

Medicent Electrón. 2016 oct. -dic. ;20(4)

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
«DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ»  
SANTA CLARA, VILLA CLARA

## ARTÍCULO ORIGINAL

### Identificación de subpoblaciones, según la morfometría de la cabeza espermática, en hombres con espermograma normal

### Identification of subpopulations according to sperm head morphometry in men with normal spermiogram results

Iván Triana de la Paz<sup>1</sup>, Raúl López Pérez<sup>1</sup>, Marisabel Blanca García Gutiérrez<sup>1</sup>, Norma Pérez Pérez de Prado<sup>2</sup>, Elena María Menéndez Hernández<sup>1</sup>, Pedro Sánchez Freire<sup>1</sup>

1. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara 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. Hospital Pediátrico José Luis Miranda. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.

## RESUMEN

**Introducción:** la morfometría resulta un valioso instrumento para valorar la morfología espermática, además de permitir la identificación de diferentes subpoblaciones, lo cual posibilita una mejor valoración de la morfología de los espermatozoides.

**Objetivo:** identificar las subpoblaciones espermáticas existentes, según las variables morfométricas de la cabeza, en la población estudiada.

**Métodos:** se realizó un estudio observacional analítico de las características morfométricas de 1 200 espermatozoides correspondientes a las muestras seminales de 60 hombres con espermograma normal, estudiados en la consulta de reproducción asistida de la provincia de Villa Clara, durante los meses de enero a marzo del año 2014. Se utilizaron métodos de análisis de conglomerados para la identificación de subpoblaciones morfométricas.

**Resultados:** se identificaron tres subpoblaciones, según la morfometría de la cabeza espermática, en la población estudiada.

**Conclusiones:** solo una de las tres subpoblaciones morfométricas identificadas presentó espermatozoides que, desde el punto de vista morfológico y morfométrico, pueden ser considerados normales según los criterios establecidos.

*DeCS:* cabeza del espermatozoide, infertilidad masculina.

## ABSTRACT

**Introduction:** morphometry is a valuable tool to evaluate sperm morphology, as well as, it allows the identification of different subpopulations, which makes possible a better evaluation of spermatozoa morphology.

**Objective:** to identify existing sperm subpopulations in the studied population according to sperm head morphometric variables.

**Methods:** an analytic observational study of the morphometric characteristics of 1 200 spermatozoa from the seminal samples of 60 men with normal spermiogram results seen in the Assisted Reproduction Unit of Villa Clara province was carried out between January and March, 2014. Methods to analyze conglomerates were used to identify morphometric subpopulations.

**Results:** three subpopulations were identified in the studied population according to the sperm head morphometry.

**Conclusions:** only one of the three identified morphometric subpopulations had normal spermatozoa taking into consideration the morphologic and morphometric established criteria.

*DeCS:* sperm head, infertility, male.

## INTRODUCCIÓN

La infertilidad se define como la incapacidad de una pareja para concebir, después de un año de relaciones sexuales frecuentes sin medidas anticonceptivas. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen en el mundo aproximadamente ochenta millones de parejas con problemas de fertilidad, situación que afecta a un 15 % de las parejas en edad reproductiva, y se atribuye al factor masculino del 40 al 50 % de los casos.<sup>1,2</sup>

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, pues se estima que posee un alto valor predictivo de fertilidad.<sup>3,4</sup> Aunque la importancia de la morfología espermática normal es aceptada desde principios del siglo XX, cuando por primera vez se hizo evidente que en una muestra de semen podían aparecer simultáneamente formas normales y anormales de espermatozoides, la metodología para su evaluación permaneció como un tema controversial hasta la introducción de los criterios del grupo de Tygerberg, en 1988 (criterios estrictos de Kruger), que son ahora mundialmente aceptados y recomendados por la OMS, y se exponen a continuación:<sup>5,6</sup>

