

Índice acrosómico en hombres jóvenes con mala calidad seminal

Elia Roldán Reyes^{1,2,3} y Claudia Jessica Castillo Villanueva^{1,3}

Citogenética y Mutagénesis (LI-FESZ-350115; L-2 pp.) UMIEZ-CII¹, Investigación y Posgrado², Carrera de Biología³, FES-Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México CdMx, México.

[eliar@unam.mx, 415jessicacv@gmail.com]

Abstract— The acrosomic index indicates the percentage of sperm with normal acrosomes in a semen sample, being considered a reflection of its functional capacity, since the acrosome is involved in the union of sperm with the zona pellucida during fertilization. Therefore, a suitable staining method was established for its evaluation in men with density problems (oligospermia and polyspermia) who were compared with normozoospermic samples. The Acrosomic Index decreased compared to normozoospermic samples and its relationship with density was established, using Pearson's coefficient, obtaining a positive correlation that demonstrated the importance of this parameter in seminal evaluation, due to its importance to reinforce studies that determine the cause of failed fertilization.

Keyword— *Acrosome, normozoospermia, oligospermia, polyspermia, teratozoospermia, sperm density.*

Resumen— El índice acrosómico indica el porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales en una muestra de semen, considerándose un reflejo de su capacidad funcional; ya que el acrosoma está involucrado en la unión del esperma con la zona pelúcida durante la fertilización. Por lo que se buscó establecer un método de tinción para su evaluación en hombres con problemas de densidad (oligospermia y polispermia) que fueron comparadas con muestras normozoospermicas. El Índice Acrosómico disminuyó en comparación con las muestras normozoospermicas y se estableció su relación con la densidad, mediante el coeficiente de Pearson, obteniendo una correlación positiva que demostró la importancia de este valor en la evaluación seminal, por su trascendencia para reforzar estudios que estimen la causa de fecundación fallida.

Palabras claves— *Acrosoma, densidad espermática, normozoospermia, oligospermia, polispermia, teratozoospermia.*

I. INTRODUCCIÓN

La infertilidad se define como la incapacidad de lograr un embarazo espontáneo después de un año de relaciones sexuales sin el uso de métodos anticonceptivos y en el 50% de las ocasiones se le atribuye al factor masculino, consecuencia de una alteración cuantitativa o cualitativa de uno o más parámetros seminales [1]. La densidad y morfología espermática son considerados parámetros determinantes en la evaluación de la calidad seminal pues varios estudios han demostrado que pueden resultar útiles para predecir la tasa de fertilización en programas de fecundación *in vitro* (FIV) ya que el porcentaje adecuado de espermatozoides normoformos está altamente relacionado con la capacidad fecundante *in vivo* y con el desarrollo de los embriones, por lo cual es de gran importancia contar con una buena concentración de espermatozoides morfológicamente normales [2].

Además, los problemas de densidad (oligospermia y polispermia) pueden estar asociados con alteraciones en la morfología de los espermatozoides generando un mal pronóstico del potencial de fertilidad [2], lo que ha generado un mayor interés en la evaluación específica de la morfología acrosómica en hombres con alteraciones en densidad. La densidad espermática se refiere al número de espermatozoides contenidos en un mililitro de semen y una densidad menor o mayor de lo normal puede indicar problemas de fertilidad; por lo tanto, es un parámetro fundamental en el Espermiograma [3]. La oligospermia, afecta a la cantidad de espermatozoides en el eyaculado, encontrándose en menor número

(< 15 millones de espermatozoides por ml) [3]. Disminuyendo la probabilidad de que éstos consigan atravesar todas las barreras, lleguen al óvulo y lo fecunden [2].

Por el contrario, la polispermia se presenta en individuos con una densidad mayor a 200 millones de espermatozoides por ml [3]. Esto se asocia a anomalías cromosómicas, bajo contenido de ATP, función acrosomal alterada y mayor riesgo de pérdida fetal, ya que una concentración tan elevada de espermatozoides en el eyaculado puede tener como consecuencia la fusión de más de un espermatozoide con el ovulo y, generar la formación de husos mitóticos multipolares, ocasionando la segregación defectuosa de los cromosomas durante la división celular; formando células no diploides resultando en muerte embrionaria temprana y aborto espontáneo [4].

