



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

“EFECTO DEL PICOLINATO DE CROMO EN PARÁMETROS SEMINALES
Y EN LAS CONCENTRACIONES DE GLUCOSA E INSULINA”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:

AVILENE ROSAS FUENTES

DIRECTOR DE TESIS
M. en C. Pedro Cuapio Padilla
Instituto Valenciano de Infertilidad México

ASESORA INTERNA
Dra. Patricia Rosas Saucedo
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM

MÉXICO, D.F.

ENERO, 2009





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AGRADECIMIENTOS:

A los profesores que forman parte de mi jurado:

- **M. en C. Pedro Cuapio Padilla**
- **Dra. Patricia Rosas Saucedo**
- **Dr. Juan José Rodríguez Mercado**
- **Dra. Maria Elena Ayala Escobar**
- **Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán**

Por su tiempo, disponibilidad, paciencia y orientación.

Además de unos sinceros agradecimientos a todas las personas que integran el equipo de IVI, por sus críticas constructivas y consejos para la realización de un mejor trabajo y una mejor formación profesional. En especial a Luis Quezada, por su comprensión y ayuda incondicional en la realización de mi tesis.

DEDICATORIAS:

A mi mamá

Porque una vida sin usted no tendría sentido, porque no hay palabras para agradecerle todo lo que nos ha dado. Porque para nosotros usted es un ejemplo a seguir digno de admirarse. Porque cuando se tiene a alguien como usted a lado, no puedes dejar derrotarte. Porque sin su apoyo y comprensión no lo hubiera logrado. Porque siempre se preocupó en cada cosa que hacía para la realización de mi tesis, en mis exposiciones, porque no hubo persona más pendiente. Porque me siento muy orgullosa de usted y porque si hay algo que le agradezco a la vida es tener una mamá tan maravillosa.....gracias por existir!!!!.

A mi papá

Porque gracias a él estoy aquí, y porque aún cuando no tenemos su presencia, para mi el simple hecho de saberlo vivo tiene un gran significado para mi estabilidad emocional.....gracias papá.

A mi abuelita

Porque aunque a veces la vida parece detenerse para siempre, su recuerdo y el amor que por usted siento me impulsa a salir adelante. Porque a cada momento la tengo tan presente, su imagen, su grandeza, su cariño, sus consejos, los momentos hermosos que compartimos, la complicidad que en muchas ocasiones tuvimos, las sonrisas que desprendimos.....son momentos que el paso del tiempo no hará que se desvanezcan.

A mi abuelito y a mi tío neto

Por su ejemplo de lucha hasta el último momento de su vida. Porque cuando se han conocido personas tan extraordinarias como ustedes, el amor siempre prevalece. Y es ese amor el que te impulsa a seguir viviendo....

“Porque una vida no es suficiente para dejar de sentir este enorme amor que por ustedes siento ni para olvidar las maravillosas e importantes personas que para mí fueron, son y seguirán siendo”.

A mis hermanos

Aris, Adí, Toño, Gordito y Adancito, porque éstos momentos no son nada si no se pueden compartir con las personas que queremos, porque sin su amor no lo hubiera logrado. Porque ustedes son uno de mis razones para seguir luchando. Y les prometo que este es el comienzo para alcanzar todo lo que soñamos.....

Esta tesis fue realizada en:

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza

INSTITUTO VALENCIANO DE INFERTILIDAD
Equipo IVI México
Laboratorio de Andrología

ÍNDICE	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	3
I. Sistema reproductor masculino.....	3
II. Eje hipotálamo-hipófisis-testículo.....	9
III. Espermatogénesis.....	11
IV. El espermatozoide.....	15
V. Producción del semen.....	17
VI. Factores que afectan la fertilidad masculina.....	19
VII. Infertilidad masculina.....	22
VIII. Evaluación del varón estéril.....	23
• Historia clínica	
• Análisis básico de semen	
IX. Cromo (Cr).....	31
X. Picolinato de cromo.....	36
XI. Insulina.....	38
XII. Glucosa.....	41

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	46
HIPÓTESIS	47
OBJETIVOS	48
MATERIALES Y MÉTODOS	49
• Selección de individuos	
• Análisis básico de semen	
• Toma de muestras sanguíneas	
• Determinación de insulina en suero	
• Determinación de glucosa en suero	
RESULTADOS	54
DISCUSIÓN	62
CONCLUSIONES	72
BIBLIOGRAFÍA	73
ANEXO	88

RESUMEN

En años recientes, ha habido un aumento progresivo en el decremento de la fertilidad masculina, ya que en el 50% de los casos, el hombre es parcialmente responsable de la esterilidad en la pareja.

El cromo es un nutriente esencial cuya función es la de contribuir en la activación del receptor a insulina, lo que permite el transporte de la glucosa al interior de las células y de esta forma proveerlas de energía y a su vez mantener normal la concentración de glucosa en la sangre; además de participar en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas por lo que se le atribuyen efectos como el incremento de la masa muscular y reducción de la grasa corporal, lo que ha propiciado la ingesta de cromo en forma de complementos alimenticios tales como el picolinato de cromo.

En la actualidad, el consumo del picolinato de cromo, principalmente por adultos jóvenes en edad reproductiva ha aumentado con el fin de quemar grasas y marcar músculos. Por lo anterior, se estudio el efecto del picolinato de cromo en la calidad espermática y en las concentraciones de glucosa e insulina en sangre de varones adultos jóvenes sanos.

En 12 varones adultos jóvenes sanos se evaluó el efecto de la suplementación de 200 µg/día de picolinato de cromo (durante 21 días,) sobre sus parámetros seminales, insulina y glucosa sanguíneas; a través de un análisis básico de semen y la utilización de los equipos ACCESS (quimioluminiscencia) y el Analizador Vitros DT 60 II (quimioluminiscencia) respectivamente. Los resultados obtenidos indican que el picolinato de cromo no ejerce ningún efecto en las concentraciones de insulina y glucosa sanguíneas de estos individuos, en contraste, se apreciaron efectos negativos en algunos de los parámetros seminales, en comparación con el grupo testigo, como son movilidad (40.9% vs 62.1%, $p < 0.05$), vitalidad (68.9% vs 84.9%, $p < 0.05$), y morfología espermática (1.6% vs 3.6%, $p < 0.05$); manteniéndose éste efecto después de la suplementación en el porcentaje de defectos de cabeza y cola presentes en los espermatozoides anormales, y en la movilidad espermática tipo b y c.

La alteración de la morfología, así como la baja movilidad y vitalidad espermática, por la suplementación con picolinato de cromo observada en este estudio, tiene un papel relevante en el diagnóstico del factor masculino, ya que se consideran como parámetros decisivos en el éxito de los tratamientos de reproducción asistida, embarazo, gestación y umbrales de fertilidad.

Dado la popularidad del picolinato de cromo como suplemento, y los efectos adversos de su ingestión a largo plazo en la función reproductiva, el consumo de este compuesto, debería realizarse con precaución y responsabilidad.

INTRODUCCIÓN

El cromo (Cr) es un nutriente esencial cuya función es la de contribuir en la activación del receptor a insulina, lo que permite el transporte de la glucosa al interior de las células y de esta forma proveerlas de energía y a su vez mantener normal la concentración de glucosa en la sangre; además de participar en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. Lo que ha propiciado la ingesta de cromo en forma de complementos alimenticios tales como el picolinato de cromo principalmente, ya que éste tiene una mayor biodisponibilidad del mineral cromo, y por lo tanto es el de mayor absorción (Anderson, 1986, 1989, 1993; Striffer, et al., 1993; Anderson, et al., 1997; Melvin, 2002; Solórzano del Río, 1998; Mertz, 1993; Van Way, 1999).

Adquiriendo el picolinato de cromo [$\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3$], mucha popularidad como un suplemento seguro que promueve la pérdida de grasa al mismo tiempo que genera músculo en los seres humanos. Por lo tanto, se ha materializado una importante industria en torno a la incorporación de picolinato de cromo en muchos alimentos y bebidas para el deporte, además de una gran variedad de productos para la pérdida de peso (Dion, et al., 2002; Melvin, 2002).

En los últimos cinco años se ha tratado de esclarecer el papel del cromo (3+) en mamíferos. En contraste, los 35 años anteriores de estudio, a partir de la dilucidación de una función esencial del Cr^{3+} en los mamíferos, ha dado lugar a numerosos estudios de la fisiología de la deficiencia de cromo y los efectos de la administración de suplementos de cromo principalmente sobre la composición corporal (Mertz, 1993; Lukaski, 1999), pero poco sobre su efecto en la función reproductiva.

Así que, dado que en años recientes ha disminuido progresivamente la fertilidad masculina (Calsen, et al., 1992; Auger, et al., 1995; Bhardwaj, et al., 2000) y el consumo del picolinato de cromo principalmente por adultos jóvenes en edad reproductiva ha aumentado, se estudio el efecto del picolinato de cromo en la calidad espermática, así como en las concentraciones de insulina y glucosa en sangre de varones adultos jóvenes sanos.

MARCO TEÓRICO

I. SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO

El sistema reproductor masculino está formado por los siguientes órganos (Latarjet y Ruíz, 1999; Rouvière y Delmas, 2005) (figura 1):

- Órganos sexuales primarios:
 - Testículos
- Órganos sexuales secundarios:
 - Vías espermáticas: túbulos seminíferos, red testicular, epidídimo, conducto deferente, conducto eyaculador, uretra
 - Pene
 - Escroto
 - Glándulas anexas: próstata, vesículas seminales, glándulas bulbouretrales.

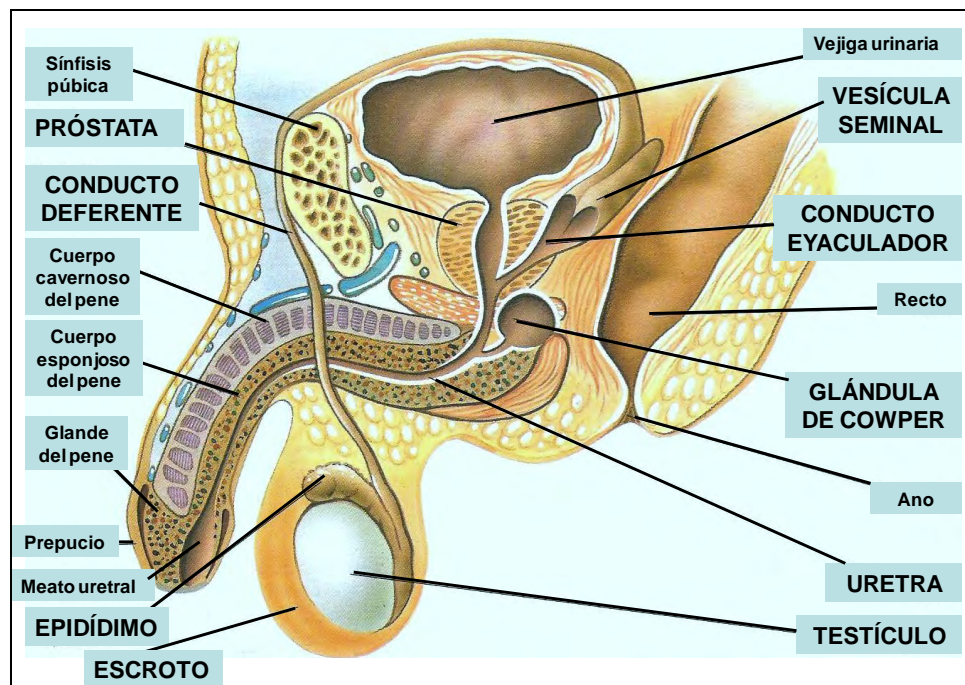


Figura 1. Tracto reproductor masculino humano (Modificada de León, et al., 2000).

Testículos

Los testículos son órganos pareados de forma ovoide aplanada transversalmente, que se encuentran suspendidos en una bolsa carnosa llamada escroto (Crafts, 1996). En el varón adulto, cada testículo tiene un peso entre 10 y 20 g y mide de 4 a 5 cm de longitud, 2.5 a 3 cm de espesor y

3 cm de altura. Su superficie es lisa y brillante por todas las partes donde está cubierta por la túnica albugínea. Su color es blanco ligeramente azulado. Su consistencia, debida a la gran tensión de su envoltura es muy firme (Gutiérrez, 1995; Pérez, 1995; Rouvière y Delmas, 2005; Páges y Aller, 2006). Los testículos están conectados con el cuerpo por tejido escrotal y dos cordones espermáticos que están compuestos por nervios, vasos sanguíneos y los vasos deferentes, o conductos espermáticos. Para producir y nutrir a los espermatozoides, la temperatura dentro de los testículos debe permanecer aproximadamente 1 °C por debajo de la temperatura corporal normal. Parte de la función del escroto es conservar la temperatura óptima, manteniendo a los testículos más lejos del cuerpo durante el clima caluroso o contrayéndose y llevándolos más cerca del cuerpo durante el clima frío (Páges y Aller, 2006). Además de existir otros mecanismos para controlar la temperatura testicular como son la circulación linfática, arterial y venosa (Trejo, et al., 2005).

La principal función de los testículos es producir espermatozoides y la hormona sexual masculina, la testosterona (Rouvière y Delmas, 2005). El testículo produce alrededor de 1000 espermatozoides por segundo y unos 100 millones diarios (Páges y Aller, 2006).

El testículo humano adulto está formado por dos compartimentos, los túbulos seminíferos donde tiene lugar la espermatogénesis, y el intersticio situado entre los túbulos seminíferos. Los túbulos seminíferos representan aproximadamente del 85 al 90% del volumen testicular, que oscila entre 15 y 30 ml (Matsumoto, 1991) (figura 2). Es por eso que una reducción en el tamaño del testículo suele llevar apareada una disminución de la producción de espermatozoides (Páges y Aller, 2006).

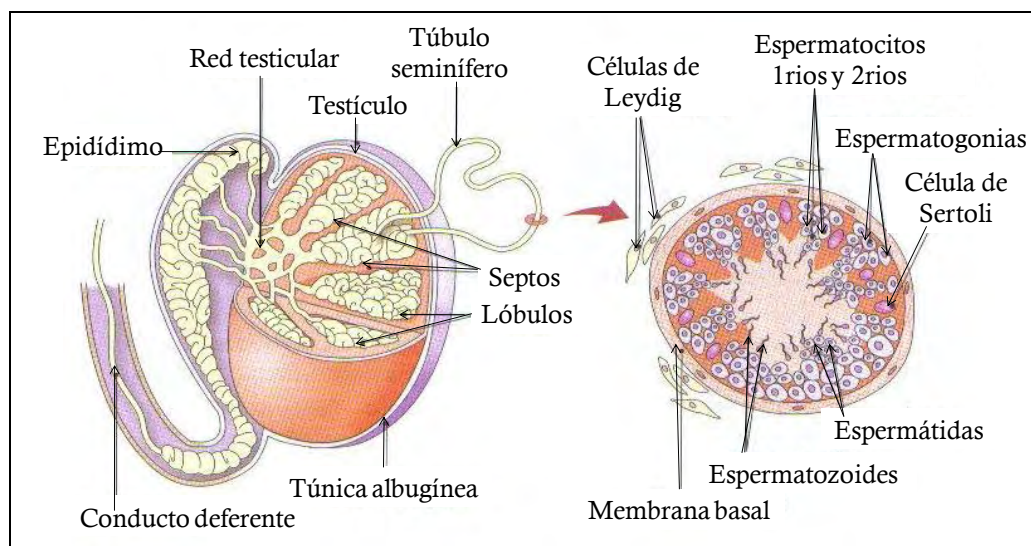


Figura 2. Corte esquemático de un túbulo seminífero (Modificada de León et al., 2000).

Túbulos seminíferos

El testículo humano está formado aproximadamente por unos 200 a 600 túbulos seminíferos; la longitud de cada uno de ellos es de 30 a 80 cm y un diámetro de 150 a 250 μ . Están delimitados por una pared formada, de adentro hacia afuera, por la membrana basal, los fibroblastos y células peritubulares mioideas; y contienen fundamentalmente las células germinales y las de Sertoli (deKretser y Kerr, 1989; Kerr, 1992; Páges y Aller, 2006). Los túbulos seminíferos envuelven a las células germinales en desarrollo y les proporcionan un soporte estructural, así como numerosos productos que mantienen la espermatogénesis, como proteínas, citocinas, factores de crecimiento, esteroides, prostaglandinas, moduladores de la división celular, entre otros (Jegou, 1992). Las células de Sertoli se asocian mediante uniones estrechas y se distribuyen en forma de arco y forman la barrera hemato-testicular, que impide el paso de moléculas grandes, hormonas esteroideas e iones y mantiene aisladas la mayoría de las células germinales del sistema inmunitario del individuo, evitando que se formen anticuerpos anti-espermatozoide (Dym y Fawcett, 1970; deKretser y Kerr, 1989; Kerr, 1992).

El epitelio del túbulo germinal se divide en dos compartimentos, el basal que contiene las espermatogonias y algunos espermatoцитos preleptoténicos siendo las únicas células germinales que pueden recibir de forma directa factores reguladores endócrinos y parácrinos desde el intersticio; y el compartimento yuxtaluminal o adluminal, que contiene los espermatoцитos en proceso de meiosis y las espermátidas, ocupando posiciones dentro del túbulo que son progresivamente más cercanas al lumen conforme se convierten en células más diferenciadas hasta la formación del espermatozoide (Gilula, et al., 1976; deKretser y Kerr, 1989; Kerr, 1992; Páges y Aller, 2006).

El intersticio

El intersticio ocupa del 10 al 15% del volumen testicular, de éste del 10 al 20% esta ocupado por las células de Leydig que producen la testosterona. Esta hormona es necesaria en el inicio y mantenimiento de la espermatogénesis (deKretser y Kerr, 1989; Kerr, 1992; Páges y Aller, 2006). En el intersticio también encontramos células del sistema inmunitario como son los macrófagos y los linfocitos, a razón de 1 macrófago por cada 10 a 50 células de Leydig. Probablemente actúan sobre la función de las células de Leydig, en particular sobre su proliferación, diferenciación y producción de esteroides, mediante la secreción de citocinas y la fagocitosis de células degeneradas (Weinbauer, et al., 1997). Por último, el intersticio contiene arteriolas y una rica red de capilares para el transporte de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la luteinizante (LH), y vasos linfáticos que producen un drenaje linfático del testículo (Pérez, 1995; Pagés y Aller, 2006).

Rete testis o red testicular

Los túbulos seminíferos desembocan en una red de conductos anastomosados entre sí y excavados en la parte inferior del mediastino testicular. Las mallas de esta red se entrecruzan con los vasos que atraviesan el mediastino testicular (Rouvière y Delmas, 2005).

Conductillos eferentes del testículo

Son finos conductos situados unos posteriores a otros, por medio de los cuales la red testicular se encuentra unida al epidídimo. Son de 9 a 12. Su longitud aproximadamente es de 15 mm (Rouvière y Delmas, 2005).

Epidídimo

Es un órgano alargado enrollado, localizado sobre los testículos que mide de 4 a 5 cm de largo (Gutiérrez, 1995; Rouvière y Delmas, 2005; Trejo, et al., 2005). Estirado, mediría aproximadamente de cinco a seis metros de largo, en el cual los espermatozoides son almacenados hasta dos semanas, donde maduran, desarrollan su movilidad y adquieren la capacidad de fecundar al óvulo (Trejo, et al., 2005). El epidídimo está formado por una cabeza voluminosa y redondeada adherida al testículo por conductillos eferentes, tejido fibrocelular y por la túnica vaginal; por un cuerpo prismático triangular que está separado del testículo por una prolongación de la cavidad vaginal denominada el seno del epidídimo y una cola aplanada que también se adhiere al testículo por medio del tejido fibroso (Crafts, 1996; Rouvière y Delmas, 2005). Este órgano aporta un líquido alcalino, que constituye menos del 5% del volumen del líquido seminal (Walsh, et al., 1994; Gutiérrez, 1995) y que contiene carnitina en dos formas como: L-carnitina y acetilcarnitina, ambas desempeñando un papel en la adquisición de la movilidad progresiva y como transportadoras de ácidos grasos (Padrón, et al., 1984; Poirot y Cherruau, 2005), además de α -1,4-glucosidasa neutra, hidrolasa que en el epidídimo desempeña un papel en la maduración de los espermatozoides (Padrón, et al., 1997; Poirot y Cherruau, 2005).

Conducto deferente

Son tubos largos y curvos que comienzan en el extremo de la cola del epidídimo y surgen fuera del escroto hacia la región abdominal. Pasan por encima de la vejiga y se conectan a las vesículas seminales para formar el conducto eyaculatorio. Su longitud aproximadamente es de 30 a 40 cm y su diámetro es de 2 a 3 mm. En este conducto se distinguen cinco secciones: escrotal, funicular, inguinal, iliaca y pélvica. Además de funcionar como parte del sistema de transporte de los espermatozoides, actúan también como sitio

de almacenamiento para la mayoría de los espermatozoides producidos hasta la eyaculación (Gutiérrez, 1995; Rouvière y Delmas, 2005).

Vesículas seminales

Son dos órganos alargados, aplanados y abollonados en toda su superficie, localizadas en la región pélvica, detrás de la vejiga urinaria que funcionan como reservorios membranosos en los cuales se acumula el esperma en el intervalo entre eyaculaciones. La longitud de estas vesículas en el adulto es de 5 a 6 cm y su anchura es aproximadamente de 15 mm. (Rouvière y Delmas, 2005). Aportan una secreción viscosa y alcalina ligeramente amarillenta, rica en nutrientes, incluyendo ácido cítrico, aminoácidos y fructosa, elementos necesarios como fuente de energía para el metabolismo del espermatozoide y para aumentar la movilidad del mismo. Además de secretar proteínas y carbohidratos que recubren al espermatozoide y lo protegen de una interacción directa con el ambiente (Padrón, et al., 1997; Poirot y Cherruau, 2005; Trejo, et al., 2005). La secreción de las vesículas seminales aporta alrededor del 65% del volumen del líquido seminal o semen, mismo que también incluye secreciones de la próstata, epididimarias, así como células espermáticas (Walsh, et al., 1994).

Glándula prostática

Es la mayor de todas las glándulas del sistema reproductor masculino. Esta ubicada por debajo de la vejiga urinaria, cerca de la salida de la uretra. En el adulto, mide aproximadamente 4 cm de ancho, 3 cm de largo y pesa entre 25 y 30 g (Gutiérrez, 1995; Rouvière y Delmas, 2005). La próstata contribuye con alrededor del 30% del líquido seminal, ya que secreta ácido cítrico, espermina, albúmina, zinc con poder bactericida, calcio, fosfatasa ácida, citrato y proteínas con actividad enzimática como la proteinasa responsable de la licuefacción del eyaculado; produciendo un líquido poco espeso, ligeramente ácido (pH 6.2-6.8) y blanco lechoso (Walsh, et al., 1994; Padrón, et al., 1997; Poirot y Cherruau, 2005; Trejo, et al., 2005).

Conductos eyaculatorios

Son dos tubos cónicos, cortos que miden aproximadamente 2.5 cm de longitud, los cuales descienden a través de la glándula prostática y de ahí a la uretra. Están formados por la unión de los vasos deferentes y los conductos de las vesículas seminales (Rouvière y Delmas, 2005).

Uretra

Es un tubo que recorre la vejiga, a través de la próstata, hasta el extremo del pene, formando el sector final del pasaje del líquido seminal. La uretra

masculina se divide en tres porciones: prostática, membranosa y esponjosa. La uretra tiene un doble propósito, no sólo como vía para la expulsión de orina sino también como conducto para el semen durante la eyaculación. Al cerrarse los esfínteres musculares, automáticamente bloquean el flujo de un proceso, cuando está desarrollándose el otro (Crafts, 1996).

Glándulas bulbouretrales (glándulas de Cowper)

Son dos pequeñas masas glándulares del tamaño de un frijol y del grosor de un hueso de cereza, localizadas justo por debajo de la próstata (Gutiérrez, 1995; Rouvière y Delmas, 2005).

Pene

Es el órgano de la copulación masculina, que conduce a los espermatozoides y a la orina al exterior del cuerpo. Se localiza encima de las bolsas escrotales y por delante del pubis quedando éste sujeto por ligamentos. Su forma es alargada, cilíndrica y algo aplanada (Gutiérrez, 1995). Está cubierto de una capa de piel más laxa y está formado por un tejido esponjoso eréctil que contiene grandes senos entremezclados de venas y arterias. El tejido del extremo peneano forma el glande, cuya superficie es lisa y de color rosado o rojo oscuro. En el varón no circuncidado, los tegumentos del pene forman un repliegue anular de piel laxa denominada prepucio, que cubre el glande. En el proceso de eyaculación, el pene transporta los espermatozoides contenidos en el líquido seminal hasta el cuerpo de la mujer para la fertilización del óvulo. Las dimensiones del pene están sujetas a numerosas variaciones individuales, por término medio mide, en estado de flacidez de 8 a 10 cm de largo. En estado de erección mide de 15 a 20 cm de longitud (Gutiérrez, 1995; Rouvière y Delmas, 2005).

II. EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-TESTÍCULO

La proliferación y diferenciación de las células germinales es controlada por la hormona luteinizante (LH) y por la hormona estimulante del folículo (FSH) ambas secretadas de forma pulsátil por la adenohipófisis, en respuesta a la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) que es secretada de forma pulsátil por el hipotálamo. A su vez, la secreción de GnRH es regulada por testosterona, inhibina, activina, noradrenalina, dopamina y opioides entre otros factores (Fawcett, 1986; Pérez, 1995; Veldhuis, 2001; Trejo, et al., 2005) formando una red de comunicación neuro-hormonal entre el hipotálamo, la hipófisis y el testículo (Páges y Aller, 2006).

En el testículo la producción de andrógenos y la maduración de los gametos son regulados por el hipotálamo y la hipófisis por un mecanismo de retroalimentación negativa. La testosterona inhibe la secreción de FSH y LH, a su vez, la FSH también es regulada de manera inhibitoria por la inhibina secretada por las células de Sertoli (Weinbauer, et al., 1997; Trejo, et al., 2005).

La LH actúa sobre las células de Leydig del testículo y las estimula para producir testosterona. La FSH actúa sobre las células de Sertoli que responden sintetizando a la proteína que se une a los andrógenos (ABP). La testosterona sintetizada por las células de Leydig se une a la ABP. El epitelio germinal prolifera y se producen los espermatozoides bajo la estimulación de la testosterona, en ese momento las células de Sertoli secretan inhibina que actúa en el hipotálamo y bloquea la producción de GnRH y por lo tanto de gonadotropinas. Cuando el epitelio germinal está poco desarrollado las células de Sertoli secretan activina que estimula la liberación de GnRH hipotalámico y por ende la secreción de gonadotropinas (Trejo, et al., 2005).

La iniciación de la espermatogénesis ocurre normalmente en la pubertad bajo la influencia de la FSH y de la LH. La FSH se une a receptores de membrana específicos situados en las células de Sertoli regulando la producción de inhibina, mientras la LH se une a las células de Leydig y estimula la producción de testosterona, que se unirá a receptores intracelulares de las células de Sertoli, regulando de esta manera la espermatogénesis (figura 3). Antes del inicio de este proceso, deben haber tenido lugar diversos eventos, como son el descenso de los testículos, la masculinización del tracto reproductivo, la multiplicación de las células germinales y las de Sertoli (Weinbauer, et al., 1997; Trejo, et al., 2005).

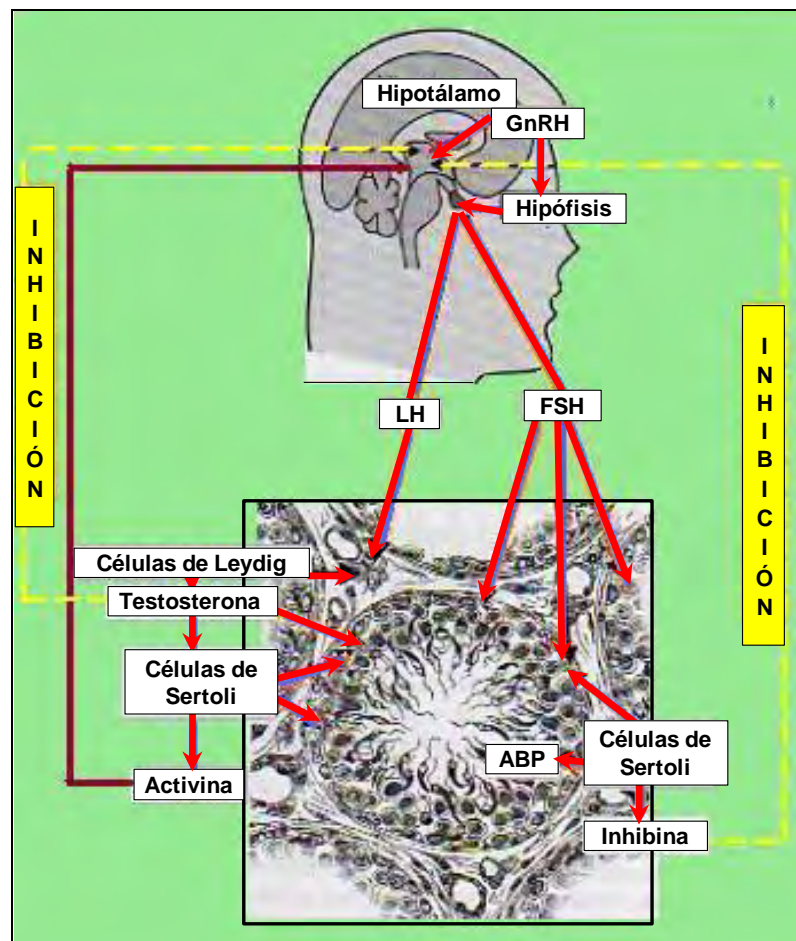


Figura 3. Regulación hormonal masculina (Modificada de Trejo, et al., 2005).

