

# Verificación de los valores de referencia del estudio del semen según OMS 2010 en Buenos Aires

*Verification of reference values for semen analysis according to WHO 2010 in Buenos Aires*

*Verificação dos valores de referência da análise do sêmen de acordo com a OMS 2010 em Buenos Aires*

- Susana Mercedes Curi<sup>1</sup>, Patricia Haydee Chenlo<sup>2</sup>, Mercedes Norma Pugliese<sup>3</sup>, Julia Irene Ariagno<sup>1</sup>, Herberto Ernesto Repetto<sup>4</sup>, José Vazquez<sup>5</sup>, Melba Sardi Segovia<sup>6</sup>, Gabriela Ruth Mendeluk<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica. Área Citología. Jefe de Trabajos Prácticos del Departamento de Bioquímica Clínica; Bioquímica Clínica II, Citología Exfoliativa y de la Reproducción. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA.

<sup>2</sup> Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica. Área Citología. Ayudante de primera del Departamento de Bioquímica Clínica; Bioquímica Clínica II, Citología Exfoliativa y de la Reproducción. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA.

<sup>3</sup> Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica. Área Citología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA.

<sup>4</sup> Bioquímico. Especialista en Bioquímica Clínica. Área Química Clínica. Bioquímico de planta del Departamento de Bioquímica Clínica; Htal. de Clínicas "José de San Martín".

<sup>5</sup> Médico Urologo Consultor. Especialista en Andrología. Htal. de Clínicas "José de San Martín". Prof. Regular adjunto de Urología- UBA

<sup>6</sup> Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica. Área Citología. Bioquímica de planta del Departamento de Bioquímica Clínica; Htal. de Clínicas "José de San Martín".

<sup>7</sup> Bioquímica. Doctora de la Universidad de Buenos Aires. Especialista en Bioquímica Clínica. Área Citología. Jefe de Trabajos Prácticos del Departamento de Bioquímica Clínica; Bioquímica Clínica II, Citología Exfoliativa y de la Reproducción. Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA. Directora del Proyecto UBACyT CB 06.

Laboratorio de Fertilidad Masculina, Departamento de Bioquímica Clínica, INFIBIOC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Córdoba 2351 (1120), Buenos Aires, Argentina.

Este trabajo fue subsidiado por UBACyT CB 06 y por la Sociedad Argentina de Andrología (SAA).

### Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstracts Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (Impresa)

ISSN 1851-6114 (En línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

## Resumen

La Organización Mundial de la Salud en su edición 2010 ha publicado valores de referencia para los parámetros seminales. Sin embargo, los laboratorios deben verificarlos en su población para transferirlos a su práctica clínica. Para cumplimentar este requerimiento se propuso verificar los intervalos de referencia OMS 2010 en la población de la provincia y Ciudad Autónoma de Buenos Aires. También se determinó el rango de resultados para: número total de espermatozoides móviles progresivos y morfología normal en el eyaculado, parámetros cinéticos y pruebas funcionales. El proceso de verificación fue llevado a cabo de acuerdo a la guía C28-A2 CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Mediante difusión se convocó a hombres (n:20) argentinos residentes en Buenos Aires, con fertilidad probada en los últimos 12 meses. Se excluyeron individuos con patología andrológica. Las muestras se procesaron de acuerdo con los criterios OMS 2010. De los resultados se establece que los intervalos de referencia publicados en la última versión han sido verificados, con excepción del volumen seminal. Los rangos de valores obtenidos para los parámetros de movilidad progresiva y morfología en número totales, como también de los parámetros cinéticos y de las pruebas funcionales contribuirán a establecer futuros valores de referencia.