Por otro lado, el acrosoma es un orgánulo membranoso de doble capa ubicado en la parte apical de la cabeza espermática, estos tienen una función primordial durante el proceso de fertilización en el sitio de unión del espermatozoide con la zona pelúcida del ovulo, lo que ha sido demostrado mediante algunos estudios de infertilidad que se relacionan con defectos en esta estructura vesicular [5]. Contiene enzimas hidrolíticas, como la hialuronidasa y la acrosina, cuya función es degradar los componentes de la zona pelúcida del óvulo mientras el espermatozoide se hace paso hacia el ovulo para fusionarse con su membrana y fertilizar [5].

El acrosoma es formado mediante un proceso dinámico que implica una estrecha interacción entre el complejo de Golgi y la envoltura nuclear de las espermátidas tempranas. Se han encontrado mutaciones en algunos genes que están directamente relacionados con la formación del acrosoma como *PICK1*, *Spata16*, *DPY19L2E* y *PLCzeta* en humanos; lo que también ocasionan problemas de infertilidad [5].

El índice acrosómico (IA) es el porcentaje de espermatozoides con acrosomas morfológicamente normales presentes en una muestra de semen, que se considera un precedente de la capacidad funcional de los espermatozoides. Su incorporación en el proceso de evaluación morfológica de los espermatozoides es, por lo tanto, una herramienta importante en la predicción del resultado de fertilización, especialmente en casos donde hay alteraciones en el análisis seminal [6].

Con base en los antecedentes mencionados, el objetivo del trabajo es, establecer el método de tinción adecuado para evaluar la morfología del acrosoma, cuantificar el Índice Acrosómico en individuos jóvenes con problemas de densidad espermática (polispermia y oligospermia) y, estimar la relación entre IA y densidad espermática.

II. MATERIAL Y MÉTODO

A. Obtención de las muestras

Las muestras fueron obtenidas de individuos voluntarios en edades comprendidas entre 18 y 30 años que se encontraban clínicamente sanos (contestaron un cuestionario relacionado con su estado de salud general y reproductiva). La muestra se obtuvo por auto masturbación en un contenedor estéril de un solo uso, luego de un periodo de abstinencia sexual de 3 a 5 días como mínimo, para la posterior evaluación de la calidad seminal mediante un espermograma.

B. Evaluación de la calidad seminal

Los espermogramas fueron realizados en el Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis* de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ), en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campo-II, donde se evaluó: color, volumen, pH, viscosidad, densidad, morfología y viabilidad espermática, bajo los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud [2];

con base en los valores de densidad los individuos fueron clasificados como normozoospermicos, oligospermicos o polispermicos.

C. Criterios de inclusión

Si la densidad espermática de los individuos comprendía entre 70 y 100 millones de espermatozoides por ml se agruparon como normozoospermicos los cuales conformaron el grupo control; si la densidad era mayor a 200 millones por ml se consideraban individuos con polispermia y, cuando era menor a 5 millones por ml, se consideró como oligospermia OMS [2]. Se recolectaron 15 muestras seminales de individuos jóvenes normozoospermicos, 13 con polispermia y 7 con oligospermia que, fueron utilizadas para la evaluación del Índice Acrosómico (IA); estas muestras seminales fueron almacenadas en crioviales (-20 °C) para su posterior tinción y evaluación.

III. MÉTODOS DE TINCIÓN

D. Frotis

Para realizar los frotis descritos en los diferentes métodos se tomó en consideración lo siguiente; para muestras seminales con concentraciones mayores a 30 millones de espermatozoides por ml se tomaron 10 microlitros de las muestras previamente descongeladas a temperatura ambiente, para concentraciones menores a 30 millones se tomaron 20 microlitros del líquido seminal.

Se tomo la muestra seminal con una micropipeta y se coloco en el extremo de una laminilla limpia, y con otra laminilla en un ángulo de 30–45° aproximadamente, se deslizó hasta el otro extremo para que el líquido seminal se extendiera sobre todo el portaobjeto. Todos los frotis se dejaron secar por 24 horas a temperatura ambiente (en un lugar seco, libre de polvo), para su posterior proceso de tinción.

E. Eosina

Se toma una alícuota del líquido seminal (según las concentraciones descritas en el apartado D), y se deposita en tubos eppendorff, luego se adicionan 2 gotas de eosina al 1% (V/V), se resuspendió y se dejó reposar 2 minutos para posteriormente realizar los frotis y evaluarlos en el microscopio (Nikon E200, Japón) a 100x en campo claro.

