



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

**“ULTRAESTRUCTURA ENDOMETRIAL Y ESPERMATICA
EN PAREJAS CON ESTERILIDAD DE CAUSA
NO DETERMINADA”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO EN LA ESPECIALIDAD DE:
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA
P R E S E N T A :
DR. JESUS BARRON VALLEJO



MEXICO, D. F.

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Indice.

	<u>Pag.</u>
Introducción	1
Marco teórico	6
Planteamiento del problema	8
Justificación	9
Objetivos	10
Hipótesis	11
Material y métodos	12
Validación de los datos	15
Resultados	16
Discusión	29
Conclusiones	32
Bibliografía.	

Introducción.

El término esterilidad inexplicable se aplica a parejas que no tienen una etiología identificada de su problema después de realizar una evaluación completa del caso. No obstante, el hablar de un estudio "completo" puede ser hasta cierto punto relativo, ya que la ausencia del embarazo indica que existe alguna alteración de la función reproductiva que no puede ser detectada por los métodos diagnósticos usados actualmente (1).

Basándose en la distribución de la fecundidad observada en una población "normal", se define al grupo de parejas fértiles como aquellas que logran el embarazo dentro de los dos años siguientes del inicio de relaciones sexuales regulares y sin el uso de métodos anticonceptivos (2). Aquellas parejas que no consiguen la concepción en el periodo mencionado comprenden a las que realmente son estériles de una manera absoluta y a otro grupo considerado como subfétil (2). Probablemente, muchos de los pacientes con esterilidad inexplicable forman parte de este último grupo (3).

La incidencia de esterilidad inexplicable es de 10 a 15%. Pero, a consecuencia de las numerosas fuentes de variación entre los diferentes estudios, estas cifras pueden diferir desde el 0 al 37% (3). Las divergencias no dependen exclusivamente de la diversidad de los protocolos diagnósticos, ya que inclusive el uso de la misma metodología por diferentes clínicas de esterilidad, produce una variabilidad notable en los resultados obtenidos, con valores reportados que van del 8 al 37% (3).

Las parejas que buscan ayuda médica porque presentan esterilidad son sometidas a un estudio básico que incluye análisis seminal, evaluación de la permeabilidad tubaria por histerosalpingografía y/o laparoscopia, así como valoración del funcionamiento del cuerpo lúteo por medio de la determinación de la progesterona sérica (3). Es indudable que la alteración de uno o más de estos factores es incompatible con una fertilidad normal en las parejas afectadas. En este estudio inicial, es posible que se requieran pruebas adicionales en casos de azoospermia, amenorrea, hiper-

prolactinemia u otros desórdenes médicos que afecten la capacidad reproductiva de la pareja (3).

El examen seminal se basa en los criterios de la OMS, considerándose la "normalidad" cuando hay por lo menos 20×10^6 espermatozoides/mL, 50% o más células germinales con movilidad progresiva y 50% o más formas normales en la muestra estudiada (4). Desafortunadamente, estos valores aún no son totalmente confiables para predecir las posibilidades de fecundación de los espermatozoides (5).

En cuanto a la comprobación de la permeabilidad tubaria, si bien la histerosalpingografía es el método de primera elección, el estudio laparoscópico ayuda a detectar patología agregada como endometriosis o procesos adherenciales, por lo cual en algunos centros se le considera como imprescindible en la valoración del factor tuboperitoneal (2).

Por lo que respecta a la evaluación endocrinológica del cuerpo lúteo, aún no existe un método ideal, pero la medición de la progesterona sérica en la fase lútea media es la técnica que se considera más adecuada para tal propósito. En algunos casos, puede ser necesario hacer más de una determinación de la hormona por ciclo para que el examen sea adecuado (2).

Otros análisis que pueden ser practicados a las parejas estériles son: la prueba de penetración de oocito de hámster, la espermatozobioscopia funcional y los ensayos de anticuerpos antiespermatozoides (2).

Con relación a la espermatozobioscopia funcional, se ha observado que existe una correlación reducida entre los resultados de la misma y la posibilidad de que se logre la concepción (6). Es indudable que las alteraciones cervicales pueden ser causantes de la esterilidad en algunos casos, lo que resulta dudoso es si la prueba postcoital es la adecuada para estudiar a este grupo de pacientes (2,6). Algo semejante puede decirse acerca de las determinaciones de anticuerpos antiespermatozoides y la penetración del oocito de hámster, siendo cuestionable su valor para distinguir entre parejas fértiles y estériles (2).

Algunos exámenes encaminados al diagnóstico de varicocele o deficiencias de la función lútea son realizados por ciertos autores, pero no existen estudios bien diseñados que comprueben que estos hallazgos afecten de manera definitiva la fertilidad de las personas que los presentan (2).

Causas posibles de la esterilidad inexplicable.

La dificultad que tienen algunas parejas aparentemente normales para lograr el embarazo puede deberse a una variedad de razones. Primero, hay personas sanas que tienen un rango de fertilidad que se encuentra por debajo del promedio de la población. Segundo, en algunos casos la fertilidad está disminuida porque la mujer es mayor de 30 años, lo cual reduce de manera natural el potencial reproductivo. Tercero, defectos sutiles del sistema reproductor que son indispensables para que ocurra la gestación, pero que no se descubren con las técnicas diagnósticas disponibles, o son desconocidas por el clínico como causa del problema (2).

Pronóstico de las parejas con esterilidad inexplicable.

En la actualidad, es difícil establecer el pronóstico reproductivo en estos casos. Uno de los motivos es el sesgo que existe en la mayoría de los estudios sobre el tema, donde sus resultados son casi siempre poco concluyentes. Por otro lado, casi todos son retrospectivos y carecen de un diseño adecuado.

