

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
“DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ”**

SERVICIO DE UROLOGÍA



UANL

**ALTERACIONES SEMINALES Y ESPERMÁTICAS EN
PACIENTES CON VARICOCELE**

POR

DR. JOSÉ ISABEL CORNELIO RAMOS

**REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
UROLOGÍA**

OCTUBRE, 2026



UANL

HOJA DE APROBACIÓN POR EL COMITÉ DE TESIS

ALTERACIONES SEMINALES Y ESPERMÁTICAS EN
PACIENTES CON VARICOCELE

DR. MED. LAURO SALVADOR GÓMEZ GUERRA
DIRECTOR DE TESIS Y COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN

DR.C. SALOMÓN ALVAREZ CUEVAS
CODIRECTOR DE TESIS

DR. RODOLFO JAIME DÁVILA
COORDINADOR DE ENSEÑANZA

DR.MED. ADRIÁN GUTIÉRREZ GONZÁLEZ
JEFE DEL SERVICIO DE UROLOGÍA

DR. MED. FELIPE ARTURO MORALES MARTÍNEZ
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO



UANL

**HOJA DE DECLARACIÓN DE LOS LUGARES EN DONDE SE
DESARROLLO EL TRABAJO, SEÑALANDO QUIENES FUERON LOS QUE
DIRIGIERON EL TRABAJO**

**ALTERACIONES SEMINALES Y ESPERMÁTICAS EN
PACIENTES CON VARICOCELE**

El proyecto de investigación fue realizado en el Servicio de Urología del Hospital Universitarios "Dr. José Eleuterio González" en conjunto con el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Bajo la Dirección del Dr. C. Salomón Álvarez Cuevas y
la Codirección del Dr. med. Lauro Salvador Gómez Guerra

DR. MED. LAURO SALVADOR GÓMEZ GUERRA
DIRECTOR DE TESIS

DR.C. SALOMÓN ALVAREZ CUEVAS
CODIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. C. Salomón Álvarez Cuevas, por su orientación, disposición y apoyo durante la elaboración de este proyecto.

Al Dr. Med. Lauro Salvador Gómez Guerra, mi profundo agradecimiento por su acompañamiento, enseñanza y constante apoyo, los conocimientos, la experiencia y los consejos que ha compartido conmigo a lo largo de estos años.

A Hugo Enrique Torres, pasante del Servicio de Urología, por su disposición, compromiso y colaboración en las diferentes etapas de este trabajo de investigación.

A mis maestros de Urología y a mis compañeros de generación; Sandra, Cassandra y Héctor por hacer de este viaje más placentero, por su apoyo durante estos años y por su amistad

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Autónoma de Nuevo León y al Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, instituciones que han sido fundamentales en mi formación académica y profesional durante el desarrollo de mi especialidad.

DEDICATORIA

A Dios, por acompañarme y guiarme a lo largo de este camino, por darme la fortaleza para superar cada reto y permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi vida.

A mis padres, por su amor incondicional, su esfuerzo, sus sacrificios y, sobre todo, por su apoyo constante durante todos estos años. Desde mis primeros días como estudiante de Medicina hasta este momento, a punto de concluir mi formación como especialista, han estado presentes en cada etapa, celebrando mis logros y sosteniéndome en los momentos difíciles.

Este logro también es de ustedes, porque detrás de cada paso que he dado han estado su confianza, sus consejos y el ejemplo que me han brindado. Gracias por creer en mí incluso cuando el camino parecía largo, y por enseñarme que con trabajo, perseverancia y dedicación es posible alcanzar las metas.

INDICE

	Página
Lista de abreviaturas	VI
Lista de tablas	VII
Lista de figuras	VIII
Resumen	IX
Abstract	X
I.- Introducción	11
I.- Antecedentes y Marco teórico	12
II.- Justificación	18
III.- Hipótesis	19
IV.- Objetivos	20
V.- Material y Métodos	21
VI.- Resultados	37
VII.- Discusión	50
VIII.- Conclusiones	56
IX.- Bibliografía	57
X.- Anexos	61
XI.- Resumen biográfico	82

LISTA DE ABREVIATURAS

AR	Receptor de andrógenos
LH	Hormona luteinizante
LS	Líquido seminal
OS	Plasma seminal
ROS	Especies reactivas de oxígeno

LISTA DE TABLAS

Número	Título de la Tabla	Página
Tabla 1	Variables del Protocolo	26
Tabla 2	Resultados de parámetros fisicoquímicos	38
Tabla 3	Parámetros espermáticos en pacientes con varicocele vs controles	40
Tabla 4	Parámetros espermáticos según el grado de varicocele	41
Tabla 5	Alteraciones espermáticas en pacientes con varicocele vs controles	43
Tabla 6	Alteraciones espermáticas en pacientes según el grado de varicocele	45
Tabla 7	Número de alteraciones espermáticas en pacientes con varicocele vs controles	46
Tabla 8	Número de alteraciones espermáticas en pacientes según el grado de varicocele	47
Tabla 9	Correlación de las características demográficas	49

LISTA DE FIGURAS

Número	Título de la Tabla	Página
Figura 1	Estimación de la N del grupo Control	25
Figura 2	Estimación de la N del grupo Varicocele	26
Figura 3	Diagrama de flujo de los participantes del estudio y distribución de los pacientes con varicocele según su grado.	37
Figura 4	Frecuencia de alteraciones espermáticas en pacientes con varicocele	43

RESUMEN

Introducción: El varicocele se asocia con alteraciones de la calidad seminal; sin embargo, el patrón de afectación y su relación con el grado clínico son variables.

Objetivo: Determinar las alteraciones seminales y espermáticas más frecuentes en pacientes con varicocele atendidos en el Servicio de Urología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, compararlas con sujetos sin varicocele y explorar su asociación con el grado de la enfermedad.

Material y métodos: Estudio observacional, analítico y transversal. Se incluyeron 48 participantes: 31 con varicocele y 17 controles. Se evaluaron características fisicoquímicas y parámetros espermáticos, utilizando los límites inferiores de referencia de la OMS 2021 para clasificar las alteraciones. Se realizaron comparaciones entre grupos y análisis de correlación con el grado de varicocele. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$.

Resultados: Los pacientes con varicocele presentaron menor motilidad progresiva (52.16% frente a 60.47%; $p = 0.030$), motilidad total (66.71% frente a 75.24%; $p = 0.022$), vitalidad (medianas: 59% frente a 73%; $p = 0.005$) y morfología normal (medianas: 5% frente a 11%; $p = 0.009$). No se observaron diferencias significativas en concentración, recuento total ni en las características fisicoquímicas, excepto la coloración. La teratozoospermia fue la alteración más frecuente en el grupo con varicocele (45.2%). La presencia de al menos una alteración fue mayor en este grupo (74.2% frente a 29.4%; OR = 6.90; IC 95%: 1.85–25.8; $p = 0.005$). Un mayor grado se correlacionó con menor morfología normal ($\rho = -0.390$; $p = 0.030$) y mayor carga de alteraciones ($\rho = 0.384$; $p = 0.033$).

Conclusiones: El varicocele se asoció con menor calidad seminal y mayor carga de alteraciones espermáticas.

ABSTRACT

Introduction: Varicocele is associated with impaired semen quality; however, the pattern of impairment and its relationship with clinical grade vary.

Objective: To identify the most frequent seminal and sperm abnormalities in patients with varicocele attending the Urology Department of Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González,” compare them with men without varicocele, and explore their association with disease grade.

Materials and methods: An observational, analytical, cross-sectional study with prospective data collection included 48 participants: 31 with varicocele and 17 controls. Physicochemical characteristics and sperm parameters were assessed, using the WHO 2021 lower reference limits to classify abnormalities. Between-group comparisons and correlation analyses with varicocele grade were performed. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results: Patients with varicocele had lower progressive motility (52.16% vs. 60.47%; $p = 0.030$), total motility (66.71% vs. 75.24%; $p = 0.022$), vitality (medians: 59% vs. 73%; $p = 0.005$), and normal morphology (medians: 5% vs. 11%; $p = 0.009$). No significant differences were observed in sperm concentration, total sperm count, or physicochemical characteristics, except for semen color. Teratozoospermia was the most frequent abnormality in the varicocele group (45.2%). The proportion of participants with at least one abnormality was higher in this group (74.2% vs. 29.4%; OR = 6.90; 95% CI: 1.85–25.8; $p = 0.005$). Higher varicocele grade correlated with a lower percentage of normal forms ($\rho = -0.390$; $p = 0.030$) and a greater burden of abnormalities ($\rho = 0.384$; $p = 0.033$).

Conclusions: Varicocele was associated with poorer semen quality and a greater burden of sperm abnormalities.

2. INTRODUCCIÓN

El varicocele (VC) constituye una de las alteraciones urológicas más frecuentes en hombres en edad reproductiva y representa una condición de particular interés por su asociación con el deterioro de la función testicular y la infertilidad masculina. Se caracteriza por la dilatación anormal y tortuosa del plexo venoso pampiniforme y, aunque en muchos pacientes puede cursar de manera asintomática, su presencia se ha relacionado con dolor escrotal, alteraciones en el desarrollo testicular y disminución de la calidad seminal (Arya et al., 2022). Su relevancia clínica se hace evidente al considerar que se ha descrito en aproximadamente 15% de la población masculina general, incrementándose su frecuencia hasta 35% en hombres con infertilidad primaria y alcanzando cifras mayores en aquellos con infertilidad secundaria (Franco et al., 2023). Asimismo, se ha observado que un mayor grado de varicocele puede relacionarse con un mayor deterioro de los parámetros seminales.

En los últimos años, el estudio de la fisiopatología del varicocele ha incorporado con mayor relevancia el papel del estrés oxidativo como uno de los mecanismos relacionados con el daño testicular. El aumento de la temperatura, la hipoxia y la acumulación de metabolitos pueden favorecer una producción excesiva de especies reactivas de oxígeno, superando la capacidad antioxidante del líquido seminal. Este desequilibrio puede ocasionar peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas y daño del ADN espermático, afectando finalmente la producción, maduración y función de los espermatozoides (Finelli et al., 2021; Panner Selvam & Agarwal, 2020). El daño del ADN adquiere particular importancia debido a su posible repercusión sobre la capacidad reproductiva masculina. (Esteves et al., 2021; Panner Selvam et al., 2021).

El análisis del líquido seminal continúa siendo una herramienta fundamental para la evaluación de la función reproductiva masculina. Su estudio permite valorar tanto características fisicoquímicas como parámetros espermáticos relacionados

con concentración, motilidad, vitalidad y morfología, utilizando metodologías estandarizadas y los valores de referencia establecidos por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2021).

En pacientes con varicocele se han documentado disminuciones en la concentración espermática y alteraciones en la motilidad y la morfología, aunque hasta el momento no se ha identificado un patrón morfológico exclusivo de esta enfermedad (Arya et al., 2022; Gill et al., 2021). En este contexto, la tendencia actual en la investigación del varicocele se orienta hacia una evaluación integral de la calidad espermática, complementando los parámetros convencionales del seminograma con indicadores capaces de reflejar alteraciones celulares y moleculares. La determinación de vitalidad, morfología, índices de defectos espermáticos, estrés oxidativo y fragmentación del ADN puede contribuir a comprender con mayor profundidad el efecto de esta enfermedad sobre la función reproductiva masculina (Finelli et al., 2021; Gill et al., 2021; Esteves et al., 2021).

ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO

El VC se define como la dilatación anormal y tortuosa de las venas del plexo pampiniforme, estructura que participa en la regulación de la temperatura testicular mediante un mecanismo de intercambio de calor. Su importancia clínica radica en su asociación con alteraciones de la función testicular y de la calidad seminal, que pueden comprometer el potencial reproductivo masculino (Arya et al., 2022).

Se ha descrito una prevalencia aproximada del 15% en la población masculina general, del 35% en hombres con infertilidad primaria y de hasta el 80% en aquellos con infertilidad secundaria (Franco et al., 2023). Predomina en el lado izquierdo, relacionado con las características anatómicas y hemodinámicas del drenaje venoso testicular, aunque también puede presentarse de manera bilateral (Nakonechnyi et al., 2022). Asimismo, se han estudiado factores

antropométricos asociados con su presencia y severidad, identificándose una asociación con mayor estatura y menor índice de masa corporal (Li et al., 2021). Desde el punto de vista clínico, el varicocele puede ser asintomático o manifestarse mediante dolor, pesadez escrotal y dilatación venosa palpable. El dolor suele ser sordo, localizarse en el testículo, escroto o región inguinal y aumentar con la actividad física. Además de las molestias locales, esta enfermedad se ha relacionado con alteraciones del crecimiento testicular, subfertilidad e hipogonadismo (Owen et al., 2017).

La evaluación comprende la historia clínica y reproductiva, así como la exploración física en bipedestación y decúbito, con y sin maniobra de Valsalva. Según los hallazgos clínicos, se clasifica en grado I cuando es palpable únicamente durante Valsalva, grado II cuando es palpable en reposo y grado III cuando es visible y palpable. El varicocele subclínico no es visible ni palpable y se identifica mediante estudios de imagen (Patoja Carballo et al., 2022). La ecografía Doppler complementa la evaluación cuando la exploración física es inconclusa y permite valorar el diámetro venoso, el reflujo y el volumen testicular (EAU Guidelines, 2023).

El tratamiento depende de las manifestaciones clínicas y del contexto reproductivo. Para el dolor se emplean inicialmente medidas conservadoras, como soporte escrotal, antiinflamatorios y modificación de las actividades que exacerban los síntomas (Owen et al., 2017). En el contexto de infertilidad, la reparación se recomienda en pacientes seleccionados con varicocele clínico y parámetros seminales alterados, considerando también la evaluación de la pareja. Entre las opciones terapéuticas se encuentran las técnicas quirúrgicas y radiológicas, cuya elección depende de las características del paciente y la experiencia del centro (EAU Guidelines, 2023).

La fisiopatología del varicocele es multifactorial. Entre los mecanismos propuestos para su desarrollo se encuentran la incompetencia valvular y el

incremento de la presión venosa, que favorecen el reflujo sanguíneo y la dilatación del plexo pampiniforme. En algunos pacientes, la compresión de la vena renal izquierda entre la arteria mesentérica superior y la aorta puede contribuir al aumento de la presión en el sistema venoso testicular (Arya et al., 2022).

Estas alteraciones hemodinámicas modifican el microambiente necesario para la espermatogénesis. Los principales mecanismos implicados en el daño testicular incluyen el aumento de la temperatura escrotal, la hipoxia, el reflujo de metabolitos de origen renal o suprarrenal, las alteraciones hormonales y el estrés oxidativo (Leslie et al., 2023). La estasis venosa afecta el intercambio de calor del plexo pampiniforme, mientras que las modificaciones de la microcirculación pueden reducir la oxigenación del tejido testicular. En conjunto, estos procesos pueden alterar la producción y función de los espermatozoides (Finelli et al., 2021; Munoz-López et al., 2024).

También se han descrito cambios en la función endocrina testicular. La testosterona, sintetizada por las células de Leydig en respuesta a la hormona luteinizante, es indispensable para mantener una espermatogénesis adecuada. En hombres infértiles con varicocele se han reportado alteraciones de la señalización androgénica, incluida una menor expresión del receptor de andrógenos, que podrían contribuir al deterioro de los parámetros espermáticos (Sheehan et al., 2014).

El estrés oxidativo constituye uno de los mecanismos centrales propuestos para explicar este deterioro. En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y los sistemas antioxidantes del semen. Cuando la producción de estas especies supera la capacidad de defensa antioxidante, pueden producirse peroxidación de los lípidos de membrana, oxidación de proteínas y daño del ADN espermático. Estas alteraciones afectan la integridad celular y pueden comprometer la motilidad, vitalidad y función de los espermatozoides (Finelli et al., 2021; Panner Selvam y Agarwal, 2020).