Otras sustancias importantes en la regulación local de la espermatogénesis son los factores de crecimiento, entre los que se encuentran el factor de crecimiento transformante- α y - β (TGF- α y TGF- β), la inhibina, la activina, el factor de crecimiento neural (NGF), el factor de crecimiento de la insulina-I (IGF-I), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de las células madre (SCF) y las interleucinas (IL) (Weinbauer, et al., 1997; Páges y Aller, 2006).

III. ESPERMATOGÉNESIS

Desde hace más de 40 años, Heller y Clermont describieron el proceso biológico de transformación de las células germinales en espermatozoides en el hombre, denominado espermatogénesis y señalaron que este periodo tiene una duración de 69 a 79 días (Clermont, 1963; Heller y Clermont, 1963). Posteriormente, investigaciones realizadas por diferentes grupos han permitido lograr una detallada descripción histológica de cada una de las fases de la división celular durante la espermatogénesis (Páges y Aller, 2006).

La espermatogénesis, es un proceso que tiene lugar repetidamente a lo largo de toda la vida del varón. Comienza con la división de las células madre y finaliza con la formación de los espermatozoides maduros (Pérez, 1995; Trejo, et al., 2005). El proceso completo se puede dividir en tres fases (Kerr, 1992; Klieiman, et al., 1999; Trejo, et al., 2005):

- **Fase proliferativa**, ocurre la multiplicación de las células germinales primitivas durante la cual algunas espermatogonias diploides se dividen para restaurar el grupo de células madre y otras experimentan divisiones mitóticas hasta estar preparadas para sufrir la diferenciación y producir los espermatocitos.
- **Fase meiótica**, se da la producción de células con la mitad del número de cromosomas y contenido de ADN mediante la meiosis, en la cual los espermatocitos experimentan esta división para dar lugar a las espermátidas haploides.
- **La espermiogénesis**, durante la cual las espermátidas redondas haploides se diferencian en espermatozoides maduros que son capaces de moverse y fecundar a un ovocito. Además de una organización de los organelos intracelulares en las estructuras que constituyen al espermatozoide.

Aunque la mayor parte de los gonocitos degenera en los primeros días después del nacimiento, los que sobreviven, se multiplican y dan origen a las espermatogonias, las cuales poseen la capacidad para autorenovarse y para producir células que iniciaran el proceso espermatogénico. Sólo algunas de las espermatogonias hijas que se producen son capaces de evolucionar y dar origen a los espermatozoides y otra parte de ellas no entran a este proceso de diferenciación y permanecen como una población de células seminales o troncales *stem cells*, que son capaces de repetir estos ciclos de multiplicación para su autorrenovación y para garantizar la producción de espermatozoides durante toda la vida adulta del varón (Trejo, et al., 2005).

Las espermatogonias tipo A son las primeras en aparecer (figura 4) y dan lugar a otro tipo de células conocidas como espermatogonias intermedias, que a su vez darán lugar a las espermatogonias tipo B, siendo estas células las que se dividirán por mitosis para dar lugar a los espermatocitos primarios (Pérez, 1995; Trejo, et al., 2005), los cuales se mantendrán en fase de preleptoteno durante unos 24 días antes de proseguir la meiosis (Kerr, 1992).

Durante la meiosis se produce una síntesis activa de ADN duplicándose su contenido en cada cromosoma (Matsumoto, 1996; Trejo, et al., 2005). Después de la duplicación del ADN y la formación de cromátidas hermanas, los espermatocitos entran en la profase I, que se caracteriza por su larga duración de 1 a 3 semanas. Durante la fase meiótica las células germinales y su núcleo aumentan de tamaño. Se produce el emparejamiento de los cromosomas homólogos formando las tétradas, produciéndose un intercambio de material genético que dará lugar a células germinales con un contenido genético único. La fase de paquiteno se caracteriza por una alta síntesis de ARN. Posteriormente, los espermatocitos entran en metafase, en este estado la membrana nuclear desaparece formándose el huso acromático y alineándose los cromosomas pareados en el eje ecuatorial de la célula con los centrómeros orientados hacia los dos polos opuestos. Durante la anafase I los cromosomas homólogos se separan, dirigiéndose cada uno de ellos a un extremo de la célula. En la telofase I, los grupos haploides de cromosomas se agrupan en cada polo de la célula. Después de esta fase, la célula se divide dando lugar a dos espermatocitos secundarios, cada uno de los cuales contiene un complemento haploide de cromosomas y diploide de ADN, con dos cromátidas hermanas unidas por el centrómero (Clermont, 1963; Bustos-Obregon, et al., 1975; Russell, et al., 1990; Trejo, et al., 2005).

Después de una breve interfase, los espermatocitos secundarios entran en la segunda división meiótica, similar a una división mitótica pero diferenciándose de ésta en que las células que entran en meiosis II contienen un número haploide de cromosomas. Durante la metafase II, los 23 cromosomas se alinean en el plano ecuatorial de la célula, para dividirse longitudinalmente en la anafase II, migrando cada cromátida homóloga a un polo de la célula. Estas cromátidas se agrupan en sus respectivos polos celulares durante la telofase II y la célula se divide en dos espermatidas, cada una de ellas con un número haploide de cromosomas y un contenido haploide de ADN (Matsumoto, 1996; Baarends y Grootegoed, 1999).

Posteriormente ocurre la espermiogénesis, proceso que en el hombre dura aproximadamente 24 días (Oko y Clermont, 1998), por el cual las espermatidas se transforman en espermatozoides maduros. En este proceso se producen grandes cambios morfológicos y funcionales sin que haya división celular. Los cambios más evidentes que se producen son la

aparición del flagelo o cola, el desarrollo del acrosoma, la condensación de los cromosomas y nucleoproteínas del núcleo para formar la cabeza del espermatozoide (Oliva y Dixon, 1991; Kierszenbaum y Tres, 2004; Trejo, et al., 2005).

Los cambios que ocurren en el espermatozoide se clasifican en cuatro fases: la fase de Golgi, la fase de capuchón, la fase acrosomal y la de maduración. En la especie humana, estas fases se corresponden con seis pasos de la espermiogénesis o tipos de espermátidas (Sa, Sb1, Sb2, Sc, Sd1 y Sd2), que se caracterizan por diferencias en la morfología nuclear y el desarrollo del flagelo y del acrosoma. Una vez terminado este proceso se obtendrá el espermatozoide con forma elongada, por la fagocitosis del exceso de citoplasma llevada a cabo por las células de Sertoli. Finalmente ocurre la liberación de los espermatozoides a la luz del túbulo, en el fenómeno conocido como espermiación. El excedente citoplasmático queda atrapado en el espesor del epitelio y se conoce como cuerpos residuales. Quedando finalmente tal como se observa mayoritariamente en un eyaculado, compuesto por una cabeza, una pieza y una cola (deKretser, 1989; Kerr, 1992; Russell, et al., 1990; Trejo, et al., 2005; Páges y Aller, 2006).

Las células germinales procedentes de una misma línea celular, se mantienen unidas entre sí después de cada división mediante puentes intercelulares, constituyéndose las llamadas clones sincitiales (Dym y Fawcett, 1970). Estos puentes permanecen abiertos durante la espermiogénesis para permitir la comunicación entre las células y la sincronización durante su desarrollo, y desaparecen al finalizar la diferenciación del espermatozoide (Alastalo, et al., 1998; Siu y Cheng, 2004).

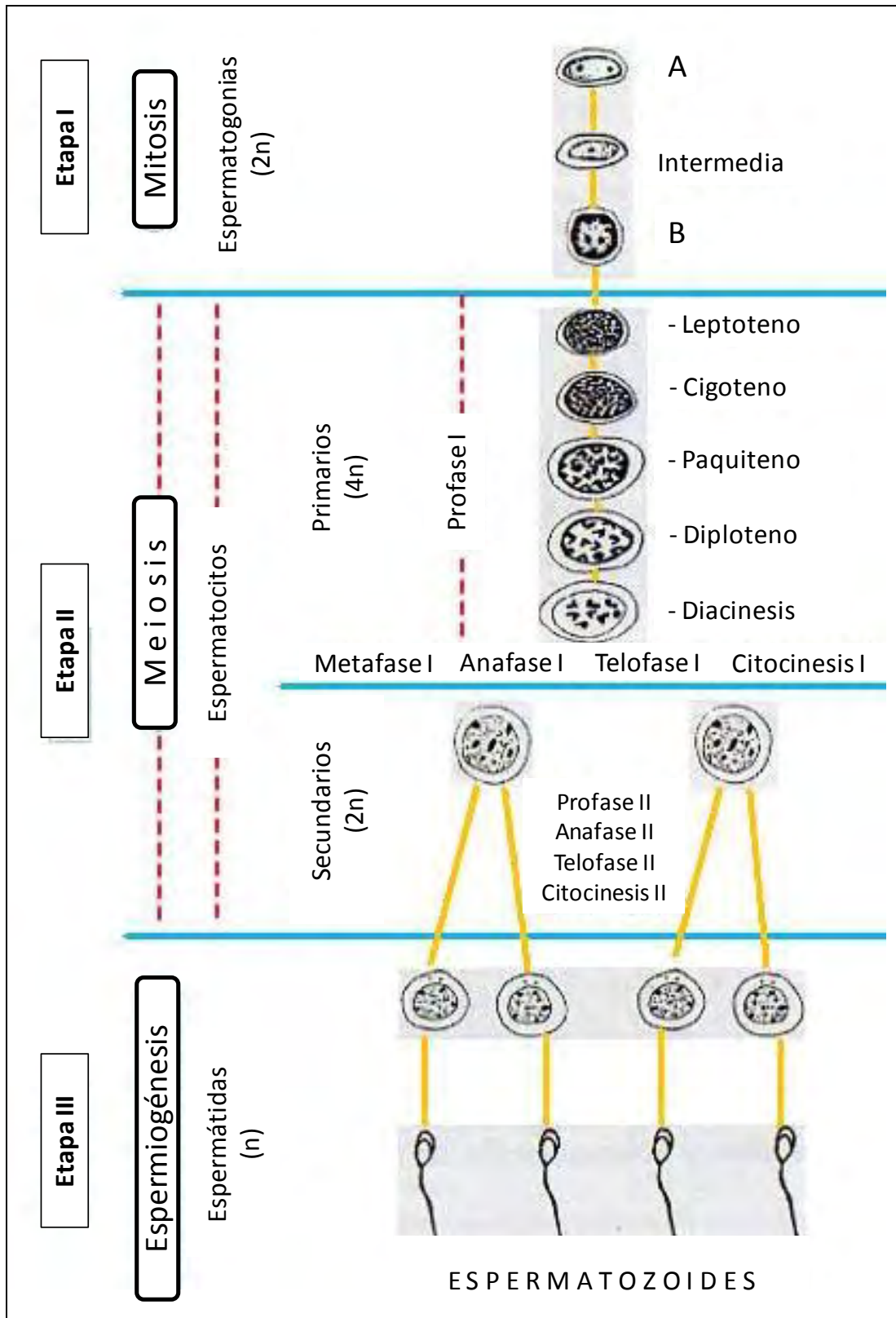


Figura 4. Espermatogénesis (Modificada de Trejo, et al., 2005).

IV. EL ESPERMATOZOIDE

Es una célula altamente especializada en una sola función, fecundar al óvulo. El varón produce millones de espermatozoides para garantizar la fertilización del óvulo, sin embargo sólo uno lo lograra y el resto morirá. En el espermatozoide se pueden distinguir tres componentes principales: la cabeza, la pieza media o cuello y la cola o flagelo (Trejo, et al., 2005) (figura 5):

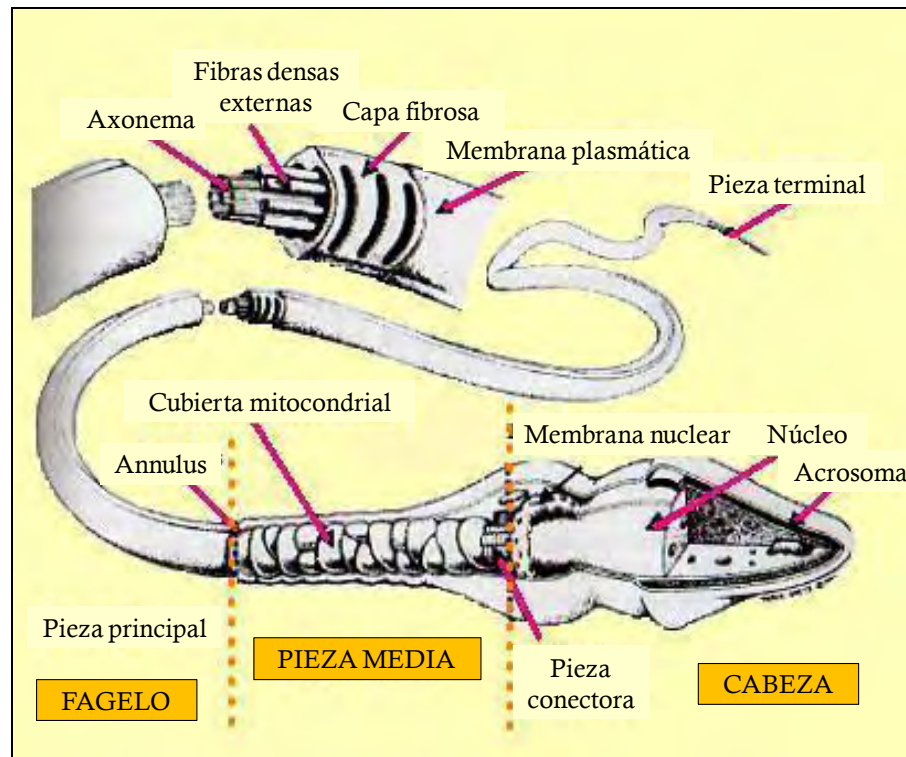


Figura 5. Partes del espermatozoide (Modificada de Trejo, et al., 2005).

La cabeza está constituida por el acrosoma y el núcleo, además de estar cubierta por una membrana plasmática. El acrosoma se forma por un lisosoma modificado producido por el aparato de Golgi, el cual contiene enzimas hidrolíticas que degradan los componentes de la membrana del óvulo y permite la entrada del espermatozoide. El acrosoma se produce por la coalescencia de pequeños gránulos ricos en glicoproteínas que, al fusionarse, forman una vesícula acrosómica que se adhiere a la membrana nuclear. Esta vesícula crece a medida que el aparato de Golgi continúa la entrega de glicoproteínas, hasta que adquiere la forma de capuchón y que cubre la parte apical del núcleo y a veces puede extenderse hasta casi la mitad de la superficie nuclear (Oko y Clermont, 1998; Trejo, et al., 2005; Páges y Aller, 2006).

El núcleo es ovalado y está formado por ADN compactado, que impide que los genes se expresen y que se sinteticen nuevas proteínas, además de poseer una doble membrana. Además de protaminas, el núcleo del espermatozoide humano contiene también un 15% de histonas o variantes asociadas a dominios específicos del genoma y otras proteínas cuya función sigue sin conocerse en detalle (Puwaravutipanich y Panyim 1975; Oliva y Dixon, 1991; Loppin, et al., 2005). El acrosoma y el núcleo son mantenidos en su posición por el sostén de una densa malla de proteínas fibrosas que están debajo de la membrana plasmática y rodea a la membrana nuclear en toda su extensión, este armazón se conoce como teca perinuclear (Trejo, et al., 2005).

La pieza media permite la articulación del flagelo con la cabeza del espermatozoide. En esta región se puede distinguir una malla densa de proteínas fibrosas que constituye una placa sobre la fosa de implantación y que recibe el nombre de *capitulum*. La característica más distintiva de la pieza media es la presencia de una cubierta mitocondrial a manera de vendaje en esta zona (Trejo, et al., 2005).

El flagelo es la parte motora del espermatozoide, ya que posee proteínas como la dineína flagelar capaces de utilizar la energía química contenida en el ATP para producir el movimiento. Estudios al microscopio electrónico de su estructura han revelado que la parte más interna está constituida por nueve pares de microtúbulos que rodean a un par central de microtúbulos, cuyo arreglo recibe el nombre de axonema, que se extiende a todo lo largo del flagelo, y de esta forma la dineína flagelar utiliza ATP para que los microtúbulos del axonema se desplacen y produzcan la onda de movimiento del espermatozoide (Okó y Clermont, 1990; Tanagho y McAnich, 2001; Trejo, et al., 2005).

El axonema está rodeado por diferentes cubiertas de proteínas estructurales dependiendo la región del flagelo. En la pieza principal por debajo de la membrana plasmática que la cubre, se presenta una capa de proteínas fibrosas que cubren a las fibras densas. Este cilindro de proteínas está compuesto por dos columnas unidas por puentes de filamentos orientados circularmente. Mientras que la pieza terminal que corresponde al extremo del flagelo, el axonema no presenta proteínas fibrosas que lo recubran (Trejo, et al., 2005).

V. PRODUCCIÓN DEL SEMEN

El esperma o semen humano es una mezcla compleja de células y plasma seminal; esta secreción consiste en la combinación de diversos productos sintetizados a lo largo de todo el tracto genital masculino, incluyendo los túbulos seminíferos y glándulas accesorias (Gutiérrez, 1995; Garrido, et.al., 2004b; Páges y Aller, 2006). Las células presentes en el semen incluyen tanto espermatozoides maduros como inmaduros, células redondas en diferentes estadios del proceso espermatogénico, leucocitos y ocasionalmente otro tipo de células, semejantes a las células epiteliales (Garrido, et al., 2004a).

Los espermatozoides que salen de los túbulos seminíferos son inmóviles, no pueden desplazarse ni fecundar al óvulo y son evacuados por los conductos espermáticos intratesticulares o *rete testis* hacia el epidídimo donde adquieren movilidad progresiva y habilidad para fertilizar. Los espermatozoides son transportados por una diferencia de presión hidrostática, propulsión ciliar y contracción peristáltica de las células mioideas a lo largo del epidídimo. En la cola del epidídimo se almacenan los espermatozoides que posteriormente pasan al conducto deferente que corre a lo largo de la pared posterior de la cavidad abdominal, alrededor de la vejiga, y desemboca en la glándula prostática, impulsando su contenido por movimientos peristálticos. Justo antes de entrar en la próstata, los dos vasos deferentes se fusionan con conductos de las vesículas seminales donde los espermatozoides son mezclados con fluidos provenientes de las vesículas seminales y de la propia próstata y se forma el semen que es liberado a la uretra, que lleva al exterior vía el pene. Cuando ocurre la eyaculación se relaja el esfínter uretral externo y el semen es impulsado de la uretra por contracciones rítmicas de los músculos bulbo e ísquio cavernosos que implican, entre otras estructuras, la base del pene y que contribuyen a las sensaciones del orgasmo (Gutiérrez, 1995; Trejo, et al., 2005; Páges y Aller, 2006).

En el volumen total del esperma, el 5% es secreción epididimaria, el 30% secreción prostática y el 65% secreción de las vesículas seminales. Si se fracciona la colecta del esperma se tiene que la primera fracción contendrá las secreciones epididimarias, testiculares y prostáticas, ricas en espermatozoides y la segunda contendrá la secreción de las vesículas seminales. Es importante obtener una muestra completa, ya que la pérdida de alguna de estas fracciones afectarían la evaluación de los parámetros seminales (Poirot y Cherruau, 2005; Páges y Aller, 2006).

El plasma seminal es un medio rico y complejo; sirve de vehículo, de medio nutritivo y de protector de los espermatozoides. Está compuesto de (Poirot y Cherruau, 2005):

- **Constituyentes minerales:** Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++} .
- **Glúcidos:** glucosa (0.39 mmol/L), fructosa (de 5.5 a 27.5 mmol/L) producida a partir de la glucosa sanguínea, ambos utilizados como fuente de energía por los espermatozoides, ácidos orgánicos en particular ácido cítrico que contribuye al mantenimiento de la presión osmótica del esperma y ácido ascórbico protector de los espermatozoides de cara a los radicales libres.
- **Lípidos:** colesterol y glicerofosforilcolina (tres veces menos que en el plasma sanguíneo).
- **Esteroides:** testosterona y dehidroepiandrosterona (DHA).
- **Constituyentes de pequeña masa molecular:** aminoácidos, carnitina la cual tiene un papel importante en el metabolismo de los espermatozoides bajo la forma de acetilcarnitina; espermidina, espermita que es responsable del olor del esperma (oxidación) y glutatión que actúa como protector de los espermatozoides por su poder reductor.
- **Proteínas:** albúmina y globulina en una concentración de 40 mg/ml (inferior a la presente en el suero sanguíneo).
- **Actividades enzimáticas:** inmunoglobulinas, hidrolasas (fosfatasa ácida, glucosidasas) y deshidrogenasas.
- **Prostaglandinas** (de 100 a 300 $\mu\text{g/ml}$), con numerosos efectos biológicos en el varón, entre las que están la erección, eyaculación, movilidad y transporte espermático, así como contracciones peneanas y testiculares.

VI. FACTORES QUE AFECTAN LA FERTILIDAD MASCULINA

La infertilidad masculina generalmente tiene un origen multifactorial y a pesar de que se realice una adecuada historia clínica y los exámenes paraclínicos permanentes, la etiología es difícil de precisar en más de la mitad de pacientes. Las entidades patológicas del factor masculino se pueden dividir en los siguientes grupos (Pérez, 1995):

- **Trastornos endócrinos.** Constituyen menos del 10% de las causas de infertilidad en el hombre. Entre estos trastornos se encuentra la disfunción de las glándulas tiroideas y suprarrenales, que son capaces de alterar la función testicular; los trastornos hipotalámicos e hipofisarios, que ocasionan hipogonadismo, es decir alteración en la función espermatogénica, estereidogénica, o ambas (Wortsman, et al., 1987; Pérez, 1995).
- **Enfermedades agudas y crónicas asociadas a hipogonadismo.** Múltiples y variados trastornos agudos o crónicos son capaces de disminuir la secreción de gonadotropinas por diferentes mecanismos, alterar la espermatogénesis y la estereidogénesis. Entre otras, la desnutrición severa, quemaduras extensas, trauma craneoencefálico, shock séptico, estrés severo, anorexia nerviosa, SIDA, obesidad mórbida, drogadicción, alcoholismo, hepatopatías, enfermedades renales, hemocromatosis, lesiones en médula espinal y enfermedades autoinmunes (Pérez, 1995).
- **Trastornos genéticos.** La infertilidad de origen genético se puede dividir en causas pretesticulares como son anemia de células falciformes, hiperplasia suprarrenal congénita, síndrome de Kallman, mutaciones en el gen receptor de los andrógenos, enfermedad de Kennedy, Ataxia e hipogonadismo y hemocromatosis juvenil; testiculares como síndrome de Klinefelter, síndrome XYY, microdeleciones del cromosoma Y, distrofia miotánica y síndrome de los cilios inmóviles; y posttesticulares como son fibrosis quística, enfermedad poliquística renal autonómica dominante, síndrome de young, déficit de la 5-alfa-reductasa y síndrome de la persistencia de los conductos de Müller (Páges y Aller, 2006). Todos estos produciendo o no alteraciones testiculares, alteraciones en las concentraciones de gonadotropinas (Santen, et al., 1970; Schiavi, et al., 1978; Walsh, et al., 1994) y en la producción espermática, variando desde normal hasta azoospermia (Pérez, 1995).
- **Ectopia testicular y Criptorquidia.** En condiciones normales el testículo abandona la cavidad abdominal poco antes del nacimiento y desciende al escroto, si este descenso no se produce, ocasiona el incremento de la temperatura 2° C sobre su temperatura habitual y por tanto, la formación

de vacuolas y la desaparición de las espermátidas y de los espermatozoides de los túbulos seminíferos, aumentando de 30 a 50 veces la frecuencia de degeneración maligna testicular que en la adultez se traduce a infertilidad (Pérez, 1995; Trejo, et al., 2005).

- **Trastornos vasculares.** Entre estos trastornos se encuentra el varicocele, que consiste en la presencia de várices en las venas del cordón espermático y son la causa más frecuente de infertilidad masculina, ya que aumenta la temperatura testicular como consecuencia de una mayor circulación de sangre, que provoca un descenso progresivo de la función testicular. Su incidencia en hombres estériles varía entre el 20 y el 39% (Speroff, 1979; Walsh, et al., 1994).
- **Procesos infecciosos y trastornos neurológicos.** Las infecciones genitales como son las urinarias recurrentes o incorrectamente tratadas, las infecciones de transmisión sexual y los traumatismos pueden afectar la barrera hematotesticular generando la formación de cuerpos antiespermatozoides contra las células germinales; así como la uretritis y estenosis uretrales, la parotiditis en la pubertad, las hemorragias y la cirugía inguinal pueden provocar inflamación y posterior obstrucción del trayecto espermático. Todas las patologías e infecciones anteriores pueden ocasionar azoospermias por lesión del parénquima testicular o azoospermias obstructivas por fibrosis o lesión del epidídimo o deferente (Pérez, 1995; Remohí, et al., 2005).
- **Trastornos inmunológicos.** Los hombres estériles tienen mayor incidencia de anticuerpos antiespermatozoides que los fértiles (Rumke y Heckman, 1977), éstos se detectan en el suero, plasma seminal o en la misma superficie de los espermatozoides. Sin embargo el impacto de estos anticuerpos en la esterilidad, aún es controvertido (Mumford y Warner, 1983; Walsh, et al., 1994; Pérez, 1995; Remohí, et al., 2005).
- **Factores ambientales y tóxicos.** Entre los factores ambientales capaces de alterar la espermatogénesis están: estrés emocional o físico acentuado, exceso de alcohol, tabaquismo, drogadicción, dietas muy severas, radiación diagnóstica o terapéutica, aumento de temperatura escrotal, ingestión de medicamentos, entre los que destacan narcóticos, barbiúricos, tranquilizantes de las fenotiazinas, antidepresivos, principalmente los inhibidores de la monoaminoxidasa; antihipertensores, amebicidas, nitrofuranos, sulfas, agentes quimioterapéuticos especialmente alquilantes, antimaláricos, hormonales fundamentalmente andrógenos, estrógenos, progestágenos, antiandrógenos, anabólicos esteroideos, metales pesados como litio, cadmio y plomo; antiepilépticos como difenilhidantoina; cimetidina, entre otros (Pérez, 1995).

- **Sustancias oxidantes.** La producción de grandes cantidades de sustancias oxidantes en el aparato reproductor es nociva tanto para la fluidez de la membrana citoplasmática del espermatozoide, como para la integridad del ADN contenido en su núcleo, lo que puede ocasionar una disminución en su movilidad (Iwasaki y Gagnon, 1992).
- **Trastornos en la eyaculación.** Las principales causas de alteración son uso de medicamentos, cirugía retroperitoneal, esclerosis múltiple, diabetes, lesiones de la médula espinal, alteraciones neurológicas, alteraciones en los conductos de Wolf, quistes de los conductos de Müller, alteraciones uretrales o peneanas, formas postinfecciosas, trastornos funcionales del cuello de la vejiga o ausencia idiopática de la eyaculación (Walsh, et al., 1994; Remohí, et al., 2005; Páges y Aller, 2006).
- **Hipofisectomía.** La eliminación funcional o quirúrgica de la hipófisis trae como consecuencia la pérdida de las espermatidas y de los espermatozoides en muy poco tiempo. Se ha estudiado la posibilidad de revertir sus efectos por tratamiento hormonal sustitutivo con testosterona, FSH y LH. La eficacia de esta terapia esta condicionada al tiempo transcurrido después de la extirpación de la hipófisis (Trejo, et al., 2005).
- **Trastornos idiomáticos.** Es una identidad que abarca una serie de trastornos de naturaleza desconocida cuyos datos principales son oligozoospermia y esterilidad. Muy frecuentemente se asocia a oligoastenozoospermia y terotozoospermia. Desafortunadamente, es una de las identidades más frecuentes del factor masculino (Walsh, et al., 1994; Pérez, 1995).
- **Otros factores.** La fertilidad del varón disminuye con la edad, aunque más tardíamente que en la mujer. Además del estrés, ya que los trastornos emocionales se asocian a una disminución de la capacidad reproductiva. Otros factores importantes en la fisiología espermática son la concentración de colesterol en la membrana plasmática que actúan sobre la fluidez y la concentración de calcio intracelular que altera la activación de los segundos mensajeros intracelulares (Garrido, et al., 2005).

VII. INFERTILIDAD MASCULINA

La definición clínica aceptada de la infertilidad es la ausencia de gestación tras un año de relaciones sexuales en la fase fértil del ciclo menstrual (Silva, et al., 2001; Evers, 2002), otros autores establecen que del 80% al 90% de las parejas que tienen relaciones sexuales en este periodo lograrían el embarazo en tan solo seis ciclos (ESHRE, 1996; Gnoth, et al., 2005).