- La cabeza del espermatozoide debe ser lisa, de contornos regulares y de forma ovalada. Debe existir una región acrosómica bien definida que no debe contener vacuolas grandes o no más de dos vacuolas pequeñas que no deben ocupar más del 20 % de la cabeza. La región postacrosómica no debe contener ninguna vacuola.
- La pieza intermedia debe ser esbelta, regular y aproximadamente de la misma longitud que la cabeza. Su eje mayor debe estar alineado con el eje mayor de la cabeza. El citoplasma residual es considerado una anomalía solo cuando está en exceso (más de un tercio del tamaño de la cabeza).
- La pieza principal debe tener un calibre uniforme a todo su largo, debe ser más delgada que la pieza intermedia y no debe estar doblada en un ángulo agudo que indique ruptura del flagelo.

Esta descripción del espermatozoide normal se basa en el hallazgo de que los espermatozoides obtenidos del moco endocervical del cuello uterino después del coito, muestran características

morfológicas muy homogéneas que se corresponden con las descritas, mientras que muy rara vez se pueden encontrar allí formas anormales. Lo anterior contrasta con lo que ocurre en el examen del semen eyaculado, donde, como norma, existe una población espermática heterogénea desde el punto de vista morfológico. Esta evidencia apoya la teoría de que solo los espermatozoides con forma y estructura normales son capaces de migrar a través del moco cervical y finalmente lograr la fecundación. Más aún, únicamente espermatozoides con las mencionadas características morfológicas normales han sido hallados adheridos a la zona pelúcida del ovocito; de modo que se piensa que una selección de tales espermatozoides tiene lugar, no solo durante la migración a través del moco endocervical, sino también a nivel del cúmulo oophorus, la corona radiata y la zona pelúcida.<sup>3,4,7</sup>

La morfometría constituye un instrumento imprescindible en la evaluación de la morfología espermática, puesto que permite obtener información exhaustiva sobre las dimensiones de los espermatozoides para, de este modo, establecer comparaciones con valores preestablecidos.<sup>7,8</sup>

Ciertas anomalías espermáticas, como cabezas excesivamente grandes y globosas, deformes, dobles o ausentes, etc., son fácilmente reconocibles en el examen microscópico. Sin embargo, para clasificar las cabezas espermáticas como demasiado grandes, demasiado pequeñas o alargadas, se necesita hacer uso de la morfometría, si se quiere asegurar una correcta evaluación, puesto que esta técnica permite reconocer pequeñas diferencias entre los espermatozoides del eyaculado, que no se podrían detectar mediante los métodos tradicionales de observación. Esta es un área a la cual se le presta especial atención en la actualidad, toda vez que las variaciones en las dimensiones espermáticas tienen implicaciones clínicas. Se ha demostrado, por ejemplo, que la presencia de espermatozoides con cabezas muy pequeñas se asocia con infertilidad, e incluso se obtienen pobres resultados cuando tales espermatozoides son utilizados en procedimientos de fertilización *in vitro*, presumiblemente porque una cabeza tan pequeña implica un alto grado de fragmentación del ADN. Además, se ha encontrado una disminución de la capacidad fecundante en espermatozoides con cabezas demasiado grandes o muy alargadas; estos últimos también se asocian con la presencia de infecciones del tracto urogenital masculino y varicocele.<sup>3,4,9</sup>

