

Utilidad clínica de la citología espermática

 14 min.



El examen de semen o espermograma permite evaluar la cantidad de los espermatozoides, su movilidad y morfología, además es importante para definir el potencial fértil del varón. En el presente trabajo se presentan tres casos de estudios de muestras de semen donde la observación citológica fue el criterio más importante para la definición de la patología. El propósito de este trabajo es poner en evidencia la importancia del conocimiento citológico para una correcta interpretación de ciertas patologías seminales.



Lydia Melba Sardi-Segovia¹, Gabriela Ruth Mendeluk², Julia Irene Ariagno³, Susana Mercedes Curi³, Mercedes Norma Puglie-

se⁴, Patricia Haydee Chenlo⁴, Adriana Esther Rocher⁵, Herberto Ernesto Repetto⁶, Luis Alberto Palaoro⁷.

1.Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica - Área Citología. Bioquímica del Departamento de Bioquímica Clínica; Cátedra Análisis Clínicos II; Área Citología. Htal. de Clínicas "José de San Martín".

2.Bioquímica. Doctora de Universidad de Buenos Aires. Especialista en Bioquímica Clínica - Área Citología. Jefe de Trabajos Prácticos del Departamento de Bioquímica Clínica; Cátedra Análisis Clínicos II; Área Citología. Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA. Directora del Proyecto UBACyT CB 06.

3.Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica - Área Citología. Jefe de Trabajos Prácticos del Departamento de Bioquímica Clínica; Cátedra Análisis Clínicos II; Área Citología. Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA.

4.Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica - Área Citología. Ayudante del Departamento de Bioquímica Clínica; Cátedra Análisis Clínicos II; Área Citología. Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA.

5.Bioquímica. Especialista en Citología - Jefa de Trabajos Prácticos del Departamento de Bioquímica Clínica; Cátedra Análisis Clínicos II; Área Citología. Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA.

6.Bioquímico. Especialista en Bioquímica Clínica - Área Química Clínica. Bioquímico del Departamento de

Bioquímica Clínica; Cátedra Análisis Clínicos II; Área Citología. Htal. de Clínicas "José de San Martín".

7.Dr. de la Universidad de Buenos Aires - Profesor de Citología - Departamento de Bioquímica Clínica; Cátedra Análisis Clínicos II; Área Citología. Facultad de Farmacia y Bioquímica - UBA.

*.Laboratorio de Fertilidad Masculina. Dep. de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires. INFIBIOC, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Acta Bioquím Clín Latinoam 2013; 47 (1): 47-52

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)



CORRESPONDENCIA

PROF. DR. Luis Alberto Palaoro

E-mail: luispalaoro@yahoo.com.ar



NUEVA
DIRECCIÓN
ESTOMBA 964
NUESTRAS
LÍNEAS
4555-0010
4859-5300

¡Nos mudamos!

Es una gran alegría comunicarnos

que a partir del 24 de junio de 2013

centralizaremos todas las actividades en

nuestro nuevo edificio de Estomba 964.



Resumen

En el examen del semen son importantes las determinaciones de la movilidad, el número y la morfología espermática, sin embargo no resultan suficientes. La observación de las células de la progenie espermática o de otras células epiteliales puede contribuir al mejoramiento del diagnóstico clínico. En el presente trabajo se presentan tres casos de estudios de muestras de sémenes donde la observación citológica fue el criterio más importante para la definición de la patología. Finalmente se discuten imágenes celulares publicadas en el Manual de OMS para el Examen y Procesamiento de Semen Humano, 5a edición, donde se confunden células germinales inmaduras con macrófagos. El propósito del trabajo es poner en evidencia la importancia del conocimiento citológico para una correcta interpretación de ciertas patologías seminales.