F. Eosina-Nigrosina

Se tomo con una micropipeta la muestra seminal directo de los crioviales y se colocaron en tubos eppendorff, luego se le añadieron 10 microlitros de eosina al 1% (V/V), se resuspendió suavemente, se dejó reposar durante 2 minutos, posteriormente se agregaron 10 microlitros de nigrosina al 1% (V/V), se mezcló nuevamente y se espero 2 minutos para realizar el frotis, se dejó secar a temperatura ambiente y se observó en el microscopio (Nikon E200, Japón) en campo claro a 100x.

G. Esperma-form®

Se utilizo un kit de tinción rápida para la morfología de los espermatozoides (Esperma-form®), que incluía tres frascos, uno con 50 ml de fijador (F), otro con colorante A y un tercero con colorante B. Los reactivos se vertieron en vasos coplin, asegurándose de que el nivel del líquido cubriera el área que sería fijada y teñida. Primero se realizó el frotis de la muestra seminal, dejándolo secar por 24 horas a temperatura ambiente, posteriormente se introdujo en el fijador por 3 minutos, se dejó secar 15 minutos y, una vez seco se colocó en el colorante A por 3 minutos este se enjuago con agua destilada y se dejó secar por otros 15 minutos, posteriormente el frotis fue teñido con el colorante B por 5 minutos, se enjuago con agua destilada, se dejo secar a temperatura ambiente y se observó en el microscopio (Nikon E200, Japón) en campo claro a 100x, para la evaluación del IA.

IV. CRITERIOS DE EVALUACIÓN DEL ACROSOMA

Se contaron 200 espermatozoides por duplicado, en cada individuo, cuantificando los acrosomas morfológicamente normales y anormales para posteriormente calcular el IA.

Se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

Acrosoma normal:

Para clasificar al acrosoma como normal se utiliza el mismo criterio para una cabeza de espermatozoide, es decir, que sea claramente visible y bien definido con una configuración ovalada lisa y que comprenda del 40% al 70% de la cabeza del espermatozoide, es decir que tenga un tamaño aproximado entre 2 y 5.6 micras, tomando en cuenta que la cabeza tiene un tamaño que oscila entre 5 y 8 micras con una forma ovalada.

Defectos de tinción:

Se considero defecto de tinción cuando la unión ecuatorial entre el acrosoma y el núcleo no era una línea clara regular y a la presencia de tres o más vacuolas, las vacuolas espermáticas pueden hacerse presentes en el núcleo o el acrosoma y al ocupar la mayor parte del volumen celular dificultan la evaluación del acrosoma.

Demasiado pequeño:

Se considera demasiado pequeño en los casos donde el acrosoma cubra menos del 40% (> 2 micras) de la parte anterior de una cabeza normal.

Demasiado grande:

En los casos en que el acrosoma cubra más de 70% (< 5.6 micras) de la cabeza del espermatozoide.

Amorfo:

Los acrosomas cuya estructura difiere de una configuración ovalada lisa, se clasificaron como amorfos.

Se calculó el índice acrosómico (IA) utilizando la siguiente fórmula [11]:

$$IA = \frac{\text{Espermatozoides con acrosomas normales}}{\text{Número total de espermatozoides evaluados}} \times 100 \quad (1)$$

V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron expresados como media \pm desviación estándar. Se realizó una prueba de Z para proporciones para evaluar diferencias significativas entre el índice acrosómico de las muestras con oligospermia y polispermia con respecto a las del grupo control, de igual manera se realizó una prueba de *t* de Student para evidenciar diferencias significativas de las medias obtenidas de los grupos ya mencionados con respecto al grupo control. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (*r*) para determinar el grado de correlación entre IA y mala calidad seminal. El nivel de significancia aceptado fue de $p < 0.05$.

VI. RESULTADOS

La tinción con Eosina al 1% (Fig. 1) coloreo la cabeza de los espermatozoides en un tono rosado, específicamente el núcleo obtuvo un color rosa fuerte y el acrosoma un color rosa más claro y se observó un muy ligero contraste entre el núcleo y el acrosoma sin embargo la línea ecuatorial entre estas estructuras no se veía bien delimitada y los flagelos no se tiñeron.

La tinción con Eosina-Nigrosina (Fig. 2) coloreo el interior de los espermatozoides de un color rosado y su contorno de un tono azul oscuro, a diferencia de la tinción con eosina al 1% aquí si se logró visualizar los flagelos proporcionando una mejor imagen de los espermatozoides y los acrosomas se tiñeron en un color entre rosado y morado oscuro llegándose a confundir con el núcleo espermático.

