

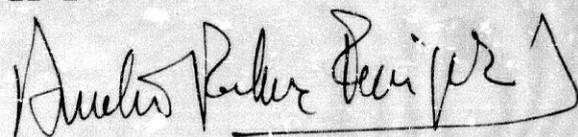
UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

"ESTUDIO DE LA INTEGRIDAD FUNCIONAL DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO (HOS-TEST) Y SU APLICACION CLINICA COMO PARAMETRO DE CALIDAD ESPERMÁTICA".

Memoria que presenta para  
optar al grado de Doctor  
en Medicina y Cirugía.

El Licenciado:



Fdo. Aurelio Palma Enríquez

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN Medicina

Curso de 19 88 a 19 87

Folio 52

Número 104

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Antonio Pelaez Osorio, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente tema, que libremente habia elegido: Estudio de la Integridad funcional y la frecuencia del esfermatocidismo testicular (1904-1907) y su aplicación clínica como fármaco de calidad específica

Terminada la lectura y contestadas la objeciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este le calificó de Apt. cum laude

Granada 22 de Junio de 19 87.

EL PRESIDENTE,

El Secretario del Tribunal,

*[Signature]*

*[Signature]*

Fdo.: CARLOS OSORIO PELAEZ

Fdo.: E. Rafael Osorio

EL VOCAL,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

*[Signature]*

*[Signature]*

*[Signature]*

Fdo.: M. MONTIEL DE VITA

BONO  
LIENTES.

Fdo.: P. MORAYA LUSA

Fdo.: A. ZULUAGA GOMEZ

COMPULSADO  
DE LOS DERECHOS CON  
Granada, a 26 de Junio de 1987

FIRMA DEL GRADUANDO

*[Signature]*

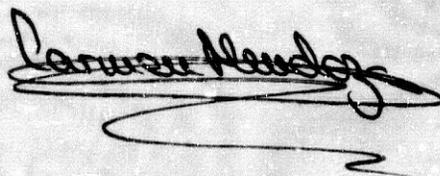


DÑA. CARMEN MENDOZA OLTRAS, PROFESORA TITULAR  
DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLE-  
CULAR DE LA FACULTAD DE MEDICINA, DE LA UNIVER-  
SIDAD DE GRANADA.

C E R T I F I C A :

Que la memoria del trabajo  
titulado "ESTUDIO DE LA INTEGRIDAD FUNCIONAL  
DE LA MEMBRANA DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO (HOS-  
TEST) Y SU APLICACION CLINICA COMO PARAMETRO  
DE CALIDAD ESPERMATICA", presentada para aspirar  
al grado de Doctor por D. Aurelio Palma Enriquez,  
ha sido revisada por mi, encontrandola conforme  
para ser leida y defendida en esta facultad  
de Medicina ante el Tribunal que en su día  
se designe. Por todo lo cual acepto actuar  
como ponente de esta tesis doctoral.

Granada, 22 de Mayo de 1.989



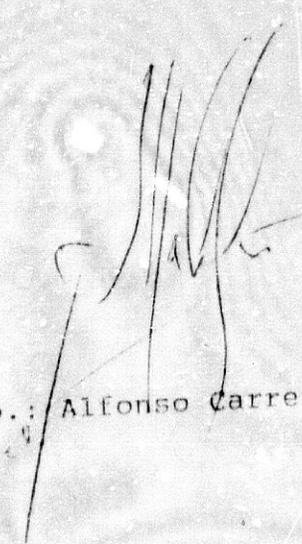
Fdo: Carmen Mendoza Oltras

D. ALFONSO CARRERAS EGAÑA. PROFESOR ASOCIADO  
DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR  
DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

C E R T I F I C A :

Que la tesis doctoral que presenta a superior juicio del Tribunal que designe la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, D. Aurelio Palma Enríquez, sobre el tema: "ESTUDIO DE LA INTEGRIDAD FUNCIONAL DE LA MEMBRANA DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO (HOST-TEST) Y SU APLICACION CLINICA COMO PARAMETRO DE CALIDAD ESPERMATICA", ha sido realizada durante los cursos 1.986-87, 1.987-88 y 1.988-89, bajo mi dirección; siendo de una alta capacidad técnica e interpretativa de su autor, lo que le hacen acreedor del Título de Doctor, siempre que así lo considere el citado Tribunal.

Granada, 22 de Mayo de 1.989



Fdo.: Alfonso Carreras Egaña

DEDICADA:

A MONTSE.  
A DANIEL.  
A MANOLO.  
A MI PADRE.

MI AGRADECIMIENTO A:

DR. D. CARLOS OSORIO PELAEZ, por la oportunidad que me ha ofrecido de trabajar en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina.

DRA. DÑA. CARMEN MENDOZA OLTRAS, por permitirme trabajar en su equipo de investigación, siendo su ayuda y dirección científicas totalmente necesaria para la realización del presente trabajo.

DR. D. ALFONSO CARRERAS EGAÑA, por su imprescindible contribución y dirección científicas para poder realizar esta tesis, sin la cual no podría haberse realizado.

DR. D. DARIO ACUÑA CASTROVIEJO, por su inestimable ayuda técnica en la realización de las gráficas del presente trabajo.

DR. D. M.J. BOLAÑOS CARMONA, por su valiosa aportación en la valoración estadística de los resultados.

DR. D. ENRIQUE GARCIA OLIVARES, por su ayuda para la realización del material fotográfico de este trabajo.

DR. D. MIGUEL DOLZ ROMERO, por su imprescindible colaboración en la realización experimental de la tesis.

STS. DÑA. ROSA ROLDAN RUANO, por su colaboración en el trabajo experimental.

STA. DÑA. MERCEDES VILLEGAS LOPEZ y SR. D. JERONIMO PALMA ENRIQUEZ, por su apreciable y valiosa colaboración en el presente trabajo.

STAS. DÑA. MONTSERRAT RAMIREZ HERVAS y DÑA. M<sup>a</sup> ANGUSTIAS DIAZ PANALVA, por su imprescindible colaboración mecanográfica.

A todas aquellas personas que, de una forma u otra, han podido contribuir a la realización de esta tesis.

INDICE

## INTRODUCCION

1. APARATO GENITAL MASCULINO .....	1.
1.1. <u>TESTICULO</u> .....	2.
1.1.1. Anatomía .....	2.
1.1.2. Vascularización e inervación .....	6.
1.2. <u>EPIDIDIMO</u> .....	8.
1.2.1. Anatomía .....	8.
1.2.2. Vascularización e inervación .....	10.
1.3. <u>CONDUCTO DEFERENTE</u> .....	11.
1.3.1. Anatomía .....	11.
1.3.2. Vascularización e inervación .....	14.
1.4. <u>VESICULAS SEMINALES</u> .....	15.
1.4.1. Anatomía .....	15.
1.4.2. Vascularización e inervación .....	18.
1.5. <u>PROSTATA</u> .....	19.
1.5.1. Anatomía .....	19.
1.5.2. Vascularización e inervación .....	22.
1.6. <u>CANAL O CONDUCTO EYACULADOR</u> .....	23.
1.6.1. Anatomía .....	23.
1.7. <u>URETRA PROSTATICA</u> .....	24.

1.7.1. Anatomía .....	24.
1.8. <u>GLANDULAS BULBO-URETRALES</u> .....	25.
1.8.1. Anatomía .....	25.
1.8.2. Vascularización e inervación .....	26.
1.9. <u>GLANDULAS URETRALES</u> .....	26.
1.9.1. Anatomía .....	26.
1.10. <u>PENE</u> .....	26.
1.10.1. Anatomía .....	26.
1.11. <u>ORGANO ERECTIL DEL PENE</u> .....	28.
1.11.1. Anatomía .....	28.
1.11.2. Vascularización e inervación .....	31.
1.12. <u>FISIOLOGIA Y HEMODINAMICA DE LA ERECCION</u> .	33.
1.12.1. Anatomía funcional de la erección .....	33.
1.12.2. Hemodinámica de la erección .....	35.
1.13. <u>FISIOLOGIA DE LA EYACULACION</u> .....	37.
1.13.1. Fisiología de la eyaculación .....	37.
1.13.2. Control neurológico de la eyaculación .	38.

2. FISILOGIA TESTICULAR .....	40.
2.1. <u>CELULAS INTERSTICIALES DE LEYDIG</u> .....	41.
2.2. <u>CELULAS DE SERTOLI</u> .....	44.
2.3. <u>ESPERMATOGENESIS</u> .....	47.
2.3.1. Espermatogonias .....	49.
2.3.2. Espermatocitos .....	51.
2.3.3. Espermatidas .....	55.
2.4. <u>CICLO DEL EPITELIO SEMINIFERO Y ESPERMATO- GENESIS</u> .....	58.
2.5. <u>CELULAS DE SERTOLI Y ESPERMATOGENESIS</u> .....	61.

3. FISIOLOGIA DEL EPIDIDIMO .....	65.
3.1. <u>TRANSPORTE DE ESPERMATOZOIDES POR EL EPIDIDIMO</u> .....	66.
3.1.1. Velocidad de tránsito de los espermatozoides .....	66.
3.1.2. Sistema de transporte de los espermatozoides .....	67.
3.1.3. Factores que influyen en el transporte de los espermatozoides .....	69.
3.2. <u>MADURACION ESPERMATICA EN EL EPIDIDIMO</u> .....	70.
3.2.1. Movilidad de los espermatozoides .....	70
3.2.2. Poder fecundante de los espermatozoides .....	73.
3.2.3. Modificaciones de la membrana del espermatozoide en el epidídimo .....	76.
3.2.4. Capacitación del espermatozoide .....	81.
3.3. <u>SUPERVIVENCIA Y ELIMINACION ESPERMATICA</u> .....	83.
3.3.1. Pérdida urinaria de espermatozoides .....	83.
3.3.2 Reabsorción de los espermatozoides .....	84.

4. EL ESPERMATOZOIDE .....	86.
4.1. <u>MORFOLOGIA DEL ESPERMATOZOIDE</u> .....	87.
4.1.1. Cabeza del espermatozoide .....	89.
4.1.2. Cola del espermatozoide o flagelo .....	96.
4.2. <u>ESTRUCTURA DEL FLAGELO</u> .....	102.
4.2.1. Composición proteica .....	105.
4.3. <u>ENERGETICA DEL MOVIMIENTO FLAGELAR</u> .....	105.
4.4. <u>MECANICA DEL MOVIMIENTO FLAGELAR</u> .....	106.
4.5. <u>REGULACION DEL MOVIMIENTO DEL ESPERMATOZOIDE.</u>	108.

5. FLUIDO SEMINAL .....	114.
5.1. <u>PLASMA SEMINAL</u> .....	117.
5.1.1. Composición bioquímica .....	117.
5.1.2. Origen de la composición bioquímica .....	121.
5.1.3. Regulación de la composición bioquímica ..	125.
5.2. <u>COMPONENTE TESTICULAR DEL SEMEN</u> .....	126.
5.3. <u>FACTORES DE VARIACION DE LA CALIDAD ESPERMA- TICA</u> .....	127.
5.3.1. Abstinencia sexual .....	129.
5.3.2. Edad .....	129.
5.3.3. Otros factores de variación .....	130.
5.4. <u>PROPIEDADES FISICAS DEL SEMEN</u> .....	131.
5.4.1. Volumen .....	131.
5.4.2. Color .....	132.
5.4.3. pH .....	134.
5.4.4. Licuefacción .....	135.
5.4.5. Viscosidad .....	136.
5.4.6. Numeración .....	136.
5.5. <u>ANOMALIAS MORFOLOGICAS DEL ESPERMATOZOIDE</u> ..	137.
5.5.1. Anomalías de la cabeza .....	137.
5.5.2. Anomalías de la pieza intermedia .....	141.
5.5.3. Anomalías del flagelo .....	141.

5.6. <u>EVALUACION FUNCIONAL DE LOS ESPERMATOZOOIDES.</u>	143.
5.6.1. Capacidad de migración .....	144.
5.6.2. Capacidad de fecundación .....	147.
5.7. <u>EVALUACION DE LA CALIDAD NUCLEAR DEL ESPERMA- TOZOIDE</u> .....	149.

6.	APROXIMACION DIAGNOSTICA DE LA INFERTILIDAD MASCULINA. ....	152.
6.1.	<u>ANTECEDENTES Y EXAMEN FISICO</u> .....	155.
6.1.1.	Antecedentes médicos .....	156.
6.1.2.	Disfunción sexual de la pareja .....	159.
6.1.3.	Antecedentes medicamentosos o exposiciones a agentes químicos .....	161.
6.1.4.	Examen físico .....	163.
6.2.	<u>EXAMEN DE SANGRE</u> .....	164.
6.3.	<u>EXAMEN DE ESPERMA</u> .....	167.
6.4.	<u>AZOOSPERMIA</u> .....	174.
6.5.	<u>ASPERMIA</u> .....	177.
6.6.	<u>ANOMALIAS DEL ESPERMOGRAMA</u> .....	178.
6.6.1.	Oligozoospermia .....	178.
6.6.2.	Astenozoospermia .....	178.
6.6.3.	Teratozoospermia .....	179.

OBJETIVOS

7. OBJETIVOS ..... 186.

## MATERIAL Y METODOS

8. MATERIAL Y METODOS .....	188.
8.1. <u>MATERIALES Y APARATOS</u> .....	188
8.1.1. Materiales .....	188.
8.1.2. Aparatos .....	188.
8.2. <u>REACTIVOS</u> .....	189.
8.3. <u>MEDIOS DE CULTIVO</u> .....	190.
8.4. <u>MUESTRAS</u> .....	191.
8.5. <u>OBTENCION DE LA MUESTRA</u> .....	192.
8.6. <u>ANALISIS DE LAS MUESTRAS: ESPERMOGRAMA</u> ....	195.
8.6.1. Características Físicas .....	195.
8.6.1.1. Licuefacción .....	195.
8.6.1.2. Color .....	196.
8.6.1.3. Volumen .....	196.
8.6.1.4. Viscosidad .....	197.
8.6.1.5. pH .....	198.
8.6.1.6. Cristales .....	198.
8.6.2. Características Biológicas .....	199.
8.6.2.1. Concentración .....	199.
8.6.2.2. Movilidad .....	202.
8.6.2.3. Test de Baker .....	204.
8.6.2.4. Vitalidad .....	205.
8.6.2.5. Aglutinación .....	206.
8.6.2.6. Células de la espermatogénesis .....	208.
8.6.2.7. Células blancas sanguíneas .....	208.

8.7. <u>MORFOLOGIA: ESPERMOCITOGRAMA</u> .....	210.
8.8. <u>HOS TEST (HIPO-OSMOTIC SWELLING-TEST)</u> .....	213.
8.8.1. Solución hipo-osmótica .....	213.
8.8.2. Método práctico del HOS-Test .....	213.
8.8.3. Cambios morfológicos del espermatozoide tras HOS-Test .....	214.
8.9. <u>TECNICA DEL SWIM UP</u> .....	215.
8.10. <u>PROTOCOLO OPERATIVO</u> .....	216.
8.11. <u>METODOS ESTADISTICOS</u> .....	222.
8.11.1. Calculo de la Media y de la Varianza .....	222.
8.11.2. Comparación de dos medias de muestras independientes .....	222.
8.11.3. Comparación de dos medias de muestras apareadas .....	225.
8.11.4. Test de Wilcoxon para muestras apareadas .	226.
8.11.5. Regresión y correlación .....	226.

**RESULTADOS**

9. RESULTADOS ..... 228.

**DISCUSION**

10. DISCUSION ..... 294.

**CONCLUSIONES**

11. CONCLUSIONES ..... 315.

**BIBLIOGRAFIA**

12. BIBLIOGRAFIA ..... 318.

INTRODUCCION

1. APARATO GENITAL MASCULINO

Dentro del conjunto de elementos que constituyen el aparato genital masculino sólo vamos a describir aquellos órganos y estructuras que van a participar en la formación, maduración y emisión de los diferentes constituyentes del esperma: testículo, epidídimo, canal deferente, vesícula seminal, próstata, canal eyaculador y pene.

## 1.1 TESTICULO

### 1.1.1 Anatomía

Organo par de aspecto glandular, situado debajo del pene, en la parte anterior de la región perineal. Cada testículo está situado dentro del escroto, uno a cada lado de un tabique que divide la cavidad escrotal en dos mitades.

Los testículos proceden de una proliferación celómica de la cara interna del mesonefros. Los testículos permanecen en situación intra-abdominal hasta el 6º mes de la vida fetal, al 8º mes migran hacia el escroto para lo cual es necesaria la integridad funcional del eje hipotálamo-hipófisis (Rajfer y Walsh, 1.977).

Los testículos están suspendidos del extremo inferior del cordón espermático y desprovistos de adherencias en la mayor parte de su superficie exterior, lo que les proporciona una gran movilidad. Tienen forma ovoide, aplanados

en sentido transversal, de talla variable, aunque sus dimensiones más frecuentes son de 5 cm de eje mayor por 3 cm de eje menor y de 2,5 cm de espesor. Están recubiertos en su mayor parte por la fascia visceral de la vaginal, siendo extravaginales los extremos posteriores en relación con las tunicas vasculares del cordón y el conducto deferente. El borde postero-superior (dorsum testis) es recto, cubierto en toda su longitud por el epidídimo con el cual se adhiere íntimamente en sus dos extremos y del que está separado en su parte media por un fondo de saco de la serosa vaginal, constituyendo el hilio del testículo por el que pasa el paquete neurovascular.

La cobertura más exterior de cada testículo consiste en una cápsula gruesa, rígida, fibrosa y blanca, llamada cubierta albugínea, la cual rodea sucesivamente primero al testículo propiamente dicho (albugínea testicular) y segundo al epidídimo (albugínea epididimaria). La albugínea constituye una delgada cápsula que no se puede dilatar ya que cualquier inflamación podría producir un peligro isquémico a los elementos espermatoogénicos del interior de los testículos.

En la parte media del borde postero superior del testículo, la albugínea presenta un engrosamiento considerable, denominado cuerpo de Highmore, de forma prismática triangular, de estructura esponjosa. De sus vértices y de sus caras laterales parten un sistema de laminillas y tabiques, que se dirigen en sentido radiado

hacia la periferia del testículo y que se implanta, por otra parte, en la superficie de la albugínea, constituyéndose un gran número de departamentos de diferentes tamaños, que tienen siempre la forma cónica o piramidal. En estas subcavidades es donde se encuentra el tejido propio del testículo. No se encuentran en el testículo lobulillos que estén perfectamente aislados unos de otros por tabiques bien individualizados, sino que cada lobulillo comunica con sus adyacentes (Lauth, 1.830).

Los túbulos seminíferos llenan los espacios descritos anteriormente, circunscritos por los tabiques de la albugínea. De este modo se reparten en gran número de pequeñas masas, más o menos independientes, que toman el nombre de lóbulos espermáticos. Entre los túbulos existen numerosas anastomosis inter-tubulares o pericanaliculares. (Gray's Anatomy, 1.973).

A nivel de su vértice, los túbulos seminíferos se unen ampliamente entre sí y, penetran en el cuerpo de Highmoro, formando en el interior del mismo una apretada red, denominada rete testis. Antes de penetrar en dicho cuerpo se forma un conducto colector único, llamados conductos rectos (ductili recti).

Desde un punto de vista histológico, los túbulos seminíferos están constituidos por una pared conjuntiva tapizada por una masa protoplasmática denominada sincitio de Sertoli, en la que las células espermáticas experimentan

su evolución para constituir los espermatozoides.

Los conductos rectos se van uniendo unos a otros y forman en su conjunto una especie de red (red de Haller). Esta red se sitúa en la parte inferior del cuerpo de Highmore.

Al igual que los conductos rectos, los conductos que forman la red de Haller carecen de pared propia. Están excavados en la masa fibrosa del cuerpo de Highmore y poseen un revestimiento epitelial constituido por células cilíndricas.

La red testicular de Haller da origen, en su parte anterior y superior, a cierto número de conductos llamados conos eferentes o vasos eferentes, que se dirigen de abajo arriba, perforan la albugínea a nivel de la extremidad superior del borde postero-superior del testículo y penetran en la cabeza del epidídimo, desembocando en la porción inicial del conducto epididimario.

Histológicamente se componen de dos capas, una externa de naturaleza muscular, y otra interna, epitelial, festoneada, que comprende células altas y bajas. Estas células epiteliales parecen dotadas de propiedades secretoras. La presencia de elementos musculares alrededor de los canales que forman el rete testis dan como resultado la expulsión activa del esperma de los testículos. De esta forma, las alteraciones del rete testis pueden afectar la fertilidad del individuo (Guerin et al., 1.981 (a)).

### 1.1.2 Vascularización e inervación

La vascularización arterial del testículo es de tipo terminal, asegurada principalmente por la arteria espermática y accesoriamente por la arteria deferencial y la arteria funicular (Alexandre et al., 1.966).

La arteria espermática deriva de la aorta abdominal a nivel de la L<sub>3</sub>, continúa por el espacio retroperitoneal, penetra en el conducto inguinal que recorre en toda su extensión, para después descender al cordón y alcanzar de este modo el lado interno del epidídimo. Después de originar sus ramas epididimarias, se divide en dos arterias testiculares que penetran en el testículo para recorrer la cara profunda de la albugínea. Allí se dividen y van a formar un redcilla centripeta, siguiendo los tabiques intertubulares en dirección al cuerpo de Highmore (Kormanó y Nordmark, 1.977).

La arteria deferencial, rama de la vesículo-deferencial, llamada también vesical inferior, se distribuye por la porción inicial del conducto deferente, luego remonta a lo largo del epidídimo por la parte posterior y desemboca abiertamente en la arteria epididimaria posterior, rama de la arteria espermática, por el polo inferior del testículo.

La arteria funicular, rama de la epigástrica, inmediatamente después de su origen, se dirige al cordón, al que deriva algunas colaterales delgadas y acompaña hasta su terminación, finalmen-

te se anastomosa a la arteria espermática y a la arteria deferencial.

Las venas del testículo o venas espermáticas, nacen de las redes capilares, y son muy variables en sus dimensiones y trayectos. Unas se dirigen hacia el cuerpo de Highmore (venas centrales o centrípetas) y otras periféricas (venas centrífugas), hacia la perifería de los túbulos espermáticos, hacia la cara profunda de la albugínea donde se reune, siendo visibles por transparencia. En la cara interna del testículo se reagrupan en una red formando, con las venas epididimarias, el plexo pampiniforme o plexo espermático anterior.

El drenaje linfático del testículo se hace a lo largo de la túnica vascular que recorre la túnica albugínea. Los vasos linfáticos se originan en el tejido intersticial por un sistema de anchos tubos dispuestos en red alrededor de la túbulos seminíferos. Estos vasos están desprovistos de pared propia y presentan el endotelio característico de origen linfático. El drenaje se dirige hacia los ganglios latero-aórticos tras la bifurcación aórtica hasta el pedículo renal. A la derecha, el drenaje se hace hacia los gánglios pre-aórticos, inter-aórticos-cava pre- y latero-cava hacia debajo de la vena renal derecha. Existe una vía accesoria hacia los gánglios ilíaco-externa en la bifurcación ilíaca primitiva. A la izquierda, el drenaje se hace hacia los gánglios latero-aórticos y pre-aórticos, bajo la vena renal izquierda.

Existen numerosas anastomosis entre el drenaje izquierdo y derecho.

La inervación testicular procede de dos plexos nerviosos, el plexo espermático (para-simpático) procedente del ganglio semilunar y el nervio inter-mesentérico que sigue la arteria espermática, que le sirve de sostén, y se dirige a la vez al testículo y a una parte del epidídimo; y el plexo deferencial, que con la arteria deferencial acompaña al conducto deferente, proviene del plexo hipogástrico y sigue la arteria deferencial y la deferente (simpático), distribuyéndose exclusivamente por el epidídimo.

## 1.2 EPIDIDIMO

### 1.2.1 Anatomía

En el límite postero-lateral de cada testículo está situado el epidídimo. Es un cuerpo alargado de delante atrás que descansa sobre el testículo. Está formado por pequeños tubos envueltos por un tejido conectivo móvil. Podemos considerar en él, de delante atrás, tres zonas, una cabeza, un cuerpo y una cola.

El epidídimo tiene una longitud de unos 5 cm y de 1 a 1,5 cm de ancho. Está recubierto por la túnica vaginal, salvo la porción distal, cola del epidídimo y el asa epidídimo-deferente, que son extravaginales.

Cabeza del epidídimo: Es redondeada, lobulada y reposa sobre el polo antero-superior del testículo donde está firmemente unida por una albugínea común.

Cuerpo del epidídimo: De forma alargada sobre el testículo, es más móvil y está separado de él por un repliegue vaginal.

Cola del epidídimo: La cola y el asa epidídimo-deferente son zonas de transición entre el epidídimo y el conducto deferente.

Estructuralmente el epidídimo está constituido por canales eferentes y un canal epididimario. Los canales eferentes están envueltos por una albugínea muy delgada, continuación de la albugínea testicular a nivel de la cabeza y de la cola del epidídimo.

La cabeza del epidídimo está formada por una pequeña parte de la porción inicial del conducto epididimario y, sobre todo, de la yuxtaposición de los canales eferentes, que le dan su aspecto lobulado.

El canal epididimario es el conducto colector común de los canales eferentes. Por el polo superior del testículo emergen de 15 a 20 conductos eferentes, desembocando cada uno de ellos en el extremo superior del conducto epididimario.

El conducto epididimario nace en la

cabeza del epidídimo y se extiende hasta la cola, donde toma el nombre de conducto deferente. Su longitud es de 6 a 7 metros, apelotonándose sobre sí mismo, ocupando sólo una longitud de 5 cm. Su diámetro crece gradualmente, al contrario que los vasos eferentes, pasando de 0,4 mm en la cabeza del epidídimo hasta llegar a 0,8 mm a nivel de la cola. Este aumento de calibre se debe sobre todo al aumento de espesor de la pared muscular. La transición entre el conducto epididimario y el deferente es progresiva con la aparición de la estructura muscular de este último.

Histológicamente se compone, como los canales eferentes, de dos capas concéntricas, una externa de naturaleza conjuntivo-muscular, con dos planos de fibras superficiales (fibras longitudinales) y profundas (fibras circulares); y otra cara interna de naturaleza epitelial, provista de cilios vibrátiles y dotada de funciones secretoras.

#### 1.2.2 Vascolarización e inervación

La vascularización arterial del epidídimo está asegurada en su parte proximal por las ramas epididimarias anterior y posterior derivadas de la arteria espermática. La porción distal del epidídimo está vascularizada por la arteria deferente. Ambos sistemas vasculares están ricamente anastomosados.

De la arteria superficial se desarrollan

arteriolas que penetran perpendicularmente en le epidídimo, son espirales, particularmente en los sujetos jóvenes (Kormano y Reijonen, 1.976), terminando en el lecho capilar peritubular y formando una rica redcilla capilar subepitelial hormono-dependiente (Clavert et al., 1.98i).

Las venas tienen la misma disposición que las arterias. Las venas de la cabeza del epidídimo se reúnen con las venas testiculares para formar el plexo venoso espermático anterior. Las venas del cuerpo y de la cola del epidídimo forman el plexo venoso posterior que drena en la vena epigástrica.

Los vasos linfáticos del epidídimo drenan en los gánglios lumbares, gánglios iliácos externos e hipogástricos.

La inervación del epidídimo se debe al plexo inter-espermático deferente situado en la cara interna del epidídimo, que resulta de la anastomosis del plexo deferente con el plexo espermático.

### 1.3 CONDUCTO DEFERENTE

#### 1.3.1 Anatomía

El conducto deferente es poderosamente contractil y tiene una gruesa envoltura muscular. Su epitelio, como en el conducto epididimario, es ciliado pero de densidad menor. El conducto

se extiende desde la cola del epidídimo hasta el cuello de la vesícula seminal.

Embriológicamente el conducto deferente proviene, como la cola del epidídimo y la vesícula seminal, del canal de Wolff.

El conducto deferente es un tubo regular cilíndrico, salvo en su terminación donde aumenta de calibre para formar la ampolla deferencial. La longitud del canal es aproximadamente de 35 a 45 cm, y su diámetro es 2 a 2,5 mm, que va aumentando gradualmente hasta su extremo terminal, donde su diámetro es triplicado o incluso cuadruplicado.

La consistencia del conducto deferente es sólida y característica, debida al notable espesor de sus paredes, por lo que su ausencia y su agenesia es fácilmente reconocible al examen clínico; malformación que se asocia frecuentemente a una agenesia de la cola del epidídimo y de la vesícula seminal.

La luz del conducto deferente es muy pequeña, 0,8 mm de diámetro, festoneada, y su pared cuenta con 3 túnicas concéntricas: túnica adventicia, túnica muscular y túnica mucosa. La túnica adventicia alberga el paquete neurovascular. La túnica muscular está formada por fibras lisas, distinguiéndose una capa longitudinal interna, una capa media circular y una capa longitudinal externa. La túnica mucosa forma pliegues salientes.

En el conducto deferente podemos distinguir varios segmentos:

- Porción yuxtaepidídimo-testicular.
- Porción funicular.
- Porción inguinal.
- Porción pélvica.

