

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGIA



Seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático en
pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica
Privada de Chimbote 2021.

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE LICENCIADO
EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORES:

Bach. De la Cruz Leal, Jhoselin Yajayra

ASESOR:

Mg. Villanueva Carlos, José Manuel.

ORCID: 0000-0002-5056-0001

Nuevo Chimbote- Perú

2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



**“SEMINOLOGÍA E ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO
EN PACIENTES CON PROBLEMAS DE FERTILIDAD ATENDIDOS EN UNA
CLÍNICA PRIVADA DE CHIMBOTE 2021”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR:

Bach. DE la Cruz Leal Jhoselin Yajayra

Revisado y aprobado por el Asesor

MG. VILLANUEVA CARLOS JOSÉ MANUEL

DNI: 32733772

ID ORCID: 0000-0002-5056-0001

NUEVO CHIMBOTE- PERÚ

2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



**“SEMINOGRAMA E ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DEL ADN
ESPERMÁTICO EN PACIENTES CON PROBLEMAS DE FERTILIDAD
ATENDIDOS EN UNA CLÍNICA PRIVADA DE CHIMBOTE SAC 2021”.**

**TESIS PARA OBTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR:

Bach. De la Cruz Leal Jhoselin Yajayra

Revisado y aprobado por el jurado evaluador:

Dr. Carlos Azañero Díaz

Presidente

DNI: 18093785

ORCID: 0000-0002-5612-4104

Mg. Villanueva Carlos José Manuel

Integrante

DNI:32733772

ORCID: 0000-0002-5056-0001

Mg. Lecca Zavaleta Víctor

Integrante

DNI: 42636735

ORCID: 0000-0002-3759-8128

ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias, siendo las 12:00 horas del día 12 de abril del 2024, dando cumplimiento a la Resolución N° 547-2023-UNS-FC, se reunió el Jurado Evaluador presidido por el Dr. Carlos Alberto Azañero Díaz, teniendo como miembros al Ms.C. Víctor Eduardo Lecca Zavaleta (secretario) y al Ms.C. José Manuel Villanueva Carlos (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de **Licenciado en Biotecnología**, realizado por la tesista **Br. Jhoselin Yajayra De La Cruz Leal**, quien sustentó la tesis intitulada: "**Seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático en pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una clínica privada de Chimbote SAC 2021**".

Terminada la sustentación, la tesista respondió a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como **APROBADA**, asignándole un calificativo de **17 puntos**, según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU-R-UNS).

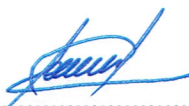
Siendo las 13:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad.



.....
Dr. Carlos Alberto Azañero Díaz
Presidente



.....
Ms.C. Víctor Eduardo Lecca Zavaleta
Secretario



.....
Ms.C. José Manuel Villanueva Carlos
Integrante

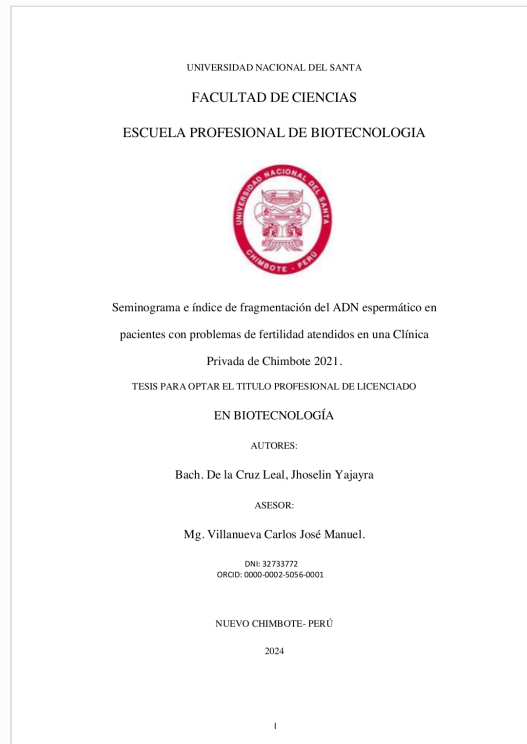


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Jhoselin Yajayra De la Cruz Leal De la Cruz Leal
Título del ejercicio: 2023 - II
Título de la entrega: Seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático...
Nombre del archivo: 02-04-24_nueva_informaci_n_TESIS_UN.S.pdf
Tamaño del archivo: 2.25M
Total páginas: 75
Total de palabras: 12,070
Total de caracteres: 68,097
Fecha de entrega: 08-abr.-2024 02:31p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 2200761601



Seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático en pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote 2021.

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.ub.edu.ar Fuente de Internet	1%
2	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	ww1.docero.mx Fuente de Internet	1%
4	www.revistafertilidad.org Fuente de Internet	1%
5	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
6	www.goconqr.com Fuente de Internet	1%
7	Submitted to Universidad Anahuac México Sur Trabajo del estudiante	1%
8	eprints.ucm.es Fuente de Internet	1%

DEDICATORIA

*A Dios, por brindarme salud y guiarme
en cada paso de mi vida.*

A mis amados padres,

*Jaime De la Cruz y Ludi Leal, por sus
consejos, su apoyo incondicional y su
infinito amor, ya que todo lo que soy, es
gracias a ellos.*

*A mi pareja, quien ha sido un pilar importante
en mi vida.*

*Y primordialmente dedico esta tesis,
a mi amado hijo Leonel Esteban,
quien es mi motivo y razón
de vivir.*

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer a mi casa de estudios, la Universidad Nacional del Santa, por haberme permitido la oportunidad de ser parte de ella para estudiar mi hermosa carrera, así como a los docentes que fueron parte de mi formación académica, para obtener todos los conocimientos.

Quiero agradecer, a mi profesor y Asesor de tesis Mg. José Manuel Villanueva, por haberme apoyado y asesorado en el desarrollo de mi tesis.

Y para finalizar, quiero agradecer a mi profesor Amador Rojas, quien ha estado conmigo brindándome sus conocimientos, asesoría y toda su paciencia, para orientarme en el desarrollo de mi tesis.

ÍNDICE

Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento.....	v
Resumen.....	x
Abstrac	xi
I.Introducción.....	1
1.1. Descripción y Formulación del problema.....	1
1.2. Objetivos.....	2
1.3. Hipótesis.....	3
1.5. Justificación e importancia.....	4
II.Marco teórico.....	5
2.1. Antecedentes.....	5
2.2. Marco conceptual	9
2.2.1. Sistema reproductor masculino.....	9
2.2.2. Embriología del aparato reproductor.....	9
2.2.3. Fisiología espermática.....	10
2.2.4. Anatomía del aparato reproductor masculino.....	12
2.2.5. Fertilidad / infertilidad masculina.....	13
2.2.6. Pruebas de laboratorio para estudio de fertilidad masculina.....	16
2.2.6.1. El Seminograma.....	16
2.2.6.2. Fragmentación de ADN espermático.....	18
III.Materiales y métodos.....	22
3.1. Método para obtención de la muestra seminal.....	23
3.2. Técnica de seminograma.....	24
3.3. Técnica de la dispersión de la cromatina (SCD).....	25
3.4. Análisis estadístico.....	26

IV.Resultados y discusión.....	27
4.1. Propuesta de Investigacion.....	34
V.Conclusiones y recomendaciones.....	36
VI.Referencias bibliográficas.....	39
VII.Anexos.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Examen macroscópico y microscópico de la muestra de semen.....	16
Tabla 2. Índice de Fragmentación de ADN espermático.....	21
Tabla 3. Análisis estadístico.....	26
Tabla 4. Distribución de la población según edad/etapa de vida	27
Tabla 5. Características químicas del Semen	28
Tabla 6. Volumen y concentración espermática	29
Tabla 7. Características de los espermatozoides	30
Tabla 8. Estudio de fragmentación de ADN espermático y Potencial de Fertilización.....	31
Tabla 9. Resultados del Índice de fragmentación de ADN espermático.....	32
Tabla 10. Análisis diferencial según análisis estadístico ANOVA.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espermatozoide normal	9
Figura 2. Defectos de morfología de los espermatozoides.....	10
Figura 3. Gametogénesis espermática.....	11
Figura 4. Partes del espermatozoide Cabeza y cuello.....	11
Figura 5. Estructura interna del testículo humano.....	12
Figura 6. Anatomía del Pene.....	13
Figura 7. Funcionamiento del aparato reproductor.....	14
Figura 8. La espermatogénesis.....	15
Figura 9. Movilidad espermática.....	17
Figura 10. Interpretación del seminograma.....	18
Figura 11. Fragmentación de ADN.....	19
Figura 12. Interpretación del Test SCD.....	20
Figura 13. Interpretación del Ensayo Tunel.....	21

RESUMEN

La presente investigación, planteó como propósito la evaluación de la calidad seminal en pacientes con problemas de fertilidad que fueron atendidos en una clínica privada de Chimbote SAC en el año 2021 mediante metodología de investigación básica, descriptiva y no experimental que incluyó a 65 pacientes con indicación médica de estudio de seminograma e Índice de Fragmentación de ADN espermático. Para el seminograma se aplicó la observación macroscópica y microscópica de la muestra de semen y para el estudio de fragmentación de ADN espermático, se utilizó parte de la biotecnología, que gracias al uso de herramientas tecnológicas permitió llevar a cabo el estudio del material genético del espermatozoide, en donde se aplicó el método de Dispersión de la Cromatina de ADN espermático (SCD), obteniendo como resultados: según edad 86,2% entre 30 y 60 años; según seminograma 32,5% presentaron alteraciones de vitalidad y morfología espermática y en el 67,5% presentaron un seminograma normal, en relación al estudio de fragmentación de ADN el 69,2% presentaron según método de dispersión de la cromatina (SCD) alteración de la integridad de ADN espermático. Conclusión: se evidenció que existen casos de varones con problemas de fertilidad incluso con seminograma normal y confirmados con estudio de fragmentación de ADN espermático.

Palabras claves: Seminograma, índice de fragmentación ADN espermático

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate seminal quality in patients with fertility problems who were treated in a private clinic in Chimbote SAC in 2021 using basic, descriptive and non-experimental research methodology that included 65 patients with indication medical study of seminogram and sperm DNA Fragmentation Index. For the seminogram, macroscopic and microscopic observation of the semen sample was applied and for the study of sperm DNA fragmentation, part of biotechnology was used, which thanks to the use of technological tools allowed the study of the genetic material of the sperm to be carried out. , where the Sperm DNA Chromatin Dispersion (SCD) method was applied, obtaining the results: according to age, 86.2% between 30 and 60 years; According to the sperm analysis, 32.5% presented alterations in vitality and sperm morphology and in 67.5% they presented a normal sperm analysis. In relation to the DNA fragmentation study, 69.2% presented alterations according to the chromatin dispersion method (SCD). of sperm DNA integrity. Conclusion: it was evident that there are cases of men with fertility problems even with a normal seminogram and confirmed with a sperm DNA fragmentation study.

Keywords: Seminogram, sperm DNA fragmentation index

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Descripción y formulación del problema

La infertilidad es un problema de salud que puede afectar la pareja cuando existe el deseo de procrear, a la mujer se le atribuye el 50% de las causas de infertilidad y al varón 20%. Los factores de la infertilidad masculina se asocian a enfermedades como la diabetes, obesidad, hipertensión arterial, endocrinos, hábitos nocivos, estilos de vida no saludables, historia de infertilidad familiar oncológica, y genéticos (Palma & Vantman, 2021).

El impacto de la infertilidad en el mundo involucra 48 millones de parejas sexualmente activas y 186 millones entre hombres y mujeres que en un periodo de 12 meses de vida sexual regular no logran un embarazo, las causas pueden clasificarse como primarias que son atribuidas al sujeto (hombre o mujer) y secundarias producto de una causa externa (lesión, trauma) o interna (adquirida) (OMS, 2021).

Las estadísticas de infertilidad pueden variar según tipo de sociedad y calidad de vida de las personas, en Oceanía, África y Medio oriente alcanzando una tasa de infertilidad del 8% de la población sexualmente activa. En Inglaterra 1 de cada 7 parejas no pueden concebir, en Estados Unidos la tasa de infertilidad varía del 10% al 15% y está relacionado a la maternidad o paternidad tardía teniendo en cuenta que la fecundación tiene un éxito \geq al 70% antes de los 30 años, y los mayores de 35 años alcanza el 40% (Ilaya, 2019).

Para el diagnóstico específico de infertilidad masculina tenemos que considerar los siguientes aspectos: a) elaboración de una exhaustiva historia clínica con revisión de antecedentes familiares de infertilidad; b) examen físico, y c) pruebas de laboratorio como el seminograma y fragmentación de ADN, pruebas que tienen una eficacia, sensibilidad y especificidad comprobada (Lindsay & Vitrikas, 2015).

A nivel nacional alrededor del 15% de las parejas no pueden procrear, 40% de las causas se atribuyen al varón y el 20% a ambos (Escudero, 2021). A nivel local información referente al problema de investigación es muy restringida por cuanto los exámenes de seminografía y fragmentación de ADN espermático no se realizan en establecimiento de salud público, razón por la cual planteamos el siguiente problema

de investigación.

¿Cuáles son las características del Seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático en pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote SAC 2021?

1.2. Objetivos

1.2.1. General:

Determinar las características del seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático en pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote SAC 2021.

1.2.2. Específicos:

- ✓ Analizar los resultados del seminograma en pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote SAC durante el año 2021, incluyendo los parámetros macroscópicos y microscópicos de la muestra seminal del paciente.
- ✓ Determinar el índice de fragmentación del ADN espermático en la población de estudio y compararlo con valores de referencia establecidos para evaluar la integridad del material genético en los espermatozoides.
- ✓ Evaluar la correlación entre los parámetros del seminograma y el índice de fragmentación del ADN espermático, con el fin de determinar si existen relaciones significativas entre la calidad seminal y la integridad genética de los espermatozoides en esta población.
- ✓ Proponer recomendaciones para la práctica clínica basadas en los hallazgos obtenidos, con el objetivo de mejorar la evaluación y el manejo de la infertilidad masculina en el contexto de la Clínica Privada de Chimbote SAC y otras instituciones de salud similares.

1.3. Hipótesis.

Teniendo en cuenta que el planteamiento del problema, se identificó las variables planteando las siguientes hipótesis de investigación:

H0: No hay diferencias significativas en las características del seminograma y el índice de fragmentación del ADN espermático entre los pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote SAC durante 2021.

H1: Existen diferencias significativas en las características del seminograma y el índice de fragmentación del ADN espermático entre los pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote SAC durante 2021.

1.4. Justificación e importancia

1.4.1. Justificación de la investigación

1.4.1.1. Científica: El presente trabajo de investigación aportó información relevante sobre los casos de infertilidad masculina diagnosticada en los servicios de salud privados y no forman parte de la estadística oficial del ministerio de salud (MINSA).

1.4.1.2. Metodológica: como métodos de abordaje de la población de estudio se aplicó la observación directa que permitió entrevistar al paciente y según los métodos de estudio de laboratorio se utilizó el seminograma para conocer las características microscópica y macroscópica de una muestra de semen y su contenido y para evaluar lesión de la información genética se utilizó el índice de fragmentación de ADN espermático.

1.4.1.3. Social. Los resultados oportunos y con calidad permitió a los pacientes recibir de parte de su tratante el tratamiento adecuado que benefició también a la pareja y entorno social y familiar.

1.4.2. Importancia de la investigación

A través de esta investigación, se dio a conocer a la familia y sociedad que existen dos valiosos exámenes que permitieron identificar los problemas de fertilidad asociados a la población de varones de Chimbote, uno de los exámenes aplicados fue el seminograma, que no tiene valor predictivo, pero que informa la fertilidad del varón mediante las características físicas y morfológicas del espermatozoide. Asimismo, puede ocurrir que en pacientes con resultados de seminograma normal han presentado problemas de fertilidad, por lo que la ciencia de la mano con la biotecnología desarrollaron nuevas tecnologías como el estudio de fragmentación de ADN espermático, que permite mediante la técnica de la dispersión de la cromatina (SCD), evaluar la integridad del ADN contenido en la cabeza del espermatozoide, por lo que resulta importante su aplicación como método de confirmación diagnóstica en varones con problemas de fertilidad.

1.4.3. Limitaciones del trabajo: el tiempo de espera para la obtención de la muestra de semen fue la limitación que se evidenció teniendo el paciente que ser citado en otra fecha y con mejor disponibilidad para este procedimiento.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Estudio realizado en Brasil sobre diagnóstico inicial con problemas de fertilidad masculina mediante seminograma, incluyó a 62 pacientes entre 25 y 40 años, revelando que los problemas de fertilidad se asocian a volumen, aspecto, viscosidad y licuefacción alterados, dando como resultados un 29,03% de volumen espermático inadecuado, 9,68% aspecto irregular, 29,7% viscosidad alterada y 1,74% licuefacción alterada. Por tanto, el estudio concluyó que las muestras de espermatozoides deben estar sometidas a estudio de fragmentación de ADN espermático para confirmación de infertilidad masculina (Belfort *et al.*, 2023).

Estudio relacionado a infertilidad masculina, aplicando el Índice de Fragmentación Espermática (IFE) mediante Ensayo de Dispersión de la Cromatina espermática y seminograma realizado en Cuba, por medio de 377 pacientes entre 21 y 66 años, según resultados revelaron 54,1% de seminograma alterado y 53,8% daños en el material genético. Se concluyó que los principales factores de infertilidad masculina se asociaron a varones de mayor edad y enfermedades previas como varicocele, diabetes, infecciones urinarias recurrentes (Armenteros *et al.*, 2022).

Una investigación realizada en un servicio de urología de Cuba aplico la técnica del espermiograma como tamizaje de potenciales casos de infertilidad en 82 adultos con factores de riesgo. Resultados: 62% era menor de 60 años, 44% considerado como fumador, 17% bebedor habitual, 52,4% padeció de varicocele y 25,1 de ITS. Según resultados del espermiograma, el 92,7 % se identificó como astenozoospermia, 42,6% teratozoospermia, un estudio complementario de una muestra de orina reportó *Ureaplasma urealyticum*, el 41,1% astenozoospermia y 28,1% teratoastenozoospermia, dicha investigación concluyó, que el germen mencionado está asociado a casos de infertilidad masculina (Tejeda *et al.*, 2022).

