



INSTITUTO AUTONOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LOS ANDES

IAHULA

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

CATEDRA – SERVICIO DE UROLOGÍA

MERIDA – VENEZUELA



**Impacto de la leucocitospermia en la función de las glándulas sexuales
accesorias y su repercusión en la calidad seminal.**

*Impact of leukocytospermia on the function of accessory sex glands and its impact on
seminal quality.*

www.bdigital.ula.ve

Autor:

Julmery Vargas

C.I. 18.790.987

Tutor:

Dr. Pedro Fernández

Cirujano Urólogo – Andrólogo

Asesor estadístico:

Lic. Guillermo Terán

Trabajo especial de grado para optar por el título de Cirujano Urólogo

Mérida, Octubre del 2018

C.C.Reconocimiento

DEDICATORIA

Quiero dar gracias a Dios primeramente por darme la oportunidad de llegar a esta etapa tan importante y anhelada en mi vida, fuiste mi luz, mi guía y mi fortaleza para culminarla con éxito.

A todas aquellas personas que de alguna forma ayudaron en la realización de este gran proyecto.

A mi madre y a mi ahijado, mis amores más grandes, por apoyarme aun en la distancia en este camino tan hermoso como lo es la vida de post grado.

A la Cátedra Servicio de Urología del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), que se convirtió en mi segunda casa y me abrió las puertas para estudiar y aprender.

A nuestros Médicos especialistas, maestros de la Cátedra-Servicio de Urología: Dr. José Enrique Machado, Dr. Henry Salas, Dr. Freddy Rodríguez, Dr. Rubén Gallo, Dr. Rafael Contreras, Dra. Adriana Contreras, Dr. Mazen El Eysami, Dr. Willian Ferrer, Dr. Henry Ramírez, Dr. Raynner Guillén, por nuestra formación académica, por su entrega y dedicación.

www.bdigital.ula.ve

INDICE

	Pág.
INDICE DE FIGURAS	4
INDICE DE TABLAS	5
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
ANTECEDENTES TEÓRICOS	10
Trabajos Previos	10
El problema	12
Bases Teóricas	13
Anatomía y fisiología del líquido seminal.....	13
Funciones sexuales masculinas.....	14
Bases anatomo – fisiológicas.....	14
Formación del líquido seminal.....	14
Testículo.....	15
Epidídimo.....	16
Vasos deferentes.....	16
Vesículas seminales.....	16
Glándula prostática.....	16
DEFINICIONES	17
Espermograma.....	17
Leucocitospermia.....	17
Marcadores de glándulas sexuales accesorias masculinas.....	17
Fructosa.....	17
Ácido cítrico.....	17
1,4-aglicosidasa neutra (AGN).....	17
ALTERACIONES DE LOS PARÁMETROS ESPERMÁTICOS	19

Aspermia.....	19
Astenozoospermia.....	19
Azoospermia.....	19
Cryptozoospermia.....	19
Necrozoospermia.....	19
Oligozoospermia.....	19
Teratozoospermia.....	19
Oligoastenoteratozoospermia.....	19
Definición operacional de términos.....	20
Operacionalización del evento de estudio y criterios de análisis.....	20
Objetivos de la Investigación.....	24
Objetivo General.....	24
Objetivos Específicos.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
Tipo de Investigación.....	25
Diseño de la Investigación.....	25
Población y Muestra.....	25
Unidad de Investigación.....	25
Selección del Tamaño de la Muestra.....	27
Sistema de Variables.....	28
Instrumento de Recolección de Datos.....	28
Procedimientos de la Investigación.....	28
Obtención y procesamiento de la muestra.....	28
Resultados.....	30
Discusión.....	44
Conclusiones.....	45
Recomendaciones.....	47
Agradecimientos.....	48
Referencias Bibliográficas.....	49

INDICE DE FIGURAS

Nº	Pág.
1. Frecuencia de pacientes con leucocitospermia y alteración de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias masculinas.....	30
2. Distribución porcentual de las alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas accesorias más frecuentes en el estudio bioquímico del semen.....	33
3. Distribución porcentual de las alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas accesorias según rango de leucocitospermia.....	34
4. Forest Plot para la evaluación indirecta de riesgo (OR) entre la Teratozoospermia en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.....	37
5. Forest Plot para la evaluación indirecta de riesgo (OR) entre la Astenozoospermia en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.....	39
6. Forest Plot para la evaluación indirecta de riesgo (OR) entre la Oligospermia en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.....	41

INDICES DE TABLAS

Nº	Pág.
Tabla 1. Valores de referencia del espermograma características seminales: licuefacción, ph, volumen, contracción espermática, concentración total, motilidad, viabilidad, formas normales, leucocitos según la OMS 4ta Versión (1.999) y 5ta Versión (2.010).....	19
Tabla 2. Operacionalización del evento de estudio Impacto de la leucocitospermia en la función de las glándulas sexuales accesorias.....	21
Tabla 3. Operacionalización del criterio de análisis y de clasificación de la morfología de Kruger.....	22
Tabla 4. Operacionalización del criterio de análisis y concentración espermática.....	23
Tabla 5. Operacionalización del criterio de análisis y movilidad espermática.....	24
Tabla 6. Marcadores bioquímicos de glándulas accesorias con mayor alteración en pacientes con leucocitospermia.....	32
Tabla 7. Distribución de las alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias según rango de leucocitospermia.....	34
Tabla 8. Alteración de parámetros espermáticos (Morfología) en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.....	36
Tabla 9. Alteración de parámetros espermáticos (Movilidad) en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.....	38
Tabla 10. Alteración de parámetros espermáticos (concentración) en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.....	40
Tabla 11. Relación entre la alteración de parámetros espermáticos (morfología) en pacientes con leucocitospermia y su asociación o no con alteración los marcadores de glándulas accesorias.....	42
Tabla 12. Relación entre la alteración de parámetros espermáticos (Movilidad) en pacientes con leucocitospermia y su asociación o no con alteración de los marcadores de glándulas accesorias.....	42

Tabla 13. Relación entre la alteración de parámetros espermáticos (Concentración) en pacientes con leucocitospermia y su asociación o no con alteración de marcadores de glándulas accesorias.....	43
---	----

www.bdigital.ula.ve



**INSTITUTO AUTONOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LOS
ANDES IAHULA
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA
CATEDRA – SERVICIO DE UROLOGÍA
MERIDA – VENEZUELA**



**IMPACTO DE LA LEUCOCITOSPERMIA EN LA FUNCION DE LAS
GLANDULAS SEXUALES ACCESORIAS Y SU REPERCUSIÓN EN LA
CALIDAD ESPERMÁTICA**

Trabajo de Grado

RESUMEN

Autor:
Vargas C. Julmery
C.I. 18.790.987
Tutor:
Dr. Pedro Fernández

La leucocitospermia puede estar asociada a la alteración de las glándulas sexuales accesorias masculinas provocando repercusión en la calidad seminal. En este trabajo asociamos la alteración en el espermograma de marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias masculinas ante la presencia de leucocitospermia y a su vez su repercusión en la alteración de los parámetros espermáticos comparados con pacientes sin alteración de los marcadores bioquímicos. El objetivo fue determinar la alteración de la función de las glándulas sexuales accesorias a través de la alteración de sus marcadores, en hombres con leucocitospermia que acuden al Centro Diagnostico de Infertilidad y Enfermedades Genéticas Dr. Giovanni Vivas (CEDIEG) ubicado la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes desde Enero de 2016 hasta Diciembre de 2017. Se incluyeron 110 muestras de pacientes con leucocitospermia, 16 negativos, 94 con alteración de alguno de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias y de estos entre 54,5 y 81% presentaban alteración de algún parámetro seminal. El estudio indicó con respecto al grupo positivo que existía una disminución significativa en los valores de 1-4 alfa glucosidasa neutral, fosfatasa ácida y ácido cítrico en las muestras de pacientes con leucocitospermia ($p \leq 0,05$). Respecto a las anomalías de los parámetros espermáticos también se encontraron asociaciones significativas en los pacientes con disminución de la 1-4 alfa glucosidasa neutral y la presencia de Astenozoospermia y la disminución de fosfatasa ácida y ácido cítrico se asoció con la presencia de teratozoospermia ($p \leq 0,05$); en cuanto a los valores de fructosa total y corregida no se encontraron alteraciones significativas. La leucocitospermia está por lo tanto asociada a la alteración de la función de las glándulas sexuales accesorias y a su vez a la alteración de los parámetros espermáticos, aun en ausencia de síntomas clínicos de infección.

Palabras claves: leucocitospermia, glándulas sexuales accesorias masculinas, 1-4 alfa glucosidasa neutral, fosfatasa ácida, ácido cítrico, fructosa total, teratozoospermia, astenozoospermia, oligozoospermia, calidad seminal.

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de la infección de las glándulas sexuales accesorias masculinas ha tomado importancia en las últimas décadas, aunque sus efectos sobre los parámetros seminales clásicos ha sido tema de discusión ⁽¹⁾.

La infección puede localizarse en una o más de las glándulas sexuales accesorias masculinas a nivel de epidídimo, vesículas seminales o próstata, tanto unilateral como bilateralmente ⁽¹⁾. La infección masculina se ha asociado con cambios seminales como descenso en el volumen, la concentración y la movilidad espermática; además de cambios en los marcadores químicos de glándulas sexuales accesorias e incremento de las especies oxígeno reactivas (EROS) ⁽²⁻³⁾.

La infección de vesículas seminales se ha relacionado con: alteración de los niveles de fructosa, volumen seminal, y movilidad espermática ⁽⁴⁻⁵⁻⁶⁾.

Se ha demostrado que en infección prostática los niveles de ácido cítrico disminuyen y guardan relación inversa con la elastasa leucocitaria. Por otra parte se ha asociado descenso de marcadores prostáticos con oligoastenoteratozoospermia ⁽⁷⁾.