La evaluación de las repercusiones del varicocele sobre la función reproductiva requiere considerar tanto las características del líquido seminal como las de los espermatozoides. El semen está compuesto por una fracción celular, constituida principalmente por espermatozoides, y una fracción líquida denominada plasma seminal. Esta última procede fundamentalmente de las secreciones de las vesículas seminales y la próstata, y proporciona un medio de transporte, nutrición y protección para las células espermáticas (Gurung et al., 2023). Sus componentes incluyen proteínas, lípidos, fructosa, iones y otros metabolitos que participan en la regulación de la función espermática (Wang et al., 2020).

El seminograma es una herramienta fundamental para caracterizar la calidad seminal. Comprende la evaluación macroscópica y fisicoquímica del eyaculado, así como el análisis microscópico de los espermatozoides. La estandarización de los procedimientos y el control de calidad del laboratorio son esenciales para obtener resultados reproducibles y comparables (Agarwal et al., 2022). La sexta edición del Manual de laboratorio de la Organización Mundial de la Salud establece los procedimientos para su realización y proporciona valores de referencia para interpretar los parámetros evaluados (WHO, 2021).

La evaluación macroscópica incluye el volumen, la licuefacción, la viscosidad, el color, el aspecto y el pH. Estas características aportan información sobre la composición del eyaculado y la función de las glándulas accesorias. Su interpretación debe realizarse en conjunto con los hallazgos microscópicos y el contexto clínico, ya que las modificaciones aisladas de estas propiedades no identifican por sí mismas una causa específica de alteración reproductiva (WHO, 2021; Wang et al., 2020).

El análisis microscópico comprende la concentración y el recuento total de espermatozoides, la motilidad, la vitalidad y la morfología. Los límites inferiores de referencia descritos por la OMS incluyen un volumen de 1.4 mL, una concentración de 16 millones de espermatozoides por mililitro y un recuento total

de 39 millones por eyaculado. Para la motilidad total y progresiva se establecen valores de referencia del 42% y 30%, respectivamente, mientras que para la vitalidad y la morfología normal corresponden al 54% y 4%. Estos valores orientan la interpretación del seminograma, pero no constituyen por sí solos una separación absoluta entre hombres fértiles e infértiles (WHO, 2021).

Cada parámetro permite explorar un componente de la calidad espermática. La concentración y el recuento total cuantifican los espermatozoides presentes en la muestra; la motilidad evalúa su capacidad de movimiento y progresión; la vitalidad determina la proporción de células vivas, y la morfología examina las características de la cabeza, pieza intermedia y cola. Los defectos morfológicos pueden presentarse de manera aislada o simultánea, por lo que los índices de defectos múltiples permiten complementar su descripción (WHO, 2021; Gatimel et al., 2017).

En pacientes con varicocele se han documentado alteraciones de la concentración, motilidad y morfología espermática, así como de la vitalidad y la integridad del ADN. Sin embargo, el patrón y la magnitud de afectación son variables, y no se ha identificado una alteración morfológica exclusiva de esta enfermedad (Arya et al., 2022; Gill et al., 2021). Esta heterogeneidad hace necesario valorar conjuntamente los diferentes parámetros seminales y su relación con las características clínicas del paciente.

Además del análisis convencional, el estudio del daño molecular permite detectar el daño espermático y su posible asociación con infertilidad. La fragmentación del ADN corresponde a la presencia de roturas de una o ambas cadenas de ADN y puede relacionarse con estrés oxidativo, alteraciones de la maduración de la cromatina y mecanismos apoptóticos. Su relevancia radica en la asociación con resultados reproductivos desfavorables, incluidos trastornos de la fecundación y del desarrollo embrionario, aunque su interpretación depende del contexto clínico y del método utilizado para evaluarla (Panner Selvam et al., 2021; Esteves et al.,

2021).

En conjunto, la evaluación de las características fisicoquímicas del semen, los parámetros espermáticos y la integridad del ADN permite estudiar distintos componentes del daño asociado al varicocele. Su análisis en relación con el grado clínico y las características de los pacientes contribuye a describir el patrón de afectación de la calidad seminal y su heterogeneidad (Arya et al., 2022; Gill et al., 2021).

II. JUSTIFICACIÓN

El varicocele es una patología con una alta incidencia en pacientes en edad reproductiva, en un gran número de casos pasa desapercibida y no es diagnosticada precozmente.

A pesar de que existe el conocimiento sobre su asociación con problemas reproductivos en el varón, no está claro cuál es el factor principal de esta asociación. Está documentado el daño observado en los espermatozoides de pacientes con varicocele, principalmente en el movimiento y la morfología.

En investigaciones de nuestro grupo, hemos observado que otras alteraciones frecuentes son los cambios en la vitalidad y viabilidad del espermatozoide, así como la presencia de fagocitosis espermática por células inflamatorias. No existen investigaciones sistematizadas y controladas en las que se estudie metódicamente las muestras de líquido seminal de pacientes con varicocele.

Consideramos importante investigar exhaustivamente las alteraciones seminales y espermáticas observadas en pacientes con varicocele que acuden a consulta al servicio de urología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”.

III. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS NULA

No existen diferencias en los parámetros seminales y espermáticos entre los pacientes con varicocele y los sujetos sin varicocele.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA

Los pacientes con varicocele presentan mayor deterioro de los parámetros seminales y espermáticos en comparación con los sujetos sin varicocele.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar las alteraciones seminales y espermáticas más frecuentes en pacientes con varicocele que acuden al servicio de Urología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1.- Determinar los parámetros fisicoquímicos de líquido seminal de pacientes con varicocele que acuden al servicio de urología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”

2.- Evaluar las alteraciones estructurales y funcionales (motilidad, vitalidad, morfología y concentración) de los espermatozoides de pacientes con varicocele que acuden al servicio de urología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”

3.- Analizar la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y daño en el ADN de espermatozoides en líquido seminal de pacientes con varicocele que acuden al servicio de urología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”.

4.- Analizar la correlación entre los datos clínicos y las alteraciones seminales y espermáticas observadas en pacientes con varicocele que acuden al servicio de urología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”.

V. MATERIAL Y METODOS

La consulta, diagnóstico, firma de consentimiento informado y entrevista clínica se realizará en el Servicio de Urología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, En el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la UANL se recibirá a los sujetos en su segunda visita para la obtención de la muestra de líquido seminal, su preparación inicial y la realización de cada una de las pruebas descritas en este protocolo, también será responsabilidad del departamento la obtención de los resultados de dichas pruebas y el manejo y disposición final de los residuos biológicos generados.

5.1 Clasificación del estudio

Estudio de tipo clínico prospectivo y transversal

5.2 Población de estudio

Sujetos sanos y con diagnóstico de varicocele, provenientes de la consulta en el Servicio de Urología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

5.3 Diseño experimental

5.3.1 Fases del estudio

a) Captación de sujetos

- Pacientes que acuden a consulta de urología
- Obtención de consentimiento informado
- Llenado de historia clínica
- A la consulta son diagnosticados sanos o con varicocele

b) Comprobación de criterios de inclusión y exclusión

c) Estudio de la muestra

d) Análisis de los Resultados

e) Interpretación de la estadística

5.3.2 Mecanismo de Obtención de Consentimiento Informado

1. El sujeto de investigación será invitado a participar de manera verbal, en el Servicio de Urología del Hospital Universitario (1er piso del Edificio de Consulta Externa 1 del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” Madero y Gonzalitos S/N, Col. Mitras Centro, C.P. 64460) posterior a su consulta en una primera visita.
2. Se buscará la presencia de dos testigos no relacionados con la investigación, que estén presentes durante todo el procedimiento.
3. Se le explicará de manera breve el estudio, y se le otorgará el formato de consentimiento informado para su lectura y comprensión, dando libertad de tiempo al sujeto, y aclarando las dudas que puedan presentarse.
4. Se le pedirá el llenado y la firma del formato de consentimiento al sujeto de investigación, así como a los testigos, y finalmente se procederá a firmar el mismo.
5. Se le entregará un duplicado del consentimiento informado al sujeto de investigación.

5.3.3 Selección de sujetos de estudio

5.3.3.1 Casos

Población: Pacientes que llegan a consulta al Servicio de Urología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” respetando los siguientes criterios:

- 2) Criterios de inclusión
 - Género masculino
 - Edad: a partir de los 18 años
 - Con diagnóstico de varicocele por el Servicio de Urología
 - Con consentimiento informado firmado por el paciente para el estudio de su muestra
- b) Criterios de exclusión
 - Presencia de infecciones graves, infecciosas y/o procesos febriles en los últimos 3 meses
 - Previa varicocelectomía

- Ingesta de compuestos vitamínicos o antioxidantes en los últimos 6 meses
 - Antecedente de tratamiento con quimioterapia o con diagnóstico de cáncer.
 - Paciente con ingesta activa de alfabloqueadores (antihipertensivos y tratamiento para hipertrofia prostática sintomática), SSRI (inhibidores del interruptor selectivo de serotonina), antidepresivos, suplementos y medicamentos como esteroides anabólicos.
- c) Criterios de eliminación
- Falta de información clínica
 - Falta o mala calidad del material biológico para el estudio
 - Solicitud del paciente de retirarse del estudio

5.3.3.2 Controles

Población: Pacientes que llegan a consulta al Servicio de Urología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” respetando los siguientes criterios:

- d) Criterios de inclusión
- Género masculino
 - Edad: a partir de los 18 años
 - Con diagnóstico de “sano” por el Servicio de Urología
 - Con consentimiento informado firmado por el paciente para el estudio de su muestra
- e) Criterios de exclusión
- Presencia de infecciones graves, infecciosas y/o procesos febriles en los últimos 3 meses
 - Previa varicocelectomía
 - Ingesta de compuestos vitamínicos o antioxidantes en los últimos 6 meses

- Antecedente de tratamiento con quimioterapia o con diagnóstico de cáncer.

- Paciente con ingesta activa de alfabloqueadores (antihipertensivos y tratamiento para hipertrofia prostática sintomática), SSRI (inhibidores del interruptor selectivo de serotonina), antidepresivos, suplementos y medicamentos como esteroides anabólicos.

f) Criterios de eliminación

- Falta de información clínica
- Falta o mala calidad del material biológico para el estudio
- Solicitud del paciente de retirarse del estudio

5.3.4 Mecanismo de Reclutamiento

El tiempo de reclutamiento de sujetos será de 10 meses a partir de la autorización del protocolo.

Posterior al reclutamiento se citará a cada uno de los sujetos a una segunda visita en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la UANL (Segundo Piso Ala Poniente, Facultad de Medicina, Madero y Gonzalitos S/N, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, N. L., México) acordando un horario que se facilite a ambas partes con los requerimientos explicados en la sección 5.3.8.1 de este documento, siendo la visita de una duración de entre 30min. Y 3hrs. Para la obtención de una muestra de líquido seminal.

5.3.5 Cálculo de la muestra

En este estudio se proponen dos grupos que permitan la comparación de los parámetros seminales para observar si existe una alteración de estos en pacientes con varicocele contra pacientes sanos

Grupo Control	Grupo con Varicocele
Sin antecedentes de infecciones genitourinarias recientes ni varicocele	Con diagnóstico de varicocele que cumplan con los criterios de inclusión

La determinación del tamaño muestral se realizó con la herramienta de Excel del portal Fisterra considerando la estimación de medias para los distintos parámetros a evaluar, tomando en cuenta principalmente los valores reportados de morfología espermática y la fragmentación del DNA en pacientes con varicocele en el año 2021 por el grupo de investigación de Finelli y colaboradores, siendo estos de mayor relevancia clínica para pacientes con varicocele, estipulando necesarios 20 sujetos para el grupo control y 65 para el grupo con varicocele. Para el cálculo se tomó en cuenta parámetros como un población infinita ya que no tenemos un estimado de pacientes que llegan al servicio de urología para diagnóstico de varicocele, el nivel de confianza se dejó en 95% apoyado por datos reportados por la literatura, así mismo la precisión, teniendo un nivel de confianza alto de 95% se usó un 2% de margen de error y por último se utilizó un porcentaje de pérdidas de 10% que también se ha reportado en la literatura en el caso de abandono de pacientes de un estudio.

Figura 1. Estimación de la N del grupo Control

C15

Figura 2. Estimación de la N del grupo Varicocele

=SI(ESERROR(SI(\$C\$4=0,((((BUSCARV(\$C\$7,'Cuantiles normales'!\$A\$4:\$C\$9,3,0))^2)*(\$C\$12))/(((\$C\$10)^2)),(((\$C\$4)*(BUSCARV(\$C\$7,'Cuantiles									
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	ESTIMAR UNA MEDIA								
2									
3									
4	Total de la población (N)								
5	(Si la población es infinita, dejar la casilla en blanco)								
6									
7	Nivel de confianza o seguridad (1-α)	95%							
8									
9									
10	Precisión (d)(margen de error)	2							
11									
12	Varianza (s²)	60.84							
13	(capturar la desviación estándar al cuadrado)								
14									
15	TAMAÑO MUESTRAL (n)	58							
16									
17	EL TAMAÑO MUESTRAL AJUSTADO A PÉRDIDAS								
18									
19	Porcentaje esperado de pérdidas (R)	10%							
20									
21	MUESTRA AJUSTADA A LAS PÉRDIDAS	65							
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									

NUMÉRICA

Infinita

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \cdot s^2}{d^2}$$

Finita

$$n = \frac{N \cdot Z_{1-\alpha/2}^2 \cdot s^2}{d^2 \cdot (N-1) + Z_{1-\alpha/2}^2 \cdot s^2}$$

Beatriz López Calviño
Salvador Pita Fernández
Sonia Pértega Díaz
Teresa Seoane Pillado
Unidad de epidemiología clínica y bioestadística
Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

5.3.6 Sistema de Variables

Tabla 1. Variables del Protocolo

Variables independientes			
Nombre de la variable	Unidad	Definición operacional	Escala
Tipo de paciente	N/A	Diagnóstico del paciente: sano o con varicocele	Categórica
Variables dependientes			
Nombre de la variable	Unidad	Definición operacional	Escala
Tiempo de licuefacción	Minutos	Tiempo que tarda el proceso por el cual el semen se vuelve menos compacto, resultante de la acción de las enzimas proteolíticas del plasma seminal.	Numérica

Volumen	Mililitros	Indicador de la función de glándulas excretoras y la permeabilidad del conducto eyaculador.	Numérica
Viscosidad	N/A	Categorización del tipo de goteo o formación de hilos que afecte la circulación libre de los espermatozoides	Categórica
Color	N/A	Evaluación de color puede indicar presencia de sangre o infección	Categórica
Aspecto	N/A	Evaluación relacionada a la concentración de células y presencia de detritos celular	Categórica
pH	N/A	Indicador de la presencia de elementos provenientes de vesículas seminales y la próstata	Numérica
Recuento espermático	Espermatozoides por mL	Cuantificación visual bajo microscopía de campo claro mediante una cámara Makler	Numérica
Motilidad espermática	%	Cuantificación y categorización visual bajo microscopía de campo claro en fresco de semen	Numérica

Vitalidad espermática	%	Método de exclusión del colorante eosina Y, cuantificación y categorización visual bajo microscopía de campo claro en fresco de semen	Numérica
Morfología espermática	%	Cuantificación y categorización visual bajo microscopía de campo claro de formas normales y anormales en frotis de semen teñido mediante Papanicolaou	Numérica
Índice de defectos múltiples	N/A	Valores reportados por la OMS que permiten correlacionar los resultados de la morfología con algún defecto patológico o de fertilidad	Numérica
Índice de fragmentación del ADN	%	Cuantificación y categorización visual de espermatozoides con daño y sin daño bajo microscopía de campo claro en preparación evaluada mediante la prueba de dispersión de la cromatina espermática (SCD)	Numérica

Presencia de especies reactivas de oxígeno	RLU por millón de espermatozoides	Cuantificación de unidades relativas de luz, producto de la reacción quimioluminiscente del luminol con radicales libres, que son moduladores de la función espermática y daño en el DNA	Numérica
Determinación de Fructosa	Micro moles por mililitro	Cuantificación de fructosa se fundamenta en que ésta se encuentra presente en el plasma seminal, su concentración está estrechamente ligada con la función de las vesículas seminales	Numérica
Determinación de Citrato	Micro moles por mililitro	Cuantificación de citrato se fundamenta en que éste se encuentra presente en el plasma seminal, y su concentración está estrechamente ligada con la función de la próstata	Numérica

5.3.7 Mecanismos de confidencialidad

Los datos obtenidos tras el análisis de las muestras de líquido seminal no indicarán la identidad del sujeto de investigación, para ello se utilizará un cifrado de los datos, que no revelará la información personal del sujeto de investigación. Los datos de los sujetos obtenidos en los formularios de consentimiento informado serán conocidos únicamente por el equipo de investigación, y por las autoridades sanitarias que puedan solicitarlo por cuestiones de calidad.