Se ha denominado para fines estadísticos como factor masculino anormal cualquier causa o causas de esterilidad que radiquen en el hombre; su incidencia es de alrededor del 20 al 30% como factor único y 20 % más formando casos de patología múltiple simultánea, por lo que, en un 50% de los casos, el hombre es parcialmente responsable de la esterilidad en la pareja (Mosher, 1985; Thonneau, et al., 1991; Lipshultz y Witt, 1992; Walsh, et al., 1994; De Krelzer, 1997; Silva, et al., 2001).

En años recientes, ha habido un aumento progresivo en el decremento de la fertilidad masculina. Al respecto, diversos estudios se han apoyado principalmente en el análisis básico de semen (Calsen, et al., 1992; Auger, et al., 1995; Bhardwaj, et al., 2000), aprobado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (WHO, 1999).

VIII. EVALUACIÓN DEL VARÓN ESTÉRIL

La valoración del varón estéril es necesaria para establecer el diagnóstico y aplicar el tratamiento, según la problemática. Para una adecuada valoración del varón, se requiere:

Historia clínica. Permite el análisis de los posibles factores de riesgo de la infertilidad, como son (Walsh, et al., 1994; Remohí, et al., 2005):

- Motivo de consulta: evaluaciones y tratamientos anteriores.
- Antecedentes de fertilidad: duración de la infertilidad, anticonceptivos (tiempo, método), embarazos, abortos, hijos y fertilidad anterior.
- Función sexual: libido, erección, eyaculación, orgasmo y coito.
- Antecedentes familiares: consanguinidad, endocrinopatías, fibrosis quística, hermanos fértiles, anomalías congénitas.
- Antecedentes personales: genitales (criptorquidea, epididimitis, torsión, orquitis y traumatismos), infecciones (parotiditis, fiebre, TBC y ETS), urológicos (renales, próstata e infección urinaria), digestivos (hernias, úlceras y cirrosis), endócrinos (diabetes, pubertad y galactorrea), respiratorios y cardiovasculares, neurológicos (alteraciones olfativas o visuales), intervenciones quirúrgicas, traumatismos y alergias.
- Gonadotoxinas: ocupación, calor, tabaco, alcohol, tóxicos (disolventes, insecticidas, etc.), radiaciones, estrés y medicación (cimetidina, ciclosporina, colchicina, alopurinol, sulfasalazina, antibióticos, como: neomicina, penicilina, tetraciclina, etc.).

Análisis básico de semen o espermograma. Indica el estado funcional de la secreción exocrina de las glándulas sexuales masculinas y orienta sobre patologías del sistema genital. Se considera como el punto aislado más importante en la evaluación de la fertilidad masculina (Martínez, et al., 1997) y permite conocer la calidad y la producción de espermatozoides del varón (WHO, 1999). Cuando se inicia el estudio en una pareja estéril el primer paso a realizar son dos estudios de semen basal dentro del mismo ciclo de la espermatogénesis, en un intervalo de tiempo de 2 a 3 meses, ya que existen numerosas alteraciones observadas en un espermograma que jamás se confirmaron en otros ulteriormente realizados. Este estudio no es invasivo (Walsh, et al., 1994; Remohí, et al., 2005).

Siendo actualmente el único examen que genera información sobre el estado reproductivo del hombre, el espermograma, en el cual se realiza una descripción de aspectos cualitativos y cuantitativos relacionados con las características espermáticas que tiene el eyaculado. Los parámetros que se evalúan, según los criterios de la OMS (WHO, 1999) son: aspecto, volumen, viscosidad, pH, movilidad, concentración, vitalidad, morfología espermática,

licuefacción, aglutinación, y la presencia de elementos celulares (Zatare, 1990; Pérez, 1995; Páges y Aller, 2006).

Para realizar de forma rigurosa el estudio de una muestra de semen se siguen procedimientos lo más estandarizados posibles, con el fin de evitar variaciones entre diferentes análisis. En 1980, la OMS publicó las primeras directrices de cómo debía llevarse a cabo este estudio (Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction) y de cuáles serían los valores normales del semen (WHO, 1980), actualizando estos criterios en varias ocasiones (WHO, 1987; WHO, 1992), siendo la última en el año de 1999 (WHO, 1999) (tabla 1).

Tabla 1. Valores de referencia de los parámetros seminales (WHO, 1999).

Parámetros	Rangos de referencia
Volumen del eyaculado	≥ 2ml
pH	≥ 7.2
Concentración espermática	≥ 20 X 10 ⁶ /ml
Total de espermatozoides en el eyaculado	≥ 40 X 10 ⁶ /eyaculación
Movilidad (%)	≥ 50%
Movilidad progresiva	> 2 (escala 0-4)
Vitalidad	≥ 75%
Morfología normal	> 50% normal *
	> 30% normal **
	> 14% normal ***
Leucocitos	< 1 X 10 ⁶ /ml
Aglutinación espermática	< 2 (escala 0-3)
Viscosidad	< 3 (escala 0-4)

(*) WHO, 1987.

(**) WHO, 1999.

(***) Kruger, et al., 1988.

Examen macroscópico:

- **Licuefacción y viscosidad.** El semen recién eyaculado es un coágulo que se licúa en el curso de 5 a 25 minutos. Las vesículas seminales son responsables de la formación de este coágulo, y la proteinasa secretada por la próstata de la licuefacción del semen (Walsh, et al., 1994; Tanagho y McAninch, 2001). Una muestra de semen normal se licúa aproximadamente entre los 20 y 30 minutos a temperatura ambiente pero, si transcurridos 60 minutos, la muestra no ha completado la licuefacción, se realiza mediante algún procedimiento: mecánico, una digestión enzimática con bromelina o añadiendo quimiotripsina y se hace constar en el informe. Si embargo deberá tenerse en cuenta que con estos procedimientos puede verse afectada la bioquímica del plasma seminal, la movilidad y morfología espermáticas (Zarate, 1990; Tanagho y McAninch, 2001; Mollá, et al., 2005).

La viscosidad se refiere a la fluidez de toda la muestra, es normal si el esperma cae gota a gota. Así, ésta puede ser normal aunque su licuefacción sea incompleta. Los métodos para reducir la viscosidad son los mismos que los utilizados por la licuefacción incompleta (Mollá, et al., 2005).

Cabe señalar, que las mezclas homogeneizadas incorrectamente son, probablemente la mayor fuente de error en la determinación de la concentración espermática, por lo que es muy importante una adecuada homogenización (Mollá, et al., 2005).

- **Aspecto.** Se valora por su color, opacidad/transparencia y presencia de cuerpos mucosos o gelatinosos. El semen humano es normalmente un líquido homogéneo opalescente de color blanquecino amarillento, sin embargo es menos opaco cuando contiene una concentración muy baja de espermatozoides. Además el semen normal puede contener unos gránulos mucosos (gel) que no se licuan (Mollá, et al., 2005; Páges y Aller, 2006).
- **Volumen.** El volumen debe medirse con una pipeta graduada. Las jeringuillas de plástico no deben utilizarse porque pueden afectar la movilidad espermática, además de no ser seguras durante su manejo (Mollá, et al., 2005). El volumen del líquido eyaculado puede variar dependiendo del período de abstinencia y del grado de excitación sexual. El volumen de un eyaculado después de un lapso de abstinencia de 3 a 5 días es de 2 a 6 ml (Páges y Aller, 2006).
- **pH.** Se mide normalmente con tiras de papel pH, con límites de sensibilidad de 6.5 a 10.0. El pH del esperma es neutro entre 7.2 y 7.8, resultado de la mezcla de la acidez prostática y de la alcalinidad vesicular (Zarate, 1990; Mollá, et al., 2005).

Examen microscópico:

- **Concentración.** El método más exacto para determinar la concentración espermática en el laboratorio es el uso de diluciones volumétricas y hemocitometría, donde una muestra de esperma se diluye a un determinado título (la más utilizada es 1:19) en una solución que tiene también por objeto inmovilizar a los espermatozoides, se mezclan y se ponen 10 μ l en una cámara Neubauer y se hace el recuento (Walsh, et al., 1994; Mollá, et al., 2005).

Sin embargo, existen otras cámaras diseñadas específicamente para el recuento de espermatozoides. La más utilizada es la cámara Makler (Sefi Medical Instruments, Haifa, Israel). Esta cámara consta de una cuadrícula de 1 mm^2 dividida en 100 cuadros, con una profundidad de 10 μm . Los

espermatozoides contados en tres de estos cuadros, multiplicados por cien y divididos entre tres corresponden a una concentración de millones por mililitro. Deben emplearse cantidades entre 5 y 10 μL . Conviene señalar que la cámara Makler es menos exacta que la de Neubauer, aunque el error es muy pequeño (aproximadamente del 2 al 10%); en cambio es mucho más fácil de usar, así como más práctica a la hora de manejar muchas muestras en el laboratorio (Mollá, et al., 2005).

La concentración de espermatozoides se considera normal si el número de espermatozoides es superior a 20 millones/ml e inferior a 200 millones/ml (Mollá, et al., 2005). Fluctuando la producción espermática del varón, a través del tiempo (figura 6) y por ende, variando la concentración de espermatozoides presentes en las muestras seminales.

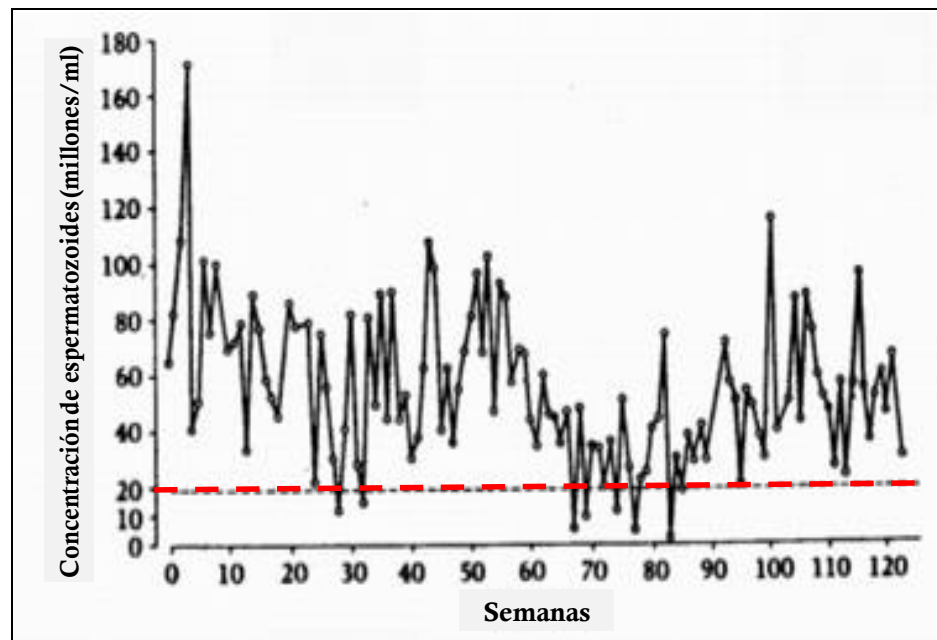


Figura 6. Concentración de espermatozoides presentes en el eyaculado de un varón, obtenido quincenalmente durante un período de 120 semanas; durante el cual no recibió ninguna medicación y no tuvo episodios de enfermedad febril. La línea roja punteada indica $20 \times 10^6/\text{ml}$, que se considera el límite inferior de una concentración espermática normal (Modificada de Remohí, et al., 2005).

- **Movilidad de los espermatozoides.** Este estudio es cuantitativo (estimación del porcentaje de espermatozoides móviles) y cualitativo (tipo del movimiento de los espermatozoides). De acuerdo con la OMS, los espermatozoides se clasifican en 4 categorías según su tipo de movimiento: 1) móviles progresivos rápidos (tipo a), se desplazan de forma rectilínea y rápida; 2) móviles progresivos lentos (tipo b), se desplazan más lentamente, de forma rectilínea o en curvas; 3) móviles no progresivos (tipo c), se mueven pero no cambian de posición; 4) inmóviles

(tipo d), no se mueven en absoluto (Mollá, et al., 2005). Una muestra normal debe tener mas del 50% de movilidad (Páges y Aller, 2006).

El análisis de la movilidad de los espermatozoides de una muestra se realiza contando únicamente los espermatozoides libres y nunca los agregados entre sí o con otras células. La evaluación se realiza en varios campos seleccionados al azar en un portaobjetos o una cámara Makler. Deben contarse no menos de 100 espermatozoides. Su resultado se presenta en espermatozoides tipo a, b, c y d (Mollá, et al., 2005).

La estimación manual de la movilidad es subjetiva y puede presentar un grado significativo de variación entre observadores (Dunphy, et al., 1989). Por ello, han surgido los sistemas computarizados para el estudio del movimiento espermático, la espermatobioscopia computarizada (computer-assisted semen análisis CASA), aunque éstos tampoco están exentos de error y su utilización debe ser hecha bajo estrictas condiciones de estandarización (Walsh, et al 1994; Tanagho y McAnich, 2001), por lo que no reemplaza a la espermatobioscopia convencional, si no que la complementa (Vantman, et al., 1988).

- **Aglutinación.** Se considera que hay aglutinación cuando los espermatozoides móviles están unidos entre sí, bien por la cabeza o por la cola. La aglutinación es normal siempre que no afecte más del 10% de los espermatozoides del eyaculado, cuando es mayor puede sugerir infertilidad de origen inmunitario, o por trastornos infecciosos, pero su presencia no lo indica necesariamente (Mollá, et al., 2005; Páges y Aller, 2006).
- **Componentes celulares y detritos.** El semen contiene invariablemente otras células además de los espermatozoides, como células epiteliales de la uretra, células de la línea germinal y leucocitos, todas llamadas células redondas (Mollá, et al., 2005). Los leucocitos más frecuentes en el semen son los neutrófilos y, como norma, su número no debe exceder 1×10^6 / ml, mientras que un eyaculado no debe de contener más de 5×10^6 células redondas/ ml (Tanagho y McAnich, 2001; Páges y Aller, 2006).
- **Vitalidad espermática.** Se expresa en porcentaje de espermatozoides vivos y no siempre coincide con los que presentan movilidad. Para ello pueden utilizarse dos métodos: la tinción vital con eosina y la prueba hiposmótica. El principio de la tinción con eosina se basa en el marcaje de las células muertas, ya que la membrana plasmática de éstas permite el paso del colorante, de ahí que los espermatozoides rosados son los muertos y los vivos permanecen blancos. Esta tinción es la más utilizada para evaluar la vitalidad espermática. La prueba hiposmótica se basa en la semipermeabilidad de las membranas celulares intactas. Los

espermatozoides vivos se hinchan en condiciones de hiposmolaridad, cuando un flujo de agua produce la expansión del volumen celular (Mollá, et al., 2005).

- **Análisis morfológico de los espermatozoides.** La morfología espermática se estudia en extensiones teñidas. La tinción de Papanicolaou es el método más utilizado en los laboratorios de andrología y el recomendado por el manual de la OMS. Permite la tinción de las regiones acrosómicas y postacrosómicas de la cabeza, la gota citoplasmática, la pieza media y la cola. En algunos laboratorios se utilizan otros métodos de tinción rápida como Diff-Quick (Dade Diagnosis, Miami, EE.UU.) o la tinción Hemacolor (Merk) (Mollá, et al., 2005).

Los criterios de normalidad de un espermatozoide se establecieron con base en el estudio de los espermatozoides hallados en el orificio cervical interno del cuello uterino tras una relación sexual normal en parejas fértiles (Garrido, et al., 2005).

En la especie humana la población de espermatozoides presentes en un eyaculado es sumamente heterogénea en relación a la forma, tanto entre individuos como dentro del mismo individuo (Mortimer y Menkveld, 2001). Al orificio cervical interno del cuello uterino sólo es capaz de llegar una pequeña proporción de espermatozoides que, curiosamente presentan una forma homogénea. Esto ha sido corroborado por el análisis de los espermatozoides capaces de unirse a la zona pelúcida, por lo que es de suponer que las características de éstos espermatozoides deben ser el modelo a seguir (Garrido, et al., 2005).

La definición de espermatozoide normal incluye las características de las tres partes en las que se compone esta célula, presenten unos parámetros adecuados (Garrido, et al., 2005). Según la OMS, posee (Mollá, et al., 2005):

- Una cabeza lisa y oval, con la forma perfectamente definida y de una longitud aproximada de 4.0-5.0 μm y una anchura de 2,5-3,5 μm . Con una parte anterior pálida, acrosoma que debe ocupar entre el 40 y el 70% del total de la cabeza, y una región posterior más oscura, el núcleo. No deben existir vesículas citoplasmáticas que ocupen un volumen mayor de un tercio de la cabeza (Menkveld y Kruger, 1996; Mollá, et al., 2005).
- La pieza media debe ser más gruesa que la cola, con un grosor máximo de 1 μm , unida axialmente a la cabeza y con una longitud de aproximada de 7-8 μm (Garrido, et al., 2005; Mollá, et al., 2005). Si ésta presenta algún residuo citoplasmático no debe superar la mitad de la cabeza del espermatozoide (Mollá, et al., 2005).

- La cola debe ser única y uniforme, más estrecha que la pieza media, no espiralizada, sin restos citoplasmáticos y con una longitud aproximada de 45 μm de (Garrido, et al., 2005; Mollá, et al., 2005).

Si bien existen numerosas variantes metodológicas con el uso del sistema de clasificación, las muestras normales contienen un 60% o más de formas normales y menos de un 3% de formas inmaduras. Un criterio más rígido para interpretar la morfología normal, es la de Kruger (1988), que postula que una muestra normal contendría considerablemente menos de un 60% de formas normales, ya que a diferencia del criterio de la OMS, considera que la longitud de la cabeza debe de ser de 5.0-6.0 μm , el grosor de la pieza media 1.5 μm y la longitud de la cola de 41 μm (Kruger, et al., 1986) (figura 7).

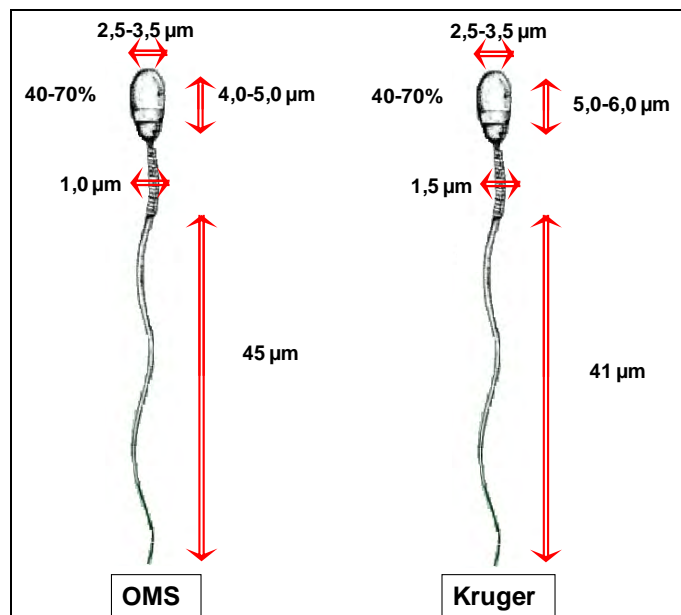


Figura 7. Características de un espermatozoide normal (Kruger, et al., 1986).

Durante el estudio morfológico de los espermatozoides solamente se tienen en cuenta las formas reconocibles, desechándose los espermatozoides mal teñidos, las colas solas y las células inmaduras, que se forman aparte. Las cabezas de alfiler y espermatozoides que sólo poseen cola por pérdida de la cabeza durante el proceso de espermiación, no se toman en cuenta excepto si se encuentran en un número elevado, hecho que se hace constar en el informe (Mollá, et al., 2005).

Los espermatozoides humanos exhiben una gran cantidad de anomalías diferentes ligadas a diferentes partes de la estructura. Estas anomalías generalmente se clasifican en defectos de cabeza, pieza media y cola (Garrido, et al., 2005). Un espermatozoide puede presentar las siguientes anomalías (Mollá, et al., 2005) (figura 8):

- Cabeza: cabeza alargada, pequeña, grande, amorfa, piriforme, cónica, vacuolada, doble, anomalías en la base y en el acrosoma.
- Pieza intermedia: ausente, angulada, distendida, irregular, anormalmente fina, con residuos citoplasmáticos.
- Cola o flagelo: ausente, corta, múltiple, ancha, enrollado, con gotas citoplasmáticas.

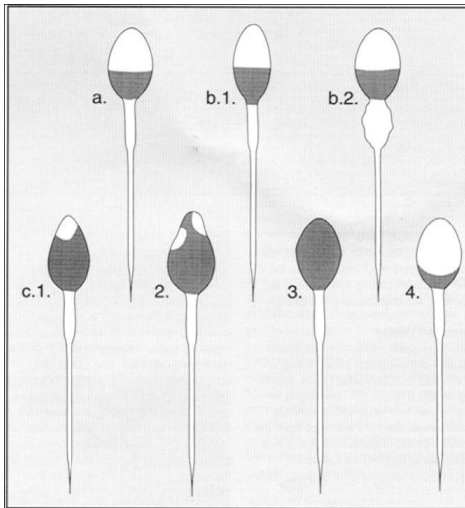


Figura 8. Diagrama que representa las anomalías espermáticas. a) Formas normales: cabeza, forma oval, sin ningún problema, acrosoma del 40 a 70 %, sin defectos en cuello, pieza media y cola. Longitud de la cabeza; 5 o 6 Mm, con un diámetro de 2,5 a 3,5 Mm. B. 1. Muy poco amorfa de cabeza; ligeramente alargada, pérdida de forma oval, acrosomal 40% a 70%, con un diámetro de 2,5 mm 2. B. 2. Poco amorfo, defecto en cuello; cuello, pero forma normal de cabeza. C. Formas amorfas graves; anomalidades en la forma del acrosoma. C. 1, 2. Anormalidades acrosoma pequeño. C. 3, 4. Acrosomal mayor (Kruger, 1988).

Con base en diversos estudios Oehninger et al (1988), Enginsu et al (1991), Grow y Oehninger (1995), Coetzee et al (1998) y Ombelet et al (1997), concluyen que la morfología del espermatozoide tiene un papel relevante en el diagnóstico del factor masculino (Walsh, et al., 1994).

IX. CROMO (Cr)

Un elemento se considera esencial si de su deficiencia resulta una función biológica subóptima que puede prevenirse o es reversible con la ingesta de cantidades pequeñas de dicho elemento para compensar la deficiencia, que puede deberse a alteraciones en la absorción y al aumento en la utilización del elemento por el organismo (Nielsen, 1984).

Los microminerales esenciales, llamados también elementos traza, comprenden menos de 0.01 % del peso corporal total; son los nutrimentos que el cuerpo necesita en concentraciones de una parte por millón o menos (Taylor, 1996). Cada elemento traza esencial es necesario para una o más funciones en el organismo. Ante concentraciones muy bajas o muy altas, estas funciones se alteran debido a que se deben tener concentraciones óptimas para el funcionamiento apropiado del organismo (Gómez y Magaña, 2004).

El cromo (Cr) es un elemento mineral esencial que ha recibido atención considerable ya que se le atribuyen algunos efectos benéficos sobre la función biológica del ser humano. El cromo químicamente existe en varios estados de oxidación desde -2 hasta +6. Los estados de oxidación más estables son el +3 y el +6. El Cr^{+3} es la forma con más estabilidad química y se enlaza a ligandos que contienen nitrógeno, oxígeno o radicales sulfuro, formando complejos octaédricos; por su parte, el Cr^{+6} es tóxico para el organismo (Jeejeebhoy, 1999; Armendariz-Anguiano, et al., 2007).

Walter Mertz (1988), demostró que el Cr es un nutriente esencial para los seres humanos, que se puede ingerir de manera segura como complemento y que no tiene efectos tóxicos a dosis altas ni por largo tiempo.

El National Research Council (1989) ha afirmado que el cromo dietético no es tóxico y que cantidades de 200 μg diarios se consideran seguras. Sin embargo, se ha mostrado en animales de laboratorio que la administración prolongada o excesiva de suplementos de cromo, como el picolinato de cromo, provoca la acumulación del metal en el organismo alcanzando concentraciones que pueden lesionar a los cromosomas (posible efecto clastógeno) (Melvin, 2002).

Además, en un estudio se exploró el potencial tóxico de un afluyente de la industria de galvanizado de cromo en *Drosophila melanogaster*. Los resultados mostraron que los afluentes son tóxicos en altas concentraciones para el desarrollo de éste organismo, ya que indujo retraso en el patrón de aparición de moscas adultas y disminución en el número de moscas que emergió con la mayor concentración. En general, se presentó una reducción importante de la fecundidad y el desempeño reproductivo de las moscas

adultas cultivadas con alimentación mixta que incluía 10 µl/ml de chapado de cromo proveniente de los afluentes (Mukhopadhyay, et al., 2003).

Fuentes alimentarias. Las fuentes alimentarias de cromo son la levadura de cerveza, los cereales integrales, los frutos secos, las melazas, el queso, los champiñones, los espárragos, ostras, hígado, patatas, huevos, brócoli, papa, ajo, manzana, plátano, espinacas, pimienta, mantequilla, mariscos, productos de grano entero, salvado, carnes rojas, así como carne de pollo, principalmente (tabla 2). La cerveza también tiene cierta cantidad de cromo, y los alimentos cocinados en acero inoxidable proporcionan cantidades despreciables de cromo adicional (McLaren y Meguid, 1993; Van Way, 1999; Melvin, 2002). Si embargo, el procesamiento de los alimentos elimina hasta el 80 % del cromo contenido en estos alimentos (Solórzano del Río, 1998).

Tabla 2. Contenido de cromo por grupo de alimentos (Gómez y Magaña, 2004).

GRUPOS DE ALIMENTOS	CROMO (µg/100 mg)
Pescado	< 2
Aves	< 2
Carne roja	< 2
Frutas	20
Vegetales	> 20
Granos	> 20
Harina Integral	1.75
Harina blanca	0.80

Las recomendaciones sobre requerimientos de vitaminas y minerales elaboradas por el Comité de Alimentos y Nutrición, del Consejo de Investigación Nacional de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos, estimó que la ingesta dietaria diaria adecuada y segura de vitaminas y minerales (ESADDI, por sus siglas en inglés), para el cromo en adultos es de 50 a 200 µg/día (Van Way, 1999), siendo particularmente para los varones adultos de entre 19 a 50 años de edad de 35 µg/día (IOM, 2001; Armendariz-Anguiano, et al., 2007).

Absorción. El cromo se absorbe en el intestino delgado, especialmente en el yeyuno de manera muy reducida, ya que de 0.4 hasta el 2% del cromo ingerido es absorbido, dependiendo de la ingesta dietaria. Aminoácidos como la metionina y la histidina, así como la vitamina C, favorecen la absorción del cromo, en tanto los antiácidos la inhiben (Anderson, et al., 1983, 1986; Dowling, et al., 1990; Seaborn y Stoecker, 1990; Armendariz-Anguiano, et al., 2007).

El mecanismo de absorción no se conoce con precisión, pero se ha mostrado que el cromo proveniente de la dieta alimenticia, es absorbido en el intestino y una vez en el torrente sanguíneo, es transportado por la transferrina hacia

el interior de las células (Yamamoto, et al., 1984), para unirse a la apocromodulina, un oligopéptido que fue aislado y caracterizado en la década de los ochenta por Yamamoto y colaboradores (1988) que en su momento denominaron sustancia que une al cromo de bajo peso molecular (LMWCr, por sus siglas en inglés). Al enlazar 4 iones de cromo se convierte en otro oligopéptido conocido como cromodulina (Vincent, 2000a), que tiene un peso molecular aproximado de 1500 Da, y que además está constituido por cuatro tipos de aminoácidos: glicina, cisteína, glutamato y aspartato (Vincent, 1999). La liberación de la cromodulina se parece a la secreción hormonal ya que se libera a la circulación sanguínea en respuesta a un estímulo que puede ser la disminución de glucosa en sangre (Mertz, 1975; Vincent, 1999).

También se ha mostrado, que el exceso de cromo se realiza por la albúmina. Ya que el cromo compite con otros metales como el hierro para ocupar el sitio receptor de la proteína transportadora, transferrina (Maham y Escott-Stump, 1998). Calculándose, que cada milímetro de suero contiene de 2-3 mg de transferrina, de los cuales sólo el 30 por ciento es saturada con hierro, dejando insaturados al resto de los sitios de recepción, para que se pueda unir el cromo (Yamamoto, et al., 1984).

Una vez que es absorbido, el cromo es distribuido y almacenado en varios tejidos del cuerpo humano, con mayor concentración en riñones, músculo, hígado, bazo, corazón, páncreas y hueso. Se excreta principalmente por la orina, con una excreción normal de 0.05-0.5 $\mu\text{g}/\text{día}$ y en menor cantidad en el sudor, heces y en el cabello (Mertz, 1988; Cefalu y Hu, 2004).

Funciones principales. El Cr^{3+} es un elemento importante en la regulación de la glucosa. Además, se cree que forma parte del llamado factor de tolerancia a la glucosa, el cual es parte del sistema homeostático que ayuda a mantener las concentraciones adecuadas de glucosa en sangre en el organismo (Freund, et al., 1979; Borel, et al., 1984; Davies, et al., 1985; Brown, et al., 1986; Verhage, et al., 1996).