Porción yuxtaepidídimo-testicular: El conducto deferente se continua con el canal epididimario contorneado, sinuoso, aplanado sobre la cara interna del testículo. Esta porción forma con la cola del epidídimo el asa epidídimo-deferente.

Esta porción es una región muy rica en elementos vasculares, anastomosis de las arterias deferentes, funiculares y epididimarias, y da origen al plexo venoso posterior.

Porción funicular: Esta porción es vertical a la cara interna del cuerpo del epidídimo. Junto con los otros elementos del cordón espermático sube por él, envuelto en la capa fibrosa profunda.

En el cordón espermático, el conducto deferente se relaciona hacia adelante, con el ligamento de Cloquet, la arteria espermática y el plexo venoso anterior; por detrás, con la arteria deferente y el plexo venoso posterior.

Porción inguinal: En el canal inguinal el conducto deferente se relaciona con las ramas

genitales de los nervios abdominales-genitales y los nervios genito-anales.

En el orificio profundo del canal inguinal, los elementos del cordón espermático se separan, el pedículo espermático recorre la cara anterior del músculo psoas, el plexo venoso posterior desemboca en la vena epigástrica, el canal deferente se desplaza hacia fuera, cruza la arteria epigástrica, después los vasos ilíacos y desciende por la pelvis.

Porción pélvica: En la porción pélvica, el canal deferente recorre la cara lateral de la vejiga por debajo del peritoneo, pasando a la cara posterior de la vejiga, después se alarga y se dilata para formar la ampolla deferente.

### 1.3.2 Vascularización e inervación

El canal deferente está vascularizado por la arteria deferente, rama de la arteria vesículo-deferencial. La arteria deferencial íntimamente ligada al conducto deferente continúa hasta la cola del epidídimo, donde se anastomosa a la arteria epididimaria.

Las venas deferenciales drenan en las venas del cordón espermático y en el plexo vesico-prostático por la porción terminal.

El drenaje linfático del deferente es bipolar, con colectores linfáticos que se vacían en un extremo en los ganglios linfáticos ilíacos externos y en el otro extremo en los ganglios hipogástricos.

El plexo nervioso deferencial (simpático) depende del plexo hipogástrico, las fibras nerviosas siguen al canal deferente y van a unirse con el plexo nervioso espermático para constituir el plexo inter espermático deferencial.

#### 1.4 VESICULAS SEMINALES

##### 1.4.1 Anatomía

Organo par que secreta el líquido seminal, constituyente del esperma. La confluencia de la vesícula seminal con la ampolla deferencial homóloga constituye el canal eyaculador.

Las vesículas seminales son piriformes, abolladas, aplanadas de delante atrás compuestas de un fondo, un cuerpo y una cola.

El volumen de la vesícula varía según el período de actividad genital, así pues, están poco desarrolladas antes de la pubertad y aumentan su volumen después del desarrollo genital, para adquirir su mayor capacidad en la edad adulta. Sus medidas aproximadas son de 5 a 10 cm de longitud por 30 mm de anchura máxima.

Las vesículas se sitúan en la excavación

pélvica, por debajo y detrás de la vejiga, delante del recto, por encima de la próstata y por debajo del fondo de saco de Douglas, siendo pues accesible por tacto rectal.

Cada vesícula seminal consta de un conducto principal, de trayecto ondulado y de longitud variable, en el cual desembocan diversos conductos accesorios, la totalidad de los conductos se hallan fuertemente conexiados mediante tejido conjuntivo, formando una sola masa. La vesiculografía permite demostrar la variedad del aspecto del canal vesicular (Boreau, 1.974; Aboul-Azm, 1.979). La cavidad de las vesículas seminales está muy tabicada, se descompone en multitud de celdas, todas ellas comunican entre sí, pero siempre muy irregulares en lo concerniente a la forma orientación y dimensiones. Sus paredes, como las de la ampolla deferencial se componen de tres túnicas concéntricas que son, de fuera adentro: Túnica celular, muscular y mucosa.

Túnica celular: Relativamente delgada, constituye la adventicia de la vesícula; es muy rica en vasos y nervios.

Túnica muscular: Constituida por fibras lisas dispuestas en tres planos, el plano medio con fibras circulares y los planos interno y externo con fibras longitudinales.

Túnica mucosa: De 1 mm de espesor aproximadamente, se compone como todas las mucosas de un corión y una capa epitelial.

Corión: Delgado y formado esencialmente por fascículos de tejido conjuntivo con los cuales se mezclan gran número de fibras elásticas.

Capa epitelial: Se compone esencialmente por un estrato regular de células cilíndricas, constituyendo la parte secretora de las vesículas seminales.

El líquido secretado por las vesículas seminales como también por las ampollas deferenciales parece desempeñar un triple papel:

- Diluir el esperma y favorecer así su progresión, bien en el conducto urogenital del hombre o bien en el aparato genital de la mujer.

- Cubrir las necesidades nutritivas de los espermatozoides durante el tiempo que hallan de permanecer en las vesículas seminales.

- Mantener la vitalidad de los espermatozoides.

En el epitelio de los conos eferentes, del conducto epididimario y del deferente, se han observado fenómenos secretorios análogos a los que presentan las vesículas seminales, por lo que se deduce que el aparato excretor del esperma no es sólo un conducto vector, sino también un aparato glandular cuyas funciones consisten en producir continuamente sustancias destinadas a la nutrición y al desarrollo de los espermatozoides. Al salir de los conductos testiculares el espermatozoide posee un protoplasma diferenciado en su mayor parte en un órgano del movimiento. El aporte de sustancias nutritivas

es proporcionado por las secreciones del epitelio del aparato excretorio, que se convierte de esta forma en una especie de aparato nutritivo para el espermatozoide.

El contenido de las vesículas seminales es por regla general, de consistencia cremosa semilíquida, sin viscosidad propiamente dicha, a veces algo grumosa o granulosa al tacto, o bien de consistencia de jalea. Su color varía según los casos, puede ser gris blanquecino, blanco amarillento o grisáceo. La constitución del líquido seminal normal es la siguiente:

- Espermatozoides en menor o mayor número
- Leucocitos aislados o bien en masas
- Gránulos de hemoglobina amorfa
- Granulaciones de grasa
- Concreciones redondeadas más o menos irregulares

#### 1.4.2 Vascularización e inervación

Las arterias dependen de la arteria vesículo-deferencial, rama de la arteria hipogástrica. Ramas de la arteria hemorroidales medias participan también en la vascularización de las vesículas seminales.

El flujo venoso drena en el plexo venoso próstato-vesical.

Los colectores linfáticos convergen hacia los ganglios ilíacos externos e hipogástricos.

La inervación depende del plexo nervioso hipogástrico. Las fibras nerviosas forman una redcilla muy densa alrededor de la vesícula seminal. Una rama nerviosa se desprende para seguir el trayecto del canal deferente e inervar al epidídimo. La contracción de las vesículas seminales, motor de la emisión del espermatozoides durante la eyaculación, depende de la inervación por el sistema orto-simpático.

## 1.5 PROSTATA

### 1.5.1 Anatomía

La próstata es un órgano impar y medio, de estructura glandular, encerrado en una envoltura que se contrae durante la eyaculación. Está situada en la encrucijada urogenital, en estrecha relación con la uretra, los canales eyaculadores y la utrícula prostática.

En el recién nacido, la glándula prostática, pesa alrededor de 4 g, y en la pubertad llega a pesar unos 20 g, peso que se mantiene hasta los 50 años aproximadamente, a partir de esta edad el desarrollo es desigual.

La próstata tiene forma de cono, aplastada de delante hacia atrás, su vértice redondeado está dirigido hacia abajo y se halla situado encima del diafragma urogenital. La cara anterior de la próstata situada por detrás de la porción inferior de la sínfisis del pubis, de la que

está separada por el plexo pudendo; sus caras laterales limitan con los bordes interno de los músculos elevadores del ano y con los plexos vesicales; la cara dorsal o posterior está en contacto con la cara anterior del recto; y la cara superior, conocida como base, es la más extensa y se relaciona con la vejiga.

Anatómicamente se distinguen: una glándula caudal y otra glandula craneal, distinguiéndose a su vez entre ellas un segmento intermedio. En la glándula craneal predomina el elemento muscular sobre los glandulares de tipo urinario; en la glándula caudal, por el contrario, predomina el elemento glandular sobre los musculares de tipo genital (Gil Vernet, 1.953).

Glándula caudal: Sus acinos glandulares se abren en la uretra por debajo del plano horizontal pasando por la cima del veru montano. Podemos distinguir en la glándula caudal tres lóbulos; uno anterior, en la cara anterior de la uretra inframontanal; y dos lóbulos posteriores, formando casi la totalidad de la masa prostática caudal. Estos dos lóbulos están unidos por detrás formando la comisura glandular retroespermática (Gil Vernet, 1.953).

Glándula craneal: Sus acinos glandulares se abren en la uretra, por encima del plano horizontal pasando por la cima del veru montano. La glándula craneal está constituida por acinos extraesfinterianos agrupados en tres lóbulos, un lóbulo medio pre-espermático encima y delante

de los canales eyaculadores que forman la comisura pre-espermática; y dos lóbulos laterales infraesfinterianos, reunidos por detrás del lóbulo medio, (delante de la uretra no se unen) estando separados por la comisura muscular anterior. Los tres lóbulos craneales forman un embudo abierto hacia delante que rodea las caras postero laterales de la uretra supramontanal, las que están separadas por el tejido fibromuscular esfinteriano (Gil Vernet, 1.953).

Glándula intermedia: La glándula intermedia está limitada por la porción ascendente de la próstata caudal y por dentro de los labios laterales de la glándula craneal; contribuye a formar por detrás, la comisura pre-espermática. Los conductos excretores de los acinos de la glándula intermedia, se abren sobre la cara lateral del veru montano, por encima del orificio de la utrícula (Gil Vernet, 1.953).

Las secreciones de la próstata, expulsadas durante la eyaculación, entran en la uretra prostática por una serie de pequeños conductos que drenan la parte principal de la glándula y también las áreas mucosa y submucosa de la próstata que circunda la uretra. A menudo, se pueden encontrar en los acinos prostáticos, concreciones o cálculos que pueden ser vistos ocasionalmente en el semen. Al igual que las vesículas seminales, la próstata tiene una contribución importante en el semen.

### 1.5.2 Vascularización e inervación

Las arterias de la próstata son poco voluminosas, proceden de la hemorroidal media, de la pudenda interna y de la genito-vesical, rama de la hipogástrica, que se dividirá en la vesículo deferencial y la vesico-prostática. La arteria hemorroidal media y la pudenda interna van a la parte postero lateral de la glándula. La arteria vesico-prostática se desdobra en vesical inferior, que suministra ramas a la base de la próstata, y la prostática, que suministra ramas al hilio, descendiendo y terminando en el pico prostático; de esta arteria se desprenden ramas que bajan por las caras laterales de la glándula, y de aquí numerosas ramitas que penetran en el parénquima glandular siguiendo los tabiques que lo fragmentan.

El sistema venoso prostático tiene íntimas conexiones con las venas pélvicas viscerales y parietales. Las venas emergen de toda la superficie de la próstata, pero principalmente de las caras laterales, verdadero hilio vascular. Las más voluminosas son latero-prostáticas y llegan rápidamente a los grandes plexos latero-glandulares y uniéndose a las venas vesículo-deferenciales, constituyen con las vesicales la vena genito-vesical de Farabeuf, que desemboca en la vena hipogástrica.

El sistema linfático prostático nace alrededor de las paredes de los fondos de saco glandulares en forma de plexos periacinosos;

se dirigen hacia la superficie y forman la red periprostática. Terminando unos en los ganglios de la cadena ilíaca externa (linfáticos ascendentes), otros en los ganglios laterales y los ganglios hipogástricos medios (linfáticos laterales), y un tercer grupo, en los ganglios sacros laterales. (linfáticos posteriores).

Los nervios prostáticos emergen del ganglio hipogástrico, avanzando al lado de las arterias aisladamente, y ofrecen cierto número de ganglios minúsculos, unos sensitivos y secretorios, hacia los elementos glandulares; y otros motores, destinados a las fibras musculares del estroma y de los vasos.

## 1.6 CANAL EYACULADOR

### 1.6.1 Anatomía

El canal eyaculador se forma a cada lado en la cara vesical de la próstata, en un ángulo muy agudo, a expensas de la unión de la extremidad inferior de la ampolla del conducto deferente con el conducto excretor de la vesícula seminal.

El canal eyaculador es un conducto muy estrecho que se extiende, en la próstata, hacia abajo y adelante, y está en relación íntima con el utrículo prostático, vestigio de la parte distal del canal de Müller, y desemboca en la uretra a nivel de la parte superior del cuello seminal, mediante un fino orificio en forma

de hendidura. La función del canal eyaculador consiste en la conducción del esperma al canal de la uretra.

## 1.7 URETRA PROSTATICA

### 1.7.1 Anatomía

La porción inicial de la uretra, entre la cola vesical y la uretra membranosa, es la uretra prostática. Participa en la fisiología de la micción y en la fisiología de la eyaculación.

En la uretra prostática podemos distinguir dos porciones: uretra submontanal y uretra sobremontanal.

Uretra submontanal: Se presenta sobre una capa horizontal dispuesta en herradura con concavidad posterior, entre el veru montano y la uretra membranosa. Está rodeada por la próstata caudal y sus paredes anterior y lateral están formadas por el arco elástico submontanal que juega un papel importante en el mecanismo de la continencia urinaria, permitiendo una oclusión pasiva durante la noche. El arco elástico submontanal se prolonga a nivel de la uretra membranosa, donde su acción se mejora con células del esfínter estriado.

Uretra sobremontanal: Prolonga la cola vesical, su mucosa está muy vascularizada y envuelta por los tres lóbulos de la próstata

craneal, siendo sus paredes igualmente musculares, formadas por el esfínter interno liso y las fibras musculares vesículo-uretrales.

En la uretra prostática reside el aparato esfinteriano que preside a la micción y a la continencia urinaria, y también los elementos motores necesarios para la eyaculación.

## 1.8 GLANDULAS BULBO-URETRALES

### 1.8.1 Anatomía

Las glándulas bulbo-uretrales (glándulas de Cowper) son dos pequeñas glándulas lobuladas que segregan moco y se abren dentro de la uretra membranosa. Situadas simétricamente a cada lado de la línea media, detrás de la base del bulbo, en el espesor de la aponeurosis perineal media.

Cada glándula da origen, en su parte exterior, a un conducto excretorio encargado de conducir a la uretra el producto de secreción glandular. Son arracimadas y están constituidas por un estroma conjuntivo muscular y acinos secretorios tapizados por epitelio uniestratificado formado por células cilíndricas.

La secreción bulbo-uretral es transparente, viscosa y de naturaleza albuminoide, siendo su función la aglutinación de los espermatozoides para favorecer su adherencia a la pared de la vagina.

### 1.8.2 Vascularización e inervación

Las arterias proceden de la bulbo-uretral, rama de la pudenda interna. Las venas van al plexo de Santorini, y de allí a las venas hipogástricas. Los vasos linfáticos van hacia los ganglios hipogástricos. Los nervios proceden del pudendo interno, rama del plexo sacro.

## 1.9 GLANDULAS URETRALES

### 1.9.1 Anatomía

Las glándulas uretrales son unas pequeñas glándulas secretoras de moco que se abren en la parte superior de la uretra del pene y son particularmente numerosas en una dilatación de la uretra que se produce al final de ésta, llamada la fosa navicularis.

## 1.10 PENE

### 1.10.1 Anatomía

El pene es el órgano de la cópula en el macho. Su función es, en el acto del coito, llevar el esperma a la parte alta de la vagina de la hembra, favoreciendo así la fecundación del ovocito.

El pene está formado esencialmente de cuerpo erectil, cuerpo cavernoso y cuerpo esponjoso

que le dan la rigidez necesaria para que la erección permita la penetración. La uretra peneal, la vía seminal y la vía urinaria, recorren el pene en el seno del cuerpo esponjoso.

Se consideran en el pene, una parte media o cuerpo y dos extremidades, una anterior y otra posterior.

Cuerpo: Tiene forma de cilindro algo aplanado de delante atrás.

Extremidad posterior: Raiz del pene, profundamente situado en el espesor del perineo, fijado a la pared anterior de la pélvis, por una parte, por la inserción de los cuerpos cavernosos en las ramas isquiopúbicas y, por otra parte, por medio de un ligamento especial, el ligamento suspensorio del pene. El ligamento suspensorio del pene se compone casi exclusivamente de fibras elásticas y la mayor parte de éstas se fijan en la cubierta fibrosa del pene. La raiz del pene está siempre sujeta a la pared anterior de la pélvis por un sistema de fascículos conjuntivos, cuyo conjunto constituye el ligamento fibroso del pene de Iuschka.

Extremidad anterior: Constituida por el glande, el cual se halla más o menos cubierto por un repliegue tegumentario, mitad mucoso, mitad cutáneo, llamado prepucio. El glande es un abultamiento conoide formado por un espesamiento del cuerpo esponjoso de la uretra; en su vértice presenta una hendidura vertical de 6 a 8 mm.

de altura, es el meato urinario; en su base se forma alrededor del cuerpo un relieve circular que constituye la corona del glande; la superficie exterior es toda lisa y uniforme; su cara inferior presenta en la línea media, un surco longitudinal que empieza por detrás del meato urinario, ensanchándose hasta el surco balano prepucial. En este surco se inserta un pequeño repliegue mucoso de forma triangular que va a insertarse por otra parte, en el lugar correspondiente del prepucio, ésto es el frenillo o filete.

#### 1.11 ORGANO ERECTIL DEL PENE

##### 1.11.1 Anatomía

El órgano eréctil del pene está formado por tres partes: dos cuerpos cavernosos y el cuerpo esponjoso dependiente de la uretra.

Cuerpos cavernosos: Los cuerpos cavernosos ocupan el plano dorsal del pene, tienen forma de cilindro afilado en los dos extremos, adosados en la línea media, desde el perineo hasta la base del glande. Los cuerpos cavernosos se hallan fusionados entre sí, hasta el punto de que sus paredes constituyen un solo tabique, el septum penis; este tabique presenta huecos a través de los cuales los dos cuerpos cavernosos se comunican entre sí.

La cara superior o dorsal de los cuerpos cavernosos está surcada por un canal medio y anteroposterior es el canal supra-cavernoso,

por donde circula la vena dorsal profunda, acompañada de la arteria dorsal y el nervio dorsal.

En la cara inferior de los cuerpos cavernosos está el canal infra-cavernoso, ocupado por el cuerpo cavernoso. Las caras laterales de los cuerpos cavernosos son convexas y regularmente redondeadas, rodeadas de abajo arriba por las ramas radicales de la vena dorsal profunda del pene.

El cilindroide formado por los cuerpos cavernosos, en su extremo posterior, al llegar a nivel de la sínfisis del pubis, se divide en dos ramas divergentes, que constituye sus raíces. Estas van a insertarse sólidamente sobre el brazo isquiopubiano correspondiente, ramas descendentes del pubis, por un tejido conjuntivo muy denso que constituyen los ligamentos pubio-cavernosos.

El extremo anterior de los cuerpos cavernosos termina en una especie de punta roma que constituye sus vértices, separados el uno del otro por un pequeño ángulo diedro abierto hacia adelante, ocupado por el ligamento anterior de los cuerpos cavernosos.

La estructura de los cuerpos cavernosos está formada por una cubierta propia, un sistema de trabéculas y un sistema de aréolas:

- Cubierta propia o albugínea: es una membrana blanquecina, de consistencia fibrosa

muy extensible, muy elástica y muy resistente. Se compone de fascículos conjuntivos mezclados con fibras elásticas; los fascículos conjuntivos están dispuestos en dos planos, un plano superficial que comprende fascículos longitudinales, y un plano profundo por fibras circulares; las fibras elásticas, muy numerosas, forman entre sí una red muy apretada.

- Sistema trabecular: de la cara interna de la albugínea se desprenden numerosas prolongaciones que dividen al espacio cilíndrico del cuerpo cavernoso en compartimentos pequeños o areolas. Estas trabéculas están constituidas por tejido conjuntivo elástico tapizado por fibras musculares lisas.

- Sistema aréolar: Las areolas son los compartimentos que existen entre las trabéculas que están recubiertas de endotelio, que se asemejan a senos venosos, los cuales por un mecanismo nervioso de tipo reflejo hace que se ingurgiten, adquiriendo los cuerpos cavernosos la dureza necesaria para la penetración en el momento del coito. Todas las areolas comunican entre sí.

Cuerpo esponjoso: El cuerpo esponjoso es un órgano impar y medio, situado en el plano inferior del pene que ocupa el conducto antero-posterior y medio y forma los dos cuerpos cavernosos.

Hacia adelante, el cuerpo esponjoso, constituye el glande, cofia del extremo distal de los cuerpos cavernosos que ya ha sido descrito anteriormente.

Estructuralmente, el cuerpo esponjoso presenta una estructura análoga a la de los cuerpos cavernosos; una cubierta propia o albugínea que contiene en su interior un tejido eréctil; pero su albugínea es más delgada y más rica en fibras elásticas que la de los cuerpos cavernosos; igualmente sus trabéculas son mucho más delicadas y sus areolas mucho menores.

#### 1.11.2. Vascularización e inervación

La vascularización de los órganos eréctiles está asegurada por la arteria pudenda interna, que nace del tronco posterior de la arteria hipogástrica, desciende verticalmente a lo largo de la pared pelviana, continúa hacia atrás de la espina isquiática y penetra en la fosa isquio-rectal, para llegar al fin a su segmento perineal anterior, unido a la cara interna del brazo isquio-pubiano. Su trayecto termina pasando bajo la ogiva pubiana y toma el nombre de arteria peniana.

De la arteria pudenda interna nacen numerosas colaterales de su segmento perineal: la arteria perineal superficial muy sinuosa; la arteria bulbar o transversa profunda del perineo; la arteria uretral o esponjosa.

La arteria peniana termina en dos ramas, la arteria dorsal del pene, que recorre la cara superficial de cada cuerpo cavernoso; y la arteria cavernosa, que penetra el cuerpo cavernoso y lo recorre en su centro, dando las ramas arteriales hélices en las areolas, que desembocan en las anales.

Se han descrito dos sistemas de derivación arterio-venosa, uno extra cavernoso superficial, venas superficiales que se originan en las cubiertas del pene e incluso del prepucio; y otro sistema intra cavernoso profundo, venas profundas que proceden de los órganos eréctiles.

El sistema venoso es complejo, dominado por la vena dorsal profunda; se desprende del sistema retro-balánico y drena la mayor parte de la sangre del cuerpo cavernoso. Existen una veintena de válvulas sobre su trayecto que aseguran un sistema de estancamiento en el momento de la erección. Tiene anastomosis con la vena dorsal superficial y su drenaje va principalmente al plexo de Santorini.

Igual que en el sistema venoso se describen dos sistemas linfáticos, uno superficial que procede de los tegumentos, y otro profundo que procede de las partes subtegumentarias del pene.

La inervación del pene es triple: somática, simpática y para-simpática; siendo sus plexos encefálicos y medulares. Del plexo sacro (S<sub>2</sub>-S<sub>4</sub>) derivan el nervio pudendo interno (inervación somática) y el nervio erector (inervación para-simpática). Los plexos medulares simpáticos están situados a nivel de la charnela dorso-lumbar (D<sub>12</sub>-L<sub>2</sub>) y están unidos a los órganos eréctiles por la vaina simpática toraco-lumbar procedente del plexo hipogástrico (Krane y Siroky, 1.981). Son nervios sensitivo-motores.

## 1.12. FISIOLOGIA Y HEMODINAMICA DE LA ERECCION

### 1.12.1. Anatomía funcional de la erección

Desde que en 1.952 Conti propusiese una teoría aceptada durante muchos años, se ha investigado bastante sobre el sustrato anatómico de las estructuras peneanas y su funcionalismo en el desarrollo de la erección.

Los conocimientos actuales sobre la respuesta eréctil están basados en investigaciones y observaciones clínicas relativamente recientes:

- Tudorin y Bourmer (1.983), destacan la función de las venas emisarias en el tercio distal de los cuerpos cavernosos en comunicación con la vena dorsal profunda.

- Wagner (1.984), puso de manifiesto la existencia de shunt arteriales entre las arterias cavernosas y el tejido esponjoso que atraviesan la albugínea.

- Goldstein et al. (1.984), resaltan la importancia de la musculatura lisa de los cuerpos cavernosos y definen la existencia de válvulas en las venas del tejido eréctil, sobre todo en las circunflejas y en la vena dorsal profunda (Fitzpatrick, 1.982).

Recientes investigaciones histológicas (Wespes y Schulman, 1.986; Bookstein, 1.987; y Wespes (a), 1.987) confirman estos trabajos, insistiendo sobre la importancia de los elementos musculares en el tejido cavernoso.

El tejido eréctil se presenta como un conjunto de capilares comunicados largamente los unos con los otros, envueltos en un tejido fibromuscular.

La respuesta eréctil es un fenómeno neuro-vascular cuyo mecanismo íntimo, todavía sin aclarar, está controlado por un doble circuito nervioso: cerebro-espinal y vegetativo, estando ambos sistemas en estrecha conexión con los centros superiores cerebrales (Farré Martí, 1.985). El sistema cerebro-espinal participa por medio de las fibras sensitivas del nervio dorsal del pene.

El sistema vegetativo es el principal controlador de la respuesta eréctil y neurológicamente se van a distinguir dos centros medulares bien distintos: las fibras simpáticas y para-simpáticas (Wespes (b), 1.987):

- Centro ortosimpático toraco-lumbar, que controla la erección por estimulación psicógena, está situado en las raíces D<sub>11</sub>-L<sub>2</sub> y el estímulo por influencias psíquicas, percepciones sensoriales y por mecanismos psicoafectivos recopiladas en el S.N.C.

- Centro para-simpático sacro, que controla la erección reflexógena, responde a estímulos aferentes procedentes del nervio pudendo y está localizado a nivel de los segmentos sacros S<sub>2</sub>-S<sub>4</sub>. La vía eferente sigue los nervios erectores derecho e izquierdo.

El plexo hipogástrico inferior recoge las fibras simpáticas y para-simpáticas, produciéndose a este nivel numerosas interconexiones. De este plexo parten los nervios cavernosos y esponjosos. Tanto los nervios simpáticos como los para-simpáticos están distribuidos por los cuerpos cavernosos, el glande y el cuerpo esponjoso. Ambos sistemas constituyen el componente motor de los estados de flacidez o de la erección.

#### 1.12.2 Hemodinámica de la erección

Los estímulos, tanto psicógenos como reflexógenos, evoluciona generalmente de manera sinérgica para producir la erección, aunque funcionalmente pueden ser independientes. La respuesta eréctica es fundamentalmente un fenómeno de vasodilatación del tejido erétil peneano mediado por unas complejas interrelaciones entre el S.N.C. autónomo y somático, los sistemas arterial y venoso y el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal.

La erección peneana se produce por la puesta en marcha de tres hechos hemodinámicos diferenciables, pero en íntima conexión (Lue et al., 1.983; Bondil et al., 1.986; y Wespes (b),

1.987):

-Relajación de la musculatura lisa de los cuerpos cavernosos.

- Dilatación arterial con relleno de los cuerpos cavernosos.

- Disminución o supresión del flujo venoso de salido.

En el estado de tumescencia se produce una relajación de la musculatura lisa intracavernosa, lo que conlleva a una dilatación arterial con aumento del flujo y llenado de los espacios sinusoidales. Disminuye la resistencia periférica a la arteria pudenda interna para permitir el máximo flujo hacia los cuerpos cavernosos, consiguiéndose un aumento de 20 a 50 veces el flujo de las arterias cavernosas y dorsales del pene. Los sinusoides dilatados provocan una compresión de los plexos venosos sobre la albugínea que al alargarse estrangula las venas emisarias, reduciendo el drenaje venoso (Fournier et al., 1.986; Wespes y Schulman, 1.986; Wespes (b), 1.987).

La rigidez del pene será el resultado del estancamiento de sangre acumulada en los espacios sinusoidales que están rodeados por un cilindro fibroelástico con poca capacidad de distensión (la t única albugínea). La constricción de las venas emisarias es total, además se produce compresión de la vena dorsal profunda y de

las venas circunflejas, todo ello dificulta o impide el retorno venoso.

El mantenimiento de la erección hasta que se desencadene la eyaculación requiere un adecuado aporte arterial y un mecanismo intrínseco intacto para bloquear el flujo de los cuerpos cavernosos con la consiguiente supresión o reducción del retorno venoso. Es indispensable para una erección de buena calidad, por tanto, la integridad neurológica y la integridad vascular (Jardin et al., 1.982).

### 1.13. FISIOLOGIA DE LA EYACULACION

#### 1.13.1. Fisiología de la Eyaculación

La eyaculación consiste en una serie coordinada de fenómenos neuro-musculares que dan lugar a que los constituyentes del eyaculado sean depositados en la uretra posterior y luego evacuados a través del resto de la uretra y meato uretral de forma anterógrada.

Se pueden distinguir dos fases en la eyaculación: emisión y expulsión.

