

The background is a deep blue gradient. At the top, there is a stylized, glowing blue cross-section of a testis. Numerous sperm cells are depicted throughout the image. Some are in the foreground, appearing larger and more detailed, while others are smaller and further away. The sperm cells have a yellowish, oval head and a long, thin, wavy tail. The overall aesthetic is scientific and medical.

MORFOLOGIA ESPERMATICA

Lic. Rosa Miranda Padilla.
Bioanalista Clínico
NICARAGUA

MORFOLOGIA ESPERMATICA

El valor de la evaluación de la morfología espermática, no sólo está limitado al valor pronóstico de los embarazos espontáneos o los resultados de las TRA, sino también nos brinda un diagnóstico e información sobre el estado funcional de los órganos reproductores masculinos, principalmente de los testículos e epidídimos.

Para la evaluación de los órganos reproductores masculinos no basta determinar la proporción de espermatozoides normales, es importante determinar la morfología específica de la cabeza, cuello/pieza intermedia, cola y la presencia de exceso de residuo citoplasmático.



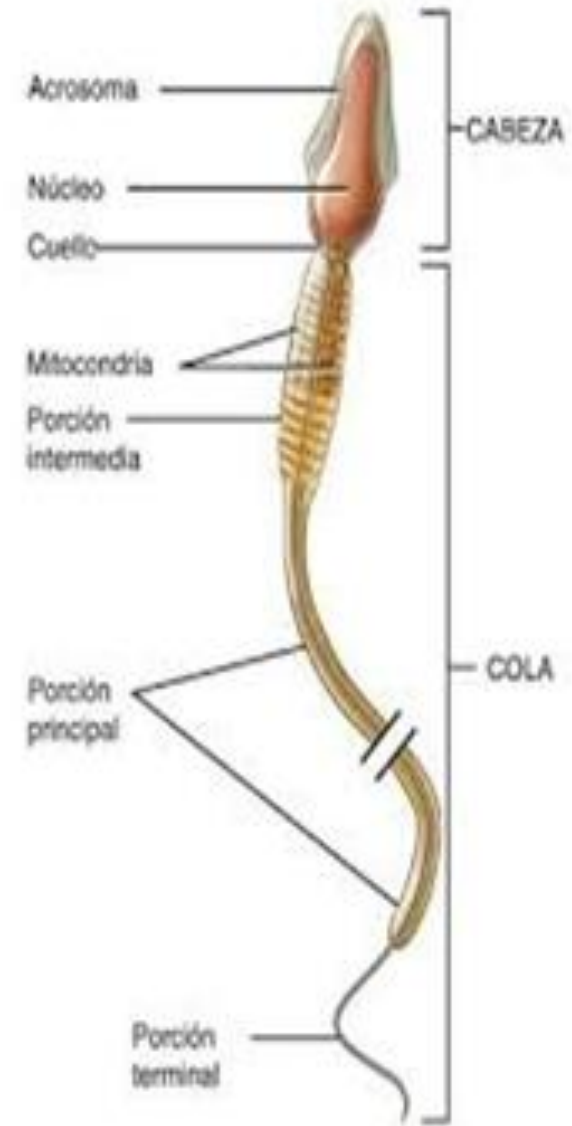
Foto cortesía de CNICREA 2024

Los criterios presentados en el 6to manual de la OMS, fueron desarrollados a partir de investigaciones de la morfología de espermatozoides capaces de poder penetrar el moco cervical y con la capacidad de poder unirse a la zona pelúcida.

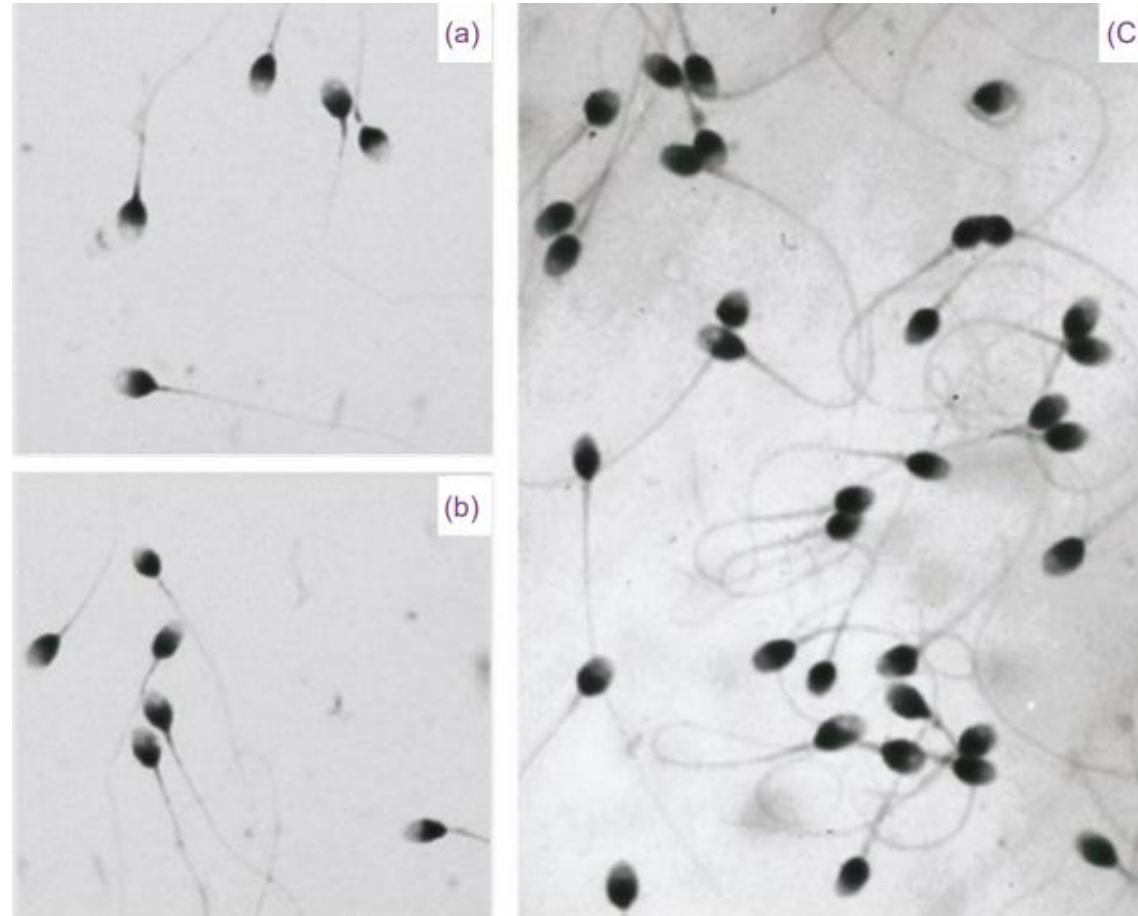
La clasificación recomendada para el espermatozoide, según la OMS: **Ideal y Anormal**.

✓ **IDEAL**: Típico para el espermatozoides de poder llegar al sitio de la fertilización.

✓ **ANORMAL**: Reconocimiento de anomalías en cualquier parte del espermatozoide.



(a, b) Espermatozoides teñidos con Shorr recuperados de la zona pelúcida in vitro. (c) Espermatozoides teñidos con Papanicolaou recuperados del moco endocervical después del coito. Se observan muy pocos defectos en la cabeza del espermatozoide, pieza intermedia o pieza principal. Las colas pueden ser curvas pero no muy anguladas. (a, b)



Reproducido de Liu et al. (2003) con permiso de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología.

(c) Reproducido de Menkveld & Kruger (1990) con permiso.

Medidas de un Espermatozoide

Cabeza: Ovalada

Largo: 4-5 μm

Ancho: 2.5-3.5 μm

Región Acrosomal
40-70%.