Un aspecto particularmente interesante de la caracterización morfométrica de los espermatozoides es la posibilidad de utilizar estos datos para identificar diferentes subpoblaciones espermáticas en el eyaculado. La existencia de subpoblaciones espermáticas en relación con diferentes características del espermatozoide es un hecho aceptado en la actualidad por la comunidad científica.<sup>10,11</sup> Hoy se considera erróneo el antiguo enfoque que consideraba a los espermatozoides de un eyaculado como una población homogénea, en tanto que es ampliamente admitida la existencia de diferentes subpoblaciones morfológicas en el eyaculado de la mayoría de las especies, donde coexisten espermatozoides que manifiestan pequeñas diferencias respecto a las características morfométricas de la cabeza. Aunque el origen de estas subpoblaciones y su importancia fisiológica no están del todo precisados, se piensa que tengan una base genética y se deban a diferencias en el desarrollo individual de los espermatozoides durante la espermatogénesis, así como a su distinto grado de maduración al dejar la cola del epidídimo durante la eyaculación. Además, se estima que probablemente estas variaciones también se correspondan con diferencias en cuanto a la capacidad fecundante de los espermatozoides. La caracterización de las diferentes formas espermáticas y el estudio de su relación con la fertilidad es una de las posibilidades que actualmente ofrece el análisis morfométrico, que permite mayor precisión y objetividad en el análisis seminal.<sup>12-14</sup> De este modo, numerosos investigadores han utilizado los datos obtenidos de la morfometría de la cabeza espermática para identificar, mediante el uso de métodos estadísticos de clústeres o conglomerados, la presencia de varias subpoblaciones de espermatozoides en diferentes especies de mamíferos. Dichos métodos consisten en la agrupación de elementos, en este caso espermatozoides, sobre la base de la similitud de determinadas variables.<sup>15,16</sup>

Aunque el análisis de la morfometría espermática ha sido tratado por autores de varios países y existe consenso en la comunidad científica sobre su importancia en el estudio de la fertilidad masculina, se divulga poca información acerca de esta línea de investigación en nuestro país. Este equipo de investigadores ha publicado recientemente un trabajo que constituye un primer acercamiento al tema, en el cual se estudian distintas variables morfométricas del espermatozoide humano.<sup>17</sup> A partir de aquellos primeros resultados, se decidió ampliar dicha investigación, así como utilizar esta información para identificar subpoblaciones espermáticas en el eyaculado de un grupo de hombres con espermograma normal, estudiados en la consulta de reproducción asistida de la provincia de Villa Clara.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional analítico de las características morfométricas de los espermatozoides en un grupo de 60 hombres estudiados en la consulta de reproducción asistida de la provincia de Villa Clara, durante los meses de enero a marzo del año 2014. La población de estudio consistió en 1 200 espermatozoides correspondientes a las muestras seminales de los sujetos mencionados, que cumplieron con los siguientes requisitos:

Criterios de inclusión:

- Espermograma dentro de parámetros normales.

Criterios de exclusión:

- Mala calidad de las imágenes en el examen microscópico de las extensiones de semen preparadas.

Las muestras de semen se obtuvieron por masturbación y se recibieron en frascos de polietileno estériles. La toma se realizó en una sala especialmente habilitada, disponible en la consulta de reproducción asistida de la provincia de Villa Clara, que radica en el Hospital Universitario Ginecobstétrico «Mariana Grajales» de la ciudad de Santa Clara. Los frascos 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 µl 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 hematoxilina y eosina (HE).

Para la observación de las láminas, se utilizó un microscopio óptico binocular OPTTECH, con lente ocular de 10X y objetivo de 100X para una magnificación total de 1000X. Las imágenes se captaron 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 µm en ambos ejes. De cada lámina se obtuvieron fotografías en número suficiente, que permitieran 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, 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, ImageJ<sup>®</sup>, versión 1,44 (National Institutes of Health, USA). Los análisis se llevaron a cabo sobre las fotografías al 100 % de su tamaño. Una escala de 10 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) (434 píxeles) fue usada para realizar las medidas.