La tinción realizada con el kit Esperma-form® (Fig. 3) tiñó las regiones del espermatozoide de la siguiente manera: el núcleo de un color morado oscuro, el acrosoma morado claro y la pieza media y el flagelo se tiñeron en tonos verde y azul. El contraste entre las diferentes estructuras del espermatozoide, en especial el núcleo y el acrosoma fueron lo suficientemente claros para permitir la evaluación del acrosoma. Las tinciones ya mencionadas se muestran en las figuras 1, 2 y 3; se estableció que la tinción adecuada para llevar a cabo la evaluación de los IA es la tinción con Esperma-form®.

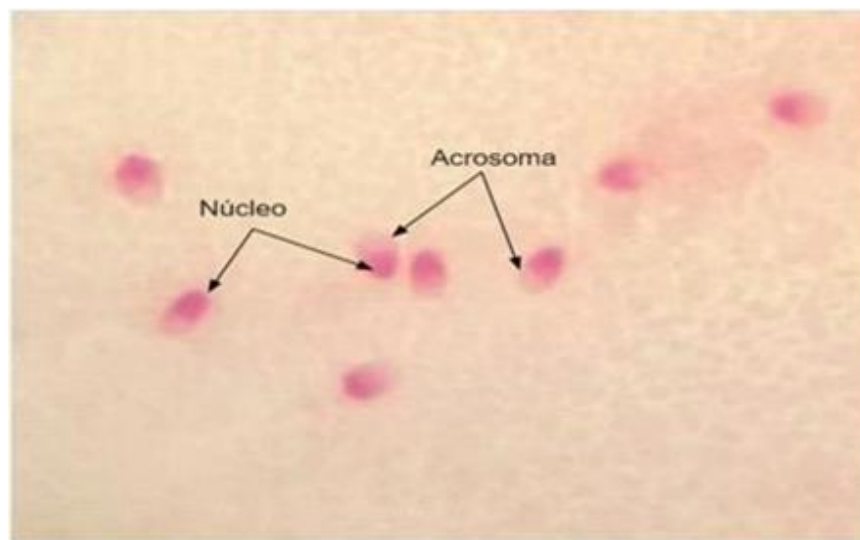


Fig. 1. Espermatozoides teñidos con Eosina, 100X campo claro, *Citogenética y Mutagénesis* UMIEZ CII, FESZ-UNAM.

Fig. 2. Espermatozoides teñidos con Eosina-Nigrosina. A) con acrosomas morfológicamente normales. B) con tres flagelos y acrosoma morfológicamente pequeño. C) sin acrosoma. D) con defecto de tinción, 100X campo claro, Citogenética y Mutagénesis UMIEZ C-II, FESZ-UNAM

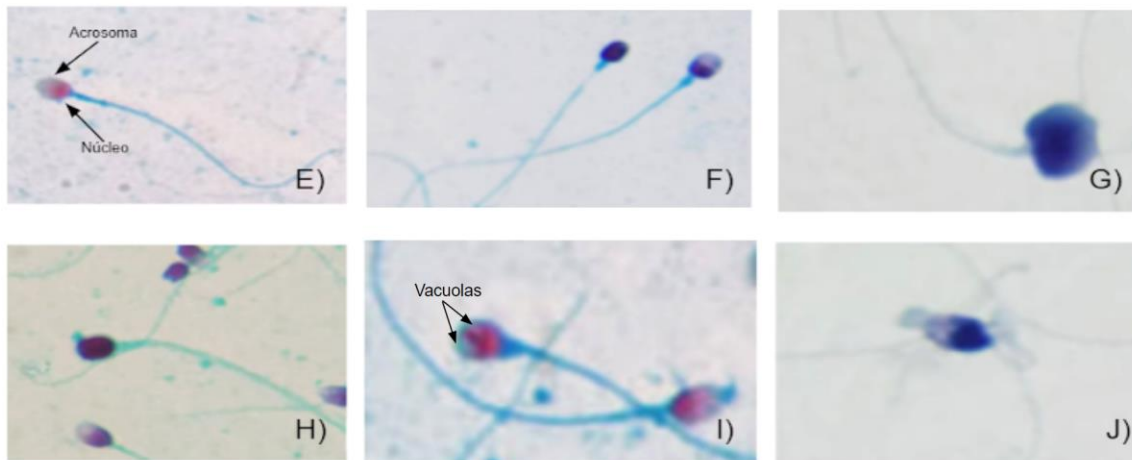


Fig. 3. Espermatozoides teñidos con Esperma-forma®. E) con acrosoma morfológicamente normal. F) con acrosoma ausente y acrosoma normal. G) con acrosoma morfológicamente pequeño. H) acrosoma ausente y acrosoma normal. I) defecto en tinción y J) con acrosoma amorfo. 100X campo claro, Citogenética y Mutagénesis UMIEZ CII, FESZ-UNAM.

