Artículo original
Ginecol Obstet Mex. 2018 noviembre;86(11):699-708.

Evaluación de la integridad del ADN espermático y su repercusión en los parámetros seminales de varones infértiles

Evaluation of the integrity of sperm DNA and its impact on the seminal parameters of infertile males.

Luis Ángel Machorro-Ramírez,[1] Leticia Alba-Quiróz,[1] Otto José Paredes-Guiñán,[1] Carlos Monsalve-Flores,[1] Francisco Javier Valdez-Morales,[2] Arturo Valdés-Carrillo[1]

Resumen

OBJETIVO: Determinar las repercusiones del daño al ADN espermático en los parámetros seminales más estudiados en diagnóstico clínico de varones infértiles.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio de casos y controles, prospectivo y comparativo efectuado en pacientes masculinos atendidos en el Centro Integral de la Mujer y Reproducción Asistida de Puebla, México. Parámetros de estudio: edad, movilidad, morfología, diagnóstico seminal, leucocitos y factor de infertilidad. Los resultados se analizaron con Graphpad Prisma 5.0 y se consideraron estadísticamente significativos con $p < 0.005$.

RESULTADOS: Se estudiaron 110 pacientes: 33 con mala integridad del ADN espermático (grupo 1) y 77 con buena integridad (grupo 2). La concentración espermática y la movilidad tipo A+B en el grupo 2 fue significativamente más alta que en el grupo 1 ($p < 0.0001$) en donde se registró mayor número de móviles no progresivos e inmóviles. La morfología normal fue más alta en el grupo 2 ($p = 0.0063$). En los varones menores de 40 años se observó un número significativamente mayor de casos de buena integridad espermática ($p = 0.013$). El diagnóstico seminal demostró que los varones con mala integridad tuvieron alteraciones espermáticas más severas. Los factores de infertilidad más frecuentes implicados en ambos grupos fueron: aborto de repetición, edad de la pareja, falla previa en la técnica de reproducción asistida, factor masculino severo y factor tubárico.

CONCLUSIONES: La mala integridad del ADN espermático tiene repercusiones en la concentración espermática, movilidad y morfología, además de alterar el diagnóstico seminal, pues los varones tuvieron trastornos más severos cuando no hubo algún factor de infertilidad que describiera un comportamiento específico relacionado con la mala integridad espermática.

PALABRAS CLAVE: Daño al ADN espermático; pacientes infértiles; México; leucocitos; ADN espermático; concentración espermática; movilidad.

Abstract

OBJECTIVE: To determine the impact of sperm DNA damage on the most studied seminal parameters in clinical diagnosis of infertile males.

MATERIALS AND METHODS: Prospective and comparative case-control study that included male patients seen at Centro Integral de la Mujer y Reproducción Asistida de Puebla, Mexico. Study parameters: age, mobility, morphology, seminal diagnosis, leukocytes and infertility factor. The results were analyzed with Graphpad Prism 5.0 and were considered statistically significant with $p < 0.005$.

RESULTS: 110 male patients were studied: 33 patients with poor sperm DNA integrity (group 1) and 77 patients with good integrity (group 2). Sperm concentration and type A + B mobility in group 2 was significantly higher than in group 1 ($p < 0.0001$), where a greater number of non-progressive and immobile mobiles was recorded. The normal morphology was higher in group 2 ($p = 0.0063$). In men under 40 years of age, a sig-

[1] CREAFAM Centro Integral de la Mujer y Reproducción Asistida de Puebla, Puebla, México.
[2] Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Recibido: diciembre 2017
Aceptado: julio 2018

Correspondencia
Luis Ángel Machorro Ramírez
bioluismr@gmail.com

Este artículo debe citarse como
Machorro-Ramírez LA, Alba-Quiróz L, Paredes-Guiñán OJ, Monsalve-Flores C, Valdez-Morales FJ, Valdés-Carrillo A. Evaluación de la integridad del ADN espermático y su repercusión en los parámetros seminales de varones infértiles. Ginecol Obstet Mex. 2018 noviembre;86(11):699-708.
DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i11.1844

nificantly higher number of cases of good sperm integrity was observed (p = 0.013). The seminal diagnosis showed that males with poor integrity had more severe sperm alterations. The most frequent infertility factors involved in both groups were: repeat abortion, age of the couple, previous failure in the technique of assisted reproduction, severe male factor and tubal factor.

CONCLUSIONS: The poor integrity of the sperm DNA has repercussions on sperm concentration, mobility and morphology, alters the seminal diagnosis, since males had more severe alterations when there was no infertility factor that described a specific behavior related to poor sperm integrity.