5.3.8 Estudio de la muestra

5.3.8.1 Toma de la muestra

- a) Toma debe hacerse con abstinencia sexual de 2 a 7 días
- b) Debe ser recogida por masturbación en una sala de tomas
- c) Se debe recolectar todo el eyaculado, evitando pérdidas
- d) Rotular con datos del paciente y hora de la toma
- e) Se debe entregar al laboratorio de manera inmediata después de la recolección
- f) Mientras se entrega la muestra al laboratorio, debe mantenerse a temperatura ambiente entre 20°C y 37°C

5.3.8.2 Evaluación fisicoquímica (Apéndice A)

- a) Tiempo de licuefacción
- b) Medición del volumen
- c) Evaluación de la viscosidad
 - Disminuida
 - Normal
 - Aumentada
- d) Evaluación del color
- e) Evaluación del aspecto
 - Translúcido
 - Semitranslúcido
 - Opaco
- f) Determinación del pH

5.3.8.3 Determinación del recuento espermático (Apéndice A)

- a) Uso de microscopio de campo claro Primo Star (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Alemania) en un aumento de 200x
- b) Cálculo a partir del análisis en cámara makler, expresado en espermatozoides/mL

5.3.8.4 Determinación de los valores de motilidad (Apéndice A)

a) Uso de microscopio de campo claro Primo Star (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Alemania) en un aumento de 200x

Grado A	Grado B	Grado C	Grado D
Progresivos Rápidos	Progresivos Lentos	No progresivos	Inmóviles
$\geq 25\mu\text{m/s}$	5 a $< 25\mu\text{m/s}$	$< 5\mu\text{m/s}$	Sin actividad del flagelo

b) Cálculo de porcentaje por grado de motilidad en una lectura total de 100 espermatozoides

5.3.8.5 Determinación de los valores de vitalidad (Apéndice A)

a) Uso de microscopio de campo claro Primo Star (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Alemania) en un aumento de 200x en una lectura total de 100 espermatozoides

b) Cálculo de porcentaje de espermatozoides vivos

c) Cálculo de porcentaje de espermatozoides muertos

5.3.8.6 Determinación de la morfología espermática (Apéndice A)

a) Uso de microscopio de campo claro Primo Star (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Alemania) en un aumento de 1000x en una lectura total de 200 espermatozoides

b) Cálculo de porcentaje de formas espermáticas normales

c) Cálculo de porcentaje de formas espermáticas anormales

- Defectos en la cabeza
- Defectos en el núcleo
- Defectos del acrosoma
- Defectos del cuello y la pieza intermedia
- Defectos de la pieza principal
- Exceso de citoplasma residual (ERC)
- Alteraciones mecánicas

5.3.8.7 Cálculo del índice de defectos múltiples (Apéndice B)

El cálculo de la incidencia de defectos múltiples se lleva a cabo a través de:

- a) Índice de teratozoospermia
- b) Índice de anomalías múltiples
- c) Índice de deformidades espermáticas

5.3.8.8 Determinación de fragmentación del DNA espermático (Apéndice C)

- a) Prueba de dispersión de cromatina que evalúa la fragmentación del DNA a través de la formación de halos de dispersión por efecto de los reactivos los cuales desnaturalizan las proteínas que envuelven a los ácidos nucleicos
- b) Uso de microscopio de campo claro Primo Star (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Alemania) en un aumento de 1000x en una lectura total de 200 espermatozoides
- c) Cálculo de porcentaje por clasificación de halos
 - Grande
 - Mediano
 - Pequeño
 - Sin halo
 - Halo degradado
- d) Sumatoria de porcentaje de la clasificación: pequeño, sin halo y halo degradado para determinación de fragmentación

5.3.8.9 Determinación de producción de especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo (Apéndice D)

- a) Método de luminol basado en la cuantificación de unidades relativas de luz, producto de la reacción quimioluminiscente del luminol con radicales libres, que son moduladores de la función espermática y daño en el DNA
- b) Cálculo del número de unidades relativas de luz (RLU) por cada millón de espermatozoides

5.3.8.10 Determinación de parámetros bioquímicos (Apéndice E)

- a) Cálculo de fructosa en la muestra a partir de método enzimático-colorimétrico
- b) Cálculo de citrato en la muestra a partir de método enzimático-colorimétrico

5.3.8.11 Correlación de datos demográficos con resultados obtenidos

- a) Uso del formato “Entrevista clínica enfocada a la caracterización clínica del paciente” para recabar la información, a través del uso de 55 ítems totales en la encuesta:

- Ficha de identificación que incluya edad, estado civil, escolaridad, ocupación y vivienda
- Historia familiar
- Ocupación y hábitos
- Antecedentes en la infancia
- Antecedentes patológicos
- Antecedentes quirúrgicos
- Padecimiento actual
- Exploración física
- A la consulta y diagnóstico de varicocele

- b) Formación de base de datos de entrevista clínica
- c) Estadística de frecuencias demográficas para comparación entre grupos y relacionar con resultados de las pruebas anteriormente descritas

5.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el programa IBM SPSS Statistics para Windows, versión 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, Estados Unidos).

Las variables categóricas se describieron mediante frecuencias absolutas y porcentajes. La normalidad de las variables cuantitativas se evaluó mediante la prueba de Shapiro–Wilk. Las variables con distribución normal se expresaron como media y desviación estándar, mientras que aquellas sin distribución normal se presentaron como mediana y rango intercuartílico, correspondiente a los percentiles 25 y 75.

Para comparar las variables cuantitativas entre los pacientes con varicocele y el grupo control se utilizaron la prueba t de Student para muestras independientes o la prueba U de Mann–Whitney, según la distribución de los datos. Las variables categóricas se compararon mediante la prueba de chi-cuadrada, y las proporciones de alteraciones seminales entre ambos grupos se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher.

Los parámetros seminales se categorizaron de acuerdo con los límites inferiores de referencia establecidos en la sexta edición del Manual de laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (2021). Para evaluar la asociación entre la presencia de varicocele y las alteraciones seminales, se calcularon razones de momios (odds ratio, OR) con intervalos de confianza del 95% (IC 95%). En las tablas de contingencia de 2×2 que presentaron alguna celda con frecuencia cero, se aplicó la corrección de Haldane–Anscombe para estimar el OR y su intervalo de confianza.

Se realizó un subanálisis de los pacientes con varicocele según su grado, considerando las categorías subclínico o grado 0, grado I, grado II y grado III. Los parámetros cuantitativos se compararon entre estas categorías mediante la prueba de Kruskal–Wallis, mientras que las frecuencias de alteraciones seminales se compararon mediante chi-cuadrada. Asimismo, se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman (ρ) para evaluar la dirección y magnitud de la asociación monotónica entre el grado de varicocele y los parámetros seminales, así como con la presencia de alteraciones.

La carga acumulada de alteraciones seminales se definió como el número de parámetros por debajo de los límites inferiores de referencia de la OMS, considerando la concentración, el recuento total, la motilidad progresiva, la motilidad total, la vitalidad y la morfología espermática. Esta variable se comparó entre el grupo con varicocele y el grupo control mediante la prueba U de Mann–Whitney, y su asociación con el grado de varicocele se evaluó mediante el coeficiente de Spearman. Adicionalmente, se comparó la proporción de participantes con al menos una alteración seminal mediante la prueba exacta de Fisher y se estimó el OR con su IC 95%.

La asociación de la edad, el índice de masa corporal y la estatura con los parámetros espermáticos se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Spearman. Las comparaciones de dichos parámetros según la presencia o ausencia de tabaquismo, consumo de alcohol y otras toxicomanías se realizaron mediante la prueba U de Mann–Whitney.

Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

5.5 Bioseguridad

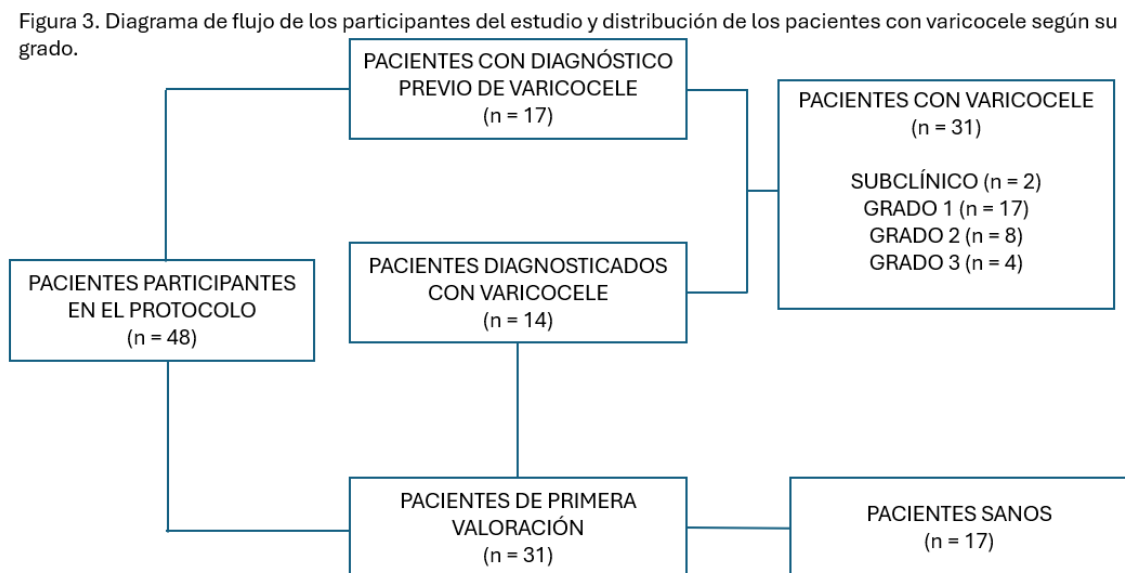
El destino de las muestras será su eliminación como lo dicta la NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental – Salud ambiental – Residuos peligrosos biológico-infecciosos – Clasificación y especificaciones de manejo y las políticas institucionales, que indican que todas las muestras de líquido seminal, estarán presentes en contenedores herméticos de plástico, como frascos y tubos, y serán manejadas como material RPBI. Para esto, serán dispuestas en bolsas rojas de polietileno. Los materiales punzocortantes, tales como agujas, material de vidrio o puntillas de micropipeta serán dispuestos en contenedores herméticos de plástico para punzocortantes.

5.6 Aspectos Éticos

En este protocolo de investigación se cumplirán los principios bioéticos esenciales en toda investigación con seres humanos: respeto por las personas, beneficencia y justicia; respetando los lineamientos establecidos en el ámbito nacional e internacional. En el ámbito internacional se consideran el informe Belmont, el Código de Núremberg, las recomendaciones de la Declaración de Helsinki, así como las pautas de las Buenas Prácticas Clínicas. En el ámbito nacional, se seguirán las disposiciones conforme al Reglamento de la Ley General de Salud, Título Quinto, capítulo único. De acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en el Artículo 17 del título II referente a los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, el presente estudio de investigación se considera con riesgo mínimo. Respetando el artículo 18 de la misma se suspenderá la investigación si ocasionará algún daño severo a los participantes, cumpliendo el artículo 19 para hacerse cargo de ellos.

VI. RESULTADOS

Se incluyeron 48 participantes, de los cuales 17 tenían diagnóstico previo de varicocele y 31 acudieron a una primera valoración. Entre estos últimos, 14 fueron diagnosticados con varicocele y 17 conformaron el grupo control. La muestra final estuvo integrada por 31 pacientes con varicocele y 17 sujetos sin varicocele. En el grupo con varicocele, 2 pacientes presentaron enfermedad subclínica, 17 grado I, 8 grado II y 4 grado III. La distribución de los participantes se presenta en la **Figura 3**.



6.1 Resultados del Objetivo Específico 1: Parámetros Físicoquímicos y Macroscópicos del Líquido Seminal

El análisis del volumen del eyaculado no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los pacientes con varicocele presentaron una mediana de 3.40 mL (RIC: 2.53–4.50), en comparación con 2.85 mL (RIC: 2.50–4.12) en el grupo control ($p = 0.914$).

En cuanto al tiempo de licuefacción del semen, el grupo con varicocele presentó una mediana de 19.00 minutos (RIC: 16.00–24.00), mientras que en el grupo control fue de 16.00 minutos (RIC: 14.00–20.00). A pesar de observarse un mayor

tiempo de licuefacción en los pacientes con varicocele, esta diferencia no alcanzó significancia estadística ($p = 0.191$).

Asimismo, no se observaron diferencias significativas en el pH seminal entre ambos grupos, con una mediana de 8.20 tanto en los pacientes con varicocele como en los controles ($p = 0.393$). Los resultados correspondientes a los parámetros fisicoquímicos y macroscópicos del líquido seminal se resumen en la **Tabla 2**.

La evaluación de las características macroscópicas del semen no mostró diferencias estadísticamente significativas en la viscosidad ni en el aspecto de la muestra entre los pacientes con varicocele y el grupo control ($p = 0.937$ y $p = 0.439$, respectivamente).

En contraste, la coloración del eyaculado mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p = 0.014$). En el grupo control predominó la coloración aperlada, presente en el 64.7% de los sujetos, mientras que en los pacientes con varicocele predominó la coloración grisácea, observada en el 70.9% de los casos. La distribución de estas características macroscópicas se presenta en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Resultados de parámetros fisicoquímicos

Parámetro	Varicocele (n = 31)	Control (n = 17)	Valor p
Volumen (mL)	3.40 (2.53 – 4.50)	2.85 (2.50 – 4.12)	0.914*
Tiempo de licuefacción (min)	19.00 (16.00 – 24.00)	16.00 (14.00 – 20.00)	0.191*
pH	8.20 (7.90 – 8.20)	8.20 (8.20 – 8.20)	0.393*
Viscosidad			0.937 **
Disminuida	15 (48.4%)	8 (47.0%)	
Aumentada	16 (51.6%)	9 (53.0%)	
Color			0.014 **
Gris	22 (70.9%)	5 (29.4%)	
Aperlado	9 (29.1%)	11 (64.7%)	
Blanco	0 (0.0%)	1 (5.9%)	
Aspecto			0.439**
Opaco	6 (19.4%)	1 (5.9%)	
Semi traslucido	18 (58.0%)	12 (70.5%)	
Traslucido	7 (22.6%)	4 (23.6%)	

*Nivel de significancia evaluado mediante la prueba U de Mann-Whitney.

** Nivel de significancia evaluado mediante la prueba de Chi-cuadrada.

Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

6.2 Resultados del Objetivo Específico 2: Alteraciones Estructurales y Funcionales de los Espermatozoides

6.2.1 Parámetros espermáticos entre pacientes con varicocele vs controles

En el análisis del recuento espermático, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. La concentración espermática presentó una mediana de $45.00 \times 10^6/\text{mL}$ (RIC: 16.00–71.50) en el grupo con varicocele, en comparación con $58.00 \times 10^6/\text{mL}$ (RIC: 39.00–80.00) en el grupo control ($p = 0.394$).

De manera similar, el recuento total de espermatozoides por eyaculado no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los pacientes con varicocele presentaron una mediana de 154.00×10^6 espermatozoides (RIC: 56.50–215.50), frente a 180.00×10^6 espermatozoides (RIC: 70.00–297.00) en el grupo control ($p = 0.413$).