La epididimitis puede producir astenozoospermia y los productos secretados por esta glándula tienden a ser bajos, sin mostrar cambios en la concentración de leucocitos. El descenso de un importante marcador epididimario como la actividad de α -glucosidasa neutra (AGN) se ha asociado con obstrucción del transporte espermático entre epidídimo y conducto eyaculatorio, en hipoandrogenismo, y durante o después de un estado de infección/inflamación ⁽⁸⁾.

La leucocitospermia se define como la presencia de más de 1×10^6 leucocitos por mL de semen, tiene una incidencia entre 10 y 20 % en la población general. Entre las causas posibles se hace referencia a la presencia de un proceso inflamatorio o infeccioso, que puede cursar de manera subclínica ⁽⁹⁾.

El líquido seminal contiene, además de espermatozoides, macrófagos (20-30 %), linfocitos (2-5 %) y leucocitos polimorfos nucleares (PMN) (50-60 %), estos últimos con mayor prevalencia en el semen y clínicamente relevantes, los cuales pueden ser diferenciados por procedimientos de tinción utilizando el ensayo de rutina de la actividad peroxidasa. Esta técnica no detecta otros tipos de leucocitos, tales como linfocitos, macrófagos y monocitos, los cuales no contienen peroxidasa. El número total de células peroxidasa positiva en el eyaculado puede reflejar la severidad de una condición inflamatoria ⁽⁹⁾.

No existen estudios nacionales relacionados con la prevalencia de leucocitos, y sus consecuencias en la función de las glándulas sexuales accesorias y parámetros seminales de los hombres. En nuestro estudio se observa una alta incidencia de

leucocitos en las muestras seminales, que, en su mayoría, presentan alteraciones en algunos de los marcadores de función de las glándulas accesorias. Por esta razón, nos propusimos determinar la influencia de leucocitospermia en la función de las glándulas sexuales accesorias, e identificar si existe asociación entre su presencia y alteraciones en las variables de calidad del semen en comparación con pacientes que no tienen alteración de dichos marcadores.

www.bdigital.ula.ve

ANTECEDENTES TEÓRICOS

Trabajos Previos

Existen diferentes investigaciones que hacen alusión al impacto de la alteración en las glándulas sexuales accesorias masculinas con respecto a la calidad seminal y su repercusión en la fertilidad. En el año 1999, Gustavo F. Gonzales publica en el Acta Médica Peruana - Vol.XVII N° 1, un estudio cuyo objetivo fue la determinación de la existencia de alguna asociación entre la respuesta de la testosterona sérica al estímulo con citrato de clomifeno y la consecuente respuesta de las vesículas seminales, pero también si existía alguna *asociación entre la respuesta de las vesículas seminales y la movilidad espermática, la viscosidad seminal y la estabilidad de la cromatina*. Se estudiaron 42 varones que asistieron al laboratorio ya sea porque ellos o sus esposas eran infértiles, y en quienes se les realizó la prueba del citrato de clomifeno. La fructosa corregida verdadera se constituyó en mejor marcador de la función de las vesículas seminales que la medición de la fructosa corregida o de la fructosa seminal. *La principal causa de hipofunción de las vesículas seminales fue la leucocitospermia y/o la historia de enfermedad de transmisión sexual (ETS)*; en menor porcentaje se observa como causa al hipoandrogenismo. Concluyendo que, la hipofunción de las vesículas seminales cumple un rol importante en la infertilidad masculina, y el citrato de clomifeno puede emplearse en estos casos tanto como prueba diagnóstica, como para el tratamiento ⁽⁴⁾.

Elzanaty S, Richthoff J, et al en la revista de la Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC) en el año 2002, en su sección de Urología, publican un estudio realizado en Suecia sobre **"El Efecto del Epidídimo y de las Glándulas Sexuales Accesorias en la Motilidad del Esperma."** en este trabajo, los autores determinan la influencia de cada uno de los elementos sobre la movilidad espermática de hombres jóvenes, sanos y representativos de la población general. Un total de 301 fueron examinados tomando una muestra de semen por masturbación luego de 12 a 500 horas de abstinencia sexual; de ellos, 291 proporcionaron un volumen de muestra suficiente para el análisis. Dentro de la hora de la eyaculación y luego de la licuefacción, se determinó el volumen y la concentración de esperma y la movilidad, según la clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud (grados A, B, C y D), obteniendo como resultados que los niveles de los marcadores bioquímicos se correlacionaron bien unos con otros. Constataron una asociación positiva significativa entre la concentración de NAG y los marcadores prostáticos, PSA y zinc y una correlación negativa entre PSA y el marcador de vesícula seminal, fructosa. La NAG y el cinc no mostraron correlación con la fructosa. *Concluyendo que existe asociación entre los marcadores de función del epidídimo (NAG) y la próstata (PSA y zinc) y las características de movilidad espermática* ⁽⁸⁾.

Rodríguez Pendás et al. En la Revista Cubana Endocrinología vol.27 no.1 en la Ciudad de la Habana en el año 2016, publican un estudio, el cual tuvo como objetivo determinar la frecuencia de leucocitospermia en el semen de hombres que consultan por infertilidad, e ***identificar si existe asociación entre la presencia de leucocitospermia y alteraciones en las variables de calidad del semen***, en el cual se incluyeron 136 hombres, con edades entre 20 y 45 años, y se encontraron leucocitospermia en 31 (22,7 %). Todos los indicadores de calidad seminal fueron menores en presencia de leucocitospermia, aunque solo se obtuvo una diferencia significativa en relación con la concentración espermática ($p < 0,05$). Con lo cual concluyen que la frecuencia de leucocitospermia en la muestra estudiada es prevalente y asociada con un deterioro estadísticamente significativo de la concentración espermática⁽¹⁰⁾.

Sin embargo, no se cuenta con estudios registrados donde se demuestre cuáles de las glándulas sexuales accesorias masculinas presentan mayor alteración ante la presencia de leucocitospermia y a su vez que demuestren que la asociación entre leucocitospermia y alteración en los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias masculinas presenta mayor repercusión sobre la calidad espermática.

www.bdigital.ula.ve

EL PROBLEMA

¿Existen alteraciones significativas en los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias masculinas en espermogramas de pacientes con leucocitospermia que acuden al Centro Diagnostico de Infertilidad y Enfermedades Genéticas Dr. Giovanni Vivas (CEDIEG) ubicado la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes desde Enero de 2016 hasta Diciembre de 2017?

www.bdigital.ula.ve

BASES TEÓRICAS

Anatomía y fisiología del líquido seminal

El esperma es el líquido expulsado por el hombre durante la eyaculación. Ese líquido se compone de un 10% de células reproductoras, los espermatozoides, fabricado por los testículos y el 90% es un líquido seminal que viene de las glándulas anexas, próstata y vesícula seminal. Contiene entre 200 y 500 millones de espermatozoides. El volumen del eyaculado (esperma expulsado) es de unos 4 mililitros. Ese volumen es diferente para cada hombre y depende de la frecuencia de las eyaculaciones. Cuanto más frecuentes son las eyaculaciones, menos importante es el volumen. Después de la eyaculación el esperma tiene un olor característico en relación con la espermina componente volátil odorante. El color del esperma es lechoso, amarillento; coagula en pocos minutos; se vuelve un líquido viscoso que pega. El esperma contiene, además de los espermatozoides, tres componentes principales que le dan su color y su gusto: la carnitina, el zinc y la fructosa ⁽¹¹⁾.

En términos generales las concentraciones iónicas son similares. Posee una gran concentración de zinc, procedente de la secreción prostática, que disminuye en las prostatitis junto a un aumento del número de leucocitos ⁽⁹⁻¹¹⁾. Es muy rico en fructosa y apenas contiene glucosa. La fructosa procede de la secreción de las vesículas seminales y de las ampollas de los conductos deferentes. Se sintetiza a partir de la glucosa, por lo que su concentración puede estar elevada en diabéticos. Constituye la principal fuente de energía para los espermatozoides. Es rico en ácido cítrico de origen prostático y aminoácidos libres. La carnitina (derivado de la lisina), de origen epididimal, participa en la maduración y adquisición de la movilidad de los espermatozoides. Un derivado de la espermina (una poli amina) es el responsable del olor espermático. La concentración menor, y la proporción de las proteínas son, también, muy distintas a las de suero. En la hipertrofia prostática aumenta el contenido de alfa globulinas. Las gamma - globulinas aumentan en la prostatitis. Entre las enzimas destacan la fosfatasa ácida, una hidrolasa prostática, que aumenta su concentración, en el suero, esperma y en el cáncer de próstata. Finalmente, contiene prostaglandinas, que al contrario de lo que sugiere su nombre proceden de la secreción de las vesículas seminales ⁽¹¹⁾.

El pH, determinado principalmente por la secreción de las vesículas seminales protege a los espermatozoides, neutralizando el pH ácido de las secreciones prostáticas, así como del aparato genital femenino. Hay unos 20 millones de espermatozoides por mililitro de esperma. Es de notar que lo importante no es la cantidad de esperma sino la cualidad. El término cualidad se refiere a la movilidad y a la morfología de los espermatozoides ⁽¹¹⁾.

Funciones sexuales masculinas

- **Eyaculación:** Proceso mediante el cual se expulsa el semen a través del pene. No es igual al orgasmo. Esto obliga a que sus diversas secreciones desciendan por los conductos eyaculatorios y la uretra prostática. Los esfínteres internos y externos de la uretra cierran y atrapan el flujo seminal en el bulbo de la uretra ⁽¹¹⁾.
- **Fase de expulsión:** El semen reunido se expulsa fuera del pene por contracciones fuertes y rítmicas de los músculos que rodean el bulbo de la uretra y la raíz del pene. El esfínter externo de la uretra se relaja, lo que permite que el flujo pase, mientras que el esfínter interno permanece contraído para evitar la salida de la orina ⁽¹¹⁾.
- **Eyaculación retrograda:** Se expulsa semen hacia la vejiga y no al exterior del cuerpo por el pene. Funcionamiento invertido de los dos esfínteres (interno se relaja/ externo se contrae). El flujo seminal posteriormente se elimina con la orina ⁽¹¹⁾.
- **Emisión nocturna:** orgasmo sin estimulación genital directa. Sueños húmedos ⁽¹¹⁾.