KEYWORDS: Sperm DNA damage; Infertile males; Mexico; Leukocytes; Sperm DNA; Sperm concentration; Mobility.

ANTECEDENTES

En la actualidad, la integridad del ADN espermático es un parámetro ideal para evaluar la calidad seminal y un predictor del potencial de fertilidad.[1] Aproximadamente de 10 a 15% de los varones infértiles tienen parámetros normales en espermiogramas, según lo establecido por la OMS. A pesar de que los varones tienen valores normales en el análisis morfológico seminal, la dificultad para lograr un embarazo conduce a la necesidad de evaluar el daño al ADN, las alteraciones meióticas o aneuploidias espermáticas.[2] La capacidad del ovocito para reparar este daño depende de las condiciones citoplasmáticas y su calidad genómica, que disminuye conforme aumenta la edad de la mujer; aunque es un mecanismo difícil de evaluar, el estudio del factor seminal puede aportar mejor asesoramiento a los pacientes, al contar con la información completa de la pareja (daño del ADN espermático y capacidad de reparación por parte del ovocito).[3]

El ADN espermático dañado y no reparado se relaciona con la expresión tardía del genoma paterno y el bloqueo en el desarrollo postimplantatorio de embriones con cariotipo normal.[4,5] Esto explica el bloqueo durante el desarrollo embrionario y la obtención de blastocistos, y el fracaso de las técnicas de reproducción asistida.

Existen varias pruebas para medir la fragmentación del ADN espermático: técnica de TUNEL, COMET, técnica de dispersión de cromatina y SCSA. En todas estas se reporta una correlación negativa con las tasas de fecundación o desarrollo embrionario.[6,7] La técnica de dispersión de la cromatina, basada en una descondensación inducida del ADN, detecta la fragmentación del material genético espermático y resulta una técnica adecuada porque es más sencilla y eficaz para determinar este parámetro.[8]

La ventaja del diagnóstico de infertilidad masculina se observa cuando disminuye la ansiedad en los varones que desean conocer los motivos precisos de su infertilidad y una vez encaminados en un proceso de diagnóstico-tratamiento pueden implementarse estrategias clínicas que ayuden a la pareja.[6,9]

El estudio de la fragmentación del ADN espermático, mediante la técnica de dispersión de cromatina, cumple con el objetivo de ofrecer una mejor evaluación del factor masculino en el contexto de cada grupo de diagnóstico de infertilidad, para ayudar a brindar una orienta-

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i11.1844

ción más precisa en la terapéutica seleccionada. El objetivo de este estudio fue: determinar las repercusiones del daño al ADN espermático en los parámetros seminales más estudiados en diagnóstico clínico de varones infértiles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de casos y controles, prospectivo y comparativo efectuado en pacientes masculinos atendidos en el Centro Integral de la Mujer y Reproducción Asistida de Puebla, México (CREAFAM). Mediante la técnica de dispersión de cromatina a las muestras de semen de los pacientes se aplicó una prueba. Para fines de ensayo, los sujetos de estudio se dividieron en dos grupos según el porcentaje de fragmentación del ADN espermático: grupo 1 con mala integridad del ADN espermático (≥ 30% de espermatozoides con fragmentación del ADN) y grupo 2 con buena integridad del ADN espermático (< 30% de fragmentación del ADN).

Se analizaron la integridad del ADN espermático y su repercusión en diferentes variables: edad del varón, movilidad tipo A+B, morfología espermática y diagnóstico seminal. Para el análisis de la edad del varón los pacientes se subestratificaron en dos grupos: menores de 40 años y mayores de esta edad.

Evaluación morfológica y de la movilidad espermática

La recolección y análisis básico de las muestras seminales se efectuaron de acuerdo con los parámetros del *Manual de la OMS para examen y procesamiento de semen humano*, con los criterios de morfología estricta de Kruger.[11] En un portaobjetos rotulado con los datos del paciente se tomaron 6 µL de semen y se efectuó un barrido con un cubreobjetos. Se colocaron otros 10 µL de semen en una tira reactiva de pH (Merck, Darmstdat, Alemania) para determinar si existía infección o proceso de inflamación. Se aplicó una tinción hematológica (Hycel, México) y se observó al microscopio óptico (Olympus CH-2, Japón) con un objetivo 100X). Para el análisis de movilidad y concentración espermática se tomaron 6 µL de semen previamente licuado en una cámara Makler (Sefimedical Instruments, Boston MA) y se observó con el objetivo de 20X. Después de evaluar la muestra, el eyaculado total se depositó en un tubo de fondo cónico NUNC de 14 mL (Thermo Fisher Scientific, Marietta, Ohio) y se realizó un lavado con HTF-HEPES (Irvine Scientific Santa Ana, CA) a 18000 rpm en una centrífuga Zeigen CH90-1A. El botón de células se aforó a 0.4-0.5 mL en medio HTF-HEPES según su concentración.