Pieza media: < 1 μm

La cabeza esta unida de forma axial

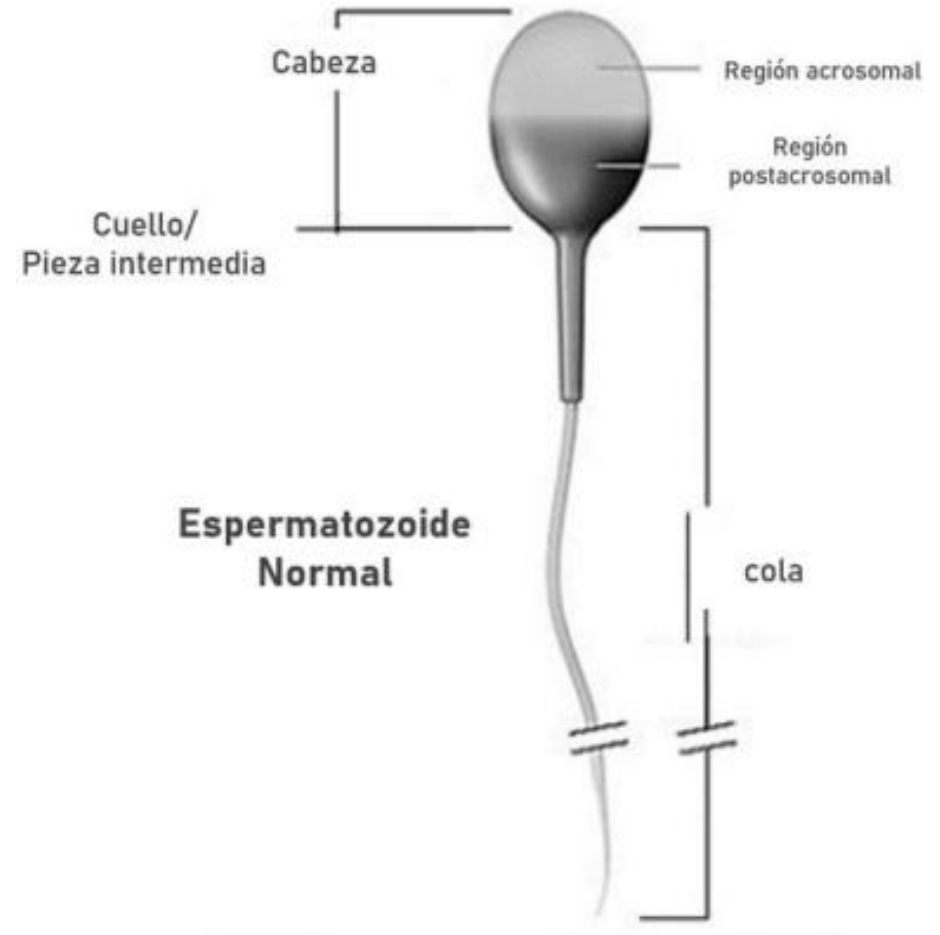
Gotas citoplasmática < 1/3 cabeza

Cola: Derecha

Uniforme

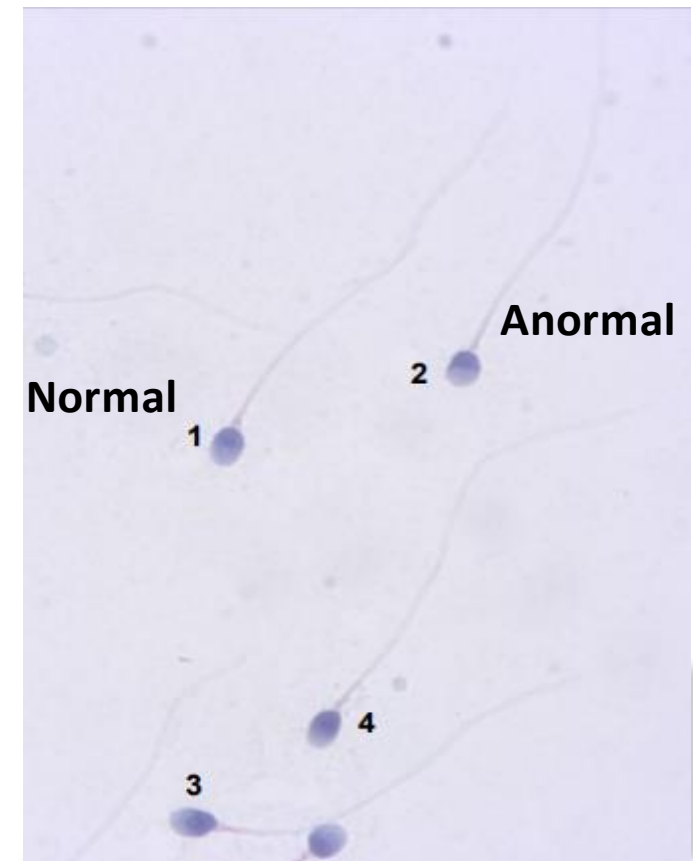
Mas delgada que pieza media

Mide 45 μm aproximadamente.



Se han establecido relaciones entre el porcentaje de formas “normales” y varios puntos finales de fertilidad (tiempo hasta el embarazo, tasas de embarazo in vivo e in vitro), que puede ser útil para el pronóstico de la fertilidad.

Es probable que el rango de porcentaje de formas normales para hombres fértiles e infértiles esté muy por debajo del 30%. Esto producirá inevitablemente umbrales bajos que discriminen entre poblaciones fértiles e infértiles; de hecho, se han encontrado límites de referencia y umbrales de 3–5% de formas normales en estudios de fertilización in vitro (FIV), inseminación intrauterina (IIU) y fertilidad in vivo.



Semen parameter	WHO 1980	WHO 1987	WHO 1992	WHO 1999	WHO 2010 ¹	WHO 2021
Volume (mL)	ND	≥2	≥2	≥2	1.5	1.4
Sperm concentration (x10 ⁶ /mL)	20-200	≥20	≥20	≥20	15	16
Total sperm number (x10 ⁶)	ND	≥40	≥40	≥40	39	39
Total motility (%)	≥60	≥50	≥50	≥50	40	42
Progressive motility (%) ²	≥2 ³	≥25	≥25 (grade a)	≥25 (grade a)	32 (a+b)	30
Vitality (%)	ND	≥50	≥75	≥75	58	54
Normal morphology (%)	80.5	≥50	≥30	(14)	4	4

Table 1: Cut-off reference values for semen characteristics as published in consecutive WHO manuals.

Table 2. Comparison of fifth World Health Organization (WHO) manual for normal morphology values with recently published literature values.

Author	Population ¹	Cut-off value				
		Fertile	Subfertile	Infertile	TZI	AI
Van Zyl <i>et al.</i> [23, 29, 31]	<i>In vivo</i> pregnancies	20	10	3		
Kruger <i>et al.</i> [32, 33]	IVF fertilization rates					
Initial published intervals		≥ 15	14–4	≤ 3		
Intervals as used in practice		≥ 15	14–5	≤ 4		
Eggert-Kruse <i>et al.</i> [34]	<i>In vivo</i> pregnancies	14	7	4		
Ombelet <i>et al.</i> [35]						
Tenth percentile	Fertile population	10				
ROC curve analysis	Fertile vs. subfertile	5				
Zinaman <i>et al.</i> [36]	Healthy couples	8				
Günlalp <i>et al.</i> [38]	Fertile vs. subfertile	12	5 ²			
Menkveld <i>et al.</i> [37]						
ROC curve analysis	Fertile vs. subfertile	4			1.64	8
Adjusted	Fertile vs. subfertile	3			2.09	3
Tenth (upper) percentile	Fertile population	2			1.82	5
Guzick <i>et al.</i> [39]	Fertile vs. subfertile	> 12	9–12	< 9		
Haugen <i>et al.</i> [40]						
Tenth percentile	Fertile population	4				
Fifth percentile		3			1.72	
Fifth WHO manual [1]						
Fifth percentile	Recent fathers	4				

Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen

Roelof Menkveld

Andrology Laboratory, Department of Obstetrics and Gynaecology, Tygerberg Academic Hospital and University of Stellenbosch, Tygerberg 7505, South Africa

Relevancia clínica de la morfología

Las formas normales, la movilidad y el índice de Teratozoospermia son útiles para estimar el potencial fértil in vivo de los pacientes (Menkveld et al. 2001)

Estos tres parámetros están relacionados con la espermatogénesis y algunas alteraciones pueden tener un origen genético (De Braekeleer et al. 2015)

PREPARACIÓN DEL FROTIS DEL EYACULADO

Para el análisis morfológico, se preparan frotis del eyaculado y se secan al aire antes de la fijación y coloración. Sin embargo, tales procesos pueden llevar a producir artefactos morfológicos, ya que el secado al aire de los frotis están asociados con:

1. Cambios en las dimensiones de los espermatozoides: los espermatozoides secos, fijados y teñidos son mas pequeños que los espermatozoides vivos visualizados en el semen.
2. Expansión de la cabeza de los espermatozoides inmaduros.
3. Pérdida de la gota citoplasmática osmóticamente sensitiva, aunque grandes cantidades de exceso residual citoplasmática son retenidos.

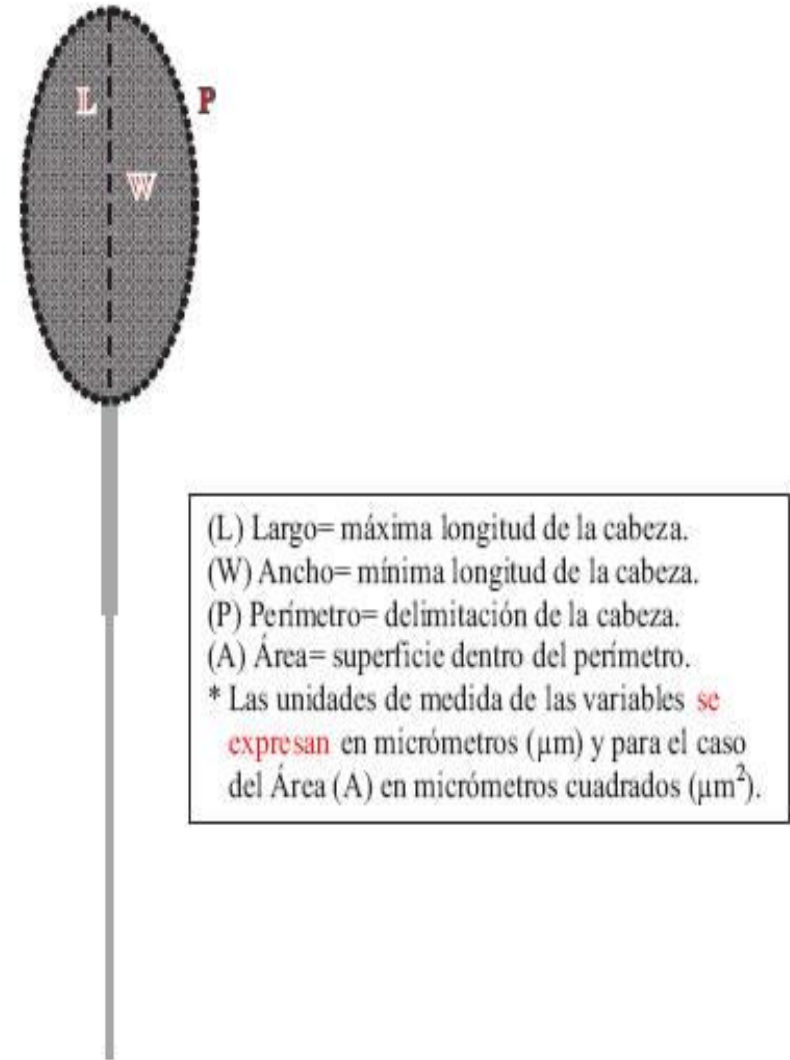


FIGURA 1. PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS EVALUADOS / MORPHOMETRIC PARAMETERS EXAMINED.