**Palabras clave:** valores de referencia en semen \* parámetros cinéticos en semen \* fosforilación de proteínas en tirosina

## Summary

*WHO 2010 provided reference values for semen analysis; however clinical laboratories should verify them in healthy fertile males. In order to be able to transfer this reference interval to our unit, it was proposed to examine the available data in the Buenos Aires population. The range of data obtained in this population was also provided for the following: total number of progressively motile and morphologically normal spermatozoa in the ejaculate,*

*kinematic parameter values and functional tests, in an attempt to establish standardization in these parameters. The process of reference value verification was carried out according to C28-A2 CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) guidelines; to that aim, twenty men born in Argentina who reside in Buenos Aires province or city were recruited to participate. They were of proven fertility in the last 12 months. Individuals with pathologies by andrological consultation were excluded. Samples were processed according to 2010 WHO. In Buenos Aires City, WHO reference values were confirmed whereas semen volume was not confirmed. The range of values for total progressive and morphologically normal spermatozoa as well as kinetic parameter values, enrichment by swim up and functional test results were established for the male fertile population studied in an attempt to contribute to the construction of future reference values.*

**Key words:** *sperm reference value \* sperm kinetics parameters \* sperm protein tyrosine phosphorylation*

## Resumo

*A Organização Mundial da Saúde, em sua edição de 2010, tem publicado valores de referência para os parâmetros seminais. No entanto, os laboratórios devem verificá-los em sua população para serem transferidos a sua prática clínica. Para cumprir com esse requisito, decidiu-se verificar os intervalos de referência da OMS 2010, na população da província e da cidade de Buenos Aires. Também foram definidos intervalos de resultados para o número total de espermatozoides móveis progressivos e para a morfologia normal no ejaculado, os parâmetros cinéticos e os testes funcionais. O processo de verificação foi realizado de acordo com o guia CLSI C28 A2 (Clinical and Laboratory Standards Institute). Por meio de uma convocação, (N 20) homens argentinos residentes em Buenos Aires, com comprovada fertilidade nos últimos 12 meses foram convidados. Indivíduos com patologia andrológica foram excluídos. As amostras foram processadas de acordo com os critérios da OMS de 2010. A partir dos resultados estabeleceu-se que os intervalos de referência publicados na versão mais recente foram verificados, com exceção do volume seminal. Os intervalos de valores obtidos para os parâmetros de motilidade progressiva e morfologia em número total, bem como os parâmetros cinéticos e os dos testes funcionais ajudarão a estabelecer valores de referência futura.*

**Palavras-chave:** *valores de referência para o sêmen \* parâmetros cinéticos em sêmen \* fosforilação de proteínas em tirosina*

## Introducción

La infertilidad provoca consecuencias económicas, psicológicas, sociales y de salud pública en todo el mundo y afecta aproximadamente al 15% de las parejas en edad reproductiva (1). El factor masculino aislado es responsable del 20% de los casos de infertilidad y contribuye, asociado al factor femenino, en otro 30-40% (2). La evaluación de la infertilidad tiene como objetivo identificar la etiología, guiar el tratamiento de las causas reversibles que le permitan a la pareja lograr el embarazo a través de una concepción natural (3) y en aquellas situaciones de carácter irreversible, crear las condiciones para aumentar las tasas de concepción por técnicas de reproducción asistida.

El análisis del semen constituye la primera evaluación y es esencial para el estudio de la infertilidad en el varón. También permite determinar el efecto tóxico de los agentes ambientales y terapéuticos sobre el espermatozoide. Sin embargo, su valor predictivo para la fertilidad masculina es un tema de continuo debate en reuniones científicas y en la bibliografía, situación que puede deberse a su etiología multifactorial y a que

se desconocen los valores mínimos de los parámetros seminales que establecen la fertilidad potencial del hombre.

La OMS (Organización Mundial de la Salud) publicó numerosas ediciones del manual para la estandarización de los procedimientos del laboratorio andrológico en todo el mundo. En la última edición, publicada en el 2010 (4), estableció valores de referencia basándose en el trabajo de revisión publicado por Cooper *et al.* (5) quienes reportaron los resultados obtenidos de 1953 hombres, habitantes de 8 países, que habían sido padres en los últimos 12 meses. Los procedimientos para la estimación de los valores de referencia subrayan la importancia de que las observaciones recogidas representen una población homogénea debido a que las diferencias demográficas podrían afectar los parámetros; sin embargo, este requerimiento no fue considerado en el trabajo citado. También la norma IRAM-ISO 15189 (6) establece que los laboratorios deben llevar a cabo la verificación con su población, para transferirlos a su práctica clínica.