Bases anatomo - fisiológicas

El estudio del líquido seminal constituye el primer paso para el estudio de la fertilidad masculina. Debido a que es un análisis simple, se solicita a menudo en los estudios de infertilidad de una pareja, en estudios medico legales y para la investigación de la eficacia de una vasectomía ⁽¹¹⁾.

El semen es una solución compleja, compuesta básicamente por espermatozoides suspendidos en un líquido llamado plasma seminal, cuya misión es proporcionar un medio nutritivo de osmolalidad y volumen adecuado para llevar los espermatozoides hacia el moco cervical ⁽¹¹⁾.

Formación del líquido seminal

En los testículos se producen espermatozoides y hormonas sexuales masculinas. Desde estos órganos, los espermatozoides pasan al epidídimo donde maduran unas tres semanas y son almacenados hasta que son eyaculados o reabsorbidos por el organismo. Si se va a producir eyaculación, los espermatozoides son impulsados por un largo conducto, el conducto deferente, añadiéndose a ellos el fluido producido por las vesículas seminales y la próstata para formar el semen que sale al exterior a través de la uretra ⁽¹¹⁾.

Las secreciones son emitidas en el siguiente orden:

1.- Fracción pre-eyaculatoria (10 – 15 %): Secreción clara de las glándulas uretrales y bulbo uretrales. Su función es hacer más resbaladizo el canal uretral para facilitar el vaciado de las siguientes fracciones ⁽¹¹⁾.

2.-Fracción previa (20%): secreción prostática: Contiene ácido cítrico y enzimas proteolíticas como la fosfatasa ácida ⁽¹¹⁾.

3.-Fracción principal (5-10 %): Secreción testículo-epidídimo-deferencial. Contiene los espermatozoides ⁽¹¹⁾.

4.-Fracción final (50.60%): Secreción coloide de las vesículas seminales .Son la fuente de fructosa del semen que constituye el principal nutriente de los espermatozoides. Debido a que las diversas fracciones presentan una gran disparidad en cuanto a su calidad, el líquido seminal fresco tiene una composición poco uniforme. Presenta a una consistencia parcialmente hebrosa y/o gelatinosa, y solo después de licuado y mezclado, puede ser apto para las determinaciones de los componentes celulares o químicos⁽¹¹⁾.

Testículos

Los testículos son los órganos sexuales (gónadas) esenciales en el hombre, que sirven para producir los gametos masculinos (espermatozoides) y la hormona sexual masculina, testosterona. Las estructuras reproductivas accesorias masculinas ayudan en la maduración, nutrición y transporte del espermatozoide a lo largo del aparato reproductor del hombre y al interior del cuerpo de la mujer, para la fertilización ⁽¹¹⁾.

La función de los testículos es producir espermatozoides y la hormona sexual masculina, la testosterona. Para producir y nutrir los espermatozoides, la temperatura dentro de los testículos debe permanecer aproximadamente 1°C por debajo de la temperatura corporal normal. Parte de la función del escroto es mantener esta temperatura óptima, manteniendo a los testículos más lejos del cuerpo durante el clima caluroso o contrayéndose y llevándolos más cerca del cuerpo durante el clima frío. Los testículos también contienen las células intersticiales de Leydig y las células de Sertoli. Las células de Leydig producen testosterona. Las células de Sertoli nutren al espermatozoide inmaduro dándoles un soporte mecánico y protegiéndolos hasta que puedan llegar a la madurez y sean liberados en los túbulos. Las células de Sertoli también juegan un papel activo en la liberación de los espermatozoides maduros en los túbulos ⁽¹¹⁾.

Epidídimo

Cada epidídimo tiene un cuerpo que consiste en el conducto del epidídimo que está muy contorneado y en donde los espermatozoides son almacenados para pasar las

etapas finales de su maduración, y una cola o cola del epidídimo que se continúa con el conducto deferente que transporta el esperma hacia el conducto eyaculador para su expulsión hacia la uretra. El epidídimo ayuda a expulsar los espermatozoides hacia el conducto deferente durante la excitación sexual por medio de contracciones peristálticas del músculo liso de su pared. Los espermatozoides pueden permanecer almacenados y viables en el epidídimo durante meses ⁽¹¹⁾.

Vasos deferentes

Forma el conducto eyaculatorio. Además de funcionar como parte del sistema de transporte de los espermatozoides, actúa también como sitio de almacenamiento para la mayoría de los espermatozoides producidos hasta la eyaculación. Todo el proceso de maduración del espermatozoide, desde sus comienzos primitivos en los túbulos seminíferos hasta su forma totalmente madura en los vasos deferentes, lleva alrededor de 74 días ⁽¹¹⁾.

Vesículas seminales

Su principal finalidad es aportar una secreción viscosa, alcalina, que forma parte del líquido seminal. El líquido seminal es también conocido como semen e incluye secreciones de las vesículas seminales, próstata y glándulas bulbo uretrales, así como células espermáticas. Las vesículas seminales aportan alrededor de 30% del volumen del líquido seminal. El líquido de las vesículas seminales es rico en nutrientes, incluyendo ácido cítrico y aminoácidos y fructosa para suministrar una fuente de energía para el metabolismo del espermatozoide y para aumentar la motilidad de los espermatozoides ⁽¹¹⁾.

Glándula prostática

La próstata contribuye con alrededor de 60% del líquido seminal, secretando un líquido poco espeso, alcalino, blanco lechoso similar al de las vesículas seminales. El líquido es eliminado hacia la uretra durante la eyaculación para ayudar a neutralizar los líquidos ácidos en la uretra masculina y la vagina femenina. Esta función es importante porque los ácidos pueden tener un efecto adverso sobre los espermatozoides y, a concentraciones más altas, los puede matar ⁽¹¹⁾.

DEFINICIONES

- **Espermograma:** Estudio de muestras de semen obtenidas por masturbación siguiendo las pautas establecidas por el quinto manual de la Organización Mundial de la Salud para el análisis de semen. Seguida la licuefacción del semen se toman 1,5 mL de cada muestra, 1,0 mL se somete a centrifugación 1500 g durante 10 minutos para obtener plasma seminal y se guardan en dos alícuotas de 200 μ L c/u a -20°C para la determinación de fructosa, ácido cítrico y 1,4 a-glicosidasa neutra ⁽⁹⁾.
- **Leucocitospermia:** La leucocitospermia se define como la presencia de más de 1×10^6 leucocitos por mL de semen. La influencia de esta en la alteración de los marcadores de la función de las glándulas sexuales accesorias condiciona a alteración significativa de los parámetros espermáticos ⁽⁹⁾.

MARCADORES DE GLÁNDULAS SEXUALES ACCESORIAS MASCULINAS

- **Fructosa:** se determina mediante la prueba de Seliwanoff, empleando resorcinol al 0,5% y HCL concentrado y se expresa en mmol/eyaculado ⁽¹²⁾.
- **Ácido cítrico:** se determinó mediante reacción colorimétrica establecida en el método de Chambón y Roe que consistió en incubar el plasma seminal con anhídrido acético al 82% y piridina al 18% al frío, el producto de condensación de citrato en medio anhídrido se midió espectrofotométricamente y la concentración se expresó en mmol/eyaculado como indicador de la función prostática ⁽¹²⁾.
- **1,4-aglicosidasa neutra (AGN):** se midió de acuerdo al método fotométrico. La actividad de AGN se calculó midiendo el producto de hidrólisis paranitrofenol tras 2 horas de incubación a 37°C pH 6,8 y se expresó en UI/eyaculado ⁽¹²⁾.

Tabla 1. Valores de referencia del espermograma características seminales: licuefacción, ph, volumen, contracción espermática, concentración total, motilidad, viabilidad, formas normales, leucocitos según la OMS 4ta Versión (1.999) y 5ta Versión (2.010)

	OMS 1999, 4ta Versión	OMS 2010, 5ta Versión
	Valor de referencia	Límite inferior de referencia, LRL
Licuefacción	Total a los 60 min	Total a los 60 min
Ph	7,2-7,8	≥7,2
Volumen	2,0 mL	1,5 mL
Concentración espermática	20 x 10 ⁶ /mL	15 x 10 ⁶ /mL
Concentración total	40 x 10 ⁶ /mL	39 x 10 ⁶ /mL
Motilidad total (progresivos + no progresivos)	No detallada	40%
Motilidad progresiva	50%	32%
Viabilidad	75%	58%
Formas normales	15%	4%
Leucocitos	< 1 x 10 ⁶ /mL	< 1 x 10 ⁶ /mL

Tabla 1. Valores de referencia en espermograma según la Organización Mundial de la Salud OMS 4ta versión (1.999) y 5ta versión (2.010).

ALTERACIONES DE LOS PARÁMETROS ESPERMÁTICOS

- **Aspermia:** Es un trastorno que causa la ausencia del eyaculado en el varón ⁽¹³⁾.
- **Astenozoospermia:** Movilidad menor al valor de referencia. (<32 % de espermatozoides progresivos) ⁽¹³⁾.
- **Azoospermia:** Es una alteración espermática caracterizada por la ausencia de espermatozoides en el eyaculado ⁽¹³⁾.
- **Cryptozoospermia:** Espermatozoides ausentes en el preparado examinado al fresco pero presentes en el pellet ⁽¹³⁾.
- **Necrozoospermia:** Porcentaje de espermatozoides vivos menor al valor de referencia. (<58 % espermatozoides vivos) ⁽¹³⁾.
- **Oligozoospermia:** Cuando la concentración espermática se encuentra en un valor menor a al valor de referencia. (<15 millones de espermatozoides por mL)⁽¹³⁾.
- **Teratozoospermia:** Morfología menor al valor de referencia. (< 4 % de morfología normal) ⁽¹³⁾.
- **Oligoastenoteratozoospermia:** El término se refiere a la combinación de oligozoospermia, astenozoospermia y teratozoospermia ⁽¹³⁾.