A pesar de lo mencionado, se pueden establecer algunos criterios pronósticos:

1. La duración de la esterilidad es un dato clínicamente importante. Entre más tiempo tenga de diagnosticado el problema, hay una disminución gradual en la posibilidad de lograr la concepción. Después de tres años de esterilidad, la tasa de embarazo se reduce 2% por cada mes que transcurre. Por esta razón, cuando la evolución del problema ha sido breve, el pronóstico es relativamente bueno (2).
2. La historia de embarazos previos es un dato que ofrece un pronóstico satisfactorio. Cuando este antecedente es positivo, -

existe una probabilidad 1.8 veces mayor de que ocurra una nueva gestación (3).

3. La edad tiene un efecto deletéreo mínimo sobre la función reproductiva de mujeres fértiles. No obstante, en las parejas con esterilidad inexplicable, por cada año que pase la mujer por arriba de los 30, la tasa de embarazo disminuye en un 9%. Por lo tanto es un factor pronóstico importante en este grupo de pacientes (3).

Tratamiento de la esterilidad inexplicable.

Es de pensarse que para que un tratamiento sea efectivo, debe tener bases fisiopatológicas racionales. Sin embargo, como en los casos de esterilidad inexplicable no hay un defecto biológico reconocido que explique la misma, la mayoría de los manejos utilizados son hasta el momento empíricos.

El uso de citrato de clomifeno ha sido evaluado en estos casos pero sólo hay un trabajo bien diseñado en donde se comprueba que el fármaco aumenta la tasa de embarazo cuando se emplea en estas pacientes (7). Las gonadotropinas menopáusicas humanas (hMG) parecen incrementar ligeramente la probabilidad de conseguir el embarazo, pero los estudios sobre el tema no son confiables y se necesita más información al respecto (8,9).

Aparte de la hiperestimulación ovárica sola, la inseminación intrauterina combinada con la primera, ha sido considerada una modalidad terapéutica adecuada para tratar a estas parejas (10). - Los argumentos que explican este supuesto efecto benéfico son los siguientes: 1) se conoce el tiempo probable de la ovulación, lo cual aumenta la oportunidad de que se presente la interacción entre el óvulo y el espermatozoide; 2) las células germinales masculinas son colocadas (en un número elevado) en la parte superior del tracto reproductor femenino; 3) la aplicación de espermatozoides capacitados corrige defectos sutiles en la función de los mismos; y 4) el crecimiento del ovario que incrementa la probabilidad de que exista contacto anatómico entre la fimbria y la gónada femenina (1).

En caso que no se logre la concepción con el uso de inseminaciones intrauterinas, se recomienda recurrir a los métodos de Reproducción Asistida. La fertilización in vitro con transferencia de embriones (FIVTE) tiene superioridad teórica sobre la transferencia intratubaria de gametos (GIFT). Esto es debido a que con el primer procedimiento se corrobora la fertilización, así como la segmentación. No obstante, en la práctica cotidiana la transferencia intratubaria de gametos es la técnica de elección en los casos de esterilidad inexplicable, dado que produce tasas de embarazo superiores a las de la fertilización in vitro (1,11).

Marco teórico.

Existe un reporte previo donde se hace una descripción detallada de los hallazgos ultraestructurales del semen de pacientes con factor masculino francamente alterado (12).

En el trabajo mencionado se refiere que el espermatozoide debe tener las siguientes características para cumplir su función reproductiva: 1) un aparato motor eficiente que le permita desplazarse por el aparato reproductor femenino, así como penetrar las cubiertas del óvulo; 2) un acrosoma intacto, el cual es necesario para la fertilización; y 3) un complemento cromosómico completo, de importancia obvia (12).

Ninguno de los parámetros mencionados puede ser evaluado adecuadamente con las técnicas habituales de microscopia óptica porque las dimensiones extremadamente pequeñas de los organelos que intervienen en las funciones aludidas están fuera de la resolución del microscopio de luz (12). En lo anterior reside la importancia del estudio con microscopia electrónica en los casos de esterilidad de origen masculino.

Las alteraciones ultraestructurales del espermatozoide definitivamente son causa de esterilidad. Junto con el estudio a que se ha hecho mención hay otros que se han realizado en varones con espermatobioscopia directa decisivamente anormal (12,13,14). Sin embargo, en la actualidad no existen investigaciones de este tipo en pacientes con análisis seminal normal, como es el caso de los individuos que presentan esterilidad inexplicable, siendo muy probable que algunos de ellos tengan alteraciones espermáticas ultraestructurales que no son detectadas con los métodos convencionales.

Aún hay controversias sobre el papel que puedan tener los trastornos de la fase lútea del ciclo menstrual en la génesis de la esterilidad (2), así como en los tratamientos que se utilizan para esta supuesta patología endocrina (15). Los defectos endometriales deben ser responsables de la falla reproductiva en algunas parejas con esterilidad inexplicable, pero las técnicas diagnósticas actuales todavía no son suficientemente sensibles pa

ra descubrirlos.

Hay un trabajo en donde se indica que las mujeres estériles tienen deficiencias de la fase lútea, esto cuando se les compara con pacientes fértiles (16). En este estudio, los casos de endometriosis y esterilidad inexplicable presentaron los defectos más notorios en el efecto progestacional (16). No obstante, no es posible aún establecer una relación directa entre estos hallazgos y la existencia de la esterilidad, esto a pesar de que hay información que sustenta este concepto (17).

El estudio del endometrio puede ser más completo si se realizan tinciones inmunohistoquímicas del mismo (18). Con tal técnica, se ha observado que las muestras de mujeres con esterilidad inexplicable tienen carencias de epítopes de oligosacáridos, esto en relación con pacientes fértiles (18). Los resultados sugieren que una disfunción primaria del endometrio puede ser la que de origen a algunos casos de esterilidad inexplicable. Sin embargo, esto requiere más experimentos al respecto.

