

Medicent Electrón. 2015 oct.-dic.;19(4)

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
«DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ»  
SANTA CLARA, VILLA CLARA**ARTÍCULO ORIGINAL****Caracterización morfométrica de espermatozoides en pacientes con espermograma normal (resultados preliminares)****Morphometric characterization of sperm in patients with normal spermiogram (preliminary results)****Dr. Iván Triana de la Paz<sup>1</sup>, Dr. Raúl López Pérez<sup>2</sup>, MSc. Dra. Marisabel Blanca García Gutiérrez<sup>3</sup>, Lic. Alfredo Santana Machado<sup>4</sup>, Lic. María del Carmen Fleites Vizcaino<sup>5</sup>, Dr. Pedro Sánchez Freire<sup>6</sup>**

1. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Residente de cuarto año de Histología. Asistente. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. Correo electrónico: [ivantp@capiro.vcl.sld.cu](mailto:ivantp@capiro.vcl.sld.cu)
2. Especialista de Segundo Grado en Histología. Profesor Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.
3. Especialista de Primer Grado en Histología y de Segundo Grado en Medicina Natural Tradicional. *Master* en Medicina Natural Tradicional. Profesor Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.
4. Licenciado en Cibernética Matemática. Profesor Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.
5. Licenciada en Laboratorio Clínico. Hospital Ginecobstétrico Mariana Grajales. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.
6. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Residente de cuarto año de Histología. Profesor Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.

**RESUMEN**

**Introducción:** en el estudio de la fertilidad masculina, la morfología espermática es de vital importancia pues posee un alto valor predictivo. Existen diferentes métodos para determinar parámetros morfométricos en espermatozoides mediante los que se informan disímiles resultados según la técnica empleada.

**Objetivo:** determinar las características morfométricas de los espermatozoides de una población de hombres, con parámetros de espermograma normal.

**Métodos:** se realizó un estudio descriptivo transversal de las características morfométricas de los espermatozoides en un grupo de 10 hombres estudiados en la consulta de reproducción asistida de la provincia de Villa Clara, durante el mes de febrero del año 2014. Se utilizó la técnica de tinción de hematoxilina y eosina; las mediciones se realizaron con el programa *Image J*<sup>®</sup>. Se realizó

un análisis estadístico descriptivo con el cálculo de la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

**Resultados:** se observó la variabilidad de todos los parámetros morfométricos. Los coeficientes de variación intraindividuo fueron menores que entre individuos. Los valores morfométricos de la cabeza resultaron mayores a los informados en otros estudios.

**Conclusiones:** se determinaron los parámetros morfométricos propuestos. Se recomienda ampliar el estudio mediante la utilización de otra variable: factores de forma de la cabeza espermática.

*DeCS:* fertilidad, espermatozoides, prueba de laboratorio/análisis.

## ABSTRACT

**Introduction:** sperm morphology is of great importance in the study of masculine fertility because of its high predictive value. There are different methods to determine sperm morphometric parameters, through which, dissimilar results are informed according to the technique employed.

**Objective:** to determine morphometric characteristics of sperms in a male population with normal spermiogram parameters.

**Methods:** a transversal descriptive study of the morphometric characteristics of sperms was carried out in a group of ten men studied in the assisted reproduction consultation in Villa Clara province on February, 2014. The hematoxylin and eosin staining technique was used, as well as, measures were made using the *Image J*<sup>®</sup> program. A descriptive statistical analysis was performed using the calculation of average, standard deviation and coefficient of variation.

**Results:** there was observed variability in all morphometric parameters. The intraindividual variation coefficients were smaller than the interindividual variability. Sperm head morphometric values were greater than the values informed in other studies.

**Conclusions:** the proposed morphometric parameters were determined. It is also recommended to extend the study using another variable as factors of sperm head shape.

*DeCS:* fertility, permatozoa, laboratory test/analysis.

