

**HOSPITAL GENERAL DOCENTE
"CAPITAN ROBERTO RODRIGUEZ FERNANDEZ"
MORON**

**Centrifugación, esperanza de la calidad del semen
Centrifugation, hope for semen quality**

Yudenia Ascanio Garcia (1), María de los Ángeles de Oro Collazo (2), Milagros de las Mercedes Marrero Lois (3), Maura Maidique Roja (4).

Resumen

La inseminación artificial homóloga está indicada en parejas con alteraciones del recorrido natural del semen hasta el tercio medio de la trompa, o afecciones en la calidad del semen que incluye la hipospermia, siendo necesario potenciar la posibilidad de éxito realizando operaciones preliminares de preparación de este, para ello fueron examinados 60 pacientes y a los mismos se les realizaron los marcadores utilizados para evaluar la calidad del semen en el espermograma "clásico, estándar o tradicional" siendo fundamentalmente los siguientes: conteo total de espermatozoides, movilidad y morfología normal de los espermatozoides; también se evaluaron otras características físicas del semen como su apariencia, volumen de semen eyaculado, viscosidad o consistencia y pH, así como conteo de células, en especial leucocitos. Se concluyó que para preparar el semen y lograr una inseminación artificial exitosa, es necesario optimizar la concentración de espermatozoides móviles y reducir el contenido de plasma seminal en la muestra espermática mediante la operación de centrifugación, realizando la misma durante 20 minutos a 1000 rpm.

Palabras clave: HIOSPERMIA/diagnóstico, CENTRIFUGACIÓN/tratamiento.

- 1.- Técnico de Laboratorio Clínico.
- 2.- Especialista de Primer Grado en Ginecología y Obstetricia. Profesor Instructor.
- 3.- Licenciada en Bioquímica. Profesor Instructor.
- 4.- Especialista de Primer Grado en Laboratorio Clínico. Profesor Instructor.

INTRODUCCIÓN.

Se define la infertilidad como la incapacidad de una pareja para tener descendencia en un período de al menos un año. Se considera primaria si la pareja no ha tenido ningún hijo, y secundaria cuando ya ha tenido hijos. En el 30% de los casos, las causas son debidas a deficiencias espermáticas.

La fertilidad masculina depende de la adecuada producción de espermatozoides maduros y la calidad y motilidad de estos, así como de su capacidad de eyaculación.

Para muchas parejas que han agotado los tratamientos clínicos y quirúrgicos tradicionales para la infertilidad, las técnicas de Reproducción Asistida ofrecen la mejor esperanza y probabilidad de un embarazo.

Aproximadamente 40% de los casos de infertilidad son causados por un factor masculino, 40% por un factor femenino y 20% por una combinación de ambos.(1, 2)

Las técnicas de reproducción más utilizadas mundialmente son las siguientes: (1,2,3)

- Fertilización in vitro (FIV).
- Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI)

- Hatching Asistido.
- Variaciones del FIV (GIFT , ZIFT, TET).
- Inseminación Artificial Intrauterina (IAIU).
- Preparación del semen (Recuperación de espermatozoides móviles).
- Inseminación Intrauterina con Donante (IIUD).

La Inseminación Artificial Homóloga (4,5,6) es la mejor opción y la que está a nuestro alcance según las características de nuestro centro hospitalario; consiste en la colocación del semen preparado en la cavidad intrauterina.

Esta técnica consta de varios pasos que son: La estimulación del ovario, la preparación del semen y la inseminación.

La preparación del semen consiste en optimizar la concentración de los espermatozoides móviles en la muestra, y reducir el contenido de plasma seminal que contiene factores que inhiben la fertilización normal y prostaglandinas que pueden causar contracciones uterinas, esto se realiza mediante la operación de centrifugación.

Es de medular importancia para este proceder establecer los parámetros de tiempo y velocidad en la operación de centrifugación para maximizar las posibilidades de triunfo en la Inseminación Artificial a través de un semen que contenga la concentración espermática requerida.

Un análisis seminal completo nos informa sobre las propiedades del semen en su conjunto, tanto de la producción de espermatozoides como de la función de las glándulas sexuales accesorias, es por ello que es necesario realizar un examen riguroso de la muestra seminal y conocer sus características .

Los indicadores o marcadores utilizados para evaluar la calidad del semen (7,8) en el espermograma "clásico, estándar o tradicional" son fundamentalmente los siguientes: conteo de espermatozoides por mililitro (concentración o densidad), conteo total de espermatozoides, movilidad, viabilidad y morfología normal de los espermatozoides; también deben evaluarse otras características físicas del semen como su apariencia, volumen de semen eyaculado, viscosidad o consistencia y pH del semen, así como conteo de células, en especial leucocitos.