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>6</sup> Para cada espermatozoide se determinaron cuatro mediciones y tres parámetros descriptores de forma, derivados de los anteriores:<sup>10,18,19</sup>

1. Longitud de la cabeza (L): Máxima longitud de la cabeza ( $\mu\text{m}$ )
2. Anchura de la cabeza (W): Mínima longitud de la cabeza ( $\mu\text{m}$ )
3. Perímetro de la cabeza (P): Delimitación de la cabeza ( $\mu\text{m}$ )
4. Área de la cabeza (A): Superficie dentro del perímetro ( $\mu\text{m}^2$ )
5. Elipticidad: Se obtuvo mediante la fórmula  $L/W$ . Describe la forma elíptica de un objeto, de modo que su valor es uno para un círculo y mayor que uno para una elipse. A medida que este valor aumenta alejándose de uno, indica una forma más adelgazada de la cabeza.
6. Elongación: Se obtuvo mediante la fórmula  $L-W/L+W$ . Describe el grado de alargamiento de un objeto, de manera que su valor es cero para un círculo y alcanza hasta uno para una línea. A medida que este valor aumenta alejándose de cero, indica una cabeza de forma más alargada.
7. Rugosidad: Se obtuvo mediante la fórmula  $4 \times \pi \times A/P^2$ . Describe el grado de circularidad de un objeto, de tal forma que tiene un valor de uno cuando es un círculo perfecto y cero cuando es una línea. A medida que este valor aumenta acercándose a uno, indica una forma más circular de la cabeza.

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. Para lograr la identificación de subpoblaciones espermáticas, se utilizó la técnica multivariante de conglomerados en dos fases (*two step cluster*). En la realización del análisis, se usó como medida de distancia la log-verosimilitud, por ser más robusta que la distancia euclídea, y la determinación automática para la obtención del número óptimo de conglomerados, utilizando el criterio de conglomeración bayesiano de Schwarz. Una vez obtenida la clasificación de los espermatozoides e identificadas las subpoblaciones morfométricas, se describieron las características de los grupos formados según las variables morfométricas analizadas, a través de la media aritmética y la desviación estándar. Mediante gráficos de importancia de las variables, se identificó el orden de significación de cada una dentro de cada subpoblación. La calidad de los conglomerados obtenidos se evaluó mediante la operación medida de silueta de cohesión y separación, incluida en la versión 21.0 de SPSS para Windows. El rango de los valores de esta medida está dado por el intervalo desde -1 a 1, que permite evaluar los resultados como pobres, aceptables o buenos, según los datos reflejen una evidencia razonable de que existe una estructura de conglomerados. Durante todo el estudio, se respetaron las normas de la declaración de Helsinki para investigaciones con seres humanos.

## RESULTADOS

Se analizaron 1 200 espermatozoides, cada uno de los cuales proporcionó siete parámetros morfométricos, cuyos estadísticos descriptivos se muestran detalladamente en la tabla 1. Según el análisis morfométrico de la cabeza, se identificaron tres subpoblaciones espermáticas. Un resumen de los estadísticos descriptivos de estas se presenta en la tabla 2.

**Tabla 1.** Estadísticos descriptivos de los parámetros morfométricos.

<b>Variabes morfométricas</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>
Área cabeza ( $\mu\text{m}^2$ )	8,32	18,88	13,30	1,65
Perímetro cabeza ( $\mu\text{m}$ )	10,44	17,67	13,38	0,91
Longitud cabeza ( $\mu\text{m}$ )	3,79	6,57	5,00	0,41
Anchura cabeza ( $\mu\text{m}$ )	2,57	4,27	3,33	0,25
Elipticidad	1,08	2,17	1,50	0,15
Elongación	0,04	0,37	0,19	0,04
Rugosidad	0,66	1,00	0,93	0,04