FROTIS DEL EYACULADO

Debe realizarse 2 o más frotis de la muestra de semen fresca en el caso que haya problemas con la tinción o si se rompe el portaobjeto.

1. Mezclar bien la muestra de semen.
2. Remover una alícuota inmediatamente, sin dejar tiempo que los espermatozoides se asienten en la suspensión.
3. Vuelva a mezclar nuevamente la muestra antes de retirar la segunda alícuota para la réplica (el segundo frotis es utilizado como una reserva en el caso de que exista problemas en la tinción con la primera lámina).

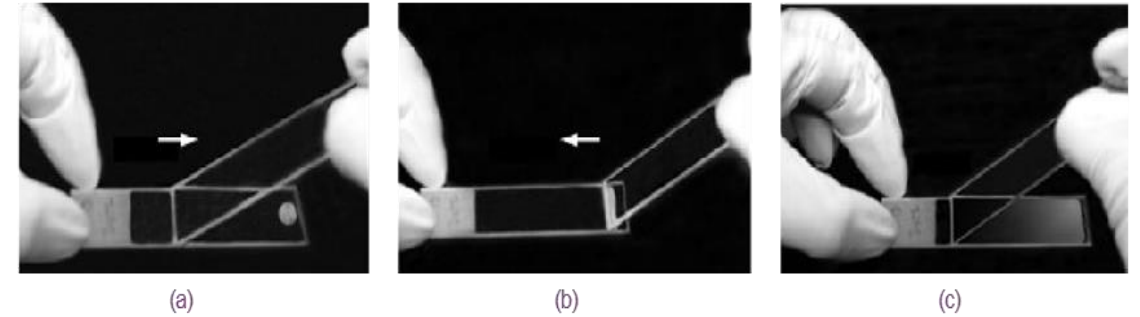


Técnica de conteo morfológico de espermatozoides

Los portaobjetos deben ser limpiados minuciosamente, lavados en etanol al 70% y secados y colocar luego sobre ellos una pequeña gota de semen (5-10 μ l). Si la concentración de espermatozoides es mayor a 20 x10.6/mL, se pueden utilizar 5 μ l de semen; si la concentración es menor a 20 x 10.6/mL, se deben utilizar 10 μ l de semen.

a) Método de arrastre para semen sin diluir.

b) Método para muestra lavadas: una gota de suspensión se distribuye sobre la superficie del portaobjeto con una pipeta mantenida horizontalmente.



Photographs courtesy of C. Brazil.

EYACULADOS CON CARACTERISTICA ANORMALES

Bajas concentraciones ($<2 \times 10^6/\text{ml}$): Concentrar la muestra.

- a. Centrifugar a $600g \times 10 \text{ min}$.
- b. Eliminar la mayor parte del sobrenadante.
- c. Resuspender el pellet con el resto de sobrenadante mediante un pipeteo suave.
- d. Obtener la mayor concentración de espermatozoides posibles que no exceda los $50 \times 10^6/\text{ml}$.
- e. Tratar como si fuera una muestra normal.

Reportar en el informe que se ha centrifugado para poder realizar el frotis, dado que esta manipulación puede afectar la morfología espermática.

EYACULADOS CON CARACTERÍSTICAS ANORMALES

Eyaculados viscosos:

A veces es difícil preparar los frotis porque el plasma seminal es viscoso, dando lugar un frotis con grosor desigual. En este tipo de muestras podemos hacer lo siguiente:

- Diluirla con PBS seguido de repetidos pipeteos suaves.
- La muestra puede pasar por agujas punta roma número 18
- Se puede usar la bromelaína.

Reportar en el informe que se ha diluido o usado algún método para poder realizar el frotis, dado que esta manipulación puede afectar la morfología espermática.

FIJACIÓN Y COLORACIÓN

Una vez que el frotis se ha secado al aire libre, debe fijarse y colorearse para resaltar las características del espermatozoide:

Se recomienda el uso del Papanicolaou ya que el criterio estricto de Tygerberg se realizó utilizando este tipo de tinción. El uso de otro tipo de coloración debe validarse comparándola con Papanicolaou.

Cabeza: se tiñe de azul pálido en la región acrosomal y azul oscuro en la región post acrosomal.

Pieza media: se tiñe de color rojo

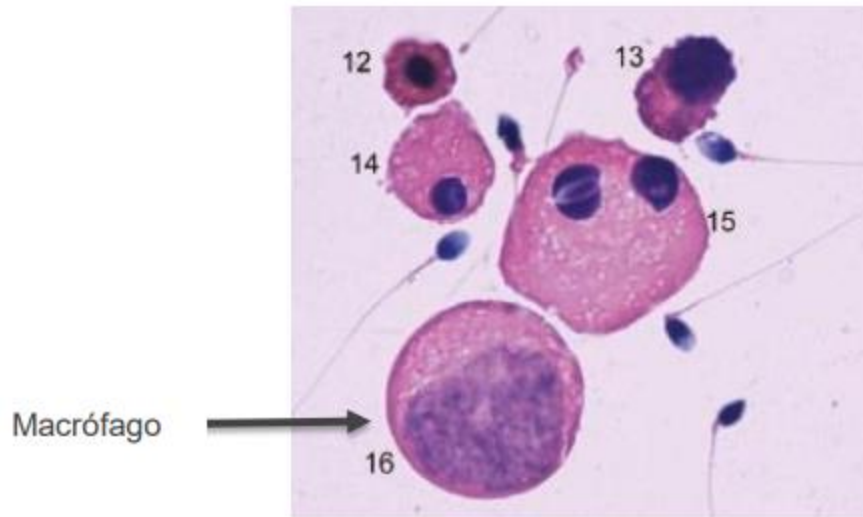
Cola: se tiñe de azul o rojizo

Exceso de residuo citoplasmático: Se tiñe de verde, si se tiñe de rojizo puede mostrar otras anomalías.

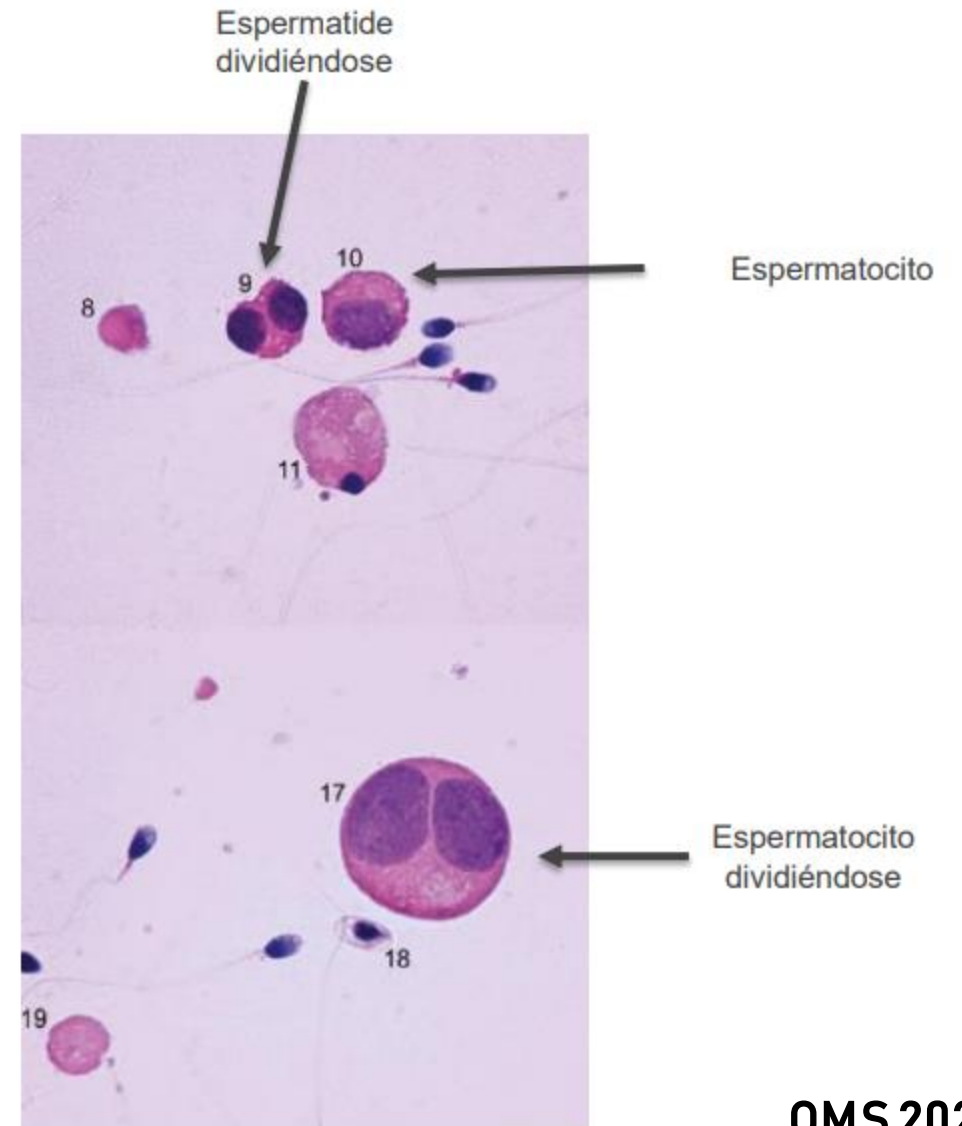


FIJACIÓN Y COLORACIÓN

La tinción Papanicolaou proporciona una buena tinción para poder distinguir células germinales inmaduras y las no espermáticas.