Evaluación de la integridad espermática mediante el análisis de dispersión de la cromatina

El análisis de fragmentación se llevó a cabo con el equipo Halosperm ADN (Halotech, Madrid, España). El fundamento de esta técnica implica una respuesta diferencial del núcleo de los espermatozoides con ADN fragmentado y de los que poseen ADN intacto en donde los núcleos espermáticos con fragmentación de las cadenas de ADN generan halos muy pequeños o inexistentes.[8] Se preparó una alícuota de semen diluido en medio HTF-HEPES (Irvine Scientific Santa Ana, CA); la dilución del semen se calculó según la concentración de espermatozoides por mililitro. Las laminillas se colocaron durante 7 minutos en el refrigerador a 4°C para permitir que la agarosa formara un microgel con los espermatozoides.

Enseguida, las laminillas se sumergieron horizontalmente durante 7 minutos en una matriz en la solución ácida (Halotech, Madrid, España) para romper la membrana espermática. Luego se incubaron durante 25 minutos en el acelerador de lisis (Halotech, Madrid, España)

para desnaturalizar las membranas celulares, proteínas y material genético y liberar los nucleótidos a partir de un halo de dispersión de ADN. Por último, se aplicó una tinción hematológica (Hycel, Ciudad de México) para poder visualizar los halos de dispersión con un microscopio óptico (Olympus CH-2, Japón) con un objetivo de 100X.

Diagnóstico seminal

Con base en los criterios del *Manual de la OMS para examen y procesamiento de semen humano* (5a edición, 2010), los dos grupos de integridad espermática se dividieron conforme a su diagnóstico: teratozoospermia, astenozoospermia, oligoastenoteratozoospermia, astenoteratozoospermia y normozoospermia. Los criterios utilizados para este diagnóstico fueron los convencionales.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa Prisma 5.0 (Graphpad Software, San Diego CA). Se efectuó una prueba de normalidad con el análisis *D'Agostino y Pearson omnibus normality test*. En el análisis de integridad por edad y el diagnóstico seminal se integró una tabla de contingencia y la prueba exacta de Fisher y χ^2, respectivamente. Para los análisis de movilidad A+B, morfología y leucocitos se aplicó la prueba t de Student para datos no pareados. Para el análisis de la movilidad C y D se utilizó la prueba de Mann Withney. El programa de cómputo calculó los valores de probabilidad, los resultados se consideraron estadísticamente significativos con una $p < 0.005$.

RESULTADOS

De 110 pacientes estudiados, 33 tuvieron mala integridad del ADN espermático y 77 buena. Las características demográficas de ambos grupos fueron similares. La concentración espermática en el grupo de pacientes con buena integridad del ADN fue significativamente más alta que en el grupo de mala integridad (media 69.2 ± 34.79 *vs* 37.47 ± 40.65, $p < 0.0001$) (**Figura 1A**). La movilidad A + B fue significativamente más alta en el grupo de buena integridad (media 50.92 ± 12.72 *vs* 30.30 ± 15.53, $p < 0.0001$) respecto del grupo de mala integridad. La movilidad tipo C fue significativamente mayor en el grupo de mala integridad (media 20.73 ± 9.59 *vs* 25.48 ± 13.83, $p = 0.0436$) y el porcentaje de inmovilidad fue notoriamente más alto en el grupo de mala integridad (media 28.40 ± 12.48 *vs* 42.12 ± 20.86, $p < 0.0001$) comparado con el grupo de buena integridad (**Figuras 1B, C y D**). El porcentaje de morfología normal fue mucho más alto en el grupo de buena integridad (5.93 ± 3.32 *vs* 4.24 ± 2.04, 0.0063) (**Figura 1E**). El análisis de integridad del ADN por edad del varón demostró que en los menores de 40 años se registran muchos más casos de buena integridad espermática ($p = 0.013$) (**Figura 1F**). Por lo que se refiere al diagnóstico seminal en el grupo de buena integridad se registró un número y porcentaje significativamente más alto de pacientes con normozoospermia comparado con el grupo de mala integridad. En el caso de teratozoospermia y astenozoospermia se observó que significativamente más pacientes del grupo de buena integridad lo tuvieron ($p < 0.0001$), y los pacientes con mala integridad reportaron alteraciones espermáticas más severas. **Figura 2A**