El análisis de la motilidad espermática mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Los pacientes con varicocele presentaron una menor motilidad progresiva en comparación con el grupo control ($52.16\% \pm 14.67$ vs. $60.47\% \pm 10.68$, respectivamente; $p = 0.030$). De manera similar, la motilidad total fue menor en el grupo con varicocele ($66.71\% \pm 15.50$) que en el grupo control ($75.24\% \pm 9.30$), con una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.022$). En concordancia con estos hallazgos, el porcentaje de espermatozoides inmóviles fue mayor en los pacientes con varicocele ($33.29\% \pm 15.50$) en comparación con los controles ($24.35\% \pm 9.62$; $p = 0.018$).

Asimismo, la vitalidad espermática fue significativamente menor en el grupo con varicocele, con una mediana de 59.00% (RIC: 53.50–67.00), en comparación con 73.00% (RIC: 66.00–79.00) en el grupo control ($p = 0.005$).

La evaluación de la morfología espermática mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Los pacientes con varicocele presentaron un menor porcentaje de formas espermáticas normales, con una mediana de 5.00% (RIC: 2.00–7.50), en comparación con 11.00% (RIC: 4.00–33.00) en el grupo control ($p = 0.009$).

En conjunto, los resultados de los parámetros microscópicos, estructurales y funcionales del semen se resumen en la **Tabla 3**.

Tabla 3: Parámetros espermáticos en pacientes con varicocele vs controles

Parámetro	Varicocele (n = 31)	Control (n = 17)	Valor p
Concentración (10⁶/mL)	45.00 (16.00 – 71.50)	58.00 (39.00 – 80.00)	0.394*
Recuento Total (10⁶)	154.00 (56.50 – 215.50)	180.00 (70.00 – 297.00)	0.413*
Motilidad Progresiva (%)	52.16 ± 14.67	60.47 ± 10.68	0.030**
Motilidad Total (%)	66.71 ± 15.50	75.24 ± 9.30	0.022**
Espermatozoides Inmóviles (%)	33.29 ± 15.50	24.35 ± 9.62	0.018**
Vitalidad (%)	59.00 (53.50 – 67.00)	73.00 (66.00 – 79.00)	0.005*
Morfología Normal (%)	5.00 (2.00 – 7.50)	11.00 (4.00 – 33.00)	0.009*

*Nivel de significancia evaluado mediante la prueba de U de Mann-Whitney.

** Nivel de significancia evaluado mediante la prueba de T-Student.

Diferencia estadísticamente significativa (p < 0.05).

6.2.2 Parámetros espermáticos según el grado de varicocele

En relación con el recuento espermático, se observó una disminución progresiva de la concentración conforme aumentó el grado de varicocele. La mediana de concentración espermática fue de $52.0 \times 10^6/\text{mL}$ tanto en el grado 0 como en el grado I, disminuyó a $33.5 \times 10^6/\text{mL}$ en el grado II y alcanzó su valor más bajo en el grado III, con $10.5 \times 10^6/\text{mL}$. Aunque la comparación global mediante la prueba de Kruskal-Wallis no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p = 0.194$), el análisis de Spearman identificó una correlación inversa de magnitud moderada, cercana al umbral de significancia estadística ($\rho = -0.351$; $p = 0.053$), lo que indica una tendencia hacia una menor concentración espermática conforme aumenta el grado de varicocele. De manera similar, los parámetros de motilidad progresiva y motilidad total mostraron valores inferiores en los pacientes con varicocele grado III; sin embargo, las diferencias y correlaciones observadas no alcanzaron significancia estadística.

La morfología espermática mostró una disminución progresiva conforme aumentó el grado de varicocele. Los pacientes con varicocele subclínico (grado 0) presentaron una mediana de formas normales de 10.5%, la cual disminuyó a 5.0% en el grado I, 4.0% en el grado II y 1.5% en el grado III. La comparación global mediante Kruskal-Wallis mostró una tendencia hacia diferencias entre los grupos, aunque sin alcanzar significancia estadística ($p = 0.069$). No obstante, el análisis de correlación de Spearman evidenció una correlación inversa estadísticamente significativa entre el grado de varicocele y el porcentaje de formas espermáticas normales ($\rho = -0.390$; $p = 0.030$). Estos resultados indican que, en la cohorte estudiada, un mayor grado clínico de varicocele se asoció con un menor porcentaje de espermatozoides con morfología normal. Resumen en la

Tabla 4.

Tabla 4: Parámetros espermáticos según el grado de varicocele

Parámetro Microscópico	Grado 0 (n=2)	Grado I (n=17)	Grado II (n=8)	Grado III (n=4)	Prueba de Kruskal-Wallis (p)	Correlación de Spearman ρ	Valor p (Spearman)
Concentración ($10^6/\text{mL}$)	52.00 (45.0 - 59.0)	52.00 (18.0 - 108.0)	33.50 (19.5 - 62.5)	10.50 (8.7 - 28.0)	0.194	-0.351	0.053
Recuento Total (10^6)	155.50 (119.2 - 191.7)	164.00 (100.2 - 290.0)	130.00 (63.7 - 176.7)	39.00 (32.0 - 125.0)	0.499	-0.249	0.177
Motilidad Progresiva (%)	48.50 (46.7 - 50.2)	59.00 (49.0 - 63.0)	59.00 (48.7 - 63.0)	37.50 (31.5 - 43.7)	0.174	-0.160	0.391
Motilidad Total (%)	63.00 (62.5 - 63.5)	69.00 (61.0 - 80.0)	69.50 (64.5 - 77.7)	50.00 (40.0 - 58.7)	0.151	-0.174	0.349
Espermatozoides Inmóviles (%)	37.00 (36.5 - 37.5)	31.00 (20.0 - 39.0)	30.50 (22.2 - 35.5)	50.00 (41.2 - 60.0)	0.151	0.174	0.349
Vitalidad (%)	63.00 (56.0 - 70.0)	59.00 (51.0 - 64.0)	61.00 (59.2 - 72.5)	56.00 (54.0 - 57.5)	0.382	-0.045	0.812
Morfología Normal (%)	10.50 (8.2 - 12.7)	5.00 (3.0 - 7.0)	4.00 (2.7 - 9.7)	1.50 (1.0 - 2.2)	0.069	-0.390	0.030*

*La correlación inversa confirma un deterioro estructural progresivo estadísticamente significativo ($p < 0.05$) a mayor severidad del varicocele.

6.2.3 Frecuencias de alteraciones seminales y espermáticas entre pacientes con varicocele vs controles

Con el objetivo de evaluar la frecuencia de alteraciones seminales en ambos grupos, los parámetros microscópicos se dicotomizaron de acuerdo con los límites inferiores de referencia establecidos por la sexta edición del Manual de laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el examen y procesamiento del semen humano (2021). Las proporciones de alteraciones

seminales entre los pacientes con varicocele y el grupo control se compararon mediante la prueba exacta de Fisher. Asimismo, se calcularon las razones de momios (odds ratio, OR) con sus respectivos intervalos de confianza del 95% (IC 95%) como medidas de asociación (**Tabla 5**). La **Figura 4** demuestra las alteraciones más frecuentes en pacientes con varicocele.

La teratozoospermia, definida como un porcentaje de formas espermáticas normales < 4%, estuvo presente en el 45.2% de los pacientes con varicocele y en el 17.6% del grupo control. Los pacientes con varicocele presentaron mayores momios de teratozoospermia en comparación con los controles (OR = 3.84; IC 95%: 0.92–16.10); sin embargo, esta asociación no alcanzó significancia estadística ($p = 0.068$).

La necrozoospermia, vitalidad espermática (< 54%) se observó en el 25.8% de los pacientes con varicocele y en el 11.8% de los controles. La presencia de varicocele se asoció con un OR de 2.61 para vitalidad espermática disminuida (IC 95%: 0.49–14.00), sin alcanzar significancia estadística ($p = 0.459$). De manera similar, la oligozoospermia, definida como una concentración espermática < $16 \times 10^6/\text{mL}$, estuvo presente en el 22.6% del grupo con varicocele y en el 11.8% del grupo control (OR = 2.19; IC 95%: 0.40–11.96; $p = 0.460$).

Finalmente, la motilidad total, motilidad progresiva y la hipospermia se identificaron en el 9.7% ($n = 3$) de los pacientes con varicocele, sin registrarse casos en el grupo control. Debido a la presencia de celdas con frecuencia cero, se aplicó la corrección de Haldane-Anscombe para la estimación del OR, obteniéndose un valor de 4.29. No obstante, las diferencias entre los grupos no fueron estadísticamente significativas ($p = 0.542$).

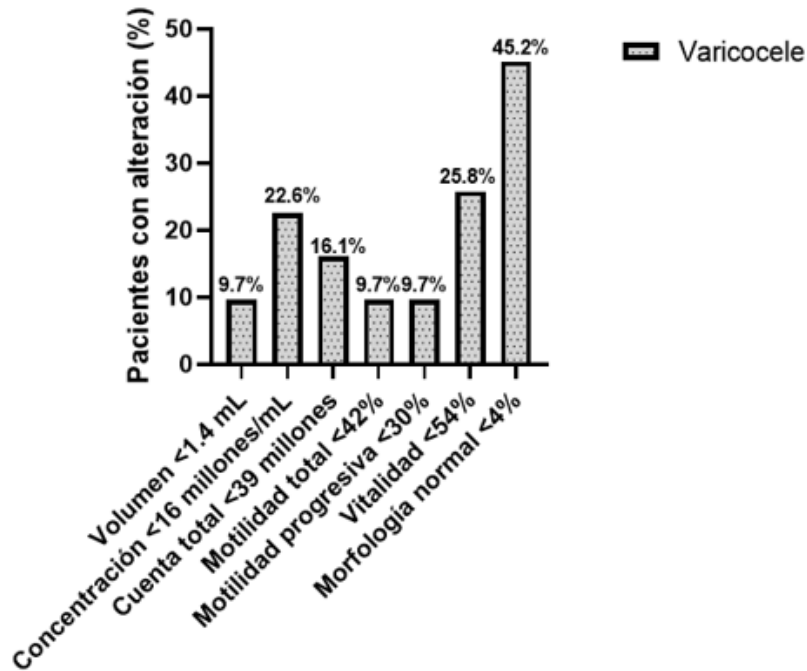
Tabla 5: Alteraciones espermáticas en pacientes con varicocele vs controles

Parámetro (Criterio de Anormalidad)	Varicocele n (%)	Control n (%)	OR (IC95%)	P (Fisher)
Hipospermia (< 1.4 mL)	3 (9.7%)	0 (0.0%)	4.29 (0.21-88.5) †	0.542
Oligozoospermia (< 16 millones /mL)	7 (22.6%)	2 (11.8%)	2.19 (0.40-11.96)	0.460
Recuento Total disminuido (< 39 millones)	5 (16.1%)	2 (11.8%)	1.44 (0.25-8.40)	1.000
Motilidad Total disminuido (< 42%)	3 (9.7%)	0 (0.0%)	4.29 (0.21-88.5) †	0.542
Motilidad Progresiva disminuido (<30%)	3 (9.7%)	0 (0.0%)	4.29 (0.21-88.5) †	0.542
Necrozoospermia (<54%)	8 (25.8)	2 (11.8)	2.61 (0.49-14.0)	0.459
Teratozoospermia (< 4%)	14 (45.2%)	3 (17.6%)	3.84 (0.92-16.1)	0.068

*OR expresado como odds de alteración en varicocele respecto al grupo control.

†Estimación con corrección de Haldane-Anscombe debido a una celda con frecuencia cero

Figura 4: Frecuencia de alteraciones espermáticas en pacientes con varicocele



6.2.4 Frecuencias de alteraciones seminales y espermáticas según el grado de varicocele

En cuanto a la oligozoospermia (concentración espermática $< 16 \times 10^6/\text{mL}$), se observó un incremento progresivo en su frecuencia conforme aumentó el grado de varicocele. Esta alteración estuvo ausente en los pacientes con varicocele subclínico (grado 0), se presentó en el 11.8% de los pacientes con grado I, aumentó al 25.0% en el grado II y alcanzó una frecuencia del 75.0% en los pacientes con grado III. La comparación de proporciones mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (χ^2 , $p = 0.045$). Asimismo, el análisis de correlación de Spearman evidenció una asociación positiva estadísticamente significativa entre el grado de varicocele y la presencia de oligozoospermia ($p = 0.434$; $p = 0.015$), indicando una mayor frecuencia de esta alteración conforme aumentó la severidad clínica del varicocele.

La teratozoospermia (morfología normal $< 4\%$) mostró un patrón similar. No se identificaron casos entre los pacientes con varicocele grado 0, mientras que su frecuencia fue del 35.3% en el grado I y del 50.0% en el grado II. En los pacientes con varicocele grado III, la teratozoospermia estuvo presente en el 100% de los casos ($n = 4$). El análisis de correlación de Spearman mostró una asociación positiva estadísticamente significativa entre el grado de varicocele y la presencia de teratozoospermia ($p = 0.433$; $p = 0.015$), evidenciando una mayor frecuencia de alteraciones morfológicas conforme aumentó el grado clínico del varicocele.

Por el contrario, la frecuencia de hipospermia, astenozoospermia y necrozoospermia no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grados de varicocele ($p > 0.05$). Asimismo, el análisis de correlación de Spearman no evidenció asociaciones estadísticamente significativas entre el grado clínico del varicocele y la presencia de estas alteraciones seminales. Los resultados se resumen en la **Tabla 6**.

Tabla 6: Alteraciones espermáticas en pacientes según el grado de varicocele

Parámetro (Criterio de Anormalidad)	Grado 0 (n = 2)n (%)	Grado I (n = 17)n (%)	Grado II (n = 8)n (%)	Grado III (n = 4)n (%)	Valor p* (Chi-cuadrada)	Correlación de Spearman (p)	Valor p (Spearman)
Hiperspermia (< 1.4 mL)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)	0.849	-0.034	0.857
Oligozoospermia (< 16 millones /mL)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	2 (25.0%)	3 (75.0%)	0.045*	0.434	0.015**
Recuento Total disminuido (< 39 millones)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	1 (12.5%)	2 (50.0%)	0.251	0.266	0.148
Motilidad Total disminuida (< 42%)	0 (0.0%)	1 (5.9%)	1 (12.5%)	1 (25.0%)	0.650	0.216	0.243
Motilidad Progresiva disminuida (<30%)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	0 (0.0%)	1 (25.0%)	0.526	0.047	0.801
Necrozoospermia (<54%)	1 (50.0%)	6 (35.3%)	0 (0.0%)	1 (25.0%)	0.241	-0.283	0.123
Teratozoospermia (< 4%)	0 (0.0%)	6 (35.3%)	4 (50.0%)	4 (100.0%)	0.064	0.433	0.015**

*Nivel de significancia estadístico avalado tanto por la disparidad intergrupai ($p < 0.05$)

** Progresión de daño lineal dependiente del grado clínico (Spearman $p < 0.05$)

6.2.5 Carga acumulada de alteraciones seminales entre pacientes con varicocele vs controles

Con el objetivo de evaluar de manera integral las alteraciones del perfil seminal, se cuantificó en cada paciente la carga acumulada de alteraciones seminales, definida como el número de parámetros que se encontraban por debajo de los límites inferiores de referencia establecidos por la OMS 2021. Para este análisis se consideraron la concentración espermática, cuenta espermática total, motilidad progresiva, motilidad total, vitalidad y morfología.

El grupo con varicocele presentó una mediana de 1.0 alteraciones seminales concurrentes (RIC: 0.5–2.0), mientras que en el grupo control la mediana fue de 0.0 (RIC: 0.0–1.0). La comparación mediante la prueba U de Mann-Whitney mostró una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p = 0.012$), con un mayor número de parámetros seminales alterados en los pacientes con varicocele.

Posteriormente, los participantes se clasificaron de acuerdo con la presencia de un espermograma sin alteraciones o de al menos un parámetro seminal anormal. En el grupo con varicocele, el 74.2% de los pacientes ($n = 23$) presentó al menos una alteración seminal, mientras que el 25.8% ($n = 8$) no presentó alteraciones

en los parámetros evaluados. En contraste, en el grupo control, el 29.4% de los participantes (n = 5) presentó al menos una alteración, mientras que el 70.6% (n = 12) mantuvo todos los parámetros evaluados dentro de los límites de referencia.