Los resultados obtenidos de los IA del grupo con oligospermia y polispermia para probar si existían diferencias atribuibles a la densidad espermática con respecto a las muestras normozoospermicas se muestran en la Tabla 1 como media ± desviación estándar.

Se observó disminución significativa ($p < 0.05$), del IA para los grupos que presentan problemas en densidad (polispermia $X = 67.13 \pm 4.78^{\Psi}$, oligospermia $X = 55.46 \pm 9.52^{\Psi}$) con respecto al grupo control (normozoospermia $X = 77.65 \pm 7.22$). De igual manera, la prueba de t de Student* mostró modificaciones significativas en las medias de los grupos con problemas de densidad con respecto al grupo control, lo cual muestra que el IA, se ve afectado por las alteraciones que se presentan en la densidad espermática (Tabla I).

Tabla I. Índice acrosómico de hombres jóvenes con problemas de densidad.

NORMOZOOSPERMIA			POLISPERMIA			OLIGOSPERMIA		
Muestra (código)	Densidad ($\times 10^6$ cel/ml)	IA (%)	Muestra (código)	Densidad ($\times 10^6$ cel/ml)	IA (%)	Muestra (código)	Densidad ($\times 10^6$ cel/ml)	IA (%)
NL-332	71.15	73.00	NN-321	395.00	58.00	NN-019	0.90	51.00
NL-328	95.50	81.00	NN-140	212.00	71.75	NN-030	2.40	49.00
NL-329	96.25	74.00	NN-123	208.80	67.50	NN-324	1.45	52.00
NL-330	98.50	71.75	NN-300	414.00	62.00	NN-067	3.85	41.50
NL-331	79.25	76.25	NN-247	286.76	66.75	NN-044	4.60	64.75
NL-319	73.25	78.75	NN-298	329.00	74.25	NN-338	5.75	63.00
NL-315	70.75	78.00	NN-240	450.50	71.25	NN-342	3.50	67.00
NL-316	97.75	71.00	NN-018	225.75	63.00	-	-	-
NL-313	87.25	85.25	NN-211	246.50	68.25	-	-	-
NL-333	93.75	84.00	NN-216	221.50	66.00	-	-	-
NL-325	100.25	90.25	NN-261	262.20	64.75	-	-	-
NL-320	99.25	72.25	NN-013	322.25	65.25	-	-	-
NL-317	73.50	87.25	NN-341	350.00	74.00	-	-	-
NL-334	94.70	62.75	-	-	-	-	-	-
NL-335	93.50	79.25	-	-	-	-	-	-
X=88.3±10.95		X=77.65±7.22	X=301.86±8.7 ^Ψ		X=67.13±4.78 [♦]	X=3.2±1.6 ^Ψ		X=55.46±9.52 [♦]
		r=0.01			r=0.38*			r=0.52*
		N=15			N=13			N=7

NL Donadores NormaLes; NN no estándares; cel células; Z para proporciones^Ψ, t de Student*, (r) Correlación de Pearson*, ^{Ψ♦}p < 0.05 (X=media ± desviación estándar).

La Correlación de Pearson* mostró una relación positiva entre IA y la mala calidad seminal de los individuos con polispermia y oligospermia (Tabla II) reforzando la importancia de la evaluación del IA en hombres con alteraciones seminales como la densidad.

Tabla II. Análisis de correlación entre la densidad espermática e IA

Densidad	r	Correlación	Magnitud
Normozoospermia	0.01	Positiva	Débil
Oligospermia	0.52*	Positiva	Moderada
Polispermia	0.38*	Positiva	Moderada