Las técnicas y reactivos empleados resultan muy específicos, y son comercializados por países capitalistas y por ello nos resultan prácticamente inaccesibles, y esto nos conduce a buscar soluciones propias, ajustadas a nuestras posibilidades.

Los objetivos que nos proponemos los objetivos siguientes:

- Mejorar la concentración y movilidad espermática mediante la técnica de centrifugación.
- Determinar tiempo y velocidad de centrifugación para potenciar el éxito de la Inseminación Artificial. (9, 10).

MATERIALES Y MÉTODOS.

Este trabajo se realizó en el Hospital Provincial General Docente de Morón "Capitán Roberto Rodríguez Fernández, ubicado en Libertad s/n, provincia Ciego de Avila, se utilizaron un total de 60 pacientes que acudieron a la consulta de infertilidad, con edades comprendidas entre los 25 y 45 años de edad a los que se les indicó la realización de un análisis seminal o espermograma en el Laboratorio Central de dicha institución.

Después de realizar un espermograma previo , se realiza la técnica para separar los espermatozoides del plasma seminal buscando mejorar la concentración espermática y la movilidad de los mismos. Las técnicas más usadas son las siguientes: métodos basados en la movilidad del espermatozoide¹, método de Wiklan(migración)^{3,6}, métodos de filtración (lana de vidrio), filtración en columnas, método de centrifugación por gradientes (gradientes de Percoll).De estas técnicas seleccionamos el método de centrifugación.

Descripción de la Técnica.

Toma de muestra de semen:

Se le orienta al paciente una abstinencia sexual de 3 a 5 d, que nunca debe ser menor de 2 días ni mayor de 7, al acudir al Laboratorio se le entrega un frasco estéril y se procede a la toma de muestra en un local destinado para estos fines contiguo al Laboratorio, se procedió a la recepción de la muestra e inmediatamente se le realizó el espermograma, garantizando que se materialice en las dos primeras horas después del eyaculado.

Técnica operatoria

Se probaron 3 variantes diferentes de la variable velocidad y dos de tiempo para efectuar la operación de centrifugación.

Se repitió nuevamente el espermograma tomando el sedimento resultante, desechando el sobrenadante.

Determinaciones realizadas en el espermograma.

-Determinación de Volumen.

- 1.-Verter el contenido eyaculado en un tubo de centrifuga graduado y medir la cantidad.
- 2.-Sumar al volumen emitido 0,2 mL por el volumen que queda adherido en el frasco.

Valores normales: 2-6 mL

-Determinación de pH

- 1.-Introducir el papel indicador de pH en la muestra contenida en el tubo de centrífuga.
- 2.-Comparar con la escala de colores y determinar el pH.

Valores normales: 7,2-7,8 mL

-Determinación del aspecto

- 1.-Se observa a través del tubo.

Valores Normales:

Normal: Gris opalescente, homogéneo.

Anormal: Pardo, sanguinolento, amarillo con estrías mucosas.

.-Determinación de la consistencia

1.-Con una pipeta de 100 μ L se deja caer el contenido sobre una lámina portaobjeto determinado si cae gota a gota, en forma de filamento o si fluye como el agua.

-Determinación de la movilidad.

1.-Depositar 100 μ L de semen fresco en un a lámina portaobjeto. Poner un cubreobjeto largo.
2.-Tener una visión panorámica de la distribución homogénea del material; observar no menos de 10 campos.

3.-Con una cámara contadora contar 100 espermatozoides.(Se realiza por duplicado).

Clasificación de la movilidad:

Tipo A: Progresión lineal rápida.

Tipo B: Progresión lineal lenta.

Tipo C: No progresión. Se mueve in situ.

Tipo D: Inmóvil.

Valores normales: mayor o igual al 25% tipo A.

Mayor o igual al 50% tipo B.

-Concentración espermática.

1.-Homogenizar la muestra.

- 2.-Tome un tubo de 12x75 mm y agregue 100 μ L de semen + 900 μ L de solución diluyente.
- 3.-Mezclar y montar en cámara de Neubauer, dejar sedimentar 15 minutos.
- 4.-Contar en el mm central de la cámara de Neubauer
- 5.-Cálculo: Los espermatozoides contados se multiplican por 5 y se dividen entre 10, se informa por 10^6 .

Clasificación: 0×10^6 : Azoospermia.

5×10^6 : oligozoospermia severa.

10×10^6 : Oligozoospermia moderada.

$10-20 \times 10^6$: oligozoospermia ligera.

Más de 20×10^6 : Cantidad normal.

Preparación de la solución diluyente:

Tomar 50 g de Bicarbonato de Sodio y diluir con agua destilada hasta completar a 100 mL

-Determinación de aglutinación:

1.-Se observa al ver la movilidad.