La emisión corresponde a la eyección a la uretra posterior de las secreciones elaboradas en las glándulas anexas que componen el fluido seminal y la movilización de parte de los espermatozoides contenidos en el conducto epidídimo-deferencial. Ello se ve favorecido por la contracción de la musculatura prostática así como de

la ampolla defencial y vesículas seminales. Los productos excretados se acumulan en la uretra prostática, cerrada en sus extremos por el esfínter liso del cuello vesical y el esfínter estriado externo. La uretra se dilata progresivamente durante unos segundos. Esta tensión corresponde a la sensación de eyaculación inminente.

Durante la expulsión, el esfínter liso de la vejiga, retraído a permanencia a causa de la riqueza de sus fibras elásticas, se contrae de forma más o menos rítmica merced a su rica secreción adrenérgica, y el esfínter estriado, forzado por la presión del esperma acumulado, se abre dando lugar a contracciones espasmódicas. El eyaculado fluye en forma de impulsos crónicos, en número de tres o cinco, debido a la contracción rítmica de los músculos perineales (bulbocavernosos; isquiocavernosos; y pélvicos) y de las vesículas seminales.

#### 1.13.2. Control neurológico de la eyaculación:

La emisión y el cierre del cuello vesical se halla bajo control simpático, mientras que la eyaculación anterógrada, al igual que la erección, depende del parasimpático ( $S_2-S_4$ ).

Los impulsos eferentes simpáticos proceden de la cadena simpática toraco-lumbar ( $D_{12}-L_3$ ) que viajando a través del nervio hipogástrico facilitan la contracción de los órganos internos

del aparato genital.

El nervio pudendo interno induce las contracciones clónicas de los músculos bulbocavernosos, isquiocavernosos y pélvicos.

2. FISIOLOGIA TESTICULAR

El testículo, como el ovario, tiene dos funciones principales: producción hormonal (andrógenos) y producción de los gametos masculinos (espermatozoides).

La mayor parte del volumen testicular está formado por los túbulos seminíferos que se encuentran envueltos en un tejido conectivo, en los límites de los tabiques fibrosos que forman los lóbulos del testículo. Dentro de dicho tejido están las células de Leydig o células intersticiales, las cuales son la fuente principal productora de la hormona sexual masculina, la testosterona, mientras que los túbulos seminíferos son el asiento de la producción de espermatozoides.

#### 2.1. CELULAS INTERSTICIALES DE LEYDIG

Las células de Leydig situadas entre los espacios inter-tubulares del testículo, derivan de las células mesenquimatosas (Gondos, 1.977), estando presentes en el hombre en la 8ª semana de gestación (Pelliniemi y Niemi, 1.969). A la 14ª semana de gestación el tejido leydiano constituye en el feto humano más del 50% del tejido testicular (Christensen, 1.975).

El papel biológico esencial de las células de Leydig es la producción androgénica y más particularmente, de testosterona, quien condicionará sucesivamente la diferenciación embrionaria del sistema reproductor masculino, el condicionamiento hipotálamo-hipofisario, la maduración de las células germinales, los caracteres sexuales secundarios, y el comportamien-

to (Erwing y Brown, 1.977). Parece ser que hay dos grandes poblaciones de células intersticiales de Leydig, algunas de las cuales segregan bastante más testosterona que otras (Rayne et al., 1.980).

En el testículo fetal, a las 6-7 semanas de gestación ya es detectable la producción de testosterona (Huhtaniemi et al., 1.970; Siiteri y Wilson, 1.974; Tapanainen et al., 1.981), cuyos límites aumentan rápidamente para adquirir un máximo entre la 11ª y 18ª semana de gestación, como lo demuestra el estudio de las tasas intratesticular, en la sangre del cordón umbilical, en la sangre del feto (Abramovich y Rowe, 1.973; Reyes et al., 1.973; Abramovich, 1.974; Abramovich et al., 1.974; Diez D'Aux y Murphy, 1.974; Reyes et al., 1.974), o en el líquido amniótico (Judd et al., 1.976; Warne et al., 1977; Forest et al., 1.980), que son muy superiores a las observadas entre los fetos femeninos. Después de este pico de mayor actividad, la secreción de testosterona ~~decrece~~ y al 3<sup>er</sup> trimestre de gestación las tasas de testosterona en el cordón varían muy poco en los dos sexos (Abramovich y Rowe, 1.973; Diez D'Aux y Murphy, 1.974; Reyes et al., 1.974; Takagi et al., 1.977). La concentración testicular de testosterona en la 11ª-15ª semana de gestación es alrededor de tres veces más elevada (Tapanainen et al., 1.981) que en el testículo adulto (Leinonen et al., 1.982) y éste pico máximo de concentración coincide con el número máximo de células de Leydig diferenciadas (Pelliniemi et al., 1.980).

Las células intersticiales del adulto

externa de células mioideas. Están unidas entre ellas, a través de su polo basal por puentes de unión que controlan el intercambio entre el espacio intersticial del testículo y la luz del túbulo seminífero. Estos puentes intercelulares forman una verdadera barrera hemato-testicular similar a la barrera hemato-encefálica. La mayor parte de la espermatogénesis tiene lugar en este lado de la barrera hemato-testicular, sin contacto con la circulación sanguínea. Las células germinales, por el contrario, están en contacto directo con la membrana plasmática de las células de Sertoli.

La FSH y la T estimula a la célula de Sertoli que segrega una serie de proteínas, las cuales constituyen un excelente marcador del funcionamiento del epitelio germinal. La identificación de tales proteínas ha aumentado nuestro conocimiento sobre la fisiología de los túbulos seminíferos (Clermont, 1.958; Lacroix et al., 1.977; Feig et al., 1.980; Skinner y Griswold, 1.980; Bardin et al., 1.981; Wright et al., 1.981).

La proteína andrógena ha sido uno de los primeros productos identificados de la secreción de las células de Sertoli, ABP (androgen-binding-protein) (Ritzen et al., 1.971; Hansson y Djoseland, 1.972; Vernon et al., 1.974; Bardin et al., 1.981). La función de la ABP es todavía discutida pero se piensa, generalmente, que sirve para el transporte de andrógenos en el tracto genital masculino.

Las principales proteínas secretadas

están sujetas a un gran número de sistemas de regulación. El factor endocrino principal es la hormona hipofisaria luteínica, hormona LH, que controla la diferenciación y la expresión de las funciones específicas de las células de Leydig, pero la prolactina, la FSH, la LH-RH, los corticoides, las prostaglandinas, los estrógenos, los neurotransmisores, las catecolaminas, juegan también un papel importante en esta regulación. El efecto de cada uno de estos factores es, o bien directo sobre las células de Leydig, o bien actúan por medio de otras células, tales como las células de Sertoli.

## 2.2. CELULAS DE SERTOLI

Los repliegues de los túbulos seminíferos se encuentran dentro de los lóbulos del testículo y unidos al tejido conectivo, separados entre sí por los vasos sanguíneos, linfáticos, nervios y por las células intersticiales de Leydig. La pared de cada tubo seminífero está formada por células musculares de contracción limitada y también de tejido fibroso.

Los túbulos seminíferos contienen tres tipos de células: las células germinales, las células mioideas, y las células de Sertoli. Las células de Sertoli constituyen el marco estructural sobre el cual se realiza la espermatogénesis.

Las células de Sertoli se encuentran sobre una membrana basal recubierta por su cara

por las células de Sertoli y actualmente identificadas son las siguientes: ABP (Bardin et al., 1.981); inhibina (Seethlakchmi y Steinberger, 1.983); proteína T (Wright et al., 1.981); proteína inhibidora y estimuladora de la meiosis (MIS y NPS) (Parvinen, 1.982); factor de crecimiento de origen sertoliano (Feig et al., 1.980); proteína de secreción cíclica (Wright et al., 1.983); transferrina (Skinner y Griswold, 1.980; Wright et al., 1.981), ceruloplastina (Wright et al., 1.981); sustancia ligadora de somatomedina (Parvinen, 1.982); activador del plasminógeno (Lacrocix et al., 1.977); glicoproteína-2 (Wright et al., 1.981).

Cada una de las proteínas secretadas por las células de Sertoli podrían, eventualmente, servir de marcador bioquímico de la función fisiológica de los túbulos seminíferos, así como de las células de Leydig (Gunsalus et al., 1.980).

La testosterona producida por las células de Leydig pasa a través de la base de los túbulos seminíferos a las células de Sertoli, dentro de las cuales se une a la ABP. Curiosamente parte de la testosterona se convierte, dentro de la célula de Sertoli, en estrógenos (Dorrington et al., 1.978). La testosterona unida a la ABP es segregada por las células de Sertoli al lumen del túbulo seminífero, desde donde es complejo testosterona-ABP es transportado fuera del testículo y dentro de los conductos eferentes y el conducto epididimal (Hansson et al., 1.974), donde son necesarias altas concen-

traciones de testosterona para su funcionamiento normal.

La inhibina es otra de las proteínas producidas y secretadas por las células de Sertoli en el hombre y por las células de la granulosa en la mujer (Franchimont y Channing, 1.981). Desde 1.932 Mc Cullagh sospechó la existencia del factor gonádico, la inhibina, en relación con la espermatogénesis y la regulación de la secreción de FSH; ésta hipótesis ha resurgido para explicar numerosas observaciones fisiológicas y clínicas debido a la relación inversa entre la gametogénesis y la secreción de la FSH (Steinberger y Steinberger, 1.976). Numerosas investigaciones dirigidas para la investigación y aislamiento de la inhibina han permitido demostrar la existencia de esta nueva hormona (Franchimont et al., 1.975). La inhibina puede ser definida como un factor peptídico, de origen gonadotrópico, que reduce específicamente o preferentemente la secreción de FSH.

La inhibina fué descubierta y parcialmente purificada a partir del líquido seminal humano y bovino, del líquido del rete testi del carnero (que contiene grandes cantidades), de túbulos seminíferos y ovários, del líquido folicular de numerosas especies animales, y del medio de cultivo de células de Sertoli y de células de la granulosa (Franchimon et al., 1.979).

En la célula de Sertoli existen cantidades de una sustancia llamada tubulina que actua

como células de sosten, que deben contribuir a dar soporte a las células de Sertoli y a los elementos germinales situados a lo largo de ella. Las células de Sertoli tienen también grandes cantidades de retículo endoplasmático rugoso, cuya función es la síntesis de proteínas. Igualmente está presente un complejo aparato de Golgi.

### 2.3. ESPERMATOGÉNESIS

El proceso de diferenciación celular de los gonocitos fundamentales o células primordiales, que finaliza con la producción de las células germinales masculinas o espermatozoides, se llama espermatogénesis. Es un proceso largo y complejo, que se realiza en los túbulos seminíferos donde las células germinales, asociadas a las células de Sertoli, forman un epitelio muy particular, no existiendo otro equivalente en el organismo.

Implicadas en la espermatogénesis se distinguen tres tipos de células germinales: -espermátogonias, -espermátocitos, y -espermátidas, y a cada una de ellas les corresponde una fase del proceso espermatogénico (Steinberger y Steinberger, 1.975). En primer lugar las espermátogonias (células diploides), situadas en el compartimento basal del tubo seminífero, entre las células de Sertoli y el tejido límite, se dividen por mitosis y se convierten en espermátocitos, que a su vez se dividen por meiosis y dan origen a las espermátidas que, por transformación morfoló-

gica se convierte en los espermatozoides.

La primera descripción precisa de la espermatogénesis humana y la introducción del concepto de ciclo del epitelio seminífero, se debe a Clermont (1.963). Las células germinales primordiales emigran a los cordones seminíferos del testículo prepuberal, futuros túbulos seminíferos y aquí, rodeadas de las células de Sertoli que juegan un papel fundamental en todo el proceso espermatogénico (Fawcett, 1.975), y de una membrana basal prominente, constituyen el epitelio seminífero. Los gonocitos emigrados quedan inactivos hasta poco antes de la pubertad, en este momento emigran de nuevo entre las células de Sertoli para llegar al tejido límite del túbulo seminífero y entrar en un período indefinido de multiplicación mitótica.

La espermatogénesis tiene dos funciones principales: Formar un núcleo celular haploide, en el que los cromosomas son el resultado de una mezcla de genes de origen paterno y materno por entrecruzamiento, de tal manera que dos espermatozoides no tienen nunca la misma dotación genética; y formar estructuras celulares altamente diferenciadas que permita el transporte de ese genoma en las mejores condiciones, a través de las vías genitales masculinas y femeninas hasta las envolturas pericubulares del óvulo para su fecundación.

### 2.3.1. Espermatogonias

En el hombre se pueden identificar tres tipos diferentes de espermatogonias (Clermont 1.969; Clermont, 1.972):

- Espermatogonias de núcleo oscuro o tipo Ad, núcleo esférico que contiene una cromatina finamente granulosa y muy cromófila y uno o dos nucleolos unidos a la membrana nuclear. Presenta además una zona central clara de aspecto vacuolar.

- Espermatogonias de núcleo opaco o tipo Ap, núcleo ovoide que contiene una cromatina pálida y poco cromófila; se pueden encontrar uno o dos nucleolos mal definidos.

- Espermatogonias de núcleo granuloso o tipo B, núcleo esférico con una cromatina poco coloreada, gránulos y filamentos muy cromófilos unidos a la membrana nuclear o a los nucleolos.

Con el microscopio electrónico es posible identificar los dos tipos de espermatogonias, pero resulta difícil por el aspecto difuso de la cromatina, además, el citoplasma de estas células presenta las características de una célula poco diferenciada, así el retículo endoplasmático es poco abundante, hay pocos ribosomas libres, el aparato de Golgi está poco desarrollado y contiene mitocondrias esféricas o ligeramente alargadas.

Las divisiones de las espermatogonias del tipo Ad se indican con los subíndices 0, 1, 2, 3, ó 4. Estas mitosis pueden ser de dos

tipos, mitosis al azar, de poca actividad, considerándose espermatogonias de reserva (Clermont, 1.969; Clermont y Antar, 1.973); y las mitosis sincronizadas  $Ad_1 - Ad_2 - Ad_3 - Ad_4 - Ap - B$ , coordinadas con otros sucesos que dan lugar al espermatocito primario, existiendo sutiles diferencias morfológicas entre las diferentes espermatogonias.

En el hombre aún no está claro cual es el origen de las espermatogonias  $Ad_1$  y el comportamiento de las sucesivas divisiones, sin embargo, se ha observado que si el epiteliogerminal está dañado, la velocidad de división de las células de reserva aumenta para que se pueda repoblar los túbulos seminíferos. Normalmente entra en el proceso espermatogénico periódicamente y a intervalos regulares, de una duración relativamente corta, siendo en el hombre de 16 días (Heller y Clermont, 1.963) y en el mono Macaco 11.6 (Clermont y Antar, 1.973). En las divisiones sincronizadas las espermatogonias siguen unidas por puentes citoplasmáticos que pnen en contacto sus respectivos citoplasmas (Fawcett et al., 1.959; Dym y Fawcett, 1.971), puentes que persisten durante la espermatogénesis y que ciertos autores le dan un papel importante en la sincronización del desarrollo de grupos isogénicos de células germinales (Fawcett et al., 1.959).

Después de la última división mitótica de las espermatogonias tipo B, las células todavía unidas por puentes citoplasmáticos, duplican su contenido de DNA, como si estuvieran a punto

de dividirse de nuevo mitóticamente, (éste fenómeno no se acompaña de una transformación marcada del aspecto de la cromatina del núcleo, tan sólo se puede observar un ligero aumento de la basofilia nuclear), y en lugar de dividirse, empieza la larga profase meiótica que conduce al final, mediante dos divisiones meióticas, a la producción teórica de cuatro espermátidas haploides de cada espermatocito.

### 2.3.2. Espermatocitos

La meiosis es una serie de dos divisiones sucesivas que dan lugar a dos células haploides, las cuales contienen la mitad de los cromosomas presentes en las células somáticas. Los espermatocitos de primer y de segundo orden son células que se dividen por meiosis y las espermátidas son las células haploides que se derivan. Inmediatamente después de su formación por las espermatogonias del tipo B, los espermatocitos de primer orden (espermatocitos I) quedan en interfase durante un largo período (2-4 días) en el curso del cual, estas pequeñas células no se distinguen apenas de las espermatogonias de tipo B. En efecto, su núcleo contiene una cromatina granulofilamentosa muy cromófila acumulada a lo largo de la membrana nuclear; el nucleolo muy pequeño es muy visible; las organelas citoplasmáticas tienen características idénticas a los elementos citoplasmáticos de las espermatogonias del tipo B. En el curso de ésta Interfase, hay una síntesis del DNA y una duplicación de los filamentos cromosómicos, sin embargo, éste fenómeno no

se acompaña de una transformación marcada del aspecto de la cromatina del núcleo como ya se ha observado anteriormente.

Después de ésta fase llamada ~~pa-~~Leptotene, el núcleo del espermatocito I se hace netamente más cromófilo y la cromatina toma un aspecto filamentososo. El espermatocito I entra en la fase Leptotene (1ª fase de la profase de la 1ª división meiótica), se alejan de la membrana basal o tejido límite, las células de Sertoli se juntan y forman una segunda serie de complejos acoplados entre los espermatocitos y dicho tejido límite, formados por la fusión membranosa de aspecto lineal (zonula ocludens) y el área de comunicación (Flickinger y Fawcett, 1.967). Durante cierto tiempo las células germinales que se están desarrollando están en una zona intermedia y entonces las uniones en el lado luminal se separan y las células germinales cruzan sin problemas a la zona ad-luminal para completar la meiosis.

La siguiente fase es de Zigotene, en los núcleos de estas células los cromosomas homólogos se aparean y forman largas asas que son visibles con el microscopio óptico. Estos largos cromosomas tienen sus extremidades unidas a un punto dado de la membrana nuclear. Después, los cromosomas ahora bien visibles, se espesan y se acortan manteniendo un contorno difuso. Este espesamiento es debido a una espiralización progresiva de los filamentos cromosómicos. Esta es la fase Paquitene que es la más larga de

la Profase meiótica, la cual en el hombre, dura alrededor de 16 días (Heller y Clermont, 1.96). En ésta fase el núcleo y el citoplasma aumentan considerablemente de volumen, en el núcleo aparecen los nucleolos (Daoust y Clermont, 1.955), así como una vesícula heterocromática, difusa y cromófila unida a la membrana nuclear, formada por los cromosomas X e Y apareados (vesícula sexual); en el citoplasma, el aparato de Golgi forma una gruesa masa esférica próxima al núcleo y las mitocondrias están distribuidas en pequeños grupos en el citoplasma; el retículo endoplásmico así como los ribosomas abundan y la basofilia del citoplasma aumenta.

Los cromosomas de los espermatocitos Zigotene y Paquitene muestran al microscopio electrónico una estructura particular llamada complejo sinaptinémico (Fawcett, 1.956; Moses, 1.968). Esta estructura, que está asociada al apareamiento de cromosomas homólogos, se presenta bajo la forma de una estructura tripartita, compuesta de dos bandas separadas por un espacio, mostrando una línea densa intermedia; las dos bandas laterales deben corresponder al material cromosómico, mientras que la línea intermedia parece ser parte de una proteína fibrosa que debe jugar un papel importante en el apareamiento de cromosomas homólogos.

Durante la fase de Paquitene hay un entrecruzamiento de cromosomas homólogos, que contribuyen al intercambio del material genético de origen paterno y materno. En el curso del

estado Paquitene la actividad nuclear es intensa y se acompaña de una síntesis activa de RNAr y RNAm; en el citoplasma la síntesis de proteínas está en su esplendor, sobre todo a mitad de éste estado (Monesi, 1.965).

Posteriormente, la célula entra en la fase. Diplotene, en el curso de la cual, los cromosomas se separan ligeramente el uno del otro aunque quedan unidos en uno o varios puntos llamados quiasmas. Este estado de diacinesis, marca el fin de la profase de la primera meiosis, iniciándose enseguida la Metafase I, fase en la cual los cromosomas se disponen lado a lado a nivel de la placa ecuatorial, estando más separados netamente pero aún unidos por algunos quiasmas que van desapareciendo progresivamente. Se inicia la formación del huso y los cromosomas se van dirigiendo hacia la membrana nuclear; más tarde desaparece la membrana nuclear y los cromosomas se ordenan formando la placa ecuatorial.

En el curso del siguiente estado, la Anafase, los cromosomas se separan y emigran a lo largo del huso acromático en dirección a los polos centriolares.

A continuación, en el curso de una corta Telofase, los núcleos de los espermatocitos II se reforman, los cromosomas se despirilizan, presentando un aspecto interfásico característico; éstos núcleos poco cromófilos contienen alguna granulación de cromatina y un pequeño nucleolo poco aparente. Después de una breve Interfase y sin sín-

tesis de DNA, los cromosomas se organizan y los espermatocitos II se dividen. En el curso de esta división, cada cromosoma se escinde en dos cromátides y, después de la Metafase, la Anafase y la Telofase, aparecen los pequeños núcleos de la espermatida.

El espermatocito .I de pequeño tamaño y existencia efímera, se divide (2ª división meiótica) y da lugar a la espermatida (célula haploide) que ya no se divide más, sino que sufren una metamorfosis, cambiando su morfología y transformándose en espermatozoide.

Cuantitativamente se ha demostrado que cada espermatocito no produce más que 2 ó 3 espermatidas, siendo el rendimiento teórico máximo de 4 por 1 (Barr et al., 1.971). La razón de esta degeneración masiva de espermatidas es desconocida actualmente.

### 2.3.3. Espermatidas

Al principio, la espermatida es una pequeña célula poliédrica con un núcleo esférico central. En el citoplasma se encuentra un aparato de Golgi esférico localizado en la proximidad del núcleo, una red continua de cisternas del retículo endoplásmico, pocos ribosomas, pequeñas mitocondrias esféricas y, cerca del aparato de Golgi, una pequeña masa muy cromófila (cuerpo cromófilo) y un par de centriolos que se encuentran cerca de la membrana citoplasmática. En la región central del aparato de Golgi de la

espermátida aparecen gránulos de secreción ricos en glicoproteínas, que se colorean intensamente con la técnica de ácido per-iódico-Schiff, éstos gránulos se llaman gránulos proacrosómicos y son ricos en enzimas de hidrólisis y muy parecidas a los lisosomas (Tang et al., 1.982); simultáneamente uno de los centriolos preside la formación del axoma del futuro flagelo del espermatozoide, compuesto de microtúbulos (Bisson y David, (a), 1.975), éste axoma alcanza rápidamente su longitud máxima (alrededor de 50  $\mu\text{m}$ ).

Los gránulos proacrosómicos se fusionan en un sólo gránulo o vesícula acrosómica que se une a la membrana nuclear; el aparato de Golgi continua añadiendo proteínas a ese gránulo que aumenta de volumen y se aplana sobre la superficie del núcleo. Al mismo tiempo, en el polo opuesto del núcleo, los centriolos se insertan en una ligera depresión de la membrana nuclear, es la fosa de implantación y en ella se implantan solidamente. Mientras, el acrosoma sigue creciendo, recubre cerca de la mitad de la superficie del núcleo. Esta estructura presenta entonces dos zonas distintas: la cofia o estructura membranosa de doble pared que se acopla a la superficie del núcleo; y el acrosoma o dilatación hemisférica en la cima de la cofia.

Una vez desarrollado el acrosoma y los centriolos bien fijos al núcleo, la espermátide pierde su forma esférica y se alarga, el núcleo emigra hacia la superficie de la

célula y la membrana citoplasmática se une fuertemente al sistema acrosómico. El aparato de Golgi, hasta ahora asociado al sistema acrosómico queda separado y flotando en el citoplasma periflagelar. Los microtúbulos aparecen y forman un tubo de aspecto cónico, llamado membrete, estando situada la base cerca de la membrana nuclear, a corta distancia de la cofia y cuya cima se encuentra a lo largo del flagelo. En el interior del membrete, el cuerpo cromófilo contribuye a la formación del anillo, estructura citoplasmática densa que se forma junto con la membrana citoplasmática situada en la proximidad de los centriolos, al fondo de la invaginación de esta membrana a lo largo del flagelo.

En la etapa siguiente, la espermátida continua alargandose y el núcleo toma un aspecto piriforme y el sistema acrosómico ocupa la cima del núcleo como un capuchón, siendo difícil distinguirlo de la cofia. El membrete se alarga considerablemente a lo largo del flagelo mientras que el anillo se encuentra siempre en la proximidad del centriolo. Los centriolos se ven modificados por la adición de material denso que forma una estructura estriada compleja llamada pieza conectiva. Las mitocondrias siempre están distribuidas al azar por el citoplasma pero algunas se vuelven a encontrar dentro del membrete, a lo largo del flagelo, inducidas por la corriente citoplasmática formada por los microtúbulos.

En un estado más avanzado de su evolución, la espermátida presenta un núcleo más compacto y un flagelo en pleno cambio. El anillo se desliza a lo largo del axoma y se detiene a una distancia de alrededor de 7  $\mu$ m de la pieza conectiva; la mayoría de las mitocondrias emigran hacia el flagelo, al cual se abrazan, entre la pieza conectiva y el anillo; esta porción de flagelo será la futura pieza intermedia del espermatozoide. Los microtúbulos del membrete se dispersan y esta estructura se disuelve progresivamente.

Finalmente, la cromatina de la espermátida se condensa más y el núcleo se aplasta ligeramente; el sistema acrosómico forma una cofia o caparazón denso, por encima del núcleo (extremidad apical); las mitocondrias condensadas y alargadas forman una vaina más o menos espiral a lo largo de la pieza intermedia del flagelo; el citoplasma que rodea al flagelo se desprende y forma un cuerpo residual que será fagocitado y eliminado por las células de Sertoli, transformándose finalmente la espermátida en el espermatozoide.

#### 2.4. CICLO DEL EPITELIO SEMINIFERO Y ESPERMATOGENESIS

Además de las transformaciones citológicas que se han descrito, las células germinales presentan en el curso de su transformación en espermatozoides, un cierto número de características que determinan el aspecto histológico de los túbulos seminíferos. Estas características son las siguientes:

- La duración de la espermatogénesis es constante, como se puede demostrar mediante autorradiografía después de marcar las células germinales con timidina tritlada; siendo de 45 días en el mono Macaco (Clermont y Antar, 1.973) y de unos 60 días en el hombre (Heller y Clermont, 1.963). No solamente la espermatogénesis tiene una duración constante, sino que cada una de las etapas de la espermatogénesis tiene igualmente una duración constante y fija. No existen factores hormonales, incluidas las hormonas gonadotrópicas, que influyan en la duración de la espermatogénesis (Clermont y Harvey, 1.965).

- Las espermatogonias de reserva entran en espermatogénesis periódicamente y a intervalos regulares de una duración relativamente corta; siendo de 11,6 en el mono Macaco (Clermont y Antar, 1.973) y de 16 días en el hombre (Heller y Clermont, 1.963).

- Estas espermatogonias de reserva no entran en espermatogénesis individualmente sino que lo hacen en grupo; de tal modo que las células de tales grupos, están unidas entre ellas por puentes citoplasmáticos que ponen en contacto directo el citoplasma de las células unidas por esos puentes (Fawcett et al., 1.959; Dym y Fawcett, 1.971). Ciertos autores han sugerido que estos puentes citoplasmáticos deben jugar un papel en la sincronización del desarrollo de grupos isogénicos de células germinales (Fawcett et al., 1.959).

- El estudio de la situación topográfica de la población espermatogónica, a lo

largo de la pared de los túbulos seminíferos ha demostrado que numerosos grupos homogéneos de células de reserva unidas por puentes citoplasmáticos entran en la espermatogénesis de una manera aproximadamente sincrónica (Clermont y Bustos-Obregon, 1.966; Clermont y Antar, 1.973; Clermont y Hermo, 1.975). La consecuencia de este fenómeno es la formación de grandes grupos de células, todas en el mismo estado de la espermatogénesis, llamadas células de la misma generación.

El examen histológico de la pared de los túbulos seminíferos nos muestran la presencia de 4 ó 5 generaciones superpuestas de células germinales. Las generaciones de células jóvenes (espermatogonias, espermátocitos prelectotene) se encuentran a lo largo de la membrana basal, mientras que las generaciones de células más evolucionadas (espermátidas), se encuentran en el borde de la luz de los túbulos seminíferos.

Si se examina histológicamente los túbulos seminíferos, se observa además que las diversas generaciones de células germinales forman un cierto número de asociaciones celulares de composición constante; así por ejemplo, un tipo dado de espermatogonia estará siempre asociada con espermátocitos o espermátidas en la etapa precisa de su desarrollo; en los exámenes comparativos de estas diversas asociaciones celulares, nos muestran que, en efecto, estos reagrupamientos celulares corresponden

por tanto a un estado de un ciclo del epitelio seminífero; este ciclo puede definirse como la serie completa de asociaciones celulares que aparecen con el tiempo y en un orden preciso, en un sitio dado del túbulo seminífero (Leblond y Clermont, 1.952 (a); Leblond y Clermont, 1.952 (b)). Sin embargo esto no es tan evidente en el hombre (Clermont, 1.963), como lo es en la mayor parte de los mamíferos.