A diferencia de los estudios ultraestructurales efectuados en espermatozoides de pacientes con análisis seminal francamente anormal, este tipo de investigaciones no se ha llevado a cabo en especímenes endometriales. El practicar estos exámenes en mujeres con esterilidad inexplicable, es otra de las innovaciones del estudio que se presenta.

Planteamiento del problema.

¿Hay hallazgos ultraestructurales anormales en las muestras seminales de pacientes con estudio del factor masculino previamente reportado como normal?

¿Existen alteraciones endometriales detectadas por microscopía electrónica y que no habían sido demostradas mediante el análisis de microscopía óptica?

Justificación.

En el Instituto Nacional de Perinatología la incidencia de esterilidad inexplicable es similar a la de otros reportes de la literatura médica (3), siendo esta patología encontrada en un 10 a 15% de las parejas estériles, representa un problema importante de atención asistencial para los centros que se dedican al tratamiento de estas personas.

Se ha mencionado que existen trabajos en donde se estudian las características del semen de pacientes con factor masculino definitivamente alterado (12). Sin embargo, la falta de este tipo de estudios en varones aparentemente "normales" puede hacer pasar desapercibida la presencia de trastornos que comprometan la función reproductiva del gameto masculino. Esta es precisamente, una de las justificaciones para efectuar este protocolo de investigación.

Como se ha descrito, parece haber supuestas deficiencias en la función lútea que pueden interferir con la actividad normal - del endometrio, así como defectos en la producción de oligosacáridos; pero a diferencia de los estudios efectuados en el varón, en la mujer no se han hecho análisis ultraestructurales que en un momento determinado puedan revelar cambios endometriales que expliquen la falla en la reproducción de estas pacientes (16,17,18). Este es otro de los argumentos que justifican la realización de este trabajo.

Objetivos.

Determinar si hay alteraciones ultraestructurales en las - muestras seminales de pacientes con protocolo de estudio de esterilidad considerado como normal.

Evaluar si existe patología ultraestructural en el endometrio de pacientes con esterilidad inexplicable.

Hipótesis.

Hipótesis verdadera. Si las muestras seminales y endometriales de pacientes con esterilidad inexplicable son reportadas normales en el estudio de microscopia óptica, pero existen alteraciones ultraestructurales en las mismas, entonces éstas se encontrarán mediante el análisis de microscopia electrónica.

Hipótesis nula. No se descubrirán trastornos ultraestructurales en el semen ni en el endometrio de parejas con esterilidad inexplicable.

Material y métodos.

Universo de estudio.

Está formado por los pacientes con esterilidad inexplicable incluidos en el programa de transferencia intratubaria de gametos (GIFT) de la Unidad de Reproducción Asistida y también por parejas con el mismo diagnóstico estudiadas en la consulta externa de Esterilidad del Instituto Nacional de Perinatología.

Tamaño de la muestra.

Constituido por quince parejas con diagnóstico de esterilidad inexplicable seleccionadas del universo de estudio mencionado.

Criterios de selección.

1) Criterios de inclusión.

Parejas con esterilidad primaria o secundaria.

Estudios del protocolo de esterilidad completos y normales:

Espermatobioscopia directa normal.

Espermocultivo negativo (inclusive Chlamydia y Mycoplasma).

Citología cervicovaginal negativa.

Cultivo cervicovaginal con desarrollo de flora normal (también negativo para Chlamydia y Mycoplasma).

Evidencia clínica y de laboratorio de ciclos ovulatorios - (progesterona sérica mayor de 3 ng/mL).

Examen de microscopia óptica con reporte de endometrio secretor.

Laparoscopia diagnóstica cuyos hallazgos sean órganos pélvicos normales y al menos una salpinge permeable.

2) Criterios de exclusión.

Pacientes que presenten alterado uno o más de los estudios del protocolo de esterilidad.

3) Criterios de eliminación.

Aquellos casos en los cuales el análisis mediante microscopia óptica revele trastornos estructurales no detectados en la evaluación previa de las parejas.

Se tomaron quince biopsias de endometrio en fase lútea media, estas muestras fueron cortadas en pequeños fragmentos e inmediatamente después fijadas con glutaraldehído al 3% disuelto en amortiguador de fosfatos 0.2M a pH 7.2 por dos horas. El material fue enjuagado con una solución lavadora (amortiguador de fosfatos, sacarosa, CaCl_2), realizándose dos cambios de quince minutos cada uno.

Las muestras fueron postfijadas con tetraóxido de osmio al 1% en amortiguador de fosfatos, durante 90 minutos. Posteriormente se enjuagaron dos veces con solución lavadora. El siguiente paso fue la deshidratación, en donde se utilizaron acetonas graduales (60° , 70° , 90°), los dos últimos cambios se realizaron con acetona 100° .

La preinclusión se llevó a cabo con acetona 100° mas 50% de resina epóxica a temperatura ambiente por 24 horas. Un día después la acetona se dejó evaporar totalmente para que las muestras fueran incluidas; los fragmentos de tejido fueron colocados en moldes planos de plástico a los cuales se les agregó resina epóxica. La polimerización fue a 60° durante 24 horas.

Por otra parte, los esposos de las pacientes proporcionaron una muestra seminal obtenida por masturbación, la cual se licuó en baño maría durante 20 minutos, posteriormente fue fijada con glutaraldehído al 3% disuelto en amortiguador de fosfatos, esto durante dos horas. Luego, el espécimen fue centrifugado a 1000 rpm durante cinco minutos y se procedió a enjuagar con solución lavadora, se postfijó con tetraóxido de osmio al 1% y posteriormente se siguió el procedimiento mencionado para las biopsias endometriales.

Microscopia óptica.

