

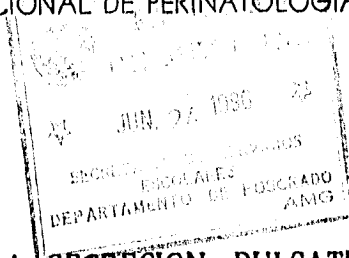
11204



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

5
2ej



RESPUESTA DE LA SECRECIÓN PULSATIL DE
HORMONA LUTEINIZANTE EN PACIENTES CON
OLIGOSPERMIA IDIOPATICA Y SUJETOS
NORMALES.

DR. ANTON ESPINOSA DE LOS MONTES M.
PROFESOR TITULAR

Castro
DR. ERNESTO CASTELAZO MORALES
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LA ESPECIALIDAD DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION
P R E S E N T A :
DR. JOSE RUBEN PINEDA VIEDAS

Tutor: Dr. Carlos Villanueva Díaz



INPer

MEXICO, D.F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

INDICE .

- 1.- INTRODUCCION.
- 2.- MARCO TEORICO.
- 3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.
- 4.- JUSTIFICACION.
- 5.- OBJETIVOS.
 - 5.1. GENERALES .
 - 5.2. ESPECIFICOS.
- 6.- HIPOTESIS.
- 7.- METODOLOGIA.
 - 7.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.
 - 7.1.I. TIPO DE INVESTIGACION
 - 7.1.II. TIPO DE DISEÑO.
 - 7.1 III. CARACTERISTICAS DEL ESTUDIO.
 - 7.2. LUGAR Y DURACION.
 - 7.3. UNIVERSO.
 - 7.4. CRITERIOS INCLUSION, EXCLUSION Y ELIMINACION
 - 7.5. DEFINICION DE VARIABLES .
 - 7.6. RECOLECCIÓN DE DATOS.
 - 7.7. ANALISIS ESTADISTICO.
 - 7.8. ETICA.
8. RESULTADOS.
9. DISCUSION.
10. CONCLUSIONES.
11. ANEXOS (CUADROS Y GRAFICAS).
12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

DEDICATORIA:

AL DR RUBEN PINEDA GARDUÑO POR EL EJEMPLO DE SER HUMILDE
CON GRANDEZA. AHORA LO ENTENDIENDO.
GRACIAS PADRE.

A MI MADRE NO TENGO OTRO EJEMPLO DE TENACIDAD.
CUANDO ESTOY PÒR CAER LO RECUERDO.
GRACIAS MADRE.

A MI ESPOSA HEATRIZ Y A MIS HIJAS DALIA Y ZHENIA SIMPLEMENTE
NO LO HUBIERA LOGRADO SIN ELLAS.

AL DR CARLOS VILLANUEVA DIAZ POR SU GRAN APOYO EN LA
REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

INTRODUCCION

Se estima que la incidencia de esterilidad en países desarrollados se ha incrementado de un 7-8% en 1960 a 20-35% en la actualidad, de este porcentaje se encuentra involucrado el factor masculino en un 30 a 50% y es en el que se tiene menor oportunidad de lograr un embarazo 0-27% sin inseminación de donador.(1) Así mismo se ha detectado un decremento tanto en el volumen seminal como en la cuenta espermática en varones fértiles en los últimos 50 años. Este hecho incuestionable ha llevado cada vez más a las parejas estériles a agotar sus propias posibilidades de concepción y los que no logran dicho objetivo aún por métodos de reproducción asistida cursan con importantes trastornos afectivos y emocionales.

El manejo de la pareja estéril debe realizarse por médicos especialistas que con gran responsabilidad aborden estos problemas, además deben conocer en detalle la fisiopatología reproductiva, de esta forma poder brindar a la pareja un diagnóstico adecuado y un manejo apropiado de la esterilidad. Sin embargo el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos en la mayoría de las entidades clínicas de la esterilidad masculina no son bien claros. En cerca del 50-70% de los casos en que se encuentra un factor masculino de esterilidad no es posible establecer un diagnóstico causal y una terapéutica dirigida. (2,3) De manera que en muchos de los casos de esterilidad en el varón no se logra encontrar un factor específico que explique la causa de la esterilidad y por lo tanto los tratamientos implementados en la mayoría de las ocasiones son empíricos. Se calcula que un 6% de los casos de esterilidad masculina tienen un factor condicionante en que una terapéutica específica tiene un beneficio confirmado como es el ejemplo del tratamiento con GnRH en el hipogonadismo hipogonadotrópico con lo cual se restaura la producción espermática. (4) Una de las

entidades seminales que con mayor frecuencia se enfrenta el especialista es la oligozoospermia la cual es común se encuentre asociada con otras alteraciones seminales como son la astenozoospermia y la teratozoospermia. Estas entidades son las representantes en la literatura mundial de una innumerable cantidad de tratamientos, la mayoría implementados sin pruebas de su efectividad otros tienen credibilidad científica limitada. (5)

Ante esta problemática, los avances tecnológicos han permitido implementar nuevas estrategias encaminadas no a la corrección de los mecanismos que producen la enfermedad, sino al tratamiento de los síntomas como ocurre en la fertilización *in vitro* con transferencia de embriones y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides al oocito con técnicas de micromanipulación. Esto ha llevado a que los progresos en el conocimiento de los factores causales y las medidas preventivas en la esterilidad masculina quede restringida.

En especial existe controversia respecto al origen de la alteración primaria que tiene como consecuencia la detención de la espermatogénesis o el daño tubular en algunos casos de oligozoospermia. En la mayoría de estos casos no se encuentra la causa que explique dicha alteración por lo que se clasifican como idiopática. Es probable que algunos casos de Oligozoospermia idiopática ocurran alteraciones subclínicas de la función endocrina del eje gonadal que pudieran ser susceptibles de ser corregidas. Sin embargo, no existen hasta el momento actual métodos de diagnóstico que permitan definir la existencia de estas anomalías.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar alteraciones en el tono de opioides endógenos que actúan sobre el hipotálamo, como evidencia indirecta de la existencia de anomalías endocrinas subclínicas del eje hipotálamo-hipófisis-testículo en pacientes con esterilidad asociada a Oligozoospermia idiopática, por medio del estudio de la pulsatilidad de la Hormona Luteinizante (LH) y la respuesta a la administración endovenosa de Naloxona.

MARCO TEORICO

DESARROLLO DE LA GONADA MASCULINA:

En el período embrionario las gónadas son indiferenciadas antes de la octava semana de desarrollo, la diferenciación es iniciada por una regulación genética mediada por el cromosoma "Y". Una vez que las células germinales migraron desde el endodermo del saco vitelino para situarse en forma definitiva en las gónadas, en el varón, el epitelio germinativo penetra en el mesenquima subyacente de esta manera se forma los cordones sexuales, los cuales se convertirán en túbulos seminíferos. Estos se conectan con una serie de túbulos derivados del mesonefros ; son los conductillos eferentes, epididimo, conductos deferentes, vesícula seminal y conducto eyaculador, los cuales serán encargados de llevar los espermatozoides fuera del testículo. (6)

Los elementos germinales constituidos a lo largo de los cordones sexuales , sufren cambios que finalmente se diferenciarán algunas en células de Sertoli . En el tejido conjuntivo situado entre los túbulos seminíferos comienzan a aparecer en la decimocuarta semana las células de Leydig, hacia la 20 semana de desarrollo ya se halla bien delineada la arquitectura general de los testículos. En el séptimo mes aparece en los túbulos seminíferos una discreta cavidad central y hay una disposición radial de las células. En el 4º al 7º mes los testículos se hallan constantemente situados a 1mm por encima de la ingle, al final del 7º mes , el testículo atraviesa el conducto inguinal y por lo común al 8º mes han ocupado las bolsas del escroto, aunque no es raro que los testículos se encuentren aún en dicho conducto, terminando su descenso durante el período posnatal.(6,7,8) Desde la infancia hasta la pubertad existen cambios estructurales y funcionales importantes en el testículo. Hay un aumento en la longitud y diámetro de los cordones testiculares

aparece en el centro de estas cordones una luz, tubular bien definida. Hay evidencias de que la población troncal de espermatogonias sufren cambios secuenciales, que en lo sucesivo llevan a la aparición de espermatogonias más diferenciadas, con la expansión gradual de las poblaciones hasta el tamaño final, antes del inicio de la espermatogénesis en la pubertad. Uno de los aspectos más significativos en el desarrollo testicular, es el establecimiento de una barrera hemato-testicular por las células de Sertóli, la cual es formada de manera rápida en la pubertad cuando la espermatogonia inicia a producir células que podrían diferenciarse. Esta barrera crea un espacio externo o compartimiento basal entre la pared tubular y los complejos de uniones que es continuo con el ambiente extratubular y el espacio interno o compartimiento luminal. (7)

EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-TESTICULO:

La espermatogénesis es la secuencia de eventos citológicos que resultan en la formación de un espermatozoide maduro desde células precursoras, con una duración aproximada de 74 días en promedio. Esta función se lleva a cabo en los túbulos seminíferos y es modulada por diversos factores endocrinos que se producen en los distintos elementos celulares de la gónada. El hipotálamo y la parte anterior de la hipófisis participan en forma integral en la regulación de estas funciones a través de la secreción respectiva de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y de las dos gonadotropinas, la hormona luteinizante (LH) y la hormona foliculo estimulante (FSH). (9) La GnRH estimula la liberación de LH y FSH desde los gonadotropos por un mecanismo dependiente de Calcio. La cantidad liberada de cada hormona gonadotrofica, así como de sus isoformas particulares dependen de la edad del individuo. De esta manera durante la vida intrauterina hay un aumento en la liberación de LH y FSH al comienzo del 2º trimestre, disminuyen al término del embarazo y tienen un resurgimiento en la vida posnatal, después disminuye la sensibilidad de las gonadotropinas a la GnRH y permanece baja hasta la pubertad. Al inicio de la pubertad se evidencia un patrón de pulsabilidad de LH

nictameral, que posteriormente se prolonga durante todo el día, en este caso el patrón de secreción de LH es preferencial sobre FSH. La secreción de GnRH hacia el sistema portal hipofisario es episódica, esto hace que la LH sea liberada en una serie de pulsos. Los picos plasmáticos de LH tienen amplitudes que varían del 35 al 270% y ocurren con una frecuencia aproximada de un pulso cada una a dos horas. (10) Estudios de mujeres posmenopáusicas y hombres jóvenes en donde existe una extraordinaria diferencia en la liberación pulsátil de LH, se ha observado que tanto la amplitud como la frecuencia modulan la secreción de LH bioactiva. Incluso en mujeres jóvenes en diferentes fases de un ciclo menstrual normal, existe un incremento en la secreción de LH bioactiva al aumentar la frecuencia y amplitud de pulsaciones. (11) Este patrón de pulsatilidad está modulado a su vez por diferentes factores: 1º. Opioides endógenos, 2º. Esteroides sexuales (Estrógenos y Testosterona), 3º. Las vías alfa- adrenérgicas, 4º Las neuronas serotoninérgicas, 5º Los efectores dopaminérgicos, 6º El envejecimiento normal y 8º. Condiciones con liberación disociadas de LH y FSH.