#### 2.5. CELULAS DE SERTOLI Y ESPERMATOGÉNESIS

Las células epiteliales de Sertoli están en relación directa con todas las células germinales y juega un papel muy importante en la espermatogénesis (Fawcett, 1.975). La acción de las hormonas gonadotrópicas o androgénicas, sobre la espermatogénesis se hace por mediación de las células de Sertoli cuya actividad es mantenida por esas hormonas. Las células de Sertoli son grandes y estrelladas y muy numerosas en el epitelio seminífero. Su base está directamente unida a una membrana basal y la membrana lateral presenta numerosas prolongaciones regulares que se insertan entre las diversas células germinales, mientras que la cima de la célula presenta prolongaciones irregulares que se reúnen en la luz del túbulo seminífero; por consiguiente, estas células ocupan todo el espesor del epitelio seminífero y están en contacto directo con todas las células germinales.

Las células de Sertoli tienen un

gran núcleo polimorfo, que contiene una cromatina difusa y un gran nucleolo, que ocupa la base; el citoplasma contiene un aparato reticular de Golgi muy largo que ocupa una zona supranuclear y una redcilla compleja de cisternas del retículo endoplasmático (Rambourg et al., 1.979). Además de numerosas mitocondrias, estas células contienen un sistema lisosomal muy importante así como un citoesqueleto compuesto de microtúbulos y de filamentos de talla intermedia (10 nm) (Dym, 1.973). Además contienen fagosomas y numerosas gotitas lipídicas.

Las células de Sertoli sufren marcadas transformaciones morfológicas y citoquímicas en el curso del ciclo del epitelio seminífero (Niemi y Kormanó, 1.965; Parvinen y Vanha-Perttula 1.972).

Las células de Sertoli contribuyen a la formación de la barrera hemato-testicular que separa al epitelio seminífero en dos compartimentos distintos: un compartimento basal y un compartimento ad-luminal. Encima del lecho de las espermatogonias y de los espermatocitos preleptotenes, las prolongaciones citoplasmáticas de las células de Sertoli adyacentes se reúnen y adhieren directamente las unas a las otras. Hay en efecto complejos de unión formados por una fusión membranosa de aspecto lineal (zona ocludens) y áreas de comunicación (Flickinger y Fawcett, 1.967).

En un estado dado del ciclo del epitelio

seminífero, las células de Sertoli forman prolongaciones citoplasmáticas laterales que se insertan bajo los espermatocitos preleptotenes y leptotenes así, se establecen contactos entre ellos y se forman complejos de unión del tipo zónula ocludens, lo que explica el encontrar células germinales en los compartimentos basal y ad-luminal (espermatocitos que cuando entran en meiosis, deben de atravesar la barrera hemato-testicular). Por otra parte, las células ocludens que existen debajo del mismo espermatocito se disuelven liberando así las células del compartimento ad-luminal. Una vez que los espermatocitos se encuentran en el compartimento ad-luminal, la célula de Sertoli los retiene con la ayuda de la mácula adherente o dermosoma (Russell, 1.977). No se encuentran estructuras equivalentes entre las células de Sertoli y las espermatidas; sin embargo, la relación entre esas dos células es muy estrecha, así, las espermatidas, una vez que se polarizan y se alargan, se hunden en la profunda invaginación que ocupa la región supra nuclear del cuerpo citoplasmático de las células de Sertoli, observándose una diferenciación de ciertos elementos citoplasmáticos de la célula de Sertoli (retículo endoplásmico y filamentos citoplasmáticos) a corta distancia de la membrana citoplasmática que hace frente al sistema acrosómico de la espermatida, pero no se conoce aún la naturaleza del mecanismo que explique esta relación estrecha y prolongada entre estos dos tipos de células.

Una vez que la diferenciación de las espermátidas está casi terminada, migran hacia la luz de los túbulos seminíferos donde quedan en libertad. Este fenómeno, llamado espermiación, es muy complejo y las células de Sertoli juegan un papel muy importante en él, pudiéndose observar como las prolongaciones citoplasmáticas apicales de las células de Sertoli se adhieren estrecha y selectivamente a la porción de la membrana de la espermática que delimita el lóbulo citoplasmático situado a lo largo del flagelo. Mientras que la espermátida emigra hacia la luz del túbulo, ese lóbulo citoplasmático es retenido por la célula de Sertoli se desprende de la espermátida y el cuerpo residual así formado, es fagocitado por la célula de Sertoli, liberándose el espermatozoide de esta forma de su cuerpo residual (Fawcett y Phillips, 1.969).

La célula de Sertoli, además de ser un fagocito eficaz, es igualmente una célula secretora responsable de la formación del líquido tubular (Waites, 1.977). Igualmente es responsable de la síntesis de proteínas que se unen a los andrógenos (Hansson et al., 1.973; Ritzen et al., 1.973; Vernon et al., 1.973) y de la hormona llamada inhibina (Seibell et al., 1.977). Además, las células de Sertoli juegan el papel de célula nutritiva para inyectar literalmente pequeños fragmentos de su citoplasma en las espermátidas, en el paso de su transformación en espermatozoide (Morales y Clermont, 1.982).

3. FISILOGIA DEL EPIDIDIMO

El epidídimo es un tubo enrollado que une el testículo al canal deferente y conduce al espermatozoide hacia el canal eyaculador. En el hombre, nacen del rete testi una serie de 10 a 15 túbulos paralelos y se anastomosan al conducto epididimal; el epidídimo mismo es un tubo único de unos 3 a 6 m de longitud (Maneely, 1.959).

En el epidídimo podemos distinguir tres segmentos: cabeza, en el polo superior del testículo; cola en el punto inferior; y cuerpo, formando un puente entre la cabeza y la cola.

Durante su tránsito por el epidídimo, el espermatozoide adquiere una serie de características funcionales, aunque no llega a alcanzar una plena capacidad fecundante. El epidídimo es un conducto de transporte de los espermatozoides, en el que éstos van madurando y almacenándose durante un período de tiempo limitado, así mismo, el epidídimo se encarga de la eliminación de los espermatozoides envejecidos. Los andrógenos testiculares controlan a la vez la integridad estructural y las funciones del epidídimo.

### 3.1. TRANSPORTE DE ESPERMATOZOIDES POR EL EPIDÍDIMO.

#### 3.1.1. Velocidad de tránsito de los espermatozoides

El tiempo que tarda el espermatozoide en atravesar todo el conducto epididimario

puede ser medido marcando el DNA de las células germinales con timidina tritiada  $^3\text{P}$  ó  $^3\text{H}$  y seguir la progresión del espermatozoide através del epidídimo por medio de autorradiografías o medida de la radiactividad. La duración del tránsito espermático por el epidídimo es directamente proporcional a la cantidad de reserva espermática contenida en cada segmento epididimario (Ortavant, 1.959; Orgebin-Crist, 1.962). La duración del tránsito de los espermatozoides por el epidídimo es en el hombre de 1,0 a 12,0 días (Rowley et al., 1.970).

### 3.1.2. Sistema de transporte de los espermatozoide

Los espermatozoides no se desplazan por el epidídimo por un simple mecanismo de presión, como se comprueba ligando los canales eferentes del testículo, que impide la llegada de espermatozoides nuevos, y sin embargo, no se modifica la progresión de los espermatozoides que ya estaban en el conducto (Dyson y Orgebin-Crist, 1.973). La fuerza principal que hace progresar a los espermatozoides en el epidídimo es de origen neuromuscular; la envoltura muscular de la cabeza y del cuerpo está constituida por una capa fina de células contráctiles pobremente inervada, mientras que la cola está rodeada por una capa gruesa de células musculares lisas, con una rica inervación adrenérgica (Baumgarten et al., 1.971).

En el conducto epididimario de rata se observan contracciones espontáneas locales

y de ritmo lento que predominan en la cabeza y disminuyen en la cola (Muratori, 1.953; Risley y Turbyfill, 1.957); también se ha encontrado una mayor actividad eléctrica espontánea, en las musculaturas lisas de la cabeza que en las de la cola (Talo et al., 1.979).

La cola del epidídimo y el conducto deferente comparten la misma inervación y la estimulación del nervio hipogástrico produce una contracción a la vez de la cola del epidídimo y del deferente, pero no afecta ni a la cabeza ni al cuerpo del epidídimo (Cross y Glover, 1.958). La cola del epidídimo y el canal deferente responden a la adrenalina y a la oxitocina, con un aumento de la contractibilidad y un crecimiento del consumo de espermático (Knight, 1.974 (a); Knight, 1.974 (b)). Experiencias in vitro muestran que las contracciones se inician en el extremo uretral del deferente y se extienden hacia la cola del epidídimo (Vanwelkenhuyzen, 1.966); esta característica contractil no debería favorecer el flujo espermático de la cola del epidídimo y del deferente hacia la uretra.

Durante el reposo sexual, se encuentran pocos espermatozoides en el tubo deferente distal; tras estimulación sexual sin eyaculación aumenta el número de espermatozoides en el deferente, obteniéndose tantos espermatozoides como en un eyaculado; tras la eyaculación, existe un transporte proximal del contenido del deferente hacia el epidídimo (Prins y Zane-

veld, 1.979). Todo ésto sugiere que el deferente no sirve de reserva a los espermatozoides durante la eyaculación. En los hombres vasectomizados, los espermatozoides no sobreviven más de dos semanas en el canal deferente (Jouannet y David, 1.978; Bedford y Zelikovsky, 1.979).

### 3.1.3. Factores que influyen en el transporte de los espermatozoides

La frecuencia de eyaculados no modifica la velocidad de transporte a través de la cabeza y el cuerpo del epidídimo, así en la mayoría de las especies, son necesarios de 3 a 5 días para que los espermatozoides atraviesen esta región. Por el contrario, eyaculaciones frecuentes aceleran el transporte espermático a través de la cola del epidídimo y disminuye la retención de espermatozoides viejos en la cola (Koefoed-Johnsen, 1.961; Orgebin-Crist, 1.962; Amir y Ortavant, 1.968). En el hombre, la cola del epidídimo es relativamente pequeña en relación con otros mamíferos, y es posible que eyaculaciones frecuentes afecten más netamente a la velocidad de transporte de los espermatozoides. La duración del tránsito calculado a partir de las reservas espermáticas ha sido estimada en 5,5 días en los hombres sexualmente en reposo, y de 2,5 días en los hombres sexualmente activos.

Otros factores que pueden influir en la rapidez del paso de los espermatozoides a través del epidídimo son los siguientes:

- La castración acelera el tránsito

espermático a través del epidídimo y el tratamiento androgénico en el castrado lo hace más lento hasta alcanzar valores normales (Dyson y Orgebin-Crist, 1.973).

- Los estrógenos aceleran el tránsito espermático aún más eficazmente que la privación de andrógenos (Meistrich et al., 1.975).

- Las prostaglandinas también disminuyen el tiempo de tránsito espermático en el epidídimo (Hunt y Nicolson, 1.972).

La regulación fisiológica del transporte espermático en el epidídimo no se conoce bien, pero depende de la actividad neuromuscular del epidídimo, bajo control hormonal.

### 3.2. MADURACION ESPERMATICA EN EL EPIDIDIMO.

#### 3.2.1. Movilidad de los espermatozoides

Desarrollo de la movilidad de los espermatozoides: Los espermatozoides que abandonan el testículo tienen un débil movimiento circular y son incapaces de fecundar un óvulo; por otra parte, los espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo tienen una fuerte movilidad unidireccional y son capaces de fecundar los óvulos, si las condiciones son adecuadas. La maduración espermática representa el proceso por el cual la movilidad y parte del poder fecundante son adquiridos progresivamente por el espermatozoide cuando pasan a través del epidídimo.

En el hombre, los espermatozoides recogidos de la cabeza o del cuerpo proximal del epidídimo tienen un movimiento vibratorio muy débil o nulo, los recogidos de la mitad del cuerpo del epidídimo presentan un movimiento de latigazo flagelar vigoroso, pero sin efecto progresivo, sin embargo este carácter de desplazamiento hacia adelante comienza a aparecer en los espermatozoides obtenidos de la parte distal del cuerpo epididimario (Bedford et al., 1.973). La mayor parte de los espermatozoides de la cola tienen una buena movilidad progresiva, pero un número apreciable de ellos tienen aún movimiento inmaduro o son inmóviles (Bedford et al., 1.973; Morton et al., 1.978). A pesar de esta heterogeneidad en las características de la movilidad (que no se observan en otras especies) los cambios de la movilidad en las muestras espermáticas de las diferentes regiones epididimarias indican que los espermatozoides humanos adquieren su capacidad de progresión eficaz cuando atraviesan el epidídimo. Estudios recientes, utilizando técnicas de micropunción y de cuantificación de la movilidad espermática, han confirmado estas observaciones más antiguas (Wiker y Howards, 1.977; Hinton et al., 1.979).

#### Mecanismo del desarrollo de la movilidad

La carnitina exógena estimula la movilidad de los espermatozoides inmaduros inmóviles (Hinton et al., 1.981), lo que sugiere que puede tener importancia en la inducción brusca de la movilidad observada en la cabeza del

epidídimo.

El paso de movimiento circular inmaduro a los movimientos capaces de producir un desplazamiento depende del aumento del AMPc intra-celular y también por la influencia de las secreciones epididimarias, así se puede observar que la cantidad de AMPc en los espermatozoides maduros de la cola del epidídimo es de 1,4 veces más elevado que en los espermatozoides de la cabeza del epidídimo (Hoskins et al., 1.974; Amann et al., 1.982).

El factor inductor de la movilidad progresiva, presente en el plasma seminal, es una glicoproteína termoestable que es inactivada completamente por la tripsina y parcialmente por un cierto número de enzimas glicolíticas; su peso molecular es de unos 37.000 dalton (Acott y Hoskins, 1.978). La proteína responsable de inducir el movimiento progresivo al espermatozoide, se une a él durante su paso a través del epidídimo (Acott y Hoskins, 1.978). Su primer efecto es provocar un enlentecimiento aparente del flagelo, así como impedir la inversión frecuente de dirección que caracteriza al movimiento del espermatozoide inmaduro.

El origen de esta glicoproteína no ha sido enteramente precisado pero se ha observado que la mayor actividad inductora de la movilidad progresiva se encuentra en el plasma seminal y en el fluido de la cola epididimaria; también se encuentra, aunque en más baja concentración,

en el fluido del rete testi y en tejidos extra-genitales, tales como el corazón, el hígado, el humor vítreo (Acott et al., 1.979) y en el saco vitelino (Dacheux y Paquignon, 1.980). Tras realizar una vasectomía, la actividad disminuye en el plasma seminal a un nivel comparable a la de los tejidos extra-genitales (Brandt et al., 1.978).

Sin embargo, es evidente que una glicoproteína, presente en altas concentraciones en el epidídimo, y que puede ser secretada por otros órganos, modifica los caracteres de su respuesta a una elevación de la tasa de AMPc intra-celular; estos datos sugieren que esta glicoproteína está implicada en la iniciación fisiológica de la movilidad espermática.

### 3.2.2. Poder fecundante del espermatozoide

Los espermatozoides retenidos en la región proximal de la cabeza, después de la ligadura del epidídimo desarrollan en este sitio una movilidad potencialmente normal; sin embargo, estos espermatozoides muy móviles no son fértiles (Bodford(a), 1.967; Orgebin-Crist, 1.967 (a); Cummins, 1.976). Está claro que si el desarrollar la propiedad de la movilidad adulta es una condición necesaria para la fecundación, esta propiedad por sí misma no es suficiente, y deben ser adquiridos otros elementos de maduración para que pueda expresarse completamente el poder fecundante.

Desarrollo del poder fecundante del esperma: La adquisición del poder fecundante de los espermatozoides epididimarios es también un proceso progresivo.

En todas las especies estudiadas, los espermatozoides de la cabeza del epidídimo no pueden fecundar; el poder fecundante puede detectarse en el cuerpo y la parte proximal de la cola del epidídimo según las especies; así los espermatozoides del cuerpo del epidídimo en el conejo (Bedford,(b),1.967; Orgebin-Crist, 1.967 (b)), y el carnero (Fournier-Delpech et al., 1.977) son ya fecundantes, mientras que en la rata (Dyson y Orgebin-Crist, 1.973; Paz et al., 1.978), el ratón (Paulok, 1.974; Hoppe, 1.975) y el hombre (Hinrichsen y Blaquier, 1.980), los espermatozoides fecundantes se encuentran en la cola del epidídimo.

Para fecundar un ovocito, los espermatozoides deben de sufrir previamente una serie de modificaciones sucesivas en las vías genitales masculinas y femeninas, asumiendo así la maduración y la capacitación espermática y adquiriendo la capacidad de reconocer y penetrar la zona pelúcida, y fusionarse con la membrana plasmática del ovocito.

Los espermatozoides humanos de la cabeza del epidídimo no son capaces de unirse ni de penetrar la membrana pelúcida del huevo de hamster, pero los de la cola si reaccionan

facilmente (Hinrichsen y Elquier, 1.980). Los espermatozoides humanos adquieren su poder fecundante durante la travesía epididimaria y la maduración del esperma epididimario es un fenómeno generalizado entre los mamíferos.

Regulación del desarrollo del poder fecundante: La maduración espermática depende del ambiente especial creado por la actividad andrógeno-dependiente del epitelio epididimario (Orgebin-Crist et al., 1.975). Un sistema in vitro ha permitido una apreciación más minuciosa de las condiciones necesarias para el desarrollo del poder fecundante (Orgebin-Crist y Tichenor, 1.973).

La maduración espermática puede ser inducida en el canal epididimario in vitro añadiendo 5- $\alpha$ -dihidrotestosterona (5  $\alpha$  DHT) en el medio de cultivo (Orgebin-Crist et al., 1.976); ésta acción estimulante es suprimida por los anti-andrógenos y los inhibidores de la síntesis del RNA y de las proteínas (Calvin y Bedford, 1.974).

El poder fecundante del esperma in vitro se desarrolla, por consiguiente, por la unión de la 5- $\alpha$ -dihidrotestosterona y por la síntesis de un nuevo RNA y de nuevas moléculas protéicas por las células diana: si se compara la capacidad metabólica de las diferentes células diana, es probable que éstas sean las células epididimarias más bien que los mismos espermatozoides. Así pues, se ha observado que el efecto

estimulante de la 5- $\alpha$  DHT sobre la maduración de los espermatozoides epididimarios in vitro, podría ser imitado por la adición de extracto tisular epididimario tratado con carbón (Orgebin-Crist y Jahad, 1.979).

### 3.2.3. Modificaciones de la membrana del espermatozoide en el epidídimo

La interacción del espermatozoide fecundante con el ovocito requiere una serie de acontecimientos en los cuales interviene la membrana, éstos son la reacción acrosómica que permite la liberación del contenido del acrosoma, la penetración de la membrana vitelina, el contacto y la fusión con la membrana vitelina.

Es probable que la modificación de la superficie del espermatozoide durante su paso por el epidídimo sea un aspecto importante del proceso de maduración; una de las primeras demostraciones de la modificación de la membrana durante el paso epididimario, se ha observado utilizando la técnica de tinción con eosina, la cual pone en evidencia el hecho de que la membrana del espermatozoide de la parte proximal del cuerpo epididimario del carnero, es más permeable que los de la cabeza o los de la cola (Ortavant, 1.953).

Tras el modelo en mosaico de la estructura de las membranas, se distinguen dos clases principales de proteínas de membrana: proteínas internas, incluidas en las dos capas lipídicas,

pudiendo tener relación con la cara citoplasmática de la membrana, con la cara externa o con ambas; y proteínas periféricas, que no están presentes en la cara interna o externa de la membrana, están unidas por fuerzas electrostáticas o por interacciones de proteína a proteína.

Modificaciones morfológicas: Observaciones con el microscopio electrónico revelan que durante la maduración espermática se producen modificaciones tanto en la cara citoplasmática de la membrana, como sobre el plano de la membrana y en su cara externa.

En los espermatozoides de la parte proximal de la cabeza epididimaria de la rata, hay una sustancia de aspecto grumoso que ocupa el espacio entre la membrana plasmática y la membrana externa del acrosoma, que desaparece en el segmento más distal del epidídimo. El análisis más profundo muestra una importante redistribución de las partículas internas membranas en la membrana plasmática que recubren al acrosoma; estas partículas están distribuidas al azar en la membrana plasmática de los espermatozoides de la parte proximal de la cabeza; en los de la parte distal de la cabeza y los de la parte proximal del cuerpo, las partículas se separan en forma de láminas de diferentes tallas; esta organización de las partículas en láminas desaparece en los espermatozoides de la parte proximal de la cola epididimaria donde las partículas están distribuidas al azar; estos cambios no se observan más que

en la membrana del acrosoma y no en las otras regiones de la superficie del espermatozoide de la rata (Suzuki y Nagano, 1.980).

Una sustancia se acumula en la cara externa de la membrana de los espermatozoides en la parte distal de la cabeza del epidídimo, cuya distribución en forma de tonel recuerda la organización en láminas de las partículas intra-membranales; esta sustancia comienza a desaparecer de la superficie del espermatozoide en la parte proximal de la cola y no se observa en la parte distal de la cola epididimaria. Las modificaciones simultáneas de la distribución de aquella sustancia y de las partículas intramembranales sugieren la posibilidad según la cual, la unión de los componentes de la membrana externa modificarían la organización en el interior de la membrana (Suzuki y Nagano, 1.980).

La conclusión de las modificaciones membranales coincide directamente con la adquisición del poder fecundante en la rata (Dyson y Orgebin-Crist, 1.973), lo que sugiere que son necesarias estas modificaciones de la membrana para la fecundación. La modificación de la estructura de membrana espermática durante la maduración epididimaria ha sido demostrada en otras especies (Jones, 1.971; Bedford y Rifkin, 1.979), pero no hay una formación similar en el hombre.

Las modificaciones acontecidas en la cara externa de la membrana plasmática del

espermatozoide han sido objeto de una atención especial porque reflejan probablemente la contribución del ambiente epididimario del cual depende el desarrollo de la movilidad espermática y el poder fecundante.

Modificaciones de la carga de la membrana: Mediante electroforesis se ha podido observar que existen diferencias en la superficie celular de los espermatozoides de conejo del epidídimo; en estas especies los espermatozoides de la cabeza tienen una carga negativa de superficie más elevada que la de los espermatozoides de la cola epididimaria (Bedford, 1.964); esta observación coincide con los estudios histoquímicos en microscopio electrónico que han mostrado, en diferentes especies, un aumento de la afinidad por las partículas cargadas positivamente, en el curso del tránsito epididimario de los espermatozoides y, por consiguiente, un aumento de la densidad de los grupos aniónicos de la superficie del espermatozoide.

Los espermatozoides humanos presentan un aumento de grupos aniónicos en la superficie celular durante la maduración, pero el aumento es regularmente repartido en todas las regiones del espermatozoide mientras que, en las otras especies, las cargas negativas no están distribuidas igualmente sobre la superficie de la célula. Tampoco presentan los espermatozoides humanos orientación preferente en un campo electroforético, característica de otras muchas especies (Bedford et al., 1.973).

Modificaciones debidas a la unión de lecitinas: Se han realizado estudios a partir de lecitinas vegetales que han demostrado modificaciones en la composición hidrocarbonada de la cara externa de los espermatozoides durante la maduración.

Las lecitinas son proteínas vegetales con diferentes posibilidades de unión a los sacáridos, por lo que pueden ser utilizadas para identificar residuos específicos de sacáridos sobre la superficie de las células de mamíferos. Se pueden utilizar diferentes métodos: lecitinas radiactivas para cuantificar los sitios de unión disponibles en la superficie del espermatozoide; lecitinas conjugadas a la ferritina o a la peroxidasa y al fluorocromo para visualizar los sitios de unión al microscopio electrónico u óptico respectivamente; lecitinas específicas para producir aglutinación celular.

Modificaciones macromoleculares: Estudios recientes han definido las alteraciones macromoleculares específicas de la membrana plasmática de los espermatozoides, durante la maduración. Los espermatozoides intactos se incuban con marcadores moleculares radiactivos que se unen a proteínas, glicoproteínas o glicolípidos, de la capa externa de la membrana plásmica; después de marcada, la membrana plasmática se solubiliza y los componentes marcados individualmente se identifican por cromatografía o por separación electroforética.

#### 3.2.4. Capacitación del espermatozoide

En el curso de la capacitación, los espermatozoides sufren las siguientes modificaciones: modificaciones de la carga eléctrica, por parte de glicoproteínas absorbentes en el curso de su paso epididimario; y modificaciones del cociente colesterol/fosfolípidos, correlacionado con el tiempo de capacitación (Davis, 1.981)

Langlais et al (1.981) mediante ultramicroscopia han localizado la presencia de sulfato de colesterol en la membrana plasmática, el cual jugaría un papel estabilizador de la membrana durante la maduración epididimaria. La capacitación comenzaría por una hidrólisis, en presencia de colesterol-sulfatasa, el sulfato de colesterol unido a la membrana atraería un aumento de la tasa de colesterol libre capaz de esterificarse. Después, la albúmina activaría la fosfolipasa  $A_2$  y la acetil-CoA: colesterol O-acetil-transferasa (ACTA) o la lecitina/colesterol acetil-transferasa (LCAT), modificando el producto colesterol/fosfolípidos con la formación de ésteres de colesterol y de lisolecitina. La acumulación de lisolecitina aumentaría la permeabilidad de la membrana al calcio ( $Ca^{++}$ ) y se iniciaría la reacción acrosómica. (Langlais et al, 1.981).

Las modificaciones de membrana observadas en el curso de la capacitación son variables según las especies y no siempre observables in vitro (Phillips, 1.984).

Jeyendran et al. (1.984) han propuesto un test de evaluación funcional de la integridad de la membrana del espermatozoide humano llamado test de hinchamiento hipoosmótico (Hos-test); se trata de medir la aptitud del flagelo a hincharse en presencia de una solución hipoosmótica; para así poder medir la integridad y la actividad funcional de la membrana del espermatozoide. Durante las etapas precedentes a la fecundación, los espermatozoides deberán sufrir importantes modificaciones en la membrana que modificarán su permeabilidad; estas transformaciones no serán posibles si la membrana no está intacta y funcionalmente apta. Existe una correlación positiva entre el porcentaje de espermatozoides capaces de hincharse en esas condiciones hipo-osmóticas y la tasa de penetración de ovocitos de hamster (Jeyendran et al., 1.984).

La reacción acrosómica representa la última fase de la capacitación; la membrana externa del acrosoma y la membrana plasmática se fusionan, aparecen vesículas y las enzimas contenidas en el acrosoma son liberadas; esta reacción puede visualizarse en microscopio electrónico (Soupart y Strong, 1.974) y fotónico (Talbot y Chacon, 1.981). La utilización de la triple coloración puesta a punto por Talbot y Chacon (1.981) permite apreciar dos etapas funcionales del espermatozoide:

- La integridad de membrana.
- La cinética de la aparición de la reacción acrosómica en el curso de la capacitación.

### 3.3. SUPERVIVENCIA Y ELIMINACION ESPERMÁTICA

El epidídimo caudal sirve de depósito a los espermatozoides que están de reserva durante períodos prolongados, pero no ilimitados. Los espermatozoides de conejo, aislados en la cola, son viables durante siete semanas, pero hacia el final de su vida fértil, la mortalidad embrionaria aumenta (Tesh y Glover, 1.969). No se conoce en ninguna especie, incluida el hombre, la duración normal de las reservas de espermatozoides en la cola epididimaria del macho en reposo sexual o activo, así como, tampoco el destino de los espermatozoides no eyaculados.

En los estudios de producción espermática, la discordancia entre el número de espermatozoides producidos por el testículo (producción espermática diaria) y el número de espermatozoides eyaculados (consumo espermático diario) ha conducido a numerosos autores a concluir que más del 50% de la producción espermática se pierde en el tracto genital masculino (Conchie et al., 1.959; Orgebin-Crist, 1.962; Swierstra, 1.968 ).

#### 3.3.1. Pérdida urinaria de espermatozoides:

Se han encontrado espermatozoides en la orina del hombre, de la rata, del conejo y del carnero (Lino et al., 1.967; Johnson, 1.982). En el hombre, como en otras especies, se pierden por la orina pocos espermatozoides, como se ha podido observar en individuos que eyaculan diariamente o cada dos días, representando menos del 2% del consumo espermático; con el reposo sexual el número de espermatozoides en orina aumenta, pero incluso

después de 10 a 13 días de reposo sexual, la pérdida urinaria de espermatozoides no representa más del 17% del consumo espermático (Johnson, 1.982).

### 3.3.2. Reabsorción de los espermatozoides:

La cola del epidídimo no parece estar equipada para una eliminación rápida y eficaz de espermatozoides. En el conejo, 12 semanas tras la vasectomía, el 90% de la producción espermática se encuentra en el esperma acumulado en la cola del epidídimo, sin embargo, el 85% de los espermatozoides retenidos en la cabeza sufren una disolución o una reabsorción en menos de 4 semanas (Paufler y Foote, 1.969).