Se efectuaron cortes semifinos de aproximadamente 300 nm de espesor en un ultramicrotomo LKB, éstos fueron colocados en portaobjetos, teñidos con azul de toluidina y examinados en un microscopio de luz Carl Zeiss.

Microscopia electrónica.

Después de localizar la zona deseada en el microscopio óptico, se procedió a obtener cortes ultrafinos de aproximadamente 90 nm de grosor, esto en un ultramicrotomo LKB. Los cortes fueron montados en rejillas de cobre de 300 mesh y luego contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo.

Las observaciones y microfotografías electrónicas fueron captadas de un microscopio electrónico Carl Zeiss EM 10C.

Validación de los datos.

Para el procesamiento de los datos, se creó una base en un programa Lotus y posteriormente se evaluaron las variables estudiadas por medio de un paquete estadístico para computadora SPSS - PC.

Las variables valoradas en este trabajo son:

1) Variables independientes.

Edad de los miembros de la pareja.

Tiempo de la esterilidad.

Tipo de esterilidad.

2) Variables dependientes.

Incidencia de alteraciones ultraestructurales en las muestras seminales y endometriales.

Las gráficas se elaboraron usando el programa para computadora Harvard Graphics.

Resultados.

Las muestras de las quince parejas incluidas en este trabajo se evaluaron según la metodología referida. Una de las parejas fue eliminada por presentar datos francos de infección bacteriana en el análisis de microscopía óptica.

La edad de las mujeres, de los varones y la duración de la esterilidad son mostrados en la tabla 1.

Las características clínicas de cada uno de los pacientes incluidos en la investigación pueden verse en la tabla número 2. En este estudio no se trató de seleccionar pacientes con algún tipo de esterilidad. No obstante, fueron más frecuentes los casos de esterilidad primaria.

Los hallazgos ultraestructurales encontrados en las muestras seminales son presentados en la tabla 3 y en la figura 5.

El encorvamiento del flagelo espermático fue el dato más constante de los especímenes estudiados.

A pesar de que se habían reportado cultivos negativos para *Chlamydia* y *Mycoplasma*, se hallaron datos sugestivos de procesos infecciosos de este tipo. Inclusive, uno de los pacientes tuvo signos indicativos de infección mixta por los gérmenes mencionados (figuras 1, 2 y 6).

Seis de las muestras tuvieron remanente de gota citoplásmatica y en cinco de ellas hubo partículas compatibles con infecciones virales (herpesvirus). Los estereocilios, (dato indirecto de infección) estuvieron presentes en cinco muestras. La existencia de proteínas adheridas al acrosoma fue el hallazgo anormal detectado con menor frecuencia en los varones estudiados. Sólo dos de los hombres estuvieron exentos de alteraciones en el análisis de microscopía electrónica (tabla 3).

En cuanto a los hallazgos endometriales estos son resumidos en la tabla 4 y en la figura 7.

La presencia de nucléolos en "canasta", estructura normal y previsor de una buena implantación, se observó en nueve de las catorce muestras estudiadas, siendo encontrados prácticamente de manera exclusiva en mujeres que se encontraban en día 18° del ci-

clo (esta estructura histológica sólo se halló en una ocasión en una paciente que acudió a la toma de la muestra en el día 17º) figura 3. Las protrusiones celulares, se vieron se en igual número de muestras. Este dato histológico también se observa casi exclusivamente en mujeres que se encontraban en día 18º.

Datos sugestivos de procesos infecciosos fueron detectados en seis de estas pacientes detectándose cambios compatibles con infecciones bacterianas y virales (figura 4).

La distribución del glucógeno celular presentó características peculiares. En trece de las muestras se encontró en la región basal de las células endometriales. En seis de ellas tuvo distribución simultánea basal y apical. En una se halló en las zonas parabasal y basal, y en otra fue visto sólo en la región apical (figura 8).

La mitocondrias gigantes, la presencia de interdigitaciones y la ausencia de microvellosidades fueron vistas cuatro veces en muestras diferentes de las pacientes estudiadas.

Tabla 1. Edad y duración de la esterilidad.

Hombres. 32.4 ± 4.93 años.

Mujeres. 32.2 ± 4.38 años.

Duración de la esterilidad: 6.5 ± 2.25 años.

Fuente: Archivo de la Unidad de Reproducción
Asistida.

Tabla 2. Características clínicas de las parejas incluidas en el estudio.

Num	Edad de la mujer *	Edad del hombre *	Tipo de esterilidad	Duración de la esterilidad
1	23	25	Secundaria	4 años
2	26	25	Primaria	5 años
3	34	32	Primaria	9 años
4	26	27	Primaria	8 años
5	37	37	Primaria	8 años
6	35	36	Primaria	10 años
7	33	38	Primaria	6 años
8	34	31	Secundaria	6 años
9	34	33	Secundaria	3 años
10	39	33	Secundaria	5 años
11	37	43	Secundaria	7 años
12	30	30	Primaria	9 años
13	33	33	Secundaria	9 años
14	31	32	Primaria	3 años

* Edad en años.

Fuente: Archivo de la Unidad de Reproducción Asistida.

Tabla 3. Hallazgos ultraestructurales encontrados en las muestras seminales.

Paciente	RGC	EF	PAA	PE	Chlam	Myco	IV *
1	+	+			+	+	+
2	+	+				+	
3							
4	+		+				
5		+	+			+	+
6		+		+		+	
7	+					+	
8	+	+			+		+
9							
10		+					
11	+		+	+			
12		+		+		+	
13		+		+			+
14				+			+

* RGC (remanente de gota citoplasmática); EF (encorvamiento del flagelo); PAA (proteína adherida al acrosoma); PE (presencia de estereocilios); Chla y Myco (datos compatibles con infección por estos gérmenes); IV (infecciones virales).