La comparación mediante la prueba exacta de Fisher mostró una diferencia estadísticamente significativa en la proporción de pacientes con al menos una alteración seminal entre ambos grupos (p = 0.005). Asimismo, el análisis de asociación mostró que los pacientes con varicocele presentaron mayores *odds* de tener al menos una alteración seminal en comparación con los controles (OR = 6.90; IC 95%: 1.85–25.8). Los resultados se resumen en la **Tabla 7**.

Tabla 7: Número de alteraciones espermáticas en pacientes con varicocele vs controles

Variable	Varicocele (n=31)	Control (n=17)	p
Número de alteraciones seminales	1.0 (0.5-2.0)	0.0 (0-1.0)	0.012 *

Grupo	≥ 1 alteración	Ninguna alteración	OR (IC95%)	p (Fisher)
Varicocele (n=31)	23 (74.2%)	8 (25.8%)	6.90 (1.85-25.8)	0.005 **
Control (n=17)	5 (29.4%)	12 (70.6%)		

Datos expresados como mediana (P25–P75).

* Comparación mediante U de Mann–Whitney. Se consideró significativo p <0.05.

** Nivel de significancia evaluado mediante prueba exacta de Fisher.

6.2.6 Carga acumulada de alteraciones seminales según el grado de varicocele

Se observó un incremento en el número de parámetros seminales simultáneamente alterados conforme aumentó el grado clínico del varicocele. Los pacientes con varicocele subclínico (grado 0) presentaron una mediana de 0.5 alteraciones concurrentes, mientras que en los grados I y II la mediana fue de 1.0. En los pacientes con varicocele grado III, la carga acumulada alcanzó una

mediana de 3.0 alteraciones seminales concurrentes (RIC: 2.0–4.0), constituyendo el grupo con el mayor número de parámetros seminales afectados. El análisis de correlación de Spearman mostró una asociación positiva estadísticamente significativa entre el grado clínico del varicocele y el número acumulado de alteraciones seminales ($\rho = 0.384$; $p = 0.033$). Estos resultados indican que, en la cohorte estudiada, un mayor grado de varicocele se asoció con un mayor número de parámetros seminales alterados de manera concurrente. Adicionalmente, se analizó la proporción de pacientes que presentaron al menos una alteración seminal según el grado clínico del varicocele. La frecuencia de pacientes con al menos un parámetro seminal alterado fue del 50.0% en el grado 0, 70.6% en el grado I, 75.0% en el grado II y 100.0% en el grado III ($n = 4$). El análisis de correlación de Spearman mostró una asociación positiva estadísticamente significativa ($\rho = 0.412$; $p = 0.021$) entre el incremento del grado clínico del varicocele y la presencia de al menos una alteración seminal. Los resultados se resumen en la **Tabla 8**.

Tabla 8: Número de alteraciones espermáticas en pacientes según el grado de varicocele

Parámetro Evaluado	Grado 0 (n=2)	Grado I (n=17)	Grado II (n=8)	Grado III (n=4)	Correlación de Spearman (ρ)	Valor p*
Carga de alteraciones simultáneas (Mediana y RIC)	0.5 (0.2 – 0.7)	1.0 (0.0 – 2.0)	1.0 (0.7 – 2.0)	3.0 (2.0 – 4.0)	0.384	0.033
Espermograma Patológico Global (Al menos 1 alteración)	1 (50.0%)	12 (70.6%)	6 (75.0%)	4 (100.0%)	0.412	0.021

*Nivel de significancia evaluado mediante Correlación de Spearman, Se consideró significativo $p < 0.05$.

6.3 Resultados del Objetivo Específico 3: Daño en la fragmentación de ADN

Durante la implementación de la prueba de dispersión de la cromatina espermática se presentaron dificultades en la estandarización de la técnica que impidieron obtener resultados confiables para evaluar la fragmentación del ADN espermático. Por este motivo, los resultados de esta determinación no se

incluyeron en el análisis del presente trabajo.

Al cierre de esta versión de la tesis, las dificultades técnicas habían sido corregidas y las muestras disponibles se encontraban en proceso de recuperación y evaluación para su posterior análisis. Los resultados se incorporarán en una actualización del trabajo, una vez concluido su procesamiento y verificada su calidad. En consecuencia, la evaluación de este objetivo específico permanece pendiente y no se establecen conclusiones sobre la fragmentación del ADN espermático en la población estudiada.

6.4 Resultados del Objetivo Específico 4: Correlación de las características demográficas

Con el objetivo de identificar posibles variables clínicas y de estilo de vida relacionadas con la calidad seminal, se analizó la asociación de la edad, índice de masa corporal (IMC), altura, toxicomanías, tabaquismo y consumo de alcohol con los principales parámetros del espermograma (**Tabla 9**).

En el análisis de correlación de Spearman, la edad no mostró una asociación estadísticamente significativa con la concentración espermática ($\rho = 0.249$; $p = 0.177$), cuenta total ($\rho = 0.208$; $p = 0.260$), motilidad total ($\rho = 0.168$; $p = 0.367$), motilidad progresiva ($\rho = 0.152$; $p = 0.416$), vitalidad ($\rho = 0.025$; $p = 0.892$) ni porcentaje de formas normales ($\rho = -0.150$; $p = 0.421$). De manera similar, el IMC no presentó correlaciones estadísticamente significativas con ninguno de los parámetros seminales evaluados, aunque se observó una tendencia hacia una correlación positiva con la motilidad total ($\rho = 0.348$; $p = 0.055$).

Respecto a la altura, se identificaron correlaciones negativas con la concentración espermática ($\rho = -0.270$; $p = 0.149$), cuenta total ($\rho = -0.220$; $p = 0.243$), motilidad total ($\rho = -0.344$; $p = 0.062$), vitalidad ($\rho = -0.173$; $p = 0.360$) y formas normales ($\rho = -0.147$; $p = 0.430$), sin alcanzar significancia estadística. La única asociación significativa se observó entre la altura y la motilidad progresiva, con una correlación negativa de magnitud débil a moderada ($\rho = -0.379$; $p = 0.039$).

Por otra parte, al comparar los parámetros seminales según la presencia o ausencia de toxicomanías, tabaquismo y consumo de alcohol, mediante la prueba U de Mann–Whitney, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros analizados (todos $p > 0.05$). En conjunto, estos resultados sugieren que, dentro de la cohorte estudiada, los factores evaluados no mostraron una asociación relevante con la calidad seminal, con excepción de la relación inversa observada entre la altura y la motilidad progresiva.

Tabla 9: Correlación de las características demográficas

Factor evaluado	Concentración	Cuenta total	Motilidad total	Motilidad progresiva	Vitalidad	Formas normales
Edad*	P= 0.249; p=0.177	P= 0.208; p=0.260	P= 0.168; p=0.367	P= 0.152; p=0.416	P=0.025; p=0.892	P= -0.150; p= 0.421
IMC*	P= 0.290; p= 0.113	P=0.259; p=0.159	P=0.348; p=0.055	P=0.246; p=0.181	P=0.076; p=0.684	P = 0.016; p=0.931
Altura*	P=-0.270; p=0.149	P=-0.220; p= 0.243	P=-0.344; p=0.062	P=-0.379; p=0.039	P=-0.173 ; p= 0.360	P= -0.147; p= 0.430
Toxicomanías**	0.836	0.730	0.628	1.000	0.498	0.062
Tabaquismo**	0.786	0.718	0.498	0.572	0.874	0.317
Consumo de alcohol**	0.439	0.551	0.211	0.382	0.605	0.795

*Datos expresados como coeficiente de correlación de Spearman (ρ) y valor de p.

**Valores de p obtenidos mediante prueba U de Mann–Whitney.

Se consideró estadísticamente significativo $p < 0.05$.

VII DISCUSIÓN

En este estudio, la presencia de varicocele se asoció con menor motilidad, vitalidad y morfología espermática, así como con una mayor carga de alteraciones seminales respecto a los sujetos sin varicocele. Las diferencias fueron más evidentes en las características funcionales y estructurales de los espermatozoides que en su concentración o recuento total. Asimismo, un mayor grado de varicocele se relacionó con menor porcentaje de formas normales y mayor número de parámetros alterados. Estos hallazgos sugieren un patrón heterogéneo de afectación seminal, cuya interpretación requiere considerar tanto las diferencias entre grupos como la variabilidad individual.

La motilidad progresiva fue menor en los pacientes con varicocele que en los controles ($52.16 \pm 14.67\%$ frente a $60.47 \pm 10.68\%$; $p = 0.030$), al igual que la motilidad total ($66.71 \pm 15.50\%$ frente a $75.24 \pm 9.30\%$; $p = 0.022$). Kwon y Lee (2014) también reportaron menor motilidad en pacientes con varicocele, con medianas de 42.5% frente a 75.0% en sus controles ($p < 0.05$). Aunque ambos estudios coinciden en la dirección del hallazgo, las diferencias de población, clasificación de la motilidad y forma de expresar los resultados impiden comparar directamente la magnitud de la reducción.

La vitalidad también fue inferior en el grupo con varicocele, con una mediana de 59.0% frente a 73.0% en los controles ($p = 0.005$). Esta diferencia, junto con la menor motilidad, indica que la afectación observada comprendió tanto la proporción de espermatozoides vivos como su capacidad de movimiento. Gill et al. (2021) describieron menores parámetros seminales convencionales en hombres infértiles con y sin varicocele respecto a voluntarios sanos y hombres con fertilidad comprobada. Además, encontraron asociaciones inversas entre el potencial de oxidación-reducción y la fragmentación del ADN con la motilidad y vitalidad. Estos resultados aportan un contexto biológico para nuestros hallazgos, aunque la selección de pacientes por infertilidad en aquel estudio limita la comparación con nuestra población.

La morfología espermática mostró una diferencia entre grupos, con medianas de formas normales de 5.0% en pacientes con varicocele y 11.0% en controles ($p = 0.009$). Kwon y Lee (2014) reportaron medianas de 40.0% y 65.0%, respectivamente ($p < 0.05$). La concordancia se limita a la menor proporción de formas normales en el grupo con varicocele, ya que los criterios de evaluación y clasificación utilizados en ese trabajo difieren de los empleados en nuestro estudio. Por ello, las cifras absolutas no deben interpretarse como medidas directamente equivalentes.

La diferencia en la morfología como variable continua no se reprodujo con la misma certeza al analizar la frecuencia de teratozoospermia. Esta se presentó en el 45.2% de los pacientes con varicocele y en el 17.6% de los controles, con un OR de 3.84 (IC 95%: 0.92–16.10; $p = 0.068$). Aunque la estimación puntual sugiere mayores momios de alteración morfológica, el intervalo de confianza incluye la unidad y evidencia una precisión limitada. La discrepancia entre ambos análisis puede explicarse parcialmente por la pérdida de información que ocurre al convertir una variable continua en una categoría definida por un punto de corte. Así, una diferencia en la distribución de los valores puede identificarse sin que la comparación de proporciones alcance significancia estadística.

En contraste con los parámetros anteriores, no se encontraron diferencias significativas en la concentración espermática, cuyas medianas fueron de 45.0 y $58.0 \times 10^6/\text{mL}$ en pacientes con varicocele y controles, respectivamente ($p = 0.394$), ni en el recuento total, con medianas de 154.0 y 180.0×10^6 por eyaculado ($p = 0.413$). Kwon y Lee (2014) observaron una concentración de 51.0 frente a $80.0 \times 10^6/\text{mL}$ ($p < 0.05$). Asimismo, Pallotti et al. (2018), en una población de 4,230 participantes, encontraron una reducción significativa de la concentración y del recuento total en pacientes con varicocele. La diferencia respecto a nuestro estudio podría relacionarse con el tamaño muestral, la dispersión de los valores y el predominio de grados leves. No obstante, estas explicaciones son hipotéticas y la ausencia de significancia no demuestra equivalencia entre los grupos.

La evaluación conjunta de las alteraciones permitió identificar una diferencia más clara entre grupos. El 74.2% de los pacientes con varicocele presentó al menos un parámetro alterado, frente al 29.4% de los controles (OR = 6.90; IC 95%: 1.85–25.8; $p = 0.005$). Kwon y Lee (2014) reportaron proporciones de 19.5% y 6.3%, respectivamente, con una diferencia que los autores señalaron como significativa ($p < 0.05$). Sus participantes eran hombres jóvenes sin consulta por infertilidad y los controles presentaban homospermia; además, evaluaron un conjunto diferente de criterios. Estas diferencias impiden atribuir la mayor frecuencia de nuestra muestra únicamente a una mayor severidad de la enfermedad.

La carga acumulada de alteraciones fue mayor en los pacientes con varicocele, con una mediana de 1.0 parámetros alterados frente a 0.0 en los controles ($p = 0.012$). Este resultado complementa las comparaciones individuales y sugiere que la afectación puede distribuirse entre distintas dimensiones del perfil seminal. Sin embargo, la medida utilizada debe considerarse exploratoria, ya que la concentración y el recuento total están relacionados, al igual que la motilidad progresiva y la total. Por consiguiente, el número de parámetros alterados no equivale al número de mecanismos independientes de daño ni constituye una escala validada de infertilidad. Del mismo modo, el OR para presentar al menos una alteración no representa un incremento equivalente en el riesgo de infertilidad.

La relación con el grado de varicocele fue especialmente evidente en la morfología. Las medianas de formas normales fueron de 10.5%, 5.0%, 4.0% y 1.5% para las categorías subclínica, grado I, grado II y grado III, respectivamente. Aunque la comparación global mediante Kruskal–Wallis no alcanzó significancia estadística ($p = 0.069$), se identificó una correlación inversa entre el grado y la morfología normal ($p = -0.390$; $p = 0.030$). La concentración también presentó valores inferiores en el grado III, con una mediana de $10.5 \times 10^6/\text{mL}$ frente a $52.0 \times 10^6/\text{mL}$ en el grado I, pero ni la comparación global ($p = 0.194$) ni la correlación ($p = -0.351$; $p = 0.053$) alcanzaron el umbral establecido.

Este patrón coincide parcialmente con Damsgaard et al. (2016), quienes estudiaron a 7,035 hombres jóvenes y encontraron que la concentración en el varicocele grado III era inferior a la mitad de la observada en hombres sin varicocele. Sin embargo, mientras ese estudio aportó evidencia en una población amplia, nuestros resultados por grado proceden de subgrupos pequeños y desiguales. La coincidencia en la dirección de los hallazgos no implica que ambas investigaciones proporcionen la misma precisión o capacidad de generalización.

La oligozoospermia se presentó en el 11.8% de los pacientes con grado I, el 25.0% con grado II y el 75.0% con grado III. El análisis reportado mostró una correlación positiva con el grado ($p = 0.434$; $p = 0.015$). Mohamad Al-Ali et al. (2013), en 1,111 pacientes con varicocele evaluados por infertilidad, encontraron oligozoospermia en el 9.8%, 8.9% y 17.7% de los grados I, II y III, respectivamente, con diferencias significativas señaladas para el grado III ($p < 0.05$). Aunque ambos trabajos identifican mayor frecuencia en el grado avanzado, la proporción de nuestra muestra corresponde únicamente a tres de cuatro pacientes. Además, aquel estudio clasificó por separado la oligozoospermia y las alteraciones combinadas, lo que limita la equivalencia entre sus categorías y las nuestras.

La carga acumulada también aumentó con el grado de varicocele, pasando de una mediana de 1.0 alteraciones en los grados I y II a 3.0 en el grado III ($p = 0.384$; $p = 0.033$). No obstante, esta asociación transversal no demuestra un deterioro progresivo en el tiempo. Además, las diferencias entre la comparación global por Kruskal–Wallis y las correlaciones de Spearman no son necesariamente contradictorias, dado que ambas pruebas evalúan aspectos distintos de los datos. Estos resultados deben interpretarse como asociaciones exploratorias que requieren confirmación en una muestra con mayor representación de cada grado.

