

Uso de la computadora en la evaluación de semen

Armando Palacios Angola*

La espermatogénesis es un proceso que refleja la integridad de todo el sistema reproductivo de un animal, y para detectar de manera práctica la normalidad de este proceso, se recurre a la evaluación de semen.^{1, 2, 4, 8}

El semen es un complejo grupo donde hay millones de células, normales y anormales; de todas ellas se requiere el 20% para que una sola logre fertilizar. Por tanto, se hace necesario un efectivo análisis para identificar aquellos individuos que contengan al menos la dosis mínima requerida para poder fertilizar.^{2, 5, 7, 9}

Tradicionalmente, la evaluación de semen se ha basado en el trabajo manual de personas que debido a su capacitación y experiencia ha permitido obtener resultados prácticos satisfactorios.^{10, 12} Sin embargo, el análisis manual del semen (volumen, concentración, porcentaje de motilidad, motilidad progresiva y morfología) ha tenido poca efectividad cuando se necesita hacer una predicción para el potencial de fertilidad. Esta pobre correlación proviene de muchos factores, por lo que hace al estudio subjetivo, impreciso, inexacto y difícil de estandarizar.^{3, 4, 7, 8}

De las variables a evaluar en el análisis de semen, el volumen del eyaculado y la concentración espermática son los únicos que se pueden catalogar como objetivos,^{3, 4, 5, 9} siendo éstos los menos correlacionados con la fertilidad, ya que el conteo del volumen va a variar en función de la técnica de colección y del periodo de descanso sexual. El conteo de la concentración espermática, utilizando el hemocitómetro o la cámara de Makler,^{3, 9, 11} requiere de una previa dilución, lo cual implica una fuente de error y no siempre una repetibilidad aceptable.³ Los contadores electrónicos (espectrofotómetros o colorímetros) mejoraron la técnica de conteo espermático; sin embargo, existe un error en la medición, sobre todo en aquellas muestras con baja concentración, debido a la secreción de partículas celulares y debridaciones cristalinas a las cuales el contador detecta como células espermáticas.^{4, 8}

Las variables más representativas, como la motilidad, la motilidad progresiva y la morfología, no se pueden considerar mediciones objetivas,^{3, 4} mientras sean evaluadas de manera manual, pero actualmente, en el caso de la motilidad espermática, la situación está cambiando.

La motilidad espermática es esencial para el transporte a través del tracto femenino y para la fertilización. Esta es una expresión de la viabilidad e integridad estructural de la célula.^{2, 5, 8, 13} Desde un punto de vista práctico, la motilidad espermática puede ser usada como un marcador biológico del potencial de fertilidad de un individuo y de sus alteraciones.^{2, 3, 4, 7, 8, 9}

El cálculo del porcentaje de motilidad evaluado visualmente presenta un problema de sobrestimación, ya que el movimiento de las células atrae más atención que aquellas células no móviles, y porque la onda emitida por el movimiento flagelar puede inducir movimientos intrínsecos a los espermatozoides no móviles, siendo aún más problemático el poder estimar la motilidad espermática con una calificación escalar, aquella que por lo general maneja un rango entre el uno y el cinco.^{2, 3, 4, 9, 10, 11}

La evolución del análisis de semen ha hecho que se instrumenten equipos semiautomáticos, los cuales permiten una visualización mayor de la velocidad y trayectoria de las células. Estos métodos son: a) Fotografía con tiempo de exposición, cuyo mecanismo se concreta al uso de una cámara con tiempo de exposición de 1 o 2 segundos, necesarios para que permita ver el recorrido continuo del espermatozoide. b) Fotografía de exposición múltiple: Es el mismo principio que el anterior, pero ahora se toman muchas fotografías a un tiempo muy corto entre ellas, así se obtiene una trayectoria representativa pero con menos información que la anterior. c) Cinemicrografía: Utilizando la técnica del cine, se filman los espermatozoides cuadro por cuadro y luego se superponen en secuencia para poder visualizar el recorrido y d) Videomicrografía: Similar a la técnica anterior, pero con el uso de las cámaras y grabadoras de video, las cuales permiten grabar el movimiento de un espermatozoide.^{2, 3, 4, 5, 7, 10, 12}

Todos estos métodos tienen la desventaja de que el estudio de la muestra recogida se debe analizar manualmente, complicándose más con el uso del cine y el video por el hecho de ser numerosos cuadros de película.^{3, 4} Sin embargo, la videomicrografía resultó el primer paso para que luego se acoplara la computadora y desarrollar el sistema CASA (Computer Assisted Semen Analysis) o PAS (Programa para Análisis de Semen), el método más novedoso que se ha diseñado para la evaluación de semen en cualquier especie, y del cual la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM cuenta con una unidad para la investigación, docencia y servicio clínico de todo lo relacionado con

* Departamento de Reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

el aspecto andrológico de las especies como bovinos, equinos, ovinos, caprinos, porcinos, caninos, aves y seres humanos.^{1, 3, 5, 6, 11, 12, 13}

Desde hace unos 8 años se emplea este método diagnóstico, cuyo equipo consiste en:

- * Un microscopio de contraste de fases con iluminación de 100 vatios.
- * Una cámara de video B/N de alta resolución conectada a un monitor.
- * Una grabadora de video, opcional para los casos en que no se pueda evaluar al momento.
- * Una computadora IBM compatible, la cual contiene el programa para análisis de semen. A ella va conectado un monitor y una impresora.⁶

