

Leucocitos seminales y calidad espermática de hombres en estudio de infertilidad

Seminal leukocytes and sperm quality in men involved in infertility study

Bertha Victoria Rodríguez Pendás, Felipe Santana Pérez, Emma Domínguez Alonso, Blanca Nurquez Guerra, Hilda Reyes Rodríguez

Instituto Nacional de Endocrinología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: los leucocitos en exceso en el semen humano pueden estar asociados a la disminución de la calidad espermática. La elevada incidencia de leucocitos en el semen de hombres que acuden a nuestro servicio, pudiera estar vinculada al deterioro de las variables de calidad espermática, y vincularse con problemas de infertilidad masculina.

Objetivo: determinar la frecuencia de leucocitospermia en el semen de hombres que consultan por infertilidad, e identificar si existe asociación entre la presencia de leucocitospermia y alteraciones en las variables de calidad del semen.

Métodos: se realizó un estudio descriptivo transversal, en el cual se incluyeron 136 hombres, con edades entre 20 y 45 años, que acudieron al examen de calidad del semen, procedentes de las consultas de atención a parejas en estudio de infertilidad, del Instituto Nacional de Endocrinología, en La Habana, y que no refirieron síntomas de infección genitourinaria clínicamente activa, ni causas demostrables que afectaran la calidad seminal. El análisis del semen, para determinar las variables seminales, se realizó siguiendo los lineamientos de la OMS, incluyendo la técnica de peroxidasa para determinar la concentración de leucocitos seminales. Se consideraron los aspectos éticos en la investigación y los resultados se analizaron mediante la aplicación de la prueba de chi cuadrado. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados: de las 136 muestras de semen evaluadas, se encontraron leucocitospermia en 31 (22,7 %). Todos los indicadores de calidad seminal fueron menores en presencia de leucocitospermia, aunque solo se obtuvo una diferencia significativa en relación con la concentración espermática ($p < 0,05$).

Conclusiones: la frecuencia de leucocitospermia en la muestra estudiada es prevalente y asociada con un deterioro estadísticamente significativo de la concentración espermática.

Palabras clave: leucocitospermia; calidad espermática; infertilidad masculina.

ABSTRACT

Introduction: excessive amount of leukocytes in the human semen can be related to lower sperm quality. The high incidence of leukocytes in semen from males who went to our service could be linked to deterioration of the sperm quality variables and to male infertility problems.

Objective: to determine the frequency of leukocytospermia in the semen of men who visited our infertility service and to identify the possible association between the leukocytospermia and altered quality variables of semen.

Methods: a cross-sectional and descriptive study of 136 men aged 20 to 45 years, who were performed the semen quality exam and came from the service provided to couples under infertility study in the National Institute of Endocrinology in Havana. These men had not stated any symptom of clinically active urogenital infection and no proven causes that might affect the semen quality. The semen analysis to determine the seminal variables complied with the WHO guidelines including the peroxidase technique to estimate the seminal leukocyte concentrations. The ethical aspects of research were respected whereas the Chi-square test served to analyze the results; the $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

Results: of 136 evaluated semen samples, leukocytospermia was found in 31(22.7 %). All the seminal quality indicators were lower in leukocytospermia, although the significant difference was only found in the sperm concentration ($p < 0.05$).

Conclusions: the frequency of leukocytospermia in the studied sample is prevalent and associated to statistically significant deterioration of the sperm concentration.

Keywords: leukocytospermia; sperm quality; male infertility.

INTRODUCCIÓN

La leucocitospermia se define como la presencia de más de 1×10^6 leucocitos por mL de semen, tiene una incidencia entre 10 y 20 % en la población general, y es común en hombres infértiles.¹ Entre las causas posibles se hace referencia a la presencia de un proceso inflamatorio o infeccioso,^{2,3} que puede cursar de manera subclínica.