La disolución espermática ha sido propuesta como un medio de eliminación espermática, pues se han observado espermatozoides degenerados en la cola del epidídimo y en el canal deferente de la rata, del hamster y del cabaya, sin embargo, ésto no se ve frecuentemente, y no puede explicar por sí la desaparición de un gran número de espermatozoides (Cooper y Hamilton, 1.977).

La espermatofagia por células epiteliales epididimarias o macrófagos, se ha observado también en diferentes especies, incluida el hombre (Sinowatz et al., 1.979), observandose principalmente en hombres ancianos, aunque no parece ser un factor importante de eliminación espermática en individuos jóvenes y sanos (Holstein, 1.978). Del mismo modo se ha observado que, tras la vasectomía hay un aumento de la espermatofagia (Phadke, 1.964), que es más importante en el rete testis y los canales eferentes que en el resto del epidídimo (Hoffer et al., 1.975).

Es probable que existan mecanismos responsables de esta eliminación de los espermatozoides no eyaculados y que su predominio pueda depender de la actividad o del reposo sexual.

4. EL ESPERMATOZOIDE

Los espermatozoides son células altamente especializadas cuyo papel es de transportar una copia haploide del genoma masculino hasta el ovocito que contiene una copia haploide del genoma femenino. Este encuentro provocará la fusión de los dos genomas y se iniciará el proceso del desarrollo embrionario.

#### 4.1. MORFOLOGIA DEL ESPERMATOZOIDE

El espermatozoide humano se caracteriza por su gran heterogeneidad de forma y talla; no tiene una talla estandar pero se reparte según una distribución unimodal (Freud, 1.968), siendo difícil frecuentemente determinar los límites precisos para distinguir el normal del anormal. De igual forma existe una diferencia importante de los porcentajes de una medición a otra, jugando un papel muy importante la subjetividad de la evaluación, pero sobre todo los criterios de análisis y clasificación.

Se han descrito numerosas clasificaciones morfológicas de los espermatozoides humanos, como (Moench y Holt, 1.937; Mac Leod, 1.964; Freud, 1.966; Eliasson, 1.971; existiendo gran diversidad de unas a otras, tanto en el número de clases como de categorías; algunos autores no consideraban atípicas flagelares (Mac Leod, 1.964); otros realizaban descripciones imprecisas. Actualmente se utiliza en la mayoría de los laboratorios el sistema propuesto por David et al., 1.975, el cual distinguen 13 clases de atípicas (Tabla 4.1)

realizando las correspondientes descripciones precisas de cada una con el microscopio óptico, y que se corresponden a las anomalías observables con el microscopio electrónico (Bisson y David, 1.975 (b)).

Tabla 4.1. Clasificación de atípicas del espermatozoide humano (David et al., 1.975)

CABEZA	PIEZA INTERMEDIA	FLAGELO
Alargada	Restos citoplasmáticos	Ausente
Adelgazada	Acodada	Corto
Microcéfala		Enrollado
Macrocéfala		Duplicado
Duplicada		
Irregular		
En lisis		

Los estudios con microscopio electrónico, de barrido o de transmisión, permiten un estudio más preciso de la morfología espermática (Bisson y David, 1.975 (b); Bartoov et al., 1.982). Así, Bartoov et al., (1.982) han encontrado en un estudio comparativo utilizando las tres técnicas microscópicas con una misma preparación, que el porcentaje de espermatozoides normales era del 60% con el microscopio óptico, el 30% con el microscopio electrónico de barrido y del 15% con el microscopio electrónico de transmisión. Por lo que es muy importante hacer una deficiencia precisa de las anomalías observadas y cuantificar en el examen un número mínimo

de células para hacer un examen morfológico significativo (Escalier y Bisson, 1.980).

Cualquiera que sea el método empleado podemos concluir que la morfología espermática es muy variable, incluso en un mismo sujeto, y que el pronóstico de fertilidad aumenta regularmente con el porcentaje de formas normales (Jouannet et al., 1.981(a)).

La morfología del espermatozoide comprende dos elementos principales: la cabeza y la cola.

#### 4.1.1. Cabeza del espermatozoide

La cabeza del espermatozoide comprende el núcleo y el acrosoma recubierto por la membrana plasmática. Se ha comprobado que mide aproximadamente entre 4 y 5 micras de longitud, 3 de anchura y de 1 a 5 de espesor, aproximadamente la mitad de un hematíe; y que la razón longitud/anchura comprende entre 1,5 y 2 micras. Todo lo anterior nos permite hacer una apreciación más exacta, pudiendo estimar que un espermatozoide normal es aquel en el cual su razón se mantiene, aunque varíe ligeramente las medidas de longitud y/o anchura. En la tabla 4.2. se indican las dimensiones de las diferentes partes de la célula según diferentes autores.

Núcleo: El núcleo es una masa haploide de ADN, que va a fusionarse con el núcleo del ovocito en el momento de la fecundación.

El núcleo ocupa prácticamente toda la cabeza, de color oscuro, visto frontalmente tiene forma ovalada y con contorno neto y regular; sagitalmente es piriforme, con los dos tercios anteriores aplastados y el tercio posterior redondeado; un surco, el "anillo nuclear" marca a menudo el límite entre esas dos partes.

A nivel de la implantación del flagelo, la base del núcleo está ligeramente deprimida formando una especie de cúpula, la "foseta de implantación".

Tabla 4.2. Dimensiones del espermatozoide humano, expresado en micras, según diferentes autores.

	Hostein et Rosen, 1.981	Flechon y Hafez, 1.976	Serres et al., 1.983
Longitud total	55 - 56	59,6 - 61,5	
Cabeza:			
Longitud	3,4 - 4,6	4,5	
Diámetro	1,5 - 2,8	3	
Pieza intermedia			
Longitud	3,5 - 5,0	5 - 7	2,7 - 4,9
Diámetro	0,6 - 0,8		0,8
Pieza principal			
Longitud	44 - 50	45	53
Diámetro	0,4 - 0,5		0,4 - 0,5
Pieza terminal			
Longitud	4 - 6	5	1 - 5
Diámetro	0,2		0,2

El núcleo es inactivo, no hay síntesis de RNA detectable, debido a que la vida del espermatozoide es tan corta que realiza su

función sin expresión genética. La cromatina es generalmente densa y homogénea sin estructuras discernibles, pero frecuentemente es fácil de reconocer en ella una constitución granulosa.

En la parte anterior aplanada de la cabeza, hay zonas claras sin límites membranosos, que pueden parecer vacías o contener un material poco denso, granulo-filamentoso, impropriamente llamadas "vacuolas nucleares"; sin embargo, no son consideradas patológicas si son pequeñas y sin membrana limitante; a veces están muy extendidas, son numerosas o bien se acompañan de una cromatina granulosa, lo cual podría ser un signo de inmadurez simple, un principio de degeneración de espermatozoides inmaduros o un defecto de condensación de la cromatina.

El núcleo del espermatozoide está limitado por una membrana doble, estrechamente unida a la cromatina, salvo por la región postero-lateral del núcleo alrededor de la zona de implantación del flagelo; en este lugar se desvía limitando el espacio perinuclear posterior que contiene un material finamente granuloso; a ese nivel se pueden observar algunos poros en la membrana nuclear.

La membrana nuclear, en la foseta de implantación del flagelo, parece participar en el "anclaje" de la pieza conectiva del flagelo; en efecto, en este lugar sus dos hojas se espesan y el espacio que las separan regularmente de

unos 70 Å se desvia netamente. En frente de esta zona, junto a la hoja externa, existe una densificación continua de unos 100 Å de espesor, la "placa basal". Esta modificación de estructura se extiende estructuralmente a las dimensiones de la zona en contacto con la pieza conectiva; funcionalmente esta zona es muy importante, ya que asegura la articulación entre el núcleo voluminoso y denso y el flagelo propulsor dotado de una gran movilidad.

Acrosoma: Estructura membranosa situada entre el núcleo y la membrana plasmática, forma una especie de cofia encapuchando al núcleo. Estructural y funcionalmente esta constituido por un segmento anterior principal, una región posterior, el segmento ecuatorial. El acrosoma se forma a partir del aparato de Golgi y contiene enzimas hidrolíticas, cuya función principal es la de facilitar la penetración del espermatozoide a través de las envolturas del óvulo.

Los dos tercios anteriores de la cabeza están envueltos por dos membranas conocidas como membranas acrosómicas interna y externa, en cuyo interior se encuentra el contenido acrosómico.

El acrosoma está limitado por una membrana simple que contiene un material de densidad media, perfectamente homogénea y sin estructura aparente un poco más densa en los 2/3 o en los 3/4 anterior o segmento principal, donde las paredes externa e interna están separadas

por cerca de 700 Å; y el 1/3 ó 1/4 posterior o segmento ecuatorial, separadas ambas paredes por unos 750 Å. Las dimensiones relativas de los segmentos, el paralelismo de las paredes, la homogeneidad del contenido, son importantes para la apreciación de la homogeneidad de la célula, pues se observan numerosas malformaciones en hombres sospechosos de esterilidad (Bisson, 1.975; Bisson y David, 1.975(b)).

El contenido del acrosoma está formado por un conjunto de enzimas que colaboran en la penetración del espermatozoide en la zona pelúcida (acrosina, hialuronidasa, etc.). La hialuronidasa, enzima situada en la superficie del segmento principal del acrosoma (Flechon y Dubois, 1.975), junto con otra enzima de depresión de la "corona radiada", disocia las células foliculares.

La rotura de la membrana exterior y la liberación de las enzimas interacrosómicas en las vías genitales femeninas es la reacción acrosómica.

El ovocito del mamífero está envuelto por una espesa capa de naturaleza glicoproteica llamada zona pelúcida. Centenares de células rodean ésta zona, unidas por una matriz de glicopolisacáridos; estas células forman el cumulus oophorus. Cuando los espermatozoides llegan a las envolturas del ovocito sufren la reacción acrosómica, en el curso de la cual la membrana acrosómica externa se fusiona

en ciertos puntos; esta fusión, desencadenada por cambios membranales que permiten la entrada de calcio, crea perforaciones a través de las cuales el contenido acrosómico es vertido lentamente al exterior; las enzimas liberadas por el acrosoma, principalmente la hialuronidasa, digieren localmente la matriz de mucopolisacáridos que une las células del cumulus oophorus, permitiendo así al gameto masculino alcanzar la zona pelúcida. La función exacta de estas enzimas acrosómicas a nivel de la zona pelúcida no está enteramente dilucidada; parece ser que una cantidad importante de estas enzimas están todavía presentes cuando el espermatozoide alcanza la zona pelúcida y que una proteasa está implicada en la fusión con el ovocito; no obstante, otras experiencias sugieren que el acrosoma puede desaparecer totalmente antes de alcanzar la zona pelúcida y que la función proteásica en atravesar aquella célula es puesta en duda; igualmente para algunos autores el transporte a través de la zona pelúcida es puramente mecánico, mientras que para otros las proteasas estarían implicadas en dicho mecanismo (Phillips, 1.984).

Espacio peri-acrosomial y capa post-acrosomial: La tercera parte posterior de la cabeza del espermatozoide es conocida como la región post-acrosomial, separada de las dos terceras partes anteriores (región acrosómica) por un surco; a menudo este espacio es en parte ocupado por una densificación, que posteriormente parece unir las dos membranas, membrana plasmática y membrana nuclear. El espacio inter-membranoso

se alarga y forma un verdadero manguito citoplasmático peri-nuclear posterior, continuándose hacia atrás alrededor de la raíz flagelar.

Membrana plasmática: La membrana plasmática recubre estrechamente el acrosoma y la capa post-acrosómica; en la zona donde parece unirse con la membrana nuclear se define a veces una depresión, el anillo posterior.

El anillo posterior parece dividir la cabeza en dos partes, hacia delante se encuentra la membrana temporal que participa activamente en la recomposición de las membranas superficiales, que caracterizan a la reacción acrosómica; y hacia atrás, la zona de membrana estable.

Unión entre cabeza y cola espermática: La unión entre la cabeza y la cola del espermatozoide es una zona compleja y de gran importancia que soporta dos estructuras esenciales. Su malformación puede ser causa de infertilidad por quedar inmóvil el espermatozoide.

Las dos estructuras esenciales son:

- Centriolo proximal: situado en la foseta de implantación, sobre la capa transversal, bajo la capa basal pero formando un ángulo de 70-80° con el eje del flagelo. Estructura centriolar bastante típica, se presenta como un cilindro cuya pared está formada por 9 triadas tubulares o triplete.

- Pieza conectiva: alrededor del centriolo se encuentra una estructura en forma de embudo poco ensanchado, constituido por 9 espesas

columnas.

El centriolo se encuentra a la entrada de una especie de embudo poco ensanchado limitado por 9 columnas constituidas cada una por el apilamiento de aproximadamente una docena de discos densos de varios Å de espesor (columnas segmentadas) dispuestos en círculo. Los primeros segmentos parecen fusionarse con sus homólogos de las columnas vecinas, estando en relación con estructuras densas mal definidas y la placa basal. Por el lado opuesto, el flagelar, las columnas se continúan por las fibras del flagelo.

Bajo el centriolo, en el centro del embudo, comienzan los túbulos del complejo axomial del flagelo. Alrededor del pie de las columnas segmentadas se observan las primeras mitocondrias de la porción intermedia.

#### 4.1.2. Cola del espermatozoide o flagelo

El flagelo es una larga estructura filiforme que tiene como función la de propulsar hacia adelante a la célula. Esta propulsión es el resultado de ondulaciones periódicas más o menos simétricas del flagelo. En la mayoría de las especies el flagelo tiene varias veces la longitud de la cabeza. Tiene una constitución interna común a la mayoría de los flagelos y cílios del reino animal, es decir el axón, cilindro constituido de 9 dobles tubos periféricos rodeando a 2 tubos centrales. En los mamíferos el axón está rodeado de 9 gruesos cilindros

periféricos auxiliares de forma más o menos aplanada, todos envueltos por una gruesa capa fibrosa. Estas dos estructuras adicionales no poseen aún un papel bien establecido de su responsabilidad en la falta de flexibilidad del flagelo (Phillips, 1.972).

La cola del espermatozoide mide aproximadamente alrededor de 50 micras. Es el medio con el cual se mueve el espermatozoide y tiene una estructura compleja; debido a su complejidad la anomalías en la cola del espermatozoide son relativamente frecuentes y pueden ser a menudo una causa de movilidad anormal o disminuida del espermatozoide y por tanto, de fallos reproductivos (Zamboni et al., 1.971). Un porcentaje de flagelos cortos y/o ausentes, asociado a una asteno-zoospermia, justifica el estudio con microscopio electrónico que podrá precisar el defecto de estructura flagelar.

La cola del espermatozoide está constituida por tres partes: la pieza intermedia, la pieza principal y el segmento terminal.

Pieza intermedia: La pieza intermedia es una estructura que une la cabeza con el flagelo y en la que se encuentran las mitocondrias dispuestas en la perifería rodeando el axón y las fibras auxiliares; las mitocondrias abastecen, en forma de ATP, la energía necesaria para la generación y propagación de ondas en el flagelo, necesarias para la progresión del espermatozoide.

La pieza intermedia está formada de dentro hacia afuera, por el complejo axomeral rodeado de fibras densas, de una vaina mitocondrial incluida en el citoplasma y por la membrana plasmática:

- Complejo axomeral: organizados a partir del centriolo distal, ocupa el centro de la pieza intermedia y principal del flagelo; presenta una estructura centriolar típica, formada por dobles parejas de microtúbulos (dobletes), los cuales circundan a dos microtúbulos sencillos más gruesos y más separados el uno del otro. Uno de los microtúbulos de cada doblete, llamado A, forma un tubo completo; el segundo elemento llamado B, no tiene pared propia que lo separe del microtúbulo A. Cada microtúbulo A está unido a brazos formados por dyneina, sustancia protéica que puede convertir energía química en contractil.

Mohri y Ogawa (1.975) demostraron que los flagelos y cilios contienen proteínas contractiles, que tienen una actividad ATPásica. La tubulina es la proteína microtubular, no específica del espermatozoide; la dyneina sería la proteína, de actividad ATPásica, portada por los brazos en gancho de los microtúbulos A.

Se ha demostrado también que existe movimiento de los cilios o flagelos, deslizándose un túbulo a lo largo del siguiente (Satir, 1.961), fenómeno muy similar al desplazamiento de la actina sobre la miosina a nivel muscular.

La inducción o coordinación de este fenómeno, a todo lo largo del complejo axomeral, va a provocar la curvatura y la ondulación del flagelo, responsable del movimiento del espermatozoide.

Anomalías o ausencias de los brazos de dyneina, son una causa común de inmovilidad y movimiento disminuido o deficiente del espermatozoide, demostrándose perturbaciones a nivel de los brazos y de los puentes intertubulares que serían causa de una asteno-zoospermia (Pedersen, 1.969).

La localización y propiedades de la dyneina participa en el movimiento de los túbulos; las mitocondrias forman el ATP y los iones de magnesio y de calcio intervienen también en estos mecanismos.

- Fibra densa: enfrente y por fuera de cada doblete se sitúa una fibra densa, hay por tanto 9. Su diámetro es aproximadamente 3 veces superior a un doblete. Convencionalmente a cada fibra densa se le atribuye una cifra para reconocerlas, la fibra 1 es aquella que se encuentra en la perpendicular al doblete central, continuando la numeración hasta el 9, en sentido horario, numeración que corresponde también a los dobletes.

A lo largo del flagelo, las fibras van estrictamente paralelas, prolongan las columnas segmentadas y atraviesan la pieza intermedia conservando el mismo diámetro. Juegan un papel

fundamental en la elasticidad del flagelo.

- Vaina de mitocondrias: transversalmente forman una corona compuesta de dos mitocondrias en forma de "habichuela" estrechamente unidas. Longitudinalmente se observa la espiral mitocondrial como un rosario, constituida por una veintena de mitocondrias alrededor de las fibras densas; su constitución interna es muy particular, las crestas son más o menos concéntricas, muy largas, delimitando a veces un espacio claro central; tienen forma irregular y talla variable.

La relación íntima de las mitocondrias con el sistema tubular permite el transporte fácil de energía. La organización morfológica normal de los microtúbulos y sus interconexiones son vitales para el movimiento normal del espermatozoide y por tanto para la fertilidad. La camisa mitocondrial participa en la formación del substrato energético necesario para el movimiento.

- El citoplasma y la membrana plasmática: en el hombre se reconoce frecuentemente un manguito citoplasmático alrededor de las mitocondrias, continuación de la cola, pudiendo estar vacío o contener alguna vesícula clara; va adelgazando poco a poco hacia el extremo distal de la pieza intermedia. La membrana plasmática que lo recubre, no presenta ninguna particularidad, salvo a nivel del estrechamiento que marca el fin de la pieza intermedia, donde se observa una densificación de la pared interna de la

membrana. Forma en el espacio una especie de anillo, el "annulus" o anillo de Jensen. Este anillo es bien visible en las espermátidas pero inconstante en los espermatozoides maduros.

Pieza principal: La pieza principal está formada por elementos longitudinales del complejo axomeral, de las fibras densas y de la vaina fibrosa.

Los elementos del complejo axomeral conservan practicamente el mismo aspecto a todo lo largo del flagelo. Las fibras densas por el contrario se modifican, disminuyendo progresivamente de diámetro y desaparecen en un orden bien establecido. La fibra 4 es la primera en desaparecer, la siguiente la 2 y 7, después la 5 y 8, y por último la 9 y 1, la fibra 3 y 8 terminan incorporandose a las columnas longitudinales de la vaina fibrosa enfrente de las cuales se encuentran.

La vaina o membrana fibrosa rodea a las fibras densas, comienza inmediatamente por detrás del anillo y se extienden por casi la totalidad del flagelo. Está constituida, longitudinalmente, por elementos semicirculares superpuestos y bien limitados. Presenta dos refuerzos, las coronas fibrosas, situadas en el mismo plano que los dos túbulos centrales del complejo axial, por consiguiente enfrente de las fibras 3 y 8. Por otra parte estas fibras (3 y 8) es aquí donde se confunden con las columnas fibrosas en el tercio distal de la

pieza principal.

La vaina se interrumpe bruscamente cerca del extremo distal del flagelo; esta detención determina el fin de la pieza intermedia, recubierta por la membrana plasmática del espermatozoide en toda su longitud.

Pieza o segmento terminal: La pieza terminal del flagelo está formada por elementos del complejo axial, recubiertos por la membrana plasmática, desde donde se interrumpe la vaina fibrosa. A ese nivel el complejo axial pierde su disposición rigurosa circular, para hacerse desordenada en su parte distal.

#### 4.2. ESTRUCTURA DEL FLAGELO

Aunque la observación del movimiento flagelar se realizó en 1.675 por Van Leeuwenhoek, no fué hasta el siglo XIX en que Sharpey precisó el papel de motor de los cilios y de los flagelos, y que Ballowitz describió la estructura fibrilar del flagelo (En Gibbons, 1.981).

La organización estructural cilíndrica "9+2" fué descrita para los flagelos de espermatozoides de mamíferos y, rápidamente, la uniformidad estructural de los cilios y de los flagelos a través de la biología vegetal y animal ha sido reconocida particularmente por Manton y Clarke (1.952), Fawcett y Porter (1.952), y más recientemente, por Gibbons (1.981).

El axon del flagelo está constituido por 9 dobletes microtubulares periféricos rodeando 2 microtúbulos centrales y estos últimos rodeados por una fina capa fibrosa. Cada microtúbulo está formado por la yuxta-posición de protofilamentos, formados por el apilamiento alternativo de sus unidades alfa y beta de tubulina.

- Microtúbulos A, de sección circular, compuestos de 13 protofilamentos de tubulina como los microtúbulos centrales.

- Microtúbulos B, túbulos incompletos, abrazados a los tubos A y formados de 10 ó 11 protofilamentos según la especie.

- Puentes radiales, estructura rígida que une cada microtúbulo A a la vaina central rodeando los 2 microtúbulos centrales, miden 20 nm de longitud, terminando por una extremidad hinchada o cabeza radiada, al contacto con la vaina central. Su periodicidad longitudinal es variable según las especies y los puentes se repiten a intervalos fijos por grupos de 2 o de 3.

- Uniones interdobletes o ligaduras de nexina, identificadas por Allen (1.968) y Stephens (1.970), constituyen un verdadero cimientto elástico entre los dobletes que soportan los microtúbulos A y B.

- Brazos internos y externos, estos brazos de dyneina. orientados hacia los microtúbu-

los B adyacentes, son los elementos claves del movimiento. Los brazos externos miden alrededor de 20 nm de longitud en dirección de la membrana celular, para después formar un gancho dirigido en sentido horario (visto desde la base del flagelo hacia la extremidad) (Gibbons y Grimstone, 1.960); y los brazos internos están ligeramente curvados con una concavidad interna e hinchados en su extremidad. La periodicidad longitudinal de los brazos es de alrededor de 24 nm (Warner y Mitchell, 1.978). El brazo externo parece inclinado en relación al axón longitudinal, aspecto que depende de la presencia de ATP; finalmente los brazos de dyneina se extienden en dirección del microtúbulo B adyacente y pueden, en función de las concentraciones de iones o la concentración de ATP, extenderse completamente hasta contactar con el microtúbulo B (Sale y Gibbons, 1.979).

El plano del movimiento flagelar es perpendicular al plano que pasa por los microtúbulos centrales. Afzelius et al, 1.975, han observado la posición asimétrica de los brazos permitiendo numerar los dobletes externos sin ambigüedad.

Phillips (1.972) ha demostrado que en diversos mamíferos la amplitud de los latigazos flagelares es inversamente proporcional al diámetro de las fibras accesorias; de igual modo los flagelos de jóvenes espermátidas de rata son capaces de moverse, este movimiento disminuye de amplitud en el curso de la maduración, paralelamente a la aparición de las fibras

accesorias (Walt y Hedinger, 1.983).

#### 4.2.1. Composición proteica

A partir de los trabajos realizados por Gibbons (1.963) sobre los cilios de protozoos del género *Tetrahymena*, se han puesto en evidencia dos proteínas axonales principales, la dyneina ATPasa, principal componente de los brazos emergentes del microtúbulo; y la tubulina, elemento principal de los microtúbulos, representando el 70% de las proteínas axomerales.

La estructura molecular de las fibras accesorias y de la capa fibrosa en los espermatozoides de mamíferos no se conoce bien, aunque parece estar compuesta de una proteína de tipo queratina sin actividad ATPásica (Baccetti et al., 1.970). Esta estructura recordaría a la de la membrana ondulante del espermatozoide de sapo, sugiriendo un papel potencial en la génesis del movimiento, siendo particularmente rica en residuos cisteínicos y en zinc (Olson y Sammons, 1.980).

#### 4.3. ENERGETICA DEL MOVIMIENTO FLAGELAR

La responsable de la producción de la energía necesaria para el movimiento es la dyneina ATPasa por hidrólisis del ATP. El flagelo de los espermatozoides posee por sí mismo los elementos necesarios para el movimiento.

En 1.955, Hoffman-Berling inhibe los movimientos flagelares añadiendo ATP y magnesio ( $Mg^{++}$ ); este fenómeno se explica por el hecho de que el tratamiento con glicerina perfora la membrana celular, permitiendo así un acceso directo de ATP a la maquinaria axonal; sobre tal sistema desmembranal, se ha demostrado que la velocidad de propagación de las ondas flagelares dependen de la concentración de Mg-ATP y de la velocidad de hidrólisis (Gibbons y Gibbons, 1.976).

La hidrólisis del ATP se realiza por una enzima, la dyneina, localizada sobre los brazos internos y externos de los microtúbulos A.

#### 4.4. MECANICA DEL MOVIMIENTO FLAGELAR

La descripción molecular de los constituyentes mayores del flagelo (tubulina y dyneina) es comparable con los del músculo estriado (actina y miosina), observándose inicialmente que la contracción de los microtúbulos estaba implicada en el movimiento flagelar (Bray, 1.955). La teoría del deslizamiento de los microtúbulos ha sido adoptada del modelo actina/miosina de la fisiología muscular; esto es lo que ha conducido a Afzelius (1.959) para sugerir un movimiento de deslizamiento microtubular donde la curvatura del flagelo resulta del deslizamiento del uno sobre el otro de los dobletes microtubulares adyacentes, calculando que un deslizamiento relativo del 0,23 micras bastaría para explicar la curvatura observada.

Existen argumentos experimentales a favor del mecanismo del movimiento flagelar, por deslizamiento microtubular. Satir (1.968) demuestra por microscopía electrónica, que la longitud total de los dobletes no varía en el curso del batir o latigazo flagelar y además, que los microtúbulos situados en el interior de la curvatura del cilio saltarían más allá de aquellos situados en el exterior, como si los túbulos resbalaran los unos sobre los otros. Además, ha demostrado que la longitud del desplazamiento de un doblete es cuantitativamente igual al que se podría predecir por su geometría en condiciones de reposo. La demostración experimental del deslizamiento fué finalmente realizada por Summers y Gibbons (1.973) sobre axones desmembrados, a los cuales las uniones interestructurales habían sido destruidas por proteólisis; la adicción de Mg-ATP a ese modelo, provoca el choque violento de los microtúbulos.

El examen microscópico de la digestión de las células por tripsina, en función del tiempo, ha revelado que la tasa de la desintegración axonal, bajo el efecto del ATP, es paralela a la tasa de destrucción de las uniones de nexina y de las cabezas radiadas, mientras que los brazos de dyreina y los túbulos mismos son resistentes a la tripsina.

La conversión del deslizamiento en curvatura hace intervenir a los puentes radiales, modificando su posición y formando un ángulo de  $33^\circ$  con respecto a su posición basal y

perpendicular al doblete (Warner y Satir, 1.974). Esto sugiere que los puentes radiales pueden desatarse y reatarse a la vaina central; siendo desconocido el mecanismo que controla esta ligadura, aunque recientemente se ha asociado al mismo una actividad ATPásica (Baccetti et al., 1.981).

Las ondas generadas por los deslizamientos microtubulares inducen el movimiento flagelar. En los mamíferos, la amplitud de la curvatura aumenta progresivamente la longitud del flagelo y si la onda inicial es aplanada, el movimiento es tridimensional a nivel distal (Rikmenspoel et al., 1.961); la forma del movimiento cambia singularmente en la vecindad del moco cervical.

En la hidrodinámica del movimiento flagelar intervienen numerosos factores; la resistencia del medio exterior, la generación de ondas y la transformación deslizamiento curvatura; han sido propuestos numerosos modelos teóricos que expliquen todo esto (Brokaw, 1.971; Brokaw, 1.972; Holwill, 1.977; Shingyoji et al., 1.977).

#### 4.5. REGULACION DEL MOVIMIENTO DEL ESPERMATOZOIDE

Numerosos factores pueden afectar al movimiento del espermatozoide como la concentración, la viscosidad del plasma seminal, los líquidos epididimarios, las secreciones del tracto genital femenino, y las sustancias segregadas por el ovocito.

Las catecolaminas (Cornett y Meizel, 1.978) y la taurina (Mrsny et al., 1.979) estimulan el movimiento de los espermatozoides de hamster y permiten conservar a éste último en estado móvil de larga duración; después de 3-4 horas de contacto con esas sustancias, los espermatozoides se hacen hiperactivos y el tipo de movimiento cambia radicalmente; los espermatozoides están ahora capacitados.