Operacionalización del evento de estudio y criterio de análisis

Las variables se operacionalizaron para convertir los conceptos abstractos en empíricos, con el fin de medirlos a través de un instrumento y una metodología pertinente. En este estudio se midieron las variables que no admiten fraccionamiento (discretas). Respecto a sus dimensiones dicotómicas (Presencia o Ausencia). El nivel de medición fue nominal y los indicadores se derivaron de las bases teóricas. Este proceso de operacionalización de las variables aseguró que las metas propuestas en los objetivos fueran alcanzadas y a la vez, permitió el análisis respectivo.

Tabla 2. Operacionalización del evento de estudio Impacto de la leucocitospermia en la función de las glándulas sexuales accesorias.

Evento de estudio	Definición conceptual ¿Qué es?	Definición operacional ¿Cómo se mide?
Impacto de la leucocitospermia en la función de las glándulas sexuales accesorias	Se refiere a la presencia de más de 1×10^6 leucocitos por mL de semen. Disminución de los valores de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias	Estudio del líquido seminal
Dimensiones	Indicadores	
Alteración de la fructosa total Alteraciones de los valores de alfa glucosidasa neutra Alteraciones de los valores de fosfatasa acida y ácido cítrico	<p><u>Alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas accesorias:</u></p> <p>Fructosa total: < 15 μmol/eyaculado.</p> <p>1-4 α glucosidasa neutra < 20 mUI/eyaculado.</p> <p>Fosfatasa ácida: < 400-1700 mUI/ml.</p> <p>Ácido cítrico: < 290-1660 mg%</p>	

Vargas, Fernández (2018)

Tabla 3. Operacionalización del criterio de análisis y de clasificación de la morfología de Kruger.

Criterio de Análisis	Definición Conceptual ¿Qué es?	Definición Operacional ¿Cómo se mide?
Criterio estricto de análisis de Kruger	Es un sistema de clasificación espermática va de acuerdo a la presencia de espermatozoides normales, con ligeras Deformidades	Observación microscópica y descripción de los espermatozoides con los criterios de análisis de Kruger.
Dimensiones	Indicadores	
Espermatozoides normales (a) Espermatozoides con ligeras deformidades. (b1) Espermatozoides amorfos [(a) + (b.1)]	$>14[(a) + (b.1)].$ Éxito del FIV 64% $<4% [(a) + (b.1)].$ Éxito del FIV 7,6%	

Vargas, Fernández (2018)

Tabla 4. Operacionalización del criterio de análisis y concentración espermática.

Criterio de Análisis	Definición Conceptual ¿Qué es?	Definición Operacional ¿Cómo se mide?
Concentración espermática	Es la concentración de espermatozoides en el semen eyaculado del varón en edad fértil.	Examen citomorfológico del líquido seminal determinando el conteo de espermatozoides / ml de líquido seminal.
Dimensiones	Indicadores	
Cantidad de espermatozoides / ml de líquido seminal	Alterado < 15 x10 ⁶ /ml	

Vargas, Fernández (2018)

Tabla 5. Operacionalización del criterio de análisis y movilidad espermática.

Criterio de Análisis	Definición Conceptual ¿Qué es?	Definición Operacional ¿Cómo se mide?
Movilidad espermática	Describe la capacidad de motilidad efectiva de los espermatozoides en el líquido seminal.	La movilidad puede medirse mediante observación directa o con analizadores de imágenes, obteniéndose, en este caso, medidas objetivas de la motilidad.
Dimensiones	Indicadores	
Porcentaje de espermatozoides rápidos progresivos en la muestra de líquido seminal	<p>Progresivos (PR): $\geq 32\%$</p> <p>Movilidad total: $\geq 40\%$</p>	

Vargas, Fernández (2018)

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Determinar la alteración de la función de las glándulas sexuales accesorias a través de la alteración de sus marcadores, en hombres con leucocitospermia que acuden al Centro Diagnostico de Infertilidad y Enfermedades Genéticas Dr. Giovanni Vivas (CEDIEG) ubicado la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes desde Enero de 2016 hasta Diciembre de 2017.

Objetivos Específicos

1. Determinar la existencia de alteración de los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias masculinas en espermogramas de pacientes con leucocitospermia.
2. Determinar cuáles glándulas accesorias presentan mayor alteración de sus marcadores bioquímicos ante la presencia de leucocitospermia.
3. Determinar si el aumento de los valores de leucocitospermia constituye mayor riesgo alteración de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias.
4. Determinar si existe alteración de los parámetros espermáticos en muestras seminales de hombres con leucocitospermia y alteración de los marcadores de las glándulas sexuales masculinas.
5. Determinar si existe mayor alteración en los parámetros espermáticos ante la presencia de leucocitospermia asociada a alteración de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias en contraste con aquellos que no presentan alteración de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación se define por el objetivo, más que por el área de conocimiento en la cual se realiza el estudio, los métodos que se utilizan o la fuente de los datos, cada tipo de investigación tiene características y procesos propios, el tipo de investigación señala el grado de profundidad y el tipo de resultado, y está en concordancia con el objetivo general ⁽¹⁴⁾. De manera que esta investigación es de tipo comparativa ya que se busca comparar la alteración de los marcadores de glándulas sexuales masculinas y su función en la unidad de estudio representada por hombres con leucitospermia, en un contexto real y un tiempo determinado y contrastar estos resultados con la alteración consecuente de los parámetros espermáticos.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Hurtado (2.010), describe que el diseño de la investigación tiene que ver con los procedimientos específicos para recoger los datos (fuentes, tiempo y cantidad de eventos de estudio) ⁽¹⁴⁾. Por lo tanto esta investigación tiene un diseño de campo y de laboratorio ya que las muestras seminales fueron recolectadas en un ambiente creado en este caso es el Centro Diagnóstico de Infertilidad Enfermedades Genéticas Dr. Giovanni Vivas (CEDIEG). Es importante tomar cuenta otros procedimientos que tienen que ver con la recolección de datos, no debemos olvidar que el diseño de la investigación comprende también el cuándo y cuánto que significa la amplitud de la información recolectada, por ello también tomamos en cuenta la recolección de datos contemporáneos y evolutivos, las muestras fueron recolectadas durante la temporalidad de la investigación y en cuanto la amplitud hablamos de un criterio multivariante debido a que en nuestra investigación se consideraron la variable: leucitospermia en la alteración de las glándulas accesorias y 2 criterios de análisis alteración de sus marcadores y alteración de parámetros espermáticos.

POBLACIÓN Y MUESTRA

Unidad de Investigación

El grupo de estudio está representado por hombres entre 20 y 45 años de edad, que acudieron al análisis de calidad del semen, procedentes de la consultas en el Centro Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Genéticas Dr. Giovanni Vivas (CEDIEG)

desde Enero de 2016 hasta Diciembre del 2017, con leucocitospermia demostrada en espermograma.

Previo consentimiento informado del individuo se incluirá en el estudio si cumple con el siguiente ***criterio de inclusión***: Individuos con diagnóstico de Leucocitospermia ($>1 \times 10^6/\text{ml}$) demostrada en espermograma.

Se tomarán como ***criterios de exclusión***: Pacientes sin leucocitospermia, Causas demostrables que afecten la calidad seminal (presencia de varicocele, exposición a tóxicos y agentes físicos), y otras causas detectables de endocrinopatías como pacientes clínicamente evaluados con hipogonadismo, que pueden causar alteración independiente de infección.

Las muestras de semen se obtuvieron por masturbación, con un tiempo de abstinencia sexual de 3-5 días, y el análisis del semen se realizó según el manual OMS (1999), para el estudio del semen humano. Las variables evaluadas fueron las siguientes: cuantitativas (concentración de leucocitos en semen, concentración de marcadores bioquímicos de glándulas sexuales accesorias masculinas, además de concentración, movilidad y morfología espermática)

Los criterios de normalidad para los indicadores del espermograma fueron:

- Fructosa total: $> 15 \mu\text{mol/eyaculado}$.
- 1-4 α glucosidasa neutral $> 20 \text{ mUI/eyaculado}$.
- Fosfatasa ácida: $> 400-1700 \text{ mUI/ml}$.
- Ácido cítrico: $> 290-1660 \text{ mg\%}$
- Concentración de espermatozoides ($\geq 20 \times 10^6$ espermatozoides/mL), movilidad a+b ($\geq 50 \%$) y morfología ($\geq 30 \%$ de formas normales).

Para la determinación de leucocitos se realizó el procedimiento histoquímico que identifica la enzima peroxidasa característica de los granulocitos polimorfos nucleares. La concentración de leucocitos se determinó mediante la cuantificación de células peroxidasa positivas, por tinción con azul de ortotoluidina. La leucocitospermia se definió como la presencia de leucocitos peroxidasa positiva a concentraciones mayores de 10^6 células/mL de semen.

SELECCIÓN DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

La “n” muestra está representada por un total de 110 pacientes con leucocitospermia demostrada en espermograma, 14 pacientes negativos, 96 pacientes con alteraciones de los marcadores de glándulas sexuales accesorias. El muestreo fue intencional en correspondencia con la significancia y no con la representatividad. El tamaño fue a conveniencia con la temporalidad de la investigación, el consentimiento de los pacientes y la frecuencia de solicitud del análisis seminal.

www.bdigital.ula.ve

SISTEMA DE VARIABLES

Las variables de una investigación son características presentes en la unidad de investigación y se pueden medir ⁽¹⁵⁾. Específicamente, se consideran en algunos casos tres categorías: dependientes, independientes e intervinientes. En esta investigación las variables no serán sistematizadas ya que fue de tipo comparativa.