El significado de leucocitospermia y su relevancia en la infertilidad masculina es un tema ampliamente discutido. Numerosas evidencias demuestran que el exceso de leucocitos en el semen, tiene un valor pronóstico importante en la fertilidad de algunos hombres, asociados a una baja concentración y movilidad espermática y aumento de espermatozoides morfológicamente anormales.⁴⁻⁷

El líquido seminal contiene, además de espermatozoides, macrófagos (20-30 %), linfocitos (2-5 %) y leucocitos polimorfos nucleares (PMN) (50-60 %), estos últimos con mayor prevalencia en el semen y clínicamente relevantes,⁸ los cuales pueden ser diferenciados por procedimientos de tinción utilizando el ensayo de rutina de la actividad peroxidasa.¹ Esta técnica no detecta otros tipos de leucocitos, tales como linfocitos, macrófagos y monocitos, los cuales no contienen peroxidada. El número total de células peroxidasa positiva en el eyaculado puede reflejar la severidad de una condición inflamatoria.

Existen escasos estudios nacionales relacionados con la prevalencia de leucocitos, y sus consecuencias en la salud sexual y reproductiva de los hombres.^{5,6,9,10} En nuestro laboratorio se observa una alta incidencia de leucocitos en las muestras seminales de hombres en estudio de infertilidad, que, en su mayoría, presentan alteraciones en algunas de las variables del semen. Por esta razón, nos propusimos determinar la frecuencia de leucocitospermia en el semen de hombres que consultan por infertilidad, e identificar si existe asociación entre su presencia y alteraciones en las variables de calidad del semen.

MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal, en el que se incluyeron 136 hombres, de entre 20 y 45 años de edad, que acudieron al análisis de calidad del semen, procedentes de las consultas de atención a parejas en estudio de infertilidad, del Instituto Nacional de Endocrinología, en La Habana, en el período comprendido entre abril de 2010 y febrero de 2011. El cálculo de la muestra se llevó a cabo teniendo en cuenta el total de pacientes atendidos en consulta de infertilidad en un período de un año, y la frecuencia esperada de leucocitospermia en hombres infértiles. Fueron excluidos aquellos sujetos que refirieron síntomas de infección genitourinaria clínicamente activa, procesos inflamatorios, causas demostrables que afecten la calidad seminal (consumo de alcohol, hábito de fumar, presencia de varicocele, exposición a tóxicos y agentes físicos), y otras causas detectables de endocrinopatías. A todos los participantes, se les explicó en qué consistía el estudio, su importancia y los beneficios esperados, además de su participación voluntaria, al igual de que no se afectaría su atención médica si no deseaban incorporarse a la investigación. Se utilizó una planilla de recolección de datos con la información necesaria para el estudio y un modelo de consentimiento informado, con garantía de confidencialidad de los resultados obtenidos.

Las muestras de semen se obtuvieron por masturbación, con un tiempo de abstinencia sexual de 3-5 días, y el análisis del semen se realizó según el manual OMS (1999),¹¹ para el estudio del semen humano. Las variables evaluadas fueron las siguientes: cualitativas (aspecto y volumen alterado, viscosidad aumentada y presencia de aglutinación), y cuantitativas (concentración, movilidad y morfología espermática, además de concentración de leucocitos en semen).

Los criterios de normalidad para los indicadores del espermograma fueron: concentración de espermatozoides ($\geq 20 \times 10^6$ espermatozoides/mL), movilidad a+b (≥ 50 %) y morfología (≥ 30 % de formas normales).

Para la determinación de leucocitos se realizó el procedimiento histoquímico que identifica la enzima peroxidasa característica de los granulocitos polimorfos nucleares. La concentración de leucocitos se determinó mediante la cuantificación de células peroxidasa positivas, por tinción con azul de ortotoluidina.^{1,12} La

leucocitospermia se definió como la presencia de leucocitos peroxidasa positiva a concentraciones mayores de 10^6 células/mL de semen.

Se realizaron distribuciones de frecuencia de las variables cualitativas y cuantitativas del semen y se correlacionaron estas variables entre pacientes con y sin leucocitospermia, utilizándose la prueba chi cuadrado para evaluar la significación estadística de la posible asociación. El procesamiento estadístico se llevó a cabo utilizando el programa SPSS en su versión 11,5. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

De las 136 muestras de semen evaluadas, se encontró leucocitospermia en 31 (22,7 %), lo cual se representa en la [figura](#).