## INTRODUCCIÓN

El estudio de la fertilidad masculina se basa en el análisis de las características físicas del semen, entre las cuales, la morfología espermática se considera una de las más importantes para determinar la calidad seminal, pues posee un alto valor predictivo de fertilidad. Existen, sin embargo, diferentes sistemas de evaluación de la morfología espermática normal, así como varias técnicas para la preparación y tinción de las muestras de semen.<sup>1-4</sup>

Los sistemas informáticos CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) permiten proporcionar datos relevantes de la cabeza (ancho, largo, área, perímetro) y pieza intermedia espermática (largo, ancho, ángulo y distancia). Estos se han utilizado con éxito en multitud de trabajos desde su comercialización, y su utilidad ha sido validada en diversos estudios, tanto en humanos como en otros mamíferos.<sup>5,6</sup> Además, a partir de las mediciones de la cabeza espermática se pueden obtener parámetros derivados, mediante fórmulas matemáticas, como la elipticidad, elongación y rugosidad, que brindan información sobre la forma de la cabeza espermática, por lo cual se les suele llamar factores de forma.<sup>7,8</sup>

Sin embargo, mediante los sistemas CASA, hasta el momento solo se pueden analizar parámetros morfométricos espermáticos de cabeza y pieza intermedia. Con la ayuda de otros programas informáticos de tratamiento y análisis de imagen, como el programa de libre difusión *Image J*<sup>®</sup>, se pueden obtener otros parámetros adicionales, como la longitud del flagelo espermático.<sup>9-12</sup>

Otro inconveniente en el uso de sistemas CASA radica en que su eficacia depende, en gran medida, de las técnicas de fijación y tinción usadas para las distintas muestras, ya que pueden alterar notablemente las dimensiones y forma de la cabeza espermática. En un intento de

homogeneizar los resultados obtenidos, se han desarrollado numerosos métodos rápidos de coloración, como *Diff-Quik*<sup>®</sup>, *Rapidiff*<sup>®</sup>, *SpermBlue*<sup>®</sup> y *Testsimplets*<sup>®</sup>. Todos los métodos mencionados son colorantes comercialmente disponibles; sin embargo, por su alto costo no están siempre accesibles para su uso en nuestro medio.

Diversos estudios informan la gran variabilidad de las dimensiones morfométricas en espermatozoides humanos, en dependencia del método de tinción usado. Por ejemplo, en un estudio realizado por R. Henkel, se compara el resultado de los parámetros morfológicos de espermatozoides humanos teñidos con los métodos de *Papanicolaou*, *Shorr* y *Testsimplets*<sup>®</sup> con resultados que favorecen la utilización de los dos primeros.<sup>13</sup> Posteriormente, L. Maree, al estudiar el efecto de tres técnicas de tinción (*Papanicolaou*, *Rapidiff*<sup>®</sup> y *SpermBlue*<sup>®</sup>), sobre las dimensiones de la cabeza del espermatozoide humano, encontró variaciones morfométricas significativas entre los tres métodos.<sup>2</sup>

Otros trabajos realizan comparaciones entre métodos más tradicionales, como el ejecutado por E. Aksoy, en el que se comparan varias técnicas de tinción, y concluyen que los mejores resultados en la evaluación morfométrica de los espermatozoides se obtienen utilizando hematoxilina y eosina (HE), azul de toluidina, el método de *Shorr* y la tinción de *Papanicolaou*.<sup>14</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha desarrollado un manual de laboratorio para el examen del semen, en el cual se sugiere el uso de los métodos de tinción de *Papanicolaou*, *Shorr* o *Diff-Quik*<sup>®</sup>, y se establecen estrictos criterios para determinar la morfología y morfometría espermáticas normales.<sup>15</sup> Con la publicación de las diferentes versiones de este manual, se ha intentado universalizar la metodología usada para el espermograma, lo que ha facilitado la comparación de los parámetros seminales entre poblaciones. Sin embargo, cuando se quiere discutir sobre normalidad y anormalidad dentro de una población o un grupo de individuos, la misma OMS sugiere que cada laboratorio trate de establecer los parámetros seminales de referencia que correspondan a su zona de influencia.<sup>16</sup>