En el testículo las células de Leydig responden al estímulo de LH promoviendo la biosíntesis y secreción de andrógenos. Este estímulo es iniciado por la unión de la hormona con receptores glucoproteicos de alta afinidad en la membrana de las células, la unión estimula la adenilato ciclasa con la consecuente formación de AMPc por un mecanismo donde interviene la proteína G facilitando la conversión de colesterol a pregnenolona y finalmente la producción de andrógenos. Así mismo, existe un mecanismo de autorregulación denominado de retroalimentación negativa, la cual disminuye tanto la frecuencia como la amplitud de pulsos de LH mediada por andrógenos y estrógenos respectivamente. Es decir, los andrógenos parecen regular la frecuencia de pulsos de LH y los estrógenos parecen regular en forma predominante la amplitud de los pulsos de LH. (12) Existe un consenso en la literatura en relación a que la actividad de los esteroides sexuales sobre el patrón de pulsatilidad de LH son moduladas a su vez por los péptidos opioides endógenos (EOP). Está bien demostrado que los EOP juegan un papel mayor en el control de

LH en humanos . La administración de bloqueadores de los receptores de EOP, naltrexona o naloxona, en hombres normales produce un aumento en la frecuencia y amplitud de pulsos de LH, esto indica que los EOP tienen una supresión tónica en la pulsatilidad de LH. (13) Este bloqueo de los EOP aumenta la liberación de LH bioactiva en bioensayos de testosterona con células intersticiales de rata (RITC) e incrementa la concentración de testosterona in vivo. (14) Sin embargo la administración de naloxona en niños prepuberes de ambos sexos no causa algún cambio significativo en la LH plasmática, lo mismo sucede en pacientes con síndrome de Klinefelter y Turner. Esto sugiere que la actividad de los EOP reflejan la madurez del eje hipotálamo-hipófisis-gónada y no simplemente relacionado a los esteroides gonadales. (15)

La administración de estradiol o dihidrotestosterona (DHT) en hombres sanos suprime la liberación pulsátil de LH y éstos efectos supresores son superados por un antagonista de los EOP. (Yen) La infusión de testosterona en los hombres con secreción disminuida o ausente de GnRH endógena (Síndrome de Kallman) han revelado que este andrógeno puede bloquear la acción de la GnRH a nivel de la parte anterior de la hipófisis. Otros estudios sostienen que la retroalimentación negativa de la pulsatilidad de LH producida por la infusión de testosterona no es revertida por la naloxona en jóvenes y adultos. (16) Además, se ha sustentado que el efecto de retroalimentación negativa que ejerce la testosterona sobre la secreción de LH, es en forma primaria a nivel hipotalámico en jóvenes cerca de la pubertad y cambia a una supresión hipofisiaria en adultos. (17) En ausencia de estudios paralelos donde utilicen un andrógeno no aromatizable como la dihidrotestosterona (DHT), no puede descartarse que la testosterona actúe de forma indirecta sobre la hipófisis después de ser aromatizada a estradiol.

Por medio de análisis de desconvolución se ha demostrado que el bloqueo de los EOP en hombres sanos aumenta la masa de la LH liberada en 24 horas, lo cual es resultado del aumento de los estallidos secretores de LH, sin cambios de la vida media calculada de desaparición de LH endógena.

Para que se lleve a cabo de manera adecuada la espermatogénesis se requiere de la integridad funcional del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Tanto la LH como la FSH con actividades biológicas son requeridas para lograr una espermatogénesis completa y en cantidades normales. El consenso científico actual es que los efectos de la LH están mediados por la biosíntesis de testosterona en las células de Leydig, mientras que la FSH y Testosterona actúan en forma directa sobre el epitelio de los túbulos seminíferos. Como se demuestra en los estudios realizados por Matsumoto y Bremner, tanto la LH como la FSH no son requeridas en estados de deficiencia experimental provocados por la administración farmacológica de testosterona con reemplazo selectivo de LH utilizando hCG o FSH pura, para lograr una cuenta espermática en un rango de 20-50 millones/ml, cualitativamente normal, pero sí se requieren ambas FSH y LH para una producción espermática en cantidad normal.

(18) Sin embargo existe un ambiente intratesticular de interacciones celulares, entre las células de Leydig, peritubulares y de Sertoli que mantienen la función testicular, donde participan múltiples productos secretorios como factores de crecimiento, proteínas transportadoras de andrógenos, transferrina, proteasas, etc.

(19)

FISIOLOGIA DE LA ESPERMATOGÉNESIS

La espermatogénesis requiere de la integridad funcional y cooperación de las células de Sertoli. Estas ocupan el espesor de los túbulos seminíferos y están en contacto estrecho con las células germinales. Las células basales tipo A y tipo B o espermatogonia se dividen por mitosis para formar los espermatoцитos primarios, estos pasan por una primera división meiótica, resultando un espermatoцитo secundario que contiene un número haploide de cromosomas. Después de una segunda división meiótica los espermatoцитos secundarios se transforman en espermátides los cuales sufren una serie de cambios morfológicos denominado espermiogénesis, con lo cual resulta la formación de espermatozoides. En resumen hay tres elementos mayores que constituyen la espermatogénesis: 1° La renovación

de células troncales por el proceso de mitosis. 2º. La reducción del número de cromosomas por medio de la división meiótica y 3º. La transformación de una célula convencional en una estructura compleja desde el punto de vista morfológico y funcional llamado espermatozoide. (20)

El epitelio seminífero está dividido por las fuertes uniones entre las células de Sertoli dentro de un compartimiento basal ocupado por las espermatogonias y espermatoцитos en preleptoteno y un compartimiento luminal que contiene estadios más avanzados de la población de células germinales. Las células de Sertoli constituye además de una barrera hemato-testicular un soporte físico para las células germinales. En promedio cada célula de Sertoli está en contacto con 47 células germinales y otras 5 células de Sertoli. Estas células tienen un importante papel nutricional, en el que metabolizan glucosa a partir de lactato y piruvato, ésta es una fuente de energía suficiente para las células germinales. La célula de Sertoli también sintetiza transferrina, inhibina, diferentes factores de crecimiento y proteína fijadora de andrógenos (ABP). La ABP tiene una alta afinidad para los andrógenos, es posible que propicien una alta concentración de andrógenos en la vecindad de ciertas células en meiosis. La importancia de la ABP para la espermiogénesis es sugerida por la presencia de ABP inmunorreactiva en la célula de Sertoli alrededor de las protrusiones de las elongadas espermátides. La inhibina además de su efecto inhibitorio sobre la secreción de FSH, se ha demostrado que reduce el número de espermatogonias en testículo de ratón adulto. La activina por el contrario, es producida por las células de Leydig y es posible que también por las células de Sertoli e induce la liberación de FSH y estimula la proliferación de espermatogonia en testículos de ratas inmaduras. El factor de crecimiento transformador alfa y beta (TGF) son reguladores de crecimiento con acciones antagonistas. El TGF alfa tiene partes secuenciales homólogas al factor de crecimiento epidérmico (EGF). Existen receptores para TGF alfa sobre las células

peritubulares, pero no los hay en las células germinales. éste podría facilitar la formación de epitelio seminífero. El TGF beta se relaciona con la estructura molecular de la inhibina y la activina, su acción es inhibir el crecimiento de células peritubulares estimulada por el TGF alfa. El TGF beta también regula los receptores para hCG y el metabolismo esteroideo. Otros péptidos que se han postulado ser producidos por las células de Sertóli pero que no está bien definido su papel en la espermatogénesis son la interleucina 1 y el factor de crecimiento insulínico I (IGF-I) que pueden estimular el crecimiento de células germinales. La actividad secretoria de las células de Sertóli es modulada por las células germinales en particular por espermátocitos en paquiteno y espermátides tempranos, ésta interacción es edad dependiente. Las células peritubulares producen un factor paracrino testosterona dependiente que modula la función de las células de Sertóli y además estimula *in vitro* la producción de transferrina y ABP. La síntesis de ABP y transferrina, así como la inhibina también son activadas por la FSH. Se han localizado receptores para FSH en las células de Sertóli y en la espermatogonia. (19,21)

GENERALIDADES:

Las alteraciones en la regulación hormonal de la gónada se traducen en una deficiencia o ausencia de la producción de espermatozoides, éstos trastornos se expresan en el análisis seminal como oligozoospermia o bien azoospermia dependiendo del grado de alteración. Además existe una gran cantidad de entidades clínicas que pueden llevar a presentar un trastorno seminal de éste tipo.

La oligozoospermia no es una entidad clínica específica sino un síndrome seminal que se define según la OMS como la cuenta espermática menor de 20 millones/ml y es común que se asocie a otras alteraciones seminales como son la astenozoospermia y la teratozoospermia. Los mecanismos que pueden llevar a presentar oligozoospermia son diversos como son las alteraciones en la producción

espermática, éstas pueden ser congénitas o adquiridas incluye la criptorquidia, alteraciones cromosómicas, exposición a diferentes gonadotóxicos como irradiaciones, drogas citotóxicas, agentes ambientales y el varicucele. Otros mecanismos pueden ser las alteraciones en el transporte espermático incluyen causas inmunológicas, obstrucciones parciales de los conductos que transportan el espermia, falla eyaculatoria y correcciones microquirúrgicas de los conductos. En los hombres en los que no se identifica un factor causal específico de la Oligozoospermia se clasifica como idiopática (OI). Se calcula que en un 70-80 % de los casos de esterilidad masculina el factor causal no puede ser identificado. (3,23) Otros estudios encuentran una frecuencia de presentación de la oligoastenoteratozoospermia idiopática en un 26.4% de las parejas estériles de los cuales en el 12% son oligozoospermia idiopática pura. (2) En este grupo de pacientes podrían existir alteraciones subclínicas de la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-testículo como lo demuestran algunos autores que han analizado el comportamiento pulsátil de la secreción de gonadotropinas. (24,25)

ANTECEDENTES:

Los estudios iniciales de la oligozoospermia idiopática (OI) han motivado el uso de tratamientos empíricos que en algunos pacientes han resultado exitosos. Sin embargo en el estudio realizado por Wieland y cols en 1972 (26) se identificó que la respuesta de las gonadotropinas con la administración de Citrato de Clomifeno es variada en este grupo de pacientes, de lo cual se deduce que la OI esta conformada por un grupo heterogéneo de alteraciones funcionales del eje gonadal. Esto mismo se puede sustentar por los trabajos de Kretser en 1972 (27) en pacientes con oligozoospermia y azoospermia en los que demuestra que existen alteraciones variables en los niveles plasmáticos basales de FSH, LH y T y encuentran una asociación en la elevación de FSH con el daño testicular, lo cual fue confirmado en estudios posteriores. (28,29)

Existe un grupo de pacientes con OI en los que se encuentran niveles basales

normales de gonadotropinas en el siero. Estos pacientes tienen daño testicular incipiente o compensado, lo cual ha generado controversia acerca del origen del daño testicular. Mientras que algunos autores apoyan la hipótesis de una lesión testicular primaria tubular y/o intersticial, (29,30,31,32) otros sugieren una alteración primaria en los mecanismos de regulación hipotálamo-hipofisaria. (24,33,34)

Se ha sugerido que en algunos pacientes con OI existe una respuesta alterada de LH utilizando GnRH como prueba estimuladora, esto implica que ciertos pacientes con OI normogonadotrópica tienen una reserva funcional insuficiente. (33,34)

En pacientes con falla testicular primaria se ha observado un incremento en la pulsatilidad de LH. Se ha sugerido que en presencia de FSH en límites normales, un incremento leve en la relación de FSH/LH podría apuntar a anomalías en la pulsatilidad de LH que pudiera ser susceptible de tratar con pulsos de GnRH. (35,36)

Basados en la experiencia del servicio de andrología en el INPer, las diferencias que se han encontrado en la respuesta del eje endocrino testicular en los pacientes con OI podría deberse a que se han analizado poblaciones heterogéneas de pacientes con falla testicular. Recientemente se demostró que tanto la concentración relativa de las gonadotropinas como la respuesta dinámica en las pruebas de estimulación dependen en gran parte del estado anatómico-funcional de la gónada. (37,38) Los resultados de estos estudios indican que la proporción relativa de gonadotropinas expresado como índice FSH/LH aumenta en relación directa con el grado de daño testicular, lo cual es un indicio de que existe una regulación fina entre la gónada y las estructuras del sistema nervioso central. Usando como estándar de oro la imagen histológica del testículo, se encontró una relación directa entre el grado de daño testicular y la respuesta endocrina en pacientes con azoospermia normogonadotrópica.