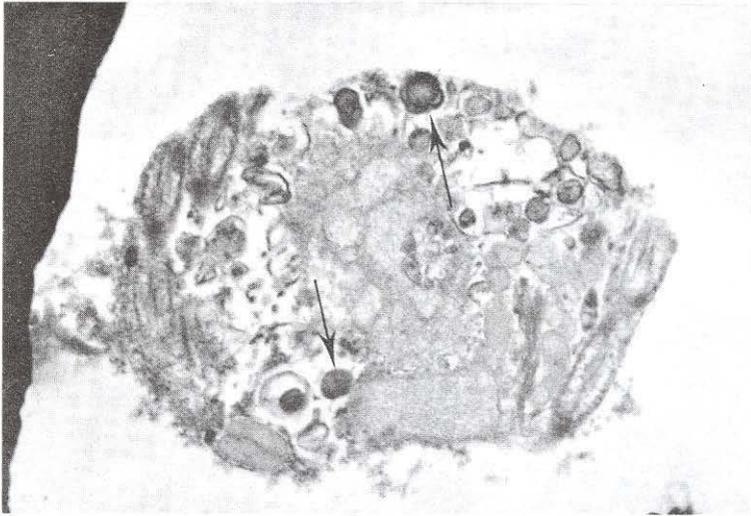
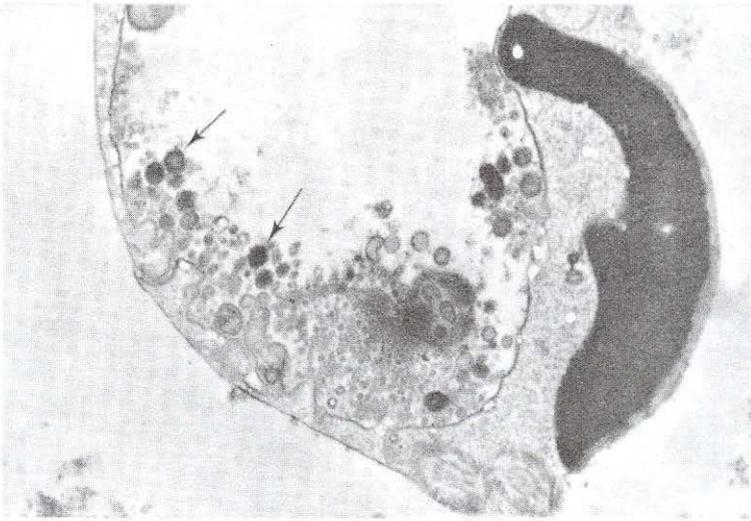
Fuente: Archivo de la Unidad de Reproducción Asistida.

Tabla 4. Hallazgos ultraestructurales detectados en las biopsias endometriales.

Paciente	NC	MG	PC	PI _n	Gluc	AM	PI*
1	+	+		+	basal		+
2			+		basal		
3	+				basal		
4			+	+	basal y apical		
5	+		+		basal		
6	+		+	+	basal y apical		
7	+	+	+	+	basal y parabasal		+
8					basal y apical	+	
9			+		basal		
10					basal y apical	+	
11	+		+		basal y apical	+	+
12	+	+	+		basal	+	+
13	+	+	+		apical		
14	+				basal y apical	+	+

* NC (nucléolos "en canasta"); MC (mitocondrias gigantes); PC (protrusiones celulares); PI_n (presencia de interdigitaciones); Gluc (localización del glucógeno); AM (ausencia de microvellosidades); PI (procesos infecciosos).

Fuente: Archivo de la Unidad de Reproducción Asistida.



Figuras 1 y 2. Muestras seminales que presentan datos compatibles con infección por Chlamydia (arriba) y Mycoplasma (abajo).

Fuente: Archivo del Departamento de Microscopía Electrónica.

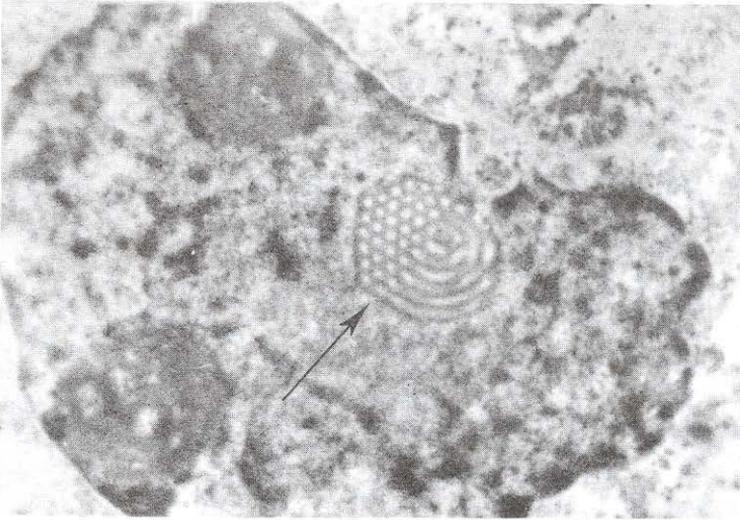


Figura 3. Microfotografía electrónica de una biopsia endometrial que muestra la existencia de nucléolos en "canasta".

Fuente: Archivo del Departamento de Microscopia Electrónica.



Figura 4. Microfotografía electrónica de una muestra endometrial que ilustra la presencia de datos sugestivos de infección viral.

Fuente: Archivo del Departamento de Microscopia Electrónica.