La taurina y las catecolaminas son sustancias que normalmente se encuentran en el tracto genital femenino (Meizel et al., 1.980); los colinomiméticos y las anticolinesterasas tienen igualmente efectos sobre la movilidad de los espermatozoides (Nelson et al., 1.980), pero siendo su efecto mucho menos espectacular que los anteriores.

En numerosas especies, los espermatozoides de la cola del epidídimo son inmóviles; una vez diluidos, estos espermatozoides muestran una movilidad normal y progresiva. En la rata, ésta inhibición del movimiento en el interior del epidídimo es debida a la presencia de una glicoproteína que es la responsable del alto nivel de viscosidad del fluido epididimario (Usselman et al., 1.982); esta glicoproteína llamada inmovilina, contiene alrededor del 50% de hidratos de carbono. Otra proteína del líquido epididimario sería la responsable de la adquisición de la movilidad progresiva; en presencia de cafeína (5-30 mM), esta proteína llamada proteína transmisora de movilidad (forward

motility protein, FMP) estimula la progresión hacia adelante de los espermatozoides aislados de la cabeza del epidídimo (Acott y Hoskins, 1.978); sin embargo, el hecho de que esta proteína tiene igualmente la propiedad de disminuir la adhesión de los espermatozoides a las láminas del microscopio ha arrojado un dato sobre la función fisiológica de la FMP (Stephens et al., 1.981); por el contrario un estudio cinematográfico reciente demuestra claramente que la FMP favorece la progresión hacia adelante del espermatozoide inmaduro de la cabeza del epidídimo del buey (Acott y Hoskins, 1.983).

Otra proteína, presente en el líquido seminal de numerosas especies, afecta al movimiento del espermatozoide desmembranado y reactivado (De Lamirande et al., 1.983); este factor, específico del líquido seminal y cuya acción es reversible por el ATP (De Lamirande y Gagnon, 1.983) podría ser un inhibidor de la dyneina ATPásica.

El ovocito puede influenciar de numerosas formas el comportamiento del espermatozoide. Dos grupos de investigadores, independientemente han demostrado que un factor, proveniente de la capa gelatinosa del huevo de erizo de mar, afecta la respiración y la movilidad de los espermatozoides (Suzuki et al., 1.981; Hansbrough y Garbers (a), 1.981; Hansbrough y Garbers (b), 1.981; Garbers et al., 1.982); este factor llamado "speract" (activador del espermatozoide) es de naturaleza peptídica, contiene 10 aminoáci-

dos y su presencia tiene el efecto de aumentar el intercambio  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , los nucleótidos cíclicos y el pH intracelular. El movimiento flagelar también puede ser modulado directamente por los signos iónicos recibidos sobre la membrana citoplasmática; así por ejemplo, la monensina, un pequeño péptido de naturaleza ionógena  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , provoca un influjo de  $\text{Na}^+$  en los espermatozoides ejerciendo así un efecto estimulante sobre el movimiento (Hansbrough y Garbers (a), 1.981), efecto similar al anterior factor activador del espermatozoide.

No ha sido demostrado de manera convincente ningún quimiotactismo entre el espermatozoide y el ovocito de mamíferos, a pesar de las tentativas hechas con péptidos sintéticos de tipo met-leu-phe (metionina-leucina-fenilalanina) (Iqbal et al., 1.980), por el contrario sí se ha establecido un quimiotactismo entre las especies de fertilización externa (Miller y Brokaw, 1.970). Recientes estudios entre los celentéreos Sifonóforos, demuestran que los niveles de calcio libre intraflagelar es quien controla este fenómeno; en esta especie, el quimiotactante se localiza en la capsula que recubre el polo de fecundación del huevo (Cosson et al., 1.983); en los casos de quimiotactismo en las especies de fertilización externa, la detección por el espermatozoide de concentraciones crecientes de quimiotactante provoca la migración dirigida en círculo cada vez más estrecha de éste último hasta la fuente del quimiotactante.

La trayectoria del espermatozoide depende de la forma del ondulamiento flagelar, así un ondulamiento simétrico origina una trayectoria dominante derecha, mientras que un ondulamiento flagelar asimétrico engendra trayectorias helicoidales o en pequeños círculos. La simetría del latigazo flagelar depende, entre otros, de la viscosidad del medio externo y de la concentración intracelular de calcio libre; aunque el papel del calcio en la movilidad del espermatozoide de mamífero sea incierto, salvo en el fenómeno de capacitación, el calcio juega un papel muy importante en el movimiento de los cilios y flagelos de otras especies; así, en el género *Paramecio* (Holwill, 1.977) y en el género *Chlamydomonas* (Schmidt y Eckert, 1.976), el calcio determina la propulsión hacia adelante o atrás de la célula. El calcio afecta igualmente la simetría del movimiento flagelar de los espermatozoides del erizo de mar (Brokaw et al., 1.974). En presencia de calcio la asimetría del latigazo flagelar aumenta de forma que los espermatozoides nadan en círculos cada vez más pequeños; no hay sin embargo, ningún efecto significativo sobre la frecuencia de los latigazos, la longitud y la curvatura media de la onda flagelar (Brokaw, 1.979). Entre los mamíferos, el calcio ( $9 \mu\text{M}$ ) bloquea el movimiento de los espermatozoides desmembrados y reactivados del perro (Tash y Means, 1.982).

Los primeros estudios implicando al AMPc en el control de la movilidad de los espermatozoides han sido realizados por Garbers et

al. (1.971), han observado que la cafeína, la papaverina y los derivados cíclicotripterico del AMPc prolongan la duración de la movilidad de los espermatozoides de buey; los inhibidores de la fosfodiesterasa, semejante a la cafeína, aumenta el nivel de AMPc, de la respiración y de la movilidad en los minutos siguientes a su adición.

En los sistemas desmembrados, el AMPc es responsable de la iniciación del movimiento de los espermatozoides de trucha (Morisawa y Okuno, 1.982); estimula igualmente al del buey (Lindemann, 1.978) y al del perro (Tash y Means, 1.982); por el contrario, en otras especies de mamíferos, como el hamster (Mohri y Yanagimachi, 1.980) y el conejo (De Lamirande et al., 1.983), el AMPc no produce un efecto significativo sobre el movimiento de los espermatozoides desmembrados y reactivados. En general, parece que el AMPc afecta más a los espermatozoides inmaduros o parcialmente dañados que aquellos que tienen una movilidad y una frecuencia normal (Mohri y Yanagimachi, 1.980).

5. FLUIDO SEMINAL

El semen es un líquido opalino y gris que se segrega en el momento de la eyaculación, formado por las secreciones de todas las glándulas anejas del aparato genital masculino, así como por el componente testicular. Generalmente, ésta mezcla se forma según una cronología bien precisa, desencadenada por un conjunto neuromuscular complejo y específico; después de la fase de pre-eyaculado, que corresponde a la secreción de las glándulas bulbo-uretrales y las glándulas de Littre, la primera parte de la eyaculación está compuesta por secreciones de origen prostático y epidídimo-testicular, mientras que la secreción de la vesícula seminal forma lo esencial del volumen final. Incluso los sistemas de conductillos contribuyen al volumen de la eyaculación y el conducto del epidídimo añade sustancias bioquímicas al semen que son importantes para la función normal del espermatozoide. Por el contrario la proporción de volumen que aportan los testículos es relativamente pequeña (Tabla 5.1.).

Tabla 5.1. Porcentaje de cada una de las secreciones que componen el líquido seminal (Lunquist, 1.949).

ORIGEN	% EYACULADO
Testículo	5
Vesícula seminal	46 - 80
Próstata	13 - 33
Glándula bulbo-uretral y uretral	2 - 5

En primer lugar, en la secuencia eyaculatoria, el esfínter liso de la uretra se cierra; el plasma epididimario y los espermatozoides de reserva en la cola del epidídimo se ponen en contacto con la secreción prostática, produciéndose una interacción compleja entre estos tres componentes, influyendo sobre la movilidad del espermatozoide (Soufir et al., 1.981).

El volumen medio del semen en hombres fértiles varía de 2,5 a 4 ml según la serie, se puede estimar como valor normal el situado entre 1,5 y 6 ml (Tabla 5.2).

Tabla 5.2. Volúmenes normales según diferentes autores.

AUTOR	VOLUMEN (ml)	
	Min.	Max.
Freund y Peterson (1.976)	1,0	5,0
Eliasson (1.981)	1,0	6,0
Jouannet et al. (1.981)(a)	1,9	6,1

(Min-Máx, 10<sup>o</sup>-90<sup>o</sup> percentil)

Las variaciones, tanto cuantitativas como cualitativas, de una o más de las secreciones que constituyen el semen, van a tener un efecto importante tanto en la concentración del esperma en el eyaculado, como en la función misma del espermatozoide; así pues, alguna alteración patológica de las glándulas anejas puede ser el origen de una infertilidad.

Cada una de estas secreciones son emitidas individualmente a la uretra posterior, no mezclándose hasta que son propulsadas en la eyaculación, por lo que es posible hacer una recogida cuidadosa del eyaculado por partes (Eliasson, 1.959) y su análisis posterior, determinando posibles causas de infertilidad masculina.

El semen está constituido por los espermatozoides y el plasma seminal.

#### 5.1. PLASMA SEMINAL

##### 5.1.1. Composición bioquímica

El plasma seminal está constituido principalmente por las secreciones de la vesícula seminal y de la próstata, aunque los testículos, el epidídimo y el conducto deferente participan también en su formación (Tabla 5.3.).

El volumen normal del plasma seminal se puede considerar entre 1,5 y 6 ml, no estando relacionado con el peso corporal ni sometido a un mecanismo homeostático como el plasma sanguíneo.

Se pueden determinar diferentes componentes bioquímicos en el plasma seminal, jugando un papel de "marcadores bioquímicos" específicos de algunas glándulas, cuya medida puede aportar una información más precisa sobre la actividad

de dicha glándula.

Tabla 5.3. Principales constituyentes bioquímicos del plasma seminal (Jequier y Crich, 1.986).

ORIGEN	CONSTITUYENTES BIOQUIMICOS
Testículo	Testosterona Proteína ligadora androgénica Transferrina Inhibina
Epidídimo	Carnitina Inositol Lípidos, glicerofosforilcolina Proteína epididimaria de la movilidad
Vesícula seminal	Fructosa Prostaglandinas Sustancia revestidora del semen
Próstata	Proteasa Espermina Fosfatasa ácida Citrato Calcio, magnesio, zinc Vesiculasa
Glandula uretral y bulbo-uretral	Mucoproteínas Ig A

El principal papel atribuido al plasma seminal es de diluyente o vehículo de la masa espesa de espermatozoides epididimarios y asegurar su transporte hasta el moco cervical.

En el plasma seminal podemos encontrar también cristales, formados a partir de la espermina y de células o fragmentos celulares debidos a la descamación ligada al proceso secretor normal de las diferentes glándulas. El color amarillento del plasma seminal se debe a la flavina, colorante de origen vesicular. El olor característico lo produce la espermina de origen prostático.

La composición bioquímica del plasma seminal es extramadamente rica y compleja (Mann, 1.975; Mana y Lutwak-Mann, 1.981):

- Glúcidos libres (fructosa, glucosa, sorbitol) y ligados.
- Ácidos orgánicos (cítrico, ascórbico).
- Sustancias nitrogenadas no protéicas (derivados de colina; poliamina, carnitina).
- Proteínas séricas (albúmina, Ig, hormonas peptídicas).
- Células específicas (lactoferrina, inhibidora de proteasa).
- Lípidos (prostaglandinas, colesterol, esteroides).
- Enzimas (proteasa, glucosidasa, transferasa, fosfatasa).
- AMP-cíclico.

Esta composición del plasma seminal se utiliza en clínica como marcadores bioquímicos de los diferentes órganos, lo que nos permite revisar bioquímica, anatómica y/o funcionalmente el aparato genital masculino. Así, la disminución de las tasas de los marcadores vesiculares

y epididimarios permite el diagnóstico y la localización de oclusiones en el tracto genital; por ejemplo, una disminución de la secreción prostática revela una inflamación, frecuentemente asociada a una movilidad débil del espermatozoide (Derrick y Dahlber, 1.976).

No podemos, sin embargo, establecer unas tasa de concentración que determinen la normalidad de cada sustancia bioquímica, debido a numerosos factores que pueden modificar los resultados (Eliasson y Lindholmer, 1.971):

- La repetición de exámenes entre hombres infértiles o fértiles, pone en evidencia que no hay características constantes en el espermatozoide en un mismo individuo.

- La falta de regulación de la composición bioquímica del plasma seminal como en el plasma sanguíneo.

- Variaciones debidas a la abstinencia previa a la eyaculación.

- Patologías intercurrentes.

- Las condiciones de vida.

Tenemos que tener en cuenta también que las normas varían de un laboratorio a otro, no sólo en razón de las diferentes técnicas empleadas, sino igualmente en razón del método estadístico al que se ha recurrido para definir las tasas normales (Eliasson, 1.973). Debido a todo esto existen unos márgenes amplios de las concentraciones de los diferentes marcadores bioquímicos seminales (Tabla 5.4.).

Tabla 5.4. Marcadores bioquímicos seminales. Valores normales (1). (Soufir, 1.984).

MARCADOR BIOQUIMICO	CONCENTRACION	CANTIDAD TOTAL (2)
Fructosa (3)	4,7 - 20	13,9 - 97,2
Fosfatasa ácida (4)	7,5 - 40,5	20,0 - 140
Citrato (3)	10,9 - 39	35,4 - 150
Carnitina libre (5)	100 - 445	390 - 1.830

(1) 10<sup>o</sup> y 90<sup>o</sup> percentil de una población de 163 hombres hombres fecundos.

(2) Concentración X volumen de eyaculado.

(3) Micromoles/ml.

(4) 10<sup>3</sup> unidades/ml.

(5) Nanomoles/ml.

#### 5.1.2. Origen de la composición bioquímica del plasma seminal

Conductos eferentes y conducto del epidídimo: Los conductos eferentes eliminan agua procedente del rete testi y de este modo concentra los espermatozoides.

El conducto del epidídimo añade muchas sustancias bioquímicas al plasma (Turner, 1.979):

- Carnitina: es la fuente más importante de energía del espermatozoide (Cassilas, 1.973; Soufir et al., 1.981), aunque no es fabricada por él, sino concentrada en el conducto del epidídimo (Brook et al., 1.974). La carnitina se convierte en acetil-carnitina, que actúa como medio para inducir la movilidad del espermatozoide.

- Inositol: azúcar secretado en el conducto del epidídimo (Voglemayr, 1974); aunque su función no está clara, es convertido en el conducto del epidídimo en fosfatil-dihidroinositol.

- Lípidos y fosfolípidos: se encuentran también en gran concentración en el epidídimo, cuando son convertidos en glicero-fosforil-colinas (Brown-Woodman et al., 1.980).

- Oxidasas (Gueri et al., 1.981 (b); Mann y Lutwak-Mann, 1.981).

- Andrógenos: la pared del epidídimo debe de ser un lugar de producción, al menos en los retes (Hamilton, 1.972).

- Proteína epididimaria de la movilidad: encontrada en el conducto epididimario del bovino, cubre al espermatozoide y parece inducirlo a la movilidad (Brandt et al., 1.978).

No cabe duda que el rasgo principal que adquieren los espermatozoides al pasar por el conducto del epidídimo es un mayor grado de movilidad. El espermatozoide sufre además unos cambios a su paso por el epidídimo, el más importante es que adquiere capacidad fecundante (Bedford, 1.966); estos cambios en la fertilidad potencial del espermatozoide están estrechamente relacionados con su movilidad (Hinton et al., 1.979).

Vesícula seminal: Las secreciones de las vesículas seminales son la contribución más importante, en términos de volumen, en la eyaculación, y constituye entre el 40-80% del volumen total (Lundquist, 1.949).

Las vesículas seminales son dos glándulas situadas detrás de la vejiga y sus conductos se unen a los vasos para formar el conducto eyaculador. Las secreciones de la vesícula seminal contienen sustancias bioquímicas de gran importancia:

- Fructosa (Mann, 1.974): fuente de energía del espermatozoide. Su ausencia, así como las alteraciones en las vesículas seminales con la consecuente reducción de la concentración de fructosa en el semen, puede provocar una disminución en la movilidad del espermatozoide (Eliasson, 1.971).

- Prostaglandinas (Eliasson y Lindholmer, 1.971): parecen tener también un papel importante en el control del movimiento del espermatozoide y en la penetración de éste en el moco cervical.

- Sustancia pseudo-fibrinógena: parece ser impulsada por la enzima vesiculasa, para inducir la coagulación del semen (Gotterer et al., 1.955).

- Acido ascórbico (Mann y Lutwak-Mann, 1.981).

Próstata: La próstata le sigue a la vesícula seminal en cantidad de fluido aportado al semen (Lundquist, 1.949). Sus secreciones son bioquímicamente muy activas y contienen un gran número de enzimas que están relacionadas con la coagulación del semen y su licuefacción (Gotterer et al., 1.955):

- Vesiculasa: enzima inductora de la cualgulación del semen.

- Proteasa: enzima inductora de la licuefacción del semen.

- Espermina: amina bacteriostática, que puede formar folato de espermina, cuyo cristal es posible ver al microscopio (Tabor y Tabor, 1.964).

- Fosfatasa ácida: enzima muy estable, por ésta razón se utiliza en medicina forense, como marcadora de presencia de semen en la ropa.

- Citratos (Mann, 1.974).

- Iones: calcio, magnesio y en particular zinc (Eliasson y Lindholmer, 1.971).

Glándulas bulbo-uretrales y uretrales:

El volumen de las secreciones de estas glándulas es pequeño. Su papel parece ser unicamente de lubricante, ya que son ricas en mucoproteínas; de cualquier forma, aunque su contribución

al semen es pequeña, se ha sugerido que estas secreciones pueden contener anticuerpos antiespermáticos específicos. En los casos de eyaculación retrógrada, sólo se eyacula el pequeño volumen aportado por estas glándulas.

### 5.1.3. Regulación de la composición bioquímica del plasma seminal.

En el plasma seminal no existe un mecanismo homeopático, como en el plasma sanguíneo, que regule su composición (Soufir et al., 1.983).

El conjunto de las secreciones depende de la testosterona transportada, a lo largo del tracto, del testículo a las glándulas anejas (Skinner y Rowson, 1.968); esto explicaría las perturbaciones de la composición bioquímica del plasma seminal después de la vasectomía (Naik et al., 1.980).

No hay correlación entre la concentración de testosterona plasmática y la concentración en el plasma seminal (Moon y Bunge, 1.971); es probable que los epitelios secretores funcionen al máximo de su capacidad, ya que la elevación de los niveles de testosterona plasmática en sujetos normales no aumenta su secreción.

El volumen producido normalmente es alrededor de 0,4 ml (Schwartz et al., 1.979), lo que induce a determinar el plazo previo de abstinencia antes de la eyaculación, ya

que una producción débil de volumen puede ser debido a una gran frecuencia de eyaculaciones (Eliasson, 1.965).

## 5.2. COMPONENTE TESTICULAR DEL SEMEN

En términos de volumen, el testículo solamente aporta alrededor del 5% del volumen final del eyaculado aproximadamente 0,2 ml (Lundquist, 1.949); por esta razón, en la vasectomía, la reducción del volumen debe ser insignificante.

El componente testicular del semen está formado principalmente por los espermatozoides, células altamente diferenciadas y especializadas, cuya morfología ya ha sido descrita anteriormente.

A su paso por los túbulos seminíferos y el rete de los testículos, va acompañado por una gran variedad de sustancias bioquímicas de importancia funcional y diagnóstica:

- Andrógenos: el fluido del rete testicular es rico en andrógenos. La testosterona (T) producida por las células de Leydig, bajo la influencia de la hormona luteinizante (LH), pasa a través de los túbulos seminíferos a las células de Sertoli, aquí, se une a la proteína transportadora de andrógenos (ABP) que es sintetizada en el interior de las células de Sertoli, bajo la influencia de la hormona folículo estimulante (FSH); la testosterona unida a la proteína

ABP es liberada en el lumen de los túbulos seminíferos y acompaña a los espermatozoides fuera de los testículos (Hansson et al., 1.974).

- Transferrina: la transferrina es otra proteína producida en las células de Sertoli que se encuentra en el fluido del rete testicular. Su función no está clara, es la hormona o grupo de hormonas llamada inhibina (Franchimont et al., 1.975). Esta sustancia o tal vez grupo de sustancias, inhiben la producción pituitaria de FSH, actuando como un importante mecanismo retro-activo de FSH. La inhibina es muy difícil de medir, pero se experimenta con ella en laboratorios especializados, para el diagnóstico de desordenes de fertilidad en el hombre, que van asociados con una disfunción de las células de Sertoli.

### 5.3. FACTORES DE VARIACION DE LA CALIDAD ESPERMATICA

La repetición de análisis en hombres fecundos, pone en evidencia que no hay características constantes del esperma para un mismo individuo, aunque la variabilidad no es la misma para todos los parámetros. En el caso del volumen, de la concentración y del número total de espermatozoides en el eyaculado, para un mismo individuo, las desviaciones estandars (ds) son practicamente proporcionales a las medias (m), así, la proporción  $ds/m$  podemos decir que es constante (Schwartz et al., 1.979).

Por el contrario la variación del porcentaje de espermatozoides móviles es más bien baja, 0,08% (Heuchel et al., 1.981).

Heuchel et al. (1.981) han calculado las medias, con los intervalos de confianza del 95%, a partir de los resultados obtenidos con una sola eyaculación (Tabla 5.5). Así por ejemplo, si la concentración de espermatozoides es de  $100 \times 10^6$  spz/ml, en el primer examen, la media real, en el 95% de los casos, estará entre  $40$  y  $220 \times 10^6$  spz/ml.

Tabla 5.5. Medias calculadas a partir de los resultados obtenidos con una sola eyaculación, con intervalos de confianza del 95% (Heuchel et al., 1.981).

	Límite inferior	Límite superior
Volumen V (ml) <sup>a</sup>	V x 0,6	V x 1,7
Concentración n ( $10^6$ /ml) <sup>a</sup>	n x 0,4	n x 2,2
Número total N ( $10^6$ ) <sup>a</sup>	N x 0,3	N x 2,9
Porcentaje de móviles M (%) <sup>b</sup>	M - 11,6	M + 11,6

<sup>a</sup>) Media geométrica. <sup>b</sup>) Media aritmética.

A parte de las posibles modificaciones o factores que pueden variar los resultados, imputables a las técnicas de examen, se han detectado diferentes factores que juegan un papel más o menos importante en estas variaciones:

### 5.3.1 Abstinencia sexual

Las glándulas anejas pueden recuperar el volumen del líquido seminal, emitido en la eyaculación, en 24 horas, pero son necesarios 2 ó 3 días para la reposición de la reserva de espermatozoides (Freund, 1.982).

Se ha demostrado que existe una relación lineal entre el tiempo de abstinencia precedente al examen (1-5 días) y el volumen, la concentración y el número total de espermatozoides en el eyaculado (Schwartz et al., 1.979).

La variación media diaria, con una abstinencia, es de  $14 \times 10^6$  spz/ml para la concentración; 0,33 ml para el volumen; y  $78 \times 10^6$  spz/ml para el número total de espermatozoides (Heuchel et al., 1.981). Durante el mismo período de abstinencia no hay una variación del porcentaje de espermatozoides móviles, ni de los normales morfológicamente, sólo se observa una variación moderada de la movilidad, después de un período largo de abstinencia (Jouannet, Czyglik et al., 1.981).

### 5.3.2. Edad

Epidemiológicamente y demográficamente, se ha demostrado que con la edad disminuye la fertilidad, haciéndose más sensible a partir de los 35-40 años de edad (Jouannet, 1.983).

El inicio de la producción espermática

coincide con el aumento de volumen testicular, alrededor de los trece años (Richdson y Short, 1.978). Entre los 16 y los 18 años la producción espermática es muy baja y alcanza su máximo entre los 20 y los 30 años (Amman, 1.981). A partir de los 40 años hay una bajada significativa del porcentaje de formas normales y a partir de los 45 de las formas móviles (Schwartz et al., 1.983). Por el contrario, aumenta la concentración entre los 60 y 88 años, aunque el volumen es muy bajo, con una caída del porcentaje de espermatozoides móviles y de los normales morfológicamente; sin embargo, el porcentaje de penetración de ovocitos de hamster no es inferior al observado en hombres de 24 a 37 años (Nieschlag et al., 1.982).

### 5.3.3. Otros factores de variación

Numerosos factores pueden influir en la producción espermática. El hábito de vestir con prendas ajustadas que impiden la movilidad de los testículos, una patología intercurrente, y fiebre alta pueden actuar sobre la espermatogénesis y modificar las características del esperma; el tabaco; las condiciones de trabajo; la acción toxica de antimitóticos; las radiaciones; algunos pesticidas; antidepresivos etc.. Se ha observado también, en el hombre, un aumento de espermatozoides en invierno (Tjoa et al., 1.982; Mortimer et al., 1.983), aunque los trabajos publicados no tienen en cuenta las posibles modificaciones del comportamiento sexual. De cualquier forma, la influencia de estos factores es difícil

de determinar por la ausencia de estudios epidemiológicos.

#### 5.4. PROPIEDADES FISICAS DEL SEMEN

##### 5.4.1. Volumen

El primer paso en el análisis del semen es la determinación del volumen del eyaculado, ya que es un signo importante de muchas alteraciones del aparato genital masculina, así como imprescindible para poder calcular el número total de espermatozoides. El volumen medio del semen en hombres fértiles es de 1,5 a 6 ml (Tabla 5.2).

Se suele definir como:

- Aspermia: ausencia de evacuación.
- Oligospérmia o Hipospérmia: disminución del volumen del semen, menos de 2 ml.
- Hiperespérmia: aumento del volumen por encima de 10 ml.

Hay numerosas causas de infertilidad relacionadas con la disminución del volumen. La mayor parte del fluido seminal provienen de las vesículas seminales y de la próstata, por lo que las posibles anomalías de estas glándulas disminuyen su poder secretor y se produce una disminución del volumen pudiendo llegar a una hipospérmia. La disminución de

la secreción de las glándulas accesorias producirá una concentración anormal del semen. La ausencia congénita del conducto deferente está relacionado casi siempre con la ausencia de vesículas seminales, altera el volumen seminal produciéndose una hipospérmia.

Hay anomalías en la eyaculación que pueden producir una disminución del volumen, así como el stres; trastornos neurológicos relacionados con la diabetes mellitus; esclerosis múltiple; anomalías de la espina dorsal; numerosos procesos se relacionan con la disminución del volumen del semen y por tanto con la infertilidad. Igualmente es necesaria una producción adecuada de andrógenos (testosterona) para una actividad sexual normal, por lo que una alteración endocrina podría relacionarse con variaciones del volumen seminal.

La eyaculación puede ser también retrógrada, por lo que el semen aparece en la vejiga, en esta situación sólo la secreción de las glándulas bulbo-uretrales y uretrales llegarían al contenido del semen, resultando también una disminución del volumen.

#### 5.4.2. Color del semen

Normalmente el semen tiene un color gris-amarillento-opalino. Su opacidad se debe principalmente al gran contenido de proteínas pero también por el elevado número de espermatozoides así, por los restos celulares que normal-

mente hay en el semen.

El color del semen puede ser alterado por diversos procesos patológicos:

- Orina: La orina produce una tenue coloración amarillenta. Su presencia se detecta por la consistencia del semen y por su olor característico. Un contenido alto de urea en el semen confirma la presencia de orina.

El espermatozoide en contacto con una mínima cantidad de orina muere (Crich y Jequier, 1.978).

- Sangre: La coloración del semen puede estar provocada por la presencia de sangre (hematospérnia); depende tanto de la cantidad de sangre presente, como del tiempo de permanencia de la sangre en el semen, así, partículas de sangre fresca dan un color rosado al semen y cuando hay mayor cantidad el color se hace rojo brillante, mientras hemorragias en el aparato genital de horas o días antes, le dan un color marrón al semen.

Las causas más frecuentes de hemorragia se deben a infecciones en las vesículas seminales o en la próstata, y el microorganismo más frecuentemente implicado en una hematospérnia es el bacilo de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*). En el hombre adulto-anciano hay que descartar un proceso maligno (carcinoma de próstata).

La recolección fraccionada de la eyaculación puede ser de gran utilidad para detectar el origen de la hemorragia.

- Ictericia: La bilirrubina puede colorear también al semen. Si la ictericia es muy acentuada el semen será de color amarillo brillante. La bilirrubina presente en el semen puede producir alteraciones en el espermatozoide y la enfermedad del hígado asociada a esta ictericia puede producir serios disturbios en la espermatogénesis.

#### 5.4.3. pH

El pH del semen está entre 7,9 y 8,1 en fresco.

El semen es un poderoso amortiguador ya que contiene gran cantidad de proteínas; de todas formas, inflamaciones de las vesículas seminales y de la próstata alteran el pH. La prostatitis provoca una alteración en la secreción de la glándula, principalmente disminución del citrato, del zinc y de la fosfatasa ácida, y una elevación del pH (el pH de la secreción prostática de 6,4 se elevaría a 7,7) (Meares, 1.979).