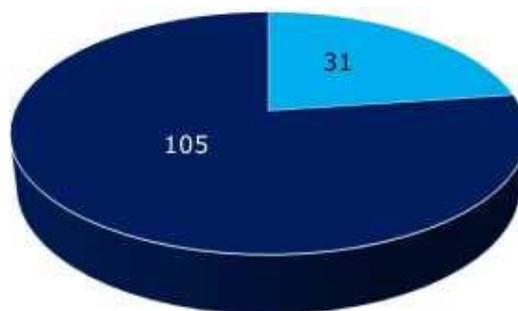


Fig. Frecuencia de leucocitospermia en el semen de hombres que consultan por infertilidad (n= 136).

Las variables cualitativas aspecto y volumen alterado, viscosidad aumentada, y presencia de aglutinación, estuvieron más afectadas en presencia de leucocitospermia, aunque las diferencias no fueron significativas, resultados que se muestran en la [tabla 1](#).

En la [tabla 2](#) se relacionan las variables cuantitativas del semen de los pacientes estudiados con y sin leucocitospermia, las cuales fueron menores en presencia de leucocitospermia. No se encontró asociación significativa entre la leucocitospermia, con la movilidad y la morfología espermática, aunque fue negativamente correlacionada con la concentración espermática ($p < 0,05$).

En el estudio no se obtuvieron muestras de semen de hombres fértiles, por lo que se limitó nuestro estudio a la comparación de las variables seminales de hombres en estudio de infertilidad, con y sin leucocitospermia.

Tabla 1. Relación entre las variables cualitativas del semen en pacientes que consultan por infertilidad con y sin leucocitospermia

Presencia de leucocitospermia	Aspecto alterado %	Viscosidad aumentada %	Aglutinación presente %	Volumen alterado %
Sin leucocitospermia n= 105	76,4*	12,9*	18,3*	38,9*
Con leucocitospermia n= 31	83,6*	14,1*	24,2*	41,4*

* P > 0,05

Tabla 2. Relación entre las variables cuantitativas del semen en pacientes que consultan por infertilidad con y sin leucocitospermia

Variables del semen	Sin leucocitospermia n= 105 %	Con leucocitospermia n= 31 %	Valor de p
Concentración ($\geq 20 \times 10^6$ /mL)	74,4	25,6	0,015
Movilidad [a+b] (≥ 50 %)	33,6	32,3	0,885
Morfología (≥ 30 % de formas normales)	38,1	32,5	0,615

DISCUSIÓN

Se estima que la infertilidad está presente en el 15 % de las parejas. La tercera parte de los casos se debe a un factor masculino, en algunas ocasiones relacionada con una alteración del espermograma, y dentro de este, la incidencia de leucocitospermia juega un papel fundamental, con una prevalencia en hombres infértiles que varía de 2-40 %.¹³⁻¹⁵

El significado de la presencia de un conteo elevado de leucocitos en el semen, su relación con la calidad espermática y la relevancia en la fertilidad masculina, es un tema ampliamente discutido.^{16,17}

La frecuencia obtenida en nuestro estudio de 22,7 % es menor que la encontrada por *Molina* y otros,¹⁸ además de la obtenida por *Arata* y otros autores¹⁹ y por *Pereira* y otros,¹⁰ este último relacionado con un estudio realizado en nuestra institución en el año 2003. Por otra parte, la frecuencia de leucocitospermia en nuestro trabajo es mayor que la obtenida por otros autores en trabajos internacionales,^{4,20-22} y de la publicada por estudios nacionales.^{5,6}

Con relación a la presencia de la leucocitospermia y su impacto negativo en la calidad seminal se han publicado numerosos estudios.^{4,7,20,23} *Arata* y otros,¹⁹ encontraron que los leucocitos en exceso estaban correlacionados negativamente con la motilidad progresiva y el por ciento de espermatozoides normales; en este mismo sentido *Aziz* y otros²⁴ demostraron, que el número elevado de leucocitos en el eyaculado estaba asociado con los defectos de cola y daño acrosomal de los espermatozoides, presentes en la muestra de estudio.