Palabras clave: análisis de semen * citología * azoospermia * oligozoospermia * espermatogénesis * inflamación * leucospermia * próstata

Introducción

El análisis de movilidad, morfología y concentración espermáticas es fundamental para definir el potencial fértil del varón. Si bien hubo distintos grupos que intentaron diseñar pruebas funcionales (1), su validez clínica aún sigue siendo cuestionada. De hecho, en el último manual de la OMS se las menciona como “procedimientos para investigación”. A entender de estos autores el recuento diferencial de células en el eyaculado podría orientar al diagnóstico.

El Manual de la Organización Mundial de la Salud para el examen y procesamiento del semen humano define “células redondas” como el conjunto de leucocitos y células germinales (2). Establece que valores superiores a 10^6 /mL serían orientativos a procesos infecciosos/inflamatorios o a trastornos en la espermatogénesis (3), dependiendo del predominio de leucocitos o de células germinales.

Es el objetivo del presente trabajo describir tres casos de la práctica clínica, en los cuales la citología fue esencial para la ca-

racterización del cuadro patológico. Por otra parte, se analizan críticamente algunas imágenes aparecidas en el último manual de la OMS donde se confunden células germinales inmaduras con macrófagos, lo que podría llevar a interpretaciones erróneas del cuadro citológico. Este aporte tiene una función didáctica que permitirá la interpretación correcta de los extendidos citológicos pudiendo definirse tres patrones: el normal, el inflamatorio y el que denota un trastorno en la espermatogénesis.

Materiales y Métodos

Se describirán tres casos paradigmáticos de la práctica clínica en los cuales la interpretación del cuadro citológico contribuyó a la conducta médica. Se emplearon muestras de tres pacientes recibidas en el Laboratorio de Fertilidad Masculina del Hospital de Clínicas “José de San Martín” que fueron analizadas según las normas OMS (2). a) Se determinaron las características macroscópicas (volumen, pH, consistencia, aspecto y licuefacción); b) Se realizó la observación microscópica en fresco para determinar la movilidad subjetiva; c) El recuento de espermatozoides y células se hizo en cámara de Neubauer. En los casos en que no se hallaron espermatozoides en la observación inicial directa, se procedió al examen microscópico de la totalidad del sedimento post-centrifugación (20 min a 3000 g); d) Para la determinación de la morfología y el recuento celular diferencial, se realizaron por cada muestra dos extendidos (pre y post-centrifugación) los cuales fueron coloreados por Papanicolaou. En uno de los casos se realizó, además, microscopía electrónica de transmisión (3).

Resultados

CASOS CLÍNICOS

Caso 1

Edad del paciente: 28 años.

Estudio del semen

Examen macroscópico inicial: volumen: 3,5 mL; pH: 8,5; aspecto: opalescente; licuefacción y viscosidad normales.

Examen microscópico inicial: no se observan espermatozoides, presencia de escasas células (50.000/mL; 175.000/eyaculado).

Examen microscópico del sedimento post-centrifugación:

a) en fresco: no se observan espermatozoides

b) coloreado (Papanicolaou): no se observan espermatozoides

Se descarta la criptozoospermia y se llega al diagnóstico de azoospermia.

Recuento citológico diferencial: neutrófilos: 4%; linfocitos: 4%, células germinales: 0%; células epiteliales: 92%; macrófagos: 0%.

Las células epiteliales eran de tipo cilíndrico (Fig. 1). Se observaron microcalcificaciones prostáticas (cuerpos de Psammoma) (Fig. 2)

Orina post-eyaculación: volumen 3,0 mL; pH: 6; no se observan espermatozoides post-centrifugación.