En las características fisicoquímicas, el volumen seminal no mostró diferencias entre pacientes con varicocele y controles, con medianas de 3.40 y 2.85 mL, respectivamente ($p = 0.914$). Tampoco se observaron diferencias en el tiempo de

licuefacción (19 frente a 16 minutos; $p = 0.191$), pH (mediana de 8.20 en ambos grupos; $p = 0.393$), viscosidad ($p = 0.937$) o aspecto ($p = 0.439$). Estos resultados indican que las diferencias microscópicas pueden presentarse sin modificaciones detectables en la mayoría de las características generales del eyaculado. Sin embargo, Finelli et al. (2021), en su estudio de 84 pacientes con varicocele y 85 controles normozoospermicos, describieron una reducción significativa del volumen, lo que evidencia que este parámetro no se comporta de manera uniforme entre poblaciones.

La coloración fue la única característica macroscópica con una diferencia significativa ($p = 0.014$), con predominio de la tonalidad grisácea en pacientes con varicocele y aperlada en los controles. Su relevancia debe interpretarse con cautela por el componente subjetivo de la evaluación y las bajas frecuencias de algunas categorías. Este hallazgo no permite establecer que la coloración sea un marcador específico del varicocele ni que refleje directamente la magnitud del daño espermático.

En cuanto a las características demográficas, no se identificaron asociaciones significativas entre edad o índice de masa corporal y los parámetros seminales. La única correlación significativa fue la relación inversa entre estatura y motilidad progresiva ($p = -0.379$; $p = 0.039$). Li et al. (2021), en un metaanálisis de 18 estudios, encontraron mayor estatura en los sujetos con varicocele, con una diferencia media ponderada de 1.41 cm (IC 95%: 1.07–1.74; $p < 0.001$), así como menor índice de masa corporal, con una diferencia de -1.35 kg/m^2 (IC 95%: -1.67 a -1.03 ; $p < 0.001$). Sin embargo, esos resultados corresponden a la presencia de varicocele y no a su asociación con la motilidad espermática. Por ello, no constituyen una confirmación directa de nuestro hallazgo, que podría estar influido por el número de comparaciones realizadas.

El tabaquismo no mostró diferencias significativas en la motilidad progresiva ($p = 0.572$), el recuento total ($p = 0.718$) o la morfología ($p = 0.317$). En contraste, Antoniassi et al. (2020) encontraron que los fumadores con varicocele presentaban menor motilidad progresiva ($p = 0.002$), recuento total ($p = 0.039$) y

morfología normal ($p = 0.001$), además de menor volumen seminal ($p = 0.027$). La discrepancia puede relacionarse con el tamaño de los subgrupos y las diferencias en exposición al tabaco. Nuestra comparación por presencia o ausencia del hábito no permite caracterizar adecuadamente sus posibles efectos según intensidad o duración, por lo que los resultados no deben interpretarse como evidencia de ausencia de asociación.

Las fortalezas del estudio incluyen la presencia de un grupo comparativo sin varicocele y la evaluación conjunta de parámetros fisicoquímicos, funcionales y morfológicos. No obstante, el tamaño muestral inferior al previsto y la distribución desigual por grado limitan la precisión de las estimaciones. El diseño transversal impide establecer causalidad o progresión temporal, y el carácter unicéntricos restringe la generalización. Asimismo, los análisis bivariados no permiten descartar confusión residual y la multiplicidad de comparaciones obliga a interpretar con prudencia los hallazgos aislados.

VIII CONCLUSIONES

Los pacientes con varicocele presentaron menor motilidad progresiva y total, vitalidad y porcentaje de formas espermáticas normales que los sujetos sanos. La teratozoospermia fue la alteración más frecuente en el grupo con varicocele, seguida de la vitalidad disminuida y la oligozoospermia.

Los pacientes con varicocele presentaron una mayor proporción de al menos un parámetro seminal alterado y una mayor carga de alteraciones concurrentes. Asimismo, un mayor grado de varicocele se asoció con menor porcentaje de formas normales y mayor número de parámetros alterados.

No se detectaron asociaciones estadísticamente significativas entre los parámetros seminales y la edad, el índice de masa corporal, el tabaquismo, el consumo de alcohol u otras toxicomanías. La correlación inversa entre estatura y motilidad progresiva fue un hallazgo aislado que requiere confirmación.

En conjunto, los resultados aportan evidencia local de una asociación entre varicocele y alteraciones de la calidad seminal, principalmente funcionales y morfológicas.

IX BIBLIOGRAFÍA

Agarwal A, Sharma R, Gupta S, Finelli R, Parekh N, Selvam MKP, et al. Standardized laboratory procedures, quality control and quality assurance are key requirements for accurate semen analysis in the evaluation of infertile male. *World J Mens Health*. 2022;40(1):52-65. Doi:10.5534/wjmh.210022.

Antoniassi MP, Belardin LB, Camargo M, Intasqui P, Carvalho VM, Cardozo KHM, et al. Seminal plasma protein networks and enriched functions in varicocele: effect of smoking. *Andrologia*. 2020;52(5):e13562. Doi:10.1111/and.13562

Arya D, Balasinor N, Singh D. Varicocoele-associated male infertility: cellular and molecular perspectives of pathophysiology. *Andrology*. 2022;10(8):1463-1483. Doi:10.1111/andr.13278.

Campos Hernández JP. Universidad de Córdoba Facultad de Medicina. 2017. Available from: www.uco.es/publicaciones.

Damsgaard J, Joensen UN, Carlsen E, Erenpreiss J, Blomberg Jensen M, Matulevicius V, et al. Varicocele is associated with impaired semen quality and reproductive hormone levels: a study of 7035 healthy young men from six European countries. *Eur Urol*. 2016;70(6):1019-1029. Doi:10.1016/j.eururo.2016.06.044.

EAU Guidelines. Edn. Presented at the EAU Annual Congress Milan. 2023. ISBN 978-94-92671-19-6.

Esteves SC, Zini A, Coward RM, Evenson DP, Gosálvez J, Lewis SEM, et al. Sperm DNA fragmentation testing: summary evidence and clinical practice recommendations. *Andrologia*. 2021;53:1-41.

Fabregat A. Varicocele e infertilidad [Internet]. Instituto Bernabeu – Clínicas de Reproducción Asistida; 2021 Jul 15. Available from: <https://www.institutobernabeu.com/es/foro/varicocele-e-infertilidad/>.

Finelli R, Leisegang K, Kandil H, Agarwal A. Oxidative stress: a comprehensive review of biochemical, molecular, and genetic aspects in the pathogenesis and management of varicocele. *World J Mens Health*. 2021;39. Doi:10.5534/wjmh.210153.

Finelli R, Pallotti F, Cargnelutti F, Faja F, Carlini T, Rizzo F, et al. Sperm DNA damage and cytokines in varicocele: a case-control study. *Andrologia*. 2021;53(5):e14023. Doi:10.1111/AND.14023.

Franco A, Proietti F, Palombi V, Savarese G, Guidotti M, Leonardo C, et al. Varicocele: to treat or not to treat? *J Clin Med*. 2023;12(12). Doi:10.3390/jcm12124062.

Gatimel N, Moreau J, Parinaud J, Léandri RD. Sperm morphology: assessment, pathophysiology, clinical relevance, and state of the art in 2017. *Andrology*. 2017;5(5):845-862. Doi:10.1111/andr.12389.

Gill K, Kups M, Harasny P, Machalowski T, Grabowska M, Lukaszuk M, et al. The negative impact of varicocele on basic semen parameters, sperm nuclear DNA dispersion and oxidation-reduction potential in semen. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18:5977. Doi:10.3390/ijerph18115977.

Gurung P, Yetiskul E, Jialal I. Physiology, male reproductive system [Internet]. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Updated 2023 May 1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538429/>.

Kwon CS, Lee JH. Is semen analysis necessary for varicocele patients in their early 20s? *World J Mens Health*. 2014;32(1):50-55. Doi:10.5534/wjmh.2014.32.1.50.

Leslie SW, Sajjad H, Siref LE. Varicocele. In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2023.

Li R, Liu J, Li Y, Wang Q. Effect of somatometric parameters on the prevalence and severity of varicocele: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2021 Jan 20;19(1):11. Doi:10.1186/s12958-021-00695-3. PMID:33472653; PMCID:PMC7816346.

Lomboy JR, Coward RM. The varicocele: clinical presentation, evaluation, and surgical management. *Semin Intervent Radiol*. 2016;33:163-169. Doi:10.1055/s-0036-1586143.

Mohamad Al-Ali B, Shamloul R, Pichler M, Augustin H, Pummer K. Clinical and laboratory profiles of a large cohort of patients with different grades of varicocele. *Cent European J Urol*. 2013;66(1):71-74. Doi:10.5173/ceju.2013.01.art22.

Munoz-Lopez C, Wong A, Lewis K, Bole R, Vij SC, Lundy SD. The evolving landscape of male varicocele pathophysiology in the era of multi-omics: a narrative review of the current literature. *Biology*. 2024;13(2):80. Doi:10.3390/biology13020080.

Nakonechnyi Y, Nakonechnyi A, Fraczek M, Havrylyuk A, Kamieniczna M, Chopyak V, et al. Varicocelectomy improves sperm parameters, sperm DNA integrity as well as the other critical semen features. *J Physiol Pharmacol*. 2022;73(6):763-773. Doi:10.26402/jpp.2022.6.09.

Omu AE. Sperm parameters: paradigmatic index of good health and longevity. *Med Princ Pract*. 2013;22(Suppl 1):30-42. Doi:10.1159/000354208.

Owen RC, McCormick BJ, Figler BD, Coward RM. A review of varicocele repair for pain. *Transl Androl Urol*. 2017 May;6(Suppl 1):S20-S29. Doi:10.21037/tau.2017.03.36. PMID:28725614; PMCID:PMC5503918.

Pallotti F, Paoli D, Carlini T, Vestri AR, Martino G, Lenzi A, et al. Varicocele and semen quality: a retrospective case-control study of 4230 patients from a single centre. *J Endocrinol Invest*. 2018;41(2):185-192. Doi:10.1007/s40618-017-0713-z.

Panner Selvam MK, Agarwal A. Sperm and seminal plasma proteomics: molecular changes associated with varicocele-mediated male infertility. *World J Mens Health*. 2020;37:472-483. Doi:10.5534/wjmh.190018.

Panner Selvam MK, Ambar RF, Agarwal A, Henkel R. Etiologies of sperm DNA damage and its impact on male infertility. *Andrologia*. 2021;53:1-15. Doi:10.1111/and.13706.

Patoja Carballo N, Barrantes Solano MJ, Navas Gámez DM, Mason Johnson Z, Consumi Salas G. Varicocele, una 59evision de tema. *Revista Electrónica de Portales Medicos.com*. 2022;17(12). Available from: <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/varicocele-una-revision-de-tema/>.

Peña Criollo LC. Varicocele: nuevos enfoques diagnósticos y terapéuticos. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*. 2022;6(6):6096-6113. Doi:10.37811/cl_rcm.v6i6.3861.

Peterson AC, Lance RS, Ruiz HE. Outcomes of varicocele ligation done for pain. *J Urol*. 1998;159:1565-1567. Doi:10.1097/00005392-199805000-00043.

Sheehan MM, Ramasamy R, Lamb DJ. Molecular mechanisms involved in varicocele-associated infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2014;31(5):521-526. Doi:10.1007/s10815-014-0200-9.

Wang F, Yang W, Ouyang S, Yuan S. The vehicle determines the destination: the significance of seminal plasma factors for male fertility. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):1-20. Doi:10.3390/ijms21228499.

World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. 2021.

X ANEXOS

Apéndice A: Procedimiento de seminograma

1.- Análisis Fisicoquímico microscópico

a) Material y Equipo

- Guantes
- Balanza analítica
- Platillos de aluminio
- Frascos de vidrio con tapa
- Probeta
- Contenedor estéril de boca ancha de 100 mL
- Incubadora
- Micropipeta 10-100 μ L
- Puntillas desechables
- Tubo cónico 15 mL
- Pipeta Pasteur de vidrio
- Tirillas indicadoras de pH
- Portaobjetos 25×75
- Cubreobjetos 22×22
- Microscopio de campo claro
- Contabilizador de células
- Cámara Makler

b) Reactivos

- Bicarbonato de sodio
- Formaldehído
- Agua destilada
- Eosina Y
- Rojo neutro 1.5%
- PBS 1x
- Solución fisiológica 0.9%

c) Muestra

- Líquido seminal

2.- Análisis Morfológico Tinción de Papanicolaou

a) Material y Equipo

- Guantes
- Gasa
- Lápiz diamante
- Micropipeta 10-100 μ L
- Puntillas desechables
- Portaobjetos 25×75
- Embudo
- Papel filtro
- Cubetas de Tinción
- Estante para tinción de portaobjetos
- Pinzas
- Aplicador de madera
- Medio de montaje
- Cubreobjetos 22×50
- Microscopio de campo claro
- Contabilizador de células

b) Reactivos

- Agua destilada
- Agua de grifo
- Hematoxilina de Harris
- Solución policromática EA-50
- Solución naranja OG-6
- Etanol 96%
- Etanol Absoluto
- Xilol

c) Muestra

- Líquido seminal

Procedimiento

1. Encender la incubadora, y ajustar la temperatura a 37 °C.
2. Pesar el contenedor estéril en la balanza
3. Analítica y registrarlo en la bitácora
4. Obtener la muestra mediante masturbación y eyaculación en un contenedor estéril de boca ancha.
5. Volver a el contenedor estéril en la balanza analítica y registrar el peso en la bitácora
6. Calcular el volumen del eyaculado, usando la densidad del líquido seminal (1.01 g/ml)
7. Rotular el contenedor estéril con el nombre del donante, fecha y hora de la recolección.
 - Registrar si la muestra está incompleta, especialmente si se pudo haber perdido la primera fracción rica en espermatozoides.
 - Transferir inmediatamente el recipiente a la incubadora mientras la muestra se licúa, no más de 20 minutos.
 - Introducir colorantes, portaobjetos, cubreobjetos y la cámara Makler en la incubadora.

2) Análisis fisicoquímico

1. Determinar el tiempo de licuefacción observando la presencia de flóculos proteínicos en el eyaculado, la muestra licuada debe ser homogénea y de aspecto acuoso.
 - Las muestras normales de semen licuado pueden contener cuerpos gelatinosos que no se licuan.
2. Transferir muestra de líquido seminal a un tubo cónico graduado de 15 mL.
3. Determinar el color de la muestra, haciendo una descripción comparativa.
4. Determinar el aspecto, depositando dentro del tubo la punta de una pipeta Pasteur de vidrio, y observándolo frente a un área iluminada. Valorar en base a los siguientes criterios:
 - Translúcido. Se observa en su totalidad el tubo capilar desde el extremo del fondo del tubo cónico hasta la superficie del líquido seminal.
 - Semitranslúcido. Se observa el tubo capilar solo en la parte cónica del tubo.
 - Opaco. No se observa el tubo capilar en ninguna de las regiones del tubo.

5. Estimar viscosidad de la muestra aspirándola suavemente en una pipeta Pasteur de vidrio, y dejándola caer gota a gota. Valorar en base a los siguientes criterios:

- Viscosidad disminuida. Formación de un hilo entre 0 y 0.5 cm de longitud
- Viscosidad normal: Formación de un hilo entre 0.6 y 2.0 cm de longitud
- Viscosidad aumentada: Formación de un hilo mayor de 2.0 cm de longitud

6. Mezclar bien la muestra (NO vórtex, sin crear burbujas), y realizar la medición de pH, mediante papel indicador en el rango de 6.0 a 10.0.

2) **Análisis microscópico**

1. Mezclar bien la muestra (NO vórtex, sin crear burbujas), y tomar una alícuota de 10 µL mediante una micropipeta y Colocar alícuota sobre un portaobjetos

2. Tomar una alícuota de 10 µL de una solución de rojo neutro al 1.5%, mediante una micropipeta, y colocar sobre la muestra (mezclar mediante movimientos circulares con una punta de pipeta).