La mayoría de los estudios, coinciden en que a concentraciones de leucocitos mayores de $1 \times 10^6/\text{mL}$, hay afectación de alguna de las variables del semen. Con relación a esto *Ziyyat* y otros,²⁵ publicaron un incremento en la movilidad espermática en presencia de una concentración de leucocitos menor de $1 \times 10^6/\text{mL}$, y decrecimiento de esta, a concentraciones de leucocitos mayores de $1 \times 10^6/\text{mL}$.

Otro estudio, realizado por *Lackner* y otros,²² informó que el porcentaje de espermatozoides con morfología normal y movilidad progresiva, fue mayor en muestras de semen a concentración de leucocitos entre 0 y $1 \times 10^6/\text{mL}$, comparado con el decrecimiento de todas las variables seminales en las muestras que presentaban concentraciones de leucocitos mayores de $1 \times 10^6/\text{mL}$. Ambos estudios sugieren que la asociación entre la presencia de leucocitos y la calidad seminal, puede ser dependiente de la concentración de leucocitos presentes en el semen.

Con relación al pronóstico clínico en materia de reproducción, *Barraud* y otros,²⁶ refieren que la leucocitospermia moderada (concentración de leucocitos de 0,5- $1 \times 10^6/\text{mL}$) en pacientes infértiles, está asociada con mejoras en los parámetros seminales, además que, contrario a lo que se esperaba, la presencia de leucocitos en exceso (concentración de leucocitos mayor de $1 \times 10^6/\text{mL}$) en hombres infértiles, protegen la función espermática, y están asociados con un incremento en los índices del embarazo clínico en terapias de reproducción asistida, comparado con los de pacientes infértiles sin presencia de leucocitos en el semen.

En otro estudio, realizado por el mismo autor y otros colaboradores,²⁷ compararon las variables seminales de donantes fértiles y pacientes infértiles con leucocitospermia, y concluyeron que en ambos casos la presencia de elevados leucocitos estuvo asociada con un índice de embarazo normal, pero con un incremento en el porcentaje de pérdida de embarazo temprano.

Nuestro trabajo estuvo limitado al estudio de muestras de semen de hombres que consultan por infertilidad, lo cual imposibilitó disponer de pacientes fértiles para estudios de comparación. El hecho de no encontrar asociación entre la presencia de leucocitospermia con la movilidad y morfología espermática, pudiera tener relación con la baja frecuencia de pacientes leucocitospérmicos encontrados (31), comparados con los no leucocitospérmicos (105), además de que no se pudo relacionar todos los leucocitos presentes en la muestra seminal, con los indicadores de calidad seminal, por no disponer de pruebas de diferenciación para estas células, pues el ensayo de la peroxidasa utilizado en este estudio, solo detectó los leucocitos PMN. Esto puede hacernos pensar que un número importante de otras células no fueron tenidas en cuenta, con la correspondiente afectación en las variables de calidad del semen de los sujetos estudiados.

Resultados similares a los nuestros fueron obtenidos por otros investigadores en estudios anteriores. *Solomón* y otros informaron que los sujetos con leucocitospermia tienden a un decrecimiento en el conteo espermático, el cual fue estadísticamente significativo. Este estudio sugirió, además, que los espermatozoides normales, pueden tener la habilidad para compensar ciertas concentraciones de leucocitos, y reducir su impacto en la calidad seminal.²⁸

Además, *Lobascio* y otros también encontraron una correlación negativa entre la leucocitospermia y la concentración espermática, e indicaron que la presencia de leucocitospermia en el eyaculado afecta negativamente la calidad seminal, asociada además a condiciones de infertilidad masculina.²³

Con relación a trabajos nacionales, *Machado* y otros,⁵ informaron diferencias significativas en algunas de las variables del semen en pacientes con y sin leucocitospermia, las cuales no parecían depender del número, sino del tipo de leucocitos presentes en la muestra.

En otro estudio más reciente, realizado en colaboración con nuestra institución, en el que se estudiaron subpoblaciones de leucocitos y su relación con la calidad seminal, se encontró una correlación negativa entre el número de leucocitos presentes en el semen, y la movilidad tanto [a] como [a+b],⁶ y se concluyó que los leucocitos, según su número y tipo, pueden influir negativamente sobre la calidad del semen y la fertilidad del varón.