Teniendo en cuenta que no se han realizado en la provincia de Villa Clara estudios sobre los parámetros seminales que permitan establecer valores de referencia de estos en la población cubana, se decidió determinar las características morfométricas de los espermatozoides de una población de hombres con espermograma normal, estudiados en la consulta de reproducción asistida de esta provincia.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal de las características morfométricas de los espermatozoides en un grupo de hombres estudiados en la consulta de reproducción asistida de la provincia de Villa Clara durante los meses de febrero y marzo del año 2014, como un primer acercamiento a un trabajo de mayor alcance, que se encuentra actualmente en desarrollo. Se seleccionó una muestra probabilística, a través de un muestreo aleatorio simple, consistente en 10 pacientes que cumplieron los siguientes requisitos:

Criterios de inclusión:

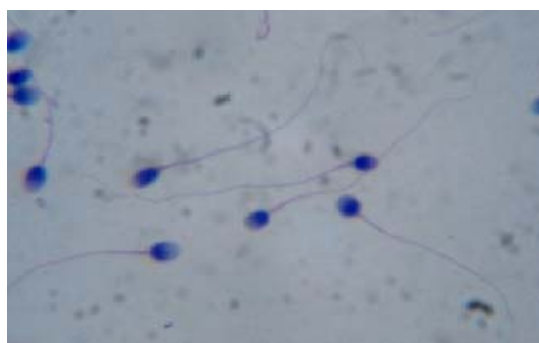
- Espermograma de parámetros normales.
- Criterios de exclusión:
- Mala calidad de las imágenes microscópicas de las extensiones de semen preparadas.

Las muestras de semen se obtuvieron por masturbación y se recibieron en frascos de polietileno, cerrados y estériles. La toma se realizó en una sala especialmente habilitada, con condiciones de privacidad, disponible en la consulta de reproducción asistida de la provincia de Villa Clara, que radica en el Hospital Ginecobstétrico «Mariana Grajales» de la ciudad de Santa Clara. Las muestras se obtuvieron después de un mínimo de dos días y un máximo de siete días de abstinencia sexual. Los frascos con las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente hasta que se produjo la licuefacción del semen.

De cada muestra se preparó una lámina, para lo cual se tomaron de 5 a 10  $\mu\text{l}$  de semen, y se realizó una extensión sobre un portaobjetos de vidrio previamente rotulado con un número consecutivo. Las extensiones se dejaron secar al aire antes de ser fijadas y teñidas por el método de HE. Esta técnica de tinción fue seleccionada, teniendo en cuenta su disponibilidad en nuestros laboratorios, después de consultar estudios que la utilizan con buenos resultados en la evaluación de la morfología espermática.<sup>14</sup>

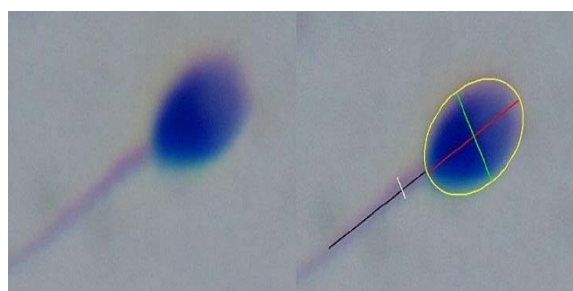
Para la observación de las láminas, se utilizó un microscopio óptico binocular *OPTECH*, con lente ocular de 10x y objetivo de 100x. Las imágenes se capturaron mediante una cámara fotográfica digital *CANON Power Shot G11* acoplada al microscopio. Las fotografías se tomaron en formato JPG, con una resolución de 3648 x 2736 píxeles y con un tamaño de píxel de 0,023  $\mu\text{m}$  en ambos ejes. De cada lámina se obtuvieron fotografías, en número suficiente que permitiera la posterior selección de 20 espermatozoides por lámina. En cada fotografía se numeraron los espermatozoides, que seguidamente se usaron para los estudios morfométricos. De esta manera, también quedaron registrados para su posterior consulta, si fuese necesario.