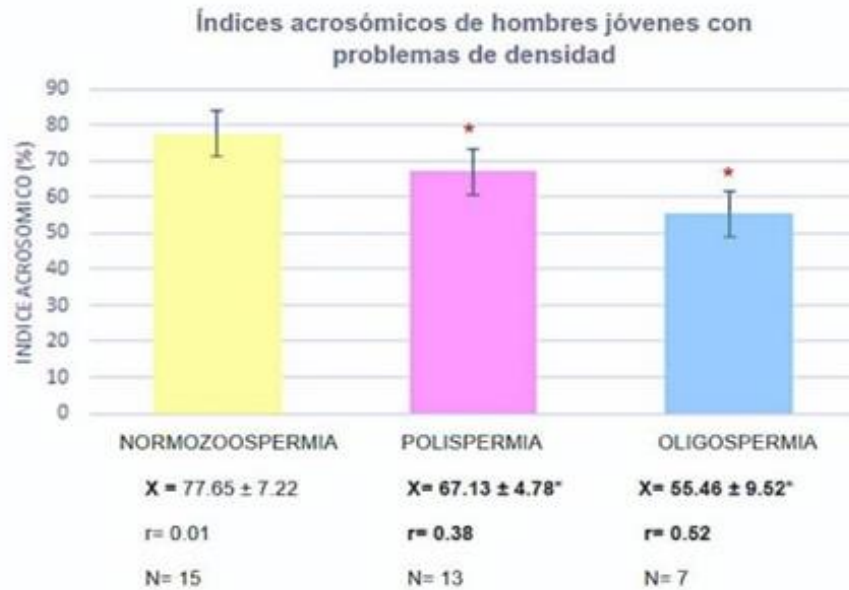


Fig. 4. Índice Acrosómico de individuo normozoospermicos, polispermicos y oligospermicos de Student y Correlación de Pearson, (X ± desviación estándar), *p < 0.05.

VII. DISCUSIÓN

La tinción realizada con eosina no permitió la visualización de los flagelos, lo cual dificultó la evaluación morfológica del espermatozoide completo, por lo que se consideró una tinción inadecuada para alcanzar los objetivos (Fig. 1). La tinción eosina-nigrosina proporcionó una mejor visualización morfológica de los espermatozoides, sin embargo, en ocasiones el contraste entre el acrosoma y el núcleo no era claro, lo que podía conducir a errores, al momento de evaluar el IA (Fig. 2). La tinción Esperma-form®, tiñó de forma clara la zona ecuatorial de la cabeza del espermatozoide, lo que facilitó la observación y análisis morfológico del acrosoma, y contraste pieza media y flajelo, por lo que fue la tinción que se utilizó para la evaluación de los índices acrosómicos (Fig. 3).

Por otro lado se observó que las muestras con polispermia presentaban en su mayoría acrosomas alargados que ocupaban más del 70% (> 5.6 micras) de espacio de la cabeza del espermatozoide, De la Paz *et al.* [7] demostraron que la presencia de espermatozoides con acrosomas alargados se asocian con infertilidad e incluso se obtienen pobres resultados cuando tales espermatozoides son utilizados en procedimientos de fertilización *in vitro*; en otro estudio realizado por Dirican *et al.* [8] se reportó que la deficiencia del gen *AURKC* genero infertilidad debido a la producción de espermatozoides con cabeza grande que poseían acrosomas muy alargados, condición a la que también se le denomina globozoospermia. *AURKC* es un gen ubicado en el cromosoma 19 que codifica para una proteína

llamada aurora quinasa C, abundante en el testículo, donde se regula la producción de espermatozoides, asegurando que cada uno de ellos contenga una copia de cada cromosoma [9]. Los acrosomas alargados descritos en las muestras seminales de individuos con polispermia y la correlación positiva entre el IA y la densidad espermática son una evidencia de un problema potencial de fertilidad, asociados a factores genéticos.

Koscinski *et al.* [10] analizaron tres individuos con globozoospermia, se encontró que portaban una mutación homocigótica de *SPATA16* y por consecuencia IA menores al 10%, debido a que la expresión testicular de *SPATA16* es necesaria para la formación del acrosoma, por lo que genera malformaciones del acrosoma, donde en la mayoría de los casos graves, está ausente [11]. Radu *et al.* [12] realizaron otro estudio en cinco individuos con globozoospermia, cuatro de estos individuos tenían una delección homocigótica de 200 kb en el cromosoma 12 que abarca al gen *DPY19L2* que codifica para una proteína que participa en la biogénesis del acrosoma; por lo que se asocia con defectos en esta estructura [13].

Por otra parte, en las muestras con oligospermia se observó numerosos espermatozoides con cabezas pequeñas y redondas que usualmente presentan acrosomas muy pequeños (< 2 micras) o ausentes, lo cual se asocia con su incapacidad para penetrar la zona pelúcida del ovocito debido a la ausencia de acrosina [6]. Los individuos con oligospermia presentaron los IA más bajos evidenciado por acrosomas pequeños o ausentes, alteraciones graves que tendrán por consecuencia la falta de reacción acrosómica y por ende la imposibilidad de lograr que las enzimas acrosómicas degraden los componentes de la zona pelúcida y puedan fecundar al ovulo. Aunque la muestra analizada en el presente trabajo, es pequeña, los resultados indican que el IA no solo se ve alterado en individuos con alteraciones morfológicas o teratozoospermia, también está influenciado por una alteraciones en la densidad, ocasionada posiblemente por causas ambientales, infecciosas, o genéticas.