OMS 2021



OMS 2021

TINCION DE PAPANICOLAOU

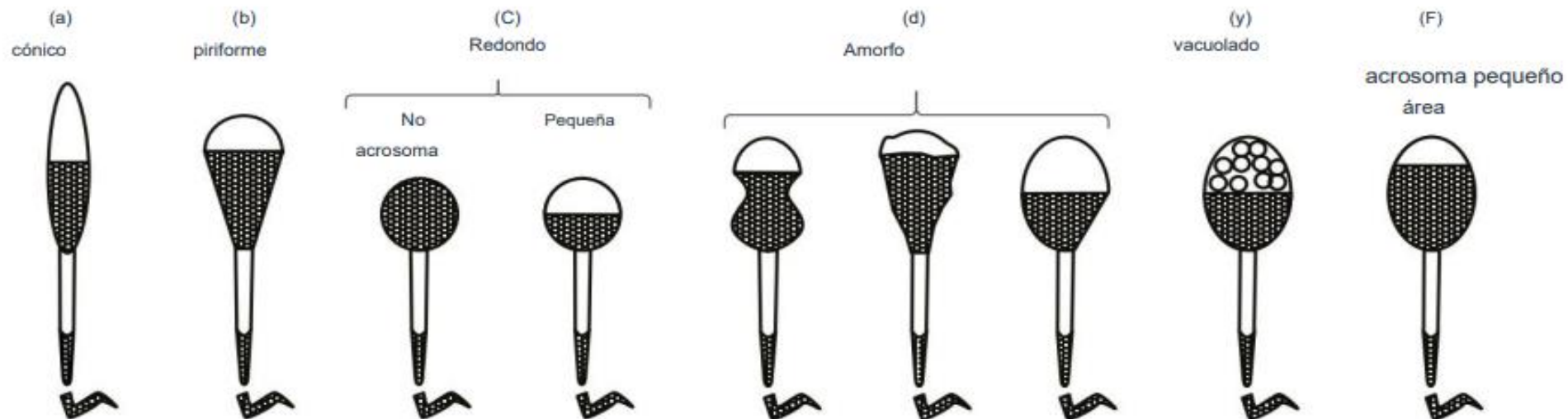


Tabla 2.5 Pasos de fijación y tinción de Papanicolaou

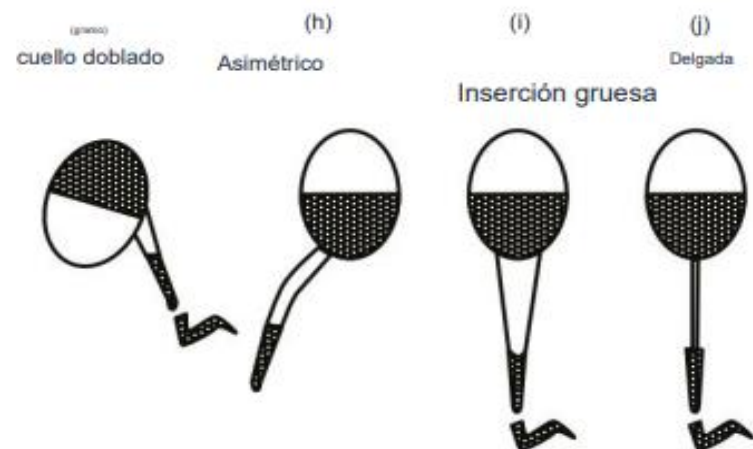
FIJACIÓN			
Etanol	95% (v/v)	al menos 15 minutos	arreglar las celdas; tambien los deshidrata
TINCIÓN			
1 Etanol graduado	80% (v/v)	2 30 segundos	rehidratar gradualmente los frotis fijados para permitir la tinción con hematoxilina soluble en agua
2 Etanol clasificado	50% (v/v)	30 segundos	
3 agua purificada		30 segundos	para rehidratar frotis secos para permitir la tinción soluble en agua
4 Hematoxilina de Harris		4 minutos	teñir el núcleo de azul
5 agua purificada		30 segundos	para eliminar la hematoxilina nuclear no unida
6 Etanol ácido	3	4-8 inmersiones	para eliminar el tinte no unido específicamente del citoplasma (destinción)
7 agua purificada		30 segundos	para reducir la acidez y devolver el color azul al núcleo; La solución de Scott se puede utilizar si el agua del grifo es insuficiente
8 Agua corriente fría del grifo		5 minutos	
9 etanol	50% (v/v)	30 segundos	
10 etanol	80% (v/v)	30 segundos	para deshidratar frotis para permitir la tinción con Orange G/EA-50 soluble en etanol
11 etanol	95% (v/v)	al menos 15 minutos	
12 G-6 colorante naranja		1 minuto	teñir el citoplasma de rosa
13 etanol	95% (v/v)	30 segundos	
14 etanol	95% (v/v)	30 segundos	
15 etanol	95% (v/v)	30 segundos	
16 EA-50 mancha verde		1 minuto	para teñir el citoplasma y los nucléolos de rosa
17 etanol	95% (v/v)	30 segundos	
18 etanol	95% (v/v)	30 segundos	
19 etanol	100%	15 segundos	deshidratar gradualmente los frotis teñidos para permitir el uso de medios de preparación solubles en etanol
20 etanol	100%	15 segundos	
21 xileno			para permitir el uso de medios de montaje insolubles en etanol

Fig. 2.10 Dibujos esquemáticos de algunas formas anormales de espermatozoides humanos

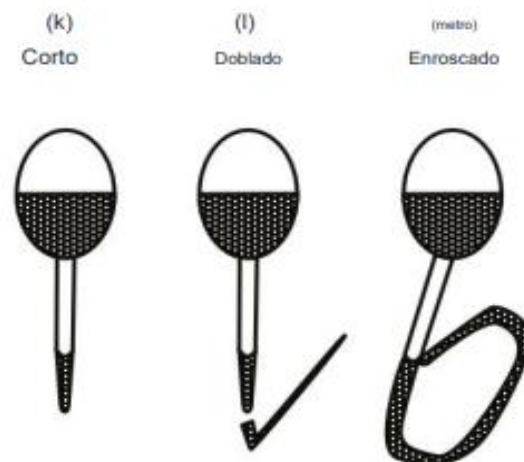
A. Defectos de la cabeza



B. Defectos en el cuello y la pieza intermedia



C. Defectos de la cola



D. Exceso residual citoplasma



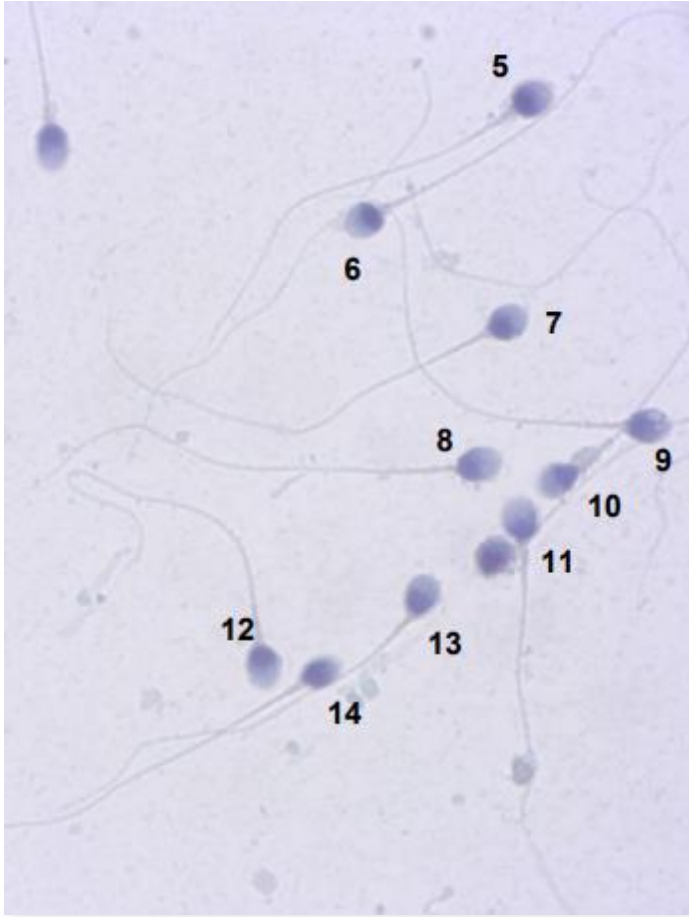
Descripción de las partes de un Espermatozoide