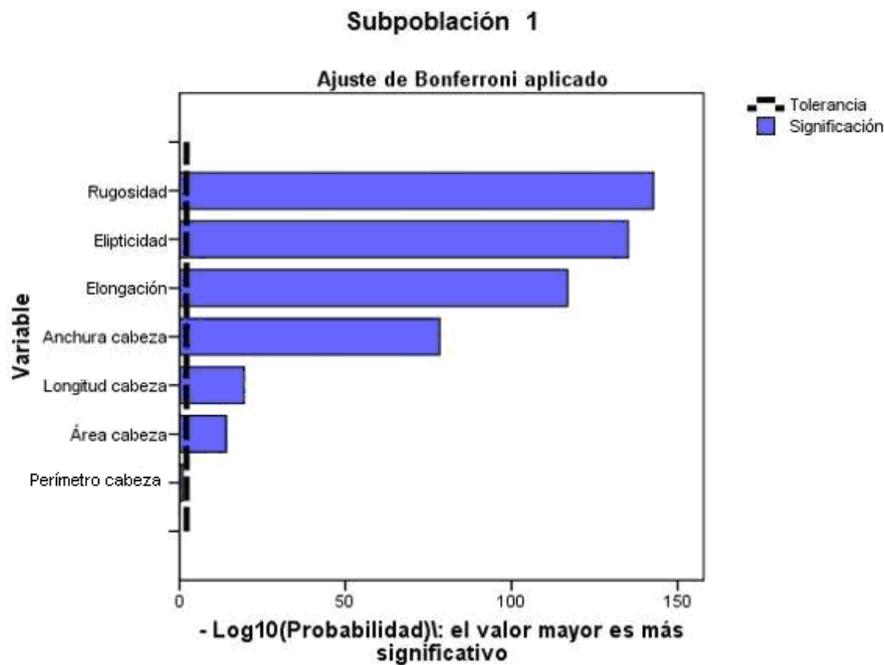
DE: Desviación estándar.

**Tabla 2.** Estadísticos descriptivos (media y desviación estándar) de las variables morfométricas en las subpoblaciones.

<b>Variabes morfométricas</b>	<b>SP<sub>1</sub></b>	<b>SP<sub>2</sub></b>	<b>SP<sub>3</sub></b>
Área cabeza ( $\mu\text{m}^2$ )	13,81 $\pm$ 1,27	11,42 $\pm$ 0,83	14,20 $\pm$ 1,26
Perímetro cabeza ( $\mu\text{m}$ )	13,43 $\pm$ 0,62	12,37 $\pm$ 0,49	14,06 $\pm$ 0,67
Longitud cabeza ( $\mu\text{m}$ )	4,87 $\pm$ 0,25	4,64 $\pm$ 0,25	5,37 $\pm$ 0,29
Anchura cabeza ( $\mu\text{m}$ )	3,55 $\pm$ 0,18	3,09 $\pm$ 0,14	3,31 $\pm$ 0,21
Elipticidad	1,37 $\pm$ 0,07	1,50 $\pm$ 0,11	1,62 $\pm$ 0,13
Elongación	0,15 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,03
Rugosidad	0,96 $\pm$ 0,01	0,93 $\pm$ 0,02	0,90 $\pm$ 0,04

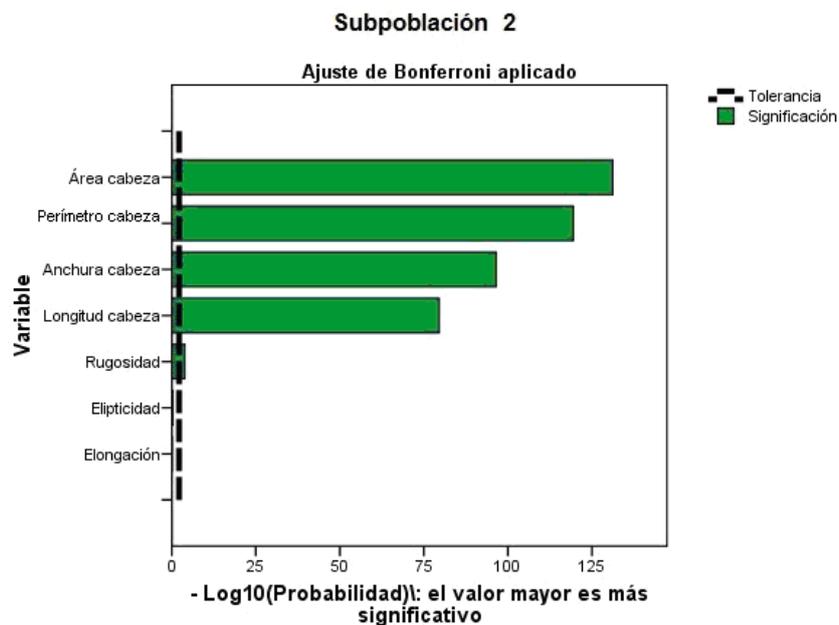
Las características de las subpoblaciones identificadas pueden describirse de la siguiente manera:

Subpoblación 1 (SP<sub>1</sub>): Constituida por espermatozoides con cabezas de dimensiones intermedias en cuanto a longitud, área, perímetro y elongación, pero cuyos valores de anchura y rugosidad fueron los más altos, por lo que pueden describirse como de mediano tamaño y forma redondeada. Esta subpoblación agrupó al 34,2 % de los espermatozoides estudiados. El orden de significación de las variables se muestra en el gráfico 1.



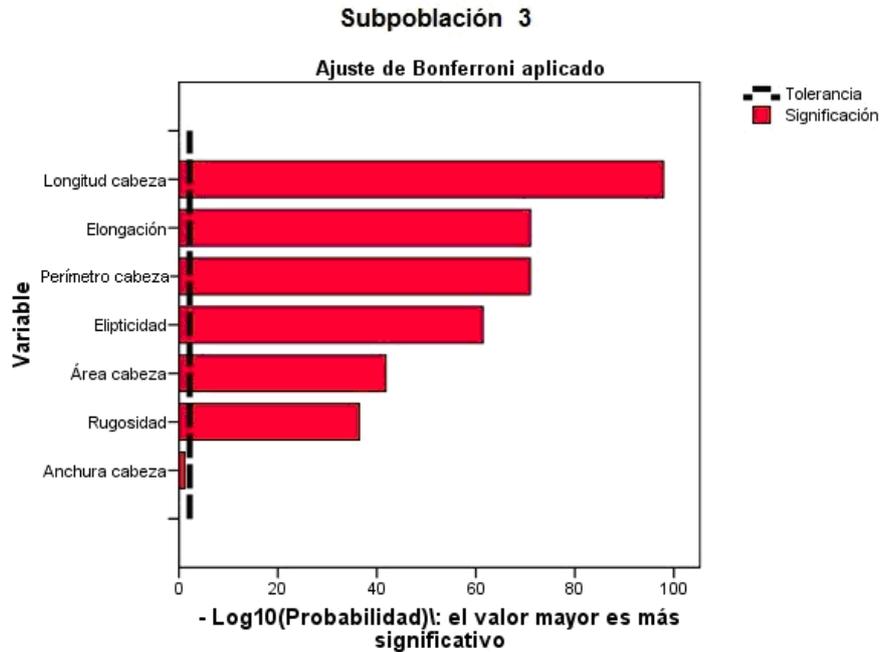
**Gráfico 1.** Orden de importancia de cada variable en la subpoblación 1.

Subpoblación 2 (SP<sub>2</sub>): Los espermatozoides presentaron cabezas con las dimensiones más pequeñas en cuanto a longitud, anchura, área y perímetro, con valores intermedios de elipticidad, elongación y rugosidad. Pueden describirse como de pequeño tamaño y forma ovalada o elíptica. Esta subpoblación reunió al menor número de espermatozoides (27,6 %). El orden de significación de las variables se representa en el gráfico 2.



**Gráfico 2.** Orden de importancia de cada variable en la subpoblación 2.

Subpoblación 3 (SP<sub>3</sub>): Aglutinó espermatozoides con cabezas que presentaron los valores más altos de longitud, área, perímetro, elipticidad y elongación, pero los más bajos de rugosidad. Por tanto, se describen como de gran tamaño y forma alargada. Esta subpoblación incluyó al mayor número de espermatozoides (38,3 %). El gráfico 3 muestra el orden de significación de las variables.