También es importante mencionar que una parte de los individuos que presentaban alteraciones en la densidad tenían como hábito el consumo de tabaco y bebidas alcohólicas; se ha reportado que estos factores asociados con el estilo de vida afectan la calidad fecundante [14]. Algunos investigadores como Martini en 2004 [15] han mostrado que el consumo de tabaco tiene efectos adversos sobre la densidad y morfología de los espermatozoides. Se ha reportado en estudios elaborados por Makar *et al.* [16] que del total de las alteraciones que se presentan en la calidad seminal, la Teratozoospermia es la más frecuente representando el 92% de los pacientes, seguida por la oligozoospermia que representa al 34% de la población afectada. Cabe mencionar que en el 33% se manifiestan dos o más alteraciones, y de este porcentaje, el 10% de los casos presentan oligoteratozoospermia, donde se ve alterada la densidad y morfología.

Además, se ha reportado que a partir de los 30 años se evidencia el deterioro gradual de los valores seminales, disminuyendo la calidad fecundante del varón. Sin embargo, en este trabajo los hombres diagnosticados con oligospermia/polispermia fueron hombres jóvenes, en los que se observó un claro descenso en el IA posiblemente esto debido a que, en la actualidad, el estilo de vida, el medio ambiente contaminado, son factores que han influido en la capacidad fecundante. El trabajo de Rubes *et al.* [17] muestra cómo en una población joven de varones (18 años), con hábitos de fumar, se ve afectada su calidad seminal (densidad y morfología principalmente), así como la presencia de una tasa mayor de aneuploidías en espermias, en comparación con un grupo control de la misma edad.

Los índices acrosómicos estimados en el presente estudio, mostraron una disminución significativa con respecto al control, sin embargo, estos no son lo suficientemente bajos, como para que los individuos participantes, presenten infertilidad. En contraste con los estudios realizados por Menkveld [6], donde reportan que el *índice acrosómico* necesario para poder lograr un embarazo es del 5%. No obstante, es importante su evaluación en individuos con problemas de densidad, ya que no solo es trascendental contar con una concentración adecuada de espermatozoides que sean morfológicamente

normales para poder ser considerados como individuos fértiles. Por lo tanto, el índice acrosómico es una herramienta importante en la predicción del resultado de fertilidad.

VIII. CONCLUSIONES

Se logro evaluar el Índice Acrosómico en hombres con problemas de densidad mediante la técnica de tinción Esperma-form®, debido a que fue la que proporciono una mejor imagen del acrosoma, y del espermatozoide completo. El Índice Acrosómico en hombres con oligospermia y polispermia, disminuyó significativamente en comparación con el grupo control, lo cual muestra su importancia en los análisis de calidad seminal. Se establecio la relación, (correlación positiva) entre el Índice Acrosómico y la densidad espermática, principalmente para la condisión de oligospermia ($r = 0.52$). Con base en los resultados, se recomienda cuantificar el Índice Acrosómico en estudios de fertilidad.

RECONOCIMIENTOS

Agradecemos a PAPIIT-UNAM Clave IN221919-3,
el financiamiento otorgado al presente trabajo.

y

La Beca-Titulación para
Claudia Jessica Catillo Villanueva,
Folio 329220.

REFERENCIAS

- [1] Rosas Rafaela. (2007). Infertilidad Masculina. *Offarm*. 26(7): p.70-75. Recuperado el 04 de octubre de 2020, de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13108305><https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13108305>.
- [2] Callul B., Gonzales C., Cancino P., Zúñiga P. (2017). Alteración de los parámetros seminales y su asociación con la fragmentación del ADN espermático. *Instituto de Ciencias en reproducción Humana*. León, Guanajuato, México. 85(6): p.409-420.
- [3] World Health Organization. WHO (2010). *Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and the Interaction between Semen and Cervical Mucus*, 4th ed. Panamerican Medical Publishing House. Madrid (España), p. 73-75.
- [4] Gardner, A.J. y Evans, J.P. (2006). Mammalian membrane block to polispermia: new insights into how mammalian eggs prevent fertilization by multiple sperm. *Reproduction, Fertility and Development*. 18(3): p. 53-61. Recuperado el 03 de noviembre de 2021, de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16478602/>.
- [5] Ramalho-Santos J, Schatten G, Moreno RD. (2001). Control of membrane fusion during spermiogenesis and the acrosome reaction. *Biology of Reproduction*. 67(5):p.1043-1051. Recuperado el 04 de noviembre de 2021, de: <https://academic.oup.com/biolreprod/article/67/4/1043/2683272>.