El análisis de la cantidad de leucocitos por campo demostró que no existen diferencias significativas entre los grupos ($p = 0.3529$) (**Figura 2B**). Los factores de infertilidad más frecuentes implicados en ambos grupos de integridad espermática fueron: aborto de repetición, edad de la pareja, falla previa en la técnica de reproducción asistida, factor masculino severo

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i11.1844

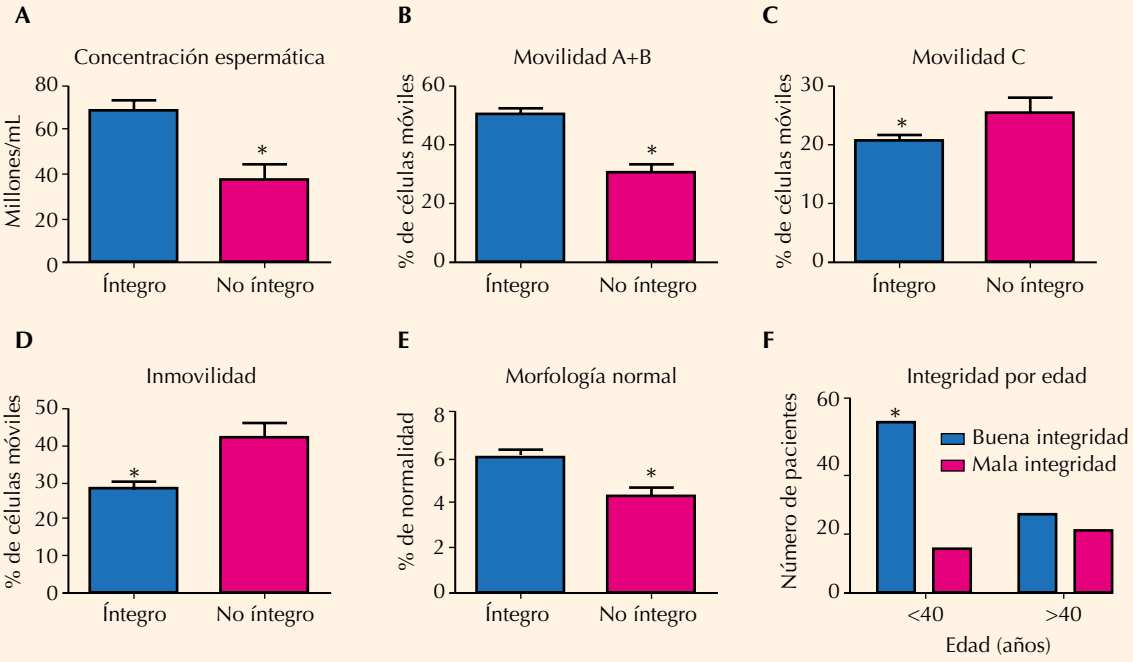


Figura 1. Comparación de las características seminales más importantes en los grupos de varones con un porcentaje elevado de fragmentación espermática *vs* varones con ADN íntegro. **A)** Evaluación de la concentración espermática, **B)** Movilidad progresiva, **C)** Movilidad no progresiva, **D)** Inmovilidad, **E)** Morfología, **F)** Integridad del ADN espermático por edad del varón (las gráficas representan la media ± desviación estándar; *= resultado significativo en prueba de t de student o χ^2; $p<0.05$).

y factor tubárico. En el grupo de buena integridad espermática, el factor aborto de repetición coexistió en 23% de los casos, mientras que en el grupo de mala integridad se registró en 12%. El factor edad prevaleció en 32% de los pacientes del grupo de buena integridad y en 39% de mala integridad. El factor de falla previa en la técnica de reproducción asistida fue de 10% en el grupo de buena integridad espermática y 15% en el de mala. Por último, los factores masculino y tubárico coexistieron en 7% en el grupo de buena integridad y 12% en el de mala, mientras que el tubárico se encontró en 10% del grupo de buena integridad y en 6% del de mala integridad espermática. **Figura 2C**