Desde este punto de vista sistémico hay una serie de desequilibrio a lo largo del eje insulina-glucosa, que puede dar lugar a hipoglucemia en un extremo del espectro y la diabetes en la otra, en personas normales (Freund, et al., 1979; Borel, et al., 1984; Davies, et al., 1985; Brown, et al., 1986; Verhage, et al., 1996).

Básicamente, la insulina y el cromo trabajan juntos aumentando el metabolismo al producir una termogénesis mediada por los carbohidratos y en consecuencia puede influir también en el metabolismo de los lípidos y las proteínas. Además de mantener las concentraciones de glucosa en la sangre, intervienen en la formación de glicógeno en el tejido muscular y

ayudar a los nutrientes tales como los aminoácidos y la glucosa a entrar y ser usados por las células, ya que ayuda a la transferencia de los aminoácidos a través de las paredes de las células musculares, por lo cual es tan importante en el crecimiento muscular. El cromo también participa en la regulación de las concentraciones de triglicéridos, por lo tanto, afecta el metabolismo del colesterol (Anderson, 1986, 1989, 1993; Melvin, 2002; Solórzano del Río, 1998; Mertz, 1993; Van Way, 1999).

En 1993, Striffer et al mostraron experimentalmente que el cromo ejerce acción en la expresión o actividad del receptor a insulina. Posteriormente, Lukaski en 1999, describió la acción biológica del cromo en la regulación de la secreción de la insulina, con la finalidad de tener una mayor efectividad de la molécula de insulina. Mertz (1988) propuso que la acción biológica del cromo se debe a la unión de éste en un complejo con el ácido nicotínico y los aminoácidos, al cual denominó *factor de tolerancia a la glucosa* (FTG).

Deficiencia. El contenido de cromo en el cuerpo se puede ver reducido por varias causas: las dietas altas en azúcares simples (más del 35% de las calorías de la dieta) pueden incrementar la excreción urinaria de cromo; las infecciones, el ejercicio intenso, el embarazo y la lactancia, el trauma físico, incrementan las pérdidas de cromo y pueden causar su deficiencia, especialmente si las ingestas de cromo son bajas (Armendariz-Anguiano, et al., 2007).

Estudios *in vitro* (Kahn,1985; Roth, et al.,1994; Davis, et al., 1996; Ping y Elmendorf, 2003) e *in vivo* (Baumgartner, 1993; Anderson, 1986,1988; Sing, et al., 1998; Lukaski, 1999; O'Connell, 2001) indican que la deficiencia de cromo predispone a alteraciones en el metabolismo de la glucosa e insulina, y a futuro pueden provocar resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, diabetes mellitus, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (Solórzano del Río, 1998; Melvin, 2002; Gómez y Magaña, 2004).

Además de que la deficiencia de cromo de alguna manera altera el centro del control del apetito y esto hace que las personas sientan una clase de hambre falsa. En estos casos, se ha observado que aunque los niveles de azúcar en la sangre estén altos, la sensación de hambre puede persistir. Una de las razones para esto es que la insulina no puede realizar su función cuando se sufre de deficiencia de cromo.

Por otra parte, actualmente se conoce que la deficiencia de cromo puede también contribuir a los cambios bruscos en los niveles sanguíneos de azúcar, provocando de esta manera serios cambios en el estado de ánimo (Solórzano del Río, 1998).

Suplementos. El cromo se encuentra presente en numerosos suplementos alimenticios y multivitamínicos. Se encuentra disponible en la forma de sales: cloruro de cromo, picolinato de cromo, nicotinato de cromo, citrato de cromo, pidolato de cromo. El cloruro de cromo es el que se absorbe en menor cantidad (0.4%) y el picolinato de cromo es el de mayor absorción (0.7-5.2%) (Clancy, et al., 1994; Gargas, et al., 1995; Ryan, et al., 2003).

Teóricamente, los suplementos de cromo benefician a los deportistas de rendimiento, ya que mejoran la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de los hidratos de carbono durante el ejercicio. Asimismo, debido a que el cromo puede aumentar el efecto anabolizante de la insulina, aumentar la capacitación de los aminoácidos por el músculo y modificar la composición del organismo, ya que incrementan la masa muscular y reducen la grasa corporal. Dado el potencial de aplicación comercial de esta teórica posibilidad para los deportistas y la población en general, la mayoría de las investigaciones realizadas hasta la fecha se han centrado en el efecto de los suplementos de cromo sobre la composición del organismo, utilizando la mayoría de los estudios picolinato de cromo (Melvin, 2002).

Stearns y colaboradores sostiene que un aumento en la absorción de cromo, a través de suplementos alimenticios, podría causar toxicidad debido a la concentración de este metal pesado en diversos tejidos. También sostiene que la concentración de Cr^{3+} en diversos tejidos con el tiempo podría dar lugar a eventuales daños traducidos en aberraciones cromosómicas, debido a la acción clastogénica del metal (es un mutágeno que causa rupturas en los cromosomas), como se ha observado *in vitro* (Stearns, et al., 1995a, b; Speetjens, et al., 1999). Si bien los estudios han encontrado fragmentación de ADN debido a los efectos clastogénicos del picolinato de cromo, Lamson y Plaza (2002) consideran que es difícil extrapolar o comparar los resultados de los estudios *in vitro* a la posible toxicidad humana.

La ingesta de suplementos con picolinato de cromo no es recomendada para personas con trastornos del comportamiento, ya que el propio picolinato puede provocar efectos adversos al actuar sobre diferentes neurotransmisores en el sistema nervioso central (Melvin, 2002).

X. PICOLINATO DE CROMO

La mayor biodisponibilidad del mineral cromo, es en forma de picolinato de cromo. El picolinato de cromo $[\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3]$ (figura 9), es compuesto que tiene un peso molecular de 418.30, consta de un cromo $3+$ que es un mineral traza presente en la dieta normal, y de tres complejos de ácido picolínico, derivado natural del aminoácido triptófano que facilita la absorción intestinal del mineral cromo, y que además se produce de forma natural en la leche materna humana y se encuentra en muchos alimentos comunes (Henderson y Swan, 1971; Rebello, et al., 1982; Solórzano del Río, 1998; Melvin, 2002; Cefalu y Hu, 2004). Absorbiéndose en realidad, aproximadamente el 5% (o menos) de Cr a partir del picolinato de cromo cuando se administra por vía oral (Anderson, et al., 1997).

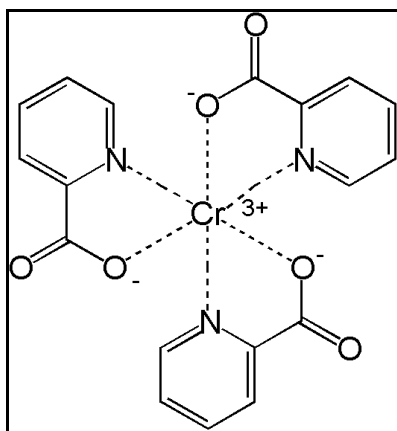


Figura 9. Estructura química del picolinato de cromo $[\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3]$.

Se ha descrito que el picolinato de cromo es tóxico únicamente a grandes dosis, y que para intoxicar a una persona con peso de aproximadamente 80 Kg, se requerirían 700 mg de este compuesto (Solórzano del Río, 1998; Melvin, 2002).

La administración de suplementos de picolinato de cromo parece tener diversos beneficios en el ser humano como son: disminución de la grasa corporal, aumento de la masa muscular, normalización de las concentraciones de glucosa sanguíneas, disminución del colesterol sérico y la mejora de energía y vigor (Evans, 1989; Fisher, 1990).

En análisis bibliográficos realizados por Solórzano del Río en 1998 y por Melvin en el 2002 sobre estudios clínicos efectuados con picolinato de cromo, evidencian controversias en los efectos de este suplemento; algunos estudios muestran la eficacia del picolinato de cromo en prolongar los años de vida, disminuir el colesterol, aumentar la musculatura y reducir la grasa (Evans, 1989); mientras que otros estudios sólo mencionan su efecto en

reducir la grasa corporal sin hacer dieta ni ejercicio. A diferencia de aquellos en los que no se registraron efectos significativos del suplemento sobre el peso corporal, la grasa corporal o la masa muscular en individuos de ambos sexos sometidos a un programa de ejercicios aeróbicos (Hasten, et al., 1992; Lukaski, et al., 1996). Por último en un congreso del American Collage of Sports Medicine en Denver, los trabajos acerca del efecto de los suplementos de cromo sobre individuos físicamente activos y sanos o deportistas, no mostraron efectos benéficos sobre la tolerancia a la glucosa, el metabolismo, la composición corporal o diversas medidas de rendimiento físico. Todos estos resultados al parecer fueron independientes a la concentración de picolinato de cromo administrada (200 µg/día durante 8 semanas, 400 µg/día durante 16 semanas o 600 µg/día durante 4 semanas).

Por otra parte, en 1995 Amoikon y colaboradores sugirieron que la suplementación con picolinato de cromo también aumenta la sensibilidad de la insulina, esto al observar la disminución de la vida media de la glucosa en sangre, durante una prueba de tolerancia y prueba de la insulina.

Aunque, de acuerdo con Page et al (1992), Ward (1995) y Matthews et al (2001), la suplementación con picolinato de cromo, afecta únicamente la cinética de la glucosa, sin un efecto sobre la cinética de la insulina. Sugiriendo que esta falta de efecto sobre la cinética de la insulina podría indicar que el cromo mejora la vinculación de la insulina o el número de receptores de insulina alterando de esta forma la cinética de la glucosa. Esto en base a una anterior investigación realizada por Berrío y colaboradores (1995), que indicó que el picolinato de cromo mejora la insulina vinculante por el aumento del número de receptores de insulina en células de adipocitos y eritrocitos en la especie porcina.

XI. INSULINA

La insulina es una proteína constituida por dos cadenas de aminoácidos, denominadas A y B, que están unidas por dos puentes disulfuro. En total contiene 51 aminoácidos y su peso molecular es de 5.900. Se sintetiza en el interior de las células beta de los islotes de Langerhans, en las cuales, primero los ribosomas acoplados al retículo endoplasmático traducen el ARN de la insulina y forman una preprohormona insulínica (preproinsulina) que después se desdobra en el retículo para formar la proinsulina, la cual sigue escindiéndose en el aparato de Golgi en insulina y fragmentos peptídicos antes de empaquetarse en los gránulos secretores. De esta forma, antes de su liberación a la circulación, la proinsulina se rompe en sus dos componentes, la insulina propiamente dicha y el péptido C (figura 10) (Guyton y Hall, 2000; Figuerola, 2003).

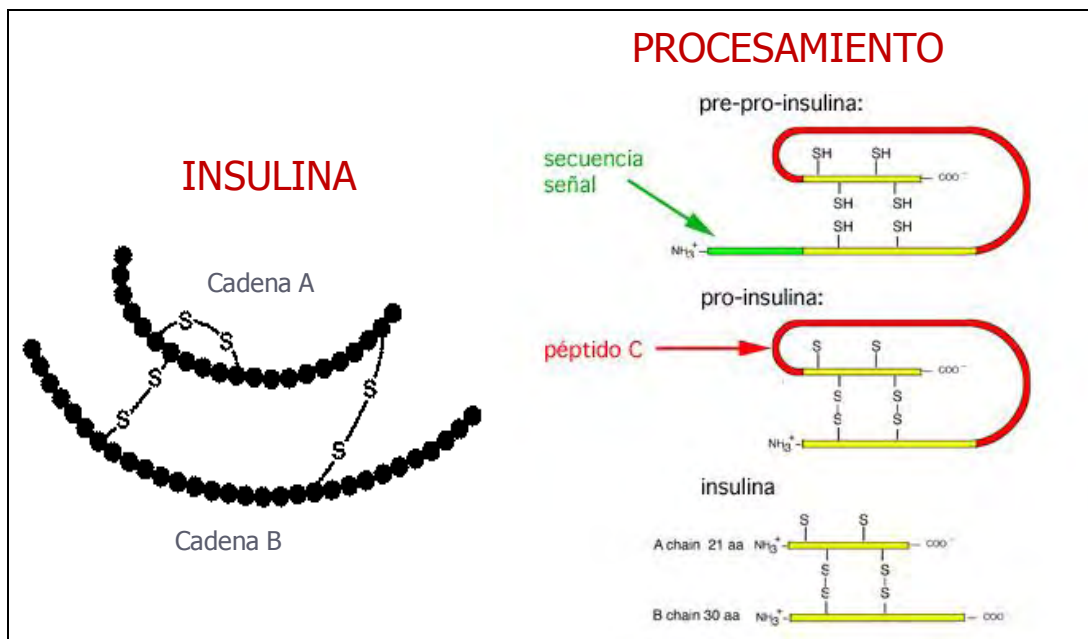


Figura 10. Molécula de insulina y síntesis de ésta antes de su liberación a la circulación (Figuerola, 2003).

La insulina se secreta en estado de ayuno de forma continua a un ritmo aproximado de 0.5 a 1 U/hora, llegando hasta una concentración sérica de 10 μ U/ml. Después de la ingesta, esta secreción aumenta de 3 a 10 veces, de modo que a lo largo del día la cantidad de insulina secretada a la circulación es de 30 a 40 U/d en individuos de peso normal y actividad física moderada (Figuerola, 2003).

La semivida plasmática de la insulina es de unos 6 minutos por término medio y desaparece de la circulación en unos 10 a 15 minutos. Sí se exceptúa la parte de la insulina que se une a los receptores de las células

efectoras, el resto se descompone por la enzima *insulinasa*, sobre todo en el hígado, en menor medida en los riñones y en los músculos, y de forma muy discreta en casi todos los demás tejidos (Guyton y Hall, 2000).

Deficiencia. Cuando las concentraciones de insulina son insuficientes, la mayoría de las células no reciben la energía que precisan porque la glucosa no puede penetrar adecuadamente en ellas. El organismo intenta defenderse utilizando otras fuentes, para lo cual moviliza sus reservas de grasa y proteínas, que proceden, respectivamente, del tejido adiposo y de los músculos. Los triglicéridos se desdoblan en ácidos grasos y glicerol. Los ácidos grasos son empleados por las células donde se metabolizan dando lugar a cuerpos cetónicos, que pasan a la sangre. En consecuencia, en la sangre se acumulan cuerpos energéticos (glucosa, aminoácidos, ácidos grasos, cuerpos cetónicos), a pesar de lo cual las células están ávidas porque la falta de insulina no les permite utilizar adecuadamente esta energía. Solamente el cerebro y el hígado, en parte, se defienden de esta situación, pues el tejido nervioso no necesita insulina para que la glucosa penetre a su interior, mientras que el hígado puede disponer también de glucosa en ausencia de insulina, aunque es incapaz de almacenarla (Guyton y Hall, 2000; Figuerola, 2003).

Factores que influyen en la secreción de insulina. De todos los factores capaces de estimular la producción de insulina, la glucosa es el más importante, aunque también tiene esta capacidad otros monosacáridos, algunos aminoácidos (argina, leucina, fenilalanina, lisina), el glucagón, la hormona de crecimiento, el cortisol, las hormonas gastrointestinales (secretina, pancreocimina, gastrina, colecistocinina, polipéptido pancreático), los estimuladores β -adrenérgicos y algunos fármacos como las sulfonilureas, los derivados de meglitinida y los derivados de D-fenilalanina. El vago actúa como estimulador de la secreción de insulina, mientras que la adrenalina, la noradrenalina y los bloqueadores β -adrenérgicos son inhibidores. Otros factores, que también actúan sobre la insulina son la prostaglandina A, que tiene un efecto inhibitor, mientras que los estrógenos y progestágenos dan lugar a aumentos en su secreción, aunque en la práctica se comportan como antiinsulares debido a que producen resistencia a la acción periférica de la insulina (Guyton y Hall, 2000; Figuerola, 2003).

Estudios. Hay pruebas que indican que, al menos en los animales, la insulina juega un papel importante en el mantenimiento de la espermatogénesis y la función endocrina testicular, ya que los estudios en ratas con diabetes inducida mostraron una severa disfunción del sistema reproductor, además de una reducción del peso de los órganos reproductivos, así como disminución del volumen de esperma y de la movilidad de los espermatozoides (Seethalakshmi, et al., 1987). También se han mostrado alteraciones espermatogénicas tanto en el hombre como en

ratas diabéticas, ya que al ser tratados con insulina, mostraron diversos cambios que van desde la espermatogénesis normal a moderada a una alteración grave, lo que indica que en las ratas diabéticas, la insulina podría, aunque no del todo, evitar anomalías espermatogénicas (Gondos y Bevier, 1995).

Existen evidencias que muestran que los hombres con diabetes parecen estar en una situación de desventaja en términos de calidad de los espermatozoides en comparación con los individuos sanos (Handelsman, et al., 1985; Vignon, et al., 1991; Ali, et al., 1993; Niven, et al., 1995). Además, ya se han publicado datos sobre la calidad del esperma en hombres con diabetes, en los cuales se ha encontrado una reducción de la movilidad espermática, aumento en la concentración de espermatozoides (Padrón, et al., 1984; Handelsman, et al., 1985; Vignon, et al., 1991; Ali, et al., 1993; Niven, et al., 1995) y mayor porcentaje de espermatozoides anormales (Padrón, et al., 1984; Vignon, et al., 1991). En otros estudios se ha encontrado una reducción en la concentración de los espermatozoides y del volumen normal de la densidad de espermatozoides, morfología y movilidad (Handelsman, et al., 1985). Sin embargo, el deterioro reproductivo en los hombres con diabetes probablemente sea el resultado de las interferencias de la enfermedad con las funciones del eje hipotálamo-hipófisis-testículo a múltiples niveles, ya que se han observado en algunos estudios alteraciones en la secreción de gonadotropinas lo cual podría, en parte, ser responsable de la espermatogénesis defectuosa y de la anormalidad en la estructura del espermatozoide eyaculado (Baccetti, et al., 2002).

XII. GLUCOSA

La glucosa es un monosacárido, es decir, un azúcar simple con seis átomos de carbono en cada molécula; que está presente sólo en mínimas cantidades en los alimentos, excepto en algunas frutas, pero el almidón está compuesto de ella y forma parte de la molécula de los disacáridos comunes, sacarosa, lactosa y maltosa (McLaren y Meguid, 1993).

El organismo debe tener glucosa para producir energía; y la obtiene de diferentes maneras en distintas circunstancias. La glucosa y otras hexosas son absorbidas por el intestino delgado por medio de un mecanismo de transporte activo. Y normalmente, no se pierden más que cantidades mínimas de glucosa en la orina (McLaren y Meguid, 1993).

La glucosa se utiliza en forma continua por todos los tejidos del organismo, lo que requiere su distribución por medio de la circulación. Algunos tejidos son más sensibles que otros a la disminución de la glucosa sanguínea. El cerebro es probablemente el más dependiente, porque la glucosa es la fuente principal de energía que cruza la barrera hematoencefálica, aunque en un estado de inanición prolongada, se utilizan los cuerpos cetónicos, de hecho los músculos y algunos otros tejidos pueden cubrir parte de sus necesidades de energía por medio de estas fuentes (Guyton y Hall, 2000; McLaren y Meguid, 1993).

Glucosa sanguínea. La glucosa sanguínea se deriva en parte de la absorción portal de productos de la digestión de carbohidratos. Esta contribución varía mucho entre las personas y de un día a otro. La glucosa sanguínea proviene también de la hidrólisis de la glucosa-6-fosfato en hígado, riñones e intestino (Guyton y Hall, 2000; McLaren y Meguid, 1993).

También proviene del glucógeno (glucogenólisis) y de todos los demás precursores (glucogénesis) que incluye la gluconeogénesis, lo que implica nueva formación de glucosa a partir de fuentes que no son carbohidratos (Guyton y Hall, 2000; McLaren y Meguid, 1993).

La glucosa sanguínea se mantiene estable dentro de límites relativamente estrechos, usualmente entre 3.3 a 5.5 mmol/L (60 a 120 mg/100 ml) (McLaren y Meguid, 1993; Figuerola, 2003). En adultos jóvenes, las concentraciones de glucosa en plasma en ayunas van desde 70 a 110 mg/dl (Timiras, 1997). Elevándose ésta concentración hasta 120-140 mg/100ml, en la primera hora después de la ingesta de alimentos, y regresando a sus valores normales, casi siempre dos horas después gracias a los sistemas de retroacción (Guyton y Hall, 2000).

La tasa de utilización de la glucosa por las células, se determina en parte por su concentración presente en sangre y en otras partes del espacio extracelular. La conservación de la glucosa sanguínea en concentraciones hiperglucémicas favorece la formación de productos derivados de la glucosa, en especial de glucógeno hepático y ácidos grasos. La insulina disminuye la concentración de azúcar sanguínea al facilitar el paso de la glucosa al interior de las células en donde aumenta la síntesis de glucógeno por el músculo, y de los ácidos grasos por el hígado y el tejido adiposo (Guyton y Hall, 2000; McLaren y Meguid, 1993).

Homeostasis de la glucosa. La homeostasis de la glucosa está controlada por mecanismos hormonales, neurovegetativos y por neurotransmisores. Los principales factores implicados son, además de la insulina, el glucagón, hormona de crecimiento, glucocorticoides, tiroxina, resistina, leptina, adrenalina, neuropéptido Y, melanocortina y el péptido tipo *agouti* (Czech y Corvera, 1999; Guyton y Hall, 2000; Figuerola, 2003). De todas ellas, la insulina resalta por su potente acción hipoglucémica, es decir por su capacidad para reducir la concentración de la glucosa en la sangre después de una ingesta de carbohidratos. El efecto hipoglucémico de la insulina se debe principalmente a que induce la incorporación de los transportadores de glucosa (GLUT) a la membrana plasmática de las células musculares esqueléticas, de los adipocitos y de los hepatocitos, produciendo la entrada masiva de la glucosa a estos tejidos y bajando el nivel en la sangre (Czech y Corvera, 1999; Guyton y Hall, 2000).

Además, existen otros factores que influyen en la concentración de la glucosa sanguínea como son los numerosos fármacos como el alcohol, anfetaminas, aspirina, marihuana, morfina corticosteroides, entre otros, unos actuando directamente sobre la secreción de insulina y otros modificando la sensibilidad de los tejidos a insulina (Figuerola, 2003).

Metabolismo. La glucosa puede sufrir uno de tres cambios después de que sale de la circulación: 1) oxidación a ácido glucurónico que puede ser fosforilado y penetrar a la vía alterna de la oxidación de la glucosa, 2) reducción a sorbitol que puede ser oxidado a fructuosa y la reacción más importante 3) la conversión a la glucosa-6-fosfato, a través de la cual pasa la glucosa absorbida antes del metabolismo posterior (Figuerola, 2003).

Transportadores de glucosa a las células. Para poder llevar a cabo importantes funciones como la oxidación y el almacenaje, la glucosa debe entrar al interior de la célula para incorporarse a la vía metabólica que predomine según las condiciones hormonales y energéticas del momento (Zierler, 1999). Una célula puede sobrevivir si evita que su medio interno se mezcle y establezca el equilibrio con el medio ambiente. Este semi-aislamiento es proporcionado por la membrana celular, de naturaleza lipídica

y relativamente impermeable a moléculas polares como la glucosa. Es por esta característica que moléculas como los carbohidratos requieren algún elemento transportador que les permita cruzar la barrera que representa la membrana; así, la naturaleza, a través de millones de años de evolución biológica desarrolló moléculas proteicas que cruzan completamente la membrana y que son capaces de formar "poros" que comunican el exterior con el interior celular, permitiendo el flujo de moléculas como los aminoácidos, vitaminas y carbohidratos en un sentido u otro. En este orden de ideas, los transportadores para glucosa trabajan de manera coordinada con factores hormonales, receptores, y segundos mensajeros para mantener el flujo de este metabolito en condiciones normales (Valmore, et al., 2007).

La glucosa es el principal sustrato energético de la célula y para su ingreso requiere una proteína transportadora en la membrana celular. Se han descrito dos sistemas de transporte de glucosa y de otros monosacáridos: los transportadores de sodio y glucosa llamados SGLT (sodium-glucose transporters) y los transportadores de glucosa llamados GLUT (glucose transporters) (Barrett, et al., 1999; Díaz y Burgos, 2002). Los primeros se expresan principalmente en epitelios que se encargan de la absorción y de la reabsorción de nutrientes, esto es, el epitelio del intestino delgado y el epitelio tubular renal respectivamente. Los GLUT se expresan en todas las células del organismo y permiten mover la glucosa de un compartimiento a otro (Van Way, 1999; Figuerola, 2003; Castrejón, et al., 2007).

Los sistemas facilitadores del transporte de glucosa (GLUT). Estos transportadores son glicoproteínas cuya masa molecular fluctúa entre 45 a 55 kDa, con doce dominios transmembranales en estructura α hélice. Los extremos amino (N) y carboxilo (C) terminales, al igual que una gran asa central, se localizan en el citoplasma. Además, presentan un sitio de glicosilación en la región externa de la membrana. Se han identificado 14 transportadores diferentes (GLUT 1-GLUT 14), cada una de estas isoformas tiene ubicación y características cinéticas propias, adaptadas a las necesidades metabólicas de los distintos tejidos del organismo. Al parecer los segmentos transmembranales (Doege, et al., 2000b; Loo, et al., 1996; Rogers, et al., 2002; Gaster, et al., 2000) son hidrofílicos en una cara del cilindro α hélice e hidrofóbicos en la otra, por lo que forman un poro y, de esta manera, permiten el paso del monosacárido a favor de un gradiente de concentración (Guerre-Millo, 1995). Para que se efectúe el ingreso de la glucosa, se deben formar previamente uniones débiles (tipo puentes de hidrógeno) entre los grupos hidroxilo y carbamino del GLUT y los grupos hidroxilo de la glucosa (Lienhard, et al., 1992; Barrett, et al., 1999; Rogers, et al., 2002; Uldry, et al., 2001; Castrejón, et al., 2007).

La glucosa ingresa a la célula en cuatro etapas: 1) se une al transportador en la cara externa de la membrana; 2) el transportador cambia de conformación

y la glucosa y su sitio de unión quedan localizados en la cara interna de la membrana; 3) el transportador libera la glucosa al citoplasma, y 4) el transportador libre cambia nuevamente de conformación, expone el sitio de unión a la glucosa en la cara externa y retorna a su estado inicial (Carruthers, 1990).

Transporte de glucosa en el espermatozoide. Es bien conocido, que los espermatozoides de mamíferos requieren del metabolismo de energía para una gran variedad de funciones, en particular para apoyar la movilidad. Las principales fuentes de producción de trifosfato de adenosina (ATP), son a través de la fosforilación oxidativa mitocondrial y la glucólisis, pero el equilibrio entre estas vías varía mucho entre los espermatozoides de diferentes especies (Ford y Rees, 1990).

Un número de estudios han sugerido que los espermatozoides humanos requieren de la glucosa para la mejor capacitación y fertilización (Rogers y Perreault, 1990; Hoshi, et al, 1991; Mahadevan et al, 1997; Hoppe, 1976; Fraser y Quinn, 1981; Urner y Sakkas, 1996a, b, 1999), ya que el metabolismo energético a partir de glucosa es requerido para la activación del axonema e incluye la producción y regeneración de ATP y de intermediarios como el NADPH (nucleótido reducido), necesarios para las vías de señalización interna, que conducen a la fosforilación de las proteínas flagelares al movimiento. El ingreso de glucosa al citosol se da a través de transportadores como el GLUT 3, GLUT 8 y GLUT 9 en la pieza intermedia, el GLUT 8 y el GLUT 9 en la región acrosomal y capa fibrosa de la pieza principal, la cual parece servir como andamio de algunas enzimas en el metabolismo energético, y como molécula de señal para desencadenar la movilidad espermática, ya que esta capa está compuesta por varias proteínas, entre ellas la hexoquinasa; relacionada con la fosforilación de tirosina de otros componentes de la capa fibrosa (Olivera, et al., 2006).

La glucosa es transformada en glucosa-6-fosfato por la enzima hexoquinasa, para generar ATP o NADPH, por una de tres vías, dependiendo de la parte del espermatozoide: la vía pentosa fosfato, la vía mitocondrial de la fosforilación oxidativa y la glucolítica, siendo ésta última, fuente principal de ATP (figura 11) (Urner y Sakkas, 2003; Olivera, et al., 2006).