La explicación de estos cambios subclínicos en función de la gónada masculina es

la estrecha interrelación que existe entre las hormonas producidas en el testículo y las producidas en el sistema nervioso central. Las alteraciones en el patrón de pulsatilidad de LH en los pacientes que tienen OI pueden ser la causa o la consecuencia de las lesiones gonadales. Esta situación es difícil de distinguir en bases clínicas o de laboratorio, por una parte debido a que se requiere de un muestreo frecuente, (cada 10-20 minutos durante 6-12 horas) para determinar las características de pulsatilidad de LH y por otra a que la única manera de reconocer las características histológicas del testículo es a través de la biopsia de testículo.

(10)

Uno de los problemas que se ha enfrentado en el estudio clínico de los padecimientos que afectan la función reproductiva del hombre es la inconsistencia de los resultados. Esta podría deberse a que en los estudios que se han reportado sobre el patrón de pulsatilidad de LH en los pacientes con OI no se ha considerado el estado funcional de la gónada. En un trabajo de Girgis demostró analizando material de biopsias testiculares de pacientes con Oligozoospermia que la lesión histológica es variada, por lo cual es explicable que se encuentren diferencias en el estado funcional del eje testicular. (39)

3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La espermatogénesis es un proceso dinámico regulado por diferentes factores endocrinos, paracrinos y autocrinos en el que participan el hipotálamo, la hipófisis y diferentes elementos celulares de la gónada. Las gonadotropinas hipofisarias LH y FSH actúan en los compartimentos intersticial y túbular respectivamente y son los encargados directamente de regular la maduración ordenada de los elementos que constituyen el epitelio germinal para la producción de espermatozoides.

El estímulo provocado por las hormonas hipofisarias se traduce en el testículo en una serie de señales que son producidas por las células de Leydig, Sertóli, peritubulares y las germinales. Este complejo sistema de señales químicas da como resultado que la maduración del epitelio germinal se suceda en una oleada a lo largo del túbulo seminífero.

La integridad funcional del epitelio germinal depende de cambios en las concentraciones séricas y tisulares de las gonadotropinas y testosterona. Las gonadotropinas son necesarias para el inicio del ciclo de maduración en tanto que la testosterona tiene influencia en la fase meiótica.

De diferentes estudios en el humano en los que se ha tomado como modelo el hipogonadismo hipogonadotrópico de origen hipotalámico (síndrome de Kallman) se ha podido corroborar que la FSH sensibiliza a la célula de Sertóli para que después bajo la influencia directa de testosterona se mantenga la espermatogénesis. Esto también se ha demostrado en pacientes hiposectomizados en los cuales se ha conservado la función testicular mediante la administración de hCG.

Las evidencias indican que a diferencia de lo que ocurre en la gónada femenina, la espermatogénesis es regulada por una concentración constante de las gonadotropinas. Sin embargo la proporción relativa de estas gonadotropinas parece

ser importante para mantener la producción de espermatozoides en el testículo. La proporción relativa de las gonadotropinas en la circulación se conserva mediante la secreción pulsátil de la GnRH. La secreción pulsátil de GnRH esta a la vez mediada por distintas hormonas esteroides y proteicas que son sintetizadas y secretadas a la circulación por el testículo. El efecto de estas hormonas testiculares en el hipotálamo y/o en la hipófisis se manifiesta por cambios en la frecuencia y amplitud de los pulsos de GnRH.

Aún cuando no se ha podido establecer con certeza cuales son los mecanismos neurales que regulan la secreción de GnRH, uno de los eventos centrales parece ser la inhibición tónica mediada por opioides endógenos. Este mecanismo de regulación de la secreción de GnRH puede hacerse patente por medio de la administración farmacológica de bloqueadores de los receptores de los péptidos opioides endógenos como la naloxona o naltrexona. La infusión continua o en bolo de estos fármacos produce cambios en el patrón de pulsatilidad de GnRH y de LH. En algunos casos de esterilidad masculina se ha supuesto que existen alteraciones en los mecanismos que regulan la función endocrina de eje testicular, que se manifiestan al final en baja producción de espermatozoides en el testículo. A esta entidad se le conoce como Oligozoospermia idiopática y se identifica por la disminución en la concentración de espermatozoides en el semen que no se puede atribuir a una causa específica.

Algunos autores han intentado demostrar en los pacientes con OI la existencia de alteraciones en el patrón de pulsatilidad de LH, lo cual ha dado lugar a resultados controversiales ya que no ha sido posible encontrar un patrón consistente en la pulsatilidad de las hormonas hipofisarias.

Uno de los criterios que se utilizan para identificar a los pacientes con OI es la concentración basal de las hormonas LH y FSH en el suero con las que se concluye la integridad funcional de eje endocrino. La relación entre la concentración de las hormonas hipofisarias y la función testicular es tan estrecha que la elevación de la FSH en el suero se ha convertido en un predictor de la falla tubular. Sin embargo

la elevación de FSH es un evento tardío en la falla testicular y es mejor predictor de la integridad anatómico-funcional de la gónada la proporción relativa de las gonadotropinas. En un grupo de pacientes con azoospermia normogonadotrópica se ha podido demostrar que la relación de FSH/LH se altera de manera proporcional con el grado de lesión testicular aún cuando la concentración de las mismas se encuentren dentro del rango normal. Esta situación además de que es una prueba contundente de la regulación fina del eje endocrino testicular deja ver dos aspectos importantes. Uno es que de acuerdo a las evidencias anteriores la gran variabilidad en los resultados de los estudios endocrinos en los que se ha investigado la pulsatilidad en grupos de pacientes con OI podría explicarse por una diferencia en el estado funcional del eje testicular. El segundo es que si se asume que la secreción diferencial de las gonadotropinas es el resultado de cambios en el patrón de pulsatilidad de GnRH, entonces sería factible demostrar que en este estado incipiente de lesión testicular existen alteraciones demostrables en el patrón de pulsatilidad de LH y FSH.

Asumiendo de nuevo que uno de los mecanismos a nivel central que se encarga de la regulación de la pulsatilidad de GnRH es la modulación de los EOP, entonces sería factible encontrar diferente respuesta a la prueba de infusión de naloxona en términos de la secreción aguda de LH como en su secreción pulsátil.

El presente trabajo pretende demostrar la presencia de alteraciones en los mecanismos neurales que dependen de opioides endógenos encargados de la regulación de la secreción de gonadotropinas, en pacientes con esterilidad seleccionados en base a la concentración total de gonadotropinas y su proporción relativa.

4.- JUSTIFICACION .

Existe en la actualidad una falta de conocimiento acerca de la relación que existe entre la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-testículo y la OI. Algunos autores sugieren que esta entidad clínica es el resultado de alteraciones funcionales en los mecanismos reguladores de la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada en tanto que otros defienden la teoría de que las alteraciones endocrinas son secundarias a las lesiones testiculares. Estas discrepancias han dado como resultado que en la actualidad no se tengan métodos de diagnóstico para identificar estados subclínicos de alteraciones funcionales del eje hipotálamo-hipófisis-testículo ni tratamientos específicos para la esterilidad masculina. La controversia se debe con posibilidad a que en la mayoría de los estudios que se han reportado al respecto de esta entidad clínica no se ha tomado en cuenta que el eje endocrino testicular se encuentra regulado de manera muy fina y que aún en situaciones en que no existen alteraciones francas en la concentración de las hormonas se puede documentar alteraciones funcionales en la regulación de las gonadotropinas .

Si se lograra determinar en un grupo de pacientes con OI seleccionado en base al estado funcional del eje gonadal un comportamiento homogéneo del patrón de pulsatilidad de LH, se contaría con una herramienta de mucha utilidad para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con esterilidad masculina asociada a OI por disfunción gonadal mínima.

5. OBJETIVOS.

5.1 GENERALES: Demostrar que el patrón de pulsatilidad de LH en los pacientes con OI se encuentra alterado en relación con la concentración basal y a la proporción de FSH/LH.

5.2 ESPECIFICOS: Demostrar que la respuesta de la alteración en el patrón de pulsatilidad de LH en los pacientes con OI a la inhibición con antagonistas de receptores de los péptidos opioides endógenos también tiene relación con la proporción basal de FSH/LH.

6. HIPOTESIS

La hipótesis es que tanto el patrón de pulsatilidad de LH como las modificaciones que este sufre por el bloqueo farmacológico de las vías neuronales moduladas por péptidos opioides endógenos es diferente en distintos pacientes con OI normogonadotrópica. Creemos que el patrón de pulsatilidad basal de LH se encuentra alterada en relación a la frecuencia de pulsaciones y que es distinto de acuerdo a la proporción relativa de gonadotropinas. Los pacientes con OI normogonadotrópica con proporción de FSH/LH menor o mayor a 1 tienen frecuencia de pulsaciones menores que los sujetos controles normales y entre mayor sea la proporción de FSH/ LH mayor será la alteración en la frecuencia de pulsaciones de LH. La respuesta al bloqueo de los péptidos opioides endógenos será aumentando la frecuencia de pulsaciones de LH. También relacionado de manera directa con la proporción relativa de FSH/LH tanto en los pacientes con OI normogonadotrópica como los sujetos normales.

7. METODOLOGIA.

7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.

7.1.I. TIPO DE INVESTIGACION: CUASI - EXPERIMENTAL.

7.1.II. TIPO DE DISEÑO: ESTUDIO COMPARATIVO.

7.1.III. CARACTERISTICAS DEL ESTUDIO:

EN RELACION AL METODO DE OBSERVACION: TRANSVERSAL.

EN RELACION AL TIPO DE ANALISIS: DESCRIPTIVO.

EN RELACIÓN A LA TEMPORALIDAD: PROSPECTIVO.

7.2 . LUGAR Y DURACION. El estudio se realizó en la Clínica de Andrología del Instituto Nacional de Perinatología en un periodo comprendido de julio de 1995 a enero de 1996.

7.3. UNIVERSO: Se estudiaron a pacientes con diagnóstico de Oligozoospermia idiopática que acuden a la Clínica de Andrología del Instituto Nacional de Perinatología. Se seleccionaron de manera no aleatorizada formando cuatro grupos de estudio. El grupo 1 esta formado por tres pacientes con OI y valores del índice de FSH/LH menores a 1.06, el grupo 2 esta formado por pacientes con OI y con relación FSH/LH mayor de 1.06, el grupo 3 lo forman 2 pacientes normales .

7.4. CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION:

1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE LOS GRUPOS 1 Y 2.