Las dimensiones espermáticas se determinaron mediante el programa de análisis y procesado de imágenes, de dominio público, *Image J*<sup>®</sup>, versión 1,44 (*National Institutes of Health, USA*). Los análisis se llevaron a cabo sobre las fotografías al 100 % de su tamaño, excepto la medición de la longitud de la pieza principal que, por sus dimensiones, se realizó a un 25 %. Una escala de 10  $\mu\text{m}$  (434 píxeles) fue usada para realizar las medidas. Se midieron un total de 200 espermatozoides (Figura 1).



**Figura 1.** Espermatozoides teñidos con la técnica de HE.  
Magnificación: 100X.

El espermatozoide consta de las siguientes partes: cabeza, cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal. Como la pieza terminal es difícil de observar con el microscopio óptico, se puede considerar que la célula está compuesta de: cabeza (incluye cabeza y cuello) y cola (incluye pieza intermedia y pieza principal)<sup>15</sup> (Figuras 2,3).



**Figura 2.** A la izquierda se observan la cabeza y pieza intermedia de un espermatozoide. A la derecha, la misma célula procesada mediante el programa *Image J*<sup>®</sup>. Línea amarilla. Perímetro de la cabeza. Línea roja: Longitud de la cabeza. Línea verde: Ancho de la cabeza. Línea negra: Longitud de la pieza intermedia. Línea blanca: Ancho de la pieza intermedia.



**Figura 3.** Medición del espermatozoide utilizando el programa *Image J*<sup>®</sup>. Línea amarilla: longitud de la pieza principal. Técnica: HE. Magnificación: 100X.

Para cada espermatozoide se realizaron un total de ocho mediciones:

1. Longitud de la cabeza: máxima longitud de la cabeza ( $\mu\text{m}$ )
2. Ancho de la cabeza: mínima longitud de la cabeza ( $\mu\text{m}$ )
3. Perímetro de la cabeza: delimitación de la cabeza ( $\mu\text{m}$ )
4. Área de la cabeza: superficie dentro del perímetro ( $\mu\text{m}^2$ )
5. Longitud de la pieza intermedia: máxima longitud de la pieza intermedia ( $\mu\text{m}$ )
6. Ancho de la pieza intermedia: mínima longitud de la pieza intermedia ( $\mu\text{m}$ )
7. Longitud de la pieza principal ( $\mu\text{m}$ )
8. Longitud total espermática ( $\mu\text{m}$ )

Las mediciones se guardaron en una hoja de cálculo de *Microsoft Excel*, que posteriormente fue importada al paquete de programas estadísticos *SPSS* versión 15,0 sobre *Windows*, para el procesamiento estadístico de la información. Se realizó un análisis estadístico descriptivo con el cálculo de la media, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV) para toda la muestra y para cada individuo. El CV intraindividuo se calculó como la media de cada uno de los CV de los sujetos; asimismo, el CV entre individuos se realizó calculando el CV de todas las medidas individuales espermáticas de toda la muestra. Durante todo el estudio, se respetaron las normas de la Declaración de Helsinki para investigaciones con seres humanos.

## RESULTADOS

La longitud media del espermatozoide resultó de  $54,46 \pm 2,85 \mu\text{m}$  y la proporción de cada una de las longitudes de sus estructuras fueron las siguientes: longitud de la cabeza = 9,34 % (de la longitud total de la célula); longitud de la pieza intermedia = 8,68 % y longitud de la pieza principal = 81,93 %. En cuanto a los parámetros morfométricos de la cabeza, se observaron valores medios de  $5,09 \pm 0,37 \mu\text{m}$  para la longitud y  $3,41 \pm 0,23 \mu\text{m}$  para el ancho. Para la pieza intermedia, se determinaron mediciones de  $4,73 \pm 0,63 \mu\text{m}$  para la longitud y  $0,97 \pm 0,13 \mu\text{m}$  para el ancho. Por último, la longitud media de la pieza principal resultó de  $44,62 \pm 2,57 \mu\text{m}$ . Para todos los parámetros evaluados, los coeficientes de variación intraindividuo fueron menores que los

encontrados entre los diferentes individuos. En todos los casos, la longitud total espermática resultó ser el parámetro más constante (Tabla).