I. V. HALLAZGOS ULTRAESTRUCTURALES ENCONTRADOS EN LAS MUESTRAS SEMINALES.

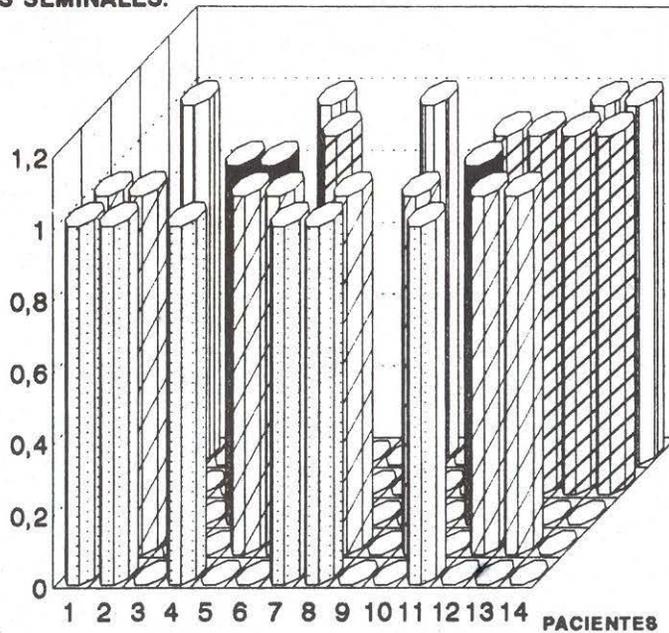
▨ P. E.

■ P. A. A.

▨ E. F.

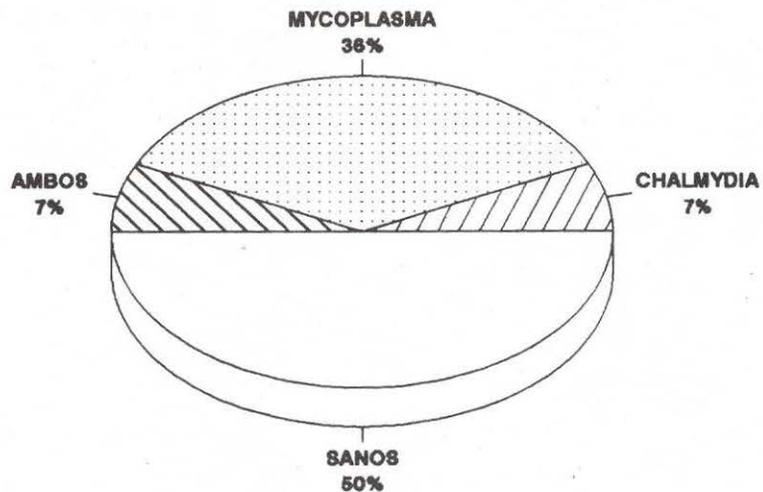
▨ R. G. C.

CASOS



FUENTE: ARCHIVO DE LA UNIDAD DE REPRODUCCION ASISTIDA.

FIGURA 5.

FIGURA 6. CASOS DE INFECCION SEMINAL POR CHALMYDIA Y MYCOPLASMA.

FUENTE: ARCHIVO DE LA UNIDAD DE REPRODUCCION ASISTIDA.

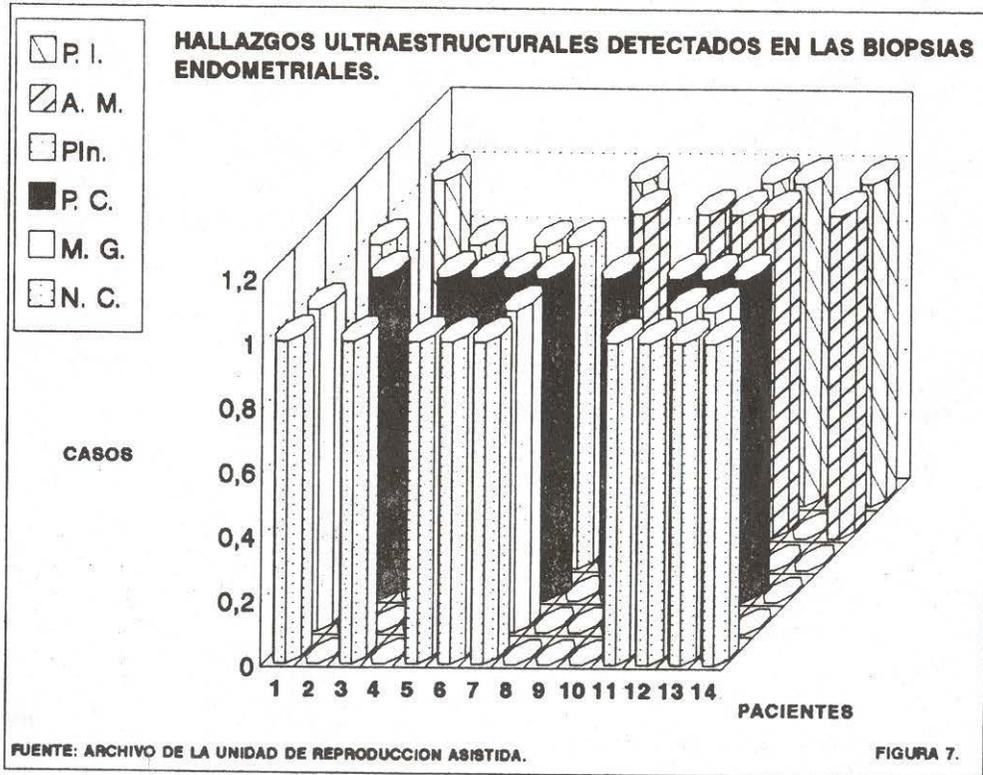
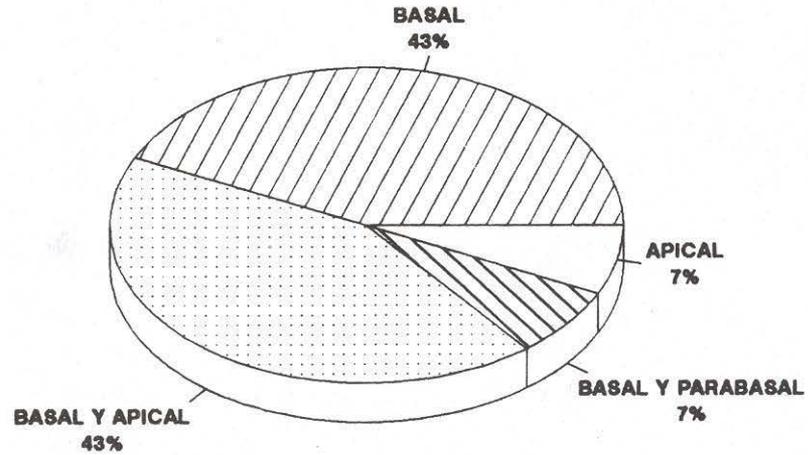