- [6] Menkveld R. (2010). Importancia clínica del bajo valor normal de la morfología espermática según lo propuesto en la quinta edición del Manual de Laboratorio de la OMS para el Examen y Procesamiento de Semen Humano. *Revista asiática de andrología*. 12(1):p.63-65. Recuperado el 11 de septiembre de 2020, de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3739680/>.
- [7] De la Paz T., López Pérez I., García Gutiérrez R., Pérez Pérez de Prado N., Menéndez Hernández E.M. y Sánchez Freire. (2016). Identificación de subpoblaciones, según la morfometría de la cabeza espermática, en hombres con Espermiograma normal. *Medicentro Electrónica*. 20(4): 278-277. Recuperada el 21 de octubre de 2021, de: <http://scielo.sld.cu/pdf/mdc/v20n4/mdc05416.pdf>.
- [8] Dirican E.K., Isik A., Vicdan K., Sozen E. y Suludere Z. (2008). Embarazos clínicos y nacimientos vivos logrados por inyección intracitoplasmática de espermatozoides acrosómicos sin cabeza redonda con y sin activación de ovocitos en globozoospermia familiar: reporte de caso. *Revista asiática de andrología*. 10(2): 231-237. Recuperado el 17 de septiembre de 2021, de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-7262.2008.00248.x>
- [9] Dietrich, M. A., Dietrich, G. J., Mostek, A. y Ciereszko, A. (2007). Motility of carp spermatozoa is associated with profound changes in the sperm proteome. *Journal of Proteomics*. 138(21):124-135. Recuperado el 29 de septiembre de 2021, de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26926441/>
- [10] Koscinski I, ElInati E, Fossard C, Redin C, Muller J. y Velez de la Calle J. (2011). Deleción de DPY19L2 como causa principal de globozoospermia. *The American Journal of Human Genetics*. 88(3): p.344-350. Recuperado el 02 de septiemrbe del 2021, de: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii>.
- [11] Menkveld, R., Rhemrev, J. P., Franken, D. R., Vermeiden, J. P., y Kruger, T. F. (1996). Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis: relation with acrosina activity, morphology (strict criteria), and fertilization in vitro. *Fertility and sterility*. 65(3): p.637-644. Recuperado el 04 de noviembre de 2020, de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8774300/>
- [12] Radu H, Zouari R, Pierre V, Ben Khelifa M, Kharouf M y Coutton C. (2011). A recurrent deletion of DPY19L2 causes infertility in man by blocking sperm head elongation and acrosome formation. *Am J Hum Genet*. 88(3): p.351-361. Recuperado el 04 noviembre de 2021, de: <https://europepmc.org/article/med/21397064#free-full-text>
- [13] Coutton C, Abada F, Karaouzene T, Sanlaville D, Satre V y Lunardi J. (2013). Fine characterization of a recombination hotspot at the DPY19L2 locus and resolution of the paradoxical excess of duplications over deletions in the general population. *PLoS Genet*.. 9(3): p.16-29. Recuperado el 05 de noviembre del 2021, de: <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1003363>
- [14] Tapia, SR. (2012). Una visión actual de la infertilidad masculina. *Rev Mex Reprod*. 4(3): p.103-109. Recuperado el 01 de noviembre de 2020, de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/reproduccion/mr-2012/mr123b.pdf>
- [15] Martini AC. (2004). Effects of alcohol and cigarette consumption on human seminal quality. *Fertil Steril*. 82(2): p.374-377. Recuperado el 13 de septiembre de 2021, de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15302286/>
- [16] Makar, S. y Toth, TL. (2002). The evaluation of Infertility. *Am J Clin Pathol*. 34(3): p.95-103. Recuperado el 04 de noviembre de 2021, de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14569805/>
- [17] Rubes, J., Lowe, X., Moore, D., Perreault, S., Slott, V. (1998). Smoking cigarettes is associated with increased sperm disomy in teenage men. *Fertility and Sterility*.; 70(4):715-723. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9797104/G>.