Figura 1. Células cilíndricas en el sedimento del eyaculado. (Papanicolaou – 1000X)

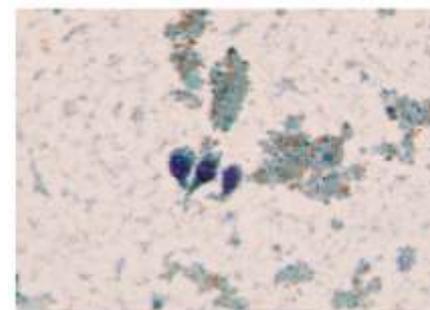
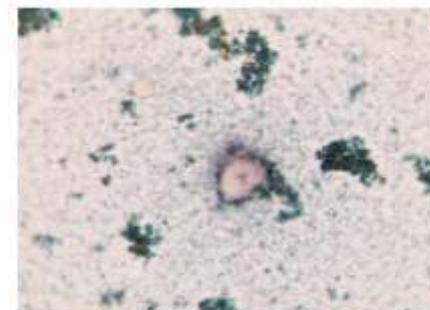


Figure 2. Microcalcificaciones prostáticas del plasma seminal. (Papanicolaou – 1000X)



Caso 2

Edad del paciente: 37 años

Estudio del semen

Examen macroscópico inicial: volumen: 4,3 mL; pH: 8,0; aspecto amarillento, ligeramente opalescente; licuefacción parcial y viscosidad normal.



Serie de Analizadores cobas 4000

Libertad para concretar el potencial de su laboratorio



Productos Roche S.A.Q. e I.
División Diagnóstica
Rawson 3150 - Ricardo Rojas
Tigre - Buenos Aires
Call Center: 0810-810-5650
www.roche-diagnostics.com.ar



cobas[®]

Life needs answers

Examen microscópico inicial: No se observaron espermatozoides, presencia de escasas células (150.000/mL; 645.000/eyaculado).

Examen microscópico del sedimento pos-centrifugación:

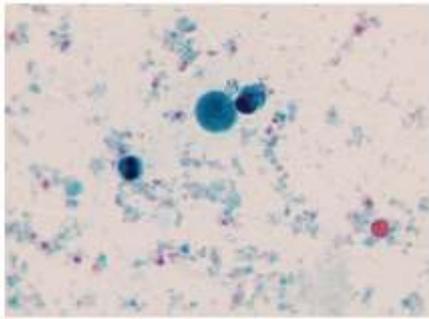
- a) en fresco: no se observan espermatozoides
- b) coloreado (Papanicolaou): no se observan espermatozoides

Se descarta la criptoospermia y se llega al diagnóstico de azoospermia.

Recuento citológico diferencial: neutrófilos 1%; linfocitos 1%, células germinales 84% (Fig. 3); células epiteliales 0%; macrófagos 14%.



Figura 3. Células germinales en el sedimento del eyaculado. (Papanicolaou – 1000X)



Caso 3

Edad del paciente: 47 años. Tratado con alprazolam y enalapril (20 mg/día).

Estudio del semen

El paciente concurre a la consulta por dolores en su testículo izquierdo. Se realizaron varios exámenes (Tabla I) a medida que se le indicaban los tratamientos.



Tabla I. Recuento de espermatozoides y de células germinales en semen. Relación entre ambos tipos celulares.

	Tz	Tcel	CGI/Z	Z/CGI
7/11/07	58,0	28,5	0,5	2,1
26/11/07	4,5	5,5	1,2	0,8
1/2/08	1,8	5,4	2,6	0,4
5/3/08	4,35	12,7	2,6	0,4
AZ				
25/7/08	36,0	20,7	0,5	2,0
AZ - CLD				

Tz: Millones de espermatozoides en el eyaculado
Tcel: Millones de células germinales en el eyaculado
CGI/Z: Relación células germinales/espermatozoides
Z/CGI: Relación espermatozoides/células germinales
AZ: Antioxidantes
CLD: Clomifeno

Se observó un aumento de la relación: células germinales/espermatozoides (superior a 1) aún durante el tratamiento con antioxidantes, que revirtió con el uso del clomifeno. El recuento citológico diferencial mostró franco predominio de células germinales (neutrófilos 1%; linfocitos 0%, células germinales 92%; células epiteliales 0%; macrófagos 7%). La correlación entre la morfología celular con microscopía óptica y con microscopía electrónica demostró fenómenos de apoptosis (Figs. 4 y 5). La apoptosis nuclear se caracteriza por vacuolización, núcleos de formas bizarras y cromatina dispuesta en “media luna”, dispersa y borrosa. La apoptosis citoplasmática se caracteriza por vacuolización, proyecciones citoplasmáticas, cuerpos lamelares e hinchamiento de retículo endoplásmico y mitocondrias.