DISCUSIÓN

En los tratamientos de reproducción asistida el éxito clínico se asocia, normalmente, con múltiples factores femeninos y masculinos. El factor masculino más importante es la integridad estructural y funcional del espermatozoide.[10] Está demostrado que existe una relación entre un porcentaje elevado de espermatozoides con alteraciones en la cromatina y los resultados no exitosos de las técnicas de reproducción asistida. Por ejemplo, está reportado que disminuyen las tasas de fertilización e implantación en tratamientos de alta complejidad que originan mala calidad embrionaria, bloqueo embrionario y abortos.[11]

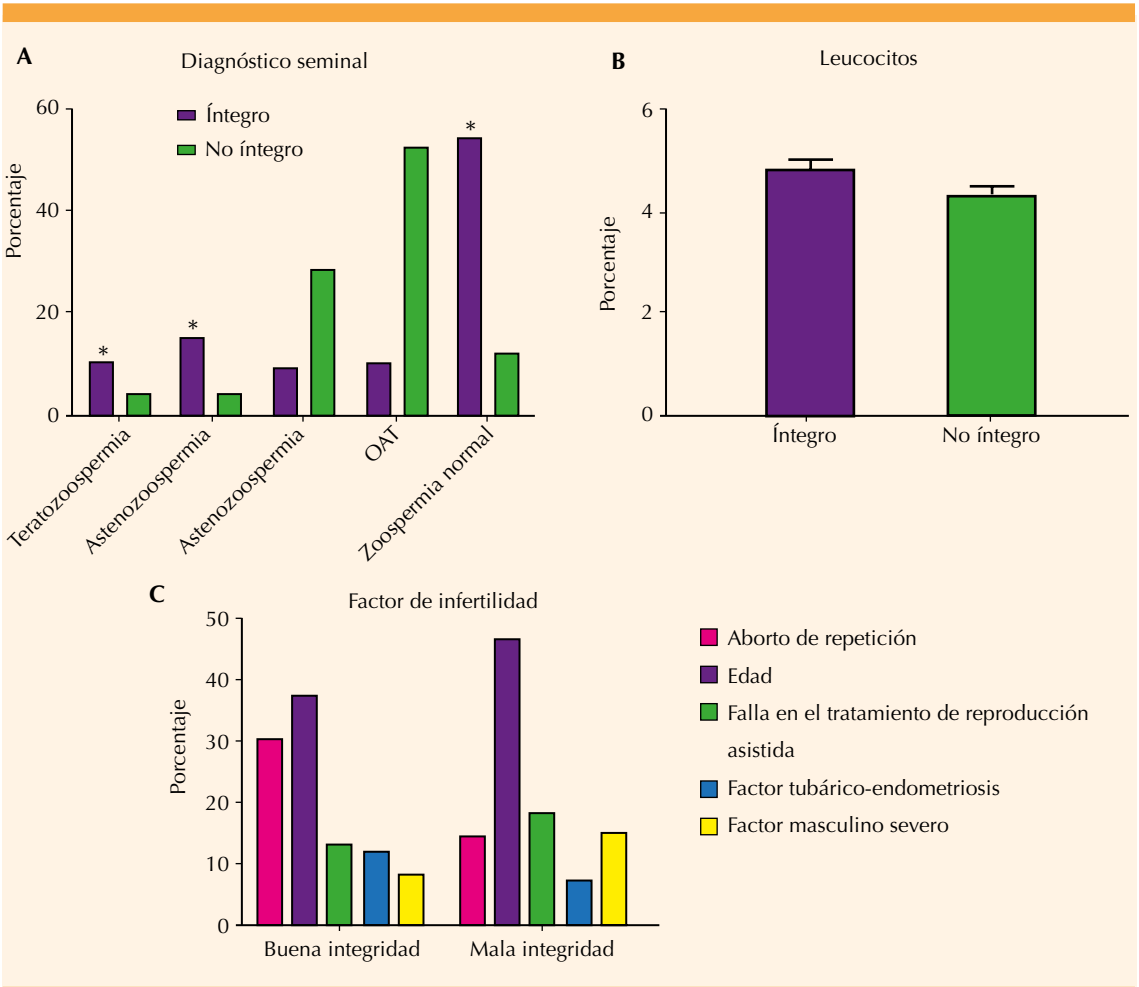


Figura 2. Distribución de las alteraciones espermáticas y factores de infertilidad según la integridad del ADN espermático. **A)** Porcentaje de varones según su diagnóstico seminal. **B)** Concentración de leucocitos en el semen. **C)** Porcentaje del factor de infertilidad de acuerdo con la integridad del ADN espermático (las gráficas representan la media ± desviación estándar; *= resultado significativo en prueba t de Student o χ^2; $p<0.05$).