La incorporación del análisis computarizado para el estudio del movimiento espermático, conocido inter-

nacionalmente como CASA (*Computerized Sperm Motion Analysis*), ha permitido identificar y evaluar en forma objetiva el número total de células móviles, analizar la trayectoria de la células en forma individual y dejar registro del análisis para futuras comparaciones. Los parámetros cinéticos, calculados por estos programas de análisis de imágenes, han sido relacionados con los resultados de los procedimientos de fertilización instrumental (7), pero a pesar de que diversos autores han publicado sus experiencias (8-10) no hay estudios de estimación de valores de referencia en la bibliografía. La mayoría de los laboratorios que utilizan sistemas CASA refieren un valor límite inferior de 45  $\mu\text{m/s}$  para la velocidad curvilínea (VCL), 25  $\mu\text{m/s}$  para la velocidad rectilínea (VSL), 35  $\mu\text{m/s}$  para la velocidad promedio (VAP), 60% para la linealidad (LIN), 80% para la rectitud (SRT) y 2  $\mu\text{m}$  para el desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) (11).

El manual OMS 2010 ha incluido un capítulo de "Procedimientos de Investigación" que describe determinaciones que se desarrollan en el laboratorio clínico especializado en andrología, pero aún existen incertidumbres del valor clínico de estas pruebas. Entre ellas se encuentran los métodos de enriquecimiento y la prueba de fosforilación en tirosina de espermatozoides incubados bajo condiciones capacitantes. La fosforilación de proteínas es una modificación postraduccional que permite controlar diversos procesos celulares. Los espermatozoides maduros poseen características de células especializadas. El ADN altamente compactado es transcripcionalmente inactivo, incapaz de sintetizar nuevas proteínas. Por lo tanto, se podría argumentar que la dependencia de los espermatozoides maduros a la fosforilación de proteínas como un medio de alterar su función, es mayor que en muchos otros tipos celulares. Durante la fertilización, la función espermática está regulada por sistemas de señalización mediante la activación de la fosforilación de proteínas. El aumento de fosforilación de proteínas en tirosina se asocia con la capacitación, la motilidad hiperactiva, unión a la zona pelúcida, reacción acrosomal y fusión con el ovocito (12).

La estimación de los valores de referencia de las pruebas bioquímicas es de suma importancia para cooperar al diagnóstico y pronóstico de la patología andrológica, pero constituye una labor difícil por las características de los individuos que se requiere estudiar. Es por ello que con el propósito de poder transferir los valores publicados por la OMS a esta población, se propuso verificarlos en hombres sanos con fertilidad probada en el último año que fueron específicamente reclutados para este estudio. También se reportaron los rangos de valores obtenidos en este grupo de estudio para: el número total de espermatozoides móviles progresivos, de espermatozoides con morfología normal, de los parámetros cinéticos y de las pruebas funcionales, en un intento de contribuir a la estandarización de estos parámetros.

## Materiales y Métodos

El estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital de Clínicas "José de San Martín". Se reclutaron veinte hombres de nacionalidad argentina, residentes de la ciudad o provincia de Buenos Aires, con edades comprendidas entre 20 y 41 años con fertilidad probada mediante concepción en los últimos 12 meses. Se excluyeron del estudio hombres con antecedentes de pareja con abortos recurrentes, con enfermedades crónicas o trastornos andrológicos y aquellos que en los últimos 15 días hubieran presentado fiebre o recibido tratamiento con antibióticos. Los participantes recibieron información sobre el proyecto y para ser incluidos debieron someterse a un examen andrológico, completar un cuestionario sobre hábitos personales y dar su consentimiento informado por escrito.