Figura 4. Célula multinucleada germinal con cromatina dispersa y agrupada. Observe la forma bizarra citoplasmática que indica cambios en el citoesqueleto (Papanicolaou 1000X).

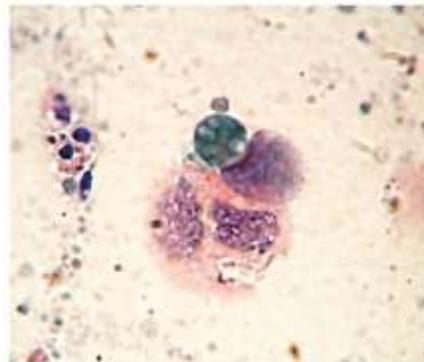
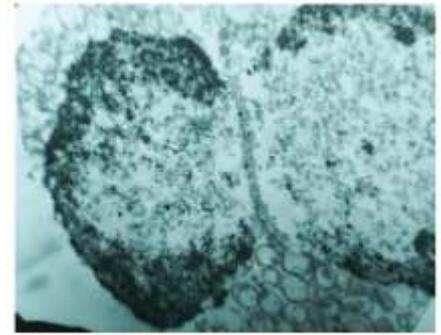


Figura 5. Espermátide con núcleo apoptótico (Cromatina en “Media luna”) y mitocondrias hinchadas (Microscopía Electrónica de Trasmisión - 36.000X).



ANÁLISIS DE IMÁGENES APARECIDAS EN EL ÚLTIMO MANUAL DE LA OMS

El reconocimiento de los diferentes tipos celulares en el eyaculado es de gran interés para la andrología. Algunos errores de interpretación de imágenes celulares fueron incluidos en el último manual de la OMS (5ª edición), confundiendo células germinales con macrófagos (Fig. 6-9).



Figura 6. La célula N° 1 fue clasificada por el Manual OMS para el examen y procesamiento de semen humano, 5ª Edición, como un macrófago. Sin embargo, se trata de una célula germinal (la textura citoplasmática es similar a la del cuerpo residual contiguo (N°3), y existe moldeamiento entre ambas estructuras, indicando un origen común).

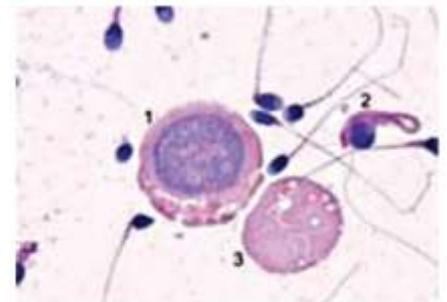


Figura 7. La célula N° 22 fue clasificada por el Manual OMS para el examen y procesamiento de semen humano, 5ª Edición, como un macrófago. Sin embargo, se trata de una célula germinal (la textura citoplasmática es similar a la de la célula germinal contigua (N°21), y existe moldeamiento entre ambas estructuras, indicando un origen común). Observar las vacuolas y la cromatina

borrosa, signos indirectos de degeneración.