Otra investigación realizada a 12 trabajadores en Cuba, permitió evaluar los efectos a la exposición del plomo sobre la calidad espermática. Revelaron como resultado que el 72,7% resultaron con espermiograma normal y 27,3% alterado, asimismo el 100% resulto con índice de fragmentación alterado. Conclusión: la exposición

prolongada al plomo está asociada a la mala calidad de los espermatozoides y daño al material genético espermático de los trabajadores (Tania *et al.*, 2022).

Una investigación realizada en una universidad pública de Argentina aplicó el espermiograma para determinar la calidad del contenido seminal en 25 pacientes con referencia de problemas de fertilidad, según el estudio microscópico se halló los siguientes parámetros: volumen $2.9 \text{ ml} \pm 0,7$; concentración espermática ($\times 10^6 \text{ spz/ml}$) $63 \pm 21,6$; espermatozoides totales ($\times 10^6 \text{ spz}$) $182,3 \pm 75,4$; espermatozoides con movilidad progresiva (%) $48,3 \pm 9,4$; espermatozoides con movilidad in situ (%) $2,6 \pm 0,2$; espermatozoides inmóviles (%) $49,2 \pm 9,4$. Se concluyó que en el estudio genético el 20% de los pacientes con una edad promedio de $25,8 \pm 2,6$ años presentó índice de fragmentación de ADN espermático alterado (Cuestas *et al.*, 2021).

En España aplicaron el seminograma para establecer la prevalencia de casos potenciales con problemas de fertilidad e incluyó a 2320 varones, como método de estudio se utilizó un análisis de la concentración y movilidad espermáticas. Resultados: la prevalencia hallada alcanzó un 10,26% de la población de estudio. Conclusión: es necesario realizar la técnica de Índice de Fragmentación de ADN Espermático como método de confirmación para casos de infertilidad (Aulesa *et al.*, 2021).

El Centro de Reproducción Asistida del Hospital Docente de Camagüey – Cuba publicó los resultados de un estudio de alteración morfológica de espermatozoides en 150 pacientes con problemas de procreación, según resultados del seminograma se reportaron 77,33% de casos de oligospermia, 70,66% astenospermia y 52,66% de teratospermia; según edad 56 % de 40 y 59 años de edad, según factores condicionantes se halló: exposición a plaguicidas 20 %, a metales pesados 17,33 % y altas temperaturas 14,66 %; según enfermedad destacó el varicocele con 48,66 % y las infecciones del tracto genitourinario 42 % (Carvajal *et al.*, 2021).

En Paraguay un estudio sobre infertilidad masculina aplicó el seminograma para el diagnóstico de infertilidad en 150 pacientes de $37,8 \pm 6,7$ años del servicio de urología. Resultados: 59,3% resultaron con parámetros alterados, 6% con hipospermia, 3,3% azoospermia, oligozoospermia 23,3%, 24,6% oligozoospermia, 20,6% astenoazoospermia, 39,3% y 34,6% con movilidad espermática disminuida. Conclusión: En el 50,6% de los seminogramas se evidenció una alteración aislada, 13,5%; dos

alteraciones 35,9% y las principales alteraciones fueron teratozoospermia, recuento de espermatozoides móviles disminuido e oligozoospermia (Olmedo *et al.*, 2021).

En Ecuador, se realizó un control de calidad de muestras seminales en 204 pacientes de un centro de reproducción asistida, el método aplicado fue el seminograma con los siguientes resultados: 27,4% presentó normozoospermia; 27,9% teratozoospermia; 8,8% oligoteratozoospermia según edad de 30 a 39 años. Conclusión: los pacientes presentaron valores alterados en la calidad del semen y morfología espermática según parámetros de la OMS (Morey *et al.*, 2020).

Estudio auspiciado por Universidad San Marcos de Lima – Perú, realizó una investigación relacionada a daño espermático en 1560 en casos con problemas de fertilidad masculina, los resultados revelaron un intervalo de edad entre 34 y 42 años, según valores promedios hallados del seminograma: volumen 2,5 cc, pH 7,5; concentración (millón/mL) 67,9, movilidad 52,7%; morfología alterada 9,3% (Álvarez, 2020).

En Cuba, el Programa Nacional de Infertilidad publicó los resultados de un estudio donde destaca la importancia de Índice de Fragmentación de ADN espermático para determinar el potencial de fertilización en 107 pacientes, los resultados revelaron que 66,4% pacientes con antecedentes de varicocele tienen mayor porcentaje de índice de fragmentación y menor potencial de fertilización (Rodríguez *et al.*, 2019).

Investigación realizada en Colombia aplicó el espermiograma para determinar la calidad de los espermatozoides en 14 pacientes con indicios de infertilidad masculina, los resultados de la evaluación microscópica determino los siguientes parámetros: pH $8 \pm 0,1$, volumen $3,8 \pm 0,3$ mL, concentración $95,4 \pm 11,8 \times 10^6$ /mL, número total de espermatozoides $337,9 \pm 44,3 \times 10^6$ /eyaculado, movilidad progresiva $61,3 \pm 7,2\%$ y movilidad no progresiva $7,4 \pm 1,2\%$ (Hussein *et al.*, 2019).

En Uruguay se realizó un estudio longitudinal sobre calidad espermática mediante espermatogramas que incluyeron a 253 varones donantes voluntarios de esperma con edad variable entre 18 y 34 años. Resultados: 31,2% fueron aceptados como donantes, 68,8% fueron rechazados y de este grupo a un 34% no se especificó la causa del rechazo. De los casos rechazados el 13% presentaron oligozoospermia, 13% muestra inadecuada, 13% se retiraron del programa y 27% agrupo a test de criotolerancia

insuficiente, test de ureaplasma (+), presentando disfunción psicopatológica y alteración de conductos tubulares (Risso *et al.*, 2019).

La revista de medicina humana de Cuba reportó los resultados de un estudio de espermograma de 52 pacientes con historia recurrente de fracaso para embarazar a su pareja sometidos a tratamiento de infertilidad, los resultados del espermograma revelaron que 26,9% padecían de Azoospermia, 51,9% oligospermia severa, oligospermia 9,6%, hipospermia 5,9% y normospermia 1,9%. Conclusión, el espermograma es eficaz para seguimiento de la morfología espermática (Arce, 2019).

El Centro Integral de la Mujer y Reproducción Asistida de la Universidad Autónoma en México, realizó una evaluación de integridad de ADN espermático en 110 pacientes con edad promedio de 40 años, según los reportes de seminograma el 33% reportó mayor número de espermatozoides móviles no progresivos e inmóviles. Concluyendo, que los varones con una edad avanzada presentan un mayor índice de fragmentación de ADN alterado sugestivo a infertilidad masculina (Machorro *et al.*, 2018).

En México, se realizó un estudio relacionado a las características espermáticas y su relación con daño de material genético mediante Índice de Fragmentación de ADN Espermático (IFE) en 206 pacientes. Resultados: según espermograma demostraron el 20,9% con espermatozoides normal, 18,6% resultaron con daño genético leve según IFE; 79,1% con espermatozoides alterados, 30,1% de los pacientes reportaron con IFE moderado y 13,0 % un estado crítico. Conclusión: la media del índice de fragmentación de ADN espermático se incrementa según mayor concentración de espermatozoides alterados o espermograma alterado (Callul *et al.*, 2017).

2.2. Marco conceptual

2.2.1 Sistema reproductor masculino.

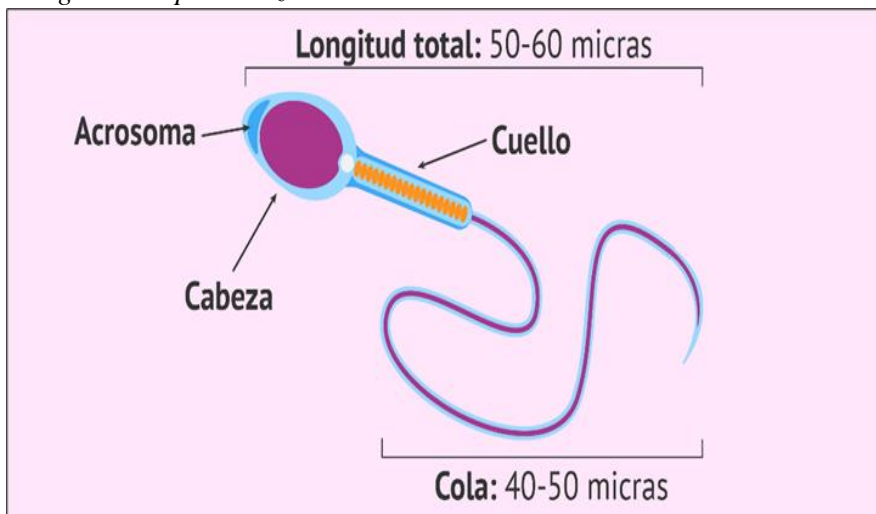
Durante la etapa embrionaria, como se describe en la (figura 1), el sistema urogenital se origina en la capa mesodérmica intermedia en la sexta semanas de vida, completando su etapa de diferenciación sexual y gonadal a las 12 semanas en el sexo masculino, donde ya es evidente el esbozo (Carlson, 2019).

2.2.2. Embriología del aparato reproductor.

La espermatogénesis se inicia en la pubertad, y en el epitelio de los túbulos seminíferos del testículo ocurre una proliferación masiva de espermatogonias tipo A que mediante mitosis mantienen un numero adecuado de espermatogonias, mientras que las de tipo B ingresan a la meiosis ocupando 30% del volumen de las células de Sertoli. Están protegidos por una barrera inmunológica, que si se destruye puede ocurrir esterilidad autoinmunitaria. A los 64 días de la espermatogénesis, el espermatozoide tiene capacidad de movimiento flagelado y cesión de ADN al óvulo. La estructura espermática (figura 1), consta de una cabeza que mide de 2 a 3 μm de ancho y de 4 a 5 μm de longitud, que contiene el núcleo y el acrosoma; una pieza intermedia, que se compone de los centriolos, la parte proximal del flagelo y la hélice mitocondrial midiendo unos 50 -60 μm , y la cola de unos 40 - 50 μm de longitud, constituido por un flagelo muy especializado (Hall, 2011).

Figura 1.

Imagen del espermatozoide normal



Interpretación: el grafico representa las medidas del espermatozoide normal (Hall, 2011).

Durante la división celular, aproximadamente el 10% de los espermatozoides pueden presentar anomalías en su estructura o morfología (figura 2), que pueden variar desde la doble cabeza o cola hasta los flagelos defectuosos o la variabilidad en el tamaño de la cabeza, en el caso que el porcentaje de espermatozoides anormales se eleva por encima del 20% del total puede existir una reducción de la fertilidad (Hall, 2011).

Figura 2.
Defectos de morfología de los espermatozoides.



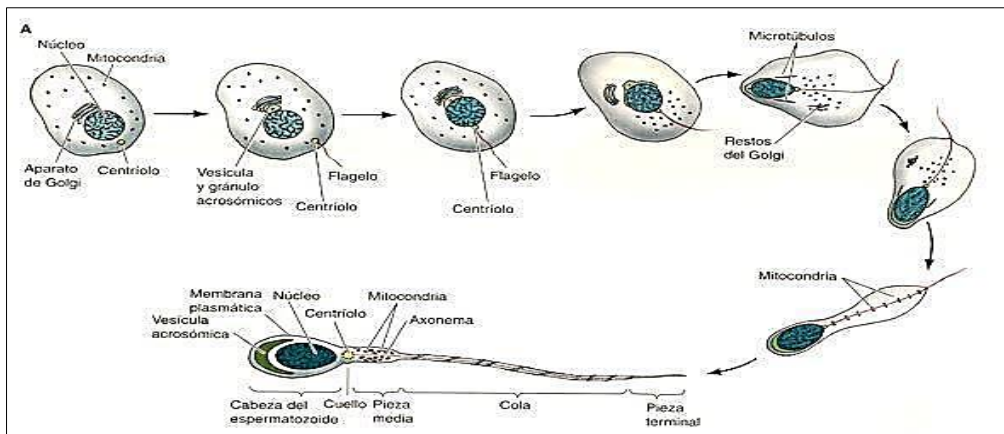
Interpretación: la imagen muestra formas de ADN espermático, como: cola recta, dos cabezas, doble cola, cola enrollada, cola corta, cabeza alargado, cuello doblado y cola doblada (Hall, 2011).

2.2.3. Fisiología espermática.

Durante la vida reproductiva del varón produce, mediante la gametogénesis, millones de espermatozoides diarios que se consideran maduro en periodo de tres meses hasta que son eyaculados (figura 3). La morfología del espermatozoide maduro, consta de tres partes (figura 4), y están protegidas por una sola membrana plasmática, : a) la Cabeza que contiene la información genética del varón, un núcleo celular condensado cubierto de una fina capa de citoplasma y una membrana celular, en la parte externa una capa acrosoma y enzimas poderosas y proteolíticas que permiten al espermatozoide entrar en el óvulo y fecundarlo, b) Zona intermedia o cuello que está constituido de 50 a 75 piezas de mitocondrias responsables de la energía y movilidad, y c) La Cola: también llamada flagelo, se compone de un esqueleto central constituido por 11 microtúbulos, denominados en conjunto axonema; una membrana celular que reviste el axonema, y una serie de mitocondrias que rodean el axonema de la porción proximal de la cola

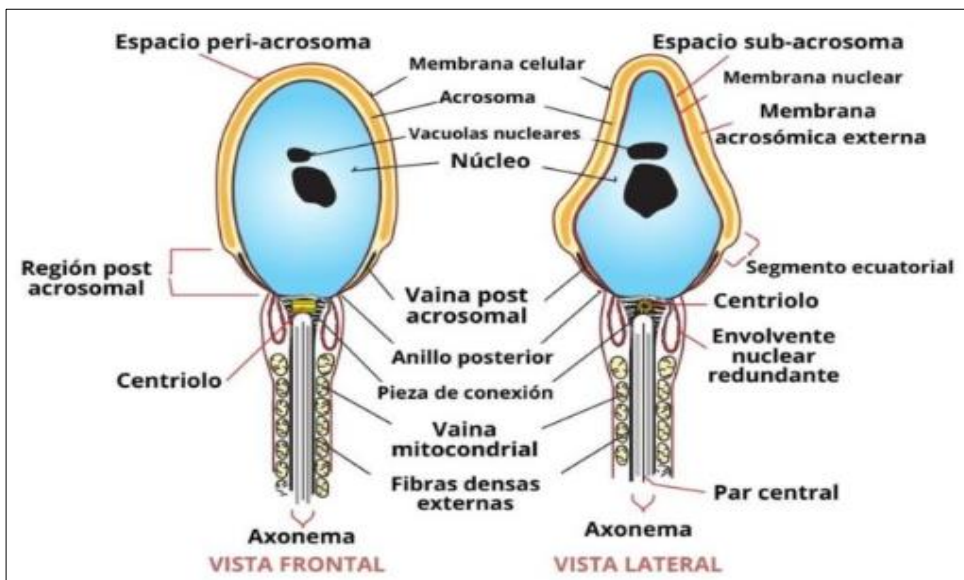
llamada también cuerpo de la cola. El movimiento de vaivén o flagelar es lo que proporciona la motilidad del espermatozoide, en condiciones normales y en un medio líquido, alcanzan una velocidad de 1 a 4 mm/min, lo que les permite desplazarse a través del aparato genital femenino en busca del óvulo para su fecundación (Lidefer, 2020).

Figura 3.
Gametogénesis espermática.



Interpretación: la figura muestra las etapas de la gametogénesis (Lidefer, 2020).

Figura 4.
Partes del espermatozoide Cabeza y cuello.



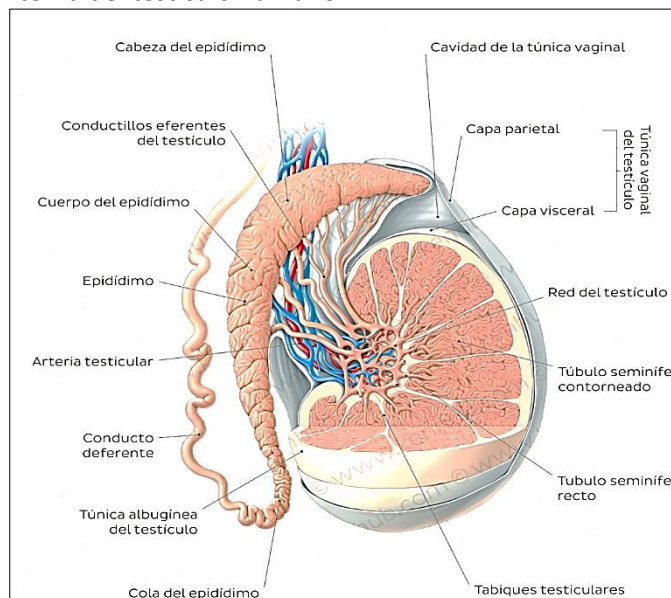
Interpretación: la imagen representa al espermatozoide visto de dos maneras, de forma frontal y de forma lateral (Lidefer, 2020).

2.2.4. Anatomía del aparato reproductor masculino

El aparato reproductor masculino está conformado por los testículos, que asumen una función glandular y miden 5 cm de largo, localizado dentro del saco escrotal; el epidídimo donde se almacenan los espermatozoides se divide en tres porciones: Cabeza, superomedial, formada por los conductillos eferentes; Cuerpo, que es la porción media, que está separada del testículo por los surcos lateral y medial, y Cola del epidídimo, que corresponde a su porción inferior (Pro, 2014).

El Epidídimo (figura 5), se extiende desde el final de la cabeza del epidídimo hasta el conducto deferente, y mide 5-6 cm; se conecta con los conductos deferentes que miden ± 50 cms y llegan hasta la vesícula seminal donde se produce \pm el 80% del líquido seminal y reciben a los espermatozoides hasta la eyaculación vía conducto eyaculador atravesando la próstata y salir por la uretra (Standring, 2021).

Figura 5.
Estructura interna del testículo humano.