Las muestras se obtuvieron en el laboratorio y se procesaron de acuerdo con los criterios OMS 2010 (4). El proceso de verificación de los valores de referencia se llevó a cabo de acuerdo a la guía C28 - A2 CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (13). La cinética espermática se realizó mediante el sistema CASA *Sperm Class Analyzer* (SCA Microptic SL Barcelona, España) el cual está constituido por un microscopio con contraste de fase para visualizar la muestra (Nikon E-200, Japón), una cámara digital para capturar imágenes (Basler A312 ic Vision - Tecnología de Alemania) y un ordenador con el *software* SCA instalado. Para el estudio se empleó una platina termostata a 37 °C. Un mínimo de 400 espermatozoides fueron capturados por muestra y se digitalizaron 25 imágenes por segundo de cada uno. Los ensayos se llevaron a cabo de conformidad con la estandarización y validación del instrumento (14), utilizando cámara Leja 10 (10 micras de profundidad). Un operador calificado validó cada imagen analizada. Se evaluaron las diferentes velocidades: VCL, VSL, VAP y ALH y los porcentajes de linealidad (LIN) y rectitud (STR).

Mediante la técnica de sobrenado, los espermatozoides recuperados se incubaron en condiciones capacitantes 18 h a 37 °C en una atmósfera de  $\text{CO}_2$  al 5% (HAM F-10 1X, HEPES 25 mM y L- glutamina, Gibco BRL # 12390-035, Grand Island, NY, EE.UU.) suplementado con penicilina-estreptomina, albúmina de suero bovino fracción V (0,3%, Gibco BRL # 15260-037, Grand Island, NY, EE.UU.) y lactato de calcio (25 mg/dL). La hiperactivación y la fosforilación de proteínas en tirosina, se evaluaron a 1,5 y 18 h después de la incubación siguiendo el protocolo propuesto por Mendeluk *et al.* (12). La sobrevivencia se determinó con el sistema CASA como el porcentaje de espermatozoides móviles después de las 18 h en condiciones capacitantes. Los criterios para la detección de espermatozoides hiperactivos fue VCL > 35  $\mu\text{m/s}$ , ALH > 2,5  $\mu\text{m}$ , STR > 85%, según lo establecido por el fabricante SCA que se corresponde con el patrón de hiperactivación de transición reportado por Suarez (15) y referido por otros autores (16).

## MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para la verificación de los valores de referencia propuestos por OMS se siguió el procedimiento de la guía C28-A2 aplicando la prueba de Dixon-Reed para la identificación y el rechazo de los valores extremos. Mediante el programa MedCalc versión 9.5.0.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgica) se realizó la estadística descriptiva calculando mediana y rango para cada parámetro. Los estudios de correlación se efectuaron por la prueba de Spearman y Anova y la diferencia entre grupo se estimó por la prueba de Friedman. En todos los casos se consideró como significativo un  $\alpha > 0,05$ .

## Resultados

Un total de 39 hombres respondieron a la convocatoria, pero sólo 23 realizaron la consulta médica, la cual excluyó dos sujetos, uno por presentar varicocele, otro por edad inferior al límite establecido y un tercero que finalmente se negó a participar. Las Tablas I, II y III resumen las características descriptivas de los donantes, sus hábitos, costumbres y ocupaciones.

Tabla I. Características de los donantes.

Raza	Caucásica	
Nacionalidad	Argentino	
Residencia	Buenos Aires	
	<i>Mediana (rango)</i>	
Edad (años)	28	(20-41)
Peso (kg)	83	(60-109)
Altura (m)	1,73	(1,68-1,85)
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	28,4	(23-36,4)
Número de hijos	2	(1-4)
Meses desde el nacimiento	6	(1-12)
Edad de la pareja (años)	28,6	(19-41)
Frecuencia sexual /semana	3	(1-7)
Volumen testicular (mL)	22,5	(14-30)

Tabla II. Descripción de los hábitos y costumbres.