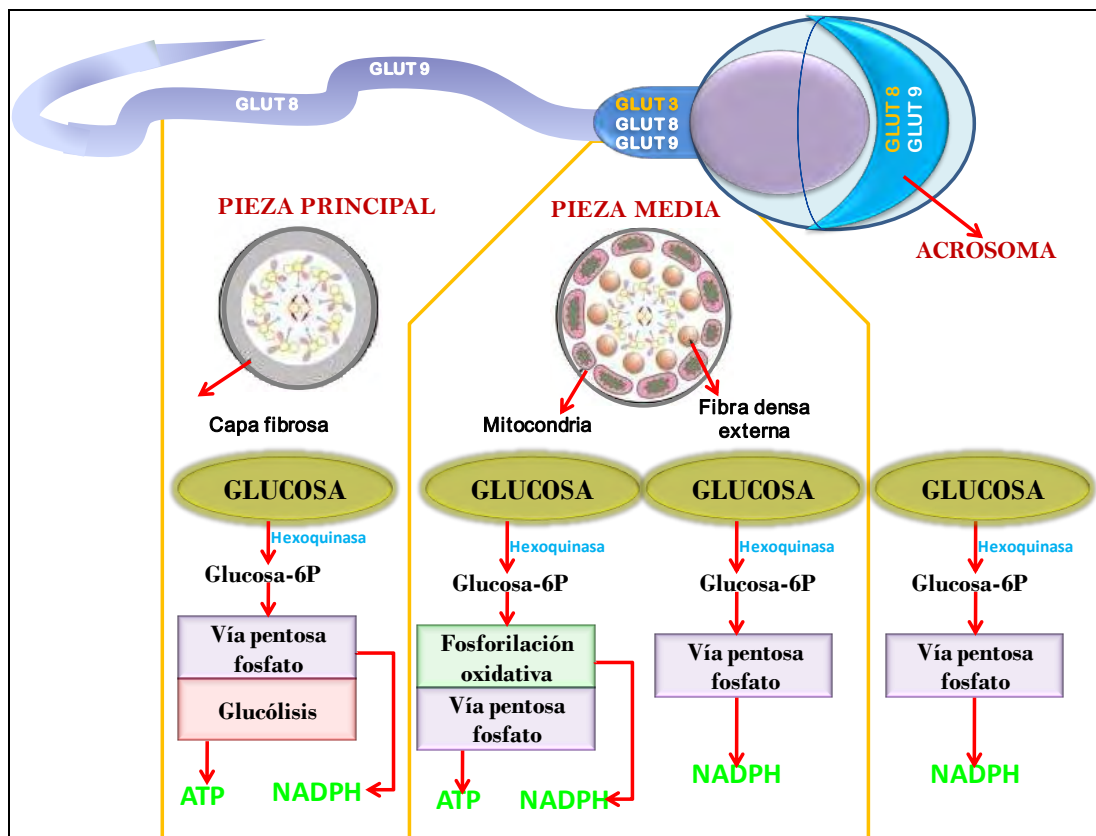


Figura 11. Metabolismo energético que realiza el espermatozoide a partir de la glucosa (Modificada de Olivera, et al., 2006).

Así que tanto la expresión de glucosa, su transportador y las vías metabólicas parecen ser compartimentada en el espermatozoide; ya que en éstos, los diferentes transportadores de glucosa muestran una localización precisa, aunque hay un cierto grado de variabilidad en distintas especies (Angulo, et al., 1998).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La insulina tiene un papel importante en el mantenimiento de la espermatogénesis y la función endócrina testicular, ya que los individuos con diabetes muestran una severa disfunción del sistema reproductor. El cromo es un nutriente esencial cuya función es la de contribuir en la activación del receptor a insulina, lo que permite el transporte de la glucosa al interior de las células y de esta forma proveerlas de energía y a su vez mantener normal la concentración de glucosa en la sangre.

El cromo también participa en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, por lo que se le atribuyen efectos como el incremento de la masa muscular y reducción de la grasa corporal, lo que ha propiciado la ingesta de cromo en forma de complementos alimenticios, tales como el picolinato de cromo en concentraciones de 200 µg/día, dosis descrita como no tóxica para el ser humano. Sin embargo, se ha mostrado en animales de laboratorio que su administración prolongada o excesiva provoca la acumulación del metal en el organismo alcanzando concentraciones que pueden lesionar a los cromosomas.

En la actualidad, el consumo del picolinato de cromo, principalmente por adultos jóvenes en edad reproductiva ha aumentado con el fin de quemar grasas y marcar músculos. Por lo anterior es necesario contar con estudios en los que se evalúen los posibles efectos del picolinato de cromo en la calidad espermática como un parámetro de referencia de las funciones del sistema reproductor.

HIPÓTESIS

Dado que el cromo es indispensable en el aprovechamiento de la glucosa por las células dependientes de insulina y este aporte de energía es necesario en el proceso de espermatogénesis, entonces la ingesta de picolinato de cromo, modificará la calidad seminal del varón joven sin alterar las concentraciones de insulina y glucosa en sangre.

OBJETIVOS

General:

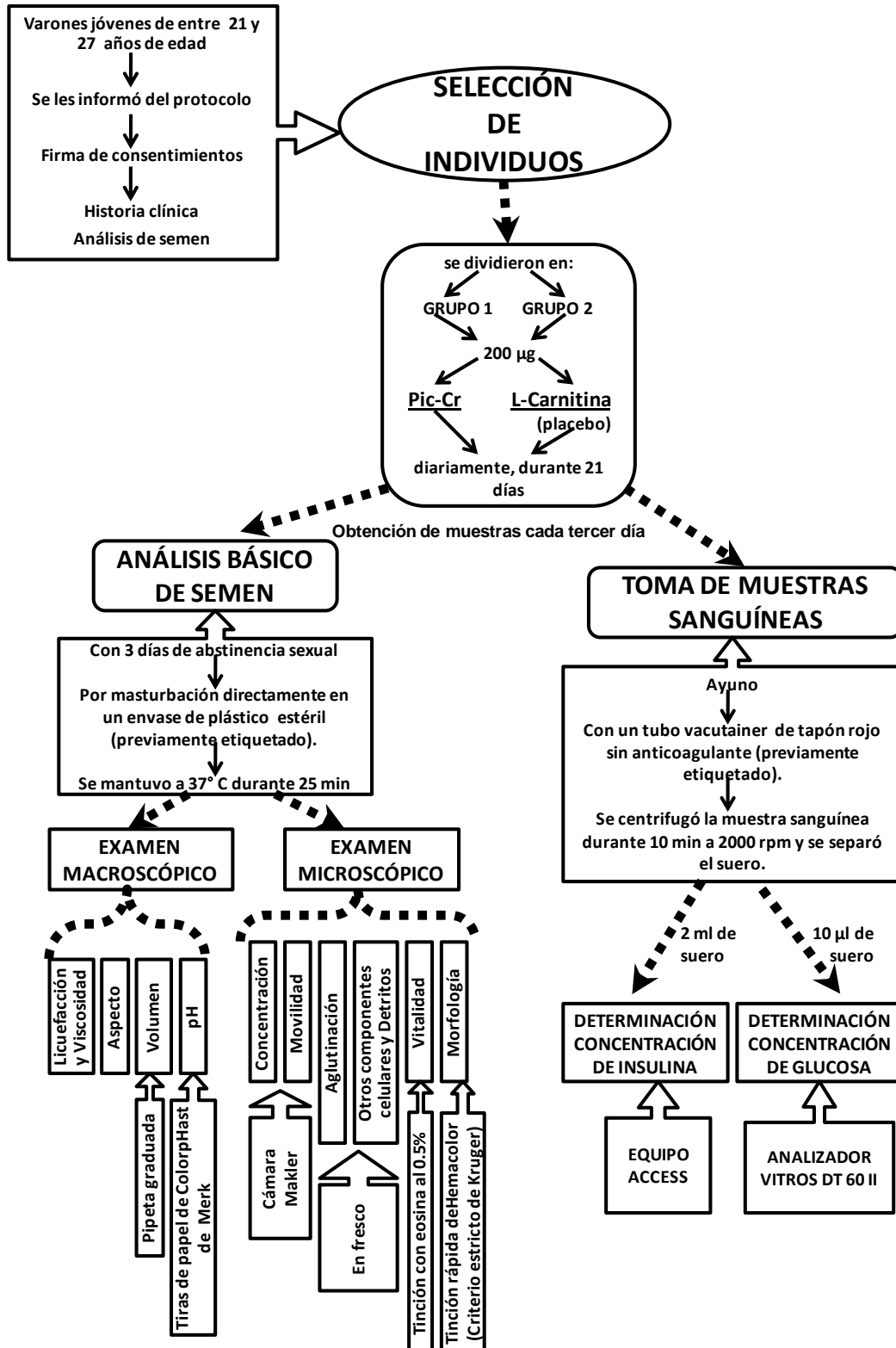
- Estudiar el efecto del picolinato de cromo en la calidad espermática, así como en las concentraciones de insulina y glucosa en sangre de varones adultos jóvenes sanos.

Particulares:

- Evaluar el efecto del picolinato de cromo en la movilidad, concentración, vitalidad y morfología de los espermatozoides, mediante un análisis básico de semen.
- Determinar el efecto del picolinato de cromo sobre las concentraciones de insulina en sangre.
- Evaluar la influencia del picolinato de cromo sobre las concentraciones de glucosa en sangre.

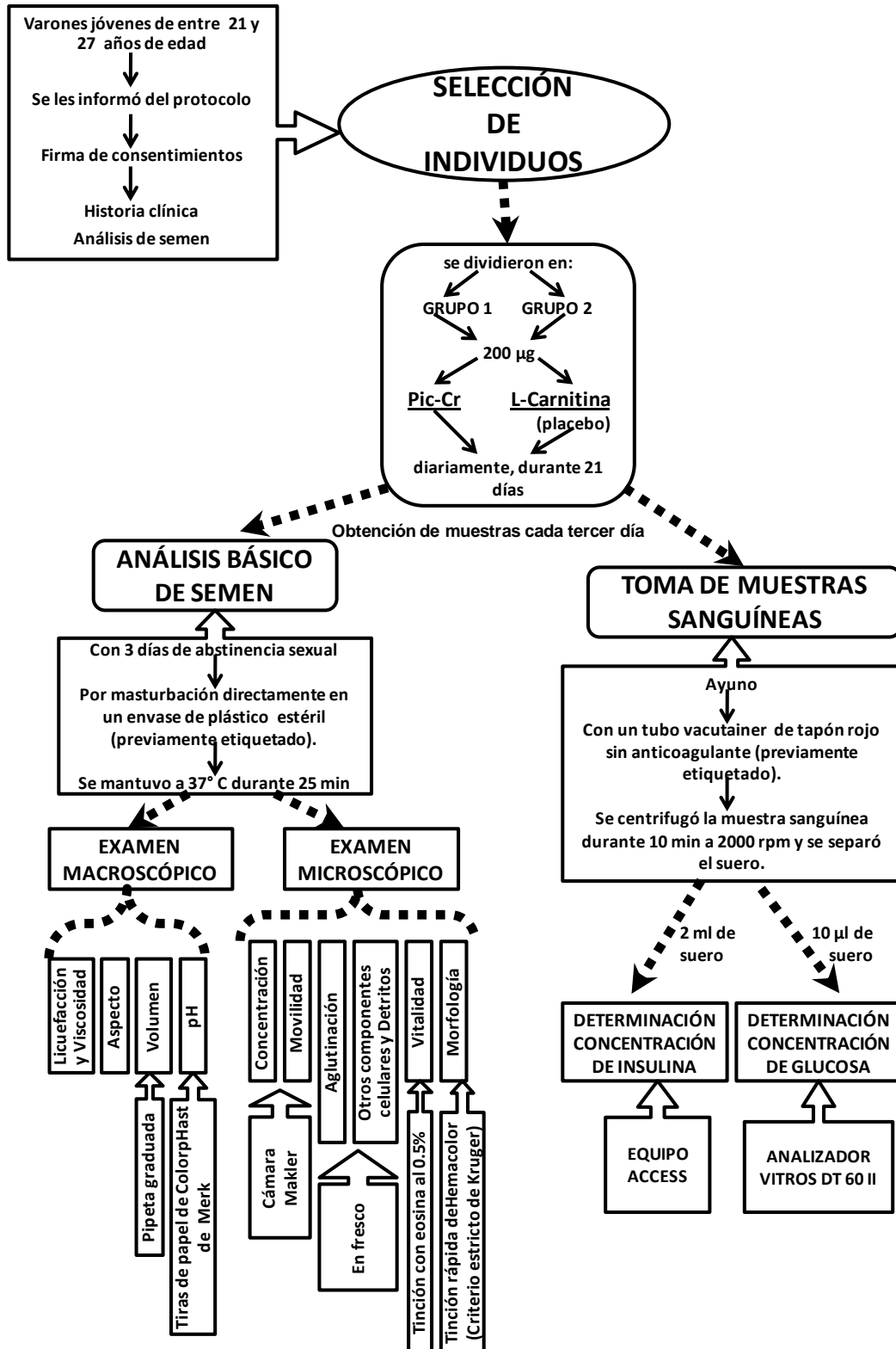
MATERIALES Y MÉTODOS

Diagrama de flujo:



MATERIALES Y MÉTODOS

Diagrama de flujo:



SELECCIÓN DE LOS INDIVIDUOS

Se reclutaron varones jóvenes entre 21 y 27 años de edad, a los cuales se les ingresó en el ensayo basándose en los datos de la historia clínica y el análisis previo de muestras de semen que indicaron que son individuos sanos. Los varones se dividieron en dos grupos al azar, grupo 1 (10 individuos) que ingirió dosis de 200 µg de picolinato de cromo (Pic-Cr) y grupo 2 (2 individuos) que ingirió dosis de 200 µg de L-Carnitina (L-Carn) como placebo (dosis recomendada por la IDEASE), ya que su presentación comercial de este suplemento contiene las mismas sales que el picolinato de cromo. Con la finalidad de evaluar los posibles efectos del picolinato de cromo sobre los parámetros seminales, la ingesta fue diariamente, durante 21 días.

ANÁLISIS BÁSICO DE SEMEN¹

Toma de muestra. Se respetó un periodo de abstinencia sexual de 3 a 4 días entre cada muestra de semen (de acuerdo al manual de la OMS, 1999). Inicialmente se analizaron muestras de semen previas a la ingesta del complemento alimenticio, muestras de semen con la suplementación y muestras posteriores al término de la ingesta. La muestra se obtuvo por masturbación directamente en un envase de plástico estéril. El recipiente se etiquetó correctamente con los datos del donante, la fecha y la hora de la toma de muestra. La muestra, se mantuvo a 37°C durante 25 min.

Examen macroscópico:

Volumen. El volumen del semen se determinó con una pipeta graduada.

Aspecto. El aspecto del semen se valoró por su color, opacidad/transparencia, y presencia de cuerpos mucosos o gelatinosos.

Licuefacción y Viscosidad. Si transcurridos 60 min, la muestra de semen no completó la licuefacción, se anotó en el informe. En estos casos se realizó mezclando la muestra mecánicamente, es decir, pipeteando repetidamente (previamente se tomó el volumen de la muestra).

pH. El pH se midió con tiras de papel de ColorpHast de Merk (Darmstadt, Alemania), con límites de sensibilidad de 6.5 a 10.0. Se colocó sobre la tira de papel una gota de semen, y al cabo de 30 segundos, cuando el color de la zona impregnada fue uniforme se comparó con la tira de calibración.

Examen microscópico:

¹ Remohí, et al., 2005

Concentración. Se tomaron 0.5 µl de muestra de semen y se colocaron en la cámara Makler. Se observaron en un microscopio a 20 aumentos y pH 1 (accesorio del microscopio conocido como corredora de anillos para pH, que permite observar con más claridad las muestras). Se contaron los espermatozoides presentes en tres cuadrantes o campos y se multiplicó el número de espermatozoides observados por 10 y se dividió entre tres, lo cual corresponde a una concentración de millones por mililitro.

Movilidad. En el análisis de movilidad de espermatozoides de la muestra de semen solamente se contaron los espermatozoides libres y nunca los que estuvieron agregados entre sí o a otras células. Se llevó a cabo el recuento de los espermatozoides móviles e inmóviles en varios campos seleccionados al azar, con un microscopio en un objetivo de 20 aumentos (pH 1), en la cámara Mackler. Se contaron 100 espermatozoides. Se registraron los espermatozoides móviles progresivos rápidos (a), los móviles progresivos lentos (b), los móviles no progresivos (c) y los inmóviles (d) del mismo campo. El resultado de movilidad se expresó en porcentaje dependiendo del número de espermatozoides contados tipo a, b, c y d.

Agglutinación. Se consideró que había aglutinación cuando los espermatozoides estaban unidos entre sí, ya sea por la cabeza o por la cola, bien cabeza-cola. Se observaron grupos de espermatozoides en un microscopio a 40 aumentos. Su presencia se tradujo en + (poca), ++ (moderada) y +++ (abundante).

Otros componentes celulares y detritos. Se registró la presencia de células epiteliales y leucocitos en varias áreas de la muestra, observadas en un microscopio a 40 aumentos (pH 2) y se sacó un promedio.

Vitalidad. Para determinar la vitalidad se utilizó el método de tinción con eosina: Se preparó una solución de eosina al 0.5% (5 g/L) en una solución acuosa al 0.9% (9 g/L) de cloruro de sodio. Se mezclaron (1:1) 0.5 µl de la muestra de semen en un portaobjetos con 0.5 µl de la solución de eosina, después se taparon con un cubreobjetos para conservar la preparación y se observaron a 40 aumentos (pH 2) en un microscopio. Posteriormente se contaron 100 espermatozoides, expresando en porcentaje los no teñidos (vivos) y los teñidos de color rojo (muertos).

Morfología. Para observar la morfología se utilizó el método de tinción rápida de hemacolor (Merk): Se preparó una extensión con 5 µl de semen y se dejó secar bien. Se pasó durante 3 segundos en la solución A, 45 segundos en la solución B y 1 minuto y medio en la solución C. Se lavó el portaobjetos en agua corriente y se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente se observó con un objetivo de 100 aumentos (pH 0) y aceite de inmersión en un

microscopio. Se realizó el conteo de 100 espermatozoides, determinando los defectos en cabeza, pieza media y cola; se expresaron en porcentaje.

TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS:

Se colocó al tubo de extracción de sangre la etiqueta con la identificación del donador.

Determinación de glucosa e insulina

La determinación de las concentraciones de insulina se realizó utilizando el equipo ACCESS (Beckman Coulter, USA). Mientras que la determinación de las concentraciones de glucosa se realizó utilizando un analizador Vitros DT 60 II (Kodak Ektachem). Ambos fundamentados en un análisis de quimioluminiscencia; utilizando como muestra 2 ml y 10 µl de suero por prueba respectivamente, obtenido de la centrifugación de la muestra sanguínea durante 10 min a 2000 rpm, tiempo y velocidad necesario para la separación de los componentes de la muestra (suero y plasma) (tabla 5).

Tabla 5. Resumen de características y reactivos utilizados en el equipo de ACCESS y VITROS DT 60 II, para la determinación de las concentraciones de insulina y glucosa.

DETERMINACIÓN DE INSULINA	DETERMINACION DE GLUCOSA
<p>ACCESS</p> <p>Muestra de espécimen: Suero Cantidad de la muestra: 2 ml por prueba Control: Biorad nivel 1-3 Calibrador: Beckman Coulter para insulina Referencia 33415 Resultados expresados en: UI/ml Principio de quimioluminiscencia</p>	<p>VITROS DT 60 II</p> <p>Muestra de espécimen: Suero Cantidad de la muestra: 10 µl por prueba Reactivo: Slides o tarjetas de reacción Kodak Ektachem DT Control: Vitrol nivel 1-2 Resultados expresados en: mg/ml Principio de quimioluminiscencia</p>

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se expresaron como media \pm e.e.m. y fueron procesados mediante el paquete estadístico "GraphPad InStat 3", con el que se realizó la comparación de los datos entre los grupos de estudio (testigos vs Pic-Cr, testigos vs L-Carn y L-Carn vs Pic-Cr) de cada una de las fases: antes de la suplementación, durante la suplementación y después de la suplementación, por medio de la prueba de "U" de Mann-Whitney. Se consideró como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue menor o igual a 0.05.

RESULTADOS

En todas las muestras evaluadas a lo largo del estudio algunos parámetros se presentaron de acuerdo a lo establecido como normal, como son: la licuefacción que se llevó a cabo entre los primeros 20 y 30 min después de la obtención de la muestra, al igual que la viscosidad; el pH fue neutro (de 7.5 a 7.7); la presencia de otros componentes celulares y detritos fue menor a 5×10^6 células por campo (alrededor de 0 a 3×10^6) y no se observó aglutinación en ninguna de las muestras evaluadas.

1. Volumen y concentración

Los resultados obtenidos (tabla 6) muestran que no existen diferencias significativas en los valores medios del volumen del eyaculado y concentración espermática de los varones, en ninguna de las etapas del estudio.

Tabla 6. Influencia de 200µg de picolinato de cromo (Pic-Cr) y de L-Carntina (L-Carn) en el volumen del eyaculado y la concentración espermática (media ± e.e.m.) de varones adultos jóvenes sanos.

PARÁMETROS	Antes de la suplementación (8 días)	Durante la suplementación (21 días)		Después de la suplementación (11 días)	
	Testigo	L-Carn	Pic-Cr	L-Carn	Pic-Cr
n	33	11	59	6	29
Volumen (ml)	2.4 ± 0.2	2.4 ± 0.3	2.3 ± 0.1	2.8 ± 0.2	2.8 ± 0.2
Concentración (millones/ml)	151.0 ± 10.0	136.3 ± 8.1	151.8 ± 5.5	116.6 ± 5.2	141.7 ± 8.5

2. Movilidad

En la tabla 7 se presentan los resultados de la movilidad espermática. Estos muestran que la movilidad progresiva de los espermatozoides disminuyó por debajo del 50%, en los varones suplementados con 200µg de picolinato de cromo por un periodo de 21 días, en comparación con el grupo testigo y al suplementado con L-Carnitina (placebo) (figura 12).

En todas las muestras de semen evaluadas a lo largo del estudio, no se observó la presencia de espermatozoides móviles progresivos rápidos (tipo a).

Los espermatozoides móviles progresivos lentos (tipo b), disminuyeron durante y después de la suplementación con picolinato de cromo y con L-Carnitina (placebo) en relación a los varones testigos; existiendo además una diferencia significativa entre los grupos suplementados. Sin embargo, particularmente después de la suplementación con picolinato de cromo se observó una ligera recuperación en la presencia de espermatozoides tipo B en el eyaculado, pero no estadísticamente significativo.

En contraste, los espermatozoides móviles no progresivos (tipo c) en el eyaculado de los varones suplementados con picolinato de cromo y con L-Carnitina (placebo) aumentaron durante y después del tratamiento en relación al grupo testigo; existiendo también una diferencia significativa entre los grupos suplementados. Manteniéndose éste efecto en ambos grupos, después de la suplementación.

Mientras que la presencia de espermatozoides inmóviles (tipo d) en la muestras de semen se modificó únicamente en los varones suplementados con picolinato de cromo, al aumentar su porcentaje, en relación a los varones testigos y a los suplementados con L-Carnitina (placebo). Efecto que después del tratamiento se ve disminuido significativamente.

Tabla 7. Influencia de 200µg de picolinato de cromo (Pic-Cr) y de L-Carntina (L-Carn) en la movilidad espermática (media ± e.e.m.) presente en el eyaculado de varones adultos jóvenes sanos.

PARÁMETROS		Antes de la suplementación (8 días)	Durante la suplementación (21 días)		Después de la suplementación (11 días)	
		Testigo	L-Carn	Pic-Cr	L-Carn	Pic-Cr
n		23	11	59	6	29
Movilidad (%)	a (móviles progresivos rápidos)	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	b (móviles progresivos lentos)	62.1 ± 1.3	57.3 ± 1.3 ^a	40.9 ± 1.1 ^{a,b}	55.5 ± 1.9 ^a	47.0 ± 1.4 ^{a,c}
	c (móviles no progresivos)	16.0 ± 0.5	19.9 ± 0.7 ^a	24.4 ± 1.0 ^{a,b}	20.8 ± 0.5 ^a	25.1 ± 0.8 ^{a,c}
	d (inmóviles)	21.4 ± 1.3	22.7 ± 0.9	34.5 ± 0.8 ^{a,b}	23.7 ± 1.6	27.9 ± 0.9 ^{a,d}

a, $p \leq 0.05$ vs Testigo

b, $p \leq 0.05$ vs L-Carn durante la suplementación

c, $p \leq 0.05$ vs L-Carn después de la suplementación

d, $p \leq 0.05$ vs Pic-Cr durante la suplementación

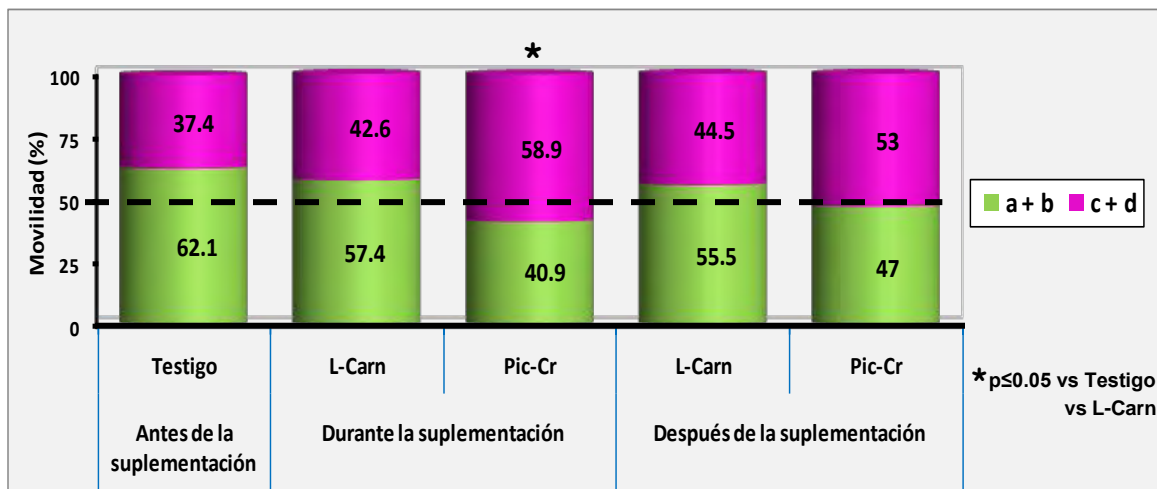


Figura 12. Porcentaje de espermatozoides móviles progresivos (tipo a + tipo b) y no progresivos (tipo c + tipo d) presentes en el eyaculado de los varones, durante y después de la suplementación con 200 µg de picolinato de cromo (Pic-Cr), respecto al grupo testigo y al suplementado con L-Carnitina (L-Carn). La línea punteada indica el 50%, que se considera el límite inferior de una movilidad espermática normal.

3. Morfología

En la tabla 8 se muestra, que la morfología espermática presente en el eyaculado de los varones se vio alterada por la suplementación con picolinato de cromo, al disminuir la frecuencia de espermatozoides normales en el semen y aumentar la presencia de formas anormales con defectos en cabeza, pieza media y cola, en comparación al grupo testigo y al suplementado con L-Carnitina (placebo). Efectos que después de la suplementación se modificaron, al aumentar y disminuir el porcentaje total de formas normales y anormales, respectivamente (figuras 13 y 14). Si bien se observa una disminución en el número de defectos presentes, solo los de pieza media son estadísticamente significativos.

Únicamente, los espermatozoides anormales con defectos en cola presentes en el eyaculado de los varones suplementados con L-Carnitina (placebo), se vieron modificados, al aumentar su presencia después del tratamiento respecto al grupo testigo.

Tabla 8. Influencia de 200µg de Picolinato de Cromo (Pic-Cr) y de L-Carnitina (L-Carn) en la morfología espermática (media ± e.e.m.) presente en el eyaculado de varones adultos jóvenes sanos.

PARÁMETROS	Antes de la suplementación (8 días)	Durante la suplementación (21 días)		Después de la suplementación (11 días)		
	Testigo	L-Carn	Pic-Cr	L-Carn	Pic-Cr	
n	33	12	59	6	29	
Morfología (%)	Normales	3.6 ± 0.1	3.5 ± 0.2	1.6 ± 0.1 ^{a,b}	3.7 ± 0.2	2.4 ± 0.1 ^{a,c,d}
	Anormales	96.4 ± 0.1	96.5 ± 0.2	98.3 ± 0.1 ^{a,b}	96.3 ± 0.2	97.6 ± 0.1 ^{a,c,d}
	Cabeza	94.7 ± 0.4	94.0 ± 0.7	96.6 ± 0.2 ^{a,b}	94.3 ± 0.5	96.2 ± 0.2 ^{a,c}
	Pieza Media	90.0 ± 0.9	91.0 ± 0.6	94.3 ± 0.2 ^{a,b}	91.0 ± 0.8	93.1 ± 0.3 ^{a,c,d}
	Cola	20.3 ± 0.9	23.3 ± 1.0	25.7 ± 0.5 ^{a,b}	25.3 ± 1.7 ^a	25.9 ± 0.5 ^a

a, $p \leq 0.05$ vs Testigo

b, $p \leq 0.05$ vs L-Carn durante la suplementación

c, $p \leq 0.05$ vs L-Carn después de la suplementación

d, $p \leq 0.05$ vs Pic-Cr durante la suplementación

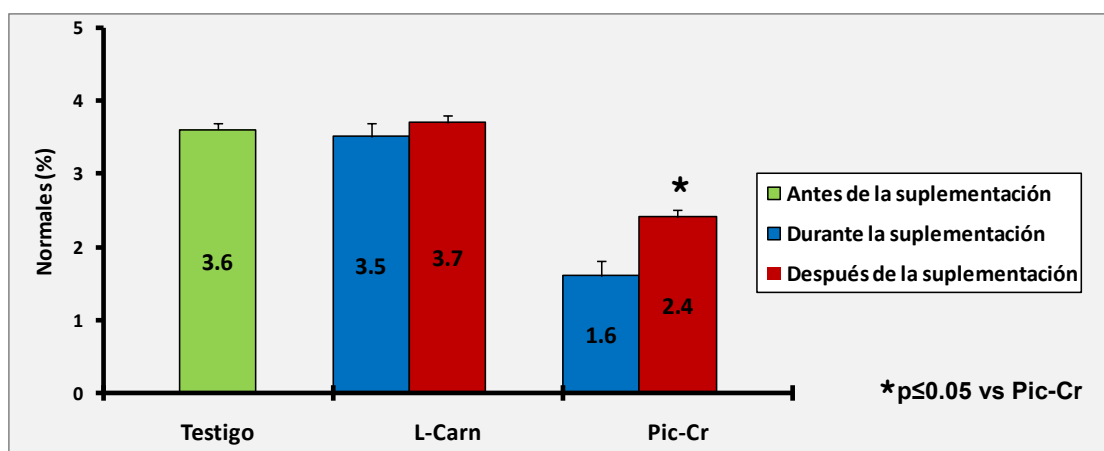


Figura 13. Porcentaje de espermatozoides normales presentes en el eyaculado de los varones, durante y después de la suplementación con 200 µg de picolinato de cromo (Pic-Cr) y con L-Carnitina (L-Carn).