2.-Tipos de aglutinación: cabeza-cabeza, cabeza-cola, cola-cola, pieza intermedia-pieza intermedia, pieza intermedia-cola.

Es anormal cuando existe más de 10% de aglutinación.

-Cuento de leucocitos peroxidadas positivos:

1.-En un tubo 12 x75 colocar 1 cc de solución para el conteo de leucocitos con 4 gotas de peróxido de hidrógeno y ahí tomar 0,9 cc y agregar 0,1 cc de semen. Mezclar y esperar 30 min.

1.-Montar en cámara de Neubauer y contar el milímetro central completo.

2.-Cálculo: Leucocitos contados divididos entre 10. Se informa $\times 10^6$.

Procesamiento Estadístico de los datos: Los datos fueron procesados por el Sistema Estadístico SPSS, donde se le aplicaron técnicas paramétricas para determinar la correlación y dependencia entre las variables asumidas, demostrando la relación existente entre las frecuencias establecidas (r.p.m) y los niveles de concentración y movilidad espermática, esto queda plasmado en los histogramas referenciales de frecuencia, distribución y dispersión que aparecen en los anexos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Después de aplicar estudios de correlación a las variables determinadas (concentración y movilidad), se pudo constatar por el análisis de sus medias, su varianza y su frecuencia de correlación, que se acercaron a intervalos de confianza por encima del 60% de sus valores probabilísticos. De la técnica aplicada se demuestran como muestras óptimas las de 1000 rpm a un intervalo de 20 minutos ya que se obtuvieron los mayores índices de concentración y movilidad de los espermatozoides.

CONCLUSIONES.

1.-Mediante la operación de centrifugación se mejora la concentración espermática en todas las variantes estudiadas.

2.-Empleando la velocidad de 800 r.p.m se obtuvieron valores mejorados de la movilidad después de la operación de centrifugación, pero los resultados fueron inferiores a los obtenidos a 1000 rpm.

3.-La operación de centrifugación a 1000 rpm a 20 minutos arrojó los mejores resultados.

4.-La centrifugación a 1200 rpm nos proporcionó mayores concentraciones espermáticas pero se disminuyó la movilidad de los espermatozoides.

5.-El tiempo y velocidad óptimos para obtener un semen mejorado para lograr una inseminación artificial homóloga exitosa es 1000 r.p.m. a 20 minutos.

RECOMENDACIONES.

Continuar profundizando en el tema y estudiar valores intermedios y cercanos a los estudiados.

ABSTRACT

Homologous insemination is indicated in couples with alterations in the natural course of the semen up to the medial third of the fallopian tube or trouble in semen quality that includes hypospermia being necessary to increase the possibility of success doing preliminary operations of preparation of it. Thus 60 patients were examined and markers were used to evaluate semen quality in the spermogram "classical standard or traditional" being mainly the following: total sperm count mobility and normal morphology of spermatozoids. It was also evaluate other physical characteristics of semen as it is appearance ,quality of semen ejaculated, viscosity or consistency and pH as well as cell count specially leucocytes. It was concluded that to prepare the semen and obtain a successful insemination is necessary the concentration of mobile spermatozoids and reduce the seminal plasma content the espermatic sample through centrifugation operation doing it during 20 minutes to 1000 rpm.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.-WHO. WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3 ed. Cambridge: Cambridge University, 1992.
- 2.-Pérez M. Composición y estudio del semen. En: Padrón RS. Temas de reproducción masculina y diferenciación sexual. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1990:36-47.
- 3.-Padrón RS. Métodos de exploración de la patología testicular. En: Alavez E, Guell R, González J. eds. Temas de Endocrinología. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1985;191-207.
- 4.-Ratnam SS, Teon ES, Anandakumar C, eds. WHO Task force on the diagnosis and treatment of infertility. Workshop on the investigation of the subfertile couple. London: Parthenon, 1986.
- 5.-WHO Task Force on the diagnosis and treatment of infertility. Towards more objectivity in the manegement of male infertility. Int J Androl 1987(Suppl 7).
- 6.-OMS. Manual de laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. 2 ed. Buenos Aires: Editora Médica Panamericana, 1989.
- 7.-Padrón RS. Temas de reproducción masculina y diferenciación sexual. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1990:48-63, 64-76, 164-80.
- 8.-Padrón RS, Colunga C. Perfil hormonal en pacientes infértiles como normo, oligo y azoospermia. Rev Cubana Invest Biomed 1984;3:129-34.
- 9.-Padrón RS, Mas J, Paramio A, Arce B. Aplasia germinal. Rev Cubana Med 1981;20:45-52.
- 10.-Padrón RS, Alemán G, Mas J. Resultados del tratamiento de la azoospermia secretoria. Rev Cub Obstet Ginecol 1982;8:192-6.