Hábitos	Prevalencia (%)
Consumo de alcohol	65*
Consumo de tabaco	55**
Consumo de marihuana	20
Drogas terapéuticas	25
Entrenamiento físico	60
Uso de celular cerca a los testículos	30
Uso de <i>notebook</i> cerca de los testículos	10

\*Consumo social; \*\*mediana de consumo: 7 cigarrillos diarios (1-20).

Tabla III. Ocupación de los donantes

Ocupación	Total
Mantenimiento	3
Camillero	4
Empleado	3
Operario	2
Metalúrgico	2
Albañil	1
Desocupado	1
Mecánico	1
Vendedor	2
Cocinero	1

No se excluyeron datos, por la prueba de Dixon-Reed, en el grupo de hombres fértiles estudiados. Los valores propuestos por la última normativa fueron verificados en la población estudiada, a excepción del volumen seminal, ya que tres individuos sanos con fertilidad probada, presentaron volúmenes por debajo del valor esperado (1,5 mL) (Tabla IV). En la Tabla V se muestra el rango de datos para los parámetros de movilidad progresiva y morfología, expresados en valores absolutos (número total por eyaculado) tal como propone OMS - 2010, de los cuales no hay hasta el momento datos publicados.

Tabla IV. Parámetros seminales de los donantes.

Parámetro	Mediana	Rango	Límite inferior de referencia OMS 2010	N° de casos con resultados menores a OMS 2010
Volume (mL)	2,4	1,1-8,8	1,5 (1,4-1,7)	3
pH	8,1	7,5-8,8	7,2	0
Concentración (10 <sup>6</sup> /mL)	61,75	7,3-245	15 (12-16)	2
Ez. totales (10 <sup>6</sup> /eyac.)	211,62	14,0-563,5	39 (33-46)	2
Movilidad progresiva (%)	43	25-75	32 (31-34)	2
Motilidad (% móviles)	46	30-80	40 (38-42)	1
Vitalidad (% vivos)	82	50-97	58 (55-63)	2
Morfología (% normal)	17	2-29	4 (3-4)	1

Tabla V. Parámetros seminales expresados en valor absoluto.

Parámetros seminales	Mediana	Rango
Ez. móviles progresivos totales (10 <sup>6</sup> /eyac.)	66,63	7,7- 460
Ez. viables totales (10 <sup>6</sup> /eyac.)	179,3	22,19-453
Ez. normales totales (10 <sup>6</sup> /eyac.)	26,14	1,9-126,7

En los donantes no se hallaron muestras de semen con viscosidad aumentada ni con presencia de anticuerpos antispermáticos analizados por las pruebas inmunológicas de Reacción Mixta de Aglutinación (MAR *test*) y de unión de partículas de poliacrilamida cubiertas con antiglobulinas humana de clase específica (*immunobeads*). Sorprendentemente se halló 15% de muestras con recuento leucocitario superior a 1,0 x 10<sup>6</sup> lo que sugiere proceso inflamatorio.

Los datos de movilidad objetiva cumplieron el protocolo de verificación considerando los valores frecuentemente utilizados en la bibliografía (Tabla VI), a excepción de la linealidad (LIN%), rectitud (STR%) y amplitud lateral de la cabeza (ALH  $\mu$ ), en los que más de dos valores excedieron los límites aceptables. Debido a que no se han establecido valores de referencia para WOB (%) y BCF (Hz), los resultados obtenidos en este trabajo contribuirían a su estimación.

La Tabla VII muestra los resultados de los procedimientos de sobrenado y de las pruebas funcionales: hiperactivación y proteínas fosforiladas en tirosina. No se halló correlación entre estas pruebas funcionales (prueba de Spearman,  $r < 0,6$ ,  $p > 0,05$ ). Tanto el porcentaje de espermatozoides hiperactivos como el porcentaje de células fosforiladas en tirosina mostraron diferencias estadísticamente significativas a los distintos tiempos de incubación. La fosforilación de proteínas en tirosina aumentó significativamente en los diferentes tiempos estudiados (prueba de Friedman,  $p < 0,0001$ ) (medianas 1 h: 6%; 5 h: 26%; 18 h: 88%). La hiperactivación alcanzó su valor máximo después de 5 h de incubación en condiciones capacitantes y disminuyó a las 18 h (prueba de Friedman,  $p < 0,001$ ) (medianas 1 h: 19,4%; 5 h: 30%; 18 h: 10,5%).