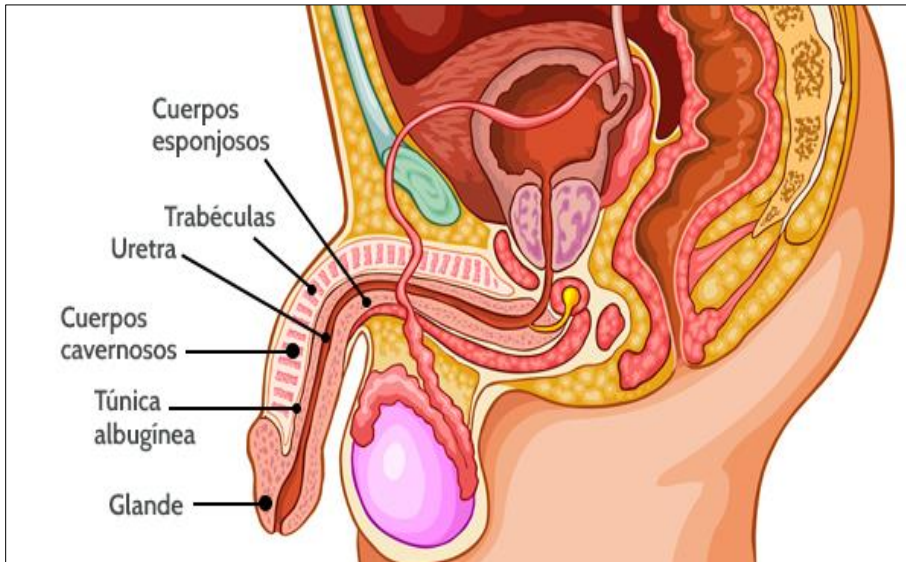
Interpretación: la imagen muestra las partes del aparato reproductor masculino; como el epidídimo y los conductos eferentes del testículo (Pro, 2014).

La Próstata es una glándula tubuloalveolar impar, localizada debajo de la vejiga, se divide en el Istmo de la próstata, zona glandular periuretral, lóbulos prostáticos, y se relaciona con los conductos deferentes y las vesículas seminales (Moore, 2018).

El pene, ubicado por debajo de la sínfisis del pubis y por encima del escroto (figura 6), su función es el de la copulación debido a la erección, conformado por los cuerpos cavernosos, esponjoso y la uretra, posee una forma cilíndrica y mide de 10 a 12 cm de

longitud y aumenta de volumen y de longitud y se endereza por delante del pubis (Rivero, 2021).

Figura 6.
Anatomía del Pene.



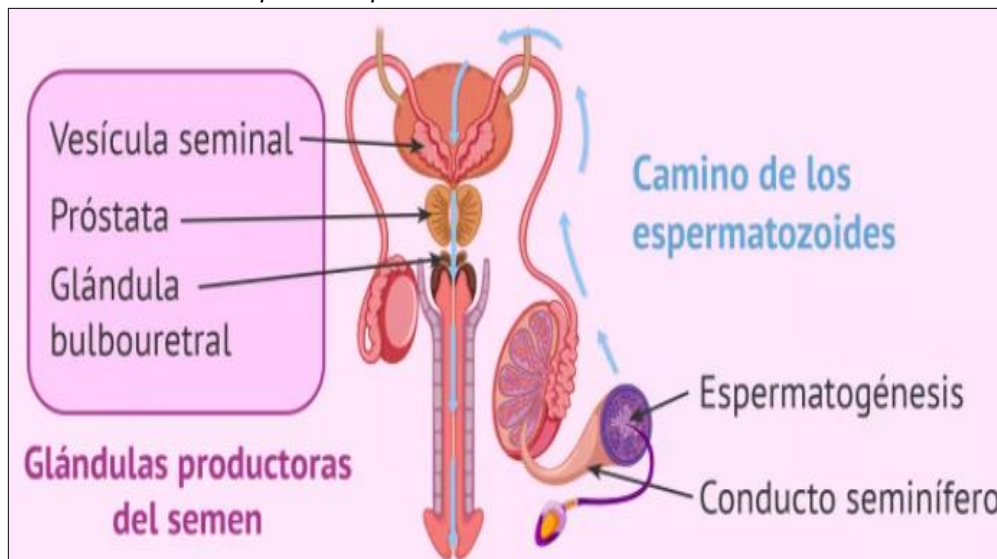
Interpretación: la imagen representa la ubicación del pene (Rivero, 2021).

2.2.5. Fertilidad / Infertilidad masculina

Debemos considerar que el mejor indicador de la capacidad sexual y de procreación en el varón es la libido sexual ósea el deseo de tener una relación coital, pero cuando está disminuida o afectada se denomina trastorno de deseo sexual hipoactivo (TDSH), estudios realizados en Europa señalan una prevalencia de 6 % en varones de 18 a 24 años de edad, y 41 % de 66 y 74 años. Otro dato está relacionado a la carencia del deseo sexual de seis meses o más de duración, en varones de entre los 16 y 44 años que afecta al 1.6 % de la población de estudio (Blanco, 2016).

La fertilidad masculina es considerada como la capacidad del varón que tiene para procrear un nuevo ser cuando embaraza a una mujer y se atribuye a condiciones como la edad, estado físico/mentales y hábitos saludables, además de un correcto funcionamiento del aparato reproductor y sus anexos como se esquematiza en la (figura 7), asimismo, es importante que durante la vida sexual no se utilice métodos anticonceptivos, si el varón padece de alguna enfermedad previa evitar el uso de medicamentos que afecten la normalidad hormonal de la testosterona, en el caso de la mujer, se debe conocer la regularidad de su ciclo reproductivo y deseo de ser madre que es lo más importante (Gomes *et al.*, 2022).

Figura 7.
Funcionamiento del aparato reproductor.



Interpretación: La figura representa el camino que transcurren los espermatozoides para llegar al ovulo y lograr fertilizarlo, atravesando las glándulas del semen y los conductos seminíferos (Gómez *et al.*, 2022).

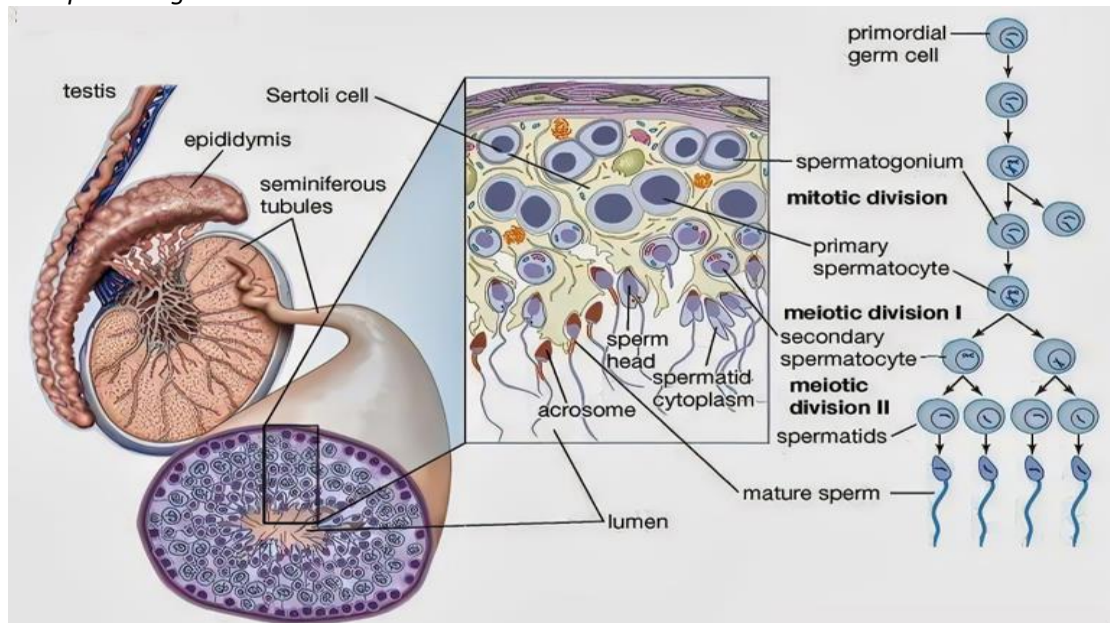
La fertilidad es la capacidad de producir espermatozoides en cantidad y calidad, uno de cada 20 varones padecen de escaso número de espermatozoides eyaculado, uno de cada 100 hombres no tiene espermatozoides en su eyaculación, y en el 60% de los hombres infértiles no se encuentra una causa para el recuento bajo o de la mala calidad de los espermatozoides. Asimismo, de un 10 a 15% de las parejas no pueden procrear después de un año de relaciones sexuales sin protección anticonceptiva, de este grupo un 30% se atribuye a causa femenina, otro 30% a causa masculina y un 40% a problemas en ambos (Huidobro, 2010).

El varón desde su desarrollo fetal produce espermatogonias, células precursoras de los espermatozoides, en la pubertad se inactivan y se activan en la adolescencia, cuando el varón inicia su vida sexual reproductiva, desde la adolescencia hay una producción progresiva de la hormona testosterona que mantiene y define su capacidad de procreación, en la etapa adulto declina la producción de la testosterona afectando la espermatogénesis, capacidad de erección, libido sexual, y funcionamiento óptimo de órganos sexuales accesorios como la próstata, vesículas seminales y conductos deferentes (Carlson, 2019).

La espermatogénesis (figura 8), dan origen a las espermatogonias o células precursoras de los espermatozoides, esta división puede ocurrir más de 20 veces al año, por ejemplo, en un varón de 38 años de edad ya ocurrió unas 540 veces y a los 50 años 800 veces. La

afección de la capacidad fértil puede asociarse a: reducción lenta del volumen de producción del volumen del semen en $\pm 0,03$ ml/año, debido al envejecimiento de las vesículas seminales donde se produce este líquido que vehiculiza los espermatozoides; oxidación de la cadena de ADN de los espermatozoides; y enfermedad de los hijos debido a la mutación ocurrida en los espermatozoides (Calcáneo, 2021).

Figura 8.
La espermatogénesis.



Interpretación: la imagen representa las divisiones celulares del espermatozoide desde su etapa inicial (espermatozoogonia), hasta su etapa final (espermatozoide maduro) (Calcáneo, 2021).

La disminución de fertilidad masculina es multicausal como los estilos de vida, infecciones, incapacidad de regeneración celular, exposición a sustancias cancerígenas, y envejecimiento natural del sistema reproductor y anexos. Las causas ser: a) disminución del número de espermatozoides móviles y de recuento de espermatozoides a partir de los 34 años; b) alteración de la morfología espermática después de 40 años; c) disminución de la movilidad espermática después de 43 años; d) disminución de volumen eyaculatorio después de 45 años (Sancho & Esbert, 2019).

Cuando se evalúa según anatomía del varón, el problema de infertilidad, en el 30% a 40% de casos se localiza en los testículos donde producen espermatozoides y testosterona, que se puede afectar por infecciones, quimioterapia, lesiones, cirugías, calor, varicoceles; 10% a 20% de los casos, se asocia a obstrucción de los conductos deferentes, y la eyaculación. En el 30% a 40% de casos sin causa aparente se aprecia espermatozoides deformes, en baja cantidad o de movimiento lento (Bradley, 2011).

La infertilidad se define como la incapacidad de lograr embarazo espontáneo en parejas sexualmente activas y que no utilizan método anticonceptivo en un año. Asimismo, lo clasifica en infertilidad primaria cuando no se puede procrear el primer hijo, e infertilidad secundaria cuando se pierde la capacidad de procrear después del primer embarazo. Alrededor del 20% son atribuidos al factor masculino como única causa de la infertilidad (OMS, 2020).

2.2.6. Pruebas de laboratorio para estudio de fertilidad masculina

2.2.6.1 El Seminograma.

Estudio macroscópico y microscópico del espermatozoide y su contenido seminal, procesos estandarizados mediante documento técnico Manual para el Examen del Semen Humano y la Interacción Moco Semen que establece los parámetros de las variables macroscópicas y microscópicas del contenido del semen para estudio de fertilidad como los parámetros de referencia para la interpretación del seminograma (Tabla 1). El líquido seminal se produce en las vesículas seminales 60%, próstata 30%, epidídimo y las glándulas bulbouretrales 10%. El volumen normal 2 cc < de 2 cc se denomina hipospermia si no hay líquido seminal al finalizar el orgasmo hablamos de aspermia (World Health Organization, 2021).

Tabla 1.

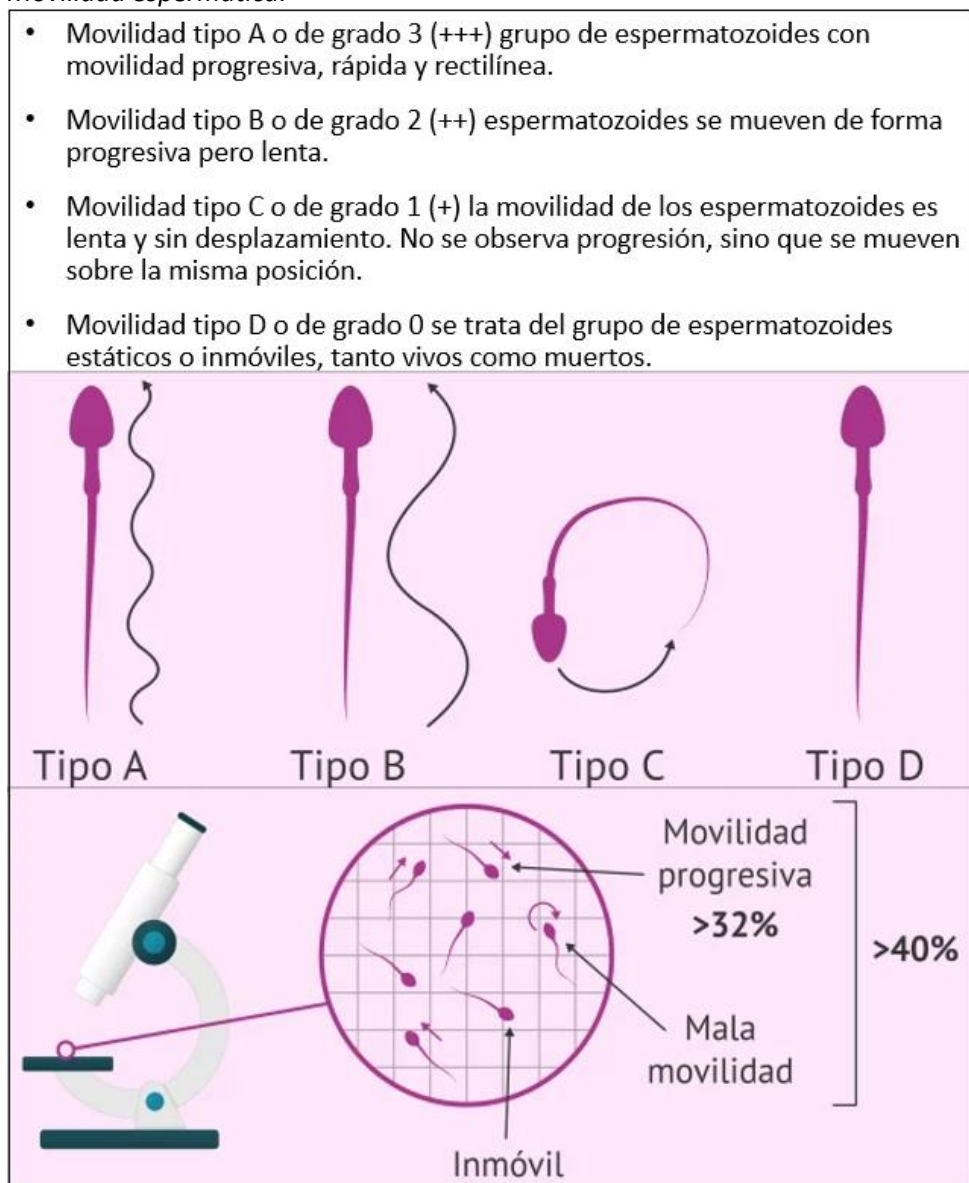
Examen macroscópico y microscópico de una muestra de semen.

VARIABLES MACROSCÓPICAS	LIMITES DE REFERENCIA
Volumen	≥1.5 ml
Color	Grisáceo a ligeramente amarillento
Coagulo	Presente
Licuefacción	60 minutos
Viscosidad	Normal
Ph	7.2-8.0
VARIABLES MICROSCÓPICAS	LIMITES DE REFERENCIA
Concentración.	15 x 10 ⁶ espermatozoides/ml
Cuenta total.	>39 x 10 ⁶ espermatozoides.
Motilidad total (Progresivos y no progresivos)	≥40%
Motilidad progresiva	≥32 %
Viabilidad	≥58% vivos
Morfología	≥4%
Leucocitos	< 1 x 10 ⁶ /ml
Otros Tipos Celulares	Valores Normales
Células inmaduras	< 5 por campo
Bacterias	Escasas
Aglutinación.	< 10%

Interpretación: La tabla nos muestra las variables macroscópicas y microscópicas del seminograma y sus límites de referencia (World Health Organization, 2021).

La movilidad espermática es una de las principales características observables en el seminograma, es lo que permite al espermatozoide alcanzar el ovulo y lograr la fecundación, asimismo, existe una clasificación para identificar el tipo de movilidad (figura 9). La astenozoospermia o astenospermia es la definición de la alteración de la movilidad espermática se produce cuando el número de espermatozoides con movilidad progresiva (tipo A + B) es inferior al 32% y cuando el número total de espermatozoides móviles en el eyaculado (tipo A+B+C) es inferior al 40% (Laura *et al.*, 2021).

Figura 9.
Movilidad espermática.