Durante la selección de los mejores espermatozoides que se utilizarán para llevar a cabo la fecundación, se toman en cuenta parámetros morfológicos, como movilidad y morfología, cualidades que han demostrado ser insuficientes para seleccionar los gametos más competentes. Los ensayos de fragmentación del ADN espermático han permitido analizar al espermatozoide de una manera integral. Los datos obtenidos de este ensayo aún suscitan controversia aunque la mayor parte de los estudios reporta una correlación inversa entre la fragmentación del ADN y la calidad espermática evaluada por la concentración, movilidad y morfología, sin tomar en cuenta la edad de los varones.[12]

En nuestro estudio, el análisis de la concentración y movilidad espermática demostró que en

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i11.1844

las muestras de semen que contenían espermatozoides de buena integridad, la concentración espermática fue significativamente más alta respecto de las muestras de mala integridad.

La movilidad progresiva también fue significativamente más alta en el grupo de buena integridad, así como la morfología normal también fue mucho más alta en las muestras seminales de pacientes con buena integridad espermática, lo que concuerda con lo reportado previamente.[12,13] Estos resultados deben tomarse con precaución debido a que no siempre puede predecirse qué índice de fragmentación tiene un paciente de acuerdo con solo la evaluación de movilidad, morfología y concentración espermática. Algunos estudios han demostrado que existe una correlación entre la fragmentación del ADN y morfología anormal, como la megalocefalia, múltiples colas con disomia o globosospermia que ha incrementado las tasas de aneuploidia embrionaria y pérdidas recurrentes del embarazo.[14,15]

En este estudio se observó que los varones mayores de 40 años tuvieron un índice de fragmentación del ADN espermático más alto que los varones más jóvenes. Esto coincide con lo reportado por diversos autores.[8,16,17] Algunos estudios apoyan la evidencia de la disminución de los parámetros seminales convencionales con la edad.[18,19] La fragmentación del ADN espermático como marcador de fertilidad masculina ha permitido establecer la relación entre la fragmentación y la edad del varón.[20] Varios autores observaron, mediante el ensayo COMETA, que la fragmentación aumentaba con la edad.[21,22] En otro estudio no se demostró que hubiera una correlación entre ambos parámetros obtenidos por TUNEL.[23] Se evaluó la fragmentación mediante SCSA junto con otros parámetros seminales en grupos de varones de diferentes edades. Cuando las muestras del grupo de varones mayores de 45 años se compararon con las de otros grupos se observó una diferencia significativa en tres parámetros: motilidad, vitalidad, fragmentación. Los varones de 45 años o mayores tenían menor motilidad espermática que los varones más jóvenes, mientras que el índice de fragmentación era significativamente mayor. El índice de fragmentación en el grupo de mayor edad era superior a 30%, lo que corresponde a un bajo potencial fertilizante; en los grupos de varones más jóvenes el índice de fragmentación estaba por debajo de ese valor.[24,25,26] Entonces, la edad del varón sigue siendo un tema discutido por lo que requiere mayor investigación que permita demostrar si la discrepancia entre los resultados se debe a la técnica empleada en el estudio de la fragmentación y así determinar la repercusión real de la edad del varón en los diferentes parámetros estudiados en el diagnóstico clínico de la pareja infértil.

El análisis del diagnóstico seminal demostró que los varones con buena integridad espermática tuvieron mayor porcentaje de normozoospermia y, de forma complementaria, los varones con mala integridad espermática reportaron mayor porcentaje de alteraciones espermáticas más severas. Ya está reportada la estrecha asociación entre diagnóstico seminal con alteraciones y los índices de fragmentación del ADN. Por ejemplo, se ha observado que la fragmentación es mayor en pacientes con diagnóstico de oligoastenozoospermia,[27,28] lo que se relaciona con el bajo potencial fertilizante de estos espermatozoides. Está demostrado que el índice de fragmentación espermática no siempre se relaciona con los parámetros seminales, en este caso solo se observó en 30% de los varones con una fragmentación superior a 27% que tuvieron astenozoospermia u oligozoospermia.[29,30]

El conteo de leucocitos en una muestra seminal es un proceso rutinario en la evaluación andrológica. La existencia de estas células se ha asociado con infecciones que pueden afectar el

potencial reproductivo del varón.[31] En el estudio aquí comunicado no se encontró diferencia significativa entre el número de células por campo en las muestras de pacientes con buena integridad y mala integridad del ADN espermático. Esto indica que no existe una relación entre estas variables y podría no tomarse en cuenta durante una evaluación de la fragmentación del ADN espermático. En un estudio reciente se demostró que a pesar de que las infecciones puedan alterar algunos parámetros seminales como la movilidad y condensación de la cromatina, la integridad del ADN no se afecta de manera significativa.[32]