Tabla VI. Parámetros cinéticos por CASA con Sperm Class Analyzer.

Parámetro	Mediana	Rango	Límite inferior según la bibliografía	Nº de casos con resultados menores a los establecidos
VCL ( $\mu$ m/s)	78,83	46,4-106,66	45	0
VSL ( $\mu$ m/s)	51,94	29,34-90,39	25	0
VAP ( $\mu$ m/s)	63,24	34,93-95,28	35	1
LIN (%)	67,48	44,39- 84,74	59	7
SRT (%)	84,47	72,36-94,87	80	7
ALH ( $\mu$ m)	2,2	1,73-3,44	2	5
WOB (%)	79,48	60,53-89,33	-	-
BCF (Hz)	8,87	4,73-10,80	-	-

Tabla VII. Pruebas Funcionales: Sobrenado, Fosforilación en Tirosina e Hiperactivación

Prueba funcional	Mediana	Rango
Ez. Mov. Prog. totales post sobrenado (x 10 <sup>6</sup> )	19,4	1,5-232,4
Recuperación (%)	41	5-97
Sobrevida a las 18 h (%)	60	1-90
Proteínas fosforiladas en tirosina a 1 h (%)	3	0-26
Proteínas fosforiladas en tirosina a 5 h (%)	17	2-65
Proteínas fosforiladas en tirosina a 18 h (%)	59	4-95
Motilidad hiperactiva a 1 h (%)	19,4	2,5-41
Motilidad hiperactiva a 5 h (%)	30	9,3-52,1
Motilidad hiperactiva a 18 h (%)	10,8	0,4-23,9

La sobrevivida de los espermatozoides en medio capacitante a las 18 h fue: Mediana= 60% (rango: 1-90%). No se encontró correlación entre este parámetro y la fosforilación de proteínas en tirosina a las 18 h (prueba de Spearman,  $r = -0,366$ ,  $p > 0,05$ )

## Discusión y Conclusiones

Los parámetros habitualmente estudiados en las muestras de semen requieren ser analizados teniendo como parámetro de comparación valores de una población de referencia, lo que permitirá dentro de un contexto clínico tomar acciones terapéuticas o establecer consejos médicos para el manejo del paciente. Los valores de referencia de OMS 2010 fueron generados a partir de los resultados de varios estudios retrospectivos transversales en muestras de hombres fértiles. La OMS sugiere utilizar como valor de referencia para los parámetros del semen solo el límite inferior y argumenta que valores "demasiado elevados" carecen de relevancia clínica. Para justificar esta propuesta el Dr. Cooper (5) explica la diferencia con

otros componentes sanguíneos que mantienen una homeostasis precisa para evitar concentraciones extremas que pudieran ser perjudiciales para los tejidos blancos, por lo que los límites de referencia superior e inferior son significativos. Sin embargo, la composición del semen no está regulada por sistemas de retroalimentación estrictos y también es influenciada por factores como las secreciones de las glándulas anexas y la frecuencia de la actividad sexual, es por ello que la OMS considera apropiado el empleo del límite inferior de referencia. Sin embargo, los autores sugieren informar ambos, el superior e inferior (centiles 5 y 95) ya que describen la distribución de la población, dando al médico una visión global de la probabilidad de lograr fertilidad.

Las características físicas, hábitos y ocupaciones halladas son acorde a la idiosincrasia de los habitantes de Buenos Aires y se ha observado que el uso de tecnología cercano a los testículos no era una práctica habitual en el grupo fértil, como tampoco el consumo de *cannabis*, hábitos no sugeridos por la bibliografía (17) (18) para la salud testicular. Cabe resaltar que los parámetros seminales de ciertas muestras de semen de los donantes sorprendieron por insuficiente calidad, sin embargo podría verse compensadas por la elevada frecuencia de relaciones sexuales (2-3 por semana) reportadas por esta población.

