermatozoides, calculando el porcentaje entre formas normales y anormales. Los espermatozoides adquieren un color purpura. Podemos valernos de un contador hematológico.

2.3 Sumergir la Placa sobre la solución 2 durante 5 segundos, drenando el exceso verticalmente sobre papel absorbente.

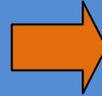


CENTRO: NORMAL

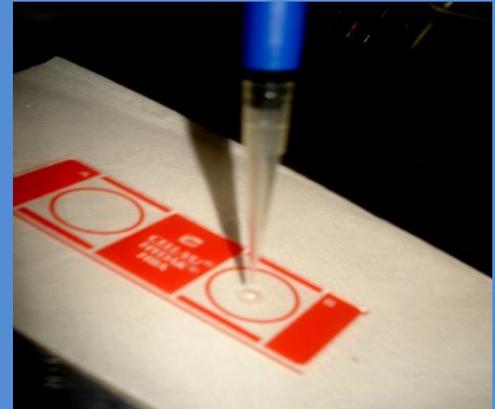
DERECHA: ANORMALES

(ANEXO 14) Adhesión del Espermatozoide al Hialuronano (HBA- Cualitativo).

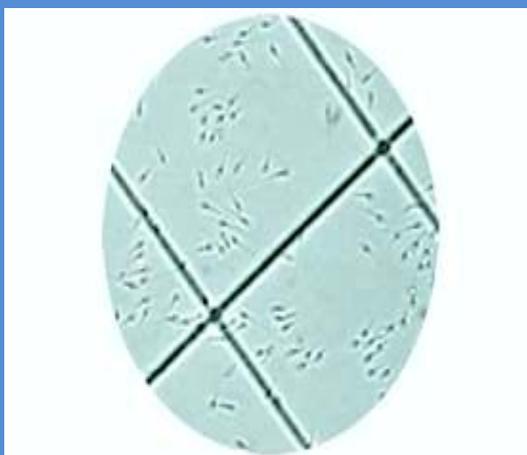
1. Homogenizar la muestra seminal y realizar la prueba a 25 °C.



2. Pipetear 7 – 10uL de muestra y colocar sobre el centro de la cámara.



4. Realizar el conteo de espermatozoides móviles unidos (cabeza unida sin moverse y cola en movimiento) y no unidos (nadando libremente) al hialuronano con lente de 20 o 40 X en las mismas casillas de la cuadrícula. El conteo es exitoso cuando el total de las 2 formas se encuentra entre 100 – 200 espermatozoides. Podemos valernos de un contador hematológico.



3. Tapar correctamente la cámara, evitando formación de burbujas, logrando el reposo de la placa a temperatura ambiente por 10 minutos (espermatozoides entran en contacto con la capa) pero no más de 20 minutos (Perdida de motilidad).



5. UNIDADES DE MEDIDA:

1. **°C**: Grados Celsius.
2. **u**: Micras.
3. **mL**: Mililitros.
4. **uL**: Micro litros o Landas.
5. **Kg**: Kilogramos.
6. **Kg/m²**: Kilogramo por metro al cuadrado.
7. **%**: Porcentaje.
8. **U pH**: Unidades de pH.
9. **Mill/mL**: Millones Por Mililitro.
10. **mm²**: Milímetro al cuadrado.

- **ÍNDICE DE ABREVIATURAS:**

1. **HA:** Hialuronano o ácido Hialurónico.
2. **HBA:** Ensayo de Unión al Hialuronano.
3. **IUI:** Inseminación Intrauterina.
4. **FIV:** Fertilización Invitro.
5. **ICSI:** Micro Inyección Intracitoplasmática Espermática.
6. **ZP:** Zona Pelúcida.
7. **PICSI:** Selección del Espermatozoide por unión al Acido Hialurónico.
8. **FSH:** Hormona Foliculoestimulante.
9. **LH:** Hormona Luteinizante.
10. **PRL:** Prolactina.
11. **GnRH:** Hormona Liberadora de Gonadotrofina.

- **GLOSARIO DE TÉRMINOS:**

1. **Protaminas:** Proteínas de bajo peso molecular (5000Da) que contienen aminoácidos básicos como arginina y algo de lisina que se localizan en el núcleo espermático de muchas especies.
2. **Histonas:** Proteínas nucleares más abundantes que componen la cromatina y que dan lugar al empaquetamiento de ADN. Están compuestos por aminoácidos básicos como lisina y arginina.
3. **Caveolinas:** Proteínas integrales de la membrana plasmática presentes en estructuras celulares denominadas caveolas (balsas lipídicas).
4. **Síndrome de Klinefelter:** Anomalía cromosómica que afecta solamente a los hombres, provocando hipogonadismo. Ocurre por la separación incorrecta de los cromosomas homólogos durante las meiosis que dan lugar a los gametos de uno de los progenitores, dando lugar en el 75% de los casos a un cariotipo (47, XXY).
5. **Aplasia Germinal:** Alteración en los testículos, caracterizada por la ausencia total de células germinales precursoras de los espermatozoides.
6. **Síndrome de Kallmann:** Enfermedad hereditaria autosómica dominante que repercute en la funcionalidad normal del hipotálamo, el cual no produce la hormona peptídica GnRH, que estimula la secreción de las hormonas hipofisarias (FSH y LH) estimuladoras de las hormonas (gonadotrofinas).
7. **Hidrocele:** Acumulación patológica de líquido seroso en el interior de una cavidad en el Cuerpo humano.
8. **Hipospadias:** Anomalía congénita debida a una fusión incompleta de los pliegues uretrales, lo que da lugar a que el meato urinario no se localice al final del glande, sino en algún punto entre éste y el perineo.
9. **Fibrosis Quística:** Enfermedad hereditaria que provoca la acumulación de moco espeso y pegajoso en los pulmones, el tubo digestivo y otras áreas del cuerpo. Es uno de los tipos de enfermedad pulmonar crónica más común en niños y adultos jóvenes, y es un trastorno potencialmente mortal.



10. **Varicocele:** Dilatación de las venas a lo largo del cordón que sostiene los testículos de un hombre.
11. **Criptorquidia:** Es el no descenso de los testículos hacia la cavidad escrotal.
12. **Aneuploidías Cromosómicas:** Hace referencia al número de cromosomas, que pueden dar lugar a enfermedades genéticas.
13. **Bindina:** Proteína que desempeña la reacción acrosómica con la función de adherirse a las moléculas receptoras específicas presentes en el óvulo.
14. **Secretagogo:** Sustancia que hace que otra sustancia sea liberada o secretada.
15. **Debris:** Tipo de suciedad microscópica que mantiene a los espermatozoides agregados.