- 1.1. Hombres con diagnóstico de Oligospermia idiopática.
- 1.2. Entre 20 y 40 años de edad.
- 1.3. Niveles de FSH sérico entre 3-10 mUI/mL.
- 1.4. Índice FSH/LH < 1.06 (Grupo 1).
- 1.5. Índice de FSH/LH > 1.06 (Grupo 2).
- 1.6. Que aceptaran participar en el estudio

2. CRITERIOS DE EXCLUSION GRUPOS 1 Y 2.

- 2.1. Oligospermia de causa identificada.
- 2.2. Enfermedades concomitantes:
 - Endocrinológicas
 - Psiquiátricas
 - Neurológicas
 - Hepáticas
 - Retales
 - Neoplásicas
- 2.3. Uso de medicamentos:
 - Esteroides
 - Psicotrópicos
 - Antidepresivos
 - Ansiolíticos
 - Anticonvulsivantes
 - Alfa adrenérgicos
 - Antihipertensivos
 - Bloqueadores de receptores H2 y H1
 - Serotoninérgicos
 - Agonistas y antagonistas dopaminérgicos

- 2.4. Atletas de alto rendimiento.
- 2.5. Disminución de más del 20% del peso corporal en menos de una semana.
- 2.6. Antecedente de radioterapia y/o quimioterapia.
- 2.7. Que no acepten participar.

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN GRUPO 3.

- 3.1. Hombres sanos.
- 3.2. Edad entre 20 y 40 años.
- 3.3. Fertilidad probada reciente.
- 3.4. Seminograma normal.
- 3.5. Que acepten participar.

4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DEL GRUPO 3

- 4.1. igual a los de los grupos 1 y 2.

5. CRITERIOS DE ELIMINACION .

- 5.1. Abandono del estudio por parte del paciente.
- 5.2. Datos incompletos.

7.5. VARIABLES EN ESTUDIO:

1. VARIABLES INDEPENDIENTES.

- 1.1. Edad
- 1.2. Concentración de gonadotropinas
- 1.3. Estado funcional testicular.

2. VARIABLES DEPENDIENTES.

- 2.1. Patrón de pulsatilidad de LH

2.2. Respuesta de LH a la naloxona.

3. VARIABLES CONFUSORAS.

- 3.1. Hora de estudio.
- 3.2. Enfermedades endocrinas y metabólicas
- 3.3. Toma de medicamentos. (Ver lista)
- 3.4. Presencia de stress
- 3.5. Depresión endógena.

DEFINICION DE VARIABLES

PATRON DE PULSATILIDAD DE LH: Se refiere a la característica que tiene la secreción de la hormona luteinizante en la hipófisis. Se estudia de manera indirecta a través de la medición por radioinmunoensayo (RIA) de la concentración de la LH en muestras de suero tomadas a intervalos de 15 minutos durante 6 horas. Sus valores se expresan en milíunidades internacionales por mililitro (UI/mL). El patrón de pulsatilidad se reconoce por los cambios en concentración de esta hormona entre las muestras analizadas y se define como un incremento superior a dos desviaciones estandar sobre el promedio de las determinaciones.

RESPUESTA DE LH A LA NALOXONA: Es el cambio que se produce en el patrón de pulsatilidad de LH posterior a la administración de una infusión endovenosa de 2 horas con una solución que aporta 2 mg/hr de Naloxona. (Narcanti, Rhône Poulenc Rorer.) Las unidades de medición y el análisis del patrón de pulsatilidad se realizaron de manera similar a la variable anterior.

La reproducibilidad de la medición de la concentración de la LH se controló a través del cálculo de los coeficientes de variación intra e interensayo del RIA, tomando como base los criterios internacionales.

Las variables independientes se controlaron por medio de grupos homogéneos de pacientes. El estado funcional del testículo se determinó mediante el cálculo del índice de FSH/LH que como se documentó con anterioridad guarda una relación directa con el grado de lesión testicular ($r = 0.68$). La reserva de las gonadotropinas hipofisarias está relacionada con el índice de FSH/LH. Cuando la proporción de estas hormonas es > 1.06 disminuye la respuesta de FSH y aumenta la de LH. El impacto de las variables confusoras se redujo por medio de la selección de los pacientes, la realización de los estudios a la misma hora del día y dejando un intervalo de 1 hora entre la admisión del paciente y el inicio del estudio.

7.6. RECOLECCION DE DATOS.

Los datos se colectaron en hojas de captura diseñadas específicamente, de las cuales se obtuvo un registro en hojas de cálculo. Los pacientes se seleccionaron directamente de la consulta en la Clínica de Andrología del Instituto Nacional de Perinatología a través de las hojas de captura en la que se registraron los principales datos sociodemográficos y clínicos. En esta hoja se incluyeron los criterios de selección de los pacientes.

DETERMINACIONES HORMONALES: Los pacientes se citaron a las 7:00 Hr con ayuno de 8-12 Hrs. Posterior a explicarles el procedimiento se le colocó un catéter endovenoso (Insyte Nº 18) en una vena antecubital del brazo no dominante, en la cual se inició una infusión de solución salina (NaCl 0.9%) a razón de 0.5 L/día. Una hora después de la admisión del paciente se tomaron muestras de sangre venosa a través de una flave de tres vías de 5 ml cada 15 minutos durante 6 Hrs. Terminado este periodo de muestreo se inició una infusión endovenosa de Naloxona a razón de 2 mg/Hr diluida en solución isotónica salina durante 2 hrs y se tomaron

muestras de sangre venosa de 5 ml. cada 15 minutos durante 2 Hrs. Todas las muestras de sangre venosa se obtuvieron en tubos de plástico de 12 x 75 mm con tapa de presión sin anticoagulante. Al final de este segundo periodo de muestreo se retiró el catéter venoso y se dió de alta al paciente con indicaciones de alarma. Las muestras de sangre venosa colectadas en los dos periodos de muestreo se identificaron con marcadores indelebles y se esperó la formación de coágulo. El coágulo se separó con isópo de madera y los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos a 4 grados centígrados. Los sueros se separaron y almacenaron en congelación a -30 grados centígrados hasta el momento del análisis.

Los ensayos para la determinación de LH se realizaron por el método de radioinmunoanálisis (RIA) utilizando alícuotas por duplicado de 100 microlitros de suero. El ensayo para la LH estandarizada en el laboratorio tuvo un coeficiente de variación intra e interensayo de 5% y 8% respectivamente.

El análisis de los picos de LH se realizó basado en el método propuesto por Santen y Bardia para la determinación de la secreción pulsátil de LH, modificado por Baird. Este método se basa en la determinación de las diferencias entre el valor basal y el del pico de secreción. Los criterios para definir un pico de secreción son: 1) incremento de cuando menos 4 veces el valor del coeficiente de variación intraensayo (5%) y 2) dos valores consecutivos mayores que los dos valores basales previos. La amplitud se determinó por la diferencia del valor del pico al nadir precedente y el intervalo interpulso de la diferencia de pico al próximo pico.

ANALISIS ESTADISTICO.

Todos los datos numéricos se presentan con medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estandar). El análisis estadístico de las diferencias entre los valores previos y posteriores a la administración de la naloxona se realizó con un método no paramétrico de comparación de dos muestras utilizando la prueba de Wilcoxon.

RESULTADOS.

Se incluyeron en total a 8 varones los cuales se dividieron en tres grupos. Grupo 1 lo integraron 3 pacientes con Oligospermia idiopática normogonadotrópicos con relación FSH/LH menor a 1.06. El grupo 2 lo integraron 3 pacientes con Oligospermia idiopática con inversión de la relación FSH/LH mayor de 1.06 y el grupo control lo conforman 2 sujetos normales. La edad promedio del grupo 1 fue de 28.6 ± 5 , en el grupo 2 de 36 ± 1 y en el grupo 3 de 36 ± 4 . Los valores de LH, FSH y T antes de la prueba se encontraron en límites normales en los grupos 1 y 2. La proporción de FSH/LH en el grupo 1 fue < 1.06 y en el grupo 2 fue < 1.06 . Se observó un aumento en los niveles basales de testosterona del grupo 2 comparados con el grupo 1. Los datos se muestran en la tabla 1.

Los resultados de los estudios de pulsatilidad individuales y por grupo se presentan en las figuras 1 a 11. Las figuras 1 a 3 resumen los resultados del análisis de la pulsatilidad de LH en los pacientes que se catalogaron en el grupo de Oligospermia idiopática, en las figuras 4 a 6 las de los pacientes con Oligospermia y falla testicular y en las figuras 7 y 8 se presentan los resultados individuales de los sujetos normales. Además se presentan en las figuras 9 a 11 los resultados por grupo.

En estas gráficas se puede apreciar que en todos los casos la determinación seriada de LH por RIA distingue las variaciones en la concentración de esta hormona que se ha caracterizado como la secreción episódica. La infusión de la naloxona a los 360 minutos del estudio se asoció con modificaciones del patrón basal de secreción de la hormona luteinizante en todos los pacientes. Esta diferencia fue estadísticamente significativa solo en los tres pacientes del grupo 1. ($P < 0.05$) (ver cuadro II)

En los sujetos con OI la secreción de LH se caracterizó por la presencia de una menor frecuencia de los pulsos de secreción con respecto de los sujetos normales.

En los pacientes con OI solo se detectó un pulso en el periodo estudiado antes de la infusión de naloxona mientras que en los sujetos normales se detectaron 2 y 3 pulsos con un intervalo interpulso de 60-150 minutos. En los pacientes con falla testicular (grupo 2) no se detectaron episodios pulsátil de LH. En los tres pacientes con OI (grupo 1) solo presentaron un episodio de secreción en el intervalo de muestreo previo a la infusión de la naloxona. (ver cuadro III)

Solo encontramos diferencia en la amplitud de pulso antes y después de la infusión de naloxona en el paciente número 1 comparado con los sujetos normales. En los pacientes 2 y 3 la amplitud de pulsos antes y después de la infusión de naloxona fue muy parecida a los sujetos control. En los pacientes con falla testicular incipiente la solo se observó un pulso después de la administración de naloxona con una amplitud menor que los sujetos normales.