FIGURA 8. DISTRIBUCION DEL GLUCOGENO CELULAR EN LAS BIOPSIAS DE ENDOMETRIO.



FUENTE: ARCHIVO DE LA UNIDAD DE REPRODUCCION ASISTIDA.

Discusión.

Lo que llama inmediatamente la atención es la cantidad de hallazgos anormales encontrados en el estudio de microscopia electrónica de las muestras de parejas con esterilidad inexplicable. Los criterios aplicados para la selección de los pacientes hacían poco probable detectar alteraciones, ya que se incluyeron individuos considerados "normales". No obstante, una explicación probable de este fenómeno es el hecho que la mayoría de los pacientes estaban programados para la realización de GIFT, lo cual señala que se trataba de casos que no habían logrado la gestación a pesar del uso de tratamientos convencionales (coito programado, inseminaciones intrauterinas) y también por el hecho que la duración de la esterilidad fue prolongada en el grupo estudiado (6.5 ± 2.25 años) lo cual ya ha sido mencionado como factor de mal pronóstico para lograr el embarazo (2).

Es probable que los factores mencionados (casos que no han respondido a los tratamientos habituales y duración prolongada de la esterilidad) sean mas que los responsables del problema, el efecto de los trastornos detectados en el estudio ultraestructural y que no habían sido descubiertos en el examen básico de las parejas incluidas en este protocolo.

En cuanto a los hallazgos específicos de las muestras seminales, los datos sugestivos de infección por Mycoplasma se encontraron en 42.8% de los varones estudiados. En algunos reportes la infección por este género de gérmenes se ha asociado con la presencia de esterilidad inexplicable (19). En los hombres infectados, la existencia del microorganismo se relaciona con disminución en la movilidad de los espermatozoides, así como con alteraciones en la morfología de los mismos (19).

Existen trabajos doble-ciego del uso de doxiciclina, placebo o bien sin la utilización de medicamento en pacientes con esterilidad inexplicable que no han demostrado diferencias significativas en las tasas de embarazo de los grupos mencionados (20,21). Probablemente, estos resultados son consecuencia de la selección de los individuos y de la falta de sensibilidad de las prue-

bas habituales (cultivos) para diagnosticar a personas portadoras de este tipo de infecciones.

La infección por *Chlamydia* también se ha relacionado con la esterilidad inexplicable (esto cuando no causa lesiones graves - de la anatomía de los órganos pélvicos). Sin embargo, en la actualidad no existen reportes confiables sobre este tema. En este trabajo, se observó este germen en los espermatozoides de pacientes con esterilidad inexplicable. Hay un artículo en donde se ilustra la entrada de *Chlamydia* a la célula germinal masculina, esto a pesar de que los cultivos habían sido negativos en la búsqueda del microorganismo (22). El estudio referido difiere del que se presenta en que sólo se incluyeron cuatro pacientes y en que dos de ellos tenían oligospermia (severa en uno de ellos).

Nuevamente debe considerarse el problema de la falta de sensibilidad de los cultivos para encontrar infecciones subclínicas. Según los resultados del análisis de microscopía electrónica, este último procedimiento es más sensible para buscar pacientes infectados con *Chlamydia*. Hay un estudio en donde se usa la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para averiguar si hay infecciones de este tipo en el semen que va a ser usado para realizar inseminaciones intrauterinas. En este caso, la PCR demostró la presencia del microbio en 16.6% de las muestras estudiadas, lo cual comprueba nuevamente las falsas negativas que se obtienen con el uso de cultivos (23).

No existe experiencia con el uso de antibióticos contra *Chlamydia trachomatis* en casos de esterilidad inexplicable. No obstante, esta conducta no es racional. Lo más adecuado es buscar nuevos métodos diagnósticos para detectar este tipo de infecciones, los cuales no sean onerosos y complicados como la PCR o el estudio de microscopía electrónica.

Aunque aún no se ha demostrado que las infecciones virales de los espermatozoides causen esterilidad, esta es un área de trabajo que requiere la realización de otros experimentos ya que este tipo de lesiones también se encontró en los varones evaluados en este trabajo.

Existen estudios en donde se menciona que los espermatozoides de pacientes con esterilidad inexplicable tienen alteraciones en la reacción acrosomal, lo cual puede explicar la falla reproductiva (24). La presencia de proteínas adheridas al acrosoma quizás interfiera con el proceso de la fertilización, pero son necesarios más trabajos al respecto.

La trascendencia clínica de los otros hallazgos seminales (remanente de gota citoplasmática, encorvamiento del flagelo y la presencia de estereocilios) todavía tiene que ser investigada.

Los resultados del estudio de las biopsias endometriales tam bien dieron resultados interesantes.

Los nucleolos en "canasta" se han mencionado como signo normal y previsor de una buena implantación y se encontraron en la mayoría de los especímenes estudiados (25). En este sentido, aparentemente, las pacientes incluidas en el protocolo tenían un estímulo hormonal adecuado, tanto estrogénico como progestacional.