La alcalinización del pH de la secreción prostática hace desaparecer el gradiente que existe entre el sector prostático y plasmático. La penetración en la próstata de antibióticos básicos (oleandomicina, eritromicina, trimetro-

prim) tienden a restablecerlo (Meares, 1.979).

#### 5.4.4. Licuefacción

El semen, al eyacular y mezclarse sus diferentes componentes, se solidifica (coagula) y después, pasados de 5 a 20 minutos se produce la licuefacción del coágulo. La coagulación del semen depende de la presencia de fibrinógeno producido por las vesículas seminales y de la enzima vesiculasa que se produce en la próstata; así, la ausencia de vesícula seminal o de secreciones prostáticas pueden estar relacionadas con la ausencia de licuefacción.

La ausencia de licuefacción puede ser causa de infertilidad (Amelar, 1.962), aunque normalmente su ausencia está asociada con una fertilidad normal. De cualquier forma, la posible ausencia de un componente prostático en la eyaculación debe tener importancia en el diagnóstico de infertilidad.

La infertilidad debida a la no licuefacción del semen, se trata añadiendo enzimas proteolíticas al semen que deshacen el coágulo. Se han propuesto varias enzimas para ser utilizadas con el semen no licuado; la más utilizada es la alfa-amilasa (Bunge y Sherman, 1.954), se usa en una dilución del 0,2% y se añaden 5-10 gotas para una eyaculación de volumen grande. También se pueden utilizar otras enzimas en concentraciones similares, por ejemplo la alfa-quimotripsina, lisozimas (Hirschhauser

y Eliasson, 1.972) e hialuronidasa (Amelar, 1.962). Es importante señalar que la no licuefacción del semen debe ser diferenciada del semen hiperviscoso.

#### 5.4.5 Viscosidad

La viscosidad del semen puede variar considerablemente en diferentes muestras de un mismo sujeto. La viscosidad normal se define como aquella que permite al semen ser vertido gota a gota (Eliasson, 1.971).

Teóricamente un fluido seminal muy viscoso puede disminuir la capacidad del espermatozoide contenido en él, para escapar hacia el moco cervical. Sin embargo, esperma procedente de muestras hiperviscosas no muestran dificultad en atravesar el moco cervical.

#### 5.4.6. Numeración

En 1.951(a) MacLeod y Gold, encontraron una concentración espermática media de  $107 \times 10^6$  spz/ml en 1.000 hombres fecundos. Otros autores encontraron valores medios entre 48 y  $79 \times 10^6$  spz/ml (Nelson y Bunge, 1.974; Zukerman et al., 1.977). Más recientemente otros autores obtienen valores más próximos a los de MacLeod y Gold, 95,4 a  $100 \times 10^6$  spz/ml (Jouannet et al., 1.981 (a); Jouannet et al., 1.981 (b)). Sin embargo en la misma época, otros autores han encontrado una concentración media de  $70 \times 10^6$  spz/ml (Saint Pol et al., 1.981). Para explicar estas variacio-

nes se deben de tener en cuenta los diferentes métodos de recogida de muestras, el reclutamiento de donantes, las condiciones del recuento.

### 5.5 ANOMALIAS MORFOLOGICAS DEL ESPERMATOZOIDE

Basandonos en la clasificación de atípicas del espermatozoide humano de David et al. (1.975) (Tabla 4.1.), existe para cada tipo de anomalía una definición característica.

Entre una anomalía y la forma normal, o entre dos anomalías, existen una serie de formas intermedias que dificultan la lectura. De igual modo existen numerosas atípicas asociadas, coexistiendo en el mismo espermatozoide dos o más anomalías, lo que tiene gran importancia, ya que es evidente que el aumento de anomalías en un mismo espermatozoide agrava su handicap funcional.

#### 5.5.1. Anomalías de la cabeza

1.- Alargada: Se caracteriza por un aumento neto de la longitud, sobrepasando 6 micras y pudiendo alcanzar 12 micras. Esta forma presenta gran diversidad de apariencias pero se pueden esquematizar en cuatro tipos diferentes:

- Alargada simple, hay únicamente un alargamiento, la anchura es normal, el contorno regular, la base y el extremo superior están redondeados.

- Alargada de base adelgazada, el alargamiento está esencialmente sobre la base que va adelgazándose y haciéndose cónica.

- Alargada en badajo de campana, ésta es una forma fácil de identificar por su longitud ante todo, pero sobre todo por el estrangulamiento postero-ecuatorial y el abultamiento de la base.

- Afilada, por disminución de su anchura y sus extremos puntiagudos.

Ultraestructuralmente, las formas alargadas simples, como las alargadas en forma de badajo de campana, son difíciles de identificar como tales en los cortes ultrafinos y no han sido suficientemente observadas para ser descritas de forma precisa. El contenido nuclear puede ser normal o presentar un defecto de condensación con aspecto vacuolar. El espacio nuclear posterior puede ser normal, aunque lo más frecuente es que esté agrandado y ocupado por numerosos repliegues y divertículos de la membrana nuclear, presentando frecuentemente poros (Bisson y David, 1.975, (b)).

2.- Adelgazada: Disminución de su anchura, su longitud es normal y es difícil de identificar.

3.- Microcéfala: Se pueden distinguir dos variedades: redonda e irregular.

- Microcéfala redonda, que tiene el contorno perfecta y regularmente circular, su coloración es densa y homogénea y no existe

huella del capuchón acrosomial.

Todas la capas de la cabeza espermática son circulares lo que confirma su forma esférica. Frecuentemente existe un defecto de condensación de la cromatina que conserva un aspecto granuloso más o menos apretado. La característica esencial de estos espermatozoides es su ausencia de acrosoma (Bisson y David, 1.975 (b)).

- Microcéfala irregular, puede ser una simple irregularidad del contorno o una deformación más marcada de la cabeza. El capuchón no falta, pero es reducido, a veces una simple mancha en la cima.

El estudio ultraestructural de esta forma confirma la irregularidad de la cabeza y la variabilidad del grado de condensación de la cromatina, encontrándose anchas "lagunas" nucleares de materia finamente granular. Pero el hecho importante que la diferencia de la forma anterior, es la presencia de un pequeño acrosoma, frecuentemente de aspecto normal con bordes no paralelos (Bisson y David, 1.975 (b)).

4.- Macrocéfala: Aumento global de la talla, facilmente reconocible.

La gran talla puede ser debida a una cantidad de ADN superior a la normal, por aneuploides. También puede ser debida la macrocefalia a un defecto de condensación de la cromatina que también se puede observar en algunas microcefalias, por lo que es difícil de hacer un relación simple entre este fenómeno y la talla del núcleo (Bisson y David, 1.975 (b)).

5.- Irregular: Es un grupo poco homogéneo ya que la irregularidad puede ser debida a una deformación global de la cabeza más o menos torcida sobre su eje longitudinal, o a anomalías del contorno, o muescas, o prominencias. Estas deformaciones pueden ser mínimas, ya que el contorno de la cabeza es muy regular, así se consideran anormales cualquier irregularidad, sobre todo si se acompaña de un defecto en el capuchón acrosomial.

6.- Duplicada: Son de dos tipos:

- Forma bicéfala, existen dos cabezas netamente individualizadas que se reúnen a nivel de la pieza intermedia parcialmente desdoblada.

- Forma binucleada, el desdoblamiento se limita tan sólo a los núcleos. Los dos núcleos están incluidos en una misma membrana plasmática. La pieza intermedia es cónica.

La anomalía nuclear repercute sobre la forma del acrosoma y se acompaña de varias anomalías, ya sea ausencia de la capa postacrosomial, o bien la presencia de restos citoplasmáticos que contienen vesículas, apilamientos de membranas o granulaciones diversas (Bisson y David, 1.975 (b)).

7.- En lisis: Dos características frecuentemente asociadas, definen las formas en lisis, un núcleo hinchado y una mala colora-

ción, que los diferencia de los macrocéfalos.

#### 5.5.2 Anomalías de la pieza intermedia

1.- Restos citoplasmáticos: En las formas normales, se puede observar que la pieza intermedia, es apenas más gruesa que el resto del flagelo. La persistencia de un resto citoplasmático, que normalmente desaparece entre los tubos seminíferos y el epidídimo, se considera anormal cuando su superficie es superior a la mitad de la superficie de la cabeza. Este citoplasma ocupa la parte inicial del flagelo.

2.- Acodamiento: Normalmente, el flagelo está en la prolongación del eje de la cabeza. Se considera anormal la ruptura de esta disposición. La angulación entre el eje de la cabeza y el del flagelo puede alcanzar al menos 90° y empezar detrás del núcleo (a nivel del cuello), o bien en plena pieza intermedia, alterando el movimiento progresivo del espermatozoide.

#### 5.5.3. Anomalías del flagelo

1.- Ausente: La cabeza aparece aislada, o simplemente en su base hay un pequeño resto citoplasmático. Habrá que descartar la posibilidad de la rotura de flagelos provocada por el método de preparación de la muestra, en cuyo caso aparecerían numerosos flagelos aislados; o introducir una nueva anomalía referente a la fragilidad del flagelo a nivel de la pieza conectiva.

2.- Corto: Se considera anormal todo flagelo que no sobrepasa la media de la longitud normal y sobre todo que presente por otra parte un engrosamiento.

3.- Enrollado: Se presenta bajo dos aspectos:

- El flagelo presenta un simple rizo sin otro particular. Nos podemos preguntar si se trata de una posición fortuita de un flagelo normal en el momento de la fijación, todo depende del número de espermatozoides que con tal aspecto aparecen en el frotis.

- Flagelo enrollado en el interior del citoplasma, como se demuestra tras la tinción, con el microscopio electrónico. Puede ser debido a un desorden de formación del flagelo que no ha podido exteriorizarse y salir de la masa citoplasmática; o bien por enrollamiento secundario de un flagelo primitivamente normal. Drevius (1.972) ha demostrado experimentalmente que el hinchamiento del espermatozoide acarrea un enrollamiento del flagelo hacia el interior de la vesícula citoplasmática.

3.- Doble: A partir de la pieza intermedia se desdobra en dos flagelos de grosor normal generalmente.

### 5.6. EVALUACION FUNCIONAL DE LOS ESPERMATOZOIDES

El examen microscópico del esperma nos aporta la información precisa sobre la calidad exocrina del testículo, pero no sobre la capacidad fecundante del espermatozoide. Tras ser producido en el testículo, el espermatozoide deberá de sufrir numerosas transformaciones, atravesar múltiples fluidos y afrontar diferentes situaciones más o menos beneficiarias, antes de poder realizar su función: la fecundación del ovocito.

La heterogeneidad de la población celular no facilita el trabajo de la evaluación funcional del esperma; y no se puede saber si todos los espermatozoides son capaces de fecundar o si existe una minoría privilegiada apta para esta función.

Desde que el espermatozoide está presente en el eyaculado hasta que se forma la primera célula embrionaria en los órganos genitales femeninos, el espermatozoide deberá de sufrir una serie de transformaciones e interacciones en su ascenso por las vías genitales femeninas, como:

- Penetración en el moco cervical.
- Migración y supervivencia en el moco cervical.
- Migración hacia la ampolla tubárica (trompa de Falopio).
- Capacitación espermática.
- Reacción acrosómica.

- Atravesar las células del cumulus oophorus.
- Fijación sobre la zona pelúcida.
- Atravesar la zona pelúcida.
- Fusión con la membrana del ovocito.
- Incorporación en el citoplasma del ovocito.
- Descondensación nuclear.
- Formación del pronúcleo masculino.

Desde hace años se realizan numerosos test que permiten medir la aptitud del espermatozoide para superar las diferentes etapas anteriores, pero la complejidad y la diversidad de los fenómenos que caracterizan la biología del espermatozoide, explica que no haya un test simple capaz de medir la calidad de éstos sin embarazo. En la exploración biológica de la función exocrina del testículo deben, por consiguiente, usarse diversos exámenes que estudien cada etapa del itinerario espermático.

#### 5.6.1. Capacidad de migración

Test de Hühner: La idea de examinar el moco cervical tras un cierto reposo sexual es antigua, pues ya en 1.866 Simd describió el movimiento de los espermatozoides en el moco cervical, pero es Hühner quién popularizó en los años 30 el test que lleva su nombre.

No existe unanimidad sobre el interés pronóstico del test de Hühner, pero hay diferentes argumentos que incitan a darle un puesto privilegiado a este examen, como primera aproximación al estudio de la fertilidad de una pareja.

Así pues, está a su favor, que es simple, es inofensivo, pocos costos, realizable en consulta médica, permite a veces descubrir dificultades sexuales de la pareja, pero sobre todo que nos permite recoger información a la vez del hombre (espermatozoides) y de la mujer (moco cervical) en situación fisiológica de procreación. El método utilizado para su realización debe de ser riguroso y lo más estandarizado posible.

El valor pronóstico, como decíamos anteriormente, es discutido, ciertos autores no encuentran relación entre los resultados y la fertilidad (Giner et al., 1.974) o la migración en las vías genitales femeninas (Templeton y Mortimer, 1.982). Por el contrario, en la práctica controlada de inseminación artificial, Hanson et al. (1.982) han encontrado una relación significativa entre la tasa de embarazos y la tasa de supervivencia de espermatozoides después de 48 horas en el moco cervical (Hanson et al., 1.982).

Test de penetración in vitro en el moco cervical: Se han propuesto diferentes test para poder estudiar más precisamente la interacción espermatozoide-moco cervical, permitiendo conocer las características del espermatozoide, seguir la evolución de la movilidad en el moco cervical y realizar test comparativos utilizando espermas y mocos cervicales controles de donantes de fertilidad probada (Test de Miller y Kurzrok, 1.932; test de migración de Kremer y Jager, 1.981).

se estudia la capacidad que tiene el espermatozoide de fijarse sobre la zona pelúcida y de atravesarla para penetrar en el espacio perivitelino.

Penetración del ovocito. Test del hamster. La fusión del espermatozoide con el ovocito de diferentes especies parece mucho menos específico que la penetración de la zona pelúcida (Hanada y Chang, 1.972).

Yanagimachi et al. (1.976) han demostrado que el espermatozoide humano puede no sólo fusionarse con el ovocito de hamster libre de zona pelúcida, sino además penetrarlo. El núcleo del espermatozoide humano puede cumplir las secuencias morfológicas de la fecundación en el citoplasma ovocitario: -hinchamiento -descondensación nuclear -transformación en pronúcleos. El hecho que éste fenómeno no sea posible más que con espermatozoides previamente incubados in vitro varias horas y que hayan hecho la reacción acrosómica, ha incitado a Yanagimachi et al. (1.976) a proponer el ovocito despelúcido de hamster como medio simple de medir la capacidad fecundante de los espermatozoides humanos.

Numerosos autores han reseñado el interés de este test para el diagnóstico y pronóstico de infertilidad en el hombre (Barros et al., 1.978; Overstreet, 1.981; Cohen et al., 1.982), pero el éxito alardeado debe ser moderado ya que los resultados son difícilmente comparables de un laboratorio a otro, ya que

Test de migración en las vías genitales femeninas: Recientemente se ha intentado buscar la presencia de espermatozoides en el fluido del fondo de saco de Douglas como test de capacidad de migración por las vías genitales femeninas (Templenton y Mortimer, 1.982).

#### 5.6.2. Capacidad de Fecundación

Movimiento hiperactivo: Se ha comprobado que en numerosas especies de mamíferos la naturaleza de la capacitación del espermatozoide se manifiesta por su movimiento hiperactivo, caracterizado por un vivo golpeteo lateral de la cabeza con curvaturas muy importantes de la onda flagelar (Cummis, 1.982).

La adquisición de este tipo de movimiento hiperactivo puede ser observado directamente al microscopio tras la incubación del espermatozoide en medio de cultivo capacitante o medido por microfotografías o por microcinematografías (Mortimer et al., 1.983).

Reacción acrosómica: Otra modificación celular en relación con la capacitación del espermatozoide, puede ser observada a nivel de la cabeza, es la reacción acrosómica; esta reacción es imprescindible para realizar la fecundación, es la fusión de la membrana externa del acrosoma y de la membrana plasmática, seguida de su vesiculación y desaparición, permitiendo la liberación y/o la activación de las enzimas acrosómicas.

El papel de la reacción acrosómica y el nivel exacto donde tiene lugar está aún sujeto a controversia. Es muy probable que la enzima acrosómica hialuronidasa facilite el paso del espermatozoide a través de las células del cúmulus; es menos seguro que la acrosina y otras enzimas acrosómicas sean útiles para atravesar la zona pelúcida. Pero de todas formas es cierto que sólo los espermatozoides que hayan realizado la reacción acrosómica son los aptos para fecundar al ovocito.

La reacción acrosómica puede ser observada con el microscopio electrónico (Soupart y Strong, 1.974), pero esta técnica no permite más que examinar un pequeño número de espermatozoides. Recientemente, Talbot y Chacón (1.981), han puesto a punto una técnica de tinción que permite distinguir bastante fácilmente, con microscopio óptico los espermatozoide que hayan realizado la reacción acrosómica, ya sea espontaneamente o en condiciones experimentales. Más recientemente se utiliza otra técnica de tinción del acrosoma con ácidos monoclonales (Talbot y Chacon, 1.981).

Penetración de la zona pelúcida: La penetración de la zona pelúcida es una etapa específica de la fecundación; Overstreet y Hembree (1.976) propusieron un test in vitro para el estudio de esta etapa, utilizando ovocitos inmaduros aislados a partir de fragmento de ovarios extraídos quirúrgicamente o después de la muerte de la paciente. Con este test

la preparación de los espermatozoides, las condiciones y el tiempo de incubación, y el número de espermatozoides, puesto en presencia de los ovocitos puede variar. Igualmente, se ha demostrado que el tiempo necesario para que el espermatozoide experimente su capacidad fecundante máxima in vitro puede ser muy variable de un sujeto a otro (Perrault y Roger, 1.982). También pueden modificar los resultados la concentración de espermatozoides en el plasma seminal antes del lavado, y el tiempo de abstinencia sexual previo al recuento de espermatozoides (Rogers et al., 1.983).

La tasa de fecundación puede variar de un test a otro en un mismo individuo (Rogers et al., 1.983), además existen falsos positivos y falsos negativos en penetración del ovocito despelúcido de hamster y en penetración de zona pelúcida humana (Ovoerstreett, 1.981).

#### 5.7 EVALUACION DE LA CALIDAD NUCLEAR DEL ESPERMATOZOIDE

Durante la espermatogénesis, se produce una condensación nuclear marcada por modificaciones del contenido en nucleoproteínas. Los histonas desaparecen y son reemplazados por nucleoproteínas específicas que van a permitir la estabilización de la cromatina por la formación de puentes S-S. La estabilidad de la cromatina depende del número de puentes S-S formados que aumentan

durante el tránsito epididimario (Calvin y Bedford, 1.971). La utilización del azul de anilina, colorante que tiñe las proteínas básicas del principio de la espermatogénesis, debería de permitir visualizar los espermatozoides eyaculados que tienen una maduración nuclear insuficiente o incompleta (Terquem y Dadoune, 1.983).

La descondensación de la cromatina nuclear en el ovocito necesita de la ruptura de los puentes disulfuro. El mecanismo responsable de esta ruptura, podría tener origen ovocitario pero la hipótesis de un mecanismo intrínseco al espermatozoide ha sido también propuesta: normalmente, el núcleo del espermatozoide eyaculado tiene tendencia a su descondensación bastante rápida después de la eyaculación, bajo el efecto de ese mecanismo, pero el zinc aportado por la secreción prostática le impide continuar y jugaba un papel estabilizador a nivel del núcleo permitiendo al espermatozoide "esperar" al ovocito hasta que éste sea ovulado fuera (Kvist, 1.980; Kvist, 1.983).

La capacidad de los espermatozoides de descondensar su cromatina puede ser detectada in vitro incubándolos con EDTA y Na-dodecilsulfato (SDS) (Kvist, 1.980).

El contenido cromosómico del espermatozoide humano puede ser visualizado tras la fecundación del ovocito despelúcido de hamster (Rudak et al., 1.978). Se ha demostrado que

era anormal en el 9,2% de los casos, siendo su procedencia más frecuente de aneuploides (Martin et al., 1.982). Esta técnica ofrece perspectivas para un mejor conocimiento citogenético de la espermatogénesis y del espermatozoide.

6. APROXIMACION DIAGNOSTICA DE  
LA INFERTILIDAD MASCULINA

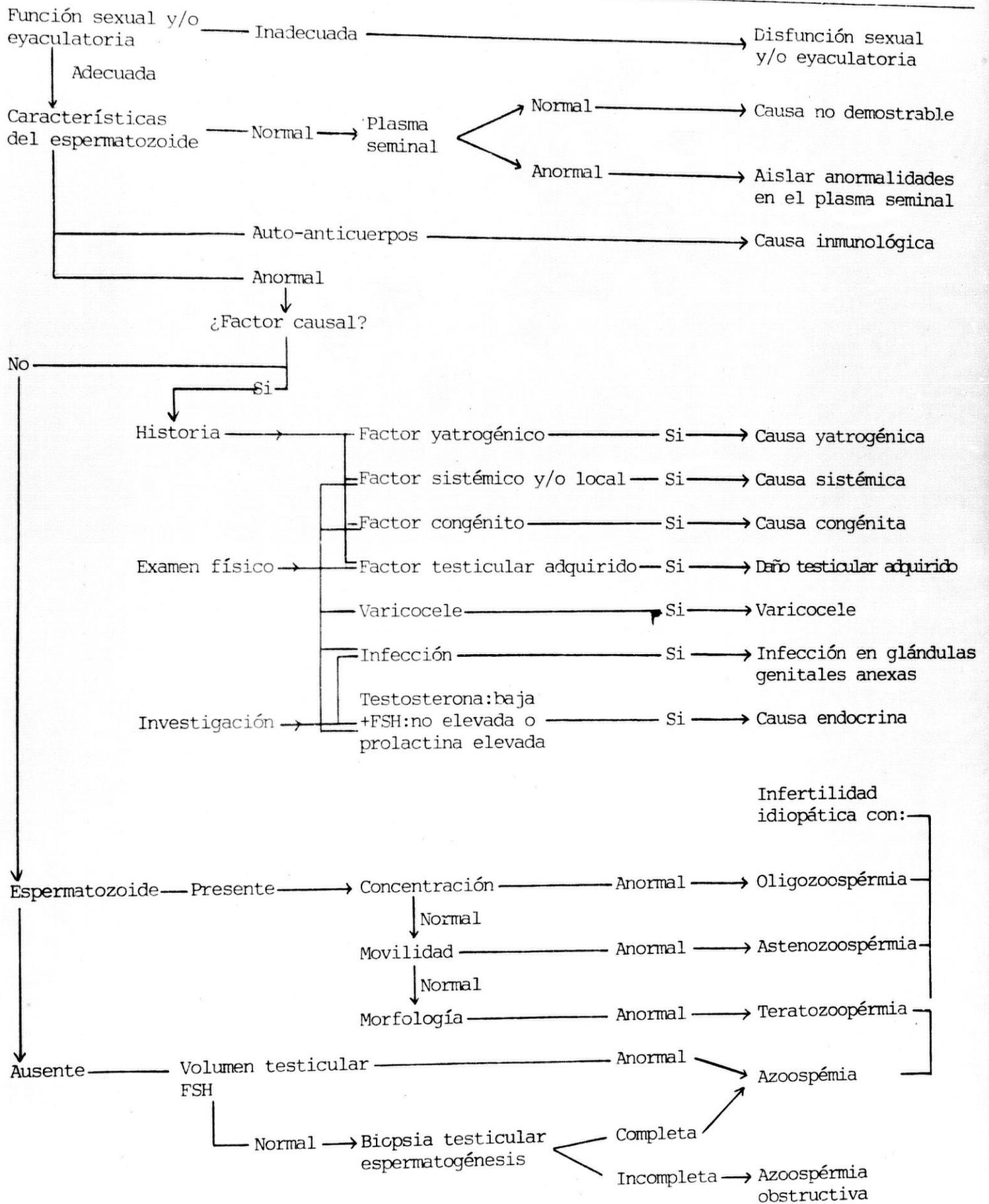
El conocimiento de los mecanismos fundamentales que rigen los procesos de la reproducción y la posibilidad de una localización más exacta y precisa de la lesión responsable de la infertilidad, ha permitido la transformación diagnóstica y terapéutica de las esterilidades, de una base empírica a un procedimiento más científico (Tabla 6-1).

Las condiciones necesarias, previas para la fecundación, son en la mujer un equilibrio hormonal, endometrio adecuado y canal genital permeable; y en el hombre, una espermatogénesis correcta, permeabilidad de los conductos genitales y eyaculación correcta; además de unas condiciones mixtas de una técnica correcta del coito, frecuencia adecuada y momento preciso del mismo.

Las posibilidades de clasificación de pacientes infértiles son siempre ilimitadas, dependiendo de los datos clínicos, de las posibilidades del laboratorio, etc.; generalmente, los pacientes infértiles se clasifican en base a:

- Antecedentes personales
- Examen físico
- Cantidad y calidad del esperma
- Características físicas y bioquímicas del eyaculado
- Análisis de sangre
- Biopsia testicular, que debe ser limitada para confirmar una lesión de las vías excretorias del esperma, en los casos en que los marcadores

TABLA 6-1: Protocolo para el diagnóstico de infertilidad masculina propuesto por la Organización Mundial de la Salud. (WHO, 1.980).



seminales y/o las tasas hormonales no han permitido su diagnóstico

- Cariotipo, cuando se sospechan aberraciones cromosómicas

Los resultados de al menos dos espermogramas deben ser obtenidos en la primera consulta del paciente, lo que nos va a permitir una clasificación primaria:

- aspérnia
- azoospérnia
- oligozoospérnia
- astenozoospérnia
- oligo-astenozoospérnia
- teratozoospérnia
- necrozoospérnia
- normozoospérnia

Los caracteres bioquímicos y físicos del espermatozoides nos van a ayudar a apreciar la función de las glándulas accesorias y a detectar los signos de un proceso inflamatorio agudo, crónico o secular.

#### 6.1. ANTECEDENTES Y EXAMEN FISICO (Tabla 6-2)

Ante todo, hace falta conocer los antecedentes detallados de la pareja, tanto en el plano sexual como medicinal:

- Edad de la pareja
- Relaciones sexuales
- Tratamientos médicos actuales

### 6.1.1. Antecedentes médicos

Ciertas enfermedades padecidas pueden afectar la fertilidad del individuo, por lo que es esencial hacer constar en la historia clínica del paciente la información concerniente a aquellas afecciones, tales como la diabetes sacarina, enfermedades tiroideas, tuberculosis, hipertensión, enfermedades vasculares.

La investigación de enfermedades padecidas debe ser lo más completa posible sin olvidar las infecciones banales crónicas y las enfermedades de infancia (Lunenfeld, 1.984):

- Alteraciones de la espermatogénesis pueden ser provocadas por enfermedades aparentemente benignas como la rubeola, o una simple neumonía, o bien por infecciones más severas como las fiebres tifoideas.

- Una infertilidad debida a la oclusión de las vias excretorias del esperma, o a lesiones del epidídimo, pueden inducir un defecto de maduración final del espermatozoide.

- Lesiones de la próstata o de las vesículas seminales, pueden expresarse por trastornos de la coagulación o de la licuefacción o bien de la movilidad espermática. Todos estos desórdenes, incluidos la oclusión de vias excretorias y lesiones del epidídimo, pueden ser causados por enfermedades de transmisión

sexual (ETS), como sífilis, gonococia, linfogranulomatosis, herpes genital, infecciones por micoplasmas y uretritis no específicas.

- La influencia deletérea de la fiebre o de enfermedades febriles sobre la espermatogénesis puede conducir a una oligo-, a una asteno- o a una terato-zoospermia. Toda enfermedad febril o incidente agudo durante los seis meses anteriores puede provocar una disminución temporal de la cantidad y calidad del esperma.

- El consumo excesivo de alcohol (mayor de 60 gr/día), de tabaco, de somníferos, de baños muy calientes, de saunas frecuentes, puede originar también una infertilidad temporal.

- Síntomas urinarios de carácter inflamatorio u obstructivo pueden contribuir notablemente a la evaluación de una infertilidad masculina. Los paciente con una estenosis uretral advertirán más fácilmente la debilidad de su chorro urinario que el retraso de su flujo seminal, acompañado de una débil actividad sexual.

- Los enfermos portadores de enfermedad fibro-quística de páncreas pueden tener una ausencia congénita del deferente que parece resultar de un defecto genético común.

- Tratamientos por esterilidad anterior  
 - Intervenciones quirúrgicas (Tabla 6-3). La intervención quirúrgica por torsión del testículo puede afectar a la fertilidad, sobre todo si el diagnóstico y el tratamiento se demora, pudiendo conducir hacia una atrofia testicular, se produce una reducción en el número y en la movilidad de los espermatozoides según el tiempo de isquemia (Montserrat et al., 1.987). La criptorquidia, en pacientes jóvenes puede dañar el canal deferente.