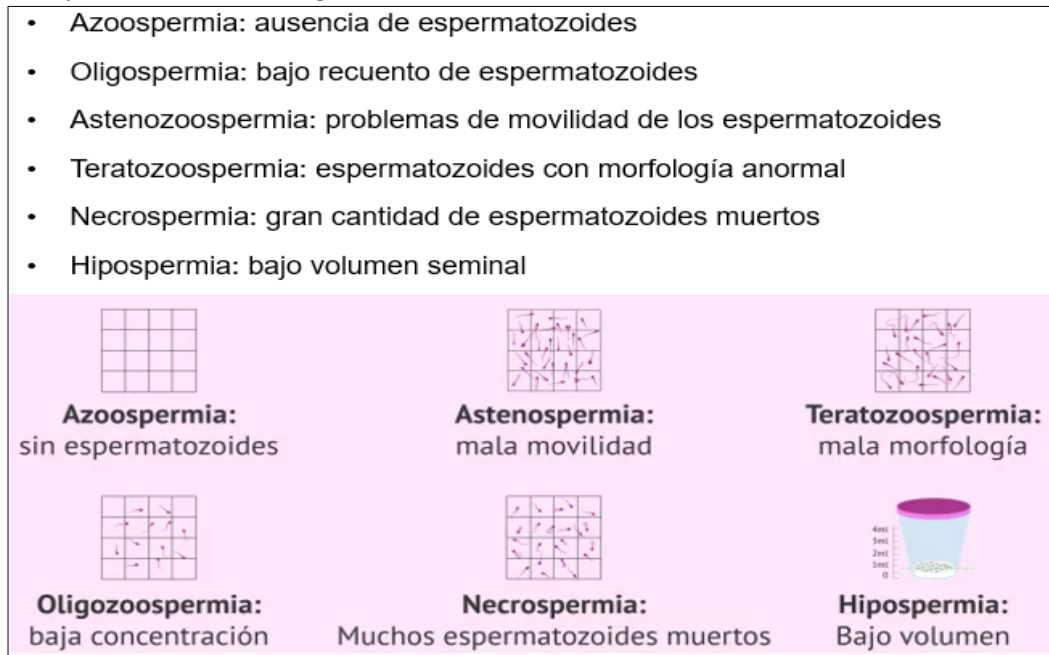


Interpretación: la imagen muestra los tipos de movilidad que presentan los espermatozoides, diferenciándose en 4 tipos de movimientos, tipo A, tipo B, tipo C y tipo D (Laura *et al.*, 2021).

Los resultados del seminograma que es la observación microscópica y macroscópica de los espermatozoides, se basan en los valores de referencia establecidos por la (OMS, 2021) donde la concentración se expresa en 1'000,000 x ml; la capacidad de movimiento, forma, y vitalidad en %; y los parámetros alterados se describen en la siguiente ilustración (figura 10) (Espejo *et al.*, 2021).

Figura 10.

Interpretación del seminograma

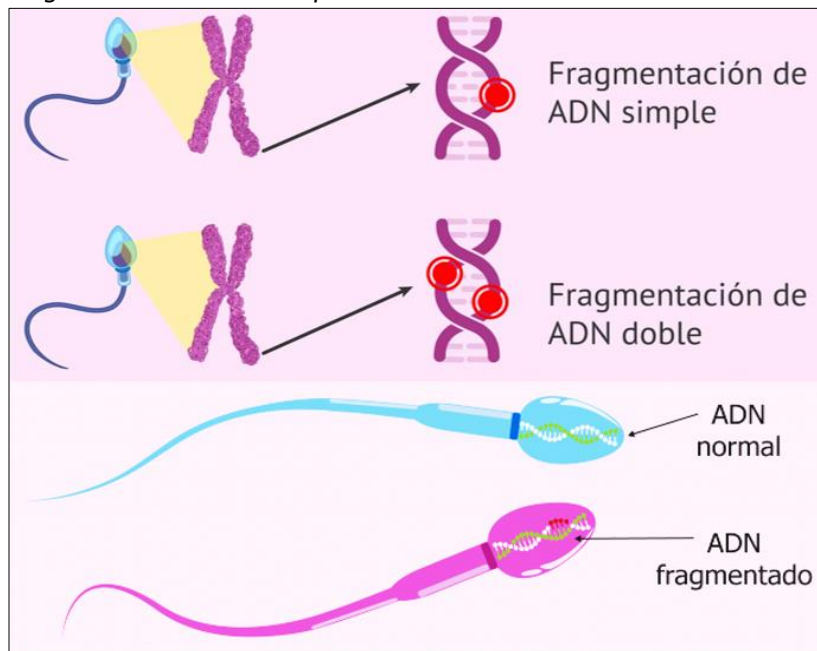


Interpretación: La imagen representa las alteraciones en los parámetros del seminograma (Espejo *et al.*, 2021).

I.2.6.2. Índice de Fragmentación de ADN Espermático.

Se define como la rotura de las cadenas simples o dobles del ADN espermático y del proceso de empaquetamiento incompleto del ADN (figura 11). Las causas pueden incluir: a) apoptosis durante la meiosis I que afecta al 50% de las células, b) nudos de ADN incompletos durante la espermiogénesis, c) fragmentación durante la migración testicular por exceso de producción de radicales libres de espermatozoides inmaduros, c) fragmentación por factores fisicoquímicos, d) exposición radiológica, e) sustancias tóxicas ambientales (Rodríguez, 2017).

Figura 11.
Fragmentación de ADN espermático



Interpretación: la imagen ilustra las roturas de una o ambas hebras de ADN espermático (Rodríguez, 2017).

Las técnicas de estudio de fragmentación de ADN espermático más utilizadas son:

- A) Test Sperm Chromatin Dispersion (SDC) procedimiento mediante el cual inducen descondensación del ADN que, al ser observados por microscopio, los espermatozoides que forman un halo sobre a zona de la cabeza que según el tamaño o extensión del halo se puede identificar el daño a la integridad del ADN o fragmentación de ADN como se puede apreciar en la siguiente imagen (figura 12), la interpretación de los resultados se realiza determinando el % de espermatozoides con halo ausente o pequeño.

Figura 12.

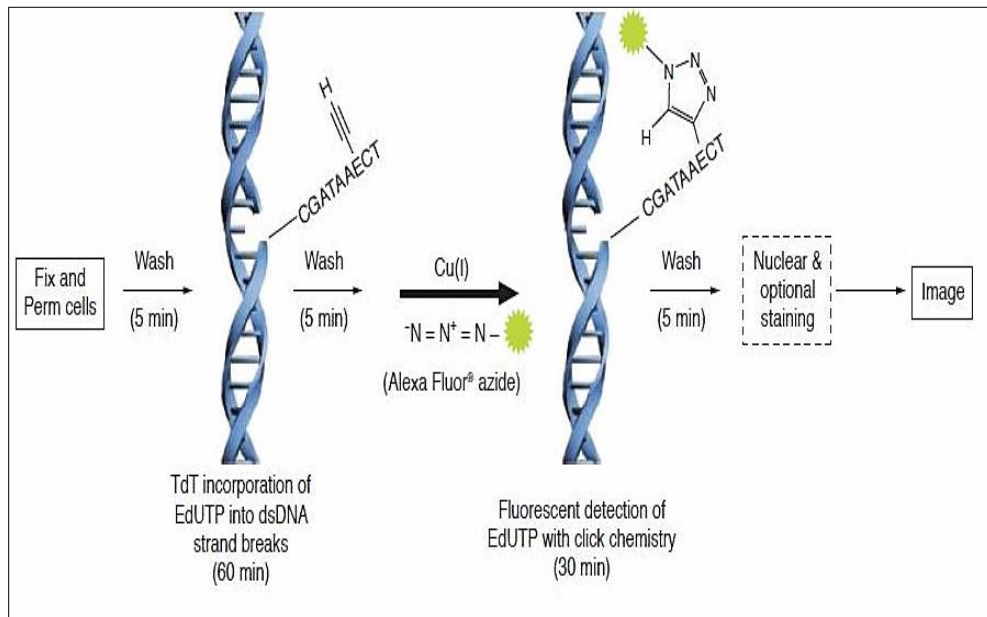
Interpretación de la técnica de la dispersión de la cromatina (SCD).



Interpretación: la imagen ilustra la formación de halos helicoidales para el estudio de ADN espermático NO Fragmentado y la ausencia de halos helicoidales o espermatozoides degradados para estudio de ADN fragmentado (Paraíso *et al.*, 2021).

B) Ensayo Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated dUTP Nick-End Labeling (TUNEL) donde al espermatozoide se someten a una técnica de tinción con marcadores fluorescentes que solo se adhieren a la fracción incompleta del ADN y puede ser detectables mediante citometría por la luminiscencia emitida, esta técnica nos permite identificar la rotura de una o dos hebras de ADN y se interpreta como el % de espermatozoides con ADN marcado como se describe en la siguiente imagen (figura 13) (Paraíso *et al.*, 2021).

Figura 13.
Interpretación del Ensayo TUNEL.



Interpretación: la imagen representa la técnica del ensayo de TUNEL, con el uso de marcadores fluorescentes, que permiten una visión más clara (Paraíso *et al.*, 2021).

La interpretación de los resultados aplicando el índice de fragmentación de ADN, que es el porcentaje de espermatozoides con el ADN fragmentado, en relación al total de los espermatozoides analizados, resultados que se aplican como factor pronóstico de fertilidad, y potencial de fertilización del espermatozoide (Tabla 2) (Rodríguez, 2017).

Tabla 2.
Índice de Fragmentación de ADN espermático.

IF del ADN (%)	Potencial de fertilización
< 15	Excelente
16-24	Alto
25-30	Bajo
> 31	Muy bajo

Interpretación: La tabla representa el grado de potencial de fertilización (PF), según los valores límites del índice de fragmentación (IF) del ADN espermático (Rodríguez, 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de estudio: Se llevó a cabo un estudio prospectivo para investigar las características del seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático en pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote SAC durante el año 2021.

Población: La población consistió en evaluar a 65 pacientes masculinos que acudieron a una clínica, con problemas de fertilidad y que fueron diagnosticados durante el período de estudio.

Criterios de inclusión y exclusión

a) Criterios de inclusión

- Pacientes con indicación de estudio de seminograma y fragmentación de ADN
- Pacientes sexualmente activos
- Pacientes que cumplan con el protocolo de obtención de la muestra de semen

b) Criterios de exclusión

- Pacientes que estén cursando patologías del sistema genitourinario
- Pacientes con abstinencia sexual prolongada
- Pacientes que no cumplan con el protocolo de obtención de la muestra de semen.

Procedimiento:

1. Obtención de muestra seminal.

- *Control de variables pre-analíticas:* Antes de la obtención de la muestra seminal, se registraron y controlaron factores pre-analíticos relevantes, como el historial de consumo de alcohol, tabaco o medicamentos por parte de los pacientes.
- *Instrucciones claras para obtener la muestra:* A los pacientes se les proporcionaron instrucciones detalladas para la recolección de la muestra seminal. Se enfatizó la importancia de seguir las técnicas adecuadas de lavado de manos y de masturbación, así como de evitar la contaminación de la muestra durante el proceso de recolección.
- *Consideraciones de transporte de la muestra:* Se instruyó a los pacientes sobre cómo transportar adecuadamente la muestra desde el lugar de obtención hasta el laboratorio. Se enfatizó la importancia de mantener la muestra a la temperatura adecuada y de entregarla al laboratorio dentro de un tiempo máximo de 60 minutos para garantizar la integridad de los espermatozoides.
- *Recolección de la muestra seminal:* Al paciente se le indica una abstinencia sexual de 2-4 días antes de la recolección de la muestra seminal. Además, se le recomienda seguir la técnica de lavado de manos antes del procedimiento. Se instruye al paciente a aplicar la técnica de masturbación para obtener la muestra de semen en un espacio designado por la clínica. Es importante que el paciente procure obtener la mayor cantidad de muestra posible y notificar cualquier derrame fuera del frasco estéril. En el caso de que la muestra sea recolectada fuera del laboratorio, se requiere que el paciente siga estrictamente las instrucciones proporcionadas por el personal de laboratorio.
 - El tiempo máximo de entrega no debe exceder de los 60 minutos.
 - Mantener la temperatura adecuada.
 - Muestra obtenida solo por automasturbación.

- Comunicar si ha ingerido algún medicamento.
- Comunicar si ha presentado alza térmica.
- No ingerir sustancias tóxicas 48 horas de obtener la muestra.

2. Seminograma: En la preparación de la muestra se utilizó pipetas de deslizamiento directo, medios de dilución, cámara de conteo de 100 micras de profundidad, laminas portaobjetos, método de tinción y coloración según fase del estudio (López, 2020).

- Examen macroscópico:
 - *Volumen:* se midió con una pipeta de plástico de 3 ml.
 - *Color:* se determinó mediante observación directa en el frasco.
 - *Viscosidad:* se evaluó con la ayuda de la micropipeta de plástico de 3 ml, dejando caer gota a gota para observar el tamaño del hilo filamentososo formado.
 - *pH:* se realizó sumergiendo la tira reactiva al frasco de la muestra seminal, para luego compararlo con el indicador de pH seminal.
 - *Licuefacción:* se determinó mediante un tiempo de espera entre 15 a 20 minutos, para obtener la muestra seminal totalmente líquida.
- Examen microscópico:
 - *Concentración de espermatozoides:* se realizaron diluciones según el conteo de espermatozoides observados en el primer campo (lámina directa), y se agregó 10 µl a la cámara de Neubauer para su posterior observación a microscopio en un objetivo de 40X.
 - *Movilidad espermática:* se analizó la capacidad del movimiento de los espermatozoides, utilizando una lámina portaobjetos agregando 10 µl de muestra seminal fresca, y se observó en microscopio a objetivo de 40X.
 - *Vitalidad espermática:* se evaluó la cantidad de espermatozoides vivos y muertos mediante tinción. Se cargó 50 µl de muestra seminal en un microtubo y se agregaron

2 gotas de colorante eosina y nigrosina. Se dejó reposar 30 segundos y se observó a microscopio a objetivo de 40X.

- *Morfología espermática*: se analizó la forma de cabeza, cuello y cola del espermatozoide, utilizando el test Can Morph. Se agregó 30 µl de muestra seminal sobre la lámina portaobjetos y se observó en microscopio a objetivo de 100X con ayuda de aceite de inmersión.
- *Identificación de presencia de otras células*: en la lámina de Can Morph, se observaron distintas células no pertenecientes a espermatozoides y se contabilizaron como células inmaduras.

3. Estudio de fragmentación de ADN: para evaluar la fragmentación de ADN espermático, se aplicó la técnica de la dispersión cromática (SCD).

- *Recuperación espermática*: Se formaron tres capas de gradiente (parte superior: muestra lavada; centro: gradiente 55; fondo: gradiente 80). Se realizó una primera centrifugación a 1500 rpm x 20 minutos, se separó el sobrenadante del precipitado, y se realizó una segunda centrifugación a 1500 rpm x 5 minutos, para obtener una muestra concentrada de espermatozoides móviles progresivos.
- *Técnica de dispersión de cromatina (SCD)*: Introducir la muestra de semen en gel de agarosa: se descongeló el gel de agarosa a 90°C por 5 minutos, se mezcló con la muestra post recuperada, se colocó 150 µl en la lámina del kit Canfrag con su cubreobjetos y se colocó en la nevera por 5 minutos.
- *Desnaturalización de ADN*: se agregó 1000 µl de ácido desnaturante y se dejó actuar por 7 minutos.
- *Lisis celular mediante solución lisis*: se agregó 1000 µl de solución lisis del kit y se dejó reposar por 10 minutos.

- *Deshidratación mediante alcohol:* se utilizó alcohol al 70%, 90% y 100%, agregando 1000 µl en toda la lámina respectivamente, con intervalos de 2 minutos por cada alcohol.
- *Preparación de tinción:* se preparó la solución de tinción en un microtubo y se agregó 1000 µl en toda la lámina, se dejó reposar por 8 minutos y finalmente se enjuagó con agua.
- *Observación mediante microscopio de campo claro la formación del halo cromático:* se observó en microscopio a objetivo de 40X, la formación de halos helicoidales de tamaños grandes y medianos en pacientes con ADN íntegro, y la formación de halos helicoidales de tamaños pequeños, espermatozoides sin halos e incluso degradados, en pacientes con ADN fragmentado.

Análisis estadístico

- Para analizar los datos recopilados se aplicó el método estadístico de la prueba ANOVA, para evaluar si existía diferencias significativas en las características del seminograma y el índice de fragmentación del ADN espermático en los pacientes que asistieron a una clínica privada de Chimbote en el año 2021.

Tabla 3.

Análisis estadístico según ANOVA.

PX	SEMINOGRAMA		IF-ADN		PROPORCION	DIFERENCIA	
	NUMERO	%	NUMERO	%	%	N°	%
ANORMAL	21	32.5	45	69.2	2.13	24	36.7

Fuente: elaboración propia.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados:

Concluido la etapa de procesamiento de la información de la tesis “Seminograma e índice de fragmentación del ADN espermático en pacientes con problemas de fertilidad atendidos en una Clínica Privada de Chimbote SAC 2021” se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 4.

Distribución de la población según edad/etapa de vida

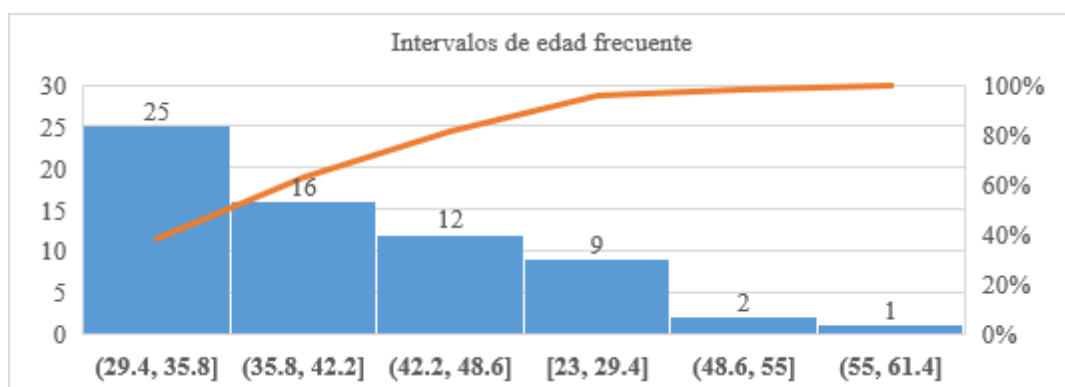
Pacientes según edad - Etapa de Vida	N°	%
Joven (19 - < 30 años)	9	13.8%
Adulto (30 - < 60 años)	56	86.2%
Total	65	100.0%

Fuente: elaboración propia.