DATOS GENERALES

	GRUPO 1			GRUPO 2		
PACIENTE	1	2	3	4	5	6
DENSIDAD ESPERMATICA <small>millones / mL</small>	0.2 - 1 (0.6)	3 - 20 (11.5)	2 - 5 (3.5)	1	1	0.5 - 2 (1.2)
LH	1.8	7.8	4.8	12.5	12.5	9.9
FSH	3.9	8	5.4	1.8	11.5	8.5
T	19	16	16	24	34	28
RELACION FSH / LH	0.46	0.97	0.88	6.94	1.08	1.16

() = PROMEDIO

TABLA I

VALORES PROMEDIO DE LH

	GRUPO 1			GRUPO 2			GRUPO 3	
PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8
BASAL	1.71 (±0.30)	4.03 (±0.64)	3.07 (±0.70)	5.71 (±0.40)	7.32 (±0.33)	8.32 (±0.38)	3.87 (±0.82)	4.63 (±0.78)
NALAXONA	* 2.56 (±0.48)	** 5.22 (±1.06)	*** 5.67 (±1.27)	5.93 (±0.62)	7.53 (±0.31)	8.8 (±0.63)	4.7 (±0.83)	5.45 (±1.17)
	* P = 0.01	** P = 0.03	*** P = 0.006					

TABLA II

AMPLITUD E INTERVALO DE PULSOS

PACIENTE	GRUPO 1			GRUPO 2			GRUPO 3	
	1	2	3	4	5	6	7	8
AMPLITUD (mUI / mL) BASAL	1 . 1	2	2 . 22	-	-	-	1 . 33 2 . 8 1 . 93	2 . 66 1 . 8
NALOXONA	1 . 48	2 . 07 1 . 25	2 . 37	0 . 93	-	-	2 . 13	0 . 6
INTERVALO (MINUTOS) BASAL	-	-	-	-	-	-	90 60	150