**Gráfico 3.** Orden de importancia de cada variable en la subpoblación 3.

## DISCUSIÓN

Debe señalarse que en el presente trabajo se consideraron solamente para su evaluación morfológica espermatozoides con apariencia morfológica normal; por tanto, la identificación de sutiles diferencias en las dimensiones y formas de estos solo resultó posible mediante el uso de los métodos mencionados, pues de otra manera probablemente no habrían sido percibidos.

En cuanto a los parámetros morfológicos de la cabeza espermática, la OMS sugiere valores normales de 4,1  $\mu\text{m}$  para la longitud de la cabeza, con intervalo de confianza (IC) para la media al 95 % en el rango de 3,7- 4,7. Para la anchura de la cabeza determina 2,8  $\mu\text{m}$  (IC 95 % 2,5 - 3,2) y un valor de 1,5 para la elipticidad.<sup>6</sup> Una autoridad en la materia, como R. Menkveld, integrante del grupo de Tygerberg, propone valores normales de 4,07  $\pm$  0,19  $\mu\text{m}$  para la longitud de la cabeza y de 2,98  $\pm$  0,14  $\mu\text{m}$  para su anchura.<sup>5</sup> Por otra parte, en un trabajo realizado por C. Álvarez<sup>20</sup> se determinan valores de 4,94  $\pm$  0,54  $\mu\text{m}$  para la longitud de la cabeza espermática, 3,16  $\pm$  0,32  $\mu\text{m}$  para su anchura y 12,55  $\pm$  1,81  $\mu\text{m}^2$  para el área, que resultan más cercanos a los obtenidos en el presente estudio.

De forma global, la longitud y la anchura de la cabeza espermática en la población estudiada resultaron superiores a los valores indicados por la OMS; sin embargo, si se analizan las dimensiones y formas de las cabezas espermáticas en cada subpoblación y se compararan con los parámetros considerados normales, según los criterios de Tygerberg que recomienda la OMS, es posible observar que la subpoblación 2 exhibe los espermatozoides que más se acercan al mencionado ideal de normalidad. Cabría suponer entonces que dicha subpoblación corresponde a un prototipo morfológico, a partir del cual se van produciendo pequeñas diferencias durante la maduración espermática, que darían como resultado el resto de las subpoblaciones.

En otras palabras, solo el 27,6 % de los espermatozoides estudiados se aproxima a los mencionados criterios de normalidad, resultados que concuerdan con la reconocida heterogeneidad morfológica del eyaculado humano.<sup>5-7</sup>

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas Quintana P, Medina Tío DM, Torres Ajá L. Infertilidad. Medisur [internet]. 2011 [citado 25 mayo 2015];9(4):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/1692/753>
2. Dohle GR, Diemer T, Giwercman A, Jungwirth A, Kopa Z, Krausz C. Guía clínica sobre la infertilidad masculina. European Association of Urology [internet]. 2010 [citado 25 mayo 2015]. Disponible en: <http://www.aeu.es/UserFiles/files/13-GUIA%20CLINICA%20SOBRE%20INFERTILIDAD%20MASCULINA.pdf>
3. 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 Jan. [citado 31 mayo 2015];12(1):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.asiaandro.com/news/upload/20130621-aja200914a.pdf>
4. Menkveld R, Holleboom CA, Rhemrev JP. Measurement and significance of sperm morphology. Asian J Androl [internet]. 2010 Nov. 15 [citado 7 dic. 2015];13(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3739393/>
5. Menkveld R. Sperm morphology assessment using strict (Tygerberg) criteria. Methods Mol Biol [internet]. 2013 [citado 8 feb. 2015]; 927:[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22992902>
6. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th. ed. [internet]. Geneva: World Health Organization Press; 2010 [citado 4 mayo 2015]. Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789_eng.pdf)
7. 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>
8. 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 Apr. 17 [citado 9 mayo 2015];25(6):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/25/6/1369.full>
9. Mossman JA, Pearson JT, Moore HD, Pacey AA. Variation in mean human sperm length is linked with semen characteristics. Hum Reprod [internet]. 2012 Oct. 28 [citado 4 mar. 2015];28(1):[aprox.10 p.]. Disponible en: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/28/1/22.full>
10. 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. 2015]. 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)
11. Buzón Cuevas A. Análisis cinético y morfométrico del espermatozoide del caballo empleando el sistema sperm class analyzer [tesis]. Córdoba, España: Universidad de Córdoba; 2014 [citado 4 abr. 2015]. Disponible en: <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/11586/2014000000902.pdf?sequence=1>
12. 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 jun. 2015];83(4):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25443418>
13. García-Peiró A, Oliver-Bonet M, Navarro J, Abad C, Amengual MJ, López-Fernández C, *et al.* Differential clustering of sperm subpopulations in infertile males with clinical varicocele and carriers of rearranged genomes. J Androl [internet]. 2012 May-Jun. [citado 9 oct.