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Según Pallela y Martins (2010) y Pérez (2009), un instrumento permite recolectar datos para medirlos, posteriormente, a través de los modelos matemáticos. En tal sentido los insumos que se usarán para la recolección de datos fueron: los objetivos, las bases teóricas y la operacionalización de los eventos. En función de los objetivos definidos en el presente trabajo y dada la naturaleza de la investigación se diseñó con el fin de reunir los datos una base de registro de los pacientes con leucocitospermia que contienen las características que se requieren para evaluar nuestro evento de estudio (alteración de la función de las glándulas sexuales accesorias y parámetros espermáticos) ⁽¹⁶⁻¹⁷⁾.

Posteriormente, se realizó el análisis seminal tomando como pautas el manual de la OMS (5ta edición) para determinar las alteraciones de los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias, cumpliendo con los controles de calidad establecidos en el mismo ⁽¹⁷⁾.

PROCEDIMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

Se estudiaron 110 hombres con leucocitospermia divididos en negativos (sin alteración de los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias), con alteración de los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias y con alteración de la morfología espermática y sin alteración de los marcadores de glándulas accesorias y alteración de la morfología espermática. Los pacientes asisten al Centro Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Genéticas Dr. Giovanni Vivas (CEDIEG) ubicado en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad De Los Andes, Mérida Venezuela, para ser evaluados. Cada uno de ellos fue informado sobre la naturaleza, objetivos y alcances de la investigación.

OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Espermograma: las muestras fueron obtenidas por masturbación siguiendo los parámetros establecidos por el quinto manual de la Organización Mundial de la Salud

para el análisis de semen. Seguida la licuefacción del semen se tomará 1,5 ml de cada muestra y 1,0 ml se someterá a centrifugación 1500 g durante 10 minutos para obtener el plasma seminal y posteriormente se realizará la bioquímica del líquido seminal para determinar los marcadores de función de las glándulas accesorias ⁽¹⁷⁾.

www.bdigital.ula.ve

RESULTADOS

Se analizaron 110 muestras de pacientes con leucocitospermia, 16 eran pacientes negativos (sin ninguna alteración de los marcadores de glándulas sexuales accesorias), 94 pacientes tenían disminución de alguno de los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias masculinas. Las muestras fueron obtenidas por masturbación, la procedencia de las mismas fue comunitaria los individuos no estaban hospitalizados todo esto fue realizado cumpliendo con los requerimientos de la Organización Mundial de la Salud para el análisis de semen ⁽¹⁷⁾. Estas fueron recolectadas en el Centro Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Genéticas Dr. Giovanni Vivas (CEDIEG) ubicado en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad De Los Andes, Mérida Venezuela desde el periodo de Enero del 2016 hasta Diciembre del 2017. En el estudio de las muestras obtenidas de estos 110 pacientes con leucocitospermia un 85,5% corresponde a los pacientes que presentan alteración de alguno de los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias masculinas, y el 14,5% los pacientes no presentaron alteración. La distribución de frecuencia de estos parámetros se representa en la FIG. 1.

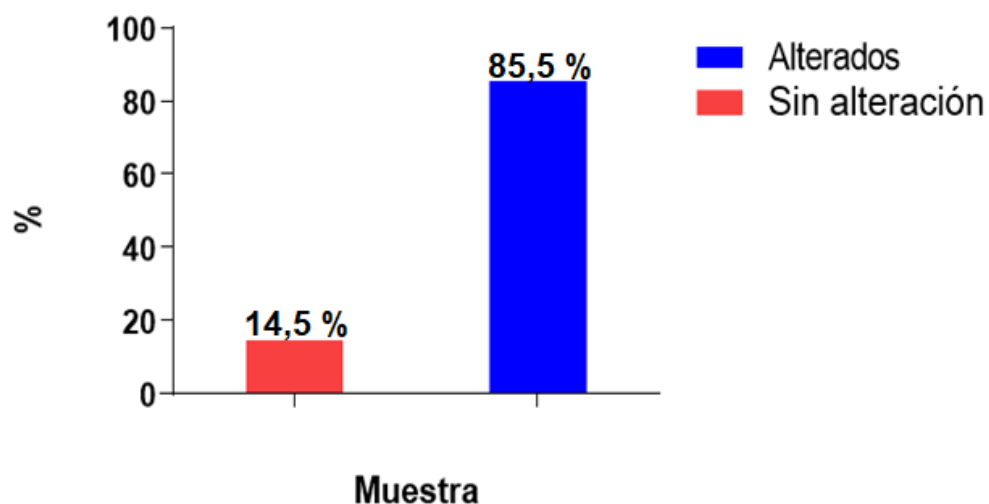


Figura 1. Frecuencia de pacientes con leucocitospermia y alteración de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias masculinas. Fuente: Ficha de recolección de datos.

Los hallazgos de este estudio proporcionan bases sobre cuáles son los marcadores de las glándulas sexuales accesorias masculinas que se ven mayormente afectados en presencia de leucocitospermia. Las alteraciones que se encontraron en mayor porcentaje fueron las siguientes: 90 pacientes (81,8%) presentaban disminución de la α -1,4-glucosidasa neutral (marcador bioquímico de función del epidídimo), 60 pacientes (54,5%) presentaban disminución de los valores de fosfatasa acida, 59 (53,6%) presentaban disminución de los valores de ácido cítrico (ambos marcadores de función prostática) y sólo 7 (6,4%) y 22 (20%) presentaban disminución de la fructosa total y corregida respectivamente (marcadores de función de las vesículas seminales). Por lo cual podemos observar que los marcadores de función de las vesículas seminales (fructosa total y corregida), no mostraron alteración significativa de sus valores en presencia de leucocitospermia ($p \leq 0,05$), al contrario del resto de marcadores los cuales presentaron disminución de sus valores estadísticamente significativa; por otra parte 16 pacientes (14,5%) no presentaban alteración de ningún marcador bioquímico de glándulas sexuales accesorias ante la presencia de leucocitospermia. El total de alteraciones encontradas en el muestreo están representadas en la tabla 6, y FIG.2.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 6. Marcadores bioquímicos de glándulas sexuales accesorias con mayor alteración en pacientes con leucocitospermia.

Marcadores de glándulas accesorias	Total (n=110)	Valor de p
Fructosa total		0,283
<i>Sin alteración</i>	103 (93,6)	
<i>Disminuida</i>	7 (6,4)	
α -1,4-glucosidasa neutral		0,0001
<i>Sin alteración</i>	20 (18,2)	
<i>Disminuida</i>	90 (81,8)	
Fosfatasa ácida		0,007
<i>Sin alteración</i>	50 (45,5)	
<i>Disminuida</i>	60 (54,5)	
Ácido cítrico		0,010
<i>Sin alteración</i>	51 (46,4)	
<i>Disminuida</i>	59 (53,6)	
Fructosa corregida		0,0231
<i>Sin alteración</i>	88 (80)	
<i>Disminuida</i>	22 (20)	

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes entre paréntesis). La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$.

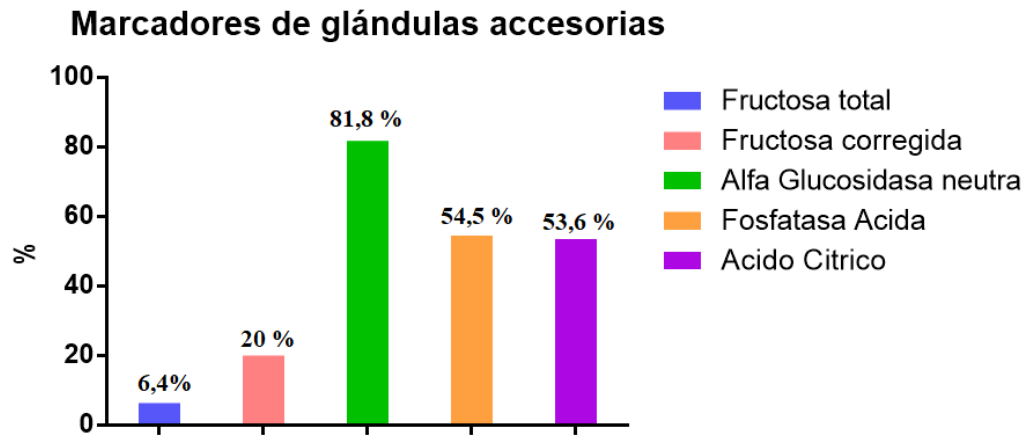


Figura 2. Distribución porcentual de las alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas accesorias más frecuentes en el estudio bioquímico del semen. Fuente: Ficha de recolección de datos.

En cuanto al rango de leucocitospermia tomando como base los valores establecidos por la OMS (Patológico $> 1 \times 10^6$ leucocitos por mL de semen), en nuestro estudio pudimos determinar que el mayor porcentaje de alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias se encontró en rangos de leucocitospermia entre 1 a $2,9 \times 10^6$ /ml: con alteración de 4,5% en la fructosa total, 55,5% en la glucosidasa neutra, 35,5% en la fosfatasa ácida, 35,5% en ácido cítrico y 6% en la fructosa corregida, evidenciando también que mayores valores de leucocitospermia no se incrementó el porcentaje de alteración de los mismos, como podemos evidenciar en la Tabla 7 y figura 3.

Tabla 7. Distribución de las alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias según rango de leucocitospermia.

Marcadores de Glándulas Accesorias	Leucocitospermia								Total	p*	
	1 - 2,9 / ml		3,0 - 5,9 / ml		6,0 - 9,9 / ml		>10 /ml				
	Frec	%	Frec	%	Frec	%	Frec	%	Frec		%
Fructosa Total	5	4,5	1	0,9	0	0,0	1	0,9	7	6,4	0,552
Glucosidasa Neutra	61	55,5	21	19,1	5	4,5	3	2,7	90	81,8	0,291
Fosfatasa Acida	39	35,5	16	14,5	3	2,7	2	1,8	60	54,5	0,375
Ácido Cítrico	39	35,5	15	13,6	3	2,7	2	1,8	59	53,6	0,463
Fructosa corregida	13	11,8	6	5,5	1	0,9	2	1,8	22	20,0	0,110

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas. La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$.