TABLA III

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

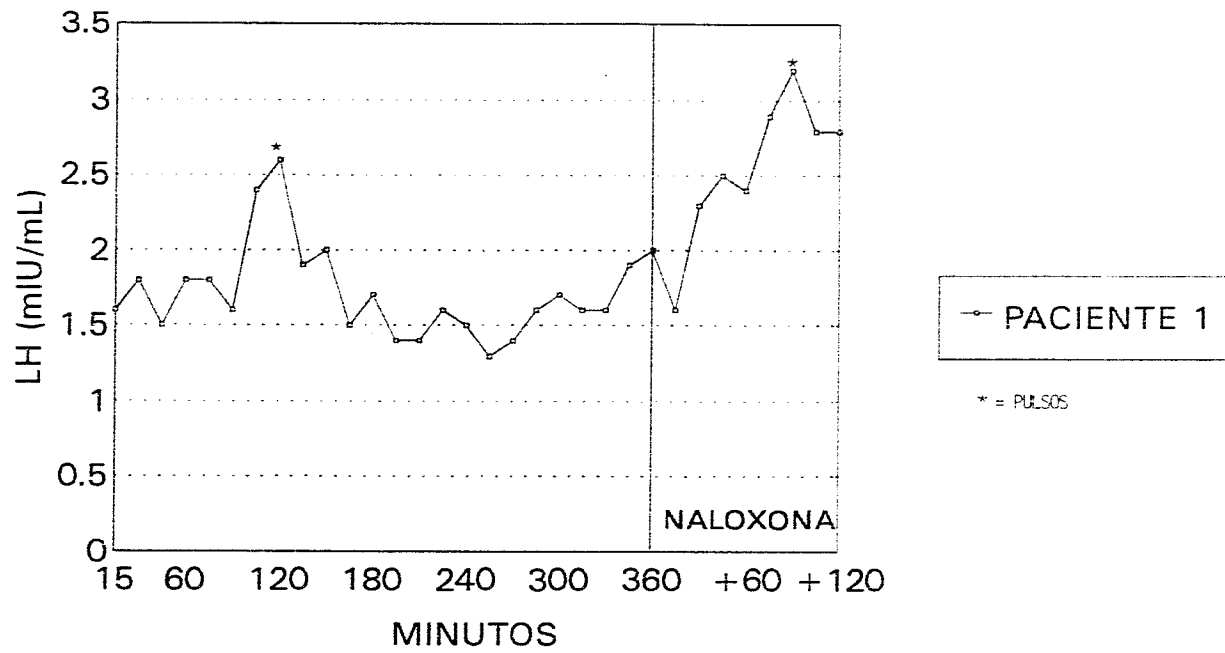


FIGURA 1

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

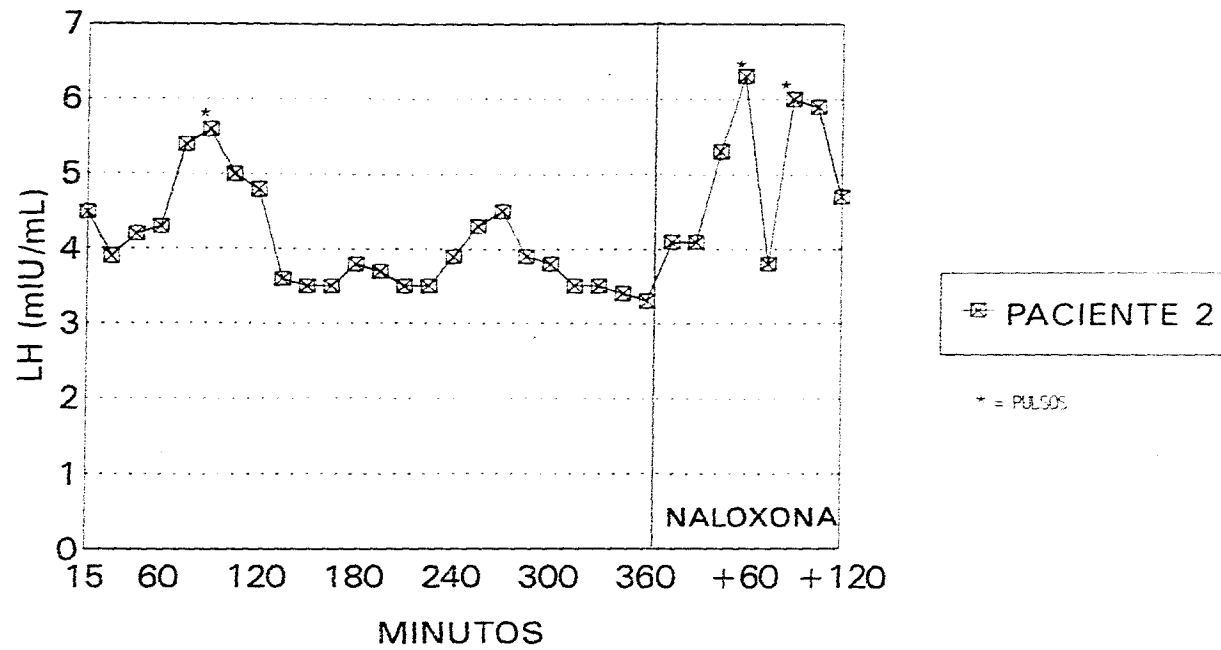


FIGURA 2

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

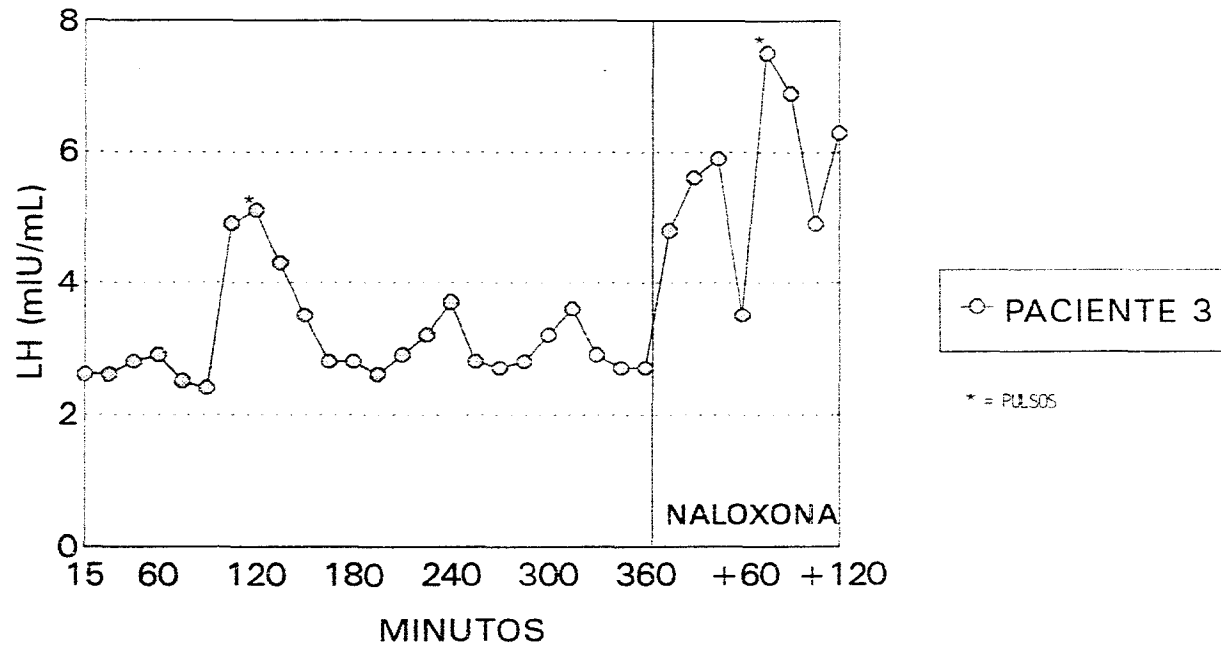


FIGURA 3

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

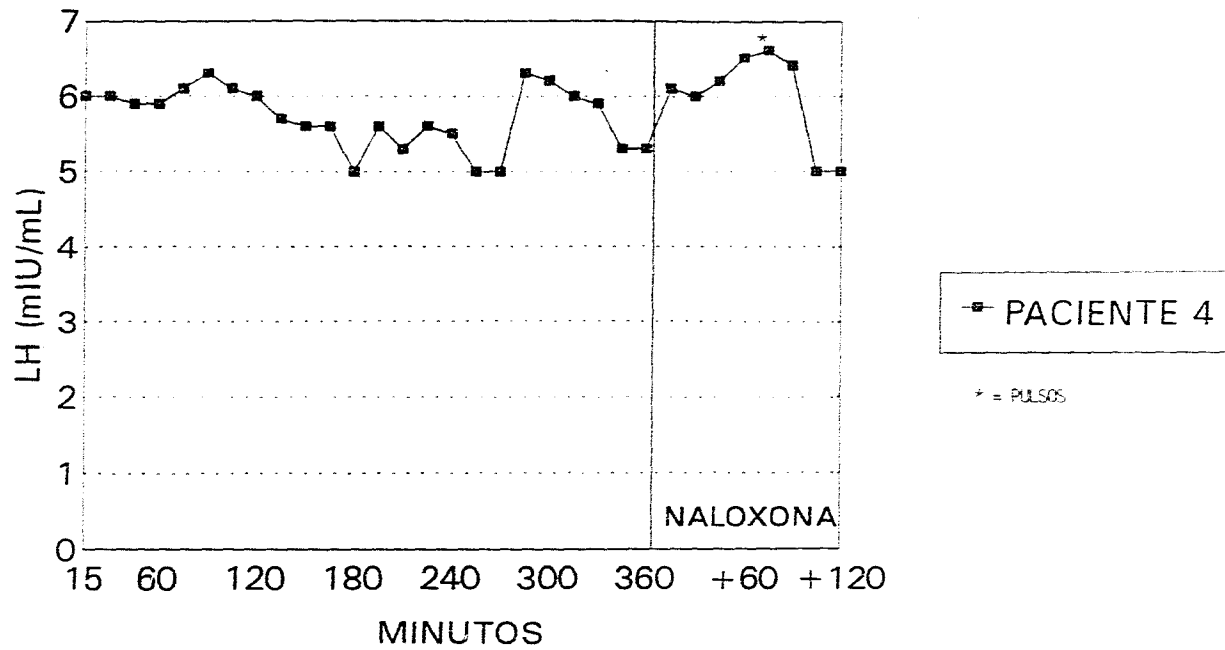


FIGURA 4

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

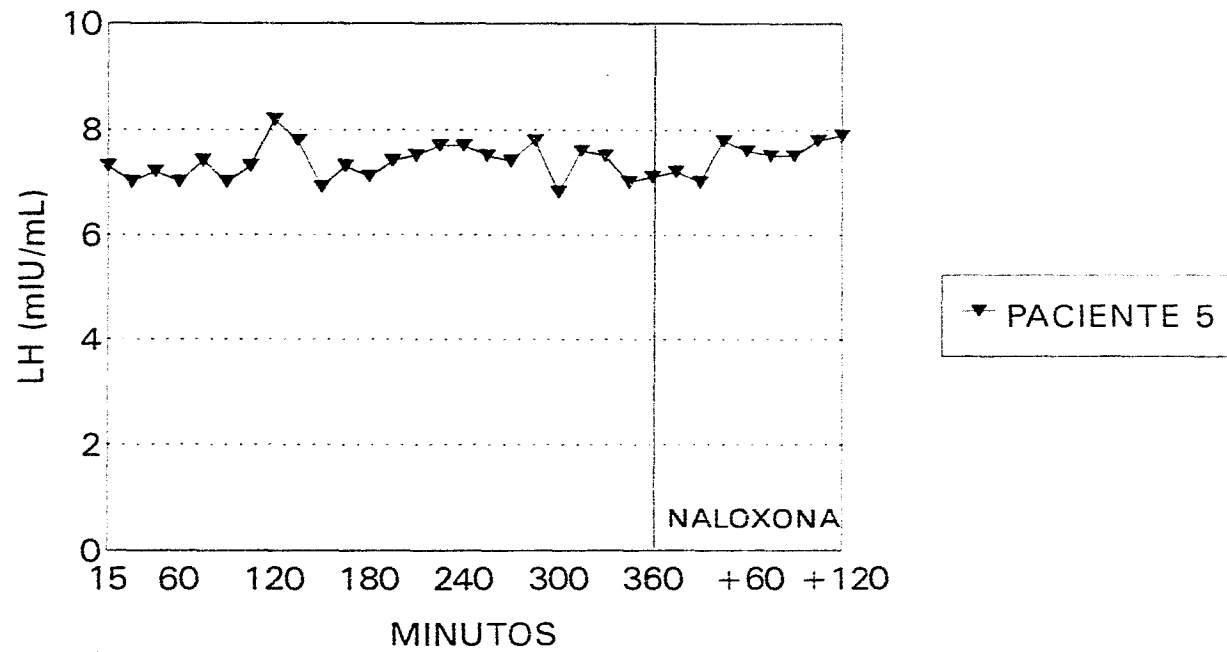


FIGURA 5

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

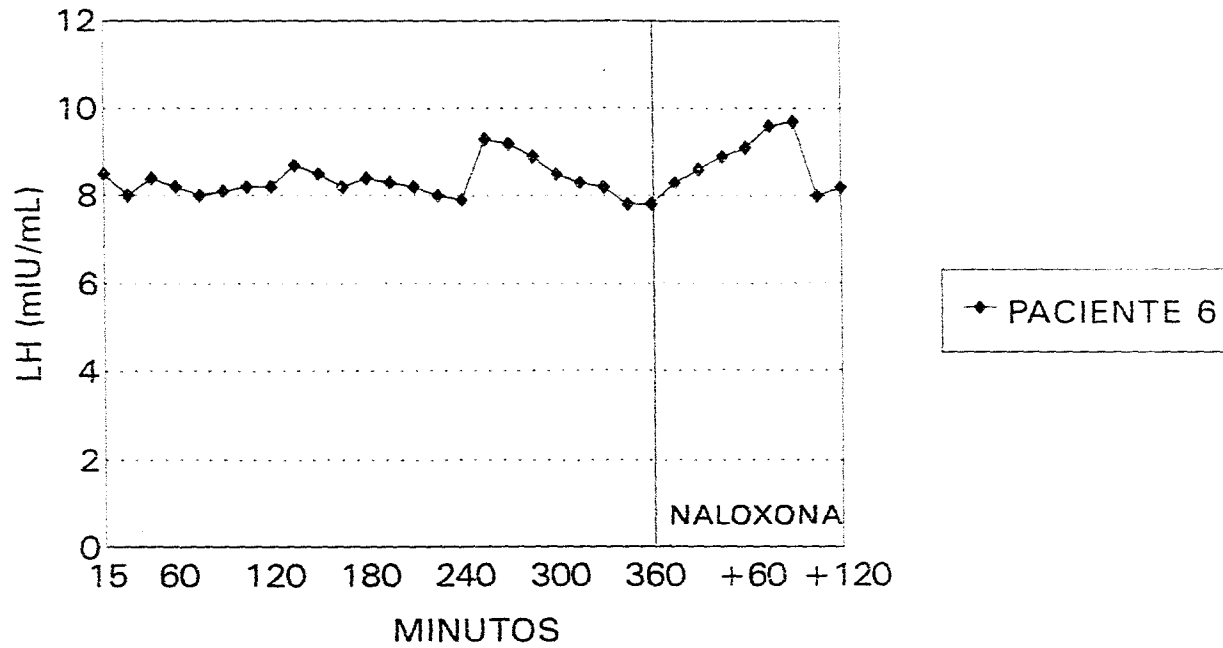


FIGURA 6

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

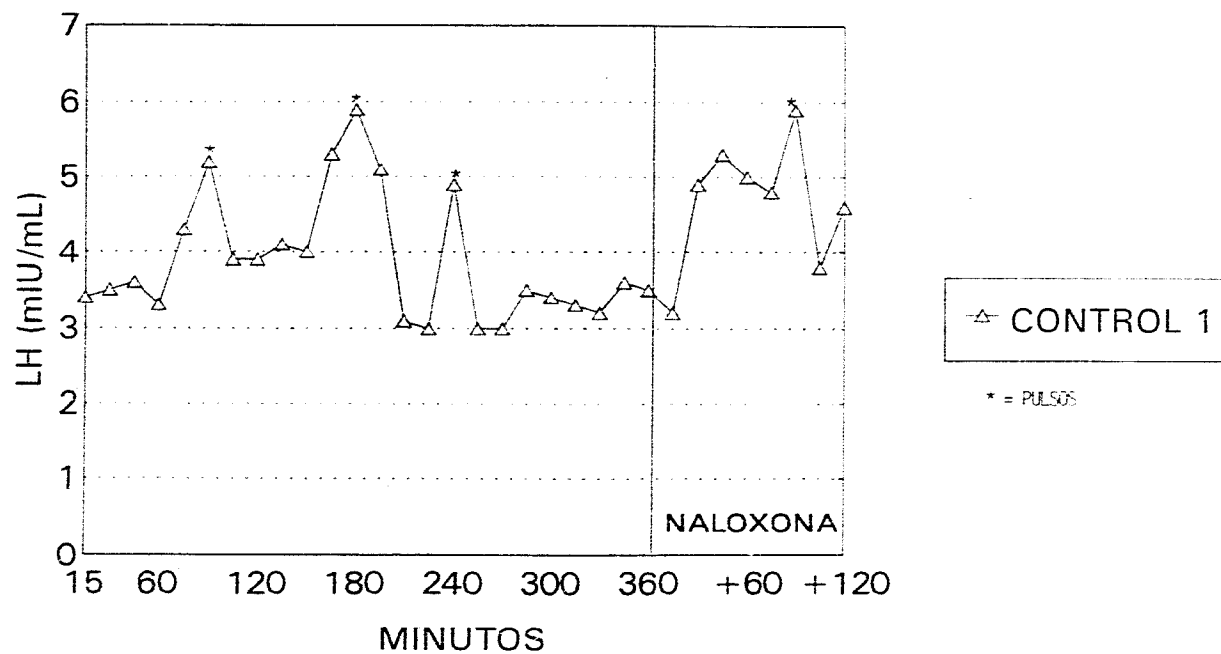


FIGURA 7

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

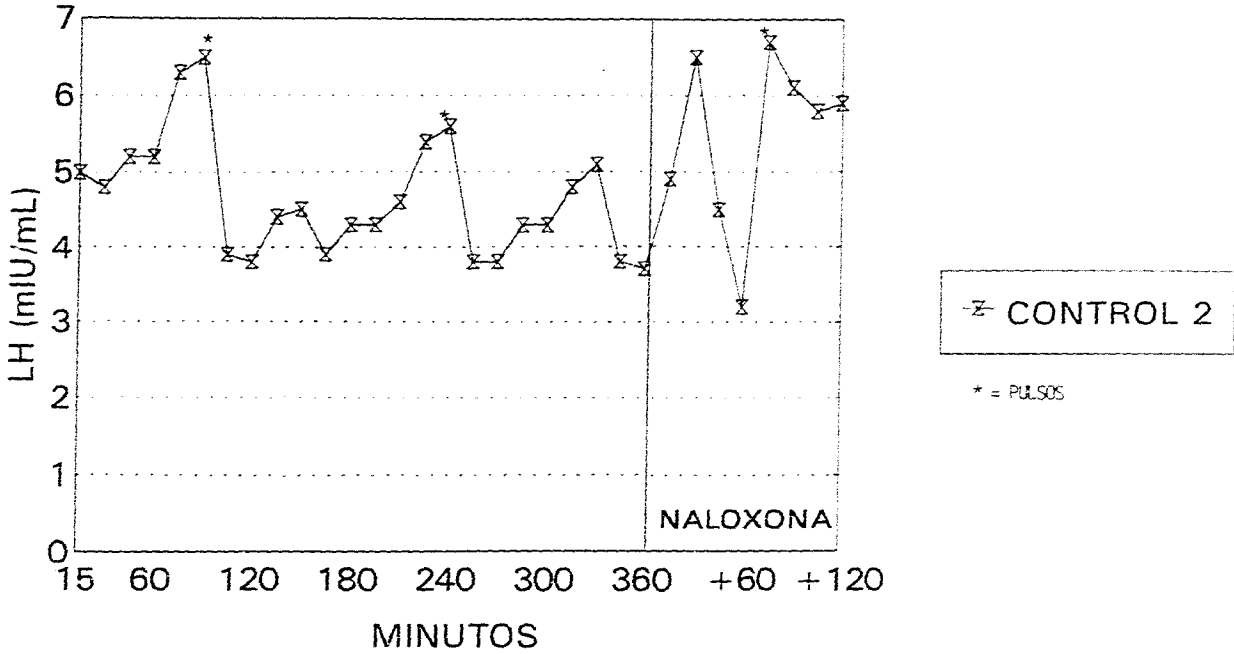


FIGURA 8

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

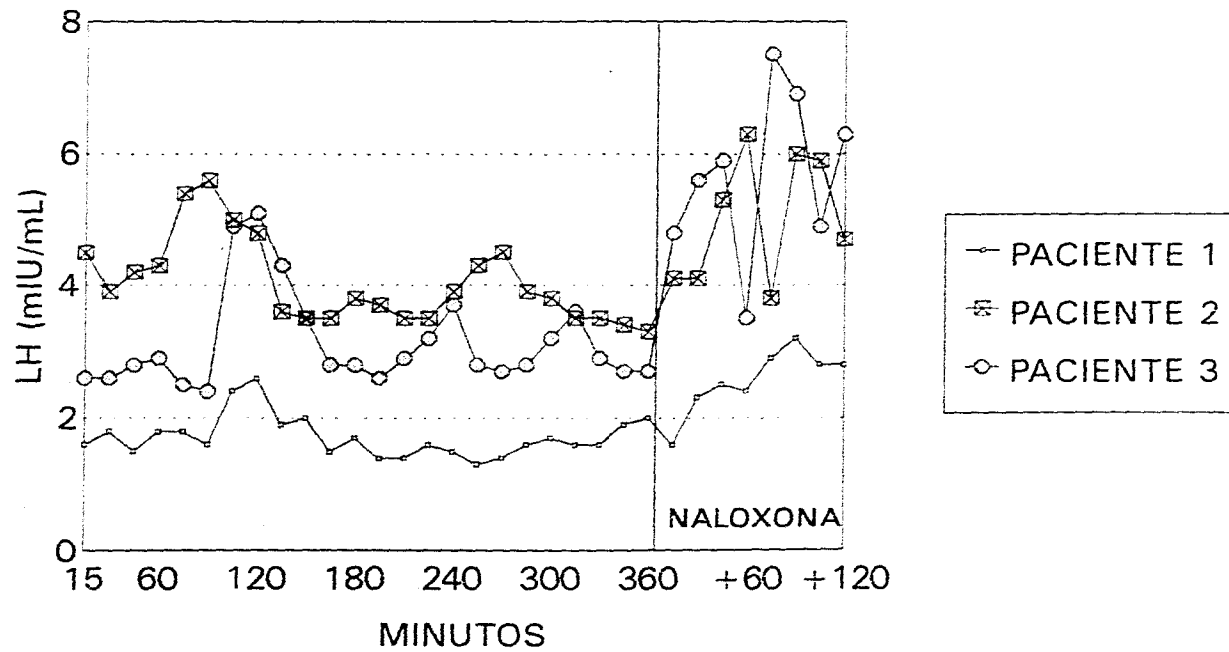


FIGURA 9

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

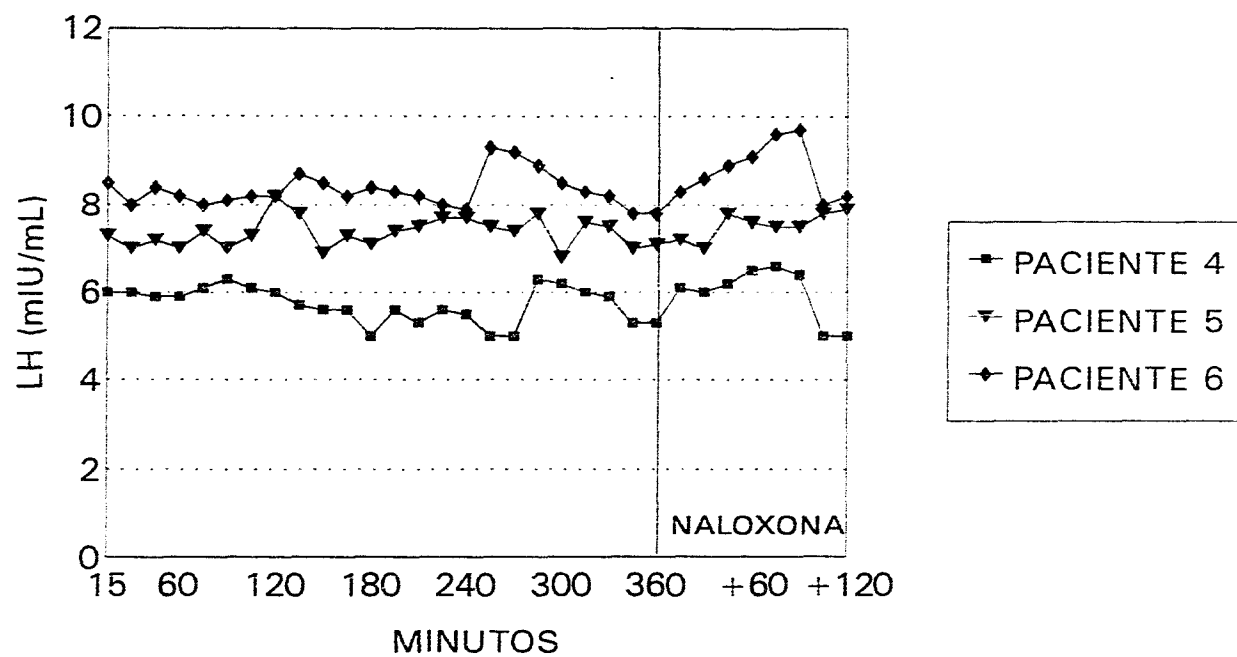


FIGURA 10

PULSATILIDAD DE LH NALOXONA

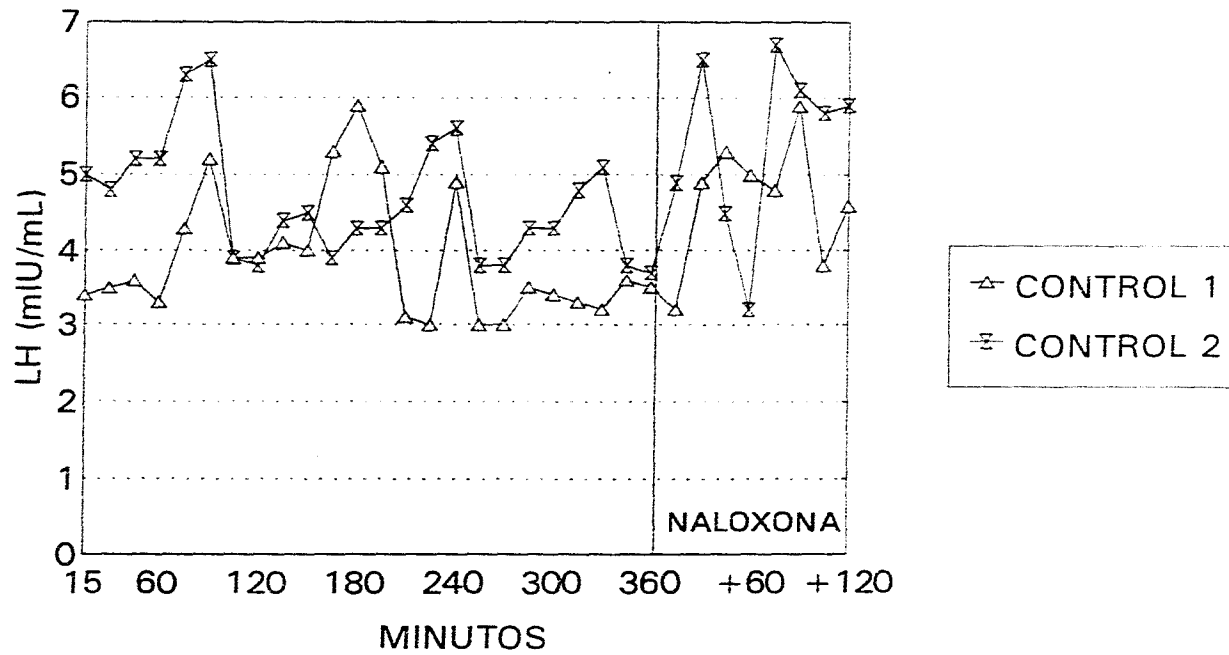


FIGURA 11

DISCUSION

La actividad neuroendocrina del eje testicular, medida de manera indirecta a través de la secreción pulsátil de la hormona luteinizante, ha sido en los últimos años un elemento importante para identificar las condiciones fisiológicas bajo las cuales se regula la función reproductiva en el hombre. (11,31,40,42) Por estos estudios se ha podido reconocer que en condiciones normales la secreción de las gonadotropinas es episódica y que en ausencia de patología la frecuencia de descarga de las neuronas hipotalámicas que se encargan de la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas es de aproximadamente un pulso cada una a dos horas. Esta frecuencia de descarga promueve la secreción en la hipófisis de una mayor proporción de la hormona luteinizante (LH) que de la hormona foliculoestimulante (FSH). (10)

La frecuencia de pulsatilidad de GnRH modula de manera directa al gonadotropo en la síntesis y secreción de las gonadotropinas al favorecer de manera específica la síntesis de RNA mensajero que codifica para la síntesis de la subunidad beta de LH a las subunidades alfa que son comunes a las dos hormonas. Estos hallazgos han descartado prácticamente la hipótesis de la existencia de mecanismos centrales regulatorios diferentes para cada una de las gonadotropinas. (10)

Uno de los principales problemas que se enfrentan en esterilidad masculina es la falta de tratamientos médicos adecuados para los pacientes que tienen deficiente calidad seminal. La información que se deriva de estudios histológicos testiculares realizados en forma sistemática en pacientes con Oligospermia idiopática, han permitido identificar que por lo menos en un 60% de casos existen alteraciones en la biopsia testicular que podrían corresponder a anomalías subclínicas en la función endocrina del eje testicular.(39)

La falla terapéutica en los pacientes con Oligospermia puede explicarse tanto