Interpretación: según los resultados obtenidos se halló que el 13,8% de la población de estudio es paciente joven y 86,2% adulto.

Grafica 1.

Distribución de la población según histograma de Pareto



Fuente: elaboración propia.

Interpretación: según los resultados de frecuencia de edades, el diagrama de Pareto estableció un intervalo de 5,9 años encontrado que el mayor grupo de pacientes (25/38,5%) tienen entre 29,4 y 35,8 años de edad.

Belfort *et al.*, (2023) reportó los pacientes de su población de estudio tenían una edad entre 25 y 40 años; (Armenteros *et al.*, 2022) halló una edad entre 21 y 66 años; (Tejeda *et al.*, 2022) 62% de adultos entre 40 y 60 años; (Carvajal *et al.*, 2021) 56 % de la población entre 40 y 59 años; (Morey *et al.*, 2020) informo de pacientes entre 30 y 39 años; a nivel nacional (Álvarez, 2020) reportó un intervalo de edad entre 34 y 42 años; (Risso *et al.*, 2019) publicó una población relativamente joven entre 18 y 34 años; al respecto (Risso *et al.*, 2019) señalaba que la vida sexual del varón está regulada por el deseo de tener una relación coital mas no por el deseo de procrear y menciona que 6% de varones entre 18 y 24 años pueden padecer de deficiencias del libido sexual siendo tributarios a problemas de infertilidad, por su parte (Huidobro, 2010), mencionaba que este problema afectara a 1 de cada 100 varones sexualmente activo.

Tabla 5.

Características químicas del Semen

Características de la muestra de semen	Nº	%
Licuefacción (< 60 ")		
Completa	62	95.4%
Incompleta	3	4.6%
pH		
Normal (7,2 -8,0)	14	21.5%
Acido	1	1.5%
Alcalino	50	76.9%
Volumen		
Normal (≥ 1.5 ml)	43	66.2%
Disminuido	22	33.8%
Total	65	100.0%

Fuente: elaboración propia.

Interpretación: según análisis de las propiedades físico/químico de la muestra de semen 95,4% presentaron licuefacción completa y 4,6% incompleta; según pH 21,5% fue normal, 1,5% acido y 76,9% alcalino; según el volumen 66,2% se consideró normal y 33,8% disminuido.

Tabla 6.*Volumen y concentración espermática*

Volumen + concentración espermática	N°	%
Volumen		
Normal (≥ 1.5 mL)	43	66.2%
Concentración Espermática N° x 10 (6) /mL		
< 15,000,0000	7	10.8%
> 15,000,000	36	55.4%
Disminuido < 1.5 mL	22	33.8%
Concentración Espermática N° x 10 (6) /mL		
< 15,000,0000	2	3.1%
> 15,000,000	20	30.8%
Concentración Total = Concentración Espermática x Volumen (15 - \geq 200 millones)		
Disminuido < 15 millones	6	9.2%
Normal (15 - \geq 200 millones)	59	90.8%
Total	65	100.0%

Fuente: elaboración propia.

Interpretación: observamos que las muestras de semen con un volumen de eyaculación normal (≥ 1.5 ml) 10,8% reportaron una concentración espermática < a 15 millones y 55,4% \geq a 15 millones; de las muestras con volumen eyaculado < a 1.5 ml 3,1% reportaron una concentración espermática < a 15 millones y 30,8% > a 15 millones; según a la concentración total espermática 9,2% fueron < 15 millones y 90,8% > a 15 - 200 millones.

Además, algunas investigaciones reportaron resultados en relación al estudio del espermatozoide (Belfort *et al.*, 2023) halló en los pacientes de estudio 29,03% con volumen inadecuado, 9,68% con aspecto irregular, viscosidad y licuefacción alterada 29,7% y 1,74% respectivamente; (Armenteros *et al.*, 2022) solo informo que 54,1% de pacientes con seminograma alterado.

Tabla 7.*Características de los espermatozoides*

Características Espermáticas	N°	%
Movilidad progresiva		
Normal \geq 32%	54	83.1%
< 32%	11	16.9%
Vitalidad Espermática		
Normal \geq 58 %	31	47.7%
< 58%	34	52.3%
Morfología Espermática		
Normal \geq 4 %	25	38.5%
< 4 %	40	61.5%
Total	65	100.0%

Fuente: elaboración propia.

Interpretación: en el estudio de las características a la concentración espermática se halló que el 81,1% de muestras reportó una movilidad tipo progresiva que es \geq al 32% de espermatozoides x mL, mientras que el 16,9% fue < al 32%; en relación a la vitalidad espermática (\geq 58% de espermatozoide x mL) el 47,7% de la muestra se consideró normal y 52,3% disminuida; según morfología espermática (\geq 4% de espermatozoides x mL) 38,5% de las muestras se consideró normal mientras que el 61,5% fue anormal con alteraciones en la cabeza, cuello y cola espermática.

Asimismo, (Tania *et al.*, 2022), (Machorro *et al.*, 2018) y (Callul *et al.*, 2017) que informaron que el 27,3%, 33% 81,4% de pacientes con seminograma alterado respectivamente. Otros investigadores fueron más específicos al señalar los resultados de los seminogramas o espermiogramas, (Tejeda *et al.*, 2022) fue más específico al mencionar que su población de estudio según seminograma en el 92,7 % se identificó astenozoospermia, 42,6% teratozoospermia, diagnosticándose en el 41,1% astenozoospermia y 28,1% teratoastenozoospermia; (Cuestas *et al.*, 2021) reportó volumen 2.9 ml \pm 0,7; concentración espermática (x 106 spz/ml) 63 \pm 21,6; espermatozoides totales (x 106 spz) 182,3 \pm 75,4; espermatozoides con movilidad progresiva (%) 48,3 \pm 9,4; espermatozoides con movilidad in situ (%) 2,6 \pm 0,2; espermatozoides inmóviles (%) 49,2 \pm 9,4; (Carvajal *et al.*, 2021) reportaron 77,33% de casos de oligospermia, 70,66% astenospermia y 52,66% de teratospermia; (Olmedo *et al.*, 2021) parámetros alterados reportados 6% con hipospermia, 3,3% azoospermia,

oligozoospermia 23,3%, 24,6% oligozoospermia, 20,6% astenozoospermia, 39,3% y 34,6% con movilidad espermática disminuida; (Morey *et al.*, 2020) halló 27,4% presentó normozoospermia; 27,9% teratozoospermia; 8,8% oligoteratozoospermia; (Arce, 2019) mencionó que el espermograma reveló que 26,9% de los pacientes padecían de Azoospermia, 51,9% oligospermia severa, oligospermia 9,6%, hipospermia 5,9%, normospermia 1,9%. (Callul *et al.*, 2017), (Bradley, 2011) y la (OMS, 2020) coinciden en señalar que existen múltiples factores que afectan la calidad y cantidad de los espermatozoides.

Tabla 8.

Resultados del estudio de fragmentación de ADN espermático y Potencial de Fertilización

Índice de Fragmentación de ADN espermático	Potencial de Fertilización	Nº	%
< 15%	Excelente	20	31%
≥15% - 25%	Alto	4	6%
≥25% - 30%	Bajo	4	6%
> 30%	Muy Bajo	37	57%
Total		65	100%

Fuente: elaboración propia.

Interpretación: según resultados del Índice de Fragmentación de ADN espermático (IF-ADN) y el potencial de Fertilización (PF) se halló que el 20% de las muestras obtuvieron un IF-ADN < 15% calificando con un PF excelente; 6% obtuvieron un IF-ADN ≥15% - 25% y un PF alto; 6% un IF-ADN ≥25% - 30% considerado un PF bajo; y 37% un IF-ADN > 30% considerado como PF muy bajo.

Tabla 9.

Resultados del índice de fragmentación de ADN espermático.

Índice de fragmentación de ADN			
Índice	N°	%	Población
< 15%	20	30.8%	65
≥ 15%	45	69.2%	

Fuente: elaboración propia.

Interpretación: una población de 65 pacientes el 30.8% presentaron un porcentaje < 15% de índice de fragmentación de ADN espermático y el 69.2% presentaron ≥ 15 de índice de fragmentación de ADN espermático.

Por otra parte, la evaluación de la fragmentación de ADN espermático, en nuestra investigación, está basada en que el ADN fragmentado no produce el halo característico de sus formas helicoidales, observadas en los espermatozoides de ADN no fragmentados (técnica test de dispersión de la cromatina espermática SCD de sus siglas en inglés, *Sperm Chromatin Dispersion*) el cual, consiste en hacer una descondensación del ADN espermático. La validación de esta técnica se realizó de manera indirecta, comparándola con otros métodos, que también miden la fragmentación del ADN espermático, demostrando buena correlación con la técnica de TUNEL, dicha técnica cuenta con el apoyo de la tecnología biofísica de la citometría de flujo, que en combinación con la microscopia de EPI fluorescencia ha permitido brindar un realce exhaustivo al estudio de calidad/fertilidad del esperma (Portella & Gonzales, 2016).

Por su parte (Armenteros *et al.*, 2022) una incidencia de IF-ADN de 53,8% en su población de estudio; (Tania *et al.*, 2022) y (Carvajal *et al.*, 2021) informaron que el 100% de la población con IF-ADN alterado por exposición a metales pesados y sustancias químicas; (Cuestas *et al.*, 2021) informó de un 20% de pacientes con daño genético espermático en pacientes jóvenes con edad promedio $25,8 \pm 2,6$ años; (Callul *et al.*, 2017) halló en promedio que el $13 \pm$ de pacientes resultaron con IF-ADN alterado y seminograma normal.

Tabla 10.

Análisis diferencial según análisis estadístico ANOVA

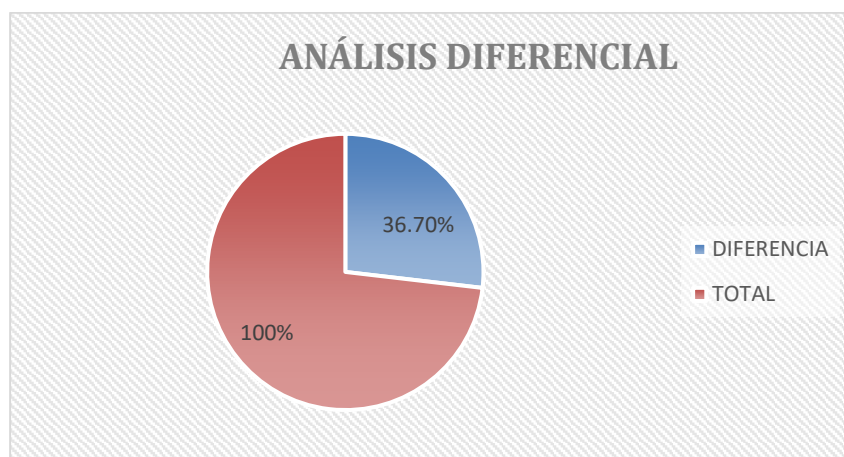
DIFERENCIA	TOTAL
36.70%	100%

Fuente: elaboración propia.

Interpretación: según resultados determinó que existe una diferencia de 36.7% entre el examen de seminograma y índice de fragmentación de ADN espermático, donde los pacientes que salieron con valores de seminograma Normal, en el Índice de Fragmentación espermático arrojaron resultados anormales.

Grafica 2:

Grafica diferencial según análisis estadístico ANOVA.



Fuente: elaboración propia.

Interpretación: según análisis estadístico en el gráfico circular, los resultados determinaron que existe una diferencia de 36.7% entre el examen de seminograma y índice de fragmentación de ADN espermático, donde los pacientes que salieron con valores de seminograma Normal, en el Índice de Fragmentación espermático arrojaron resultados anormales.

PROPUESTA PARA LA IDENTIFICACIÓN Y VALIDACIÓN DE BIOMARCADORES ESPECÍFICOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD DEL SEMEN Y LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EN PACIENTES CON PROBLEMAS DE FERTILIDAD.

1. Introducción:

La evaluación espermática en los últimos años, están teniendo una mayor repercusión al momento de evaluar a las parejas con problemas de fertilidad, por lo que el 50% del problema se debe a causa del varón. Uno de los exámenes más comprometedores es el seminograma o llamado espermiograma, sin embargo, pese a los resultados obtenidos en condiciones normales, las tasas de infertilidad no disminuyen. Por esa razón, es que se sugirió ampliar el examen a nivel genético del esperma y conocer las anomalías estructurales de los espermatozoides (Kupker, E. *et al.*, 1998).

En suma, a ello, se ha tomado en cuenta ampliar los estudios moleculares a un nivel proteómico, para poder analizar a los espermatozoides defectuosos, a través del uso de biomarcadores, dando un enfoque más exacto para su evaluación. Estos marcadores fluorescentes con apoyo del equipo de citometría de flujo, permiten detectar a los espermatozoides con alteración en la cromatina, entre los marcadores más usados se encuentra la UBIQUITINA (Sutovsky, P. & Cols, 2001).

La Ubiquitina, es una proteína pequeña, presente en todas las células eucariotas, encargadas de marcar a las proteínas innecesarias o estropeadas, para su degradación, al unirse con dichas proteínas, el SISTEMA PROTEOSOMAL las detecta e inicia el proceso de degradación llamado Ubiquitinación, en donde intervienen una enzima activadora llamada E1, una enzima transportadora llamada E2 y una enzima ligadora llamada E3, para dar como resultado pequeños péptidos (Bebington *et al.*, 2001).

La ubiquitina al reconocer a los espermatozoides con morfología defectuosa, es secretada por el epitelio epididimal para unirse a la superficie de dichos espermatozoides, el cual algunos son absorbidos por las células epiteliales y otros

son expuestos al exterior, mediante la eyaculación. Y en cuanto al ser evaluados estas resaltan, actuando como un potente marcador de los espermias con ADN fragmentado (Sutovsky *et al.*, 2001).

En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo identificar y validar biomarcadores específicos relacionados con la calidad del semen y la FAE en pacientes con problemas de fertilidad.

2. Objetivo:

Identificar y validar biomarcadores específicos relacionados con la calidad del semen y la FAE en pacientes con problemas de fertilidad.

3. Metodología:

3.1. Diseño del estudio:

- Se realizará un estudio observacional analítico, de casos y controles.
- Se reclutarán 100 pacientes con problemas de fertilidad y 50 hombres con fertilidad normal como grupo control.

3.2. Recolección de muestras:

- Se recolectará una muestra de semen de cada participante.
- Se analizarán los siguientes parámetros de calidad del semen:
 - Volumen
 - Concentración espermática
 - Motilidad
 - Vitalidad
 - Morfología

3.3. Evaluación de la FAE:

- Se utilizará la técnica de TUNEL para evaluar la FAE.
- Se analizará el porcentaje de espermatozoides con ADN fragmentado.

3.4. Identificación de biomarcadores:

- Se realizará un análisis proteómico del semen utilizando técnicas de espectrometría de masas.

- Se compararán los perfiles proteicos de los pacientes con fertilidad normal y los pacientes con problemas de fertilidad.
- Se identificarán biomarcadores específicos relacionados con la calidad del semen y la FAE.

3.5. Validación de biomarcadores:

- Se validarán los biomarcadores identificados mediante técnicas de ELISA y PCR.
- Se evaluará la sensibilidad, la especificidad y el valor predictivo de los biomarcadores.

3.6. Análisis estadístico:

- Se utilizarán pruebas estadísticas para comparar las variables entre los grupos de estudio.
- Se realizará un análisis de regresión logística para identificar los biomarcadores independientes de la FAE

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

- Según estudio de seminograma el 32,5% presentaron alteraciones según características macroscópicas y microscópicas
- Según estudio de fragmentación de ADN el 69,2% de muestras presentaron elevado índice de fragmentación según método de la dispersión de la cromatina.
- Según los resultados del seminograma y fragmentación de ADN el 32,5% y 69,2% evidenciaron que existe una correlación entre ambos exámenes, relacionados con los problemas de fertilidad masculina atendidos en una clínica privada de Chimbote SAC 2021.
- Según la investigación, se optó por plantear una propuesta para la identificación y validación de biomarcadores específicos relacionados con la calidad del semen y la fragmentación del ADN espermático, en pacientes con problemas de fertilidad.

Recomendaciones:

- Se recomienda incentivar la importancia de los resultados obtenidos a toda la comunidad universitaria, con el fin de motivar a los alumnos en el área de Biotecnología roja, utilizando herramientas biotecnológicas con fines en el sector de salud.
- Es importante también fomentar una cultura de autocuidado y estilos de vida saludables, ya que estas intervienen en la calidad del semen, trayendo como consecuencia problemas de fertilidad masculino.
- Promover, el impulso por investigar la integridad del ADN espermático, a un nivel proteómico y este integrarlo en un sistema de bioinformática biológica.
- Impulsar el desarrollo de nuevos marcadores moleculares que permitan identificar daños a nivel molecular del ADN espermático, incluyendo el uso de nuevos instrumentos de citometría de flujo para fines de andrología humana y procedimientos de reproducción asistida.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y VIRTUALES

- Alban & Molina. (2020). Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Recimundo*, 4(3), 163-173. [https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(3\).julio.2020.163-173](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(3).julio.2020.163-173)
- Alvarez A. (2020). Clasificación de las investigaciones. Universidad de Lima, Facultad de Ciencias Empresariales y Económicas, Carrera de Negocios Internacionales. <https://hdl.handle.net/20.500.12724/10818>
- Alvarez C. (2020). Estudio del daño del ADN espermático y su relación con la infertilidad masculina. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/15454>
- Arce, B., Padrón, R., & Mateo, O. (2019). Infertilidad masculina por oligozoospermia. Resultados del tratamiento con sexovid, clomifene y pergonal. *Revista Cubana de Medicina*, 11(5-6). <https://revmedicina.sld.cu/index.php/med/article/view/244>
- Armenteros, C., Rodríguez, M., Blanco, A., Ramos, V., & Balboa, J. (2022) *Edad y otros factores de riesgo relacionados con la fragmentación del ADN espermático en pacientes con infertilidad*. <https://convencionalud.sld.cu/index.php/convencionalud22/2022/paper/viewPDFInterstitial/2840/1550>

- Aulesa, C., Balbuena, H., Jiménez, P., Ramis, J., & Gris, J. (2021). *Estudio comparativo de los parámetros del seminograma en una población de varones subfértiles consumidores de marihuana*. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*, 8(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.medre.2020.12.001>
- Belfort, G., Silva, X., Pereira, S., Sallet, A., de Sousa, J., Alcántara da Silva, S., de Azevedo, S. A., & Lucena, V. B. (2023). *Características Do Espermograma De Pacientes Com Suspeita De Infertilidade*. *Revista Foco*, 16(1), e727. <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v16n1-032>
- Bebintong, C. The posible Biological and reproductive functions of Ubiquitin. *Human Reproduction Update*. 2001; 7:102-111. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/55948/tesis.PDF?sequence=1>
- Blanco, E., (2016). *Trastorno de deseo sexual hipoactivo femenino y masculino*. *Revista Sexología Y Sociedad*, 22(2). <http://www.revsexologiaysociedad.sld.cu/index.php/sexologiaysociedad/articloe/view/602>
- Bradley, A., (2011) *Infertility in men Hormone Health Net Work*. <https://www.hormone.org/pacientes-y-cuidadores/infertilidad-en-el-hombre>
- Cajal, A. (2020). *Observación indirecta: características, ventajas, desventajas, ejemplo*. Lifeder. <https://www.lifeder.com/observacion-indirecta/>
- Calcáneo, M. G. I. y de la Cueva, B. L. (2021). *Espermatogénesis. En Gametogénesis*. Portal Académico del CCH, UNAM.