- Rojo neutro al 1.5%: 1.5 g de rojo neutro en 100 mL de PBS de pH 7.4 o solución fisiológica.

3. Cubrir con un cubreobjetos 22x22, ambos previamente atemperados entre 20 y 37°C.

4. Valorar homogeneidad y presencia de filamentos mucosos en la muestra.

- Si el número de espermatozoides por campo varía considerablemente, la muestra no es homogénea. En este caso y excluyendo la presencia de agregación y aglutinación, repetir la alícuota.

5. Valorar la concentración espermática aproximada realizando la observación de 10 campos a 400 aumentos y con base a los siguientes criterios:

- Baja: <20 espermatozoides por campo.
- Regular: 20-60 espermatozoides por campo.
- Buena: 60-100 espermatozoides por campo.
- Muy buena: >100 espermatozoides por campo

6. Valorar la presencia de células epiteliales escamosas, células redondas y cristales realizando la observación de 10 campos a 400 aumentos y contabilizando el número de células o cristales (evaluar el tipo de cristales presentes) presentes por campo.

7. Evaluar la concentración de detritus celulares realizando la observación de 10 campos a 400 aumentos.

- Se reportan como escasos, moderados o abundantes.

8. Valorar la concentración de eritrocitos y bacterias (evaluando su forma [cocos, bacilos y/o pleomórficos] y agregación) realizando la observación de 10 campos a 400 aumentos y con base a los siguientes criterios:

- Escasos: 1-3 células por campo
- Moderados: 3-7 células por campo
- Abundantes: >8 células por campo

9. Determinar la presencia de agregación de los espermatozoides, y su especificidad (adherencia de espermatozoides inmóviles entre sí, o de espermatozoides móviles a filamentos mucosos, detritus celulares u otros tipos celulares).

10. Determinar la presencia de aglutinación espermática, y valorar el mayor tipo de aglutinación presente para su reporte (cabeza-cabeza, cola-cola, punta de cola-punta de cola, combinada o cabeza-cola).

11. Valorar la motilidad espermática de mínimo 200 espermatozoides mediante un contabilizador de células, realizando la observación a 400 aumentos en un área definida a mínimo 5 mm de distancia de la orilla del cubreobjetos, y escaneando mínimo 5 campos de una manera dinámica.

- Realizar la evaluación por duplicado de ser necesario, mediante el replicado de la preparación en fresco.
- Empezar a escanear instantáneamente, y contar rápidamente. El objetivo es contar todos los espermatozoides móviles en el campo, evitando a los que entren dentro del campo durante la evaluación instantánea.

- Valorar con base a los siguientes criterios:

✓ Grado A (III): Motilidad progresiva rectilineal con velocidad de desplazamiento $>25 \mu\text{m/s}$ a 37°C . 62

✓ Grado B (II): Motilidad progresiva curvilínea con un movimiento no lineal del espermatozoide en su trayectoria a través del campo microscópico y una velocidad de desplazamiento entre 5 y $24 \mu\text{m/s}$.

✓ Grado C (I): Motilidad no progresiva, en espermatozoides con patrones de movimiento in situ (sin progresión), y cuya velocidad no rebasa los $5 \mu\text{m/s}$.

✓ Grado D (0): Espermatozoides no motiles (no presentan desplazamiento).

✓ Contabilizar inicialmente los espermatozoides móviles progresivos (PR, grado A y B), seguido de los móviles no progresivos (NP, grado C) y finalmente los inmóviles (IM, grado D). Si la cuenta de 200 espermatozoides es obtenida antes de que todas las categorías hayan sido evaluadas, la cuenta continúa en toda el área definida

para evaluar hasta que todas las categorías hayan sido valoradas en la misma.

- Calcular el porcentaje promedio para cada grado de motilidad de ser necesario, reportando el número entero más próximo. Reportar de acuerdo con la valoración en grados A-D, y de acuerdo con la clasificación en motilidad progresiva (PR), motilidad no progresiva (NP) e inmovilidad (IM).

12. Mezclar bien la muestra (NO vórtex, sin crear burbujas), y tomar una alícuota de 10 μ L mediante una micropipeta.

13. Colocar alícuota sobre un portaobjetos.

14. Tomar una alícuota de 10 μ L de una solución de eosina Y al 1%, mediante una micropipeta, y colocar sobre la muestra (mezclar mediante movimientos circulares con una punta de pipeta).

- Eosina Y al 1%: 1 g de eosina Y en 100 mL de PBS de pH 7.4 o solución fisiológica.

15. Cubrir con un cubreobjetos 22x22 limpio, previamente atemperado entre 20 y 37°C, y dejar reposar por 30 segundos.

16. Valorar la vitalidad espermática de mínimo 200 espermatozoides mediante un contabilizar de células, realizando la observación a 400 aumentos.

- Realizar la evaluación por duplicado de ser necesario, mediante el replicado de la preparación.
- Valorar con base a los siguientes criterios:
 - ✓ Vivos: Células desteñidas, espermatozoides con cabezas transparentes, blancas o rosa claro.
 - ✓ Muertos: Células teñidas, espermatozoides con cabezas rojas o rosa oscuro.
- Calcular el porcentaje promedio para vitalidad espermática de ser necesario, reportando el número entero más próximo.

2) **Cuenta espermática**

1. Mezclar bien la muestra (NO vórtex, sin crear burbujas), y tomar una alícuota de 50 μ L con una micropipeta y depositarla en un tubo de 0.6 o 1.5 mL

2. Adicionar al tubo 12.5 μ L de fijador y homogenizar con la alícuota de líquido seminal

3. Tomar una alícuota de 10 μ L del tubo de 1.5 mL y colocarla en el centro de la base de la cámara Makler (en el medio del círculo).

4. Colocar cubierta de la cámara Makler presionando suavemente para homogeneizar el volumen de la muestra en la superficie de la

cámara.

- No debe tener burbujas de aire. Limpiar la cámara con una torunda de algodón con alcohol de ser necesario, dejar secar y repetir el alicuotado.
5. Valorar la cuenta espermática contando los espermatozoides presentes en 100 cuadrados mediante un contabilizar de células, realizando la observación de 100 aumentos.

- Contar solamente la cabeza de los espermatozoides que se encuentren en cada cuadrado, las colas dentro del área no deben ser contabilizadas.
- Reportar la concentración total de espermatozoides por mililitro, obtenida dividiendo el total de los espermatozoides contabilizados entre 10 y multiplicando por 1×10^6 (un millón).

$$Esp/mL = (\# \text{ espermatozoides}) \times (1 \times 10^6) / 10$$

- Reportar el número de espermatozoides totales por eyaculado, obtenida multiplicando la concentración total de espermatozoides por el volumen de eyaculado.
6. Limpiar la cámara con una torunda de algodón con alcohol y dejar secar

2) **Análisis morfológico**

1. Realizar una dilución de la muestra con solución fisiológica, a 100 μ L de volumen final en un tubo de microcentrífuga de 0.6 o 1.5 mL. Realizar la dilución de acuerdo con la concentración espermática aproximada:

- Baja: Sin dilución.
- Regular: Dilución 1:2.
- Buena: Dilución 1:3.
- Muy buena: Dilución 1:5.

2. Preparar un extendido citológico de la muestra diluida. Para ello, mezclar bien la muestra de líquido seminal en el tubo cónico.

- No mezclar la muestra tan vigorosamente como para crear burbujas de aire. No mezclar mediante vórtex a alta velocidad, ya que dañará los espermatozoides.

3. Retirar de inmediato una alícuota de 10 μ L de líquido seminal, dependiendo de la concentración de espermatozoides, sin dejar tiempo para que los espermatozoides salgan de la suspensión, mediante una micropipeta.

4. Aplicar la alícuota sobre un extremo de un portaobjetos limpio (base).

5. Colocar un cubreobjetos de 24 $\times$ 50 (extensor) contra la superficie del portaobjetos formando un ángulo de 30 a 45°.

6. Acercar el cubreobjetos extensor a la gota de semen, desplazándolo sin

despegarlo del portaobjetos base.

7. Dejar que se extienda la gota sobre el borde del cubreobjetos extensor llenando el ángulo entre portaobjetos y cubreobjetos.

- No permitir que la gota de semen permanezca en el extremo del cubreobjetos por más de un par de segundos antes de extender.

8. Hacer retroceder lenta, suavemente y de manera continua el cubreobjetos extensor (durante aproximadamente 1 segundo) a lo largo del portaobjetos base para producir el frotis.

- Asegurarse de usar el cubreobjetos extensor delante de la gota para “tirar” el semen a través del portaobjetos base; no usar el cubreobjetos para “empujar” el semen desde atrás.

9. Secar la extensión al aire.

10. Rotular la base del portaobjetos base mediante lápiz diamante.

11. Realizar procedimiento de tinción de Papanicolaou.

- Preparar un tren de tinción y realizar la tinción a través de las siguientes soluciones:

1) Fijar laminillas con etanol al 96% por 1 min.

2) Secar extensión al aire completamente

3) Lavar con agua de grifo durante 1 min.

4) Introducir preparaciones en Hematoxilina de Harris durante 2 min.

5) Lavar laminillas en agua destilada por 2 min.

6) Sumergir laminillas en el colorante OG-6 durante 2 min.

7) Enjuagar con etanol al 96% mediante dos cambios con 5 inmersiones en cada uno.

8) Teñir con el colorante EA-50 durante 2 min.

- El colorante EA-50 debe ser filtrado antes de su uso mediante papel filtro y embudo de vidrio.

9) Deshidratar y aclarar a través de dos cambios de etanol al 96% cada uno, con 10 y 5 inmersiones respectivamente, seguido de 5 inmersiones en etanol absoluto; y finalmente en un cambio de xileno de 5 min.

10) Agregar de 1 a 3 gotas de medio de montaje Entellan® a cada portaobjetos.

11) Adherir cubreobjetos dejando que la resina se extienda por todo el portaobjetos (montaje).

12. Analizar la morfología espermática de mínimo 200 espermatozoides, realizando la observación a 1000 aumentos utilizando aceite de inmersión.

- Realizar la evaluación por duplicado de ser necesario, mediante el replicado de la preparación
- Evaluar el porcentaje de formas normales y anormales con base a los siguientes criterios de normalidad morfológica del espermatozoide:

- ✓ La cabeza debe ser lisa, contorneada regularmente, y generalmente de forma ovalada. Debe haber una región acrosomal bien definida que comprenda 40 a 70% del área de la cabeza, que no debe contener grandes vacuolas, y no más de dos vacuolas pequeñas, que no deben ocupar más del 20% de la cabeza del espermatozoide. La región post-acrosomal no debe contener vacuolas.
- ✓ La pieza intermedia debe ser delgada, regular y aproximadamente de la misma longitud que la cabeza del espermatozoide. El eje mayor de la pieza intermedia debe estar alineado con el eje mayor de la cabeza del espermatozoide. El citoplasma residual se considera una anomalía solo cuando está en exceso, es decir, cuando excede un tercio del tamaño de la cabeza del espermatozoide.
- ✓ La pieza principal debe tener un calibre uniforme a lo largo de su longitud, ser más delgada que la pieza intermedia y tener una longitud aproximada de 45 μm (aproximadamente 10 veces la longitud de la cabeza). Se puede volver a enrollar sobre sí mismo, siempre que no haya un ángulo agudo indicativo de una ruptura flagelar.
- Realizar la clasificación diferencial de espermatozoides anormales mediante los criterios de Kruger. Deben reportarse las siguientes categorías de defectos:
 - ✓ Defectos en la cabeza: macrocéfalo, microcéfalo, bicéfalo, piriforme, amorfo, cabeza de alfiler.
 - ✓ Defectos en el núcleo: disminuido, elongado, binucleado, multinucleado, segmentado, descondensado, vacuolado.
 - ✓ Defectos del acrosoma: áreas acrosómicas pequeñas o grandes (70% del área de la cabeza), vacuolado, sin acrosoma (cabeza amorfa o redonda).
 - ✓ Defectos del cuello y la pieza intermedia: engrosada, doblada, anormalmente delgada o cualquier combinación de éstas.
 - ✓ Defectos de la pieza principal: curva, corta, doble, enrolladas o cualquier combinación de éstas.
 - ✓ Exceso de citoplasma residual (ERC): espermatozoides caracterizados por grandes cantidades de citoplasma con tinción irregular, un tercio o más del tamaño de la cabeza del espermatozoide.
 - ✓ Alteraciones mecánicas: cabezas o flagelos sueltos

Apéndice B índice de defectos múltiples

1.- Índice de teratozoospermia (TZI): se calcula a partir de la suma de todas las anormalidades divididas entre la suma de espermatozoides totales, obteniendo un resultado entre 1.00 y 4.00, donde el resultado puede demostrar la presencia de máximo 4 defectos (en cabeza, pieza media, pieza principal y citoplasma residual) por espermatozoide.

$$TZI = \frac{\# \text{ de anormalidades}}{\# \text{ de espermatozoides con anormalidades}}$$

2.- Índice de anormalidades múltiples (MAI): se calcula a partir del promedio del número de anormalidades por espermatozoide anormal entre el total de espermatozoides anormales

$$MAI = \frac{\text{Promedio de anormalidades por espermatozoide}}{\# \text{ de espermatozoides con anormalidades}}$$

3.- Índice de deformidades espermáticas (SDI): se calcula a partir del número de defectos entre el total de espermatozoides (normales y anormales)

$$SDI = \frac{\# \text{ total de defectos}}{\# \text{ total de espermatozoides}}$$

Apéndice C Prueba de dispersión de cromatina

a) Material y Equipos

- Balanza analítica
- Platillos metálicos
- Frascos ámbar con tapa
- Probeta
- Baño de calentamiento
- Placa de calentamiento
- Vaso de precipitado
- Jarra tipo Coplin
- Gradilla de fomi
- Tubos de microcentrífuga de 0.2 mL
- Micropipeta 10-100 μ L
- Matraz Erlenmeyer
- Portaobjetos 25x75
- Cubreobjetos 22x22
- Placas Petri
- Aplicadores de madera
- Pinzas rectas
- Microscopio de campo claro
- Contador de células

b) Reactivos

- Agua destilada
- Etanol
- PBS 1x
- Agarosa
- Agarosa de bajo punto de fusión
- Ácido Clorhídrico
- Triaminometano (Tris)
- Ditioneitol (DTT)
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) disódico
- Dodecilsulfato sódico (SDS)
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Ácido bórico
- Colorante de Wright
- Buffer de Wright
- Aceite de inmersión

c) Muestra

- Líquido seminal

Procedimiento

1. Preparación de agarosa de bajo punto de fusión
 - a) Encender el baño de calentamiento, ajustar temperatura aproximadamente a 50 °C y atemperar baño de agua.
 - b) Preparar una solución de agarosa de bajo punto de fusión 1% en un matraz Erlenmeyer.
 - c) Calentar brevemente en horno microondas hasta su disolución completa (solución transparente cristalina).
 - d) Transferir matraz al baño de calentamiento.
 - e) Depositar 70-100 µL de la solución de agarosa de bajo punto de fusión 1% en un tubo de microcentrífuga de 0.2 mL mediante una micropipeta. Repetir alicuotado en tubos individuales.
 - f) Conservar a temperatura ambiente para su uso inmediato. En caso de almacenamiento, conservar en refrigeración (4 °C o -20 °C) hasta su uso.
2. Preparación de portaobjetos recubiertos con agarosa estándar
 - a) Encender el baño de calentamiento, ajustar temperatura aproximadamente a 80 °C y atemperar baño de agua utilizando un termómetro en el caso necesario.
 - b) Preparar una solución de agarosa estándar 0.65% en un matraz Erlenmeyer.
 - c) Calentar 1 minuto en horno microondas y hasta su disolución completa (solución transparente cristalina).
 - d) Transferir solución a una jarra Coplin previamente atemperada.
 - No calentar la jarra Coplin en placa de calentamiento, ya que podría generar ruptura del vidrio.
 - En su defecto puede utilizarse cualquier otro recipiente de vidrio de laboratorio, ajustando el volumen de solución necesaria para la preparación de la lámina delgada de agarosa sobre el portaobjeto.
 - e) Transferir jarra Coplin (o el recipiente de vidrio) al baño de calentamiento.
 - Asegurar que no exista contaminación de sales en la solución ya que podría provocar problemas en la recubierta de agarosa. Para ello utilizar espátula y cristalería limpia en su preparación, y almacenar mediante parafilm o cerrado hermético.
 - f) Limpiar un portaobjetos 25×75 esmerilado (o los que sean necesarios) mediante una gasa o algodón con metanol.
 - Los portaobjetos deben tener vidrio esmerilado únicamente de un lado, para asegurar que la capa de agarosa se encuentre sobre la parte superior.