por la falla en la sensibilidad de los métodos de diagnóstico para la identificación de la etiología del daño testicular como por la falta de conocimiento de la fisiología neuroendocrina del eje gonadal en el hombre. En estudios que se han llevado a cabo con la intención de explorar el estado funcional del eje hipotálamo-hipófisis en los pacientes con Oligospermia idiopática se ha incurrido sistemáticamente en un error: la falta de definición del término "idiopático" en función de las características histológicas del testículo y/o de las condiciones basales de la función neuroendocrina. Una situación común es que se incluyan en este tipo de estudios a pacientes cuya etiología del daño testicular es diferente y que además se encuentran en un estado endocrino distinto, lo cual ha llevado a que no se identifiquen patrones clínicos más o menos homogéneos. (43)

Es indudable que las diferencias individuales deben ser reconocidas pero también es indudable que si se asume que el comportamiento clínico de las enfermedades es un tanto cuanto homogéneo, entonces sería factible identificar un cierto patrón de comportamiento clínico en pacientes que tuvieran alteraciones testiculares ocasionadas por el mismo agente etiológico y se encontrarán en un estado funcional similar.

En estudios previos hemos podido definir el comportamiento endocrino del daño testicular incipiente a través de métodos no invasivos. Estos estudios nos permiten afirmar que en los pacientes en los que se presenta una falla testicular compensada la proporción en la concentración de las gonadotropinas (relación FSH/LH) se altera en relación a la magnitud del daño testicular.(38) Esto parece ser independiente de la etiología de la lesión testicular puesto que el mismo patrón de comportamiento clínico se ha observado en pacientes con daño testicular por infección o trauma testicular como en los pacientes que tienen varicocele. (datos no publicados) Las características más sobresalientes en esta relación morfofuncional del eje testículo-hipotálamo-hipófisis son: 1) la relación directamente proporcional entre el grado de la lesión testicular y la inversión del cociente LH/FSH y 2) la relación que guarda la respuesta del eje testicular en las pruebas dinámicas con el

estado funcional basal.

Basados en estas dos características hemos redefinido el término de "idiopática" cuando nos referimos a la falla testicular. Las condiciones que a nuestro juicio son necesarias para hablar de Oligospermia idiopática son: 1) la presencia de volumen testicular normal (mayor de 10 mL), 2) niveles normales de gonadotropinas séricas, 3) relación FSH/LH menor de 1, y 4) respuesta dinámica normal de las gonadotropinas en las pruebas de estimulación (clonifeno o ketoconazol).

Esta definición puede tener el sesgo de la etiología de la falla testicular por lo cual aún cabría esperar algunas diferencias individuales. También tiene el inconveniente de que las pruebas dinámicas del eje testicular no se han estandarizado. Sin embargo en nuestra experiencia, el uso de estos criterios para la clasificación de los pacientes con Oligospermia nos ha reportado gran utilidad en la formación de grupos homogéneos para estudio clínico.