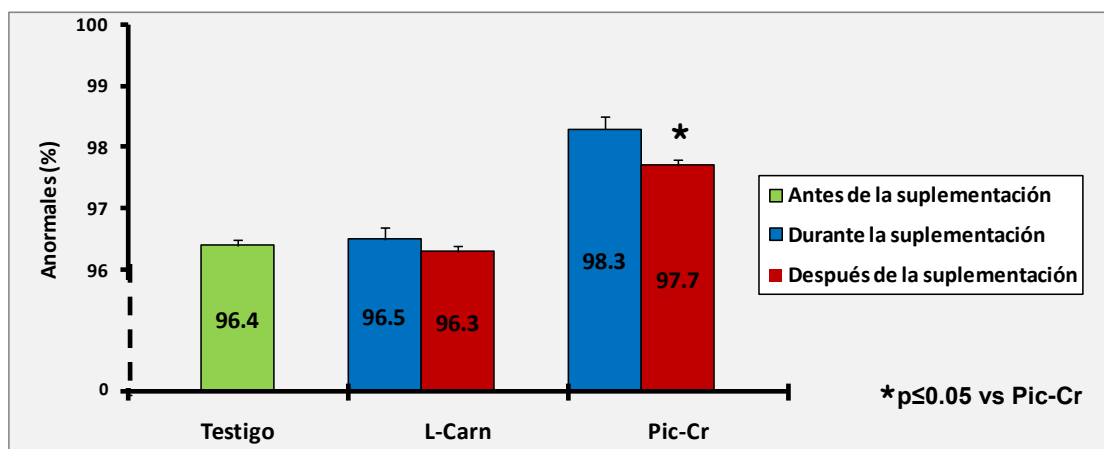


Figura 14. Porcentaje de espermatozoides anormales presentes en el eyaculado de los varones, durante y después de la suplementación con 200 µg de picolinato de cromo (Pic-Cr) y con L-Carnitina (L-Carn).

4. Vitalidad

En la tabla 9 se muestra, que durante y después de la suplementación con picolinato de cromo y L-Carnitina (placebo), disminuyó el porcentaje de espermatozoides vivos presentes en las muestras seminales, respecto al grupo testigo; existiendo además una diferencia significativa entre los grupos suplementados. Efecto que se modificó después del tratamiento, únicamente en el grupo suplementado con picolinato de cromo, al aumentar éste porcentaje significativamente.

Tabla 9. Influencia de 200µg de picolinato de cromo (Pic-Cr) y de L-Carntina (L-Carn) en la vitalidad espermática (media ± e.e.m.) presente en el eyaculado de varones adultos jóvenes sanos.

PARÁMETROS	Antes de la suplementación (8 días)	Durante la suplementación (21 días)		Después de la suplementación (11 días)	
	Testigo	L-Carn	Pic-Cr	L-Carn	Pic-Cr
n	23	12	59	6	29
Vitalidad (%)	84.9 ± 1.0	77.1 ± 3.0 ^a	68.9 ± 0.7 ^{a,b}	78.2 ± 1.7 ^a	74.9 ± 0.6 ^{a,c,d}

a, $p \leq 0.05$ vs Testigo

b, $p \leq 0.05$ vs L-Carn durante la suplementación

c, $p \leq 0.05$ vs L-Carn después de la suplementación

d, $p \leq 0.05$ vs Pic-Cr durante la suplementación

5. Insulina y Glucosa

En la tabla 10 se muestra que las concentraciones de insulina y glucosa sanguíneas de los varones que participaron en el estudio, no se ven modificadas por la suplementación con picolinato de cromo, respecto al grupo testigo. Sin embargo, las concentraciones de insulina y de glucosa durante la suplementación con L-Carnitina (placebo), se vieron modificadas (figuras 15 y 16).

Tabla 10. Influencia de 200µg de picolinato de cromo (Pic-Cr) y de L-Carnitina (L-Carn) en las concentraciones de insulina y glucosa en sangre (media ± e.e.m.) de varones adultos jóvenes sanos.

PARÁMETROS	Antes de la suplementación (8 días)	Durante la suplementación (21 días)		Después de la suplementación (11 días)	
	Testigo	L-Carn	Pic-Cr	L-Carn	Pic-Cr
n	33	12	59	10	50
Insulina (µU/ml)	11.2 ± 1.9	16.5 ± 4.0	9.0 ± 0.8 ^b	9.4 ± 1.4	10.1 ± 1.8
Glucosa (mg/dl)	89.2 ± 2.3	82.1 ± 3.1 ^a	91.2 ± 1.1 ^b	88.5 ± 3.4	88.3 ± 1.1

a, $p \leq 0.05$ vs Testigo

b, $p \leq 0.05$ vs L-Carn durante la suplementación

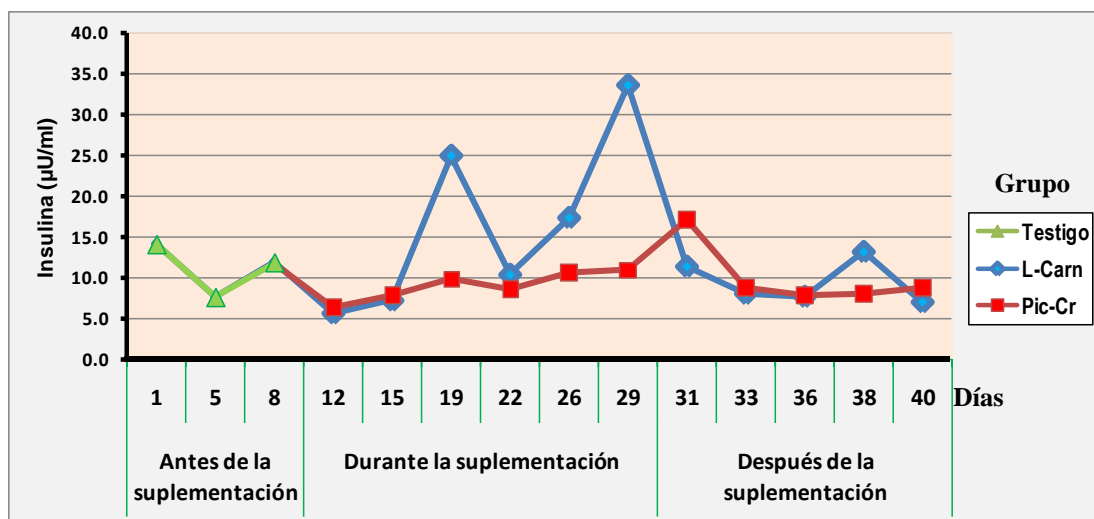


Figura 15. Comportamiento de las concentraciones de insulina (media) en sangre, de varones jóvenes sanos suplementados con 200 µg de picolinato de cromo (Pic-Cr), en relación al grupo con L-Carnitina (L-Carn), respecto al tiempo.

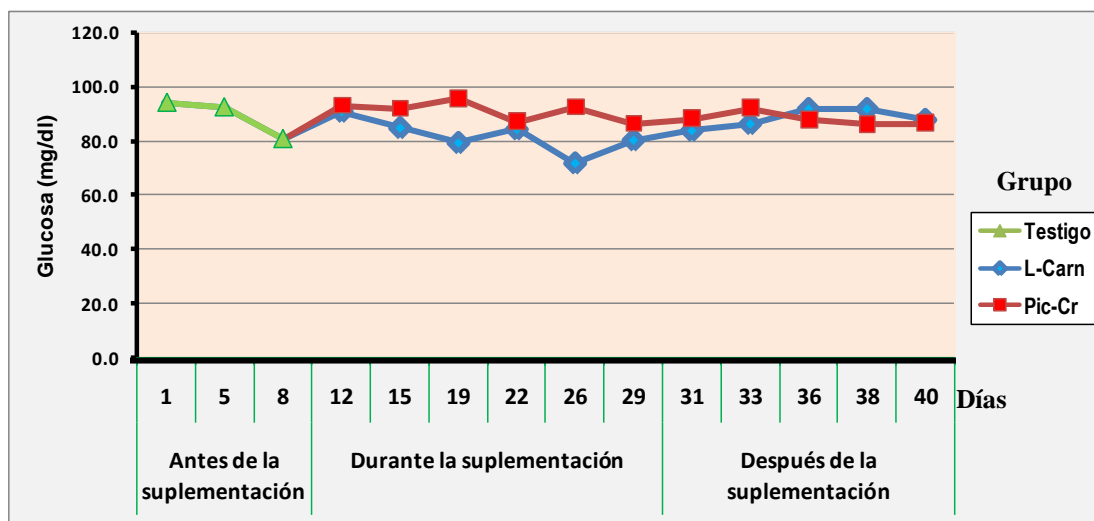


Figura 16. Comportamiento de las concentraciones de glucosa (media) en sangre, de varones jóvenes sanos suplementados con 200 µg de picolinato de cromo (Pic-Cr), en relación al grupo con L-Carnitina (L-Carn), respecto al tiempo.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos pareciera que el cromo es indispensable en el aprovechamiento de la glucosa no sólo en las células dependientes de insulina, sino también en el resto de las células del organismo, incluyendo las células espermatogénicas, en donde el aporte de energía es necesario en el proceso de diferenciación, razón por la cual la ingesta de picolinato de cromo modificó algunos de los parámetros de la calidad seminal de los varones.

El volumen total del eyaculado se relaciona con la cantidad de secreción producida por las glándulas accesorias del sistema reproductor masculino. El 5% proviene de la secreción epididimaria, el 30% de la secreción prostática y el 65% de la secreción de las vesículas seminales (Poirot y Cherruau, 2005; Páges y Aller, 2006). Siendo de 2 a 6 ml después de un lapso de abstinencia de 3 a 5 días (Páges y Aller, 2006). Al respecto, el volumen de las muestras seminales evaluadas en este estudio, no se vio modificado por la suplementación con picolinato de cromo, ya que durante todo el estudio, estuvo entre 2.3 y 2.8 ml, valor que está por encima del límite inferior de lo normal (2 ml) establecido por la WHO (1999), por lo que se sugiere que probablemente el suplemento con cromo no interviene en la función de las glándulas que contribuyen a la formación del semen.

La concentración espermática tampoco se vio modificada por la suplementación con picolinato de cromo en ninguna de sus fases, ya que los espermatozoides presentes en los eyaculados de los varones participantes en este estudio oscilo entre 116 y 151 millones/ml, valores considerados como normales de acuerdo con lo establecido por la WHO (1999) al ser superior a 20 millones/ml.

Por otra parte, existen evidencias experimentales (Speetjens, et al., 1999; Kareus, et al., 2001; Bagchi, et al., 2002; Hepburn y Vincent, 2002; Acharya, et al., 2006), que muestran que el picolinato de cromo puede generar radicales hidroxilo, que son capaces de dañar el ADN. Esta capacidad aparentemente se deriva de la combinación del Cr con el picolinato (de Lamirande, et al., 1997; Speetjens, et al., 1999; Sun, et al., 2000), ya que no se pueden catalizar por separado; y depende además de si el complejo es absorbido intacto por las células (Dion, et al., 2002). Para que el picolinato de cromo se pueda reducir a la forma biológicamente activa (3+), y sea usado por las células, requiere de la reducción de su centro crómico, por agentes reductores como el ascorbato y tioles (Speetjens, et al., 1999; Hepburn, et al., 2003). Los ligandos de la molécula de picolinato de cromo pueden cambiar el potencial redox del centro crómico, de tal manera que es susceptible a la reducción, y por ende producir radicales hidroxilo (Sugden, et al., 1992; Sun, et al., 2000; Vincent, 2000b).

Con base en lo anterior, la suplementación con picolinato de cromo a varones jóvenes sanos, probablemente afectó la morfología espermática, disminuyendo los espermatozoides normales presentes en las muestras de semen, por la producción de una gran cantidad de radicales libres, lo que incidiría en una etapa de la espermatogénesis, específicamente en la espermiogénesis, en la cual las espermatídes se transforman en espermatozoides maduros, produciéndose grandes cambios morfológicos y funcionales, como la aparición del flagelo, el desarrollo del acrosoma, la condensación de la cromatina y nucleoproteínas del núcleo para formar la cabeza (Oliva y Dixon, 1991; Kierszenbaum y Tres, 2004; Trejo, et al., 2005) y la eliminación del exceso de citoplasma mediante la fagocitosis llevada a cabo por las células de Sertoli (Pagés y Aller, 2006); conformado finalmente por cabeza, pieza media y cola (deKretser, 1989; Kerr, 1992; Russell, et al., 1990; Trejo, et al., 2005; Olivera, et al., 2006; Pagés y Aller, 2006). Ésta etapa tiene una duración aproximadamente en el humano de 24 días, y la suplementación fue durante 21 días, es decir, los varones fueron suplementados, cuando las espermatídes se estaban diferenciando en los túbulos seminíferos de los testículos, razón apoyada, no sólo por el aumento significativo en la presencia de formas anormales, sino también por el aumento en el número de defectos presentes en cabeza, pieza media y cola del espermatozoide. De acuerdo con Aitken y Clarkson (1987) la espermiogénesis defectuosa está asociada con la presencia en el eyaculado de espermatozoides inmaduros que producen altos niveles de radicales libres.

El estrés oxidativo, tiene gran relevancia en determinados procesos fisiológicos del espermatozoide, como la capacitación, conservación del ADN nuclear y reacción acrosómica. Por el contrario, el exceso provoca daños a diferentes estructuras celulares (Garrido, et al., 2004b) al dañar la membrana plasmática (Topaz, 1998).

Sin embargo, de acuerdo con Anderson y colaboradores (1997) y Dion et al (2002), *in vitro* las concentraciones de Cr en las células no son equivalentes a las concentraciones de picolinato de cromo celulares. En hepatocitos de rata el 75% del Cr se encuentra principalmente en el citosol, y una mínima cantidad en el núcleo o las mitocondrias, entonces, el potencial de daños en el ADN causados por la producción de radicales hidroxilo es menor. Lo que explicaría, la reducción significativa de espermatozoides anormales, en los días posteriores al término de la suplementación con picolinato de cromo en los varones.

Evidencias experimentales muestran que cuando grandes cantidades de picolinato de cromo entran al torrente sanguíneo el complejo se degrada rápidamente y no se acumula intacto en las células, indicando que al ser suplementado por vía oral no pueden razonablemente alcanzar altas

concentraciones en el torrente sanguíneo, por lo cual deberían ser fácilmente degradados dentro de las primeras 24 horas después de su ingesta, ya que, la estabilidad y la concentración del complejo en las células, indican que el picolinato de cromo tiene una vida útil de menos de un día *in vivo*, que en general reduce al mínimo las amenazas potenciales de daño en las células ocasionado por este compuesto (Hepburn y Vincent, 2002; Dion et al., 2002; Hepburn, et al., 2003).

De acuerdo con lo descrito por Evans y Bowman (1992), el efecto del picolinato de cromo, no es el resultado de que el cromo (3+) contenido actúe como sistema de autoamplificación de la señal de la insulina, sino, por un aumento en la fluidez de la membrana plasmática, al eliminar el contenido de colesterol de la membrana y bloquear la nueva carga de colesterol exógeno en ésta. Es probable que la morfología espermática también se viera afectada de esta manera; ya que otro factor importante en la fisiología espermática es la concentración de colesterol en la membrana plasmática, que actúa incidiendo sobre su fluidez (Garrido, et al., 2005).

Se ha mostrado que existe una correlación negativa entre el porcentaje de espermatozoides con defectos en la pieza media y la cantidad de colesterol en la membrana y que además aquellas muestras con más del 11% de formas normales presentan concentraciones de colesterol en la membrana significativamente mayores que aquellas que presentan una gran cantidad de formas anormales (< 4% de formas normales) (Garrido, et al., 2004a). Esto indica una diferencia significativa entre varones fértiles e infértiles respecto a la composición de colesterol en la membrana, siendo superior la concentración en varones que habían conseguido iniciar una gestación que finalizó con recién nacido vivo sano, que en aquellos que no lo habían conseguido (Meseguer, et al., 2004; Garrido, et al., 2005).

Clínicamente la morfología espermática es importante para el éxito reproductivo, puesto que el número de formas normales, está relacionada con la mayor probabilidad de éxito en las técnicas de reproducción asistida. Cuapio y colaboradores (2008), observaron en inseminación homóloga (IAH) y heteróloga (IAD), que a mayor número de espermatozoides normales se incrementan las posibilidades de embarazo, y se presenta una mayor tasa de gestación considerando un número de espermatozoides normales mayor al 4%, presentes en una muestra seminal, esto concuerda con otros estudios realizados como los de Oehninger et al (1988), Enginsu et al (1991), Grow y Oehninger (1995), Garrido et al (2005) y Soler et al (2005). De acuerdo con nuestros resultados, la suplementación con picolinato de cromo disminuiría a más de la mitad la probabilidad de embarazo y gestación en la pareja del varón que esté consumiendo este producto, por un período corto de tiempo. Estos datos nos llevan a considerar que una suplementación con picolinato de cromo por un periodo prolongado, podría causar problemas de infertilidad

en los varones. Además, de acuerdo con Cohen y colaboradores (1991) los espermatozoides con mala morfología dan como resultados embriones de pobre calidad.

Por otra parte, la glucosa, es el principal sustrato energético que se encarga de mantener una concentración óptima de ATP en los espermatozoides humanos y por lo tanto, les sirve para una movilidad óptima, incluso cuando el espermatozoide se suministra con suficiente lactato y piruvato de apoyo a la respiración mitocondrial. Por lo tanto, la movilidad no está limitada por la disponibilidad de energía metabólica a menos que la síntesis de ATP se vea limitada por la falta de sustrato o la presencia de un inhibidor metabólico (Mann, 1964; Jutte, et al., 1981; Mita y Hall, 1982; Ford y Rees, 1990). Esta información aunada al estudio de Cailleau y colaboradores (1990), en el cual se observaron niveles bajos en la expresión del transportador GLUT4 en el testículo humano adulto, resulta de gran interés, ya que GLUT4 es un transportador de glucosa que responde a la insulina en las células sensibles a esta proteína. Idea que puede ser reforzada con la expresión del transportador GLUT 8, que tiene también una alta afinidad por la glucosa, y que se expresa principalmente en el testículo, además de tejidos dependientes a la insulina (Carayannopoulos, et al., 2000; Doege, et al., 2000b; Ibberson, et al., 2000; Schürmann, et al., 2002; Gómez, et al., 2006).

Se ha mostrado que tanto la membrana plasmática como el acrosoma del espermatozoide representan objetivos citológicos de la insulina (Silvestroni, et al., 1992) y que la insulina se expresa y es secretada por espermatozoides de eyaculados humanos, presentándose una mayor secreción en los espermatozoides capacitados (Aquila, et al., 2005), etapa en la cual ocurren principalmente dos cambios en el movimiento de los espermatozoides: la amplitud del movimiento flagelar aumenta debido a una mayor flexibilidad del flagelo y cesa la rotación de la cabeza y la progresión espermatogénica comienza a hacerse circular (Fournier-Delpech y Thibault, 1993).

Al suplementar a los individuos con picolinato de cromo, una vez internalizado en las células espermatogénicas, probablemente los iones de cromo van a actuar como un sistema de autoamplificación de la señal de la insulina, potencializando su acción, y en consecuencia aumentando la captura de glucosa, a través de un mecanismo similar al propuesto más adelante (figura 17). Por lo tanto, la movilidad probablemente no fue afectada por la falta de glucosa.

Esto sugiere que la disminución significativa de la movilidad, está estrechamente relacionada con la morfología espermática; ya que durante la suplementación con picolinato de cromo aumentó significativamente el número de defectos presentes en cabeza, pieza media y cola de los espermatozoides evaluados. Lo que podría indicar que el daño ocasionado

por la presencia de radicales libres en el flagelo del espermatozoide, como se mencionó anteriormente, afectó la movilidad al presentarse posiblemente anomalías en el axonema (aparato motor del espermatozoide), ya que normalmente nueve pares de microtúbulos están dispuestos alrededor de un par central dentro de la cola del espermatozoide, que se conectan entre sí mediante brazos que generan energía (ATPasa) y regulan los microtúbulos y, por tanto, el movimiento (Tanagho y McAnich, 2001); siendo muchos los defectos que pueden generarse en estos brazos ocasionando deficiencia en la actividad ciliar y de los espermatozoides. Estudios recientes, como el de Garrido y colaboradores en el 2005, indican que los espermatozoides anormales presentan alteraciones a nivel molecular que impiden o dificultan su adecuado desplazamiento. Este punto es de gran importancia, ya que se traducen en un obstáculo para el reconocimiento entre gametos y posterior desarrollo embrionario.

La vitalidad espermática fue uno de los parámetros afectados notablemente por la suplementación con picolinato de cromo, al disminuir el porcentaje de espermatozoides vivos presentes en las muestras de semen. Este efecto también puede estar relacionado con los resultados obtenidos en morfología, es decir, el aumento en el número de formas anormales, pueden traducirse en que un porcentaje de estas células, correspondieron a células muertas. Efecto causado como anteriormente se mencionó, por la presencia de radicales hidroxilo, generados por el picolinato de cromo, que de acuerdo con Manyoats y colaboradores (2002), también conducen a daño mitocondrial y apoptosis. Lo cual tiene también repercusiones importantes en la fertilidad, ya que para que se lleve a cabo la fecundación de manera natural o utilizando una técnica de reproducción asistida, se requiere la presencia de espermatozoides vivos (Nagy, et al., 1995; Michael, et al., 2003). Además, la disminución de espermatozoides anormales con el aumento en la vitalidad espermática después de la suplementación con picolinato de cromo puede estar asociada.

Tratando de dilucidar el mecanismo de acción del picolinato de cromo sobre las células espermátogénicas con respecto a los resultados obtenidos, fue necesario tratar de entender por primera instancia como actúa el cromo en condiciones normales; sin embargo, el mecanismo de acción del cromo proveniente de la dieta alimenticia en las células del organismo no se conoce con precisión, pero en base a la bibliografía disponible, se sugiere que probablemente sea el siguiente (figura 17):

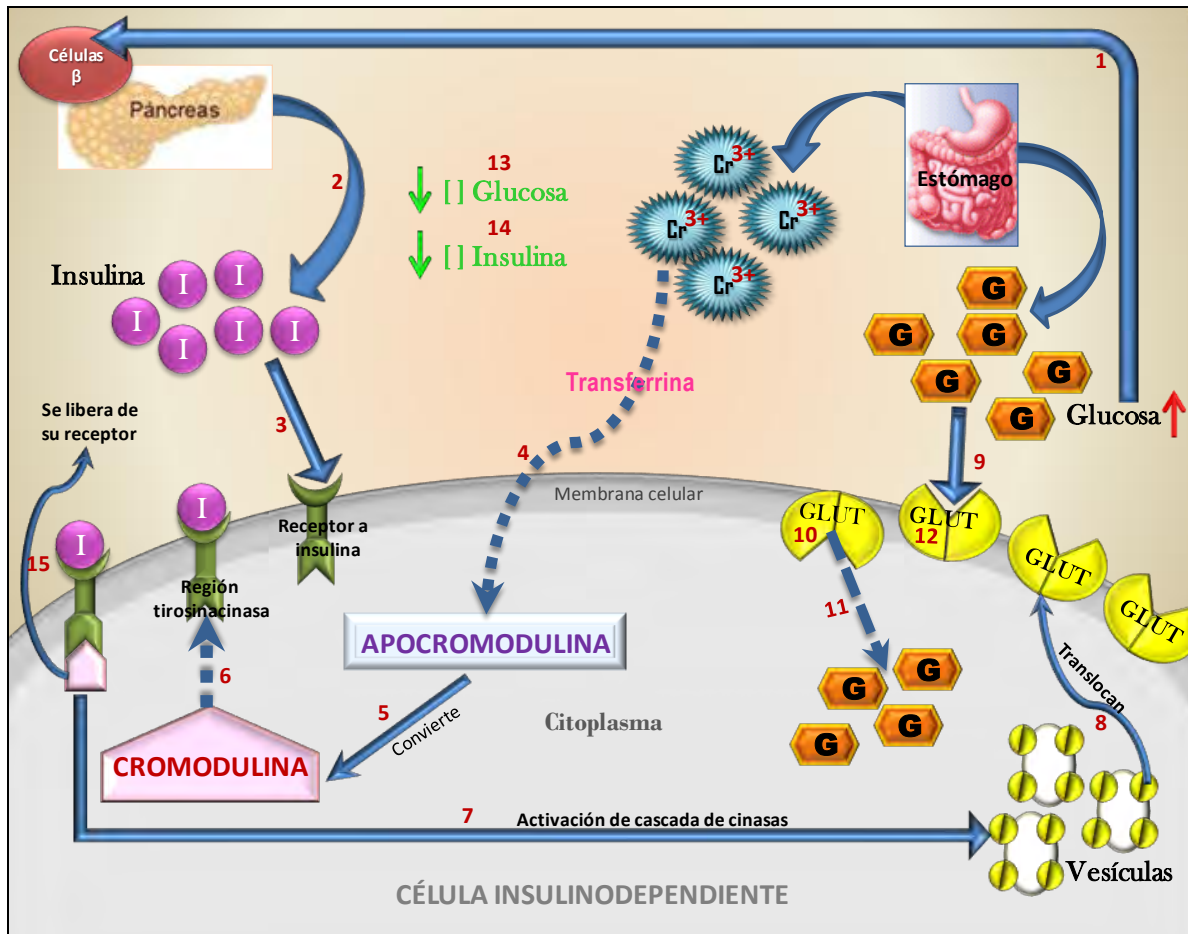


Figura 17. Posible mecanismo de acción del cromo proveniente de la dieta en las células, en la regulación de las concentraciones de insulina y glucosa sanguíneas. 1) Inicia con un aumento en la concentración de glucosa en la sangre, señal que llega a las células beta del páncreas, 2) las cuales responden secretando insulina al torrente sanguíneo, que posteriormente 3) se une a su receptor membranal, 4) permitiendo la entrada del cromo existente en la sangre a la célula, mediante la proteína transferrina (como respuesta al incremento de la insulina plasmática) (Yamamoto, et al., 1984; McLaren y Meguid, 1993; Vincent, 2000a) ingresándolo por endocitosis, posteriormente es liberado para unirse a la apocromodulina (forma inactiva de la cromodulina porque no tiene iones cromo) y 5) se convierte en cromodulina (enlaza a cuatro iones de cromo), la cual 6) se une al receptor de insulina, e induce un cambio conformacional, mediante un sistema de autoamplificación de la señal de la insulina por la activación de la región tirosinacinasas en la subunidad beta del receptor de insulina (en ausencia de la insulina la actividad tirosinacinasas permanece desconectada) (Roth, et al., 1994; Anderson, 1997; Davis y Vincent, 1997; Vincent, 2000a; Cefalu y Hu, 2004; Wang, et al., 2006). El receptor activado se autofosforila y, a su vez, fosforila a otras proteínas, donde la más importante es la llamada sustrato del receptor de la insulina 1 (IRS-1). La IRS-1 activa a dos vías intracelulares: a) la cascada de las cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas) que intervienen en la regulación de la

expresión genética de diversas proteínas, y b) la vía de la fosfatidil-inositol 3 cinasa (PI3 cinasa), la cual está involucrada en diversos efectos metabólicos, principalmente en la exocitosis de los GLUT. Esto 7) desencadena en consecuencia, una cascada de eventos moleculares, incluyendo, (Shepherd y Kahn, 1998; Vincent, 2000a; Clodfelder, et al., 2001; Castrejón, et al., 2007) la activación de la cascada de cinasas; que producen 8) la traslocación del GLUT intracelular de las vesículas hacia la membrana (ya que el 90% de las moléculas de GLUT se encuentran localizadas dentro de vesículas de depósito en ausencia de insulina y otros estímulos), incrementando momentáneamente el número de GLUT en la membrana de la célula. 9) La glucosa se une al transportador en la cara externa de la membrana, 10) provocando un cambio en la conformación del transportador, quedando la glucosa y su sitio de unión localizados en la cara interna de la membrana, es entonces cuando 11) el transportador libera la glucosa al citoplasma; y el transportador libre 12) cambia nuevamente de conformación, retornando a su estado inicial (exponiendo el sitio de unión a la glucosa en la cara externa), permitiendo la unión de otra molécula de glucosa (repitiendo el ciclo); y en consecuencia, aumentando la velocidad del transporte de glucosa hacia el interior celular (de 10 a 20 veces), al haberse potencializado la acción de la insulina (Steele et al., 1977; Carruthers, 1990; Mastick, et al., 1994; Tanti, et al., 1996; Shepherd y Khan, 1998; Zhong, et al., 1999; Figuerola, 2003; Cefalu y Hu, 2004; Gómez y Magaña, 2004; Wang, et al., 2005). 13) Al disminuir la concentración de glucosa en la sangre, las células beta pancreáticas dejan de secretar insulina, y la 14) concentración de insulina sanguínea disminuye, es entonces, cuando 15) la cromodulina se libera del receptor y se revierten sus efectos (Vincent, 2000a). Siendo éste, posiblemente un mecanismo importante en la homeostasis de la glucosa en personas sanas (Mastick, et al., 1994; Figuerola, 2003).