El análisis del diagnóstico de la pareja demostró que los factores de infertilidad más frecuentes asociados con la integridad espermática fueron el aborto de repetición, la edad de la pareja, falla previa en la técnica de reproducción asistida, factor masculino severo y factor tubárico. En el caso del aborto de repetición se ha demostrado que la expresión tardía del factor paterno podría explicar esta situación, donde hay ovocitos que fecundan pero, posteriormente, hay una detención del desarrollo embrionario lo que explica los resultados negativos en parejas donde la técnica de reproducción asistida empleada debería haber resuelto el problema.[33]

La expresión tardía del factor masculino en el desarrollo embrionario también determina la detención de su desarrollo antes de la implantación, lo que se relaciona con los resultados obtenidos en los grupos de falla previa de técnicas de reproducción asistida, y con todos los parámetros seminales estudiados. En estos casos se sugiere efectuar a las parejas el estudio de integridad del ADN espermático mediante la técnica de dispersión de cromatina antes de intentar un nuevo embarazo.[34] Se ha señalado que el origen de la fragmentación del ADN espermático puede ocurrir en diferentes estadios del desarrollo de los espermatozoides, es decir, tanto a nivel testicular durante la espermatogénesis como durante el tránsito por los conductos eyaculadores, en cuyo caso los daños generados postesticularmente podrían tener un mejor pronóstico de tratamiento exógeno con antioxidantes y de reparación por parte del ovocito.[35]

CONCLUSIONES

La mala integridad del ADN espermático tiene un efecto significativo en la concentración espermática, la movilidad y la morfología pues hay alteraciones en estos parámetros en varones con alta fragmentación del ADN espermático. La mala integridad de ADN también altera el diagnóstico seminal, pues los varones tuvieron alteraciones más severas cuando la integridad espermática fue más baja. No se observó algún factor de infertilidad que describiera un comportamiento específico relacionado con la mala integridad espermática.

Los resultados de este estudio ayudarán a identificar entre los diagnósticos de factor masculino severo más frecuentes cuáles son los que tienen un pronóstico menos exitoso y que se afronta en la consulta del varón infértil con una prueba sencilla de realizar, pues es posible ofrecer una respuesta a los pacientes desde el punto de vista diagnóstico, y orientación terapéutica posterior con expectativas reales de tratamiento.

REFERENCIAS

1. Agarwal A, et al. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. Hum Reprod Update 2003; 9(4): 331-45. https://doi.org/10.1093/humupd/dmg027
2. Sakkas D, et al. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. Fertil Steril 2010; 93(4):1027-36. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.10.046
3. Meseguer M, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. Fertil Steril 2011;95(1):124-8. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.05.055

DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i11.1844

4. Tesarik J, et al. Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. Hum Reprod 2004;19(3):611-5. https://doi.org/10.1093/humrep/deh127
5. Borini A. et al. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. Hum Reprod 2006;21(11):2876-81. https://doi.org/10.1093/humrep/del251
6. Virro MR, et al. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. Fertil Steril 2004;81(5):1289-95. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.09.063
7. Seli E, et al. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after in vitro fertilization. Fertil Steril 2004;82(2):378-83. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.12.039
8. SakkasD, et al. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa. Rev Reprod 1999;4(1):31-7.
9. Fernandez JL, et al. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. Fertil Steril 2005;84(4):833-42. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.11.089
10. Asghar W, et al. Selection of functional human sperm with higher DNA integrity and fewer reactive oxygen species. Adv Healthc Mater 2014;3(10):1671-9. https://doi.org/10.1002/adhm.201400058
11. Jiang WJ, et al. Influence of the DNA integrity of optimized sperm on the embryonic development and clinical outcomes of in vitro fertilization and embryo transfer. National Journal of Andrology 2016;22(5):425-31.
12. Cissen M, et al. Measuring sperm DNA Fragmentation and clinical outcomes of medically assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. PLoS One 2016;11(11): e0165125. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165125
13. Peluso G, et al. The study of spermatic DNA fragmentation and sperm motility in infertile subjects. Arch Ital Urol Androl 2013;85(1): 8-13.
14. Evgeni E, et al. Human sperm DNA fragmentation and its correlation with conventional semen parameters. J Reprod Infertil 2014;15(1):2-14.
15. Carrell DT, et al. Elevated sperm chromosome aneuploidy and apoptosis in patients with unexplained recurrent pregnancy loss. Obstet Gynecol 2003;101(6):1229-35. https://doi.org/10.1016/S0029-7844(03)00339-9
16. Agarwal A, et al. The effect of sperm DNA damage on assisted reproduction outcomes. A review. Minerva Ginecol 2004;56(3):235-45.
17. Evenson DP, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. Hum Reprod 1999;14(4):1039-49. https://doi.org/10.1093/humrep/14.4.1039
18. Chapuis A, et al. Sperm quality and paternal age: effect on blastocyst formation and pregnancy rates. Basic Clin Androl 2017;27:2-8. https://doi.org/10.1186/s12610-016-0045-4
19. Li CJ, et al. Decline in semen quality in men in northern Taiwan between 2001 and 2010. Chin J Physiol 2016;59(6):355-65. doi: 10.4077/CJP.2016.BAF441
20. Barratt CL, et al., Diagnostic tools in male infertility-the question of sperm dysfunction. Asian J Androl 2011;13(1):53-58. doi: 10.1038/aja.2010.63
21. Morris ID, et al. The spectrum of DNA damage in human sperm assessed by single cell gel electrophoresis (Comet assay) and its relationship to fertilization and embryo development. Hum Reprod 2002;17(4):990-8. https://doi.org/10.1093/humrep/17.4.990
22. Singh NP, et al. Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. Fertil Steril 2003;80(6):1420-30. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.04.002
23. Benchaib M. Donor sperm insemination after failed intracytoplasmic sperm injection. Gynecol Obstet Fertil 2010;38(9):511-4. DOI: 10.1016/j.gyobfe.2010.07.001
24. Moskovtsev SI, et al. Sperm DNA damage: correlation to severity of semen abnormalities. Urology 2009;74(4):789-93. https://doi.org/10.1016/j.urology.2009.05.043
25. Moskovtsev SI, Management of patients with high sperm DNA damage. Indian J Med Res 2008;127(2):101-3.
26. Moskovtsev SI, et al. Sperm survival: relationship to age-related sperm DNA integrity in infertile men. Arch Androl 2007;53(1):29-32. https://doi.org/10.1080/01485010600908330
27. Liu CH, et al. DNA fragmentation, mitochondrial dysfunction and chromosomal aneuploidy in the spermatozoa of oligoasthenoteratozoospermic males. J Assist Reprod Genet 2004;21(4):119-26.
28. Tang SS, et al. Aneuploidy and DNA fragmentation in morphologically abnormal sperm. Int J Androl 2010;33(1):163-79. https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.00982.x
29. Larson KL, et al. Chromatin structure in globozoospermia: a case report. J Androl 2001;22(3):424-31. https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2001.tb02198.x
30. Irvine DS, et al. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. J Androl 2000;21(1):33-44. https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2000.tb03273.x
31. Lopes S, et al. Reactive oxygen species: potential cause for DNA fragmentation in human spermatozoa. Hum Reprod 1998;13(4):896-900. https://doi.org/10.1093/humrep/13.4.896
32. Zeyad A, et al. Relationships between bacteriospermia, DNA integrity, nuclear protamine alteration, sperm quality and ICSI outcome. Reprod Biol 2018;18(1):115-21. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2018.01.010
33. Udry S, et al. Paternal factor V Leiden and recurrent pregnancy loss: a new concept behind fetal genetics? J Thromb

Haemost 2014;12(5):666-69. https://doi.org/10.1111/jth.12526

34. Ombelet W, et al. Sperm morphology assessment: diagnostic potential and comparative analysis of strict or WHO criteria in a fertile and a subfertile population. Int J Androl 1997;20(6):367-72. https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.1998.00079.x

35. Agarwal A, et al. Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios. Transl Androl Urol 2016;5(6):935-50. doi: 10.21037/tau.2016.10.03

Con motivo de la celebración del día del Médico, y en el marco del 75 aniversario de la Secretaría de Salud, el Presidente de la República Lic. Enrique Peña Nieto, en la explanada de los Médicos Ilustres de la Sede de la Secretaria de Salud en la Ciudad de México, develó el busto del Dr. Luis Castelazo Ayala, como un reconocimiento a su contribución en el campo de la salud en nuestro país, y concretamente en el desarrollo e institucionalización de la Ginecología y Obstetricia en México y Latinoamérica.



DOI: https://doi.org/10.24245/gom.v86i11.1844