**Tabla.** Estadísticos descriptivos de los parámetros morfométricos espermáticos.

Parámetros morfométricos	Media	DE	Rango (máx-min)	CV (% intra individuo)	CV (% entre individuos)
Área cabeza ( $\mu\text{m}^2$ )	13,82	1,49	18,21- 9,42	9,54	10,82
Perímetro cabeza ( $\mu\text{m}$ )	13,79	0,87	17,67- 11,09	5,44	6,33
Longitud cabeza ( $\mu\text{m}$ )	5,09	0,37	6,46- 4,03	6,56	7,26
Ancho cabeza ( $\mu\text{m}$ )	3,41	0,23	4,05- 2,9	5,91	6,87
Longitud pieza intermedia ( $\mu\text{m}$ )	4,73	0,63	6,83- 3,62	9,82	13,37
Ancho pieza intermedia ( $\mu\text{m}$ )	0,97	0,13	1,49- 0,72	12,49	13,48
Longitud pieza principal ( $\mu\text{m}$ )	44,62	2,57	52,84- 36,48	5,17	5,77
Longitud total ( $\mu\text{m}$ )	54,46	2,85	63,92- 46,71	4,44	5,23

## DISCUSIÓN

Debe tenerse en cuenta que no existen en el área investigaciones similares con los cuales comparar los resultados encontrados. Además, los estudios consultados en la literatura corresponden a otras zonas geográficas y utilizan diferentes métodos de preparación y tinción de la muestra, lo cual puede afectar los resultados finales y hacer difícil la comparación de estos.<sup>2,14,17</sup>

En general, se observó la variabilidad de todos los parámetros morfométricos, tanto dentro de un mismo individuo, como entre todos los individuos de la muestra. Este es un resultado esperado, puesto que es ampliamente aceptado en la literatura consultada que los espermatozoides humanos muestran una gran heterogeneidad y polimorfismo, incluso dentro de un mismo sujeto.<sup>1,6,18</sup> Esta diversidad morfológica contrasta con la encontrada en la mayoría de los animales domésticos, que generalmente presentan una población espermática más homogénea en especies individuales.<sup>8,10,17</sup>

En cuanto a los parámetros morfométricos de la cabeza, los valores obtenidos difieren de los encontrados en los trabajos consultados y son algo mayores que los allí informados. Esto podría estar en relación con la técnica de tinción y el método de medición empleado, según se explicó en la metodología. La influencia de la técnica empleada sobre los resultados morfométricos en espermatozoides ha sido tratada por numerosos autores en estudios que comparan variados métodos de coloración.<sup>2,14,17</sup> La OMS recomienda el uso de la tinción de *Papanicolaou* y sugiere valores en el rango de 3,7- 4,7  $\mu\text{m}$  para la longitud y de 2,5 - 3,2  $\mu\text{m}$  para el ancho de la cabeza espermática.<sup>15</sup> Una autoridad en la materia, como *R. Menkveld*, integrante del grupo de *Tygerberg* –que introdujo los criterios estrictos, aceptados mundialmente, para la evaluación de la morfología espermática– sugiere valores medios de  $4,07 \pm 0,19 \mu\text{m}$  para la longitud de la cabeza y una media de  $2,98 \pm 0,14 \mu\text{m}$  para el ancho, utilizando la tinción de *Papanicolaou*.<sup>18,19</sup> En un estudio donde se

utiliza la tinción de HE, realizado por Aksoy *et al.*, se informan mediciones de  $4,75 \pm 0,15 \mu\text{m}$  para la longitud y  $2,60 \pm 0,16 \mu\text{m}$  para el ancho de la cabeza.<sup>14</sup>

Respecto a los parámetros morfométricos de la pieza intermedia, se obtuvieron valores comparables a los informados en los trabajos consultados, lo que indica tal vez que la técnica de coloración empleada es más susceptible de afectar las mediciones de la cabeza espermática que aquellas de la pieza intermedia. En este caso, la OMS propone valores en un rango de 3,3 - 5,2  $\mu\text{m}$  para la longitud de la pieza intermedia y de 0,5 - 0,7  $\mu\text{m}$  para su anchura. Resulta interesante señalar que en un estudio donde se empleó una técnica histoquímica de tinción con especial afinidad por la pieza intermedia del espermatozoide, para resaltarla y facilitar su medición, tanto la longitud como el ancho resultaron mayores que los mencionados.<sup>20</sup>