Ubicación	Apariencia normal (ideal/típica)	Anormal
Cabeza	La cabeza debe ser lisa, de contorno regular y generalmente de forma ovalada. Debe haber una región acrosomal bien definida que comprenda del 40 al 70% del área de la cabeza (96). La región acrosomal no debe contener vacuolas grandes y no más de dos vacuolas pequeñas, que no deben ocupar más de una quinta parte de la cabeza del espermatozoide. La región post-acrosómica no debe contener vacuolas.	• acrosoma inferior al 40 % o superior al 70 % del área normal de la cabeza, o • relación largo-ancho inferior a 1,5 (redonda) o superior a 2 (alargada), o • forma: piriforme (en forma de pera), amorfa, asimétrica, o forma no ovalada en la parte apical, o • las vacuolas constituyen más de una quinta parte del área de la cabeza o ubicado en el área post-acrosómica, o • cabezas dobles, o • cualquier combinación



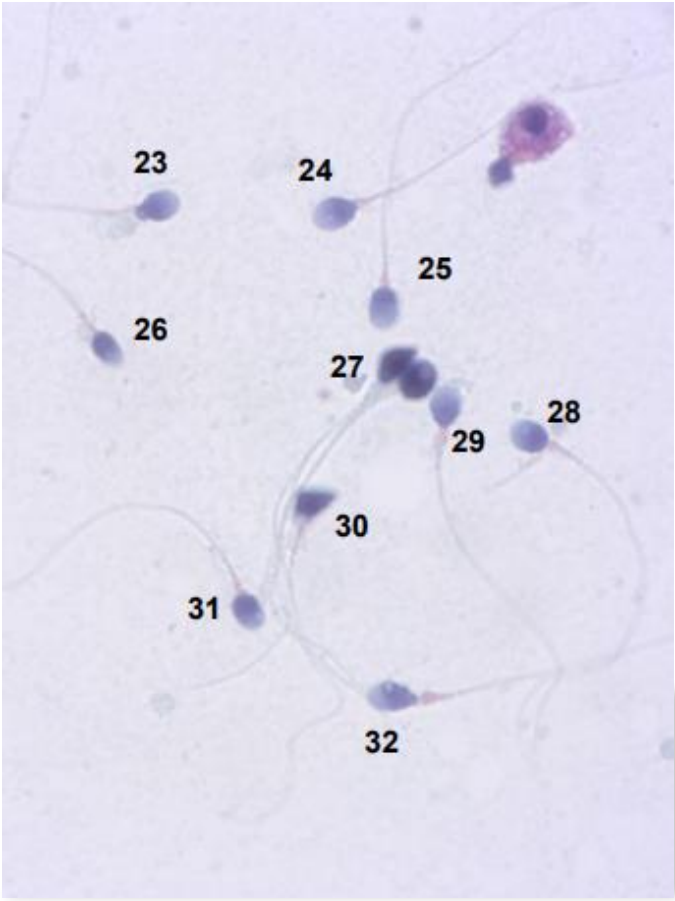
	Forma de la cabeza	Forma de la cabeza	Pieza Intermedia	Forma de la pieza Principal	Clasificación
1	normal		normal	normal	normal
2	anormal	amorfo	normal	normal	anormal
3	anormal	amorfo	grueso	normal	anormal
4	anormal		normal	normal	anormal

Ubicación	Apariencia normal (ideal/típica)	Anormal
pieza intermedia	La pieza intermedia debe ser delgada, regular y aproximadamente del mismo largo que la cabeza del espermatozoide. El eje principal de la pieza intermedia debe estar alineado con el eje principal de la cabeza del espermatozoide.	• forma irregular, o • delgado o grueso, o • inserción asimétrica o en ángulo en la cabeza, o • muy doblado, o • cualquier combinación



	Forma de la cabeza	Forma de la cabeza	Pieza Intermedia	Forma de la pieza Principal	Clasificación
5	anormal	no ovalado	grueso	normal	anormal
6	anormal	no ovalado	normal	normal	anormal
7	anormal	megafonia vacia	grueso	normal	anormal
8	normal		normal	normal	normal
9	anormal	vacaciones	normal	normal	anormal
10	anormal	no ovalado	grueso	normal	anormal
11	anormal	no ovalado	grueso	normal	
12	normal		normal	normal	normal
13	anormal		grueso/doblado	normal	anormal
14	anormal	pequeña	normal	normal	anormal

Ubicación	Apariencia normal (ideal/típica)	Anormal
Cola	La pieza principal debe tener un calibre uniforme en toda su longitud, ser más delgada que la pieza intermedia y tener una longitud aproximada de 45 μm (alrededor de 10 veces la longitud de la cabeza). Se puede enrollar sobre sí mismo, siempre que no haya una angulación pronunciada que indique un flagelo roto.	• curvas con ángulos pronunciados, o • suaves curvas cerradas, o • enrollado, o • corto (roto), o • ancho irregular, o • colas múltiples, o • cualquier combinación



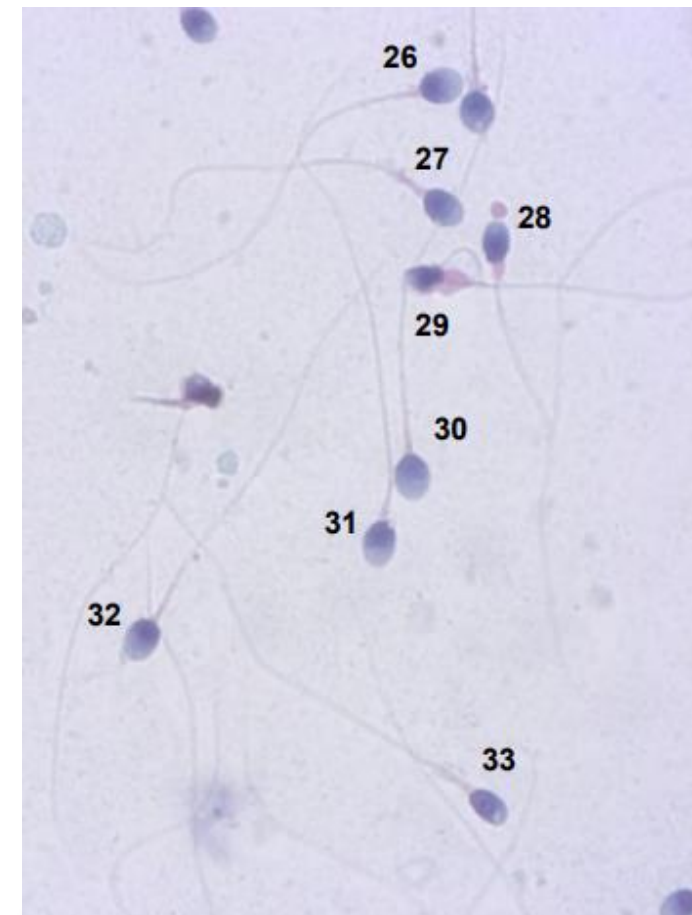
	Forma de la cabeza	Forma de la cabeza	Pieza Intermedia	Forma de la pieza Principal	Clasificación
23	anormal		grueso	QUE	anormal
24	anormal		grueso	normal	anormal
25	normal		grueso	normal	anormal
26	anormal	cónico	grueso	QUE	anormal
27	anormal	no ovalado	grueso	normal	anormal
28	normal		grueso	normal	normal
29	anormal		grueso	normal	anormal
30	anormal	no ovalado	grueso	duplicado	
31	anormal		asimétrico	normal	anormal
32	anormal	no oval/PA vac	normal	normal	anormal

Ubicación	Apariencia normal (ideal/típica)	Anormal
-----------	----------------------------------	---------

**Residuo
citoplasmático**

Las gotitas citoplasmáticas (menos de un tercio del tamaño normal de la cabeza de un espermatozoide) son normales.

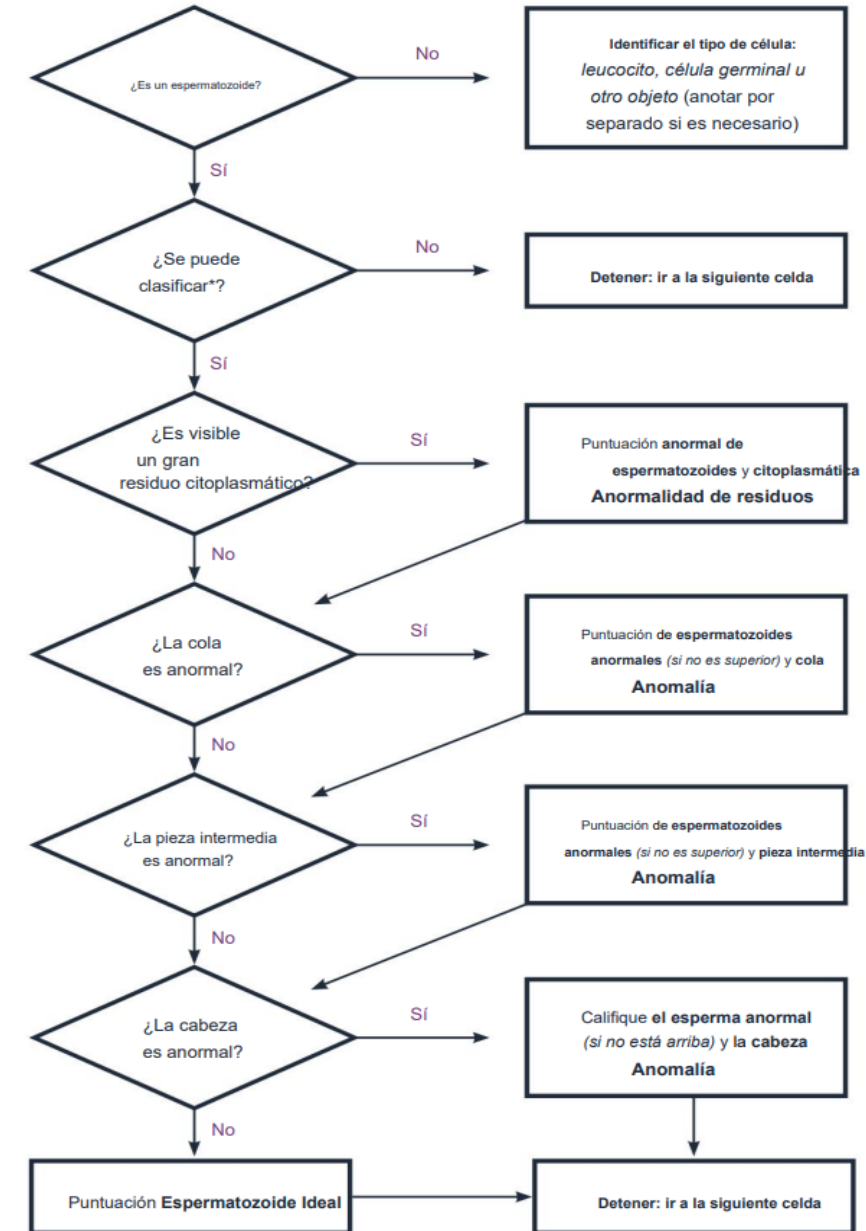
- el citoplasma residual se considera una anomalía sólo cuando excede un tercio del tamaño normal de la cabeza del espermatozoide