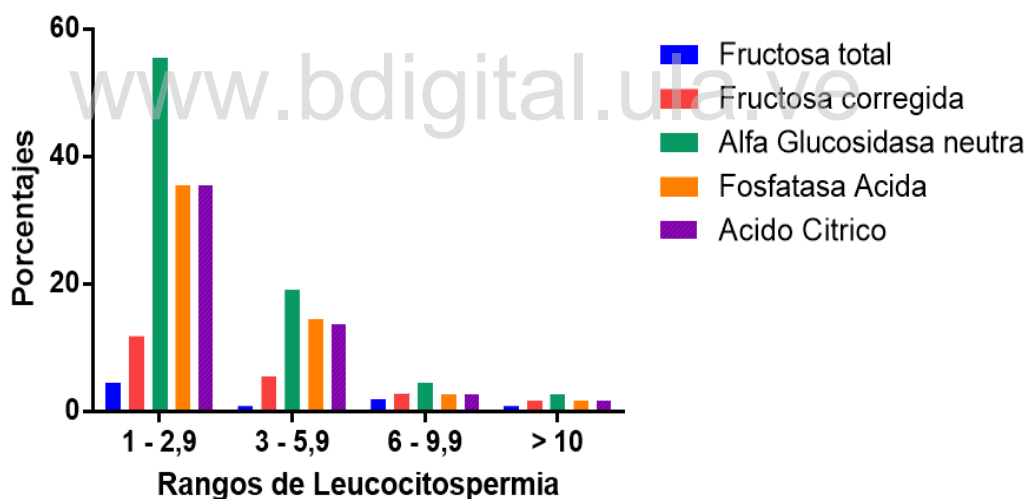


Fig. 3. Distribución porcentual de las alteraciones de los marcadores bioquímicos de las glándulas accesorias según rango de leucocitospermia. Fuente: Ficha de recolección de datos.

Para el estudio de los parámetros espermáticos se utilizaron las categorías morfológicas de acuerdo al criterio de David (2.005) como método de valoración morfológica multiparamétrica para especificar el tipo de anomalía morfológica de cabeza; por otra parte el criterio de Kruger para categorizar estrictamente las formas normales “a”, normales y cabezas con muy ligeras deformidades “b.1”, estableciéndose así un índice morfológico de referencia de normalidad “a+b.1”; para la concentración

espermática el examen cito morfológico del líquido seminal determinando el conteo de espermatozoides / ml de líquido seminal y la movilidad por medio de observación directa o analizadores de imágenes.

En cuanto a las alteraciones en las formas espermáticas, se evidencia la significancia estadística ($p \leq 0,005$) obtenida en cuanto a la disminución de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias y su relación con la alteración del parámetro espermático (morfología); evidenciando que existe asociación entre la disminución de los valores de fosfatasa ácida y ácido cítrico (marcadores prostáticos) y la presencia de Teratozoospermia, presentándose también asociación entre la disminución de la alfa glucosidasa neutra y la presencia de teratozoospermia a pesar de que no fue estadísticamente significativo. Por el contrario, en el grupo de fructosa total y corregida no se observó alteración significativa de la morfología espermática. Tabla 8.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 8. Alteración de parámetros espermáticos (Morfología) en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.

Marcadores de glándulas accesorias	Teratozoospermia		Total (n=110)	Valor de p
	No (n=61)	Si (n=49)		
Fructosa total	No	Si		0,488
<i>Sin alteración</i>	58 (95,1)	45 (91,8)	103 (93,6)	
<i>Disminuida</i>	3 (4,9)	4 (8,2)	7 (6,4)	
Fructosa Corregida				0,001
<i>Sin alteración</i>	72 (81,8)	16 (18,2)	88 (80)	
<i>Disminuida</i>	12 (55,5)	10 (45,5)	22 (20)	
Fosfatasa ácida				0,0001
<i>Sin alteración</i>	38 (62,3)	12 (24,5)	50 (45,5)	
<i>Disminuida</i>	23 (37,7)	37 (75,5)	60 (54,5)	
Ácido cítrico				0,0001
<i>Sin alteración</i>	39 (63,9)	12 (24,5)	51 (46,4)	
<i>Disminuida</i>	22 (36,1)	37 (75,5)	59 (53,6)	
α -1,4-glicosidasa neutral				0,052
<i>Sin alteración</i>	15 (24,6)	5 (10,2)	20 (18,2)	
<i>Disminuida</i>	46 (75,4)	44 (89,8)	90 (81,8)	

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes entre paréntesis). La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$.

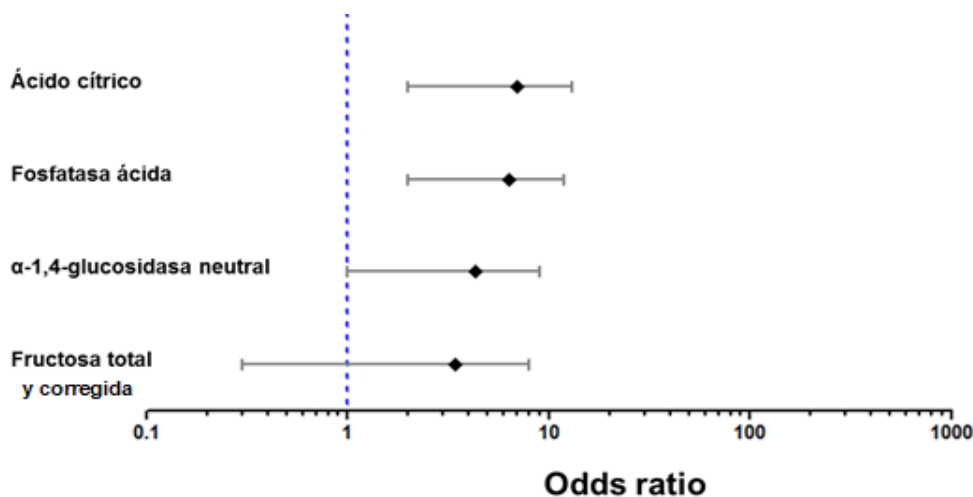


Figura 4. Forest Plot para la evaluación indirecta de riesgo (OR) entre la Teratozoospermia en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias. Se muestran los valores de OR (odds ratio) y sus intervalos de confianza.

En la figura anterior se demuestran gráficamente los resultados expuestos en la tabla 8. Expresando la evaluación indirecta del riesgo a través del Odds ratio ($OR > 1$), es decir, todo resultado con OR mayor a 1 es aquel que presentará una relación positiva con mayor probabilidad de asociación. Podemos evidenciar la probabilidad de asociación entre teratozoospermia y disminución de los marcadores de glándulas sexuales accesorias, observando que existe relación entre la disminución de la fosfatasa ácida y ácido cítrico (con valores de $OR > 1$) y la presencia de alteración de dicho parámetro espermático (morfología) y también existe cierta asociación con la disminución de la alfa glucosidasa neutral (marcador epididimario) a pesar de no presentar significancia estadística al aplicar chi cuadrado como se evidenció en los datos plasmados en la tabla 8.

En cuanto al parámetro espermático *movilidad*, se presenta la significancia estadística ($p \leq 0,005$) obtenida en cuanto a la disminución de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias y su asociación con la presencia de Astenozoospermia; evidenciando que existe relación entre la disminución de los valores de alfa glucosidasa neutral y la presencia de alteración de la movilidad espermática expresada en astenozoospermia. Tabla 9.

Tabla 9. Alteración de parámetros espermáticos (Movilidad) en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.

Marcadores de glándulas accesorias	Astenozoospermia		Total (n=110)	Valor de p
	No (n=54)	Si (n=56)		
Fructosa total ($< 15 \mu\text{mol/eyaculado}$)	No	Si		0,262
<i>Sin alteración</i>	52 (96,3)	51 (91,1)	103 (93,6)	
<i>Disminuida</i>	2 (3,7)	5 (8,9)	7 (6,4)	
Fructosa corregida				0,241
<i>Sin alteración</i>	45 (83,3)	43 (76,8)	88 (80)	
<i>Disminuida</i>	9 (16,7)	13 (23,2)	22 (20)	
Fosfatasa ácida ($< 400\text{-}1700 \text{ mUI/ml}$)				0,013
<i>Sin alteración</i>	31 (57,4)	19 (33,9)	50 (45,5)	
<i>Disminuida</i>	23 (42,6)	37 (66,1)	60 (54,5)	
Ácido cítrico ($< 290\text{-}1660 \text{ mg\%}$)				0,023
<i>Sin alteración</i>	31 (57,4)	20 (35,7)	51 (46,4)	
<i>Disminuida</i>	23 (42,6)	36 (64,3)	59 (53,6)	
α -1,4-glucosidasa neutral ($< 20 \text{ mUI/eyaculado}$)				0,0001
<i>Sin alteración</i>	20 (37)	0 (0)	20 (18,2)	
<i>Disminuida</i>	34 (63)	56 (100)	90 (81,8)	

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes entre paréntesis). La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$.

Graficando los resultados expuestos en la tabla 9. Por medio de odd ratio se mide la probabilidad de presentarse Astenozoospermia según el marcador bioquímico de glándulas accesorias alterado ($OR > 1$), es decir, todo resultado con OR mayor a 1 es aquel que presentará una relación positiva o probabilidad de asociación entre astenozoospermia ante la disminución de los marcadores de glándulas sexuales accesorias, observando en este trabajo que existe relación entre la disminución de la 1-4 α glucosidasa neutral (marcador epididimario) y la presencia de alteración del parámetro espermático movilidad y existe cierta asociación también con la disminución de la fosfatasa ácida y ácido cítrico (valores superiores a 1), sin embargo aunque existe riesgo revelado por medio del OR de presentarse astenozoospermia ante la disminución de estos marcadores no tuvo significancia estadística al aplicar chi cuadrado. (Figura 5).