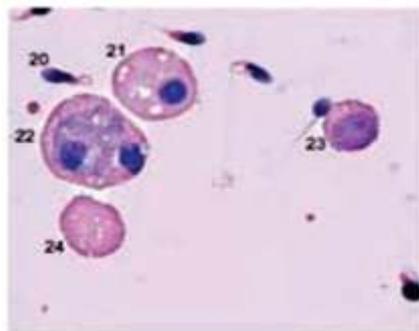


Figura 8. La célula Nº 11 fue clasificada por el Manual OMS para el examen y procesamiento de semen humano, 5ª Edición, como un macrófago. Sin embargo, se trata de una célula germinal (la alta relación núcleo/citoplasma y la textura citoplasmática confirman el origen germinal de esta célula).

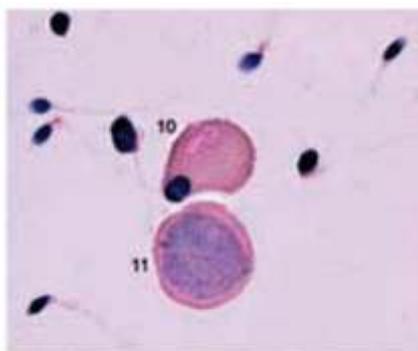
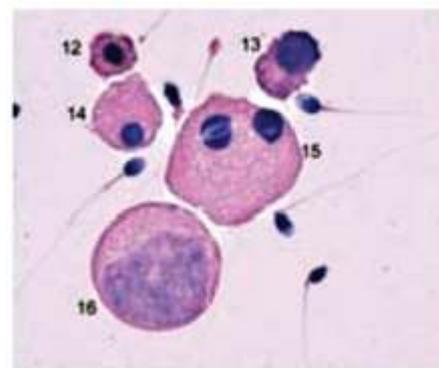


Figura 9. La célula Nº 16 fue clasificada por el Manual OMS para el examen y procesamiento de semen humano, 5ª Edición, como un macrófago. Sin embargo, se trata de una célula germinal (la alta relación núcleo/citoplasma, el moldeamiento con la célula Nº 15 y la textura citoplasmática confirman el origen germinal de esta célula).



Discusión y Conclusiones

En el caso 1, tanto la azoospermia obstructiva como la retroeyaculación pueden descartarse, debido a la alcalinidad del semen, a su volumen (>1,0 mL) y a la ausencia de espermatozoides en orina posteyaculación. Se descarta la obstrucción bilateral de la vía excretora en su desembocadura en la uretra prostática debido a que el volumen de semen y su pH revelan la presencia de fluido de vesículas seminales, por lo tanto no hay obstrucción



Electroforesis Totalmente Automatizada Gel de Agarosa

- Fácil Automatización
- Un gel en sólo 45 minutos: aproximadamente un resultado de análisis de seroproteínas por minuto.
- Cámara de Migración Seca con Temperatura controlada.
- Alta Eficacia en el control de la temperatura por Peltier.
- Cámara de migración única en su tipo, con 2 o 3 electrodos.
- Fácil interpretación de los resultados.
- Reporta lo que usted ve, combinando la inspección visual del gel y el gráfico.
- Minimiza las pruebas de inmunofijación innecesarias, Maximiza las pruebas de primera línea negativa utilizando el ESTÁNDAR DE ORO: Electroforesis en gel de agarosa.
- Portamuestras desechables.
- Sistema de electroforesis automatizado más pequeño en el mundo.

Para electroforesis de:

Seroproteínas; Lipoproteínas; Hemoglobinas; Proteínas Urinarias y SDS;
Inmunofijación; Isoelectroenfoque de LCR y α 1- AT



Ideal para laboratorios pequeños y medianos



Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" C1107APB - Buenos Aires Argentina Tel./Fax: +5411 4300-9090

info@biodiagnostico.com.ar www.biodiagnostico.com.ar

bilateral a nivel de conductos eyaculadores ni agenesia bilateral de conducto deferente y vesícula seminal.