El análisis comienza con la colocación de una muestra de semen diluido en un portaobjetos; una vez visualizado el campo en el microscopio, la computadora analizará la imagen, evaluando los siguientes parámetros:

Concentración espermática

El programa es capaz de calcular este parámetro con bastante semejanza al que habitualmente se hace en forma manual. De hecho, estudios comparativos entre este sistema y la evaluación manual han demostrado la similitud en lo referente a la exactitud del cálculo, tanto que el fabricante recomienda que los resultados deben corroborarse a menudo con la evaluación manual.^{4, 6, 7, 9, 12}

Con la opción de que el operador puede especificar el volumen del eyaculado, el programa también entrega el dato de la cantidad total de espermatozoides en la muestra.⁶

Motilidad

Existen varias formas en que el sistema permite la evaluación de la motilidad en la muestra. De manera directa el programa detalla el porcentaje de motilidad que presentaron los diferentes campos estudiados. Describe también el número de células móviles y no móviles, por lo que puede entregar una concentración espermática de células en movimiento, siendo éste un dato más definido que el de la concentración espermática general. Asimismo, es posible entregar los resultados en forma individual, es decir, lo sucedido a cada célula en particular. Por último, el operador puede calcular la motilidad de manera tradicional visualizando los campos en el monitor que tiene instalado el sistema.⁶

Velocidad

Este parámetro es de utilidad para conocer cómo se está movilizandando la población espermática, es decir, para detectar la viabilidad momentánea de la muestra.

Este sistema es capaz de detectar la velocidad promedio y la individual, y además decidir cuáles son las células que no se mueven. Los datos son entregados tanto numéricamente como en un histograma de frecuencias.⁶

Linealidad

Otro punto importante a considerar y que se enmarca en el concepto de motilidad progresiva es el relacionado con la linealidad del recorrido del espermatozoide. Con base en una escala que va del 0 (trayectoria circular) al 10 (trayectoria lineal progresiva), el sistema emite una calificación porcentual e individual del comportamiento de células. Los datos son entregados en forma numérica y en histograma.

Patrón de movimiento

Mediante la técnica de video, el sistema PAS puede grabar la huella de la trayectoria de cada espermatozoide que se localice en el campo del microscopio, y de esta manera visualizar directamente, así como analizar con calma, la progresividad del movimiento de cada espermatozoide.

Abstract

Manual methods for semen analysis are very useful to obtain general information of the sample. However, due to the subjectivity of these techniques, it has been a poor predictor of fertility potential. Computer technology has developed a system to analyze sperm motility. Since the pioneer works in human in 1984, the accuracy of semen evaluation has been improving. This technology has been applied in domestic animals with similar positive results too. The system has just been recently introduced for animal semen analysis at the School of Veterinary Medicine of the National Autonomous University of Mexico due to the importance to offer a qualified semen evaluation, either for research, or the public or private clinical services. Computer Assisted Semen Analysis (CASA) system can visualize and digitize the sperm images. Thereafter, process and analyze these images and report about: Sperm concentration, sperm motion patterns, sperm motility, sperm curvilinear trajectory, straight line sperm velocity and sperm linear trajectory.

Literatura citada

1. Amann, R.P.: Computerized evaluation of stallion spermatozoa. Proceedings of the 33rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. New Orleans, Louisiana. 1987. 453-474. A.A.E.P. Lexington, Kentucky (1988).
2. Amann, R.P.: Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *J. Androl.*, 10: 89-98 (1989).
3. Beth, C.G., Williams, J. and Chapin, R.E.: Issues in the statistical analysis of sperm motion data derived from computer-assisted systems. *J. Androl.*, 12: 89-97 (1991).

4. Boyers, S.P., Davis, R.O. and Katz, D.F.: Automated semen analysis. *Curr. Probl. Obst. Gynec. Fert.*, 12: 167-200 (1989).
5. Budworth, P.R., Amann, R.P. and Chapman, P.L.: Relationships between computerized measurements of motion of frozen-thawed bull spermatozoa and fertility. *J. Androl.*, 9: 41-54 (1988).
6. Cryo Resource Ltd.: CellSoft User Manual. *Cryo Resource Ltd.*, New York, 1986.
7. Katz, D.F.: Characteristics of sperm motility. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 637: 409-423 (1991).
8. Katz, D.F. and Davis, R.O.: Automatic analysis of human sperm motion. *J. Androl.*, 8: 170-181 (1987).
9. Morales, P., Katz, D.F., Overstreet, J.W., Samuels, S.J. and Chang, R.J.: The relationship between the motility and morphology of spermatozoa in human semen. *J. Androl.*, 9: 241-247 (1988).
10. Mortimer, D., Serres, C., Mortimer, S.T. and Jouannet, P.: Influence of image sampling frequency on the perceived movement characteristics of progressively motile human spermatozoa. *Gamete Res.*, 20: 313-327 (1988).
11. Pedigo, N.G., Vernon, M.W. and Curry, T.E.: Characterization of a computerized semen analysis system. *Fert. Steril.*, 52: 659-666 (1989).
12. Stephens, D.T., Hickman, R. and Hoskins, D.D.: Description, validation and performance characteristics of a new computer-automated sperm motility analysis system. *Biol. Reprod.*, 38: 577-586 (1988).
13. Varner, D.D.: Use of a computerized system for evaluation of equine spermatozoal motility. *Am. J. vet. Res.*, 52: 224-230 (1991).