La reacción inflamatoria detectada en algunas muestras fue un hallazgo no esperado, aunque se desconoce si estuvo presente durante la concepción. También el valor clínico de la leucospermia es controvertido en la reproducción (19).

La última edición del manual recomienda un sistema sencillo de clasificación de la motilidad que diferencia a los espermatozoides con motilidad progresiva o no progresiva, de los inmóviles. Esta nueva guía es para compensar la imprecisión derivada de los límites humanos en la identificación de las diferentes velocidades establecidas por las normas anteriores de la OMS. En opinión de los autores, esto mejora la precisión, pero va en detrimento del valor clínico. La evaluación cuantitativa de la cinética espermática estudiada por el sistema CASA permite caracterizar el movimiento de las células espermáticas en forma objetiva aportando un dato de valor clínico en la identificación de los hombres con infertilidad, por lo que se propone incluir esta herramienta al laboratorio de andrología.

Los usuarios de sistemas CASA tienden a emplear los ajustes recomendados por el fabricante en lugar de validar el sistema en su laboratorio. Esta normatización de los parámetros de configuración permite las comparaciones entre laboratorios con los mismos equipos, pero no son estrictamente comparables los valores, para una misma medición, en instrumentos con diferente *hardware* o *software* (20). Por lo tanto, se propone que cada usuario estandarice y valide su propio instrumento y que un programa de evaluación de calidad externo determine la variabilidad entre laboratorios. Pero aún restaría establecer los valores de referencia en población fértil para que

puedan ser aplicados al diagnóstico clínico. En la presente experiencia se han podido verificar los datos publicados por los proveedores de CASA para los parámetros de velocidad, aunque no para la relación cinética de rectitud y linealidad (STR, LIN).

En los procedimientos de fertilización instrumental de baja complejidad 5 millones de espermatozoides móviles es el umbral requerido para llevar a cabo la inseminación (21). El estudio en esta población de hombres fértiles reveló una recuperación muy superior a este valor límite (Mediana:  $19,4 \times 10^6$  esp/mL), obteniéndose una tasa de recuperación media de 41%. En la experiencia de los autores la fosforilación de las proteínas en tirosina fue dependiente del tiempo, siendo más elevada en los espermatozoides incubados 18 h en condiciones capacitantes. La fosforilación de proteínas en tirosina no correlacionó con la sobrevida de los espermatozoides a los mismos tiempos de incubación. No se halló correlación entre la hiperactivación y la fosforilación en tirosina, lo que indica que ambos procesos pueden estar relacionados, pero probablemente estén regulados por mecanismos diferentes.

De acuerdo con los resultados, los valores de referencia de la OMS se verificaron en Buenos Aires, a excepción del volumen de semen. Probablemente, la disminución del volumen observado se atribuya al hecho de que las muestras de semen se obtuvieron en el laboratorio, lo que si bien asegura la estandarización del ensayo, puede ocasionar incomodidad que se refleja en defecto en la estimulación.

Los rangos de valores obtenidos para los parámetros de movilidad progresiva, viabilidad y morfología en número totales, como también de los parámetros cinéticos y de las pruebas funcionales contribuirán a establecer futuros valores de referencia

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue subsidiado por la Universidad de Buenos Aires Ciencia y Tecnología (UBCYTCB06) y la Sociedad Argentina de Andrología (SAA).

#### CORRESPONDENCIA

BIOQ. SUSANA M. CURI  
Laboratorio de Fertilidad Masculina  
Departamento de Bioquímica Clínica  
INFIBIOC, Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Universidad de Buenos Aires  
Córdoba 2351, (1120), BUENOS AIRES, Argentina  
E-mail: susicuri@gmail.com

## Referencias bibliográficas

1. Menkevel R. Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of *in vivo* thresholds. *Human Reprod* 2001; 6 (6): 1165-71.