Algunas de las conclusiones vertidas en las diferentes investigaciones, tratan de explicar los posibles mecanismos por los cuales los leucocitos impactan negativamente la calidad del semen, entre ellas, sugieren la posible contribución de estas células a la aparición de condiciones que favorecen el estrés oxidativo,^{17,29,30} como resultado de la presencia de especies reactivas del oxígeno (ERO),^{8,9,31,32} las cuales son primariamente producidos por leucocitos, incluso, a bajos niveles de leucocitos en el semen.³³

Por otra parte, se plantea que altos niveles de leucocitos en el semen pueden contribuir a la hiperviscosidad del semen,³⁴ lo cual limita el movimiento normal del espermatozoide en el tracto reproductor masculino, y provoca fallas de fertilización. Al respecto *Flint* y otros,³⁵ en un estudio reciente, encontraron que la viscosidad cuantificada fue significativamente más alta en el grupo de muestras peroxidasa positivas, lo cual pudiera afectar el potencial fertilizante de los espermatozoides presentes en la muestra estudiada.

En el caso de la infertilidad masculina, la presencia de leucocitos en exceso representa un factor de riesgo adicional, para lo cual el tratamiento con diferentes antibióticos es la terapia más recomendada. Esto reduce temporalmente el conteo de leucocitos en semen, pero no los elimina totalmente. Este proceder está justificado por los resultados de algunos estudios, que relacionan el número excesivo de leucocitos con la presencia de infecciones y pobre calidad seminal.³⁶⁻³⁸ En este aspecto también hay resultados contradictorios,^{4,39} por ello debe tenerse especial cuidado en el tratamiento sintomático de la leucocitospermia,⁴⁰ cuando estudios más recientes sugieren que un incremento del conteo de leucocitos en semen, no es buen predictor de infecciones del tracto genital en hombres.⁴¹

Además del método de detección de la enzima peroxidasa en el estudio de leucocitos en semen, se está utilizando la cuantificación de elastasa en plasma seminal,⁴² útil para el diagnóstico de procesos inflamatorios, especialmente la determinación de elastasa PMN (EPMN),^{20,43} como marcador inflamatorio del tracto reproductor masculino.

La concentración de EPMN en semen, es correlacionada significativamente no solo con el conteo de células blancas y nivel de ERO en el semen, sino también con niveles de otras citoquinas relacionadas con la inflamación, lo cual tiene un impacto negativo en la calidad del semen, al disminuir la movilidad e incrementar el porcentaje de espermatozoides morfológicamente anormales.⁴⁴

Teniendo en cuenta las limitaciones de este estudio, se sugiere, en trabajos futuros, además de aumentar el tamaño de muestra, estudiar diferentes concentraciones y tipos de subpoblaciones leucocitarias,⁴⁵ tanto en hombres fértiles como en estudio de infertilidad, analizar su relación con las variables espermáticas y la repercusión en la fertilidad masculina, además de explorar e introducir en nuestro laboratorio nuevas técnicas que permitan completar más este estudio, como pudiera ser mejorar la precisión del ensayo peroxidasa,¹⁷ entre otras.^{21,46,47}

En conclusión, los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la leucocitospermia es prevalente en el semen de hombres que consultan por infertilidad, y asociada con un deterioro estadísticamente significativo de la concentración espermática.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2010.
2. Rusz A, Pilatz A, Wagenlehner F, Linn T, Diemer T, Schuppe H, et al. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility. *World J Urol.* 2012;30:23-30.
3. Weidner W, Pilatz A, Diemer T, Schuppe H, Rusz A, Wagenlehner F. Male urogenital infections: impact of infection and inflammation on ejaculate parameters. *World J Urol.* 2013;31:717-23.
4. Domes T, Lo K, Grober E, Mullen J, Mazzulli T, Jarvi K. The incidence and effect of bacteriospermia and elevated seminal leukocytes. *Fertil Steril.* 2012;97:1050-5.
5. Machado A, Mallea L, Pérez M, Padrón R. Prevalencia de leucocitospermia en hombres infértiles y su relación con parámetros del semen. *Rev Cub Endocrinol.* 1997;8:18-9.
6. Quintero W, Mallea L, Machado A, Llópiz N, Céspedes E, Yepes S, et al. Relación entre las distintas subpoblaciones celulares, la enzima superóxido dismutasa y la calidad seminal. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2002;21:81-5.
7. Piasecka M, Fraczek M, Gaczarzewicz D, Gill K, Szumala A, Kazienko A, et al. Novel morphological findings of human sperm removal by leukocytes *in vivo* and *in vitro* conditions: preliminary study. *Am J Reprod Immunol.* 2014;72:348-58.
8. Wolff H. The biological significance of white blood cells in semen. *Fertil Steril.* 1995;63:1143-57.
9. Quintero W, Mallea L, Machado A, Llópiz N, Céspedes E, Monzón G, et al. Efecto del estrés oxidativo sobre la calidad del semen de pacientes infértiles con leucocitospermia. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2000;19:183-5.
10. Pereira G, Gallardo M, Padrón R, Barrios V, Reyes A, Domínguez E, et al. Relación entre indicadores bioquímicos de estrés oxidativo, lípidos y lipoproteínas en pacientes infértiles. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2003;22:95-100.

11. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
12. Politch J, Wolff H, Hill J, Anderson D. Comparison of methods to enumerate white blood cell in semen. *Fertil Steril*. 1993;60:372-5.
13. Patel Z, Niederberger C. Male factor assessment in infertility. *Med Clin North Am*. 2011;95:223-34.
14. De Jonge C. Semen analysis: looking for an upgrade in class. *Fertil Steril*. 2012;97:260-6.
15. Cooper T, Hellenkemper B. Improving precision in the assessment of round cell numbers in human semen. *Asian J Androl*. 2010;12:111-4.
16. Johanisson E, Campana A, Luthi R, Agostini A. Evaluation of "round cells" in semen analysis: a comparative study. *Hum Reprod Update*. 2000;6:404-12.
17. Mupfiga C, Fisher D, Kruger T, Henkel R. The relationship between seminal leukocytes, oxidative status in the ejaculate, and apoptotic markers in human spermatozoa. *Syst Biol Reprod Med*. 2013;59:304-11.
18. Molina R, Ticera A, Olmedo J, Pinto B, Kiguen X, Cuffin C. Infecciones seminales en pacientes infértiles asintomáticos. *Revista Facultad de Ciencias Médicas*. 2009;66:60-6.
19. Arata G, Tortolero I, Villarroel V, Molina C, Bellabarba C, Velazquez E. Nonsperm cells in human semen and their relationship with semen parameters. *Arch Androl*. 2000;45:131-6.
20. Eggert-Kruse W, Zimmermann K, Geissler W. Clinical relevance of polymorphonuclear (PMN-) elastase determination in semen and serum during infertility investigation. *Int J Androl*. 2009;32:317-29.
21. Zorn B, Ihan A, Kopitar A, Kolbezen M, Sesieki A, Meden A. Changes in sperm apoptotic markers as related to seminal leukocytes and elastase. *Reproductive BioMedicine Online*. 2010;21:84-92.
22. Lackner J, Agarwal A, Mahfouz R, Plessis S, Georg G. The association between leukocytes and sperm quality is concentration dependent. *Reprod Biol Endocrinol*. 2010;8:12-25.
23. Lobascio A, De Felici M, Anibaldi M, Greco P, Minasi M, Greco E. Involvement of seminal leukocytes, reactive oxygen species, and sperm mitochondrial membrane potential in the DNA damage of the human spermatozoa. *Andrology*. 2015;3:265-70.
24. Aziz N, Agarwal A, Lewis I, Sharma R, Thomas A. Novel associations between specific sperm morphological defects and leukocytospermia. *Fertil Steril*. 2004;82:621-7.
25. Ziyyat A, Barraud V, Siffer C, Ducot B, Wolf J, Sourfir J. Paradoxical increase of sperm motility and seminal carnitine associated with moderate leukocytosperm in infertile patients. *Fert Steril*. 2008;90:2257-63.