La mayoría de los estudios morfométricos realizados en humanos utilizan los sistemas CASA y, por tanto, no incluyen mediciones de la pieza principal del espermatozoide; no obstante, la literatura disponible coincide en que su longitud es aproximadamente de 45  $\mu\text{m}$ , valor comparable al señalado anteriormente.<sup>15,19</sup>

Se recomienda ampliar el estudio a un mayor número de individuos, utilizando la técnica mencionada e incluso evaluar otros parámetros morfométricos, como los factores de forma de la cabeza espermática, que son utilizados internacionalmente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Menkveld R. Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Asian J Androl [internet]. 2010 [citado 31 mayo 2013];12:[aprox. 12 p]. Disponible en: <http://www.asiaandro.com/news/upload/20130621-aja200914a.pdf>
2. Maree L, du Plessis SS, Menkveld R, van der Horst G. Morphometric dimensions of the human sperm head depend on the staining method used. Hum Reprod [internet]. 2010 [citado 9 mayo 2013];25(6):[aprox. 13 p]. Disponible en: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/25/6/1369.full>
3. Eliasson R. Semen analysis with regard to sperm number, sperm morphology and functional aspects. Asian J Androl [internet]. 2010 Jan. [citado 1 mar. 2015]; 12(1):[aprox. 7 p]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3739674/>
4. Espinoza Navarro O, Cortés AS, Monreal J, Ferreccio C. Análisis de las variables del espermiograma en jóvenes sanos en Arica-Chile. Rev Méd Chile [internet]. 2010 dic. [citado 13 abr. 2013];138(12):[aprox. 6 p]. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872010001300006&script=sci\\_arttext&lng=en](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872010001300006&script=sci_arttext&lng=en)
5. Maroto Morales A. Evaluación objetiva de la morfometría de los espermatozoides de ovino (*ovis aries*). Relaciones con la fertilidad [tesis]. Albacete, España: Universidad de Castilla-La Mancha; 2012 [citado 13 abr. 2013]. Disponible en: [http://www.uclm.es/irec/Ecologia/pdf/repro\\_tesis/Tesis%20Doctoral%20Alejandro%20Maroto%20Morales.pdf](http://www.uclm.es/irec/Ecologia/pdf/repro_tesis/Tesis%20Doctoral%20Alejandro%20Maroto%20Morales.pdf)
6. Gimeno Miquel IM. Morfología espermática y parámetros seminales básicos en varones normo y oligoastenoteratozoospermicos [tesis]. Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia; 2014 [citado 20 feb. 2015]. Disponible en: <http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/46241/TFG%20Isabel%20Gimeno.pdf?sequence=1>
7. Estes MC, Rodriguez E, Toledano-Diaz A, Castaño C, Pradiee J, López-Sebastián A, *et al.* Descriptive analysis of sperm head morphometry in Iberian ibex (*Capra pyrenaica*): Optimum sampling procedure and staining methods using Sperm-Class Analyzer. Anim Reprod Sci [internet]. 2015 Feb. 6 [citado 5 mar. 2015];155:[aprox. 8 p]: Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25721563>
8. Armengol MF, Sabino GA, Forquera JC, de la Casa A, Aisen EG. Sperm head ellipticity as a heat stress indicator in Australian Merino rams (*Ovis aries*) in Northern Patagonia, Argentina. Theriogenology [internet]. 2014 Oct. 30 [citado 16 feb. 2015];83(4):[aprox. 7 p]: Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25443418>