Los datos compatibles con infecciones virales o por mycoplasma también fueron evidentes en las mujeres. No obstante, el significado de estos hallazgos es aún incierto. Lo mismo puede decirse de la existencia de mitocondrias gigantes y la ausencia de microvellosidades. Todo esto amerita la realización de otros estudios en el futuro.

Conclusiones.

Tomando en cuenta el planteamiento inicial de problemas, se pueden hacer las conclusiones siguientes:

El estudio habitual de microscopia óptica no es suficiente para evaluar a los varones que padecen esterilidad inexplicable, ya que el análisis de microscopía electrónica descubre un amplio número de alteraciones, casi siempre procesos infecciosos.

Las muestras endometriales tuvieron un efecto hormonal adecuado. Sin embargo, las infecciones (principalmente por Mycoplasma) también estuvieron presentes en estos casos.

Los problemas de infección por virus, Chlamydia y Mycoplasma, así como las otras alteraciones encontradas deben causar trastornos en la función reproductiva, pero su trascendencia debe ser investigada más profundamente.

En este trabajo, la microscopia electrónica resultó útil para detectar lesiones que pasaron desapercibidas por la microscopia óptica. No obstante, es necesario buscar estudios menos elaborados y caros que permitan hacer una valoración adecuada de los pacientes con esterilidad inexplicable.

Bibliografia.

1. Lobo RA. Unexplained Infertility. *J Reprod Med* 1993; 38: 241-49.
2. Crosignani PG, Collins J, Cooke ID, Diczfalusy E, Rubin B. Unexplained infertility. *Hum Reprod* 1993; 8: 977-80.
3. Collins JA, Crosignani PG. Unexplained infertility: a review of diagnosis, prognosis, treatment efficacy and management. *Int J Gynecol Obstet* 1992; 39: 267-75.
4. World Health Organization 1992. Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 3ed edn. Cambridge University Press, Cambridge.
5. Hargreave TB, Elton RA. Fecundability rates from an infertile male population. *Br J Urol* 1986; 58: 194-97.
6. Griffith CS, Grimes DA. The validity of the postcoital test. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 616-20.
7. Glazener CMA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Hinton RA, Kelly NG, Hull MGR. Clomiphene treatment for women with unexplained infertility: placebo-controlled study of hormonal responses and conception rates. *Gynecol Endocrinol* 1990; 4: 75-83.
8. Welner S, DeCherney AH, Polan ML. Human menopausal gonadotropins: a justifiable therapy in ovulatory women with long-standing idiopathic infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 111-17.
9. Simon A, Avidan B, Mordel N, Lewin A, Samueloff A, Zajicek G, Schenker JG, Laufer N. The value of menotrophin treatment for unexplained infertility prior to in-vitro fertilization attempt. *Hum Reprod* 1991; 6: 222-26.
10. Serhal PF, Katz M, Little V, et al. Unexplained infertility: The value of Pergonal superovulation combined with intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1988; 49: 602.
11. Hull MGR. Infertility treatment: relative effectiveness of - conventional and assisted conception methods. *Hum Reprod* 1992; 7: 785-96.
12. Zamboni L. The ultrastructural pathology of the spermatozoon as a cause of infertility: the role of electron microscopy in

- the evaluation of semen quality. *Fertil Steril* 1987; 48: 711-34.
13. Haidi G, Becker A. Electron microscopy findings in human spermatozoa with flagellar defects. *Hautarzt* 1991; 42: 242-46.
 14. Singh G. Ultrastructural Features of Round-headed Human Spermatozoa. *Int J Fertil* 1992; 37: 99-102.
 15. Bopp B, Shoupe D. Luteal Phase Defects. *J Reprod Med* 1993; 38: 348-56.
 16. Li TC, Dockery P, Cooke ID. Endometrial development in the luteal phase of women with various types of infertility: comparison with women of normal fertility. *Hum Reprod* 1991; 6: 325-30.
 17. Kientzeris LD, Li TC, Dockery P, Cooke ID. The endometrial biopsy as a predictive factor of pregnancy rate in women with unexplained infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992; 45: 119-24.
 18. Graham RA, Seif MW, Aplin JD, Li TC, Cooke ID, Rogers AW, Dockery P. An endometrial factor in unexplained infertility. *BMJ* 1990; 300: 1428-31.
 19. Stray-Pedersen B, Eng J, Reikvan TM. Uterine T mycoplasma colonization in reproductive failure. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 130: 307.
 20. Friberg J. Mycoplasmas and ureaplasmas in infertility and abortion. *Fertil Steril* 1980; 33: 351-59.
 21. Harrison RF, Blades M, DeLouvois J, Hurley R. Doxycycline treatment and human infertility. *Lancet* 1975; 1: 605.
 22. Erbeni T. Ultrastructural observations on the entry of *Chlamydia trachomatis* into human spermatozoa. *Hum Reprod* 1993; 8: 416-21.
 23. van den Brule AJC, Hemrika DJ, Walboomers JMM, Raaphorst P, van Amstel N, Bleker OP, Meijer CJL. Detection of *Chlamydia trachomatis* in semen of artificial insemination donors by polymerase chain reaction. *Fertil Steril* 1993; 59: 1098-1104.
 24. Calvo L, Vantam D, Banks SM, et al. Follicular fluid induced acrosome reaction distinguishes a subgroup of men with unexplained infertility not identified by semen analysis. *Fertil*

Steril 1989; 52: 1048-54.

25. Kably AA, Karchmer KS, Carranza LS, Piñón LM, Serviere ZC, Villegas CH. Ultraestructura endometrial en ciclos estimulados para fertilización in vitro: análisis descriptivo. Ginecol Obstet Mex 1992; 60 (Supp 1): 106.