<https://portalacademico.cch.unam.mx/biologia1/gametogenesis/espermatogenesis>

Calull-Bagó, A, González-Ortega, C, Cancino-Villarreal, P, Zúñiga-Sánchez, P, Ruvalcaba-Ortega, L, & Gutiérrez-Gutiérrez, AM. (2017). *Alteración de los parámetros seminales y su asociación con la fragmentación del ADN espermático*. Ginecología y obstetricia de México, 85(7), 409-420.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0300-90412017000700409&lng=es&tlng=es.

Carlson, B. M. (2019). *Embriología humana y biología del desarrollo*. Elsevier.
<https://www.elsevier.com/books/embriologia-humana-y-biologia-del-desarrollo/carlson/978-84-9113-526-5>

Carvajal-Rivero, M., Miranda-Bello, C., Hernández-Rodríguez, M., Díaz-González, N., & Gómez-Ferrer, D. (2021). *Relación entre los factores de riesgo de infertilidad masculina y las alteraciones del espermograma*. Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta, 46(5), e2821.
<https://revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/2821>

Corona & Fonseca. (2021). *Acerca del carácter retrospectivo o prospectivo en la investigación científica*. MediSur, 19(2),338-341.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180068639021>

Cuesta, C. (2021). *Evaluación de métodos para disminuir los niveles de fragmentación del ADN espermático: comparación de tres sistemas de procesamiento de muestras de semen* (Doctoral dissertation, Universidad de Belgrano-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-Licenciatura en Ciencias Biológicas).

<http://repositorio.ub.edu.ar/handle/123456789/9450>

Escudero, L. (2021) *Infertilidad: Un problema por resolver*. Sociedad Peruana de Infertilidad. <https://peru21.pe/lima/infertilidad-un-problema-por-resolver-noticia/>

Espejo et al (2021). *¿Cómo se interpretan los resultados del seminograma y sus valores?* Reproducción asistida ORG España.

<https://www.reproduccionasistida.org/resultados-de-seminograma/>

Gijón Tévar, Luis, Rodríguez Taberner, Marta Barranquero Gómez, Mónica Aura Masip, Paula Fabra Roca, Rebeca Reus, Dr. Sergio Rogel Cayetano, Silvia Azaña Gutiérrez (2021) *¿Qué es un seminograma básico y cómo se hace paso a paso?* España. <https://www.reproduccionasistida.org/seminograma/>

Gómez et al. (2022) *La fertilidad masculina: desarrollo del aparato reproductor*. Reproducción asistida ORG España.

<https://www.reproduccionasistida.org/fertilidad-en-el-hombre/>

Gómez, J. (2020). Tipo de Muestreo. Fundación Universitaria Konrad Lorenz. <https://repositorio.konradlorenz.edu.co/handle/001/3026>

Hall, J. E. (2011). Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. Elsevier Health Sciences.

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=UMYoE90LPmcC&oi=fnd&pg=PT7&dq=tratado+de+guyton&ots=r261IFhFJz&sig=oQqJUGTxW9EnwECvu3dfRCfE8ao#v=onepage&q=tratado%20de%20guyton&f=false>

Huidobro, A. C. (2010). *Infertilidad masculina*. Revista Médica Clínica Las Condes,

21(3), 368-375. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(10\)70547-2](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(10)70547-2)

Hussein, S. T., Acevedo, P. L., Morales, N. G., & Maya, W. C. (2019). *Comparación de 2 métodos de selección espermática sobre la fragmentación del ADN y el potencial de membrana mitocondrial de los espermatozoides humanos: en busca del gameto de oro*. *Clínica e Investigación en Ginecología y Obstetricia*, 46(1), 2-8. <https://doi.org/10.1016/j.gine.2017.04.004>

Ilaya (2019) *Tasas de Fertilidad y Estadísticas de Infertilidad*. Ilaya Medical Company. <https://ivf.ilaya.com/es/tasas-fertilidad-estadisticas-infertilidad/#:~:text=Otros%20declaran%20que%20la%20infertilidad%20est%20C3%A1%20afectando%20al,de%20hombres%20en%20todo%20el%20mundo%20son%20inf%20C3%A9rtiles.>

Instituto Bernabéu (2023) *Instrucciones para obtener una correcta muestra de semen: abstinencia sexual, higiene*. España. <https://www.institutobernabeu.com/es/foro/instrucciones-para-obtener-una-correcta-muestra-de-semen-abstinencia-sexual-higiene-etc/>

Kupker, E. et al Diedrich, K. Principles of mammalian fertilization. Human Reprod. 1998. Tesis para optar el título de bacteriólogas. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/55948/tesis.PDF?sequence=1>

Laura et al (2021) *¿Qué valores son normales en el análisis de la movilidad espermática?* Reproducción asistida ORG España. <https://www.reproduccionasistida.org/analisis-de-la-movilidad-de-los-espermatozoides/>

Lifeder. (2020). *Espermatozoide: funciones, partes, ciclo de vida*. (2020).
<https://www.lifeder.com/espermatozoides-partes-funciones/>.

Lifeder. (2021). *Espermatogénesis*. Recuperado de:
<https://www.lifeder.com/espermatogenesis/>.

Lindsay, T. J., & Vitrikas, K. R. (2015). *Evaluation and treatment of infertility*.
American family physician, 91(5), 308–314.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25822387/>

López García José, Aurora Urbano Felices, Marta Cárdenas Povedano (2020) *Manual de Laboratorio para análisis de semen*. <https://doi.org/10.3926/oss.5>

Machorro-Ramírez, L. Á., Alba-Quiróz, L., Paredes-Guiñán, O. J., Monsalve-Flores, C., Valdez-Morales, F. J., & Valdés-Carrillo, A. (2018). *Evaluación de la integridad del ADN espermático y su repercusión en los parámetros seminales de varones infértiles*. *Ginecología y obstetricia de México*, 86(11), 699-708.
<https://doi.org/10.24245/gom.v86i11.1844>

Martínez, J. (2019). El proceso de elaboración y validación de un instrumento de medición documental. *Acción Y Reflexión Educativa*, (44), 50–63.
http://200.46.139.234/index.php/accion_reflexion_educativa/article/view/673

Mendoza & Ramírez. (2020). *Aprendiendo metodología de la investigación*.
<http://142.93.18.15:8080/jspui/bitstream/123456789/523/1/LISTO%202.pdf>

Mendoza Vincés, Á. O., & Ramírez Franco, J. M. (2020). *Aprendiendo metodología de la investigación*.
<http://142.93.18.15:8080/jspui/bitstream/123456789/523/1/LISTO%202.pdf>

- Moore, K.L., Dalley, A.F., Agur, A. M. R. (2018). *Anatomía con orientación clínica*. (8a ed). Próstata. (pp. 1108-1111). Philadelphia, PA: Wolters Kluwer.
https://www.academia.edu/38327398/Anatomia_con_oritacion_clinica_8a_edicion_pdf
- Morey-León, G., Puga-Torres, T., Blum-Rojas, X., González-González, M., Narvárez-Sarasti, A., & Sorroza-Rojas, N. (2020). *Caracterización de la calidad del semen en hombres atendidos en un centro de reproducción asistida en Guayaquil, Ecuador*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 37, 292-296. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.372.4973>
- Olmedo-Samudio, Jennifer, Galeano, Juan Manuel, & Ruiz-Valdez, Oscar Manuel. (2021). *Prevalencia de alteraciones del factor masculino en pacientes que consultan en una clínica de referencia por infertilidad en el periodo de agosto de 2018 - agosto de 2019*. *Revista científica ciencias de la salud*, 3(2), 11-18. Epub December 00, 2021. <https://doi.org/10.53732/rccsalud/03.02.2021.11>
- OMS (2020) *Esterilidad*. Organización Mundial de la Salud – 14-09-2020.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
- OMS (2021). *Infertilidad*. Organización Mundial de la Salud.
https://www.who.int/es/health-topics/infertility#tab=tab_1
- Palma, C., & Vantman, D. (2021). *Infertilidad masculina: causas y diagnóstico*. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 32(2), 180-188.
<https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2021.01.004>
- Paraíso et al. (2021) *Fragmentación del ADN espermático y su implicación en la fertilidad*. <https://www.reproduccionasistida.org/fragmentacion-adn-semen/>

- Pfeifer, S., Butts, S., Fossum, G., Gracia, C., La Barbera, A., Mersereau, J., ... & Vernon, M. (2017). *Optimizing natural fertility: a committee opinion. Fertility and Sterility*, 107(1), 52-58. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.09.029>
- Pró, E. A. (2014). *Anatomía clínica (pp. 750-751)*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
<https://www.panamericana.com.co/anatomia-clinica-2-edicion/p>
- Ramos-Brieva, J., González-de la Hoz, P., Rodríguez-Fiñaga, S., & Cruz, M. (2017). *Los sentimientos de los hombres mientras obtienen semen para analizar: Un amplio y sistemático estudio descriptivo. Psiquiatría. com*, 21.
[https://www.academia.edu/download/54702317/Los sentimientos de los hombres mientras obtienen semen para analizar Un amplio y sistematico estudio descriptivo.pdf](https://www.academia.edu/download/54702317/Los_sentimientos_de_los_hombres_mientras_obtienen_semen_para_analizar_Un_amplio_y_sistematico_estudio_descriptivo.pdf)
- Riso Techera, C, Villagrán, L, Ruiz Ceriani, G, Salazar Vaz, O, Sánchez Díaz, V y Silva Saravia, M. (2019.). *Análisis de la calidad espermática de donantes en los últimos treinta años en Uruguay. Monografía.*
<https://hdl.handle.net/20.500.12008/33612>
- Rivero, C. (2021) *Anatomía del Pene humano. Atlas de anatomía.*
<https://atlasdeanatomia.com/anatomia-del-pene/>
- Rodríguez Martínez, Kenia, Ramírez Blanco, Dianelys, Benítez Cordero, Yudelkis, & Gutiérrez Gutiérrez, Reinaldo. (2019). *Fragmentación del ADN espermático en parejas tratadas por fertilización in vitro. Revista Cubana de Endocrinología*, 30(3), e194. Epub 10 de junio de 2020.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-

[29532019000300004&lng=es&tlng=es.](https://doi.org/10.1016/j.medre.2019.10.001)

Rodríguez, B., (2017). *Fragmentación del ADN espermático e infertilidad masculina.*

Revista Cubana de Endocrinología, 28(3), 1-17.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-

[29532017000300009&lng=es&tlng=es.](https://doi.org/10.1016/j.medre.2019.10.001)

Sancho-Velasco, M. J., & Esbert, M. (2019). *Effects of life style and certain toxic compounds on the male fertility.* Medicina Reproductiva y Embriología

Clínica, 6(2-3), 47-62. <https://doi.org/10.1016/j.medre.2019.10.001>

Standring, S. (Ed.). (2021). *Gray's anatomy e-book: the anatomical basis of clinical practice.* Elsevier Health Sciences.

<https://www.elsevier.com/books/grays-atlas-of-anatomy/drake/978-0-323->

[63639-1](https://www.elsevier.com/books/grays-atlas-of-anatomy/drake/978-0-323-63639-1)

Tania, P. B., Arelis, J. N., Lucía, F. R., Magali, M. G., Yuandia, P. G., & Judith, P. B.

(2022, June). *Niveles de plomo en sangre, calidad seminal y fragmentación espermática en trabajadores de talleres de baterías.* In Cuba Salud 2022.

<https://convencionsalud.sld.cu/index.php/convencionsalud22/2022/paper/view>

[PDFInterstitial/1276/701](https://convencionsalud.sld.cu/index.php/convencionsalud22/2022/paper/view)

Tejeda-Ruíz, C., Panizo-Bruzón, S., Blanco-Tejeda, A., Sánchez-Cruz, Y., & Thomas-Santiesteban, M. (2022). *Características de pacientes con espermograma*

anormal atendidos en la consulta de infertilidad en Las Tunas. Revista

Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta, 47(6), e3236.

<https://revzoilomarinellosld.cu/index.php/zmv/article/view/3236>

Useche, M. (2020). *Técnicas e instrumentos de recolección de datos Cualitativos*.

<https://www.researchgate.net/publication/344256464> Técnicas e instrumentos de recolección de datos Cualitativos

World Health Organization. (2021). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. World Health Organization.

<https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1358672/>

VII. ANEXOS

Anexo 1. A. Habitación especial para recolección de la muestra; B. Lavadero para desinfección de manos.



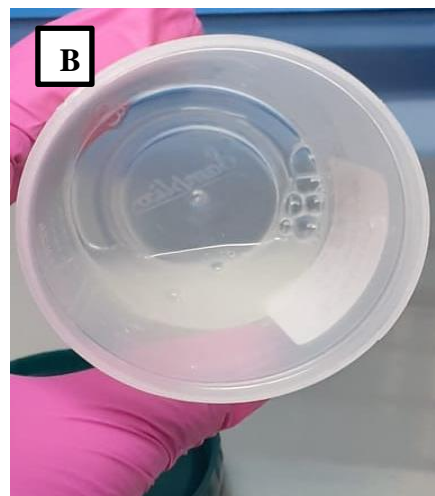
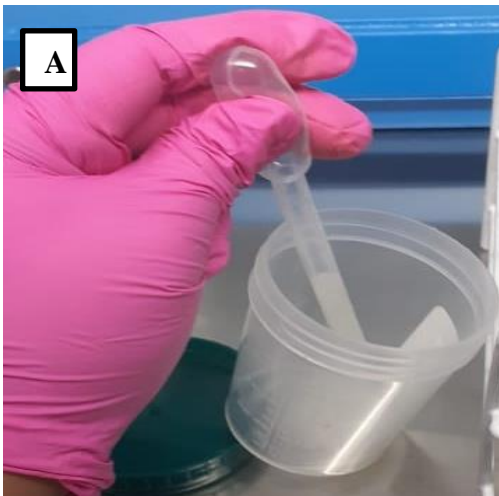
Fuente: clínica privada de Chimbote SAC.

Anexo 2. Recepción del frasco con muestra seminal.



Fuente: elaboración propia.

Anexo 3. Evaluación de parámetros macroscópicos. A. medición total del volumen seminal;
B. Observación del color y aspecto de la muestra seminal.



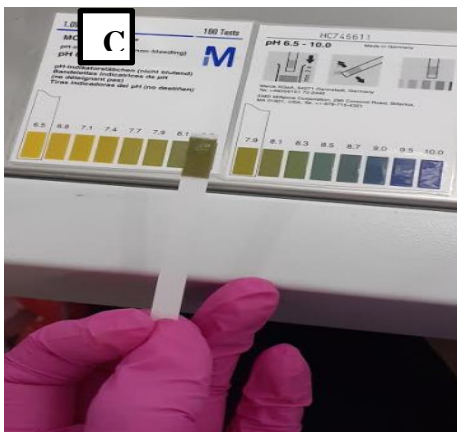
Fuente: elaboración propia.

Anexo 4. Observación de la viscosidad de la muestra seminal, dejando caer gota a gota.



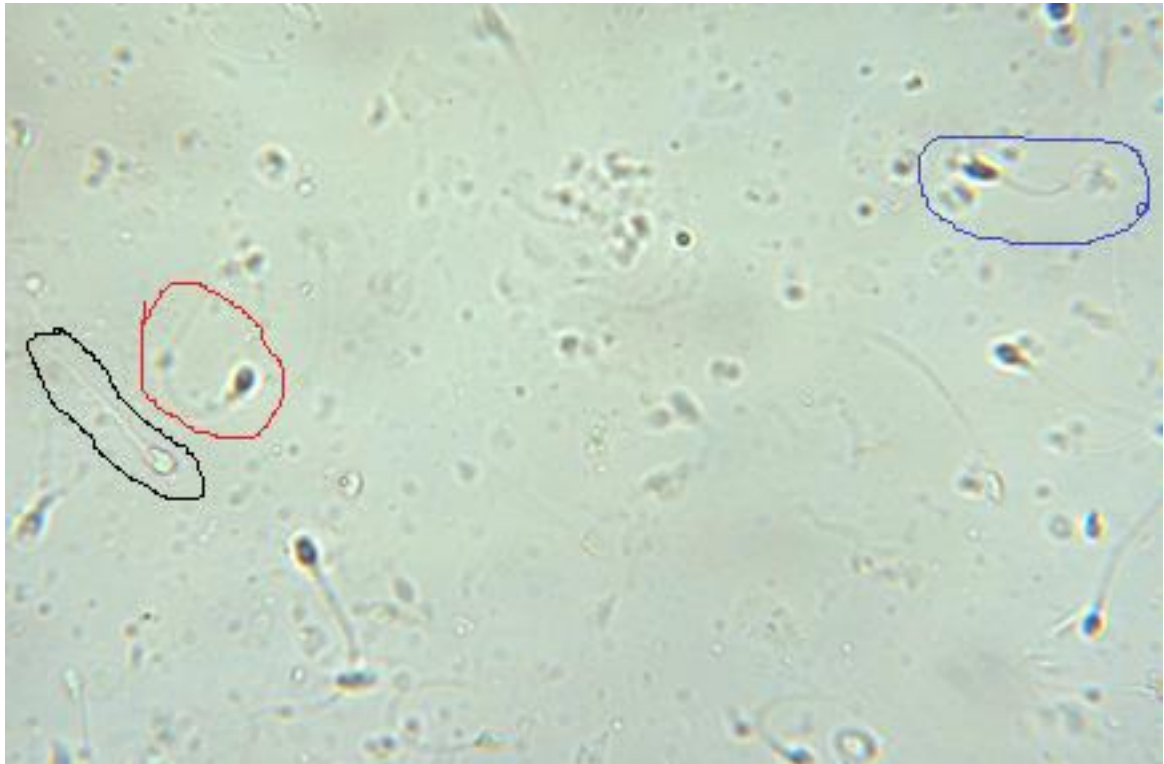
Fuente: elaboración propia

Anexo 5. Evaluación de parámetros macroscópicos. A. introducción de tira de pH en la muestra seminal; B. comparación con el cuadro patrón de pH; C. frasco en espera de licuefacción completa.