Categorías de Anormalidades

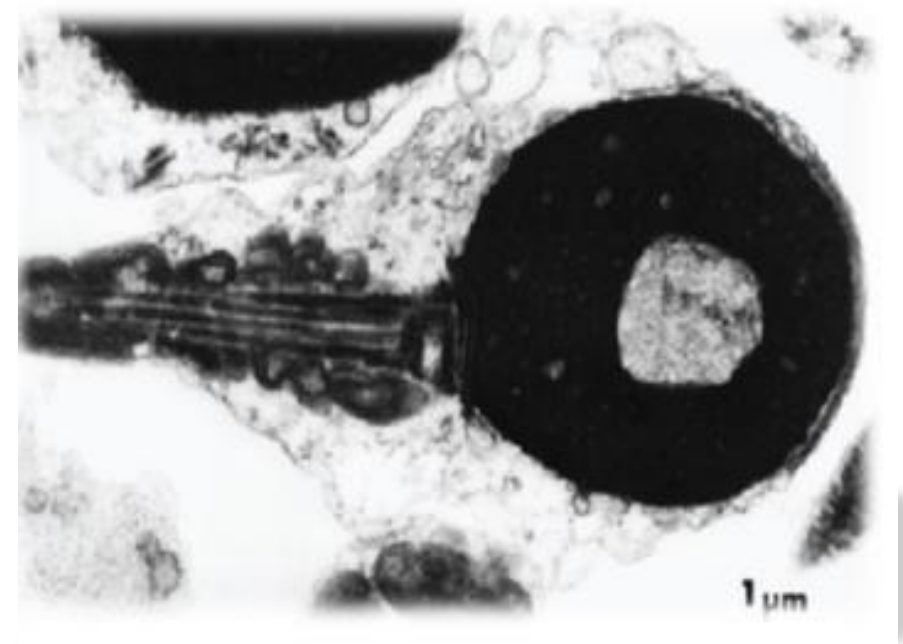
- ❖ Cabeza (%H)
 - ❖ Cuello y pieza intermedia (%NM)
 - ❖ Cola (%T)
 - ❖ Exceso de residuo citoplasmática (%C)
- ✓ Evaluar 200 espermatozoides:
 - ✓ Determinar % de espermatozoides ideales y % de espermatozoides anormales.
 - ✓ También determinar los %H, %NM, %T, %C (la suma de esto debe superar el 100% si se ha realizado correctamente).
 - ✓ El porcentaje de estas anomalías se obtiene dividiendo el número total de espermatozoides con un defecto en la categoría con el número de espermatozoides analizados.
 - ✓ Estos números son utilizados para calcular el índice de teratozoospermia (TZI)

Fig. 2.11 Orden estructurado para la evaluación de la morfología del espermia humano



DESCRIPCIÓN DE OTROS DEFECTOS ESPERMÁTICOS

- **Globozoospermia:** El acrosoma no se desarrolla, la cabeza se observa redonda.
- **Cabeza de alfiler:** Si la placa basal no se une al núcleo en el polo opuesto al acrosoma en la espermiación, las cabezas son absorbidas y solo se encuentran colas. Estos espermatozoides no son contados como defectos de la cabeza dado que no poseen cromatina.
- Los pacientes que poseen estos tipos de espermatozoides son estériles, son casos raros, pero es fundamental identificarlos y notificarlos correctamente.
- Si hay muchos espermatozoides con cabeza de alfiler, puede determinarse su prevalencia relativa



CÁLCULO DE INDICE DE MÚLTIPLES DEFECTOS MORFOLÓGICOS

- ❖ ÍNDICE DE ANORMALIDADES MÚLTIPLES (IMA): Número de anomalías (cabeza, PI, cola) sobre el total de espermatozoides anormales.
- ❖ ÍNDICE DE TERATOZOOSPERMIA (ITZ): Número de anomalías máxima (Cabeza, PI, cola, ERC) sobre el total de espermatozoides anormales.
- ❖ INDICE DE DEFORMIDAD (ID): Número de anomalías (Cabeza, PI, cola, ERC) (la cabeza incorpora varias categorías) sobre el total de espermatozoide.

Tabla 3.1 Cálculo de índices de defectos espermáticos múltiples

	MAYO	TZI	IDE
Valor máximo		4.00	3.00
Denominador	esperma anormal	esperma anormal	todo el esperma
(A) No. de espermatozoides contados	200	200	200
espermatozoides normales (N)	46	46	46
espermatozoides normales (%)	23	23	23
(B) Número de espermatozoides con defectos (200–46)	154	154	154
(1) Número de defectos de la cabeza (MAI, SDI) o número de espermatozoides con > 1 defecto de la cabeza (TZI)	284	154	212
(2) Número de defectos de pieza intermedia (MAI) o número de espermatozoides con 1 defecto de pieza intermedia (TZI, SDI)	54	52	52
(3) Número de defectos de pieza principal (MAI) o número de espermatozoides con 1 defecto de pieza principal (TZI, SDI)	54	46	46
(4) No. de espermatozoides con exceso de citoplasma residual	14	14	14
(C) Total defectos (1)+(2)+(3) (= C) (MAI)	392		
(D) Defectos totales (1)+(2)+(3)+(4) (= D) (TZI, SDI)		266	324
Cálculo del índice	C/B	D/B	D/A
Valor de índice	2.55	1.72	1.62



Figura 3
Espermatozoide bicéfalo.

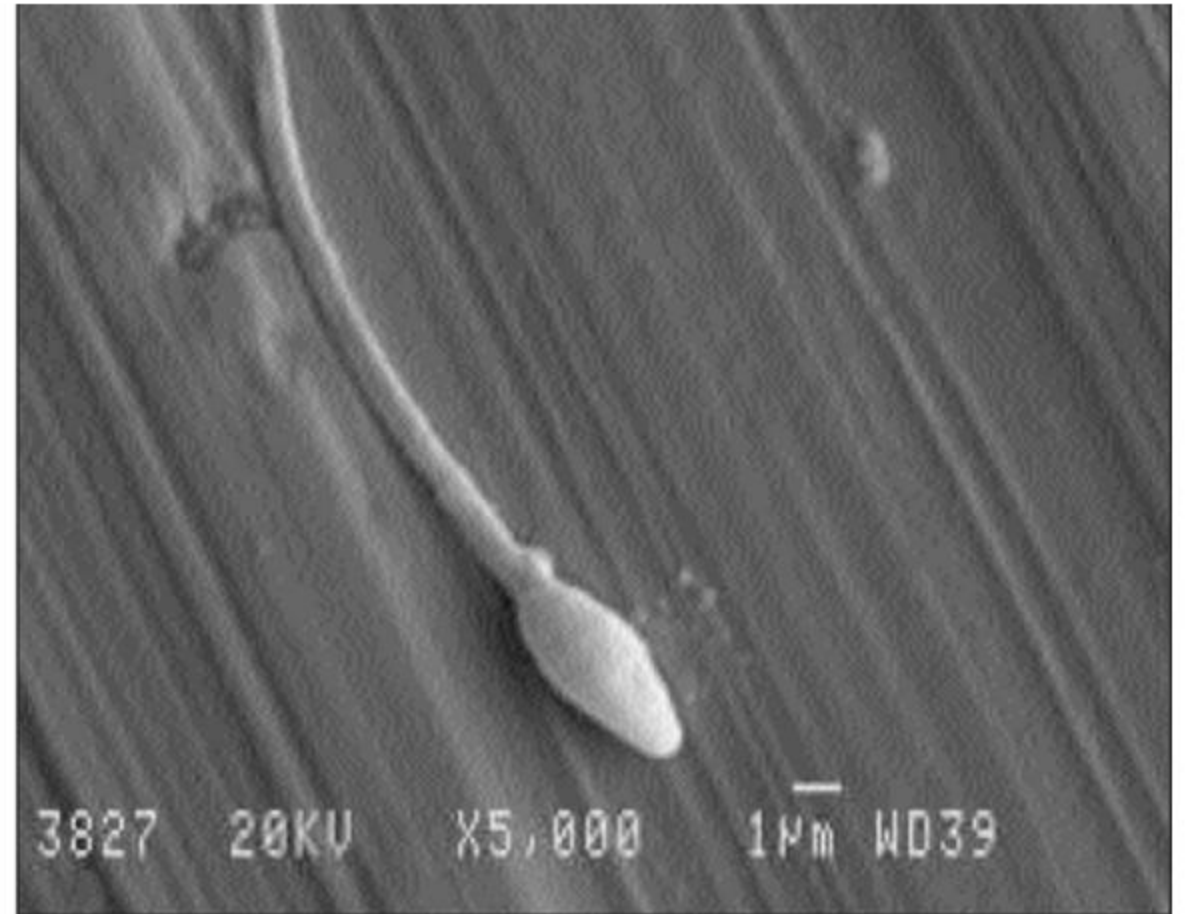


Figura 4
Espermatozoide con cabeza alargada.