Con respecto al mecanismo de acción del picolinato de cromo en las células, Gammelgaard y colaboradores en 1999, sugirieron que el picolinato de cromo, parece ser absorbido en una forma diferente al cromo proveniente de la dieta. Ya que se ha mostrado experimentalmente en estudios *in vitro* recientes, que el picolinato de cromo es notablemente estable en el buffer de solución acuosa y en el jugo gástrico sintético, pues permanece intacto durante más de tres horas, lo cual significa que requeriría de una alta concentración de ácidos para romper este compuesto en minerales de cromo; además de ser un compuesto hidrofóbico (se absorbe fácilmente), por lo que se cree pasa sin problemas a través del yeyuno (Chakov, et al., 1999; Gammelgaard, et al., 1999; Speetjens, et al., 1999; Vincent, 2000a). En consecuencia, el picolinato de cromo, probablemente entra intacto en las células, es decir, en la forma potencialmente nociva (Gammelgaard, et al., 1999). *In vitro* el picolinato de cromo $[\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3]$ no libera su cromo (3+) que es el biológicamente activo, para ser transportado por la transferrina y mucho menos para que se una con la apocromodulina. En consecuencia, si bien el Cr a partir de los suplementos de $[\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3]$ puede acumularse

en las células, la forma química de este cromo acumulado es desconocido y puede no ser picolinato de cromo (Anderson, et al., 1997; Sun, et al., 2000). De acuerdo con Dion y colaboradores (2002), si el picolinato entra intacto a las células sería probablemente a través de un mecanismo de difusión pasiva. Aunque, en contraste a lo anteriormente descrito, ellos consideran que después de entrar en las células, el $[\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3]$ se degradaría fácilmente, liberando los iones crómicos y, a continuación, las células podrían utilizar el cromo en una manera similar al absorbido por la dieta. Y que su ingesta en dosis bajas por períodos de tiempo cortos, la liberación de los iones de cromo en las células, debe estar en equilibrio en las células, manteniendo una concentración de cromo celular similar a la concentración presente en la sangre; esto en base a que el picolinato de cromo en comparación a otras fuentes (cloruro de cromo) resulta en una similar retención y distribución del Cr.

En base a esta información, al hallazgo de Evans y Bowman (1992) en cuanto a que el efecto de la suplementación con picolinato de cromo en las células, se debe a que altera su composición de colesterol de la membrana plasmática en las células musculares. Y que la eliminación de este colesterol se asocia con un aumento en la traslocación de GLUT 4 a la membrana y/o estado de activación en adipocitos (Goto y Kida, 1995; Morris, et al., 1995; Cefalu, et al., 2002; Liu, et al., 2004; Chen, et al., 2006); se sugiere que el efecto perjudicial de picolinato de cromo en los parámetros seminales (morfología [defectos en cabeza, pieza media y cola], movilidad y vitalidad espermática), por la suplementación de este compuesto, se lleva a cabo probablemente de la siguiente manera (figura 18):

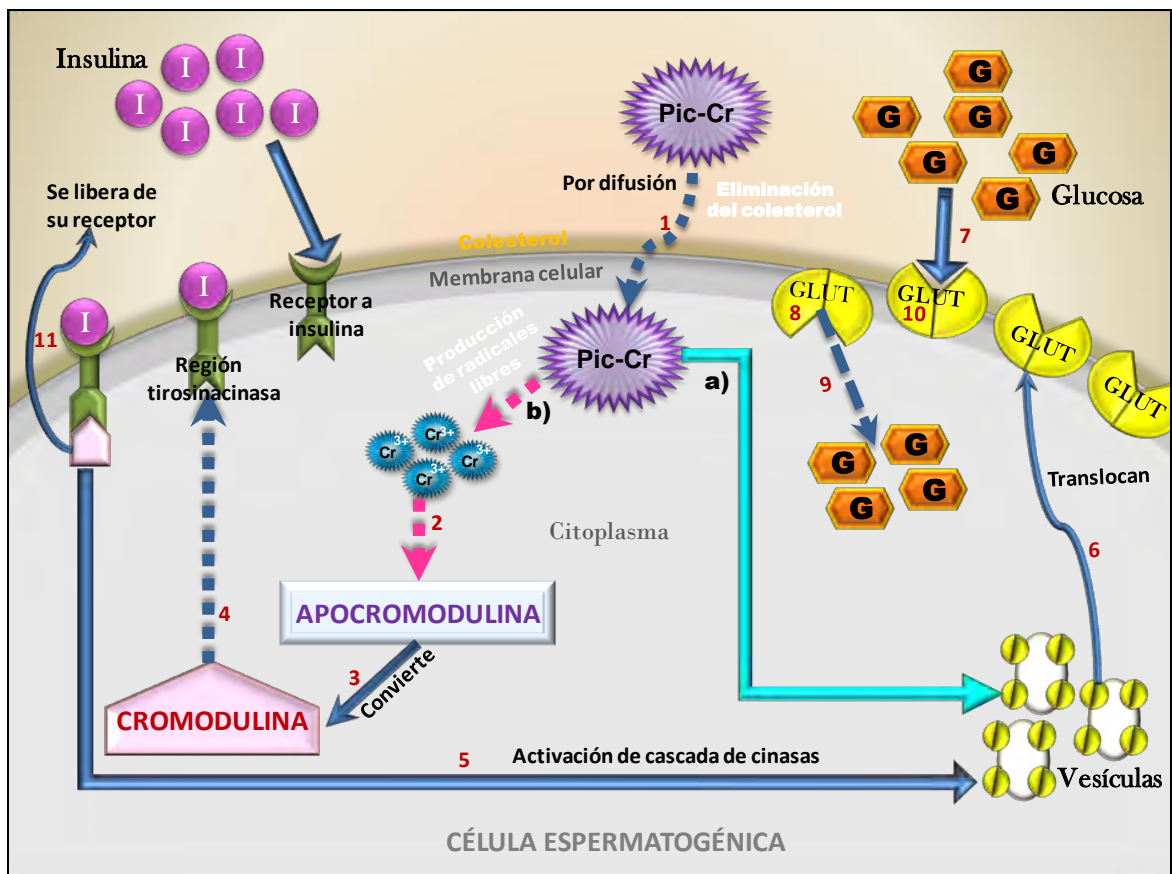


Figura 18. Propuesta del mecanismo de acción del picolinato de cromo en las células espermatogénicas. 1) Inicia con la entrada de la molécula de picolinato de cromo a la célula espermatogénica, por difusión (un mecanismo que está en función del gradiente de concentración, es decir, pasando de la zona de mayor concentración a la de menor concentración), e interactúa con su membrana plasmática, provocando alteración en su composición de colesterol (eliminando y bloqueando su posterior carga de colesterol exógeno). Posteriormente, ya en el interior de la célula, el picolinato de cromo a) induce un aumento en la traslocación de los GLUT (de acuerdo al que se exprese en cada tipo de célula) intracelular de las vesículas hacia la membrana, y por ende, aumentando la velocidad del transporte de glucosa hacia el interior de la célula; o bien, b) se degradaría fácilmente (reducción que produciría una gran cantidad de radicales libres), liberando sus iones de cromo (3+) y, a continuación, las células podrían utilizar el cromo en una manera similar al absorbido por la dieta (actuando como sistema de autoamplificación de la señal de la insulina por la activación de su receptor, descrito anteriormente en la figura 17).

Por otro lado, en condiciones normales, la homeostasis de la glucosa se produce por la capacidad de la insulina para estimular su almacenamiento y metabolismo, ayudando a disminuir las concentraciones elevadas de glucosa

en el plasma hacia la normalidad (76 a 110 mg/dl) (Timiras, 1997; Guruprasad, et al., 2006).

La suplementación con 200 µg de picolinato de cromo en los varones de nuestro estudio, no muestra tener ningún efecto sobre sus concentraciones de insulina y glucosa sanguíneas, con respecto al grupo testigo. Los datos coinciden con los obtenidos por Cefalu et al (1999), Morris et al (2000), Ryan et al (2003), Althius et al (2002) y Vincent (2001; 2003), que informaron que el picolinato de cromo aumenta la sensibilidad a la insulina y la utilización de la glucosa, manteniendo normales sus concentraciones en sangre. Y que en individuos sanos a diferencia de los individuos diabéticos, la falta del efecto del picolinato en la disminución de la concentración de la glucosa, no debe percibirse como una falta de eficacia, puesto que dicha regulación ya se lleva acabo de forma adecuada en estos individuos (Cefalu, et al., 1999). Por lo tanto, el picolinato de cromo no tiene efecto sobre las concentraciones de la glucosa e insulina plasmática en estos sujetos.

Misma conclusión a la que llegaron Ryan y colaboradores (2003), en una revisión del uso de cromo como tratamiento conjunto en la *Diabetes Mellitus* tipo 2, donde encontraron 15 estudios realizados con sujetos sanos. Y que Vincent (2001; 2003) y Althius et al (2002), en un meta-análisis de estudios realizados en humanos suplementados con picolinato de cromo.

Al respecto, Guruprasad y colaboradores (2006), sugiere que el hecho de que la administración de suplementos a base de cromo tengan mayor beneficio en los individuos con sobrepeso y/o resistentes a la insulina, es debido a que las células de éstos poseen sus membranas plasmáticas cargadas de colesterol. En cambio, el colesterol contenido en la membrana plasmática de las células de los sujetos sanos (no diabéticos) podrían ser menores, que aunado a que presentan una sensibilidad a la insulina y tolerancia a la glucosa normal, podría ser la causa de que no se vean afectados por el cromo (3+).

La suplementación con L-Carnitina, modificó algunos de los parámetros seminales y las concentraciones de insulina y glucosa sanguíneas; sin embargo, éste es un suplemento inocuo, cuya presentación comercial contiene las mismas sales que el picolinato de cromo (calcio y fósforo), y que además es usado en las clínicas de infertilidad como paliativo. Así que su uso en diseños experimentales como placebo debe considerarse.

En resumen, el picolinato de cromo compromete varios de los parámetros seminales, todos ellos imprescindibles en el diagnóstico de la calidad del semen. No obstante la recuperación observada en algunos de ellos, se recomienda que el consumo por los varones en edad reproductiva se realice con reservas evitando su ingestión prolongada.

CONCLUSIONES:

- La suplementación con 200µg de picolinato de cromo durante 21 días a varones adultos jóvenes sanos, no afecta la regulación de las concentraciones de insulina y glucosa sanguíneas.
- La suplementación con 200µg de picolinato de cromo durante 21 días, no modifica la licuefacción, viscosidad, pH, volumen del eyaculado y concentración espermática, ni modifica o genera la presencia de otros componentes celulares y aglutinación en muestras seminales de individuos sanos.
- La suplementación con 200µg de picolinato de cromo durante 21 días a individuos sanos en edad reproductiva, ocasiona alteraciones en la morfología, movilidad y vitalidad espermática, parámetros que tienen un papel relevante en la fertilidad masculina.
- Los datos obtenidos en este trabajo proporcionan una valiosa información, al ser el pionero sobre los efectos adversos del picolinato de cromo sobre la calidad espermática.

BIBLIOGRAFÍAS:

- Acharya UR, Mishra M, Tripathy RR y Mishra I. (2006). Testicular dysfunction and antioxidative defense system of Swiss mice after chromic acid exposure. *Reprod Toxicol.* **22**: 87-91.
- Aitken RJ y Clarkson JS. (1987). Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil.* **81**: 459-469.
- Alastalo T, Lonnstrom M, Leppa S, Kaarniranta K, Pelto-Huiko M, Sistonen L y Parvinen M. (1998). Stage-specific expression and cellular localization of the heat shock factor 2 isoforms in the rat seminiferous epithelium. *Exp Cell Res.* **240**: 16-27.
- Ali ST, Shaikh RN, Siddiqi NA y Siddiqi PQ. (1993). Semen analysis in insulin-dependent/non-insulin-dependent diabetic men with/without neuropathy. *Arch Androl.* **30**: 47-54.
- Althius MD, Jordan NE, Ludington EA y Wittes JT. (2002). Glucose and insulin responses to dietary chromium supplements: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* **76**: 148–155.
- Amoikon EK, Fernandez JM, Southern LL, Thompson DL, Ward TL y Olcott BM. (1995). Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose tolerance, insulin sensitivity, plasma metabolites, and growth hormone in pigs. *J Anim Sci.* **73**: 1123-1130.
- Anderson RA, Bryden NA y Polansky MM. (1997). Lack of toxicity of chromium chloride and chromium picolinate in rats. *J Am Coll Nutr.* **16**: 273-279.
- Anderson RA, Polansky MM, Bryden NA, Patterson KY, Veillon C y Clinsmann WH. (1983). Effects of chromium supplementation on urinary Cr excretion of human subjects and correlations of Cr excretion with selected clinical parameters. *J Nutr.* **113**: 276-281.
- Anderson RA. (1986). Chromium metabolism and its role in disease process in man. *Clin Physiol Biochem.* **4**: 31-35.
- Anderson RA. (1988). Chromium. In: Shils ME y Young VR. *Modern nutrition in health and disease.* 7a ed. Leu and Febiger, Philadelphia. 268-273.
- Anderson RA. (1989). Essentiality of chromium in humans. *Sci Total Environ.* **86**: 75-81.
- Anderson RA. (1993). Recent advances in the clinical and biochemical effects of chromium deficiency. In Prasad AS. "Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease." New York: Wiley Liss. 221-234.
- Angulo C, Rauch MC, Droppelmann A, Reyes AM, Slebe JC, Delgado-López F, Guaiquil VH, Vera JC y Llona CI. (1998). Hexose Transporter Expression and Function in Mammalian Spermatozoa: Cellular

- Localization and Transport of Hexoses and Vitamin C. *J Cellular Biochem.* **71**: 189-203.
- Aquila S, Gentile M, Middea E, Catalano S y Ando S. (2005). Autocrine regulation of insulin secretion in human ejaculated spermatozoa. *Endocrinol.* **146**: 552-557.
- Armendariz-Anguiano AL, Bacardí-Gascón M y Jiménez CA. (2007). Evidencias del efecto del cromo en personas con diabetes: revisión sistemática. *Rev Biomed.* **18**: 117-126.
- Auger J, Kuntsmann JM, Czyglik F y Jouannet P. (1995). Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med.* **332**: 281-5.
- Baarends W y Grootegoed. (1999). Molecular Biology of Gametogenesis. In: Fauser BCJM. Molecular Biology in Reproductive Medicine. New York: The Pathenon Publishing Group. 42-55.
- Baccetti, La Marca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petraglia F y De Leo Vincenzo. (2002). Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Hum Reprod.* **17**: 2673-2677.
- Bagchi D, Stohs SJ, Downs BW, Bagchi M y Preuss HG. (2002). Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicol.* **180**: 5-22.
- Barrett MP, Walmsley AR y Gould G W. (1999). Structure and function of facilitative sugar transporters. *Curr Opin Cell Biol.* **11**: 496-502.
- Baumgartner TG. (1993). Trace elements in clinical nutrition. *NCP.* **8**: 251-263.
- Berrio LF, Southern LL, Fernandez JM, Thompson DL y Ward TL. (1995). Effect of dietary chromium tripicolinate on insulin binding in isolated pig fat cells and erythrocyte ghosts. *FASEB J.* **9**: 449.
- Bhardwaj A, Verma A, Majumdar S y Khanduja KL. (2000). Status of vitamin E and reduced glutathione in semen of oligozoospermic and azoospermic patients. *Asian J Androl.* **2**: 225-8.
- Borel JS, Majerus TC y Polansky MM. (1984). Chromium intake and urinary chromium excretion of trauma patients. *Biol Trace Elem Res.* **6**: 317-326.
- Brown RO, Forloines-Lynn S, Cross RE y Heizer WD. (1986). Chromium deficiency after long-term total parenteral nutrition. *Dig Dis Sci* **31**: 661-664.
- Bustos-Obregon E, Courot M, Flechon JE, Hochereau-de-Reviere MT y Holstein AF. (1975). Morphological appraisal of gametogenesis. Spermatogenesis process in mammals with particular reference to man. *Androl.* **7**: 141-163.
- Cailleau J, Vermeire S y Verhoeven G. (1990). Independent control of the

- production of insulin-like growth factor I and its binding protein by cultured testicular cells. *Mol Cell Endocrinol* **69**: 79-89.
- Calsen E, Giwercman A, Keiding N y Skakkebaek NE. (1992). Evidence for decreasing quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *Br Med J*. **305**: 609-13.
- Carayannopoulos MO, Chi MM, Cui Y, Pingsterhaus J, McKnight RA, Mueckler M, Devaskar SU y Moley KH. (2000). GLUT8 is a glucose transporter responsible for insulin-stimulated glucose uptake in the blastocyst. *PNAS*. **97**: 7313-7318.
- Carruthers A. (1990). Facilitated diffusion of glucose. *Physiol Rev*. **70**: 1135-1176.
- Castrejón V, Cárbo R y Martínez M. (2007). Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de la glucosa. *REB*. **26**: 49-57.
- Cefalu WT y Hu FB. (2004). Role of chromium in human health and Diabetes. *Diabet Care*. **27**: 2741-51.
- Cefalu WT, Bell-Farrow AD y Stegner J. (1999). Effect of chromium picolinate on insulin sensitivity in vivo. *J Trace Elem Exp Med*. **12**: 71-83.
- Cefalu WT, Wang ZQ, Zhang X, Baldor LC y Russell JC. (2002). Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle GLUT4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. *J Nutr*. **132**: 1107-1114.
- Chakov NE, Collins RA y Vincent JB. (1999). A re-investigation of the electronic spectra of chromium (III) picolinate complexes and high yield synthesis and characterization of $\text{Cr}_2(\text{m-OH})_2(\text{pic})_4\text{z}_5\text{H}_2\text{O}$. *Polyhedron*. **18**: 2891-2897.
- Chen G, Liu P, Pattar GR, Tackett L, Bhonagiri P, Strawbridge AB y Elmendorf JS. (2006). Chromium activates GLUT4 trafficking and enhances insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via a cholesterol-dependent mechanism, *Mol Endocrinol*. **20**: 857-870.
- Clancy SP, Clarkson PM, DeCheke ME, Nosaka K y Freedson PS. (1994). Effect of chromium picolinate supplementation on body composition, strength, and urinary chromium loss in football players. *Int J Sport Nut*. **4**: 142-153.
- Clermont Y. (1963). The cycle of the seminiferous epithelium in man. *Am J Anat*. **112**: 35-51.
- Clodfelder BJ, Emamaulee J, Hepburn DD, Chakov NE, Nettles HS y Vincent JB. (2001). The trail of chromium(III) in vivo from the blood to the urine: the roles of transferrin and chromodulin. *J Biol Inorg Chem*. **6**: 608-617.
- Coetzee K, Kruger TF y Lombard CJ. (1998). Predictive value of normal sperm morphology: A structured literature review. *Hum Reprod Update*. **4**: 73-82.
- Cohen J, Alikani M y Malter H. (1991). Partial zona dissection or subzonal

- sperm insertion: microsurgical fertilisation alternatives based on evaluation of sperm and embryo morphology. *Fertil. Steril.* **56**: 696-706.
- Crafts RC. (1996). Anatomía funcional humana. Ed. Limusa. Noriega editores. 2a. reimp. México. 375-377.
- Cuapio P, Quezada Luis, Guerrero D, García G, Dabbah J y Rocha F. (2008). Importancia de los Espermatozoides Móviles Progresivos en Inseminación Homóloga y Heteróloga. XLV. Reunión Anual de la Asociación Mexicana de Medicina de la Reproducción.
- Czech MP y Corvera S. (1999). Signaling mechanism that regulate glucose transport. *J Biol Chem.* **274**: 1865-1878.
- Davies DM, Holdsworth ES y Sheriff JL. (1985). The isolation of glucose tolerance factors from Brewer's yeast and their relationship to chromium. *Biochem Med.* **3**: 297-311.
- Davis C y Vincent J. (1997). Chromium oligopeptide activates insulin receptor kinase activity. *Biochem.* **36**: 4382-4385.
- Davis CM, Sumall KH y Vincent JB. (1996). A biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). *Biochem.* **35**: 12963-12969.
- De Krelzer DM. (1997). Male Infertility. *Lancety.* **349**: 787-790.
- de Lamirande E, Jiang H, Zini A, Kodama H y Gagnon C. (1997). Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev Reprod.* **2**: 48-54.
- deKretser DM y Kerr JB. (1989). The cytology of the testis. En Knobil E, Neill J. The physiology of reproduction. New York. Raven. 837-932.
- Díaz HDP y Burgos HLC. (2002). ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?. *IATREIA.* **15**: 179-187.
- Dion DD, Hepburn y Vincent JB. (2002). In Vivo Distribution of Chromium from Chromium Picolinate in Rats and Implications for the Safety of the Dietary Supplement. *Chem Res Toxicol.* **15**: 93-100.
- Doege H, Schürmann A, Bahrenberg G, Brauers A y Joost HG. (2000b). GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity. *J Biol Chem.* **275**: 16275-16280.
- Dowling H, Offenbacher E y Pi-Sunyer X. (1990). Effects of aminoacids on the absorption of trivalent chromium and its retention by regions of the rat small intestine. *Nutr Res.* **10**: 1261-1271.
- Dunphy BC, Kay R y Barratt CL. (1989). Quality control during the conventional analysis of semen, an essential exercise. *J Androl.* **10**: 378-385.
- Dym M y Fawcett. (1970). The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium. *Biol. Reprod.* **3**: 308-326.
- Enginsu ME, Dumoulin JCM y Nihec P. (1991). Evaluation of human sperm

- morphology using strict criteria after Diff Quick staining: correlation of morphology with fertilization *in vitro*. *Human Reprod.* **6**: 854-858.
- ESHRE Capri Workshop. (1996). Infertility revisited: The state of the art today and tomorrow. *Hum Reprod.* **11**: 1779-1807.
- Evans GW y Bowman TD. (1992). Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization. *J Inorg Biochem.* **46**: 243-250.
- Evans GW. (1989). The effect of chromium picolinate on insulin controlled parameters in humans. *J Biosoc Med Res.* **1**: 163-80.
- Evers JL. (2002). Female subfertility. *Lancet.* **360**: 151-159.
- Fawcett D y Bloom W. (1986). Tratado de histología. México. Editorial Interamericana. 802-857.
- Figuerola D. (2003). Diabetes. 4ª ed. Masson. Barcelona, España. 25-36, 203-206.
- Fisher JA. (1990). The chromium program. New York: Harper & Row Publishers.
- Ford WCL y Rees JM. (1990). The bioenergetics of mammalian sperm motility. In: Gagnon C, ed. Controls of Sperm Motility: Biological and Clinical Aspects. Boca Raton, Fla. CRC Press. 175-202.
- Fournier-Delpech S y Thibault C. (1993). Acquisition of sperm fertilizing ability: Epididymal maturation, accessory glands and capacitation. En: Thibault C, Levasseur MC y Hunter RHF. Reproduction in Mammals and Man. Ellipses. Paris. 257-279.
- Fraser LR y Quinn PJA. (1981). Glycolytic product is obligatory for initiation of the sperm acrosome reaction and whiplash motility required for fertilization in the mouse. *J Reprod Fertil.* **61**: 25-35.
- Freund H, Atamian S y Fischer JE. (1979). Chromium deficiency during total parenteral nutrition. *JAMA.* **241**:496-498.
- Gammelgaard B, Jensen K y Steffansen B. (1999). In vitro metabolism and permeation studies in rat jejunum: organic chromium compared to inorganic chromium. *J. Trace Elem. Med Biol.* **13**: 82-88.
- Gargas ML, Norton RL, Paustenback DJ y Finley BL. (1995). Urinary excretion of chromium by humans following ingestion of chromium picolinate: implications for biomonitoring. *Drug Metab Dispos.* **23**: 607-609.
- Garrido N, Meseguer M, Alvarez J, Simón C, Pellicer A y Remohí J. (2004a). Relationship between standard semen parameters, glutathione peroxidase/glutathione reductase activity and mRNA expression and reduced glutathione (GSH) content in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile males. *Fértil Steril.* **82**: 1059-1066.
- Garrido N, Meseguer M, Martínez-Conejero JA, Simón C, Pellicer A y Remohí J. (2005). Impacto de los criterios estrictos de morfología espermática en reproducción asistida. *CMR.* **11**: 9-14.
- Garrido N, Meseguer M, Simón C, Pellicer A y Remohí J. (2004b). Pro-

- oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J Androl.* **6**: 59-65.
- Gaster M, Handberg A, Beck-Nielsen H y Schroder HD. (2000). Glucose transporter expression in human muscle fibers. *J Appl Physiol.* **279**: 529-538.
- Gilula N, Fawcetti D y Aoki A. (1976). The Sertoli cell occluding junctions and gap junctions in mature and developing mammalian testis. *Dev Biol.* **50**: 142-146.
- Gnoth C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Kriol K, Tigges J y Freundl G. (2005). Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod.* **20**: 1144-1147.
- Gómez AG y Magaña PG. (2004). Papel del cromo y del cinc en el metabolismo de la insulina. *Rev Med IMSS.* **42**: 347-352.
- Gómez O, Romero A, Terrado J y Mesonero JE. (2006). Differential expression of glucose transporter GLUT8 during mouse spermatogenesis *Reprod.* **131**: 63-70.
- Gondos B y Bevier W. (1995). Effect of insulin on testicular alterations in the obese diabetic mouse. *Ann Clin Lab Sci.* **25**: 272-277.
- Goto Y y Kida K. (1995). Insulin-like action of chromium on glucose transport in isolated rat adipocytes. *Jpn J Pharmacol.* **67**: 365-368.
- Grow D y Oehninger S. (1995). Strict criteria for the evaluation of human sperm morphology and its impact on assisted reproduction. *Androl.* **27**: 325-333.
- Guerre-Millo M. (1995). Les transporteurs d'hexoses. *Medicine/Sciences.* **11**: 1111-1119.
- Guruprasad RP, Lixuan T, Ping L y Jeffrey SE. (2006). Chromium picolinate positively influences the glucose transporter system via affecting cholesterol homeostasis in adipocytes cultured under hyperglycemic diabetic conditions. *Mutat Res.* **610**: 93-100.
- Gutiérrez CG. (1995). Principios de Anatomía, Fisiología e Higiene. Editorial Limusa, Grupo Noriega Editores. México. 267-272, 280.
- Guyton AC y Hall JE. (2000). Tratado de fisiología médica. 10ed. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 1063-1079.
- Handelsman DJ, Conway AJ, Boylan LM, Yue DK y Turtle JR. (1985). Testicular function and glycemic control in diabetic men. A controlled study. *Androl.* **17**: 488-496.
- Hasten DL, Rome EP, Franks DB y Hegsted M. (1992). Effect of chromium picolinate on beginning weight training students. *Int J Sports Nutr.* **2**: 343-50.
- Heller C y Clermont Y. (1963). Spermatogenesis in man: an estimate of its duration. *Science.* **140**: 184-186.
- Henderson LM y Swan PB. (1971). Picolinic acid carboxylase. In: McCormick DB y Wright LD. Academic Press New York. *Methods in Enzymology.*