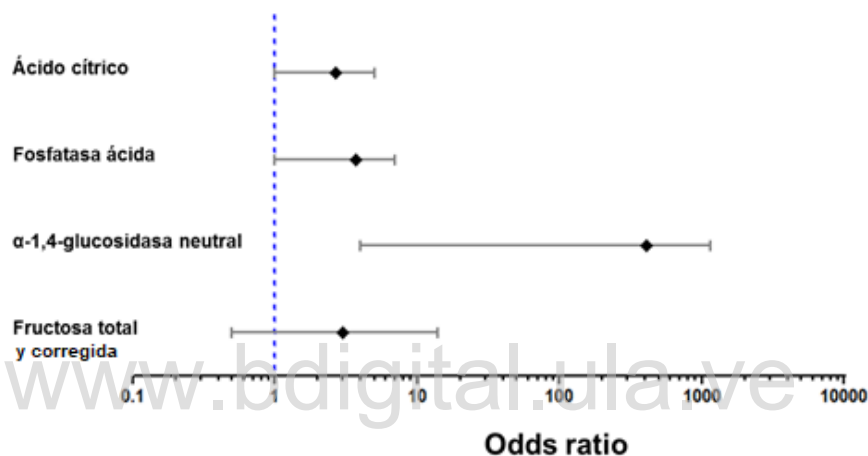


Figura 5. Forest Plot para la evaluación indirecta de riesgo (OR) entre la Astenozoospermia en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias. Se muestran los valores de OR (odds ratio) y sus intervalos de confianza.

En cuanto al parámetro espermático **concentración**, se evidencian como resultados con significancia estadística ($p \leq 0,005$), asociación entre Oligospermia y disminución de los siguientes marcadores de glándulas sexuales accesorias (Tabla 10):

- **Fructosa total y corregida** (marcador de función de las vesículas seminales) en mayor proporción ($p \leq 0,0001$).
- **Fosfatasa ácida y Ácido Cítrico** (marcadores prostáticos) aunque en menor proporción ($p \leq 0,004$).

Tabla 10. Alteración de parámetros espermáticos (concentración) en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias.

Marcadores de glándulas accesorias	Oligospermia		Total (n=110)	Valor de p
	No (n=101)	Si (n=9)		
Fructosa total ($< 15 \mu\text{mol/eyaculado}$)				0,0001
<i>Sin alteración</i>	100 (99)	3 (33,3)	103 (93,6)	
<i>Disminuida</i>	1 (1)	6 (66,7)	7 (6,4)	
Fructosa corregida				0,0001
<i>Sin alteración</i>	100 (99,1)	1 (11,1)	88 (80)	
<i>Con alguna alteración</i>	1 (0,9)	8 (88,9)	22 (20)	
Fosfatasa ácida ($< 400\text{-}1700 \text{ mUI/ml}$)				0,004
<i>Sin alteración</i>	50 (49,5)	0 (0)	50 (45,5)	
<i>Disminuida</i>	51 (50,5)	9 (100)	60 (54,5)	
Ácido cítrico ($< 290\text{-}1660 \text{ mg\%}$)				0,004
<i>Sin alteración</i>	51 (50,5)	0 (0)	51 (46,4)	
<i>Disminuida</i>	50 (49,5)	9 (100)	59 (53,6)	
α -1,4-glucosidasa neutral ($< 20 \text{ mUI/eyaculado}$)				0,140
<i>Sin alteración</i>	20 (19,8)	0 (0)	20 (18,2)	
<i>Disminuida</i>	81 (80,2)	9 (100)	90 (81,8)	

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes entre paréntesis). La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$.

Graficando a través de Odd ratio los resultados obtenidos en la tabla 10, podemos observar que se presenta un OR > 1 en la presencia de Oligospermia y disminución de la fosfatasa ácida y ácido cítrico (valores superiores a 1), y **con mayor proporción se relaciona con la disminución de la fructosa total y corregida**. Figura 6.

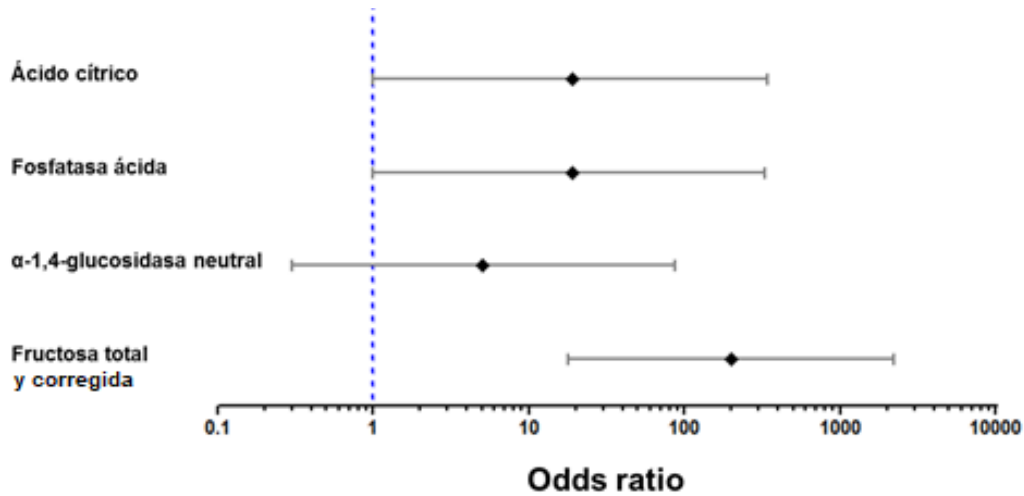


Figura 6. Forest Plot para la evaluación indirecta de riesgo (OR) entre la Oligospermia en pacientes con leucocitospermia en relación con los marcadores de glándulas accesorias. Se muestran los valores de OR (odds ratio) y sus intervalos de confianza.

www.bdigital.ula.ve

En la tabla 11 podemos observar que la alteración de los marcadores de las glándulas sexuales accesorias representa una asociación estadísticamente significativa ($p < 0,005$), con la alteración de la morfología espermática determinada a través de la presencia de Teratozoospermia en pacientes con leucocitospermia en comparación con el grupo que no presentó alteración de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias masculinas.

Tabla 11. Relación entre la alteración de parámetros espermáticos (morfología) en pacientes con leucocitospermia y su asociación o no con alteración los marcadores de glándulas accesorias.

Marcadores de glándulas accesorias	Teratozoospermia		Total (n=110)	Valor de p
	No (n=61)	Si (n=49)		
Conjunto de marcadores				0,001
<i>Sin alteración</i>	15 (24,6)	1 (2)	16 (14,5)	
<i>Disminución de sus valores</i>	46 (75,4)	48 (98)	94 (85,5)	

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes entre paréntesis). La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$. Fuente: Ficha de recolección de datos.

En la tabla 12 podemos observar que al comparar la alteración de la movilidad espermática determinada a través de la presencia de astenozoospermia asociada a leucocitospermia en muestras de pacientes con y sin alteración de los marcadores de las glándulas sexuales accesorias, existe un porcentaje importante de anormalidad de dicho parámetro espermático en aquellos pacientes que presentaban alteración de los marcadores a diferencia de aquellos en los que no hubo alteración de ningún marcador de glándulas sexuales accesorias con significancia estadística $p < 0,005$.

Tabla 12. Relación entre la alteración de parámetros espermáticos (Movilidad) en pacientes con leucocitospermia y su asociación o no con alteración de los marcadores de glándulas accesorias.

Marcadores de glándulas accesorias	Astenozoospermia		Total (n=110)	Valor de p
	No (n=54)	Si (n=56)		
Conjunto de marcadores				0,0001
<i>Sin alteración</i>	16 (29,6)	0 (0)	16 (14,5)	
<i>Disminución de sus valores</i>	38 (70,4)	56 (100)	94 (85,5)	

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes entre paréntesis). La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$. Fuente: Ficha de recolección de datos.

En la tabla 13 podemos observar que al comparar la alteración de la concentración espermática determinada a través de la presencia de oligospermia asociada a leucocitospermia en muestras de pacientes con y sin alteración de los marcadores de las glándulas sexuales accesorias, existe un porcentaje importante con asociación estadísticamente significativa $p < 0,005$, de anormalidad de dicho parámetro espermático en aquellos pacientes que presentaban alteración de los marcadores a diferencia de aquellos en los que no hubo alteración de ningún marcador de glándulas sexuales accesorias.

Tabla 13. Relación entre la alteración de parámetros espermáticos (Concentración) en pacientes con leucocitospermia y su asociación o no con alteración de marcadores de glándulas accesorias.

Marcadores de glándulas accesorias	Oligospermia		Total (n=110)	Valor de p
	No (n=101)	Si (n=9)		
Conjunto de marcadores				0,196
<i>Sin alteración</i>	16 (15,8)	0 (0)	16 (14,5)	
<i>Disminución de sus valores</i>	85 (84,2)	9 (100)	94 (85,5)	

Se muestran las frecuencias absolutas y relativas (porcentajes entre paréntesis). La significancia estadística de las diferencias entre las proporciones se evaluó con la prueba chi cuadrado. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,005$. Fuente: Ficha de recolección de datos.

DISCUSIÓN

Según nuestro conocimiento, este es el primer trabajo que propone un efecto negativo de la leucocitospermia en la función de las glándulas sexuales accesorias masculinas representando así mayor riesgo de alteración en los parámetros espermáticos al compararlos con leucocitospermia sin alteración de las glándulas sexuales accesorias. De esta manera nuestros resultados demuestran que la asociación de leucocitospermia y alteración de las glándulas sexuales accesorias masculinas representa mayor riesgo de alteración de la calidad seminal.