Anormalidad de cabeza



Figura 6

Espermatozoide con implantación axial de la pieza intermedia.

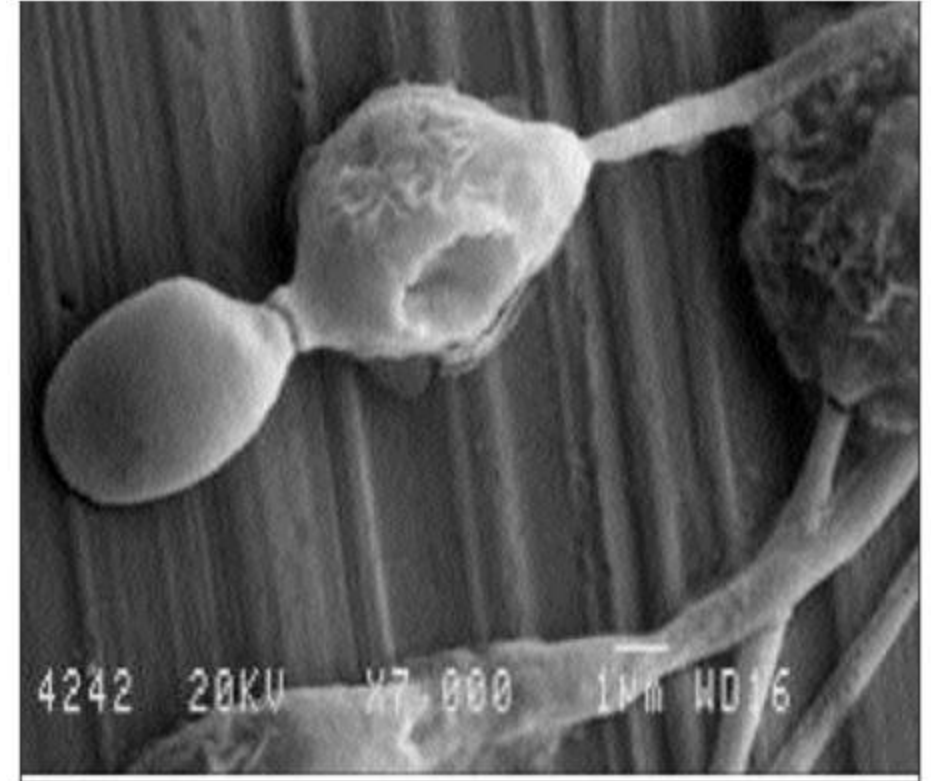


Figura 9

Espermatozoide con pieza intermedia engrosada (flecha).

Anormalidad de pieza media

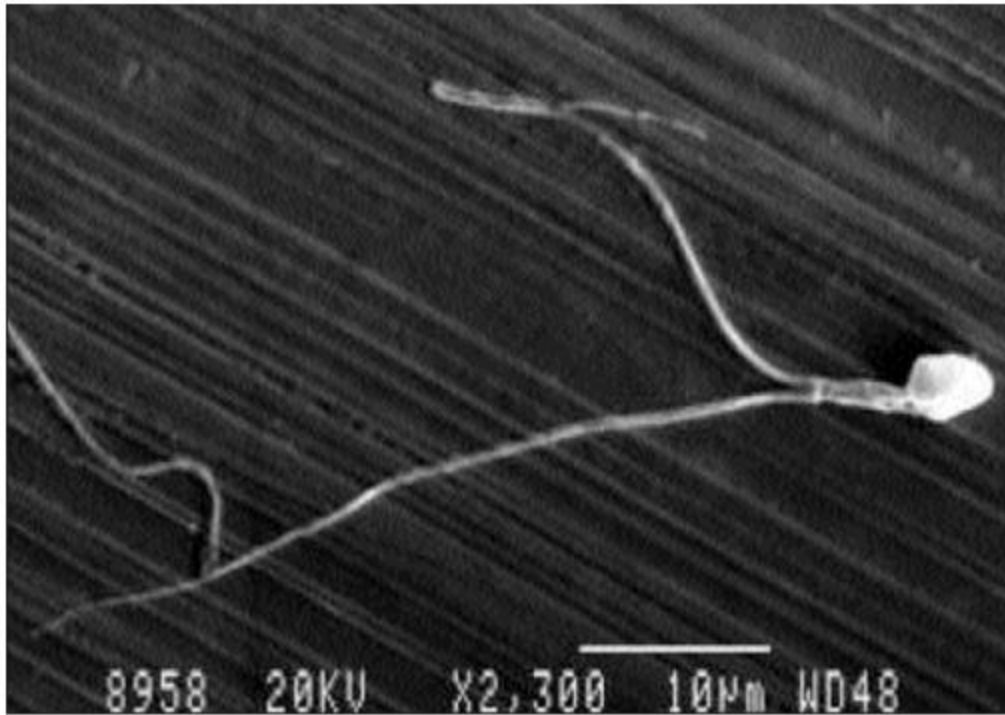


Figura 8

Espermatozoide con dos flagelos.

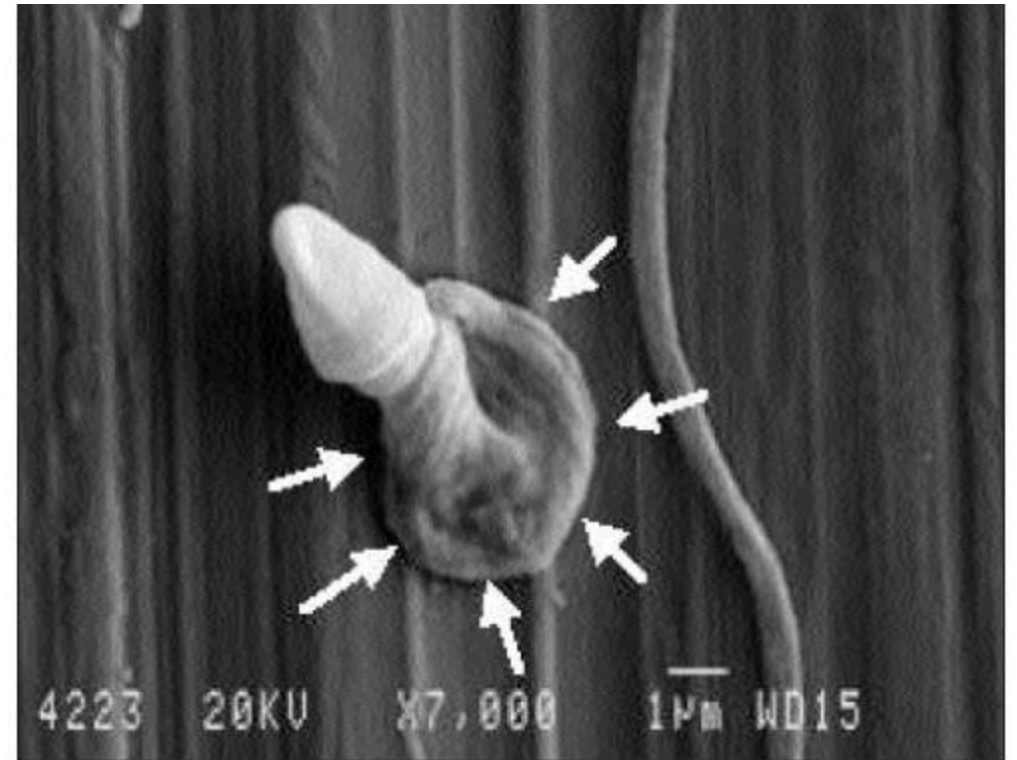


Figura 11

Espermatozoide en el que se observa enrollamiento total del flagelo (flechas).