26. Barraud V, Pont J, Pocate K, Sifer C, Cefrin I, Fechtali B, et al. Seminal leukocytes are Good Samaritans for spermatozoa. *Fertil Steril*. 2011;96:1315-9.
27. Barraud V, Pont J, Pocate K, Kunstmann J, Boissonas C, Ducot B, et al. Seminal leukocytes and clinical outcomes with donor sperm insemination. *Fertil Steril*. 2011;96:1320-4.
28. Solomon A, Ileimokumo O, Wankasi M. Relationship between leukocytospermia and sperm count in men visiting Fertility Clinic of the federal radical center Yenagoa Vállelas State Nigeria. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2013;3:45-50.
29. Ko E, Sabanegh E, Agarwal A. Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertil Steril*. 2014;102:1518-27.
30. Du Plessis S, Agarwal A, Halabi J, Turda E. Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32:509-20.
31. Hernández Y, Delgado L, Martínez G. Diferencias del estado redox entre espermatozoides y plasma seminal en adultos jóvenes. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 2013;32:159-70.
32. Kashou A, Sharma R, Agarwal A. Assessment of oxidative stress in sperm and semen. *Methods Mol Biol*. 2013;927:351-61.
33. Agarwal A, Mulgund A, Alshahrani S, Assidi M, Abuzenadah A, Sharma R, et al. Reactive oxygen species and sperm DNA damage in infertile men presenting with low level leukocytospermia. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;19:126-33.
34. Du Plessis S, Gokul S, Agarwal A. Semen hyperviscosity: causes, consequences, and cures. *Front Biosci*. 2013;5:224-31.
35. Flint M, Du Plessis S, Menkveld R. Revisiting the assessment of semen viscosity and its relationship to leucocytospermia. *Andrologia*. 2014;46:837-41.
36. Aghazarian A, Stancik I, Pflugler H, Lackner J. Influence of pathogens and moderate leukocytes on seminal interleukin (IL)-6, IL-8 and sperm parameters. *Int Urol Nephrol*. 2013;45:359-65.
37. Niederberger C. The incidence and effect of bacteriospermia and elevated seminal leukocytes on semen parameters. *The J of Urol*. 2012;88:2322-8.
38. Diao R, Fok K, Chen H, Yu M, Duan Y, Chung C, et al. Deficient human β -defensin 1 underlies male infertility associated with poor sperm motility and genital tract infection. *Sci Transl Med*. 2014;6:108-14.
39. De Francesco M, Negrini R, Ravizzola G, Galli P, Manca N. Bacterial species present in the lower male genital tract: a five-year retrospective study. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2011;16:47-53.
40. Hamada A, Agarwal A, Sharma R, French D, Ragheb A, Sabanegh E. Empirical treatment of low-level leukocytospermia with doxycycline in male infertility patients. *Urology*. 2011;78:1320-5.

41. Chen L, Yu S, Rajesh H. Is semen polymorphonuclear leukocytes count a good predictor of male genital tract infection? Singapore Med J. 2013;54:328-31.
42. Zhioua A, Fourati S, Elloumi H, Merdassi G, Chaker A, Zhioua F, et al. The usefulness of elastase measurement in the sperm for the diagnosis of urogenital male inflammation and infection. Tunis Med. 2013;91:269-72.
43. Punab M, Kullisaar T, Mändar R. Male infertility workup needs additional testing of expressed prostatic secretion and/or post-massage urine. PLOS One. 2013;8:1-6.
44. Lessig J, Arnhold J, Glander H. Alpha1-antitrypsin prevents polymorphonuclear leukocyte-elastase effects on spermatozoa quality. Int J Androl. 2010;33:64-72.
45. Seshadri S, Flanagan B, Vince G, Lewis J. Leucocyte subpopulations in the seminal plasma and their effects on fertilisation rates in an IVF cycle. Andrología. 2012;44:396-400.
46. Tremellen K, Tunc O. Macrophage activity in semen is significantly correlated with sperm quality in infertile men. Int J Androl. 2010;33:823-31.
47. Mallok A, Flores R, Alonso C, Martínez G. Desbalance redox en la infertilidad masculina. Rev Cubana Farm. 2011;45:283-96.

Recibido: 19 de marzo de 2015.

Aprobado: 17 de agosto de 2015.

Bertha Victoria Rodríguez Pendás. Instituto Nacional de Endocrinología (INEN).
Calle Zapata y D, Vedado, municipio Plaza de la Revolución. La Habana, Cuba.
Correo electrónico: berthapendas@infomed.sld.cu