Al contrastar los resultados obtenidos con los antecedentes teóricos se determinó:

En relación al trabajo de Rodríguez Pendás et al. (2016) se encontraron resultados similares en cuanto a que la presencia de leucocitospermia representa mayor alteración de los parámetros espermáticos pero diferimos en que en nuestro estudio las mayores alteraciones se encontraron en cuanto a movilidad y morfología espermática a diferencia de su trabajo en el que se encontró mayor relación a la concentración, pudiendo representar dichas diferencias a que nuestro estudio asoció dichas alteraciones a la hipofunción de las glándulas sexuales accesorias.

Al igual que el estudio de Elzanaty S, Richthoff J, et al (2002), se encontró relación positiva entre la alteración de la 1-4 α glucosidasa neutra, fosfatasa ácida y ácido cítrico con alteración de la movilidad espermática.

Y presentamos resultados que concuerdan con el estudio de Gustavo F (1999), en que existe una hipofunción de las vesículas seminales ante la presencia de leucocitospermia expresada en disminución de sus marcadores fructosa total y corregida.

CONCLUSIONES

Al analizar la alteración de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias masculinas ante la presencia de leucocitospermia, se demostró que existe alteración estadísticamente significativa ($p \leq 0,0005$) en relación a la disminución de alfa glucosidasa neutral, fosfatasa ácida y ácido cítrico marcadores bioquímicos de epidídimo y próstata respectivamente; y no se encontraron cambios significativos en cuanto a la alteración de la fructosa total y corregida, marcadores bioquímicos de las vesículas seminales.

Por otra parte se determinó que la sola presencia de leucocitos por encima del rango normal en el líquido seminal representa alteraciones significativas de los marcadores de función de las glándulas sexuales accesorias y por lo tanto alteración de la calidad seminal y que dichas alteraciones no aumentan al incrementarse los valores de leucocitospermia.

Al contrastar los resultados con la alteración de los parámetros espermáticos (concentración, movilidad y morfología) de pacientes con leucocitospermia y alteración de los marcadores bioquímicos de las glándulas sexuales accesorias se demostró:

- Existencia de relación estadísticamente significativa ($p \leq 0,0005$) entre la disminución de la alfa glucosidasa neutral y la presencia de Astenozoospermia.
- Existencia de asociación estadísticamente significativa ($p \leq 0,0005$) entre la disminución de la fosfatasa acida y ácido cítrico y teratozoospermia.
- Se demostró también que en el pequeño porcentaje que presentó alteración de la fructosa total, existía asociación estadísticamente significativa con la presencia de Oligospermia.

Se demostró que un alto porcentaje (85,5%) de las muestras seminales con alteración de los marcadores de glándulas sexuales accesorias ante la presencia de

leucocitospermia presentan alteraciones en los parámetros espermáticos de movilidad, morfología y concentración espermática y que al compararlos con el grupo de pacientes sin ninguna alteración de estos marcadores se encontraba mayor alteración de los parámetros espermáticos en el grupo positivo; por lo cual se establece que la disminución de dichos marcadores ante la presencia de leucocitospermia presenta una asociación estadísticamente significativa con la alteración de los parámetros espermáticos, representando una nueva utilidad en la determinación de los valores de estos marcadores, ya que su alteración (disminución) representa alteraciones en morfología, movilidad y concentración espermática que se van a traducir en disminución de la calidad espermática y por otra parte nos permite orientarnos al sitio de origen del proceso inflamatorio o de infección en caso de haberla.

www.bdigital.ula.ve

RECOMENDACIONES

La presencia de este alto porcentaje de pacientes con alteración de los marcadores de función de las glándulas accesorias y su repercusión en la calidad seminal, indica la necesidad de resaltar la importancia de estudiar con mayor profundidad los procesos infecciosos que se dan a nivel del tracto masculino, esto nos ayuda a comprender aún más los factores que están implicados en el éxito reproductivo y a su vez establecer más y mejores métodos diagnósticos, en tal sentido los cambios seminales requieren un protocolo de diagnóstico de espermograma así como también de evaluación bioquímica para el descarte de esta gran diversidad de alteraciones que pone en riesgo la salud reproductiva del hombre y nos ayuda a la instauración de un adecuado tratamiento.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi madre Josefina Chacón, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y por siempre apoyarme. Gracias por darme una carrera y una especialidad para mi futuro, todo esto te lo debo a ti.

A mis abuelos Pedro Chacón (QEPD) y Antonia Oliveros (QEPD), por amarme y apoyarme siempre, esto también se lo debo a ustedes.

Mi Ahijado, Pedro Sanz, para que veas en mí un ejemplo a seguir.

Al Dr. José Enrique Machado, por su dedicación y entrega a esta maravillosa cátedra-servicio de Urología, por ser uno de los pilares fundamentales de este post grado y figura importante de esta maravillosa etapa de mi vida que hoy culmino con éxito, gracias por su aporte no solo en lo profesional sino en nuestro crecimiento personal, por los logros, las enseñanzas y los momentos compartidos durante el trayecto de la carrera.

Al maravilloso personal de la Cátedra Servicio de Urología, sus especialistas Dr. Henry Salas, Dr. Freddy Rodríguez, Dr. Rubén Gallo, Dr. Rafael Contreras, Dra. Adriana Contreras, Dr. Mazen El Eysami, Dr. Willian Ferrer, Dr. Henry Ramírez, Dr. Raynner Guillén y las Licenciadas Mirna y Yuraima, Licenciada Anita, Técnico Luz Marina, Al Sr José Uribe, Sr. Narcizo y Sra Rosita porque durante estos años de una u otra manera me brindaron su apoyo y colaboración.

Al personal del CEDIEG en especial al Dr. Ricardo Lozano, Dr. Antonio Villavicencio, Dr. Pedro Fernández, Sr. Héctor, Alexandra, quienes me abrieron las puertas desde el comienzo de esta investigación, gracias por el apoyo incondicional y colaboración en todo momento.

Al Dr. Eliezer Melean, por sus consejos y guía en el desarrollo de esta investigación.

A mis amigos de post grado, quienes se convirtieron en mis hermanos de vida Giovanni Meza, Kristal Torrado, Miguel Cancini y José Sandoval que hoy no están conmigo pero sé que están orgullosos de mí, y a los que aún me acompañan Félix Mendoza e Iris Aucapiña, a ustedes gracias por apoyarme en todo momento, por compartir tantos momentos hermosos, siempre estaremos unidos pese a cualquier distancia u obstáculo.

Julmery A. Vargas Chacón.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Weidner W, Pilatz A, Diemer T, Schuppe H, Rusz A, Wagenlehner F. Male urogenital infections: impact of infection and inflammation on ejaculate parameters. *World J Urol.* 2013;31:717-23.
2. Rusz A, Pilatz A, Wagenlehner F, Linn T, Diemer T, Schuppe H, et al. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility. *World J Urol.* 2012;30:23-30.
3. Vicari E. Seminal leukocyte concentration and related specific reactive oxygen species production in patients with male accessory gland infections. *Hum Reprod.* 1999; 14: 2025-2030
4. Gustavo F. Gonzales. ROL DE LAS VESÍCULAS SEMINALES EN LA INFERTILIDAD MASCULINA. Departamento de Ciencias Fisiológicas e Instituto de Investigaciones de la Altura, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Apartado Postal 1843. Lima, Perú. *Acta Médica Peruana - Vol.XVII N° 1 Julio - Setiembre 1999.* Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/acta_medica/1999_n1/vesiculas_infertilidad.htm.
5. Gonzales CF. Corrected seminal fructose test. *Arch Androl* 1994a; 33: 17-22
6. Gonzales CF, Carcía-Hjarles M, Gutierrez R, Guerra-Carcía R. The secretory activity of the seminal vesicles and its relationship with sperm motility: Effects of the infections in the male reproductive tract. *Inter J Androl* 1989a; 12: 286-94.
7. Gonzales CF. Infecciones en el tracto reproductivo masculino. En: *Andrología. Fertilidad e Infertilidad.* Gonzales CF (ed). Ediciones IIA: Lima. 1992b: 149-163.
8. Elzanaty S, Richthoff J, et al. El Efecto del Epidídimo y de las Glándulas Sexuales Accesorias en la Motilidad del Esperma. *Human Reproduction* 17(11): 2904-2911, 2002
9. Lluís Bassas Arnau. *Manual de Andrología.* Sociedad española de fertilidad. Capítulo 2. Seminograma. Barcelona, España. EdikaMed, S.L. 2011
10. Bertha Victoria Rodríguez Pendás, Felipe Santana Pérez, Emma Domínguez Alonso, Blanca Nurquez Guerra, Hilda Reyes Rodríguez. Leucocitos seminales y calidad espermática de hombres en estudio de infertilidad. *Rev Cubana Endocrinol* vol.27 no.1 Ciudad de la Habana ene.-abr. 2016.
11. Gonzalez et al. Líquido seminal. Facultad de bioanálisis. *Bioquímica clínica especializada.* Xalapa, Veracruz 2010.
12. Lozano-Hernández Ricardo, Vivas-Acevedo Giovanni. Impacto del tratamiento con antibiótico sobre la calidad seminal y los marcadores químicos de glándulas accesorias sexuales masculinas en presencia de *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*. *Fac Farm.* 2011; 53 (2): 13-21
13. Sarabia VL. Espermograma. Según los criterios de OMS 2012. Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

14. Hurtado J. Guía para la comprensión holística de la ciencia. 3^{ra} edición. Caracas Venezuela: Fundación Sypal; 2.010.
15. A. P. Marco Metodológico para Diseños de Campo y Proyectos Factibles. En Guía metodológica para Anteproyectos de Investigación. Venezuela FEDUPEL. 2009: p 71.
16. Palella S, Martins F. Metodología de la Investigación Cuantitativa.(2° ed) Caracas: FEDUPEL. 2010:pp 188-9.
17. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 5th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2.010.

www.bdigital.ula.ve