2. Chia SE, Tay SK, Lim ST. What constitutes a normal seminal analysis? Semen parameters of 243 fertile men. *Human Reprod* 1998; 13: 3394-8.
3. Gunalp S, Onculoglu C, Gurgan T, Kruger T, Lombard C. Study of semen parameters with emphasis on sperm morphology in a fertile population an attempt to develop clinical threshold. *Human Reprod* 2001; 16 (1): 110-4.
4. World Health Organization WHO. Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Fifth edition; 2010.
5. Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, Auger J, Gordon Baker HW, Behre H, *et al.* World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human Reprod Update* 2010; 16 (3): 231-45.
6. ISO 15189. Specifies requirements for quality and competence particular to medical laboratories; 2007.
7. Hirano Y, Shibahara H, Obara H, Suzuki T, Takamizawa S, Yamaguchi C. Relationships between sperm motility characteristics assessed by the computer-aided sperm analysis (CASA) and fertilization rates in vitro. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18 (4): 213-8.
8. Agarwal A, Ozturk E, Loughlin KR. Comparison of semen analysis between the two Hamilton - Thron semen analysers. *Andrology* 1992; 24: 327-9.
9. Aulesa C, Cabrera M, Alonso R, Benítez M, Martínez M. Evaluación del sistema automatizado Sperm Class Analyzers (SCA) para análisis del semen. *Rev Lab Clin* 2009; 2 (1): 8-16.
10. Tomlinson MJ, Pooley K, Simpson T, Newton T, Hopkisson J, Jayaprasadan K, *et al.* Validation of a novel computer-assisted sperm analysis (CASA) system using multitarget-tracking algorithms. *Fertil Steril* 2010; 93 (6): 1911-20.
11. Munuce MJ. El laboratorio andrológico en la evaluación del factor masculino. *Reproducción* 2008; 23 (3): 120-8.
12. Mendeluk GR, Sardi-Segovia LM, Chenlo PH, Pugliese MN, Repetto H, Curi S, *et al.* Assessment of human sperm protein tyrosine phosphorylation by immunocytochemistry in a clinical andrology laboratory. Preliminary data. *Biotech Histochem* 2009; 84 (6): 321-8.
13. NCCLS. How to define and determine reference Intervals in the clinical laboratory; Approved Guideline. Second Edition. NCCLS document C28-A2. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.2000.
14. Chenlo P, Ariagno J, Pugliese M, Repetto H, Sardi Segovia L, Mendeluk G, *et al.* Estudio del semen humano: implementación de un método objetivo. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47 (1): 61-9.
15. Suarez S. Hyperactivated motility in sperm. *J Androl* 1996; 17(4): 331-5.
16. Kay VS, Robertson L. Hyperactivated motility of human spermatozoa a review of physiological function and application in assisted reproduction. *Human Reprod Update* 1998; 4(6): 776-86.
17. Avendaño C, Ariela Mata MS, Sanchez Sarmiento C, Doncel G. Use of laptop computers connected to internet through Wi-Fi decreases human sperm motility and increases sperm DNA fragmentation. *Fertil Steril* 2012; 97 (1): 39-45.
18. Badawy ZS, Chohan KR, Whyte DA, Penefsky HS, Brown OM, Souid AK. Cannabinoids inhibit the respiration of human sperm. *Fertil Steril* 2009; 91 (6): 2471-6.
19. Rodin DM, Larone D, Goldstein M. Relationship between semen cultures, leukospermia, and semen analysis in men undergoing fertility evaluation. *Fertil Steril* 2004; 9 Suppl 3: 1555-8.
20. Amann R, Katz D. Reflections on CASA after 25 Years. *J Andrology* 2004; 25 (3): 317-25.
21. Merviel P, Heraud MH, Grenier N, Lourdel E, Sanguinet P, Copin H. Predictive factors for pregnancy after intrauterine insemination (IUI): an analysis of 1038 cycles and a review of the literature. *Fertil Steril* 2010; 93 (1): 79-88.

**Recibido: 11 de abril de 2014**  
**Aceptado: 22 de julio de 2014**