- g) Colocar portaobjetos a 60 °C en placa de calentamiento hasta secar completamente.
 - Asegurarse que los portaobjetos no tengan un aspecto grasiento.
 - Los portaobjetos pueden ser almacenados en un ambiente seco y libre de humedad hasta su uso.
 - h) Sumergir portaobjetos en la solución de agarosa estándar 0.65% acuosa a 80 °C durante 1 minuto.
 - i) Recoger una delgada capa de agarosa líquida y limpiar la parte inferior del portaobjetos mediante una gasa o papel.
 - La capa de agarosa debe tener una distribución uniforme en el cubreobjetos.
 - Alternativamente, puede aplicarse una capa de 100-700 µL de la solución de agarosa sobre el portaobjetos, seguido de un cubrimiento con un cubreobjetos 22×50 previamente lavado.
 - j) Transferir portaobjetos con recubrimiento de agarosa a la placa de calentamiento hasta el secado y la solidificación completa de la capa de agarosa.
 - La agarosa adquiere un aspecto casi transparente y poco reflexivo. Asegurar el recubrimiento raspando cada extremo del mismo.
 - En caso de utilizar cubreobjetos, retirar después de la solidificación.
 - Alternativamente, el secado puede realizarse a temperatura ambiente en un área libre de polvo y humedad.
 - k) Almacenar en refrigeración (4 °C o -20 °C) mediante desecante hasta su uso.
3. Técnica de dispersión de la cromatina del espermatozoide
- a) Encender el baño de calentamiento, ajustar temperatura aproximadamente a 100 °C y atemperar baño de agua utilizando un termómetro en el caso necesario.
 - En su defecto, puede utilizarse un baño de agua mediante vaso de precipitado y placa de calentamiento.
 - b) En caso de líquido seminal, diluir una alícuota a una concentración de 10 millones de espermatozoides/mL y un volumen final de 100 µL con PBS en un tubo Eppendorf de 0.6-2.0 mL.
 - c) Colocar un tubo (o los que sean necesarios) con gel de agarosa de bajo de fusión en el baño de agua a 100 °C durante 5 minutos para fundir la agarosa.
 - Manipular mediante pinzas de pulgar.
 - d) Manipular el tubo a 37° C por 1 minuto, para permitir la estabilización del gel.

- e) Agregar inmediatamente 30 μ L de la muestra al tubo de agarosa de bajo punto de fusión fluidificada y atemperada (concentración final de 0.7%).
- f) Homogenizar la mezcla mediante pipeteo suave.
- g) Depositar rápidamente 50 μ L de la mezcla sobre un portaobjetos recubierto con el gel de agarosa estándar y colocar inmediatamente un cubreobjetos de 22×22.
- h) Solidificar agarosa a 4 °C por 5 minutos.
- i) Retirar cubreobjetos suave y cuidadosamente.
- j) Sumergir portaobjetos en posición horizontal en una bandeja con una solución de desnaturalización durante 7 minutos a 22 °C en oscuridad.
 - Solución de desnaturalización: HCl 0.08 N.
- k) Retirar solución de desnaturalización y sumergir portaobjetos en posición horizontal en una bandeja con una solución de neutralización y lisis I durante 10 minutos a temperatura ambiente.
 - Solución de neutralización y lisis I: Tris 0.4 M, DTT 0.8 M, SDS 1%, EDTA 50 mM, pH 7.5.
- l) Retirar solución de neutralización y lisis I y sumergir portaobjetos en posición horizontal en una bandeja con una solución de neutralización y lisis II por 5 minutos a temperatura ambiente.
 - Solución de neutralización y lisis II: Tris 0.4 M, NaCl 2 M, SDS 1%, pH 7.5.
- m) Lavar dos minutos en posición horizontal en una bandeja con buffer TBE.
 - Buffer TBE: Tris-borato 0.9 M, EDTA 0.002 M, pH 7.5.
- n) Deshidratar a través de tres cambios de etanol (70%, 90% y 100%), en posición horizontal durante 2 minutos en cada cambio.
- o) Secar portaobjetos al aire.
- p) Añadir el colorante de Wright cubriendo toda la superficie del portaobjetos, y dejar reposar durante 3 minutos.
- q) Agregar el buffer Wright para permitir la reacción, dejar reposar 5 minutos.
- r) Retirar el exceso de las soluciones realizando lavados con agua.
- s) Secar portaobjetos al aire.
- t) Analizar los nucleoides de mínimo 200 espermatozoides, realizando la observación a 1000 aumentos utilizando aceite de inmersión.
- Categorizar los diferentes tamaños de halo utilizando el diámetro menor del núcleo central del propio nucleoide como punto de referencia, con la cual se compara la anchura del halo. Clasificar en cinco categorías de dispersión:
 - ✓ Espermatozoides con halos grandes: Cuya anchura es similar o mayor que el diámetro del núcleo central de menor tamaño.

- ✓ Espermatozoides con halos medianos: Cuyo tamaño está entre los de halo grande y halo muy pequeño.
- ✓ Espermatozoides con halos muy pequeños: Cuya anchura es igual o menor de $\frac{1}{3}$ del núcleo de menor diámetro.
- ✓ Espermatozoides sin halo.
- ✓ Espermatozoides con halo degradado: Similar a los espermatozoides sin halo, pero ligeramente irregular o irregularmente teñidos.
- Calcular el porcentaje de cada grupo de ser necesario, reportando el número entero más próximo.

Apéndice D Método de Luminol

1) Material y Equipos

- Balanza analítica
- Tubo de poliestireno
- Papel aluminio
- Frascos de ámbar con tapa
- Espectrofotómetro
- Lector para placas

2) Reactivos

- Luminol (5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione)
- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (DPBS)
- Peróxido de hidrogeno

3) Muestra

- Líquido seminal

Metodología

1. Preparar una solución stock de luminol 100 mM en 10 mL de dimetilsulfóxido (pesando 177.1mg de luminol en un tubo de poliestireno)
 - Envolver el tubo en papel aluminio, ya que la solución es sensible a la luz.
 - La solución debe resguardarse a temperatura ambiente o en refrigeración
2. Preparar la solución de trabajo de luminol 5 mM en dimetilsulfóxido (diluir 20 μ L de la solución stock en 380 μ L de DMSO)
 - Debe prepararse inmediatamente previo a su uso (es estable sólo por 24 hrs)
 - Debe protegerse de la luz
3. El líquido seminal debe estar licuado previo al procedimiento (menos de 30 min de acuerdo con el método del apéndice A, y no más de 1hr)
 - Se debe medir cada muestra por duplicado
4. Para cada muestra se debe preparar un tubo donde se mezclan 390 μ L del líquido seminal más 10 μ L de la solución de trabajo
 - Mezclar con vórtex por 5 segundos antes de alicuotar o antes de medir por duplicado (o colocarse en los pocillos de una placa)
5. En cada set de medición debe medirse lo siguiente

- a) Blancos de DPBS o medio solo
- b) Control negativo de 390 μ L de DPBS o medio solo más 10 μ L de la sonda/solución de trabajo
- c) Controles positivos, ambos con la adición de 50 μ L de peróxido de hidrógeno (30%) más 10 μ L de la sonda/solución de trabajo:
 - Control 1: 340 μ L de Líquido seminal
 - Control 2: 340 μ L de DPBS o medio
- d) Los resultados deben tomarse después de cierta cantidad de muestra leídas, espaciadas de manera equitativa y en el orden de cada analito una vez repetidas, de acuerdo con el tipo de instrumento y calcular un promedio
- e) Los controles positivos deben utilizarse para establecer la sensibilidad del procedimiento a través de diluciones seriadas y confirmar que la detección de los resultados sea significativa
- f) La lectura de las muestras se realiza en luminómetro/espectrofotómetro/lector de placas: El luminol emite luz a una longitud de onda de 485 nm en un medio aprótico y a 425 nm en un medio prótico
- g) Los resultados deben normalizarse restando el promedio de los resultados por cada muestra menos el promedio de los resultados del control negativo.

Apéndice E Pruebas bioquímicas

1. Medición de fructose

a) Material y Equipos

- Espectrofotómetro
- Centrífuga
- Tubos de vidrio de 1 mL
- Micropipetas de 100 μ L y 1000 μ L
- Placa de 96 pocillos transparente
- Lector para placas
- Filtro para centrífuga con MWCO

b) Reactivos

- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Sulfato de Zinc (ZnSO_4)
- Agua destilada

c) Muestra

- Plasma seminal

Procedimiento

1. Colocar en un tubo de vidrio los siguientes reactivos:
 - a) 2.9 mL de agua destilada.
 - b) 0.5 mL de NaOH (0.25 N)
 - c) 0.5 mL de ZnSO_4 (5 %)
 - d) 0.1 mL de plasma seminal
2. Agitar suavemente la mezcla
3. Llevar a centrifugar por 10 min a 3000 rpm
4. Separar el sobrenadante en un tubo limpio y resguardar a temperatura ambiente
5. Kit de Fructosa (Sigma Aldrich) para la preparación de estándares
 - a) Diluir 10 μ L del estándar de fructosa de 100Mm
 - Adicionar 990 μ L del Buffer del ensayo para tener solución estándar a 1 nmol/ μ L
 - b) Depositar en la placa un blanco y cinco estándares de la solución estándar a 1 nmol/ μ L (0, 2, 4, 6, 8 y 10 μ L)
 - Realizar cada medición por duplicado
 - Cada estándar quedará de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 nmol/pocillo
 - c) Adicionar en cada pocillo Buffer de ensayo de fructosa para llevar a un volumen de 50 μ L
6. Kit de Fructosa (Sigma Aldrich) para la preparación de la muestra
 - a) Depositar 50 μ L de la muestra en cada pozo
 - Realizar cada medición por duplicado
7. Agregar a cada pozo 50 μ L del master mix de reacción (estándares y muestra) y mezclar bien usando un shaker horizontal o por succión mecánica con la micropipeta
8. Leer absorbancia a 570 nm en lector Thermo Scientific Multiskan FC

2.- Medición del citrato

Material y Equipos

- Espectrofotómetro
- Centrífuga
- Tubos de vidrio 1 mL
- Micropipetas de 100 μ L y 1000 μ L
- Placas de 96 pocillos transparente
- Lector para placas
- Filtro para centrífuga con MWCO de 10 kDA

Reactivos

- Ácido tricloroacético 10%

Muestra

- Plasma seminal

Procedimiento

1. Colocar en un tubo de vidrio los siguientes reactivos:
 - a) 0.9 mL de ácido tricloroacético (10%)
 - b) 0.1 mL de plasma seminal
2. Agitar suavemente la mezcla
3. Llevar a centrifugar por 10 min a 3000 rpm
4. Separar el sobrenadante en un tubo limpio y resguardar a temperatura ambiente
5. Kit de Citrato (Sigma Aldrich) para la preparación de estándares
 - a) Diluir 10 μ L del estándar de citrato de 100Mm
 - Adicionar 990 μ L del Buffer del ensayo para tener solución estándar a 1 nmol/ μ L
 - b) Depositar en la placa un blanco y cinco estándares de la solución estándar a 1 nmol/ μ L (0, 2, 4, 6, 8 y 10 μ L)
 - Realizar cada medición por duplicado
 - Cada estándar quedará de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 nmol/pocillo
 - c) Adicionar en cada pocillo Buffer de ensayo de citrato para llevar a un volumen de 50 μ L
6. Kit de Citrato (Sigma Aldrich) para la preparación de la muestra
 - b) Depositar 50 μ L de la muestra en cada pozo
 - Realizar cada medición por duplicado
7. Agregar a cada pozo 50 μ L del master mix de reacción (blanco, estándares y muestra) y mezclar bien usando un shaker horizontal o por succión mecánica con la micropipeta
8. Leer absorbancia a 570 nm en lector Thermo Scientific Multiskan FC

FOLIO: _____

ENTREVISTA CLÍNICA ENFOCADA A LA CARACTERIZACIÓN CLÍNICA DEL PACIENTE

Las preguntas con ☐ se deben llenar con: ✓ cuando la respuesta sea afirmativa, × cuando la respuesta sea negativa y dejar en blanco ☐ cuando no se cuente con la información

Ficha de identificación:

- 1.- Edad:
- 2.- Estado Civil: ☐ Soltero ☐ Casado ☐ Unión Libre
- 3.- Escolaridad:
- 4.- Ocupación:
- 5.- Vivienda: ☐ Rural ☐ Urbano

Historia Familiar

- 1.- Hipogonadismo ☐
- 2.- Criptorquidia ☐
- 3.- Defectos de la línea media ☐
- 4.- Fibrosis quística ☐

Ocupación y Hábitos

- 1.- Exposición a agentes químicos ☐
- 2.- Exposición al calor ☐
- 3.- Uso de saunas ☐
- 4.- Uso de piscinas climatizadas ☐
- 5.- Exposición a radiación ☐
- 6.- Consumo de tabaco ☐
- 7.- Consumo de alcohol ☐
- 8.- Consumo de drogas ☐
- 9.- Consumo de esteroides anabolizantes ☐
- 10.- Tratamiento previo de fertilidad

Antecedentes de la Infancia

- 1.- Criptorquidia ☐
- 2.- Ginecomastia ☐
- 3.- Anormalidades congénitas del tracto urinario ☐
- 4.- Anomalías congénitas del SNC ☐
- 5.- Edad de la Pubertad:

Antecedentes Patológicos

- 1.- Infección de vías urinarias ☐
- 2.- ETS ☐
- 3.- Orquitis Viral ☐
- 4.- ERC ☐
- 5.- Diabetes ☐
- 6.- Radioterapia ☐
- 7.- Proceso febril reciente ☐
- 8.- Epididimitis ☐
- 9.- TB ☐
- 10.- Anosmia ☐
- 11.- Alteraciones de la línea media ☐
- 12.- Otro (Especifique cual) ☐

Medicamentos actuales

Antecedentes Quirúrgicos

- 1.- Orquidopexia ☐
- 2.- Cirugía pélvica, escrotal, inguinal, retroperitoneal ☐
- 3.- Herniorrafia ☐
- 4.- Simpatectomía ☐
- 5.- Vasectomía ☐
- 6.- Traumatismos escrotales ☐
- 7.- Patología medular ☐
- 8.- Torsión testicular ☐

Padecimiento Actual

- 1.- Tiempo de Evolución:
- 2.- Fecha de diagnóstico:
- 3.- Alteraciones de la fertilidad:
- 4.- Dolor y características:
- 5.- Hipogonadismo:
- 6.- Otros datos relevantes para el padecimiento:

Exploración Física

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

A la consulta y diagnóstico de varicocele

Grado 0 ☐ Grado 1 ☐ Grado 2 ☐ Grado 3 ☐
Unilateral ☐ Bilateral ☐

XI RESUMEN BIOGRÁFICO

Dr. José Isabel Cornelio Ramos

Candidato para el grado de

Especialidad en Urología

Tesis: **“ALTERACIONES SEMINALES Y ESPERMÁTICAS EN
PACIENTES CON VARICOCELE”**

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Biografía

Datos personales: Nací el 6 de febrero de 1996, Reynosa, Tamaulipas.

Educación: Egresado de la UANL, obteniendo el grado de Médico Cirujano y
Partero en el año 2020

Experiencia Profesional: Médico Residente de la especialidad de Urología del
año 2022-2027