- 2014];33(3):[aprox. 7 p.]. Disponible en:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2164/jandrol.111.013722/full>
14. Vicente-Fiel S, Palacín I, Santolaria P, Yániz JL. A comparative study of sperm morphometric subpopulations in cattle, goat, sheep and pigs using a computer-assisted fluorescence method (CASMA-F). Anim Reprod Sci [internet]. 2013 Apr. 12 [citado 23 mayo 2015];139(1-4):[aprox. 8 p.]: Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23642499>
  15. Pérez Pérez De Prado N. La antropometría materna del segundo trimestre de la gestación y su relación con el peso del recién nacido [tesis]. Santa Clara: Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara; 2014.
  16. Núñez Martínez I, María Morán J, Peña FJ. Two-step cluster procedure after principal component analysis identifies sperm subpopulations in canine ejaculates and its relation to cryoresistance. J Androl [internet]. 2013 [citado 25 Enero 2015]; 27(14):[aprox.3 p]: Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2164/jandrol.05153/full>
  17. Triana de la Paz I, López Pérez R, García Gutiérrez MB, Santana Machado A, Fleites Vizcaíno MC, Sánchez Freire P. Caracterización morfológica de espermatozoides en pacientes con espermograma normal (resultados preliminares). Medicent Electrón [internet]. 2015 sep.-dic. [citado 4 jul. 2016];19(4):[aprox. 8 p.]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30432015000400003&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432015000400003&lng=es)
  18. Aulesa C, Cabrera M, Alonso R, Benítez M, Martínez M. Evaluación del sistema automatizado sperm class analyzer (SCA) para análisis del semen. Rev Lab Clín [internet]. 2009 ene.-mar. [citado 13 abr. 2014]; 2(1):[aprox. 2 p.]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/sites/default/files/elsevier/pdf/282/282v02n01a13132692pdf001.pdf>
  19. Ros Santaella J. Morfometría espermática en ciervo ibérico (cervus elaphus hispanicus): implicaciones biológicas y crio-biológicas [tesis]. Albacete, España: Universidad de Castilla-La Mancha; 2012.
  20. Álvarez Lleó C. Análisis integrado de morfología y movilidad espermática humana con el uso del sperm class analyzer [tesis]. Valencia, España: Universidad de Valencia; 2003 [citado 22 ene. 2015]. Disponible en: [http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/9486/TESI\\_DOC.PDF?sequence=1](http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/9486/TESI_DOC.PDF?sequence=1)

Recibido: 27 de octubre de 2015

Aprobado: 16 de diciembre de 2015

*Iván Triana de la Paz*. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. Correo electrónico: [ivantp@capiro.vcl.sld.cu](mailto:ivantp@capiro.vcl.sld.cu)