La retroeyaculación también puede descartarse, debido a la ausencia de espermatozoides en orina pos-eyaculación. Aunque el número de células no-espermáticas en el eyaculado fue menor a 106/mL la identificación fue realizada por un citólogo que a pesar del bajo número pudo establecer el predominio de células cilíndricas que revelan un proceso inflamatorio prostático (5). Esta información no fue tomada en cuenta en la última versión del Manual de OMS. Además, la presencia de microcalcificaciones prostáticas refuerza la sospecha de prostatitis que debería confirmarse con estudios complementarios. En el caso 2, aunque el número de células no espermáticas en el eyaculado fue menor a 106/mL, la identificación de éstas puede ser llevada a cabo por aplicación de criterios citológicos. El predominio de células de la progenie espermática revela la falla testicular, confirmando la presencia de una azoospermia secretoria.

La espermatogénesis normal requiere de un balance entre muerte y proliferación celular, por lo tanto el número de células germinales en el eyaculado debería ser inferior al de espermatozoides. De esta observación surge la propuesta de un nuevo valor de corte para el número de células germinales aceptable en el eyaculado que es inferior al propuesto por OMS (6) y/o la introducción de un nuevo índice de espermatogénesis alterada: la relación células germinales/espermatozoides. Hasta el presente sólo la biopsia testicular fue utilizada como diagnóstico de un arresto testicular parcial o total. Esta investigación es la primera en determinar que las modificaciones citológicas en muestras de semen podrían servir como un marcador biológico de espermatogénesis anormal y predecir la transición de oligozoospermia a azoospermia (caso 3), ya que en este caso el índice siguió aumentando hasta alcanzar un valor de 2,6 a pesar de haber sido tratado con antioxidantes y sólo revirtió al suministrársele citrato de clomifeno logrando alcanzar un índice de 0,5. A pesar de que podrían ser empleados marcadores citológicos (7) (8) para la identificación de estirpes celulares, la experiencia del citólogo es de gran ayuda en el análisis de las muestras de semen para el

diagnóstico clínico.



Referencias bibliográficas

1. Aitken RJ. Sperm function tests and fertility. *Int J Androl* 2006; 29(1): 69-75; discussion 105-8.
2. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen. 5th ed. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2010.
3. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 4th ed. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 1999.
4. Sardi-Segovia L, Rocher A, Pugliese M, Chenlo P, Curi S, Ariagno J, et al. Prognostic value of germ cells in the ejaculate: a case study. *Biotech Histochem* 2011; 86(4): 232-41.
5. Andrade-Rocha FT. Assessment of exfoliated prostate cells in semen: relationship with the secretory function of the prostate. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 788-93.
6. Ariagno J, Curi S, Mendeluk G, Grinspon D, Repetto H, Chenlo P, et al. Shedding of immature germ cells. *Arch Androl* 2002; 48: 127-31.
7. Eggert-Kruse W, Bellmann A, Rohr G, Tilgen W, Runnebaum B. Differentiation of round cells in semen by means of monoclonal antibodies and relationship with male fertility. *Fertil Steril* 1992; 58: 1046-55.
8. Johannisson E, Campana A, Luthi R, de Agostini A. Evaluation of 'round cells' in semen analysis: a comparative study. *Hum Reprod Update* 2000; 6(4): 404-12.

Aceptado para su publicación el 17 de agosto de 2012.



LABORATORY
INFORMATION
SYSTEM®

www.nextlab.com.ar

Tecnología Integrada

Flexibilidad y poder de parametrización. Software abierto que puede integrarse con instrumentos de cualquier fabricante. Solución ideal para instituciones públicas y privadas al contemplar facturación e integración con sistemas hospitalarios. NextLAB® LIS se presenta en tres versiones: Lite, Professional y Enterprise.



SOFTWARE INTELIGENTE

Nicolás de Vedia 1644 1er. Piso "1" C1429EIB
Nuñez, Buenos Aires, Argentina
T. [+5411] 60 91 30 94 Rot
F. [+5411] 60 91 21 00 Ext 3094

LITE

PRO

ENT