Fuente: elaboración propia.

Anexo 6. Evaluación de movilidad de los espermatozoides. A. Espermatozoides con Movilidad progresiva; B. Espermatozoides con Movilidad No Progresiva; C. Espermatozoides Inmóviles. Aumento 400 veces



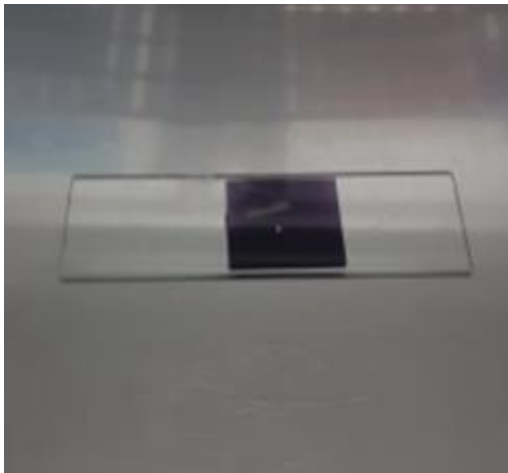
Fuente: elaboración propia.

Anexo 7. Reactivos VitalScreen Eosina/Nigrosina



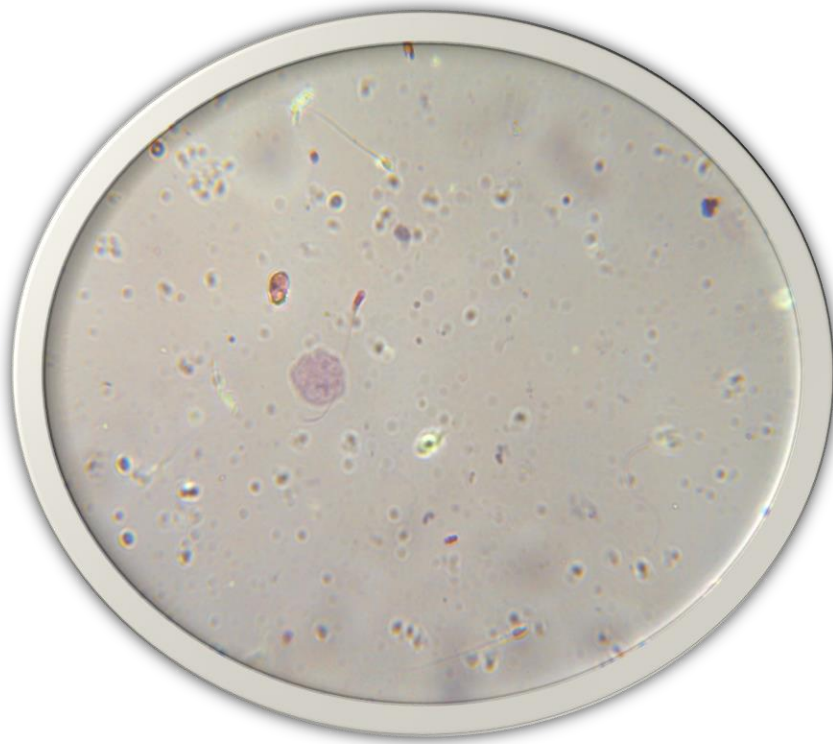
Fuente: elaboración propia.

Anexo 8. Lamina con muestra, recubierta con Eosina y Nigrosina.



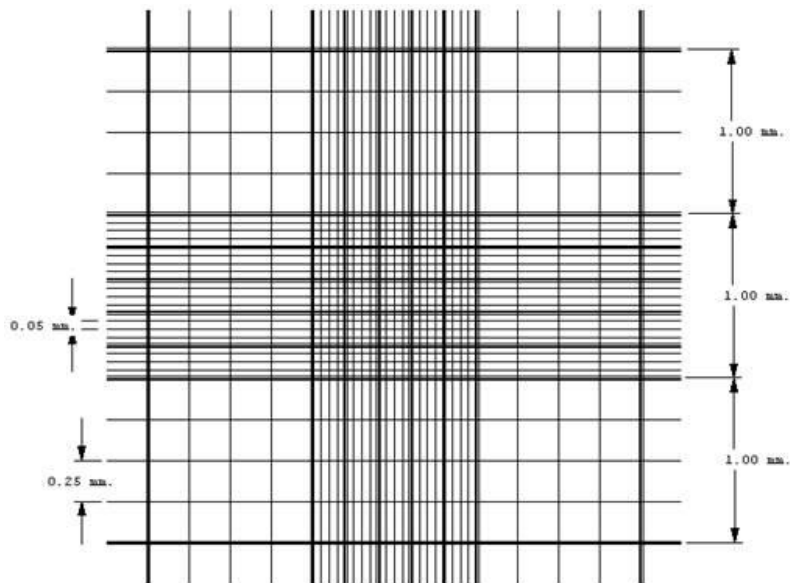
Fuente: elaboracion propia.

Anexo 9. Evaluación de Vitalidad. C. Observación de espermatozoides vivos y muertos en el microscopio a 40X (a. espermatozoide vivo, b. espermatozoides muertos). Aumento: 400 veces.



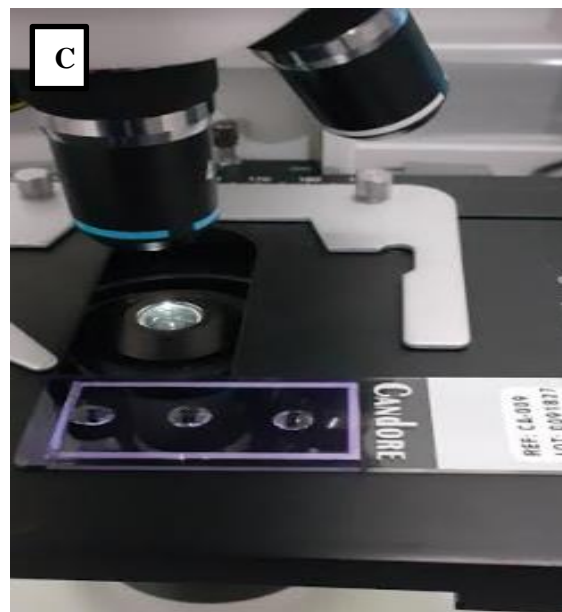
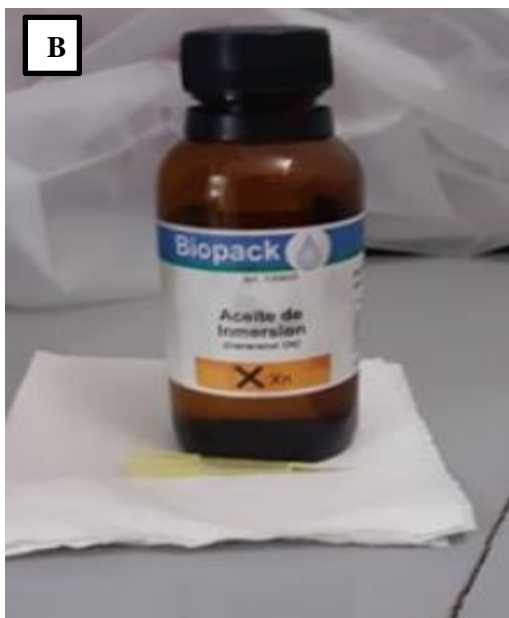
Fuente: elaboración propia.

Anexo 10. Recuento de espermatozoides. B. Características de los cuadrantes de la cámara Neubauer.



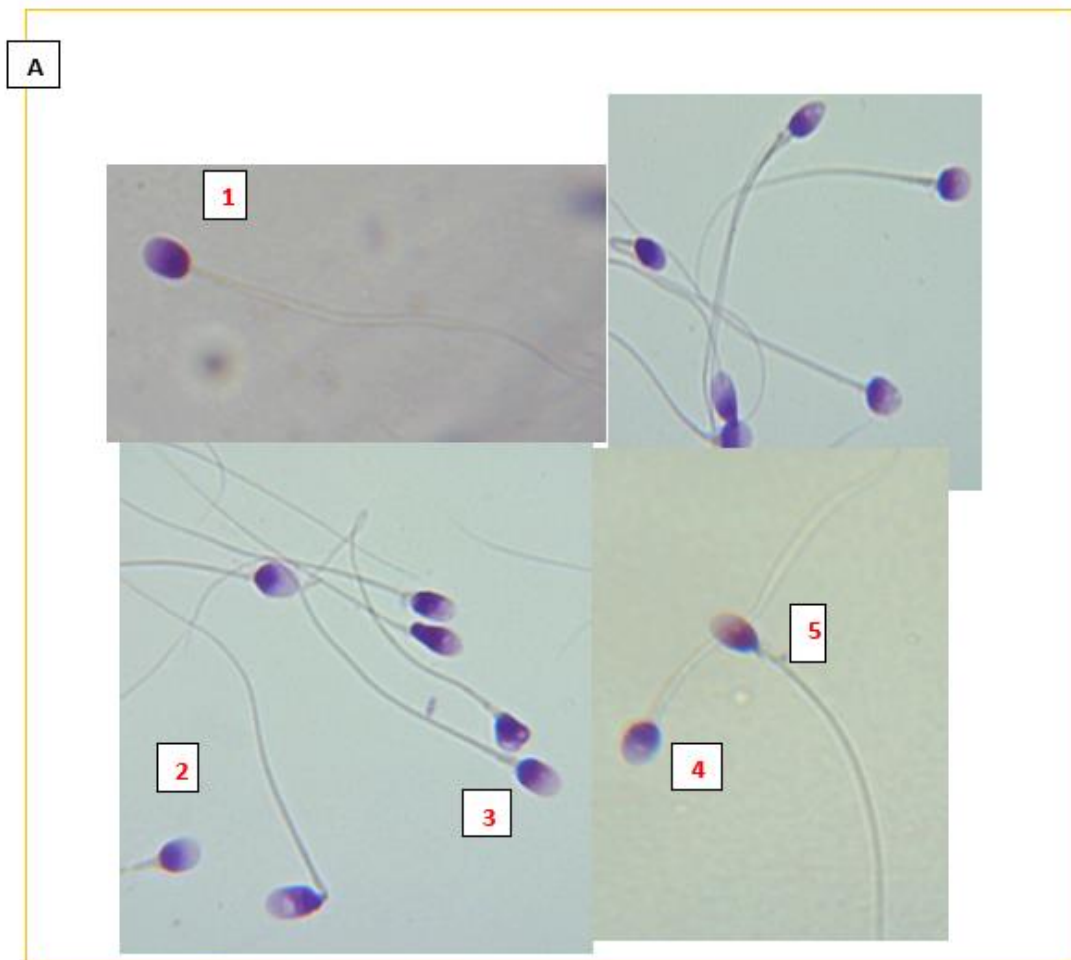
Fuente: elaboración propia.

Anexo 11. Evaluación morfológica. A) preparación de 30 μ l de muestra seminal y 157.5 μ l de suero fisiológico, dentro de la cabina de flujo laminar; B) Aceite de Inmersión; C) aplicación de 3 gotas de aceite de inmersión en la superficie de la lámina Can Morph. Aumento: 400 veces.



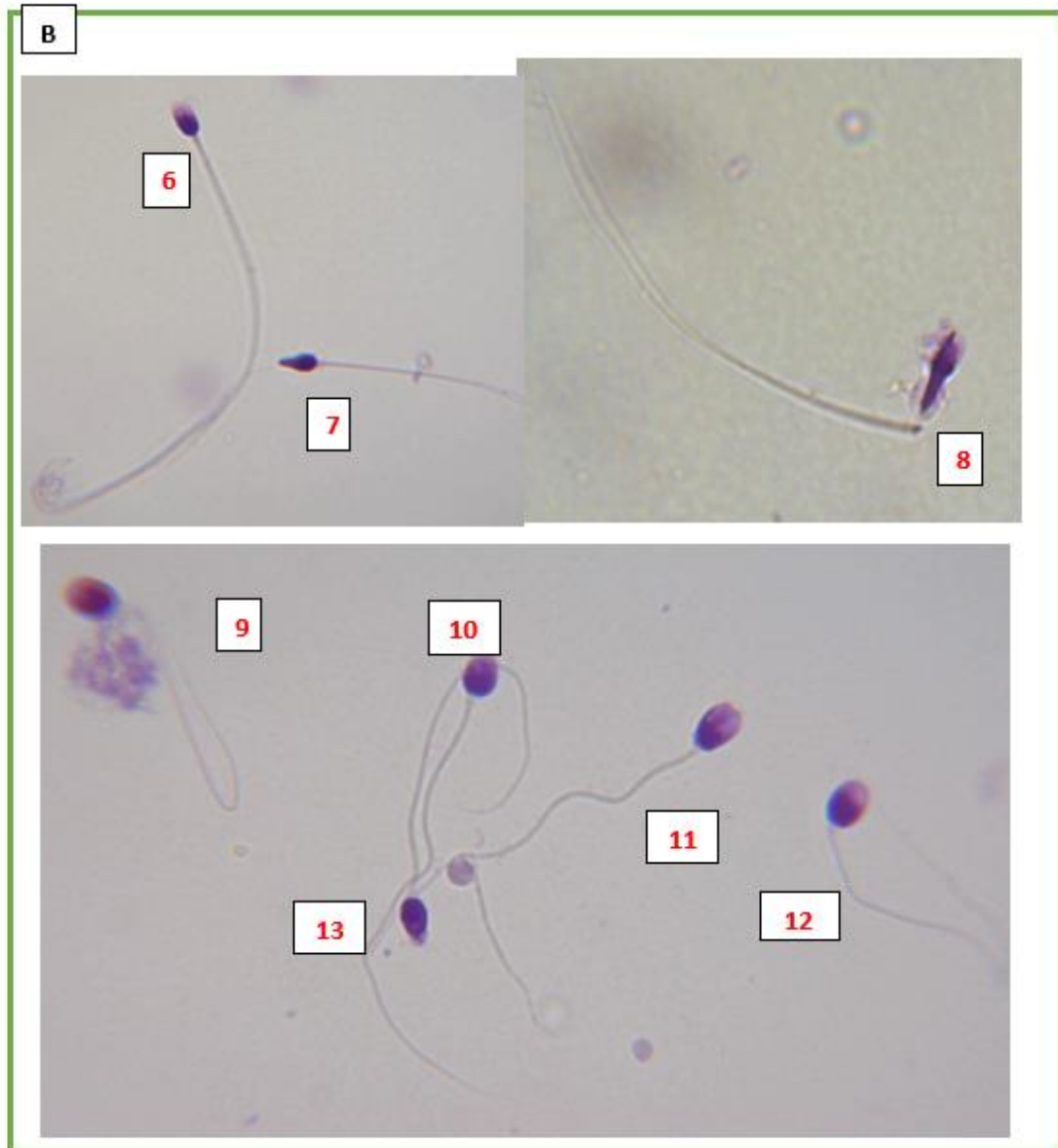
Fuente: elaboración propia.

Anexo 12. Observación de espermatozoides Normales y espermatozoides Anormales. A. Espermatozoides Normales (1,2,3,4,5). Aumento: 1000 veces



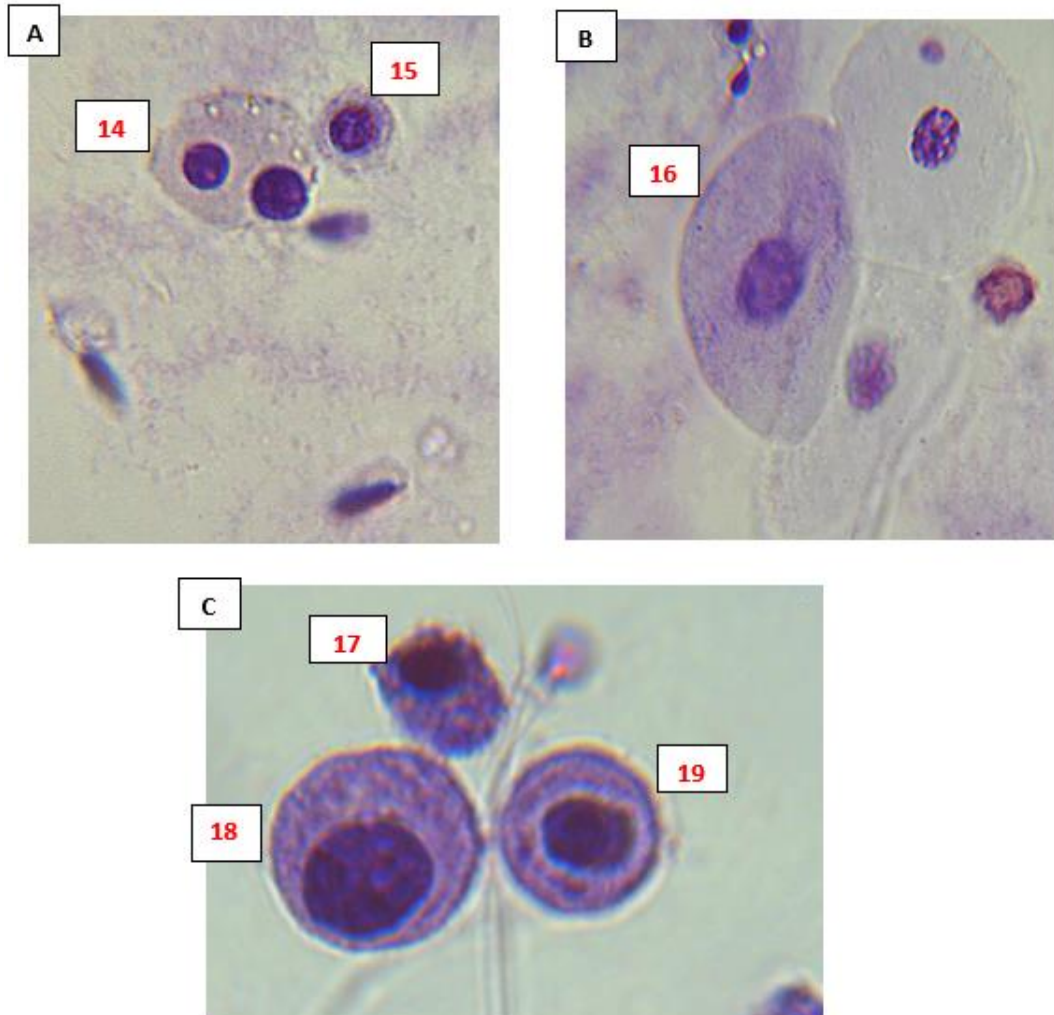
Fuente: elaboración propia

Anexo 13. Espeatozoides Anormales (Anormal de cabeza: 6,7,8,9,10,11,12,13 – Anormal de cuello: 8,10,12 – Anormal de cola: 6, 9, 10, 12,13). Aumento: 1000 veces.