TABLA 6-2: Antecedentes y examen físico.  
 (Lunenfeld, 1.984)

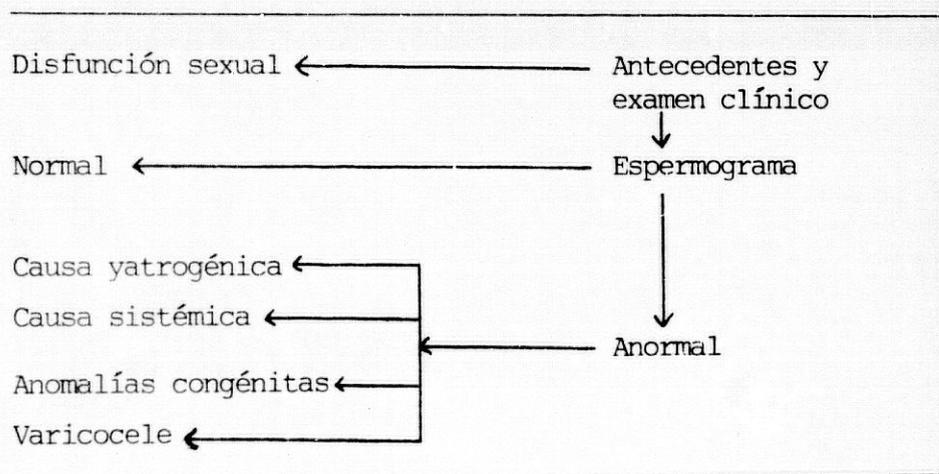


TABLA 6-3: Intervenciones quirúrgicas que pueden afectar la fertilidad. (Lunenfeld, 1.984).

---

Estrechamiento o divertículo uretral  
 Hipospadias  
 Prostatectomía  
 Intervención del cuello vesical  
 Vasectomía  
 Varicocele  
 Hidrocéle  
 Hernia inguinal  
 Torsión del testículo  
 Simpatomía  
 Criptorquidia

---

### 6.1.2. Disfunción sexual de la pareja

El interrogatorio sobre la vida sexual de la pareja tiene gran importancia para descartar una disfunción sexual en la pareja, desde trastornos de la erección y eyaculación, hasta tipo y frecuencia de relaciones y grado de penetración, así como el momento preciso (Tabla 6-4):

- Si presenta una verdadera erección o simplemente un priapismo (intumescencia del cuerpo cavernoso, pero no del glande).

- Si la erección se produce espontáneamente, en respuesta a un estímulo físico, o solamente después de estímulo genital.

- Si hay eyaculación refleja subsiguiente a ella y cuánta.

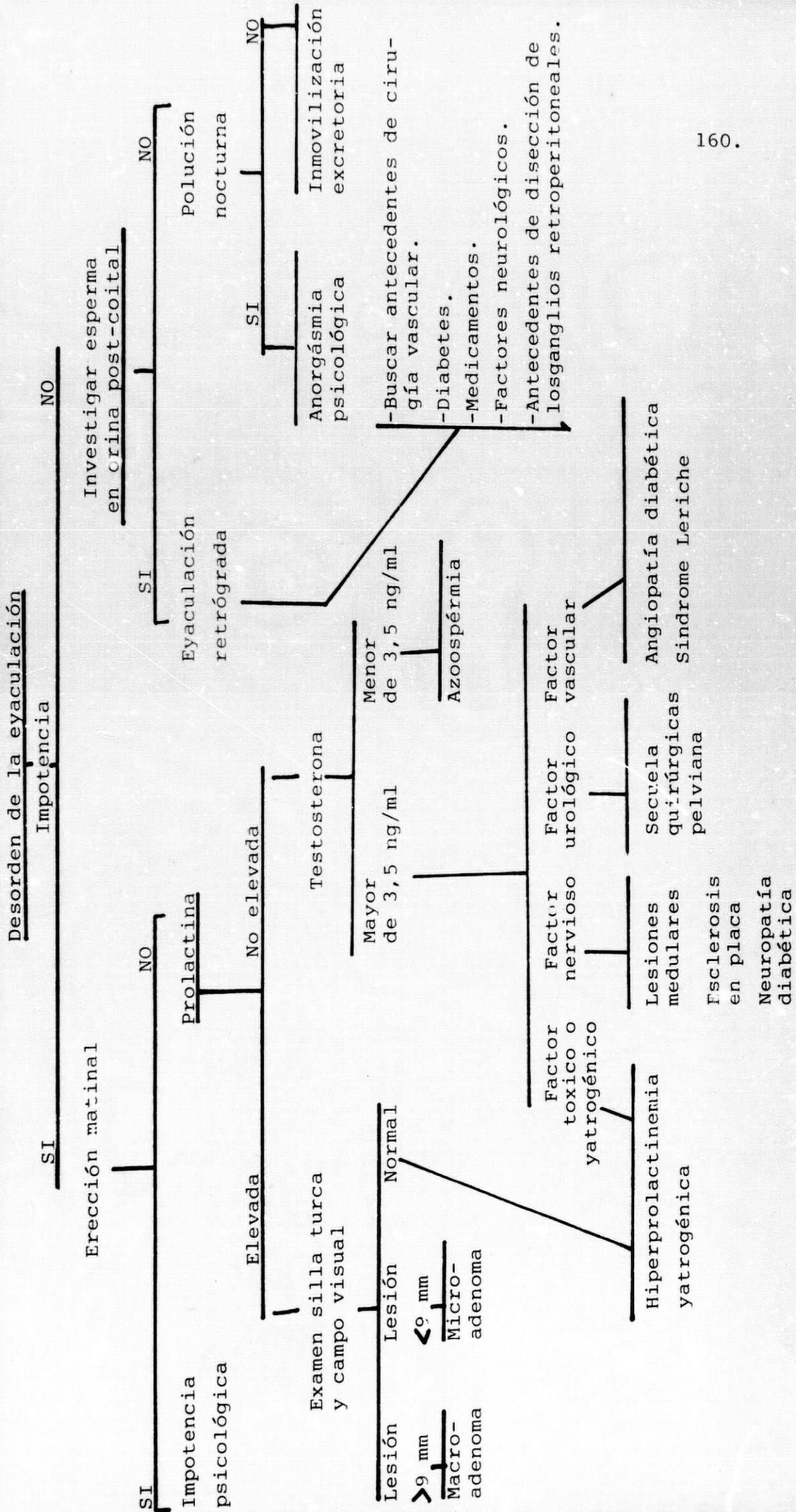
- Si se asocia la eyaculación a una sensación de orgasmo que apacigua a la vez la tensión y el deseo.

- Si la eyaculación es normal o retrógrada.

- Si se han producido eyaculaciones en ausencia de erección completa.

- Si el acto sexual se acompaña de sensación desagradable o de dolor.

TABLA 6-4: Desorden de la eyaculación (Lunenfeld, 1.984)



En caso de insuficiencia en la erección y eyaculación son necesarias la determinación de LH y T séricas, para ver el perfil androgénico y localizar la causa (Tabla 6-4):

- Si la LH sérica está elevada en presencia de niveles bajos o normales-bajos de T, la causa puede ser una insuficiencia leydiana primaria. Sin embargo, una hiperprolactinemia por un micro- o macroadenoma puede simular esta situación.

- Si la LH y la T séricas son bajas, podría ser una insuficiencia hipofisaria o hipotalámica, o el raro síndrome de eunucos fértiles.

#### 6.1.3. Antecedentes medicamentosos o exposiciones a agentes químicos

La intensa actividad mitótica del epitelio germinal post-puberal del testículo explica la predisposición a las lesiones por ciertas drogas antimitóticas que se utilizan en tratamientos médicos (Tabla 6-5), que generalmente no dañan a las células de Leyding y la secreción de T; pero ciertas drogas son comunes para alterar también la función leydiana, como la espirolactona que inhibe la síntesis de T, principalmente inhibiendo la unión dihidrotestosterona a su receptor citológico y nuclear (Corvol et al., 1.975; Rose et al., 1.977; Menard et al., 1.978).

TABLA 6-5. Enfermedades tratadas con drogas antimitóticas. (Lunenfeld B., 1.984)

---

Tejido conjuntivo:

Poliartritis reumatoide  
Lupus eritematoso  
Esclerodermia  
Dermatomiositis

Renales:

Síndrome nefrótico  
Glomerulonefritis  
Granulomatosis de Wegener  
Nefritis lúpica  
Rechazo de injerto

Gastro-intestinales:

Colitis ulcerosa  
Colitis granulomatosa  
Hepatitis crónica activa

Neurológicas:

Esclerosis en placa  
Miastenia

Hematológicas:

Anemia hemolítica autoinmune  
Púrpura trombopénica idiopática  
Aplasia eritrocitaria

Dermatológicas:

Psoriasis  
Pénfigo  
Piodermia gangrenosa

---

El consumo agudo y crónico de alcohol parece también disminuir la síntesis de T en el plasma. El etanol aumenta la eliminación metabólica de la T, igual que la actividad de la 5-alfa-reductasa hepática y la conversión de andrógenos en estrógenos.

El insecticida DDT parece tener una acción hormonal debido a su contaminación por 1'0,p'dicloro-difenil-tricloretoano (DDT=isómero-p'p'). Esta sustancia entra en competición con los andrógenos sobre su receptores (Wakeling y Visek, 1.973) y puede ejercer una acción estrogénica (Bulger et al., 1.978). Aumenta así el catabolismo de los andrógenos.

#### 6.1.4. Examen físico

El paciente debe ser examinado detenidamente explorando los diferentes órganos para descartar otra patología implicada y, por supuesto, una exploración exhaustiva urogenital.

El examen urogenital comporta:

- Inspección del pene, localización del orificio uretral.

- Palpación del contenido escrotal, se aprecia la localización, la consistencia y la posible sensibilidad de los testículos.

- Talla y volumen testicular.

- Palpación del epidídimo y deferente.

- Exploración del reflujo venoso espermático por medio de maniobras de Valsalva. Esta exploración se puede completar por medio de una flebografía espermática retrógrada, la cual revela la existencia de varicocele entre el 76% (Chatel et al., 1.978) y el 81% (Narayan et al., 1.981) en hombres infértiles. Una relación entre el varicocele clínico y una espermatogénesis anormal fue postulada en 1.929 por McComber y Sanders, y confirmada por la mejora de la calidad del espermatozoide tras la corrección del varicocele (Tulloch, 1.952; MacLeod, 1.965).

- Exploración de la próstata por medio de tacto rectal, debiendo ser simétrica, de consistencia firme, talla normal y no dolorosa.

- Las vesículas seminales no son palpables en su estado normal, a menos que estén inflamadas o congestivas.

## 6.2. EXAMEN DE SANGRE

El examen de sangre completo para la investigación de enfermedades sistémicas, tales como una anemia, un proceso inflamatorio, una enfermedad hepática, un proceso renal, etc., enfermedades que pueden ir acompañadas de una infertilidad con oligo-, asteno-, o terato-zoospermia. Y en su caso un estudio

hormonal del paciente:

- La medida de PRL puede ser necesaria si se sospecha una lesión de la región hipotálamo-hipofisaria. La identificación (Lewis et al., 1.971) y la purificación (Hwang et al., 1.972) de la PRL han estimulado la investigación del papel de esta hormona en los procesos de reproducción humana. Unos índices de PRL altos pueden involucrar una insuficiencia de la secreción hipotalámica del factor inhibidor de la prolactina (PIF), siendo un signo precoz del adenoma hipofisario. Algunos autores han encontrado una correlación entre los índices de PRL y las de gonadotropinas plasmáticas (Krause, 1.978). La correlación entre PRL y la concentración de espermatozoides son dudosas (Segal et al., 1.976; Fronzo et al., 1.977). Una correlación patente existe entre la hiperprolactinemia y la impotencia (Fronzo et al., 1.977).

- La T debe ser medida en los pacientes con antecedentes o signos de insuficiencia de caracteres sexuales secundarios. Sin embargo, el signo puede ser sólo una movilidad espermática deficiente o un esperma anormal en razón de un defecto de maduración espermática en el epidídimo. Para apreciar la calidad funcional de las células de Leyding, se realiza el test de estimulación por hormona gonadotropina coriónica (hCG-test). La T producida después de la estimulación por hCG va a actuar sobre las vesículas, el epidídimo y la próstata, aumentando sus

productos de excreción en el fluido seminal. Un aumento de la T plasmática y la ausencia de respuesta de los marcadores fisiológicos en el eyaculado, indican un bloqueo mecánico al nivel correspondiente, o una disfunción, o una agenesia de la glándula sexual accesoria correspondiente.

- La medida de FSH permitirá distinguir las insuficiencias hipotálamo-hipofisarias de las insuficiencias testicular en los pacientes azoospermicos o severamente oligo-asteno-zoospermicos.

La capacidad hipofisaria de segregar FSH en respuesta a la LH-RH (test LH-RH) puede ser utilizada como medida indirecta de la inhibina y como un parámetro semicuantitativo apreciable de la función de las células de Sertoli; así por ejemplo, una respuesta insuficiente o ausente a la LH-RH indicará un déficit gonadotropo bien primario, debido a la hipofisis, o bien secundario, debido a una insuficiencia hipotalámica. Este test LH-RH tiene un papel importante en el pronóstico y tratamiento con gonadotropinas (Lunenfeld et al.(a)1.982).

La medida de la FSH es necesaria en pacientes con una concentración espermática inferior a  $5 \times 10^6$  spz/ml. Una tasa elevada indica una insuficiencia en las células germinales, y en los pacientes azoospermicos, un síndrome de las células de Sertoli, o una enfermedad

genética, como el síndrome de Klinefelter. Si la tasa de FSH es alta acompañada de una LH elevada y de una T baja, esto nos indica una insuficiencia testicular primaria o una "andropausia" (Lunenfeld et al., 1.982(b)).

La administración de LH-RH a la vez de FSH y de LH puede ayudar a detectar una insuficiencia gonadotrópica debida a un déficit hipofisario o a un déficit hipotalámico prolongado.

### 6.3. EXAMEN DEL ESPERMA

El examen del esperma se considera como el elemento más importante en la apreciación de una infertilidad masculina. Deben de realizarse al menos dos o tres exámenes antes de emitir un juicio sobre una posible infertilidad.

Existe gran diversidad con respecto a cual es el espermograma normal, ya que, con la excepción de una azoospermia absoluta, que nos permite hablar de una esterilidad obvia, no hay límites exactos de demarcación entre esterilidad y fertilidad concernientes a los parámetros de cualidad del esperma. Existen criterios para la consideración de pacientes potencialmente fértiles y potencialmente infértiles (Tabla 6-6):

- Los datos recogidos de 15 publicaciones (Glezerman y Bartoov, 1.984) concernientes a 8.789 hombres, habiendo probado su fertilidad,

TABLA 6-6: Criterios de normalidad en una muestra de semen. (WHO, 1.987)

---

Volumen	≥2.0 ml
pH	7.2-7.8
Concentración spz	≥20 x 10 <sup>6</sup> spz/ml
Nº total spz	≥40 x 10 <sup>6</sup> spz
Movilidad	≥50% con movilidad progresiva (categorías (a) y (b)), o 25% con movilidad progresiva flechante (categoría (a)), dentro de 60 minutos después de la recolección
Morfología	≥50% formas normales
Vitalidad	≥50% formas vivas
Aglutinación	No
Células sanguíneas blancas (WBC <sub>s</sub> )	Menos de 1 x 10 <sup>6</sup> /ml
Zinc (Total)	≥2.4 micromol por eyaculado
Acido cítrico (Total)	≥52 micromol (10mg) por eyaculado
Fructosa (Total)	≥13 micromol por eyaculado

---

- Categoría (a): Movilidad progresiva rápida y lineal.  
 (b): Movilidad progresiva menos rápida y no lineal  
 (c): Movilidad no progresiva

han indicado un valor medio de concentración de  $76,3 \pm 18,6$  millones de espermatozoides por mililitro ( $10^6$  spz/ml). Si la normalidad se define por  $\pm 2$  DS, las cifras normales se sitúan entre  $40$  y  $140 \times 10^6$  spz/ml.

- La medida calculada de movilidad se calcula entre  $60,5 \pm 6,8$  % (DS). Así, los límites de movilidad medios normales comprende entre  $45$  y  $73$  %.

- Los datos concernientes a la morfología son muy variables, probablemente a causa del método utilizado para su tinción y clasificación.

- Entre todos los parámetros que se miden rutinariamente (morfología, movilidad, y numeración), es la numeración de los espermatozoides el parámetro que tiene una correlación estadísticamente más significativa con la infertilidad. Una cifra por debajo de los  $10 \times 10^6$  spz/ml es convencionalmente considerada como un índice de infertilidad relativa (David et al., 1.979). Es necesario disponer de un test de apreciación directa del poder fecundante de un eyaculado en caso de oligozoospermia. Smith et al., en 1.977, observan que un 5% de hombres eran fértiles con  $< 10 \times 10^6$  spz/ml. Es difícil encontrar una anomalía única que justifique la infertilidad ya que generalmente van acompañadas de varias. Es raro encontrar una concentración baja acompañada de una buena movilidad y de una morfología normal. Sin embargo, tales casos son generalmente

fértiles. Un ejemplo típico de esta situación lo representan el grupo de hombres azoospermicos por insuficiencia gonadotrópica tratados con HMG-hCG (Gonadotropina humana de la menopausia-gonadotropina coriónica humana) (Lunenfeld y Glezerman, 1.981).

Es posible observar algunos casos de hipofertilidad en pacientes con numeración y movilidad de espermatozoides normales, pero la morfología anormal. Un ejemplo típico de esta condición es producido por los espermatozoides desprovistos de acrosoma o con un defecto de acrosoma, o aún un defecto de DNA (Bartoov et al., 1.980; Bartoov et al., 1.981; Bartoov et al., 1.982).

David et al. (1.972) y MacLeod (1.965) han demostrado que las anomalías morfológicas transitorias pueden ser debidas a una infección, un traumatismo, un varicocele, o a otras situaciones deletéreas para el testículo, como el stres (Urry, 1.977) o la hipertérmia escrotal (Mieusset et al., 1.987), o por un desequilibrio hormonal. Asimismo han encontrado que el esperma de los pacientes infértiles contienen un % más elevado de formas anormales que en los hombres fértiles. Sin embargo, la caracterización de las malformaciones es muy difícil y necesita de un sistema de clasificación. Existen numerosos sistemas de clasificación; David et al., (1.972) y Freund (1.966) han observado los espermatozoides humanos con el microscopio óptico; una apreciación más detallada de la morfología de la superficie

del espermatozoide humano, ha sido observada con el microscopio electrónico de barrido (Bustos-Obregon et al., 1.975; Flechon y Hafez, 1.976; Dadoune y Fain-Maurel, 1.977).

Todas estas determinaciones se complementan con el examen de las características físicas y bioquímicas del eyaculado (Tabla 6-7; Tabla 6-8).

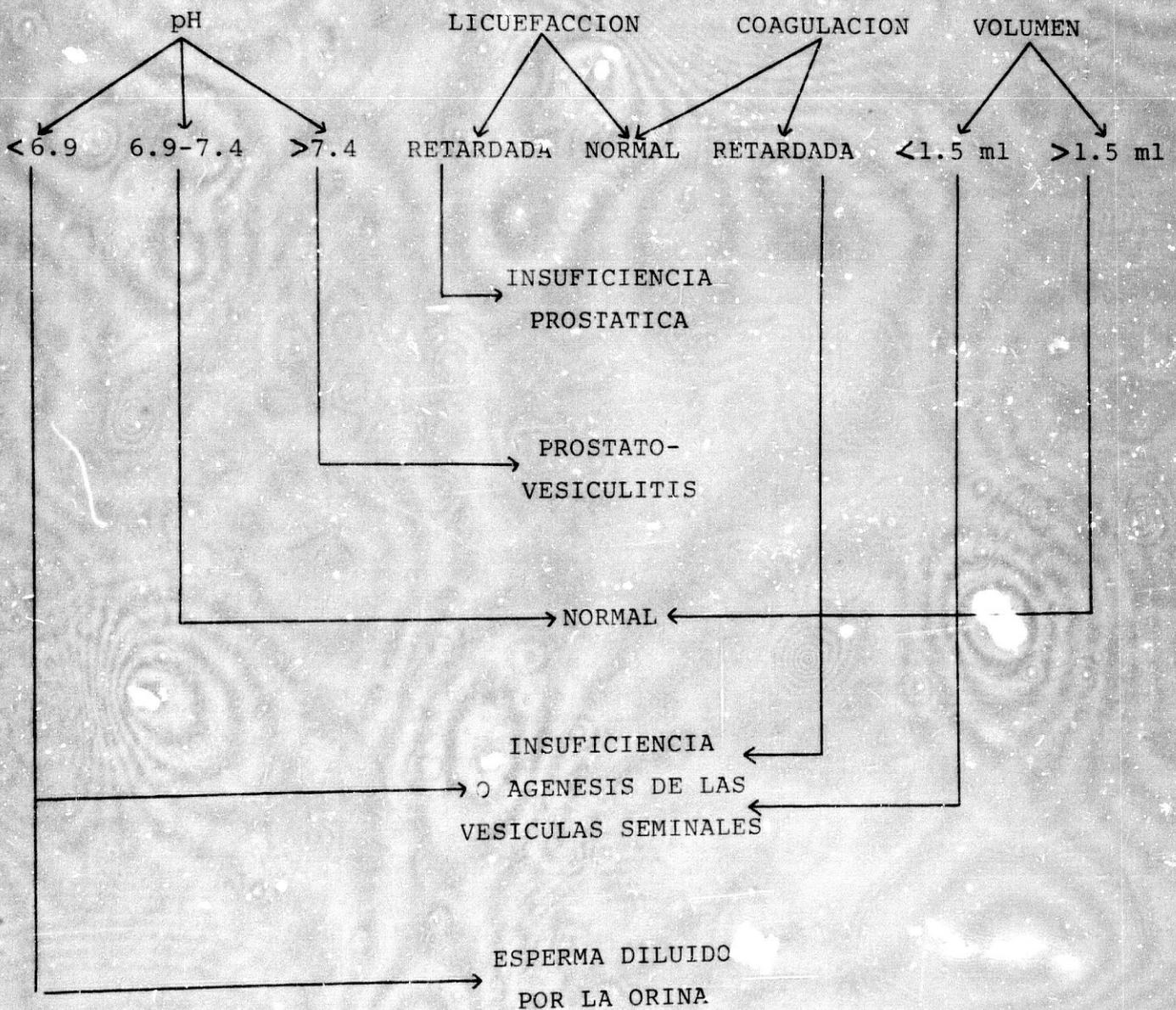
El esperma coagula inmediatamente después de la eyaculación, encerrando e inmovilizando a los espermatozoides en una especie de redcilla de fibrina. En estado normal, la licuefacción sigue en algunos minutos, y es generalmente completada en 5-20 minutos. Los componentes del sistema de coagulación son añadidos al eyaculado por medio de la secreción de las vesículas seminales. Los factores de licuefacción, ante todo activadores del plasminógeno, provienen de la secreción de las glandulas de Cowper y de la próstata. Las modificaciones de estas glándulas pueden suprimir o reducir la licuefacción del esperma, con la consiguiente disminución de la fertilidad.

En la membrana externa del espermatozoide existen numerosos antígenos de membrana, que provienen del fluido del tracto genital masculino y están generalmente asociados a una inhibición de la fertilidad del espermatozoide, provocando su aglutinación. Son sustancias que son sustraídas de los espermatozoides, o son desactivadas durante el proceso de capacita-

TABLA 6-7: CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DEL EYACULADO. (Según diferentes autores).

	LUNENFELD	KLEIN	JEQUIER Y CRICH	BRASSESCO	WHO
	1.984	1.985	1.986	1.987	1.987
pH	7.2-7.8	7.3-7.8	7.9-8.1	7.2-7.8	7.2-7.8
Licuefacción	5-20 min	15-30 min	5-20 min	30 min	60
Fructosa	1, 200 ug/ml	150-600 mg/dl	3.5-28 mmol/l	8-35 mmol/l	13 umol/eya
Fosfatasa ácida	100-300 ug/ml	150-180 IU/ml	88-979 IU/100ml	20-60x10 <sup>3</sup> IU/ml	
Acido cítrico	3 mg/ml	250-800 mg/dl	20-39 mmol	10-40 mmol/l	53 umol/eya (10 mg/eya)
Inosital	1 mg/ml				
Zinc	75 ug/ml	80-150 ug/ml	25-424 ug/ml	2,610±1,099	2.4 umol/eya
Magnesio	70 ug/ml			umol/l	
Prostaglandinas (PGE <sub>1</sub> + PGE <sub>2</sub> )	30-200 ug/ml				
Gliceril-fosforil- colina	650 ug/ml				
L-Carnitina		4, 5-10.0 mg/dl			3.0 umol/l 0.5x10 <sup>-10</sup> 1.0x10 <sup>-10</sup> mmol/10 <sup>6</sup> spz

TABLA 6-8: Características bioquímicas del eyaculado y marcadores diagnósticos. (Lunenfeld, 1.984)



ción en el tracto genital femenino.

La investigación bioquímica ha señalado la existencia de ciertas enzimas necesarias para la fecundación, localizadas en el interior del acrosoma y liberadas durante la reacción acrosómica, de las cuales, las más importantes son la acrosina, la hialuronidasa y la enzima de penetración coronal, que facilita la penetración del espermatozoide a través de la corona radiata. La hialuronidasa ataca la matriz intercelular del cúmulo y abre una vía hacia la zona pelúcida.

#### 6.4. AZOOSPERMIA (Tabla 6-9 y Tabla 6-10)

Tres entidades distintas presentan esperma sin espermatozoides:

1. Insuficiencia de espermatogénesis.
2. Obstrucción en cualquier parte del tracto genital.
3. Falta de eyaculación, conduciendo a una eyaculación parcialmente retrógrada. El examen de orina post-coital, fácil de realizar, excluiría esta eventualidad. (Glezerman y Lunenfeld, 1.976).

Se pueden encontrar casos con defecto de espermatogénesis (azoospermia) en los cuales los testículos no son palpables en el escroto. Después de eliminar la virilización yatrogénica





en un castrado, el test de hCG va a permitir la detección de testículos criptorquídeos. Si no se produce un aumento de T después de la inyección de hCG, se puede concluir una ausencia de tejido testicular. Sin embargo, estos pacientes son generalmente incapaces de tener una eyaculación. La presencia de testículos en el escroto en sujetos azoospermicos necesita hacer un diagnóstico diferencial entre una obstrucción y una insuficiencia testicular por medio de la medición de la tasa de FSH que reemplaza a la biopsia testicular en la mayoría de los casos.

#### 6.5. ASPERMIA

Después de eliminadas las causas endocrinas de la aspérnia, el eunucoidismo, el camino diagnóstico difiere fundamentalmente en los casos donde el defecto de eyaculación está asociado a una insuficiente erección y en aquellos casos donde la erección es normal. En este último caso se debe de eliminar la posibilidad de una eyaculación retrógrada, examinando una muestra de orina después de la relación sexual (Glezerman y Lunenfeld, 1.976). Igualmente se ha de descartar una posible disfunción sexual de origen psíquico, de origen neurológico por secuelas de intervenciones quirúrgicas pélvicas, de vasculopatías (ang'opatía diabética), o por agentes terapéuticos o tóxicos.

#### 6.6. ANOMALIAS DEL ESPERMOGRAMA (Tabla 6-11)

- Azoospermia
- Oligozoospermia
- Astenozoospermia
- Teratozoospermia
- Oligo-asteno-teratozoospermia
- Necrozoospermia

Generalmente las anomalías están de forma asociadas, siendo diferente el grado de gravedad de la enfermedad según el predominio de una de las anomalías.

##### 6.6.1. Oligozoospermia (Tabla 6-12 y Tabla 6-13)

Las oligozoospermias se pueden dividir en casos moderados cuando la concentración de espermatozoides es de  $10-20 \times 10^6/\text{ml}$ , o un número total de espermatozoides entre  $30-50 \times 10^6$  por eyaculado; y casos severos, con una concentración por debajo de  $5 \times 10^6$  spz/ml.

##### 6.6.2 Astenozoospermia (Tabla 6-14)

En algunos pacientes, exámenes repetidos pueden mostrar una astenozoospermia con una numeración y morfología normales (defecto aislado de la movilidad). Si los espermatozoides no toman la coloración con la eosina, esto indica que la mayor parte de los espermatozoides inmóviles están no obstante vivos. Podría explicarse por un defecto de la pieza intermedia del esperma-

tozoide, por ausencia de mitocondrias, por carencia de fructosa y, en otros casos por un defecto de desarrollo del flagelo (Lunenfeld et al., 1.982(a)).

#### 6.6.3. Teratozoospermia (Tabla 6-15)

Un eyaculado que contiene más del 70% de células anormales, es una teratozoospermia severa, que puede ser debida a una aberración cromosómica. Sin embargo, se debe de hacer una investigación meticulosa de otros factores nocivos, tóxicos.

TABLA 6-11: Anomalías del espermograma (WHO, 1.980)