9. Castillo Lalaguna V. Desarrollo de un método de referencia basado en el método ISAS y análisis de imágenes para la evaluación morfológica del acrosoma del espermatozoide en la especie ovina [tesis]. Zaragoza, España: Universidad de Zaragoza; 2012.
10. Buzón Cuevas A. Análisis cinético y morfológico del espermatozoide del caballo empleando el sistema Sperm Class Analyzer [tesis]. España: Universidad de Córdoba; 2013 sep. [citado 4 abr. 2014]. Disponible en: <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/11586/201400000902.pdf?sequence=1>
11. Ros Santaella J. Morfometría espermática en ciervo ibérico (*cervus elaphus hispanicus*) [tesis]. Albacete, España: Universidad de Castilla-La Mancha; 2012 [citado 28 mayo 2014]. Disponible en: [http://www.uclm.es/irec/Ecologia/pdf/repro\\_tesis/Ros-Santaella-JL-Tesis-Doctoral.pdf](http://www.uclm.es/irec/Ecologia/pdf/repro_tesis/Ros-Santaella-JL-Tesis-Doctoral.pdf)
12. Rodríguez PJ, Peña JM, Góngora OA, Murillo PR. Obtención y evaluación del semen de capibara *hydrochoerus hydrochaeris*. Rev MVZ [internet]. 2012 [citado 26 mayo 2014];17(2):[aprox. 7 p]. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-172/body/v17n2a06.html>
13. Henkel R, Schreiber G, Sturmhoefel A, Hipler UC, Zermann DH, Menkveld R. Comparison of three staining methods for the morphological evaluation of human spermatozoa. Fertil Steril [internet]. 2007 Jun. 28 [citado 29 mayo 2014]; 89(2):[aprox. 7 p]; Disponible en: <http://www.fertstert.org/article/S0015-0282%2807%2900608-5/fulltext>
14. Aksoy E, Murad Aktan T, Duman S, Cuce G. Assessment of spermatozoa morphology under light microscopy with different histologic stains and comparison of morphometric measurements. Int J Morphol [internet]. 2012 dic. [citado 4 mayo 2013];30(4):[aprox. 6 p]. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022012000400045&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022012000400045&lng=es)
15. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th. ed. Geneva: World Health Organization Press; 2010.
16. Berdugo J, Madero JI, Díaz-Yunez I, Restrepo Betancur F, Cardona Maya W. Evaluación de los parámetros seminales en tres ciudades colombianas, diferencias regionales. Rev Cubana Obstet Ginecol [internet]. 2011 mayo-ago. [citado 25 mar. 2013];37(2):[aprox. 8 p]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-600X2011000200018&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2011000200018&lng=es)
17. Bellastella G, Cooper TG, Battaglia M, Ströse A, Torres I, Hellenkemper B, et al. Dimensions of human ejaculated spermatozoa in papanicolaou-stained seminal and swim-up smears obtained from the Integrated Semen Analysis system (ISAS®). Asian J Androl [internet]. 2010 Sep. 20 [citado 29 dic. 2014];12:[aprox. 9 p]; Disponible en: <http://www.asiaandro.com/news/upload/20130627-aja201090a.pdf>
18. Menkveld R, Holleboom CA, Rhemrev JP. Measurement and significance of sperm morphology. Asian J Androl [internet]. 2010 Nov. 15 [citado 7 feb. 2015]; 13(1):[aprox. 10 p]; Disponible en: <http://www.asiaandro.com/news/upload/20130930-aja201067a.pdf>
19. Menkveld R. Sperm morphology assessment using strict (tygerberg) criteria. Methods Mol Biol [internet]. 2013 [citado 8 feb. 2015];927:[aprox. 12 p]; Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22992902>
20. Gergely A, Kovanci E, Senturk L, Cosmi E, Vigue L, Huszar G. Morphometric assessment of mature and diminished-maturity human spermatozoa: Sperm regions that reflect differences in maturity. Hum Reprod [internet]. 1999 [citado 24 mayo 2013];14(8):[aprox. 8 p]. Disponible en: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/14/8/2007.full?sid=21c05b9c-6233-4786-951d-980fccd91ad5>

Recibido: 8 de octubre de 2014

Aprobado: 6 de diciembre de 2014

Dr. Iván Triana de la Paz. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Residente de cuarto año de Histología. Asistente. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. Correo electrónico: [ivantp@capiro.vcl.sld.cu](mailto:ivantp@capiro.vcl.sld.cu)