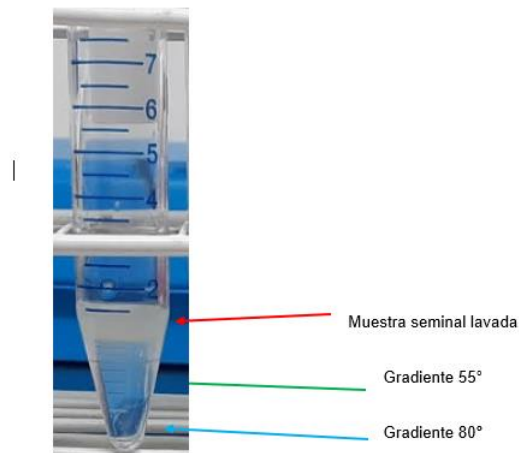
Fuente: elaboración propia.

Anexo 14. Otros tipos de células. A. División espermática (14), Espermatocito (15); B. Células epiteliales (16); C. Espermatocito (17, 19), Macrófago (18). Aumento: 1000 veces. Fuente: Propia



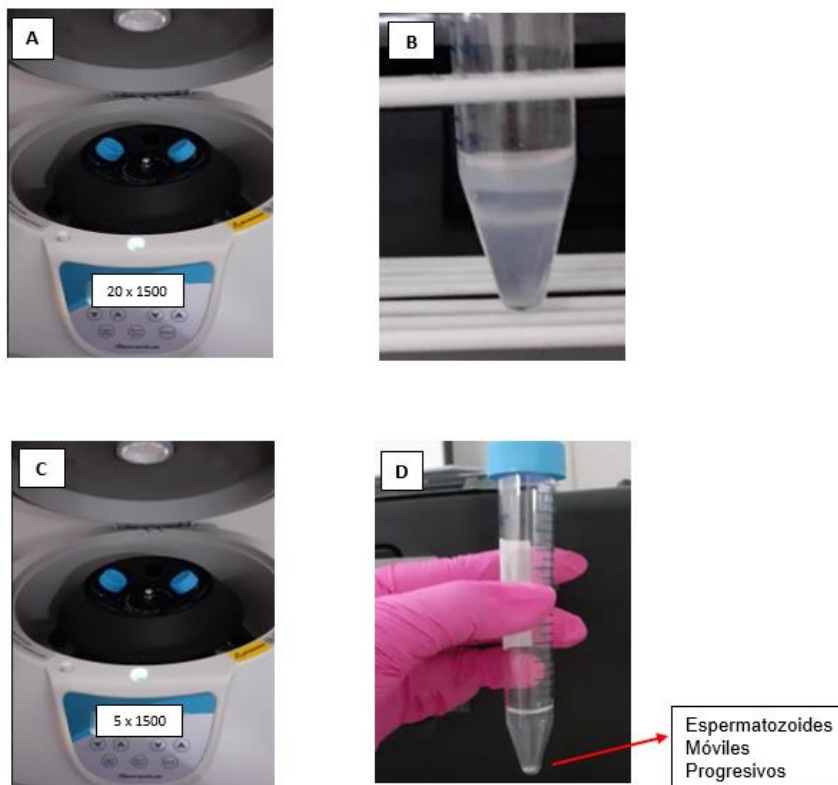
Fuente: elaboración propia.

Anexo 15. Formación de las tres capas de gradiente (parte superior, está la muestra lavada, en el centro la gradiente 55 y en el fondo del tubo la gradiente 80).



Fuente: elaboración propia.

Anexo 16.- Centrifugación. A. 1era centrifugación a 1500 rpm x 20 minutos; B. Separación del sobrenadante del precipitado; C. 2da centrifugación a 1500 rpm x 5 minutos; D. Obtención del precipitado (muestra de espermatozoides móviles progresivos).



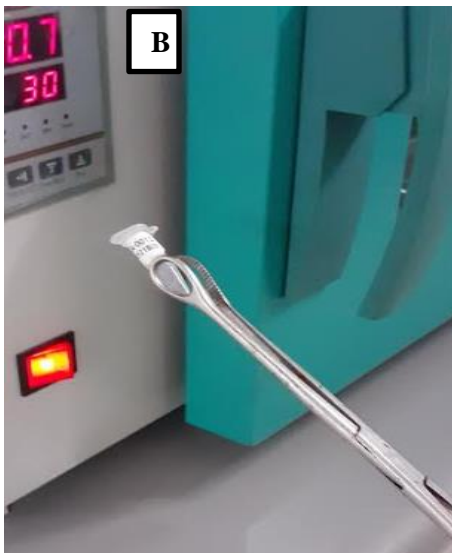
Fuente: elaboración propia.

Anexo 17. Kit can frag



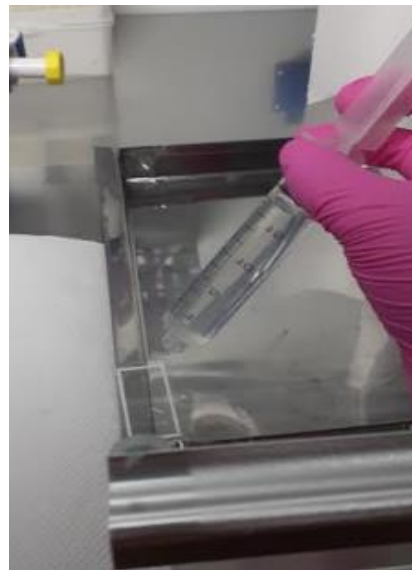
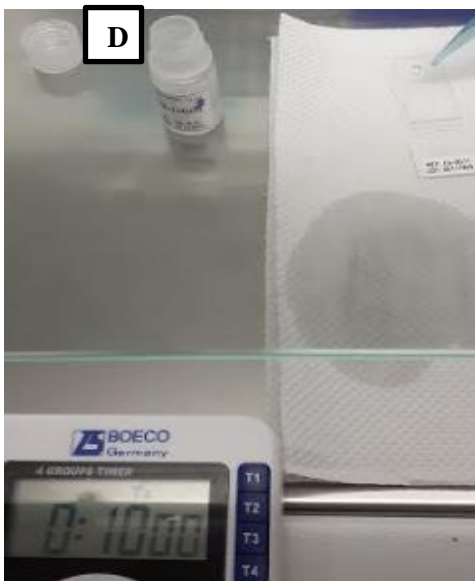
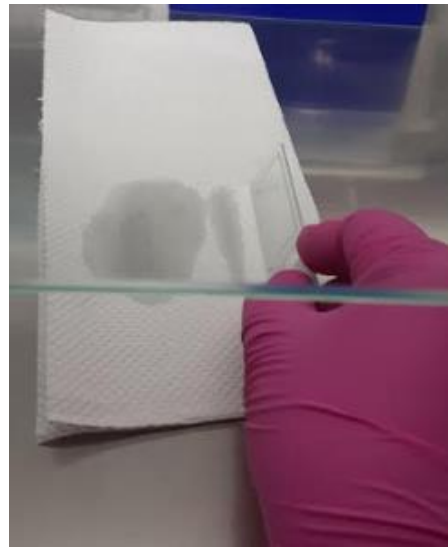
Fuente: Elaboración propia

Anexo 18.- A. Colocación del tubo de agarosa en la estufa. B. Colocación de lámina dentro de la refrigeradora.



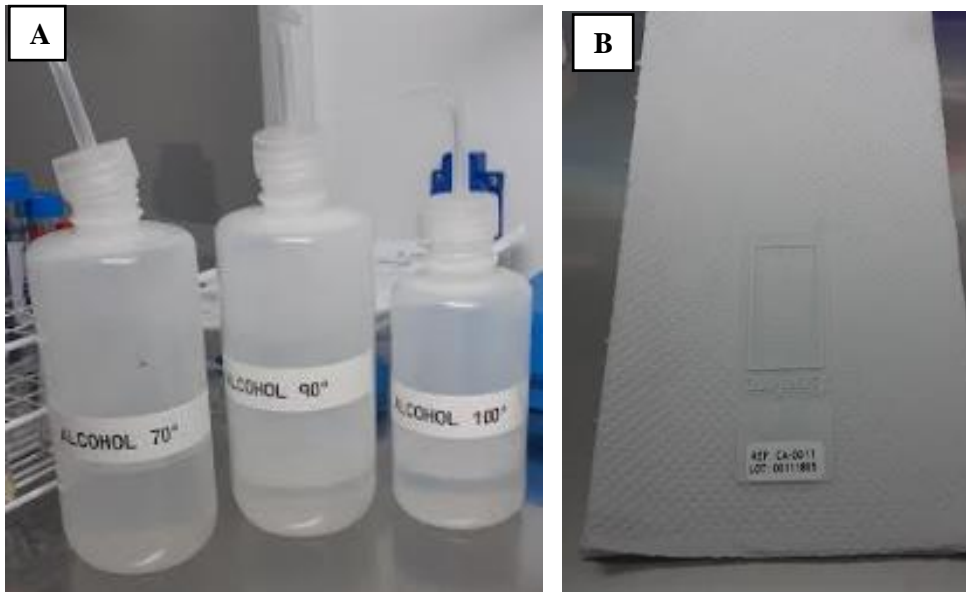
Fuente: elaboración propia.

Anexo 19. Desnaturalización de ADN. A. Ácido denaturante y solución lisis; B. Eliminando el exceso de ácido denaturante; C. Agregado de solución lisis sobre la lámina; D. Agregado de 20 ml de agua destilada sobre la lámina



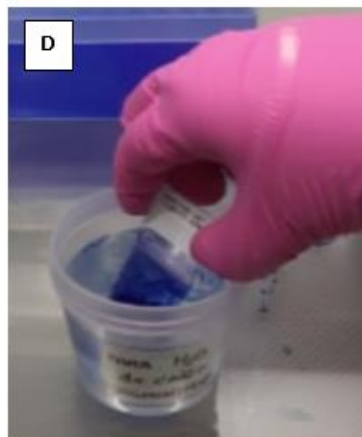
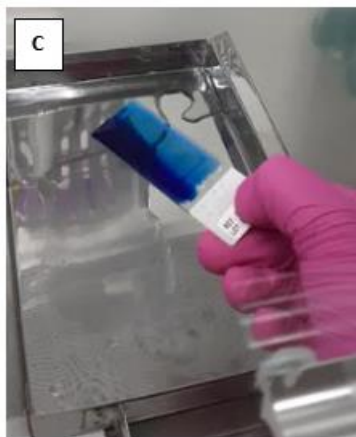
Fuente: elaboración propia.

Anexo 20. Deshidratación. A. Alcohol al 70%, 90% y 100%; B. Lámina esperando que los alcoholes se evaporen.



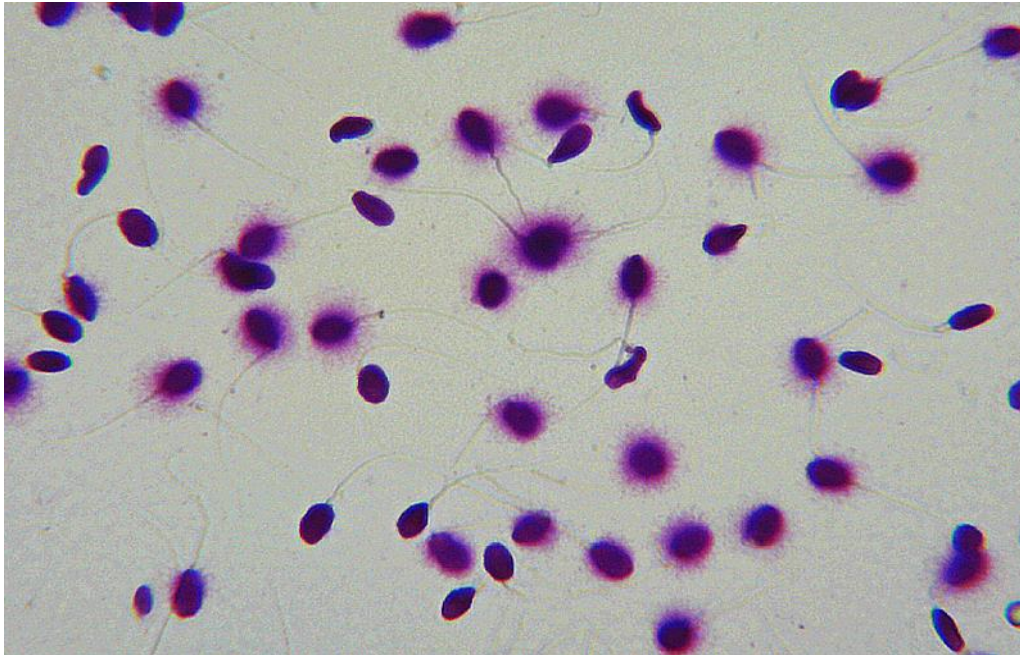
Fuente: elaboración propia.

Anexo 21. Solución Tinción. A) Microtubo con solución tinción; B) Agregado de los 600 μ l del tinte sobre la lámina; C) Homogenización del tinte sobre la lámina; D) Sumergida de lámina en el vaso con agua.



Fuente: elaboración propia.

Anexo 22. Observación de dispersión de la cromatina de los espermatozoides, en el microscopio a 40X y observado a través del software Scolpimage 9.0. Aumento: 400 veces.



Fuente: elaboración propia.

Anexo 23. Base de datos.

N°	Apellidos y Nombres	N. C.	Educativo	Laboratorio		Volumen (ml)	Concentración total		Concentración total		vitalidad		vitalidad		vitalidad		
				Preparación	Examinación		Espermatozoides (x10 ⁶)	%	%	Normal	Abnormal	% de normalidad	Normal	Abnormal	% de normalidad		
1	CRUZADO LUIS RICARDO	00035	35	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
2	VALDELLANO ANDRÉS	00036	36	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
3	VALDELLANO ANDRÉS	00037	37	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
4	VALDELLANO ANDRÉS	00038	38	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
5	VALDELLANO ANDRÉS	00039	39	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
6	VALDELLANO ANDRÉS	00040	40	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
7	VALDELLANO ANDRÉS	00041	41	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
8	VALDELLANO ANDRÉS	00042	42	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
9	VALDELLANO ANDRÉS	00043	43	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
10	VALDELLANO ANDRÉS	00044	44	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
11	VALDELLANO ANDRÉS	00045	45	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
12	VALDELLANO ANDRÉS	00046	46	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
13	VALDELLANO ANDRÉS	00047	47	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
14	VALDELLANO ANDRÉS	00048	48	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
15	VALDELLANO ANDRÉS	00049	49	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
16	VALDELLANO ANDRÉS	00050	50	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
17	VALDELLANO ANDRÉS	00051	51	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
18	VALDELLANO ANDRÉS	00052	52	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
19	VALDELLANO ANDRÉS	00053	53	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
20	VALDELLANO ANDRÉS	00054	54	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
21	VALDELLANO ANDRÉS	00055	55	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
22	VALDELLANO ANDRÉS	00056	56	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
23	VALDELLANO ANDRÉS	00057	57	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
24	VALDELLANO ANDRÉS	00058	58	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
25	VALDELLANO ANDRÉS	00059	59	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
26	VALDELLANO ANDRÉS	00060	60	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
27	VALDELLANO ANDRÉS	00061	61	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
28	VALDELLANO ANDRÉS	00062	62	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
29	VALDELLANO ANDRÉS	00063	63	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
30	VALDELLANO ANDRÉS	00064	64	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
31	VALDELLANO ANDRÉS	00065	65	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
32	VALDELLANO ANDRÉS	00066	66	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
33	VALDELLANO ANDRÉS	00067	67	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
34	VALDELLANO ANDRÉS	00068	68	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
35	VALDELLANO ANDRÉS	00069	69	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
36	VALDELLANO ANDRÉS	00070	70	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
37	VALDELLANO ANDRÉS	00071	71	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
38	VALDELLANO ANDRÉS	00072	72	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
39	VALDELLANO ANDRÉS	00073	73	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
40	VALDELLANO ANDRÉS	00074	74	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
41	VALDELLANO ANDRÉS	00075	75	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
42	VALDELLANO ANDRÉS	00076	76	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
43	VALDELLANO ANDRÉS	00077	77	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
44	VALDELLANO ANDRÉS	00078	78	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
45	VALDELLANO ANDRÉS	00079	79	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0
46	VALDELLANO ANDRÉS	00080	80	1	8,0	5,7	500	1,00%	1,00%	1,00%	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: elaboración propia.