- 18:** 175-180.
- Hepburn DD y Vincent JB. (2002). In vivo distribution of chromium from chromium picolinate in rats and implication for the safety of the dietary supplement. *Chem Res Toxicol.* **15:** 93-100.
- Hepburn DD, Xiao J, Bindom S, Vincent JB y O'Donnell J. (2003). Nutritional supplement chromium picolinate causes sterility and lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. *PNAS.* **100:** 3766-3771.
- Hoppe PC. (1976). Glucose requirement for mouse sperm capacitation. *Biol Reprod.* **15:** 39-45.
- Hoshi K, Tsukikawa S y Sato A. (1991). Importance of Ca²⁺, K⁺ and glucose in the medium for sperm penetration through the zona pellucida. *Tohoku J Exp Med.* **165:** 99-104.
- Ibberson M, Uldry M y Thorens B. (2000). GLUTX1, a novel mammalian glucose transporter expressed in the central nervous system and insulin-sensitive tissues. *J Biol Chem.* **275:** 4607-4612.
- IOM. (2001). Institute of Medicine Final Report: Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington, DC. National Academy Press. 197-223.
- Iwasaki A y Gagnon C. (1992). Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril.* **57:** 409-416.
- Jeejeebhoy KN. (1999). The role of chromium in nutrition and therapeutics and as a potential toxin. *Nutr Rev.* **57:** 329-335.
- Jegou B. (1992). The Sertoli Cell. *Bailliere Clin Endocrinol Metab.* **6:** 273-311.
- Jutte NHPM, Grootegoed JA, Rommerts FFG y Vander Molen HJ. (1981). Exogenous lactate is essential for metabolic activities in isolated rat spermatocytes and spermatids. *J Reprod Fétil.* **62:** 399-405.
- Kahn CR. (1985). Current concepts of the molecular mechanism of insulin action. *Ann Rev Med.* **36:** 429-451.
- Kareus SA, Kelley C, Walton HS y Sinclair PR. (2001). Release of chromium III from chromium III picolinate upon metabolic activation. *J Hazard Mater.* **84:** 163-174.
- Kerr JB. (1992). Functional cytology of the human testis. *Bailliere Clin Endocrinol Metab.* **6:** 235-250.
- Kierszenbaum AL y Tres LL. (2004). The acrosome-acroplaxome-manchette complex and the shaping of the spermatid head. *Arch Histol Cytol.* **67:** 271-284.
- Klieiman SE, Yogev L y Gamzu R. (1999). Genetic evaluation of interfile men. *Hum Reprod.* **14:** 33-38.
- Kruger TF, Acosta AA y Simmons. (1988). Predictive value of abnormal sperm morphology in *in vitro* fertilization. *Fétil Steril.* **49:** 112-117.
- Kruger TF, Menkveld R y Stander FSH. (1986). Sperm morphologic features

- as a prognostic factor *in vitro* fertilization. *Fertil Steril.* **46**: 118-1125.
- Lamson DW y Plaza SM. (2002). The Safety and Efficacy of High-Dose Chromium. *Lac Alternative Medicine Review.* **7**: 218-235.
- Latarjer M y Ruíz LA. (1999). Anatomía Humana. Editorial Médica Panamericana. 3ª ed. Madrid, España. 1691-1727.
- León QNA, León QJA y Romero LSA. (2000). Programa Educativo Millennium. Enciclopedia Autodidáctica Estudiantil. Editorial Thema. Barcelona, España. 77.
- Lienhard GE, Slot JW, James DE y Mueckler M. (1992). How cells absorb glucose. *Sci Am.* **266**: 86-91.
- Lipshultz LI y Witt MA. (1992). Infertility in the male. In: Hammond MG y Talbert LM. Infertility. A practical guide for the physician. Blackwell Sci Publ, Boston. 26.
- Liu P, Leffler BJ, Weeks LK, Chen G, Bouchard CM, Strawbridge AB y Elmendorf JS. (2004). Sphingomyelinase activates GLUT4 translocation via a cholesterol-dependent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol.* **286**: 317-329.
- Loo DDF, Zeuthen T, Chandy G y Wright EM. (1996). Cotransport of water by the Na⁺/glucose cotransporter. *Proc Natl Acad Sci.* **93**: 13367-13370.
- Loppin B, Bonnefoy E, Anselme C, Laurencon A, Karr TL y Couple P. (2005). The histone H3.3 chaperone HIRA is essential for chromatin assembly in the male pronucleus. *Nature.* **437**: 1386-1390.
- Lukaski HC, Bolonchuk WW, Siders WA y Milne DB. (1996). Chromium supplementation and resistance training: effects on body composition, strength, and trace element status of men. *Am J Clin Nutr.* **63**: 954-65.
- Lukaski HC. (1999). Chromium as a supplement. *Ann Rev Nutr.* **19**: 279-302.
- Mahadevan MM, Miller MM y Moutos DM. (1997). Absence of glucose decreases human fertilization and sperm movement characteristics *in vitro.* *Hum Reprod.* **12**:119-123.
- Maham LK y Escott-Stump S. (1998). Nutrición y Dietoterapia de Krause. 9ª ed. Mac Graw Interamericana.
- Mann T. (1964). Metabolism of semen: fructolysis, respiration and sperm energetics. In *Biochemistry of Semen and of Male Reproductive Tract.* London, Methuen. 265-307.
- Manygoats KR, Yazzie M y Stearns DM. (2002). Ultrastructural damage in chromium picolinate-treated cells: a TEM study. *J Biol Inorg Chem.* **7**: 791-798.
- Martínez GF y Regadera J. (1997). Male Reproduction. A Multidisciplinary Overview. School of Medicine Autonoma University Madrid, España.178-183.
- Mastick CC, Aebersold R y Lienhard GE. (1994). Characterization of a major

- protein in GLUT 4 vesicles. *J Biol Chem.* **269**: 6089-6092.
- Matsumoto AM. (1991). The testis and male sexual function. En: Wyngarden JB, Smith LH, Bennet JC. Cecil textbook of medicine. 19th ed. Philadelphia. Saunders. 1333-1950.
- Matsumoto AM. (1996). Spermatogenesis. En: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. Reproductive Endocrinology, Surgery, and Technology. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia. 360- 384.
- Matthews JO, Southern LL, Fernandez JM, Pontif JE, Bidner TD y Odgaard RL. (2001). Effect of chromium picolinate and chromium propionate on glucose and insulin barrows kinetics of growing barrows and on growth and carcass traits of growing-finishing. *J Anim Sci.* **79**: 2172-2178.
- McLaren DS y Meguid MM. (1993). La nutrición y sus trastornos. Editorial el Manual Moderno. México. 32, 48-49, 63-66, 148.
- Melvin HW. (2002). Nutrición para la salud, la condición física y el deporte. Editorial Paidotribo. 262-264.
- Menkveld R y Kruger TF. (1996). Evaluation of sperm morphology by light microscopy. In: Human spermatozoa in Assisted Reproduction. 2nd ed. Acosta AA, Kruger TF. Parthenon Publishing. Carnforth. **8**: 89-107.
- Mertz W. (1975). Effects and metabolism of glucose tolerance factor. *Nutr Rev.* **33**: 129-135.
- Mertz W. (1988). Is chromium essential for humans?. *Nutr Rev.* **46**: 17-20.
- Mertz W. (1993). Chromium in human nutrition: a review. *J Nutr.* **123**: 626-633.
- Meseguer M, Garrido N, Martínez-Conejero JA, Simón C, Pellicer A y Remohí J. (2004). Relationship between standard semen parameters, calcium and Cholesterol contents, and mitochondrial activity in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile males. *J Assist Reprod Genet.* **21**: 445-451.
- Michael P, Zahalsky MD, Edgard BS, Nadine-Medley RN, Harris M y Nagler MD. (2003). Morphology and the sperm penetration assay. *Fertil Steril.* **79**: 39-41.
- Mita M y Hall PF. (1982). Metabolism of Round Spermatids from Rats: Lactate as the Preferred Substrate. *Biol Reprod.* **26**: 445-455.
- Mollá M, Sellés E, Gómez E, Landeras J, Pérez-Cano I, Amorocho B y Ballesteros A. (2005). Análisis básico de semen. CAP 21. En: Remohí J, Cobo A, Romero LJ, Pellicer A y Simón C. Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana. 2^a ed. McGraw-Hill Interamericana. España. 67-82, 271-282.
- Morris B, Gray T y MacNeil S. (1995). Evidence for chromium acting as an essential trace element in insulindependent glucose uptake in cultured mouse myotubes. *J Endocrinol.* **144**: 135-141.

- Morris BW, Kouta S, Robinson R, MacNeil S y Heller S. (2000). Chromium supplementation improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med.* **17**: 684-5.
- Mortimer D y Menkveld R. (2001). Sperm morphology assesment. Historical perspectives and current opinions. *J Androl.* **22**: 192-205.
- Mosher WE. (1985). Reproductive impairments in the United Status 1965-1982. *Demography.* **22**: 415
- Mukhopadhyay I, Krishna SD y Kar CD. (2003). Hazardous Effects of Effluent from the Chrome Plating Industry: 70 kDa Heat Shock Protein Expression as a Marker of Cellular Damage in Transgenic *Drosophila melanogaster* (*hsp70-lacZ*). *Environ Health Persp.* **111**: 1926-1932.
- Mumford DM y Warner MR. (1983). Male infertility and immunity. In: Lipshultz LI y Howards SS. Infertility in the male. Churchill Livingstone, New York. 265.
- Nagy ZP, Liu J y Joris H. (1995). The result of intracitoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod.* **10**: 1123-1129.
- National Research Council. (1989). Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press.
- Nielsen FH. (1984). Ultratrace elements in nutrition. *Ann Rev Nutr.* **4**: 21-41.
- Niven MJ, Hitman GA y Badenoch DF. (1995). A study of spermatozoal motility in type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med.* **12**: 921-924.
- O'Connell BS. (2001). Selected vitamins and minerals in the management of diabetes. *Diabet Spectrum.* **14**: 133-148.
- Oehninger S, Acosta AA y Kruger TF. (1988). Failure of fertilization in vitro fertilization: The "ocult" male factor. *J In vitro Fértil Embryo Transfer.* **5**: 181-187.
- Oko R y Clermont Y. (1990). Mammalian Spermatozoa: structure and assembly of the tail. In: Gagnon C. Controls of sperm motility: biological and clinical aspects. Boca Raton, FL. CRC Press. 132-137.
- Oko R y Clermont Y. (1998). Spermiogenesis. In: Knobil E, Neill. Encyclopedia of Reproduction. San Diego. Academic Press. 121-125.
- Oliva R y Dixon GH. (1991). Vertebrate protamine genes and the histone-to-protamine replacement reaction. *Prot Nucleic Acid Res. Mol Biol.* **40**: 25-94.
- Olivera M, Ruiz T, Tarazona A y Giraldo C. (2006). El espermatziide desde la eyaculación hasta la fertilización. *Rev Colom Cienc Pecu.* **19**: 1-10.
- Ombelet W, Bosmans E y Janssen M. (1997). Semen parameters in a fertile versus subfertile population: a need for change in the interpretation of semen testing. *Hum Reprod.* **12**: 987-993.
- Padrón RS, Dambay A, Suarez R y Mas J. (1984). Semen analyses in adolescent diabetic patients. *Acta Diabetol Lat.* **21**: 115-121.

- Padrón RS, Fernández GM y Gallardo RM. (1997). Interpretación del análisis seminal. Instituto Nacional de Endocrinología, Departamento de Reproducción Humana.
- Page TG, Southern LL, Ward TL, Pontif JE, Bidner TD y Thompson DL. (1992). Effect of chromium picolinate on growth, serum and carcass traits, and organ weights of growing-finishing pigs from different ancestral sources. *J Anim Sci.* **70**: 235.
- Páges G y Aller J. (2006). Infertilidad, Fisiología, Diagnóstico y Tratamiento. AMOLCA. Venezuela. 17-29, 198, 315-330.
- Pérez PE. (1995). Infertilidad, Esterilidad y Endocrinología de la Reproducción. Un enfoque integral. 2ª ed. Ciencia y Cultura Latinoamericana. México. 467-513.
- Ping L y Elmendorf J. (2003). Changes in plasma membrane architecture as a basis for chromium-activated GLUT translocation. *Diabet.* **52**: 532.
- Poirot C y Cherruau B. (2005). Infertilidad masculina: Aspectos clínicos e investigaciones biológicas. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* **39**: 225-241.
- Puwaravutipanich T y Panyim S. (1975). The nuclear basic proteins of human testes and ejaculated spermatozoa. *Exp Cell Res.* **90**: 153-158.
- Rebello T, Liinnerdal B y Hurley LS. (1982). Picolinic acid in milk, pancreatic juice, and intestine: inadequate for zinc absorption. *Am Clin Nutr.* **35**: 1-5
- Remohí J, Cobo A, Romero LJ, Pellicer A y Simón C. (2005). Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana. 2ª ed. McGraw-Hill Interamericana. España. 67-82, 271-282.
- Rogers BJ y Perreault SD. (1990). Importance of glycolysable substrates for *in vitro* capacitation of human spermatozoa. *Biol Reprod.* **43**: 1064-1069.
- Rogers S, Macheda MI, Docherty SE, Carty MD, Henderson MA y Soeller WC. (2002). Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12. *Am J Physiol.* **282**: 733-738.
- Roth RA, Lui F y Chin JE. (1994). Biochemical mechanism of insulin resistance. *Hormone Res.* **41**: 51-55.
- Rouvière H y Delmas A. (2005). Anatomía Humana. Descriptiva, Topográfica y Funcional. 11ª ed. Masson. Paris. Tomo 2. 596-629.
- Rumke P y Heckman A. (1977). Sterility: an immunological disorder?. *Clin Obstet Gynecol.* **20**: 691.
- Russell LD, Ettlín RA, Sinha Hikim AP y Clegg ED. (1990). Mammalian spermatogenesis. En: Russell LD, Ettlín RA, Sinha Hikim AP, Clegg ED. Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater. Cache River Press. 1-40.
- Ryan GJ, Wanko NS, Redman AR y Cook CB. (2003). Chromium as Adjunctive treatment for type 2 Diabetes. *Ann Pharmacother.* **37**: 876-85.

- Santen RJ, de Kretser DM, Paulsen CA, Vorhees J. (1970). Gonadotrophins and testosterone in the XYY syndrome. *Lancet*. **2**: 371.
- Schiavi RC, Owen D, Fogel M, White D y Szeehter R. (1978). Pituitary-gonadal function in XYY and XXY men identified in a population survey. *Clin Endocrinol*. **9**: 233.
- Schürmann A, Axer H, Scheepers A, Doege H y Joost HG. (2002). The glucose transport facilitator GLUT8 is predominantly associated with the acrosomal region of mature spermatozoa. *Cell Tissue Research*. **307**: 237-242.
- Seaborn C y Stoecker B. (1990). Effects of antacid ascorbic acid on tissue accumulation and urinary excretion of Cr51 chromium. *Nutr Res*. **10**: 1401-1407.
- Seethalakshmi L, Menon M y Diamond D. (1987). The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *J Urol*. **138**: 190-194.
- Shepherd PR y Kahn BB. (1998). Glucose transporters and insulin action. *N Engl J Med*. **341**: 248-257.
- Silva J, Jefferson L, Rechkemmer A y Allemant J. (2001). Diagnóstico y tratamiento de la infertilidad masculina. *Ginecol Obstet*. **47**: 144-157.
- Silvestroni L, Modesti A y Sartori C. (1992). Insulin-sperm interaction: effects on plasma membrane and binding to acrosome. *Archiv Androl*. **28**: 201-211.
- Sing RB, Niaz MA, Rastogi SS, Bajaj S, Gaoli Z y Shoumin Z. (1998). Current zinc intake and risk of diabetes and coronary artery disease and factors associated with insulin resistance in rural and urban populations of North India. *J Am Coll Nutr*. **17**: 564-570.
- Siu M y Cheng C. (2004). Dynamic cross-talk between cells and extracellular matrix in the testis. *Bioessays*. **26**: 978-992.
- Soler C, Ganer P, Nieschlag E, de Monserrat JJ, Gutiérrez R, Sáncho M, Buendía P, Álvarez JG, Behre HM y Cooper TG. (2005). Utilización del Integrated Semen Análisis System (ISAS) para el análisis morfológico espermático humano y su significado en las técnicas de reproducción asistida. *Rev Int Androl*. **3**: 112-119.
- Solórzano del Río HE. (1998). Un nuevo remedio natural para perder peso: el picolinato de cromo. *Terapia Bioquímica Nutricional*. OASA. México. 24-32.
- Speetjens JK, Collins RA, Vincent JB y Woski SA. (1999). The nutritional supplement chromium (III) tris(piccolinato) cleaves DNA. *Chem Res Toxicol*. **12**: 483-487.
- Speroff L. (1979). Infertility in men, what the gynecologist needs to know. *Contemp Ob/Gyn*. **14**: 188.
- Stearns DM, Belbruno JJ y Wetterhahn KE. (1995a). A prediction of

- chromium (III) accumulation in humans from chromium dietary supplements. *FASEB J.* **9**: 1650-1657.
- Stearns DM, Wise JP Sr, Patierno SR y Wetterhahn KE. (1995b). Chromium (III) picolinate produces chromosome damage in Chinese hamster ovary cells. *FASEB J.* **9**: 1643-1648.
- Steele NC, Althen TG y Frobish LT. (1977). Biological activity of glucose tolerance factor in swine. *J Anim Sci.* **45**: 1341-1345.
- Striffer J, Polansky M y Anderson R. (1993). Dietary chromium enhances insulin secretion in perfused rat pancreas. *J Trace Elem Exper Med.* **6**: 75-81.
- Sugden KD, Geer RD y Rogers SJ. (1992). Oxygen radical-mediated DNA damage by redox-active Cr(III) complexes. *Biochemistry.* **31**: 11626-11631.
- Sun Y, Ramirez J, Woski SA y Vincent JB. (2000). The binding of trivalent chromium to low-molecular-weight chromiumbinding substance (LMWCr) and the transfer of chromium from transferrin and chromium picolinate to LMWCr. *J Biol Inorg Chem.* **5**: 129-136.
- Tanagho EA y McAninch JW. (2001). Urología General de Smith. El Manual Moderno. México. 757-785.
- Tanti JF, Grémeaux T, Grillo S, Calleja V, Klippel A y Williams L. (1996). Overexpression of a constitutively active form of phosphatidylinositol 3-kinase is sufficient to promote Glut 4 translocation in adipocytes. *J Biol Chem.* **271**: 227-232.
- Taylor A. (1996). Detection and monitoring of disorders of essential trace elements. *Ann Clin Biochem.* **33**: 486-510.
- Thonneau P, Marchand S y Tallec A. (1991). Incidente and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). *Hum Reprod.* **6**: 811-816.
- Timiras PS. (1997). Bases fisiológicas envejecimiento y geriatría. Elsevier. España. 395.
- Topaz M. (1998). Possible long term complication in ultrasound assisted lipoplasty induced by sonoluminescence, sonochemistry, and thermal effect. Long-term possible hazardous effects of ultrasonically assisted lipoplasty. *Plast Reconstr Surg.* **102**: 280-281.
- Trejo AR, Betancourt RM, y Casas E. (2005). Los gametos: células reproductoras de los mamíferos. El manual Moderno. México. 1-46.
- Uldry N, Ibberson M, Horisberger JD, Chatton, JY, Riederer BM y Thorens B. (2001). Identification of a mammalian H⁺- myo-inositol symporter expressed predominantly in the brain. *Embo J.* **20**: 4467-4477.
- Urner F y Sakkas D. (1996a). Glucose is not essential for the occurrence of sperm binding and zona-pellucida-induced acrosome reaction in the mouse. *Int J Androl.* **19**: 91-96.
- Urner F y Sakkas D. (1996b). Glucose participates in sperm-oocyte fusion in

- the mouse. *Biol Reprod.* **55**: 917-922.
- Urner F y Sakkas D. (2003). Protein phosphorylation in mammalian spermatozoa. *Reprod.* **125**: 17-26.
- Urner F y Sakkas DA. (1999). Possible role for the pentose phosphate pathway of spermatozoa in gamete fusion in the mouse. *Biol Reprod.* **60**: 733-739.
- Valmore Bermúdez, Fernando Bermúdez, Naillet Arraiz, Elliuz Leal, Sergia Linares, Edgardo Mengual, Lisney Valdelamar, Moisés Rodríguez, Hamid Seyfi, Anilsa Amell, Marisol Carrillo, Carlos Silva, Alejandro Acosta, Johnny Añez, Carla Andara, Verónica Angulo y Gabriela Martins. (2007). Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución. *AVFT.* **26**: 1-16.
- Van Way III CW. (1999). Secretos de la nutrición. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 10, 25-27, 115, 224-225.
- Vantman D, Koukoulis G y Dennison L. (1988). Computer assisted semen analysis: evaluation of method and assessment of the influence of sperm concentration on linear velocity determination. *Fértil Steril.* **49**: 510.
- Veldhuis JD. (2001). Eje hipotalámico-hipofisario-gonadal masculino. CAP 22. En: Yen SSC, Jaffe RB y Barbieri RL. Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. 4ª ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. Tomo II. 664-673.
- Verhage AH, Cheong WK y Jeejeebhoy KN. (1996). Neurologic symptoms due to possible chromium deficiency in long-term parenteral nutrition that closely mimic metronidazole-induced syndromes. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* **20**: 123-127.
- Vignon F, Le Faou A, Montagnon D, Pradignac A, Cranz C, Winiszewsky P y Pinget M. (1991). Comparative study of semen in diabetic and healthy men. *Diabet Metab.* **17**: 350-354.
- Vincent JB. (1999). Mechanism of chromium action: lowmolecular-weight chromium-binding substance. *J Am Coll Nutr.* **18**: 6-12.
- Vincent JB. (2000a). Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. *Acc Chem Res.* **33**: 503-510.
- Vincent JB. (2000b). The biochemistry of chromium. *J Nutr.* **130**: 715-718.
- Vincent JB. (2001). The bioinorganic chemistry of chromium (III). *Polyhedron.* **20**: 1-26.
- Vincent JB. (2003). *Sports Med.*, in press.
- Walsh PC, Retik AB, Stamey TA y Vaughan ED. (1994). Campbell Urología. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 649-693.
- Wang H, Kruszewski A y Brautigam DL. (2005). Cellular chromium enhances activation of insulin receptor kinase. *Biochem.* **44**: 8167-8175.
- Wang ZQ, Zhang XH, Russell JC, Hulver M y Cefalu WT. (2006). Chromium

- Picolinate Enhances Skeletal Muscle Cellular Insulin Signaling *In Vivo* in Obese, Insulin-Resistant JCR: LA-cp Rats1. *J Nutr.* **136**: 415-420.
- Ward TL. (1995). Dietary chromium supplementation for pigs and chickens. Ph.D. dissertation. Louisiana State University, Baton Rouge.
- Weinbauer GF, Gromoll J, Simini M y Nieschlag E. (1997). Physiology of testicular function. Nieschlag E, Behre HM. Springer, Berlin Heidelberg New York. 26-57.
- WHO. (1980). Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 1st ed. Cambridge University Press.
- WHO. (1987). Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge University press.
- WHO. (1992). Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University press.
- WHO. (1999). Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge University Press.
- Wortsman J, Rosnner W y Dafau ML. (1987). Abnormal testicular function in men with primary hypothyroidism. *Am J Med.* **82**: 207.
- Yamamoto A, Wada O y Ono T. (1984). Distribution and chromium-binding capacity of a low-molecularweight, chromium-binding substance in mice. *J Inorg Biochem.* **22**: 91-102.
- Yamamoto A, Wada O y Suzuki H. (1988). Purification and properties of biological active chromium complex from bovine colostrum. *J Nutr.* **118**: 39-45.
- Zarate A y MacGregor C. (1990). Manejo de la pareja estéril. Editorial Trillas. México. 71-77.
- Zhong ZJ, Behrooz A y Ismail-Beigi F. (1999). Regulation of glucose transport by hypoxia. *Am J Kidney Dis.* **34**: 189-202.
- Zierler K. (1999). Whole body glucose metabolism. *Am J Physiol.* **276**: 409-26.

ANEXO

ACCESS (SISTEMA DE INMUNOANÁLISIS)

Descripción general. El ACCESS (Beckman Coulter, USA) (figura 19), es un sistema automatizado de inmunoanálisis, diseñado para la programación de muestras por acceso aleatorio de hasta 24 muestras de forma continua. A través de un diseño simple de ingeniería y de un diseño ergonómico, que aseguran que cada uno de los principales componentes del sistema trabaje adecuadamente muestras, reactivos, monitor, teclado, celdas de reacción, bandas de código de barra y dispositivos de desecho.



Figura 19. ACCESS (Beckman Coulter, USA)

Tiene un amplio menú de pruebas: pruebas de función tiroidea (T3, T4, hTSH y T uptake), fertilidad (estradiol, hFSH, hLH, testosterona, BHCG, progesterona, prolactina, estriol y HG), anemia (ferritina, folato y vitamina B12), monitoreo de drogas terapéuticas, cardiovasculares (CK-MB, digoxina, mioglobina y troponina I), enfermedades infecciosas (clamidia, rubéola y toxo), virales (HAV, HBc, Ab Hbs II, HBs Ag, HCV Y HIV), cáncer y alergias. Además de otras pruebas especiales para determinar insulina, cortisol, ostasa y teofilina.

Este sistema emplea como fase sólida partículas paramagnéticas y la Quimioluminiscencia como método de detección de la reacción Ag-Ac la cual, se basa en la obtención de energía luminosa a partir de una reacción química. Empleando un fotomultiplicador que detecta esta luz emitida por la reacción, eliminando la necesidad de filtros complejos, engranes, espejos y fuentes de luz.

Principio de quimioluminiscencia. La quimioluminiscencia es el fenómeno en el cual, se obtiene energía luminosa a partir de una reacción química. En este caso la reacción se lleva a cabo entre la Fosfatasa Alcalina (enzima) y el Dioxetano (substrato), sustancia orgánica con características luminiscentes cuando se encuentra en un estado electrónicamente excitado, que produce

una emisión de luz estable hasta 30 min, favoreciendo la toma de varias lecturas para obtener resultados más confiables, además de aplicarse a un amplio rango de analitos.

Principios de funcionamiento. Su operación consiste de dos pasos:

1. Carga de muestras y selección de pruebas. 24 reactivos a bordo en una unidad de refrigeración permite la programación de muestras de forma continua, acceso aleatorio e inclusive de urgencia. El diseño de un único carrusel permite una fácil colocación de muestras y de reactivos. Una única pipeta empleando la tecnología del ultrasonido para mezclar muestras y reactivos minimiza el acarreo de muestras.
2. El procesamiento de las muestras tiene lugar en un módulo en el cual pueden llevarse a cabo una multitud de protocolos analíticos, pero ocupando un espacio no mayor que una computadora Lap-top. Esta flexibilidad en el procesamiento de muestras permite a equipos de desarrollo proveer con un amplio menú de pruebas y una realización clínica excepcional.

ANALIZADOR VITROS DT 60 II

Descripción general. El analizador Kodak Ektachem DT60 II (figura 20) utiliza slides Kodak Ektachem DT para llevar a cabo cierto número de pruebas discretas, como son: glucosa, ácido úrico y urea, con especímenes de suero, plasma o sangre entera. Teniendo acceso al resultado aproximadamente en 5 minutos, con una máxima velocidad analítica de hasta 65 pruebas por hora. Todas las reacciones necesarias para una sola medida cuantitativa tienen lugar dentro del elemento analítico multicapa del slide. El slide se usa para una sola prueba de un paciente y luego se desecha. Las propiedades exclusivas de estos slides eliminan la necesidad de almacenar, mezclar y desechar reactivos líquidos permitiendo efectuar, a su vez, análisis fiables con una muestra muy pequeña del paciente. Siendo un microordenador autónomo quien controla todos los procesos realizados por el analizador. El personal se comunica con el microordenador por medio del teclado; y éste se comunica con el personal a través de mensajes que aparecen en el visor e informes impresos.



Figura 20. Analizador Vitros DT 60 II (Kodak Ektachem).

Principios de funcionamiento:

- Identificación del slide. A medida que el slide entra en la estación de dosificación, un lector de código de barras descifra el código de barra láser del slide para identificar la prueba y el número de generación del slide para el microordenador. La identificación de la prueba aparece luego en el visor.
- Dosificación de la muestra del slide. Un detector óptico pone en marcha el temporizador incorporado del analizador y verifica si se ha dosificado la muestra en el slide, posteriormente transportando automáticamente el slide dentro del incubador.
- Incubación y lectura. El incubador puede contener un máximo de seis slides apilados uno encima del otro. Cada slide que entra en el incubador se coloca encima de la pila y sale por debajo. El tiempo de incubación de los slides es de aproximadamente 5 minutos a una temperatura de 37 °C (98.6 °F).

Al completarse el periodo de incubación, el conjunto del soporte inferior mueve automáticamente el slide desde la parte inferior de la pila de slides en la incubadora hasta la estación de lectura. Allí se toman automáticamente las lecturas de referencia blanca y negra. Estas lecturas, junto con la lectura del slide, se usan para determinar la densidad del color formado por las reacciones químicas que tienen lugar en el slide. Mientras que el conjunto de soporte inferior se retrae, el slide cae encima de la cabeza del sistema de reflexión de fibra óptica (FORS), en la estación de lectura. La cabeza del FORS contiene diodos electroluminosos (LED) de color rojo, verde y amarillo. El LED apropiado es activado dependiendo del tipo de slide presente en la estación de lectura.

La luz es transmitida al slide por medio de fibra óptica y la luz reflejada por el slide es dirigida a un fotodetector dentro de la cabeza del FORS. El microordenador utiliza esta lectura de reflexión, junto con las lecturas de referencia blanca y negra, un modelo de calibración y los parámetros de calibración almacenados en la memoria, para calcular la concentración de la

muestra. Esta concentración es imprimida por la impresora del analizador. El slide permanece en la estación de lectura hasta que el siguiente slide lo empuja dentro de la caja de desecho de slides situada en la parte posterior del analizador.