Anormalidad de cola

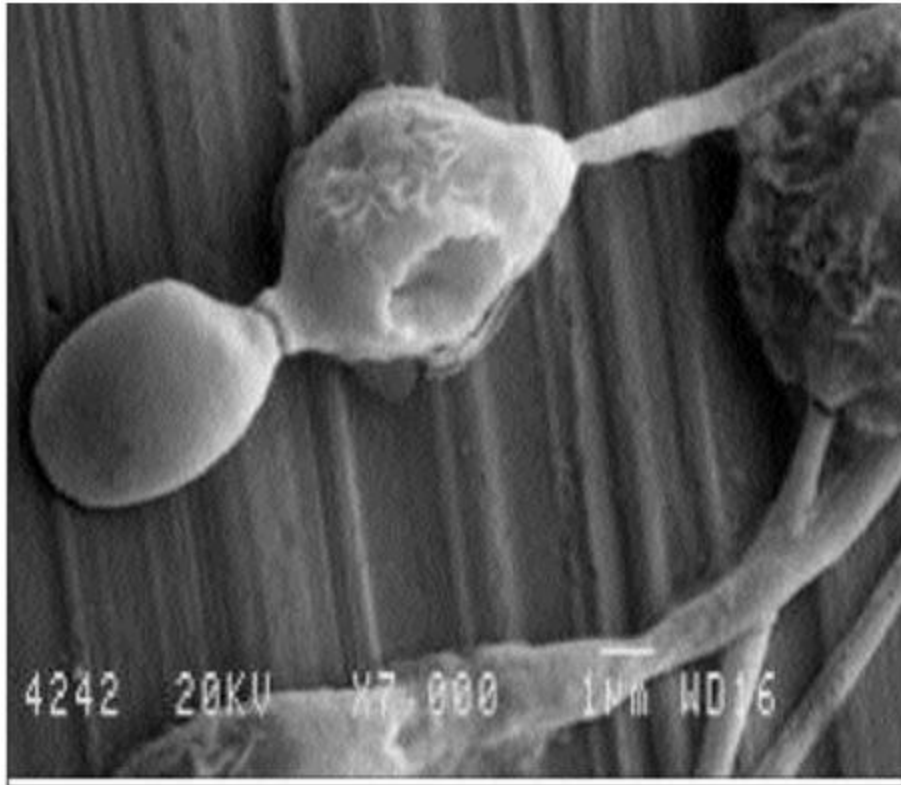


Figura 9
Espermatozoide con pieza intermedia engrosada (flecha).

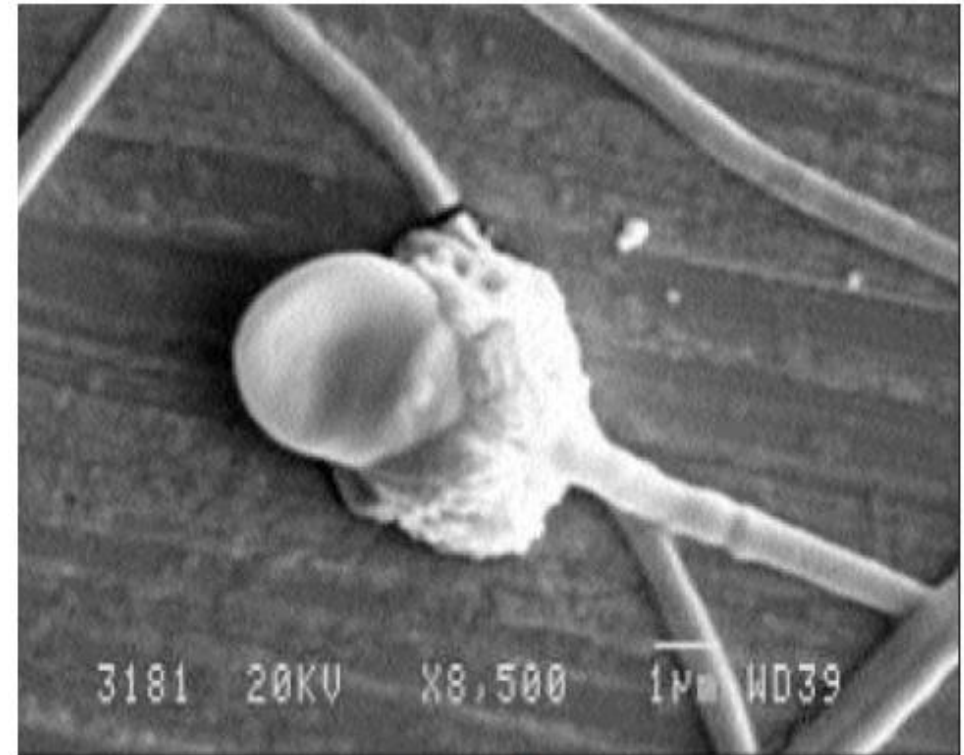
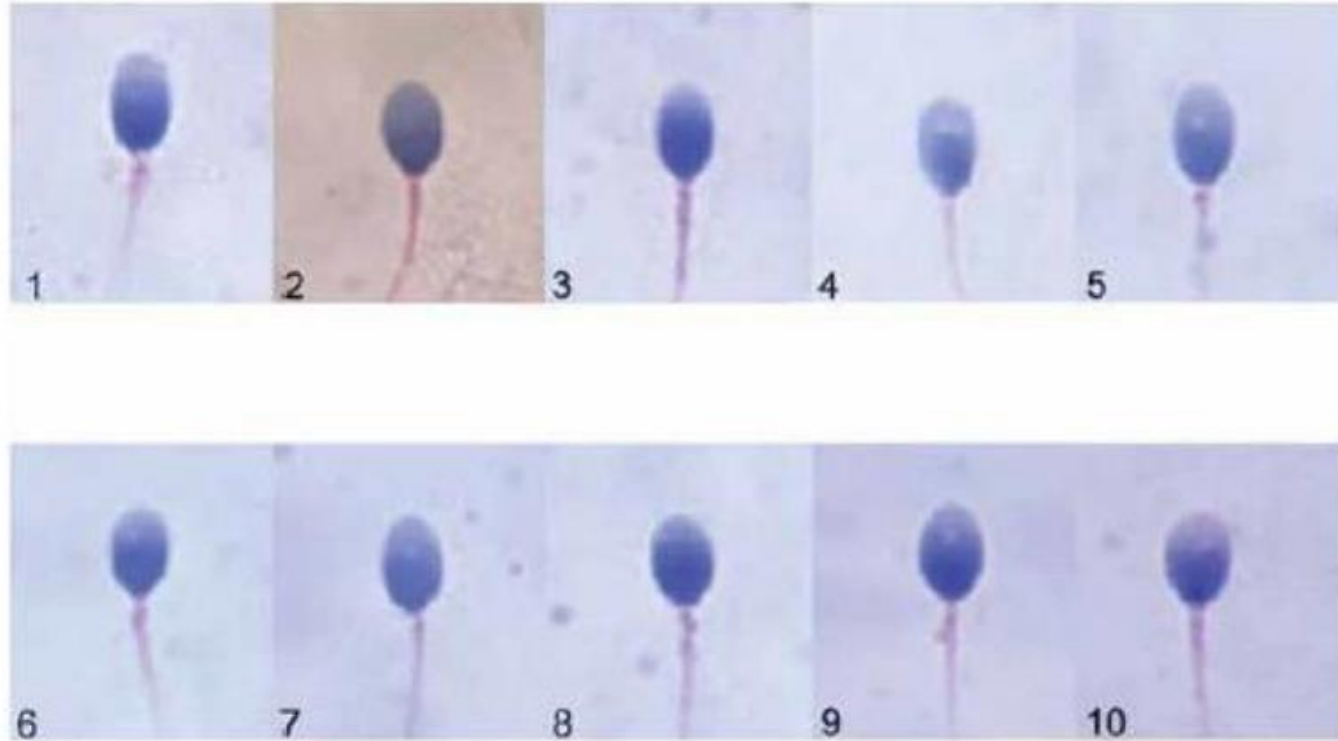


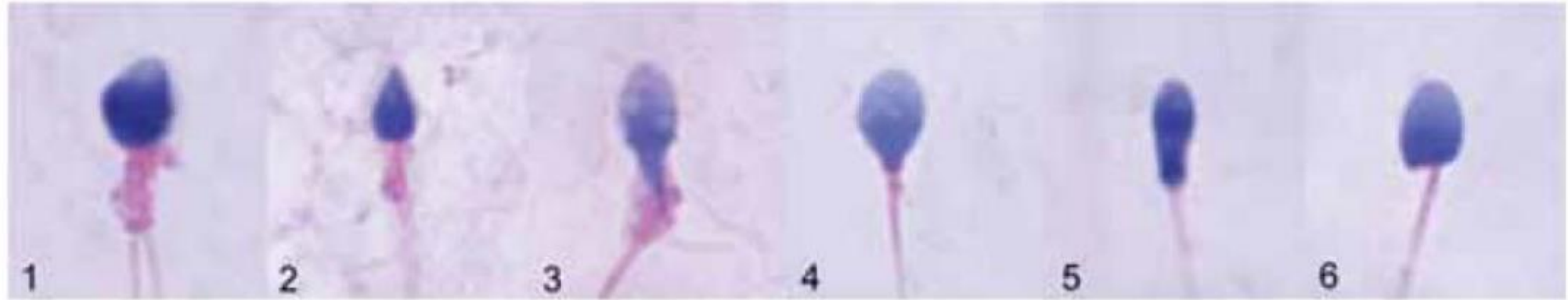
Figura 10
Espermatozoide con gota citoplasmática a nivel de la pieza intermedia (flecha).

Anormalidad de ERC

Espermatozoides Normales



Anormalidades



Espermatozoide	Cabeza	Pieza intermedia	ECR
1	Anormal	Gruesa	-----
2	Anormal	Irregular	-----
3	Piriforme	Doblado	ERC
4	Anormal	-----	-----
5	Piriforme	-----	-----
6	Anormal	-----	-----

Teratozoospermia

La Teratozoospermia no afecta los resultados de la ICSI, pero sí de FIV (Zhu et al. 2022)

Durante una ICSI podemos elegir a los espermatozoides por:

- ❖ Movilidad

- ❖ Morfología



MUCHAS GRACIAS!!!