Uno de los objetivos principales de este estudio clínico era definir si la aplicación de una prueba dinámica bloqueando el tono opioide endógeno podría identificar algunas diferencias entre los pacientes que tienen Oligospermia idiopática y los que tienen falla testicular subclínica.

De acuerdo con nuestros resultados se presentan varias diferencias entre los dos grupos de pacientes estudiados. En primer término se aprecia que la concentración basal de LH y testosterona es mayor en los pacientes que tienen daño testicular subclínico que en los que tienen Oligospermia idiopática, diferencia que puede ser explicada por la interrupción de las señales paracrinas y autoquinas en el testículo.

En condiciones normales la regulación de la función testicular está sujeta a una serie de señales que en forma bidireccional se mueven entre las células de Sertoli, las células mioepiteliales y las células de Leydig. Aunque su función precisa no está bien definida, estas señales paracrinas y autoquinas son las que en última instancia se encargan de dirigir el proceso de maduración de espermatozoides dentro del túculo seminífero. (19)

En los estudios previos que hemos realizado en un intento de definir indicadores de la regulación de la función del testículo hemos encontrado evidencias indirectas de la comunicación entre los diferentes elementos celulares del testículo. Así por ejemplo es muy claro que en los pacientes en los que existe mayor lesión testicular ocurre también cierto grado de hiperplasia de las células de Leydig y en estos mismos pacientes la inhibición de la esteroidogénesis testicular por el ketoconazol es incompleta (datos no publicados).

Otra diferencia que se observó en este estudio fue en la frecuencia de la pulsatilidad de LH. Tanto los sujetos con Oligospermia idiopática como los que tienen daño testicular subclínico mostraron diferente patrón de pulsatilidad con respecto de los sujetos normales pero además tuvieron diferencias entre ellos en la secreción episódica de LH.

En los sujetos con Oligospermia idiopática se determinó la presencia de un pico de secreción durante el intervalo del estudio en tanto que en los pacientes con daño testicular subclínico no se observó secreción episódica. En los dos hombres normales se detectaron 2 y 3 pulsos en el período de 6 horas con intervalo interpulso de 60 a 150 minutos, que equivale a la frecuencia y amplitud reportada como normal por otros autores.

La amplitud de los pulsos en los pacientes que fueron clasificados en el primer grupo (OI) no mostraron diferencias con respecto de los valores calculados en los sujetos normales. En los pacientes del segundo grupo por el contrario no se encontraron datos suficientes para el cálculo de la amplitud. Esto muy probablemente se debe a que la concentración de LH se determinó por el método de RIA que tiene menor sensibilidad que otros métodos. Algunas de las diferencias que se pueden deber a los sesgos en la selección de los pacientes o a verdaderas diferencias individuales se hacen patentes en el caso de la diferencia de amplitud que se apreció en el paciente I con respecto de los normales.

La diferencia detectada en el patrón de pulsatilidad de LH en los pacientes con oligospermia idiopática podría explicarse por un tono distinto de opioides

endógenos en el sistema nervioso central. Esto se puede fundamentar en la respuesta de LH a la infusión de naloxona ya que en los pacientes con Oligospermia idiopática se encontró mayor liberación de LH en el periodo de administración del fármaco.

La incapacidad para demostrar diferencias en el patrón de pulsatilidad de la hormona luteinizante en los hombres normales posterior a la infusión de la naloxona en este estudio podría ser que el periodo de observación fue muy corto ya que en estudios previos el incremento de la pulsatilidad de LH se ha demostrado en periodos de muestreo de 8 horas.(13,14) De cualquier manera la respuesta aguda de LH a la naloxona en los pacientes con Oligospermia idiopática pudiera ser compatible con una reserva hipofisaria aumentada de gonadotropinas.

Dos evidencias derivadas de estudios clínicos y experimentales parecen confirmar que la frecuencia de pulsatilidad de GnRH es dependiente de el tono de sustancias opioides en el sistema nervioso central. Una de estas evidencias es que la administración de naloxona o naltrexona produce incremento de la frecuencia de pulsatilidad de LH en hombres normales.(14,15) La otra es que en condiciones de cultivo in vitro las neuronas secretoras de GnRH aisladas del cerebro tienen una frecuencia constante de descarga. Considerando este dato puede asumirse entonces que el patrón de pulsatilidad de LH parece guardar una relación con las condiciones del estado funcional del eje testicular.

En el análisis a primera vista de los datos de la pulsatilidad de LH parece existir una espectro de alteraciones que van desde el estado normal hasta la ausencia de la pulsatilidad y la falta de la respuesta a la infusión de la naloxona. De acuerdo con los datos que aquí se presentan la menor frecuencia de la pulsatilidad de GnRH en los pacientes con OI puede ser debida a una alteración a nivel central. Esta podría ser a su vez ser el resultado de una deficiente regulación por el sistema opioide o por alteración intrínseca de las neuronas peptidérgicas que secretan GnRH. En cualquiera de los dos casos la secuencia de eventos sería que la disminución en la frecuencia de descarga de GnRH conduciría a la secreción de moléculas de LH con

menor actividad biológica lo cual tendría como resultado final la falta de estimulación de las células de Leydig, falta de producción de testosterona y deficiente espermatogénesis.(11)

De alguna manera los resultados que aquí se presentan, aunque no aportan información acerca de las características de la actividad biológica de LH, si demuestran que la concentración sérica de esta hormona en los pacientes con OI es menor que en los sujetos con daño testicular incipiente y que en los individuos normales.

El esquema teórico para explicar las alteraciones que se encontraron en los pacientes con daño testicular incipiente es diferente. En este caso las alteraciones principales deben encontrarse en el sistema paracrina de regulación intratesticular, las cuales conducen a un imbalance en la secreción de la testosterona y de inhibina que en consecuencia alteran la secreción pulsátil de GnRH. La disminución de la frecuencia de pulsatilidad de LH en estos pacientes favorecería la secreción preferencial de FSH.(24)

Un aspecto que amerita ser explicado es la razón de que la concentración sérica de testosterona de los pacientes con daño testicular fuera mayor que en los pacientes con OI y que en los sujetos normales a pesar de que la frecuencia de la pulsatilidad es menor. En estudios previos hemos observado que en los pacientes con daño testicular la comunicación Leydig-Sistema nervioso central, se mantiene hasta cierto nivel, rebasado el cual la célula de Leydig parece funcionar de manera autónoma. Esta disociación podría explicar satisfactoriamente los hallazgos en estos pacientes.

En estudios posteriores es importante definir si la prueba de infusión de naloxona pudiera convertirse en una prueba clínica para la identificación de los pacientes con OI, los cuales en nuestra opinión pueden ser candidatos al tratamiento médico.(35) La ausencia de efectos colaterales de este medicamento así como su sensibilidad en la detección de alteraciones funcionales del eje neuroendocrino

testicular y la menor invasividad de la prueba comparado con el muestreo prolongado, lo convierten en un agente farmacológico potencial para incorporarse en el diagnóstico clínico.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hull MGR, Glazener CMA, Kelly NJ. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *British Medical Journal* 1985; 291: 1693-1697.
- 2.- The ESHRE Capri Workshop Group. Male sterility and subfertility: guidelines for management. *Human Reprod* 1994; 9(7): 1260-1264.
- 3.- Wang C, Swerdloff R. Medical treatment of male infertility. En Keye W, Chang J, Rebar R, Soules M. *Infertility evaluation and treatment*. W.B: Saunders Company 1995: 609-620.
- 4.- Hoffman A and Crowley W. Induction of puberty in men by long term pulsatile administration of low dose gonadotropin-releasing hormone. *N. Engl J Med* 1982; 307(20): 1237-1241.
- 5.- O'Donovan P, Vandekerckhove P, Lilford R, Hughes E. Treatment of male infertility: is it effective? Review and meta-analyses of published randomized controlled trials. *Human Reprod.* 1993; 8(8): 1209-1222.
- 6.- Patten Bradley M. *Embriología humana*. 3ª Ed. 1976; McGraw- Hill Inc: pp. 7-34.
- 7.- Claire Huckins. Development of the testes and establishment of spermatogenesis. En Lijshultz Larry. *Infertility inb the male*. 1983; Churchill Livingstone Inc. pp 1-17 .
- 8.- Netter Frank H. *Anatomía normal del tracto genital masculino*. Colección Ciba de ilustraciones medicas . Tomo II . Sistema reproductor. Salvat 1ª Ed 1979; pp 7-26.
- 9.- Ashman W. Perspectives in the male sexual physiology of eutherian mammal. En Knobil Ernst. *The physiology of reproduction* . 1ª Ed Raven Press 1988: 727-752.
- 10.- Veldhuis Johannes. Hypothalamic- pituitary- testis axis . En Yen SCC and

- Jallé RB. Reproductive Endocrinology. 3^a Ed W.B: Saunders Company 1991: pp 434-476.
- 11.- Veldhuis J, Urban RJ, Beitins IZ, Blizzard RM et al. Pathophysiological features of the pulsatile secretion of biologically active luteinizing hormone in man. *J Steroid Biochem* 1989; 33(4B): 739-749.
 - 12.- Gooren Lomis . Androgens and Estrogens in their negative feedback action in the hypothalamo-pituitary testis axis. Sites of action and evidence of their interaction. *J Steroid Biochem* 1989; 33(4B): 757-761.
 - 13.- Ellingboe I, Veldhuis J, Mendelson J, et al. Effect of endogenous opioid blockade on the amplitude and frequency of pulsatile luteinizing hormone secretion in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 854-857.
 - 14.- Veldhuis J and Dufau ML. Endogenous opiates modulate the pulsatile secretion of biologically active luteinizing hormone in man. *J Clin Invest* 1983; 72: 2031-2040.
 - 15.- Genazzani AR and Petraglia F. Opioid control of luteinizing hormone secretion in humans. *J Steroid Biochem* 1989; 33(4B): 751-755.
 - 16.- Kletter GB, Foster CM, Brown MB et al. Naloxone does not reverse the suppressive effect of testosterone infusion on LH secretion in pubertal boys. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 1241-47.
 - 17.- Kletter GB, Foster CM, Beitins IZ et al. Acute effects of testosterone infusion and naloxone on luteinizing hormone secretion in normal men . *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1215-1219.
 - 18.- Matsumoto AM and Bremner WJ. Endocrine control of human spermatogenesis. *J Steroid Biochem* 1989; 33 (4B): 789-790.
 - 19.- Skinner MK. Cell-cell interaction in the testis. *Endocrine Review* 1991; 12: 44-47.
 - 20.- Kretser DM. The cytology of the testis . En Knobil Ernst. The physiology of reproduction . 1^a Ed 1988 Raven Press: pp. 837-922.
 - 21.- Martin-du Pan R and Campana A. Physiopathology of spermatogenic arrest.

Fertil Steril 1993; 60: 937-946.

22.- Organización mundial de la salud . Manual de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. 3ª Ed. Medica Panamericana S:A: 1992; pp. 37.

23.- Villanueva CA, Diaz Perez MA, Aguilera Suarez G y cols. Estudio clinico de la infertilidad masculina. Ginec Obstet Mex 1994; 62: 69-81.

24.- Gross KM, Matsumoto AM , Southworth MB and Bremner. Evidence for decreased luteinizing hormone-releasing hormone pulse frequency in men with selective elevations of FSH. J Clin Endocrinol 1985; 60: 197-201.

25.- Levalle OA, Aszennil G , Espinola B, et al. Altered pulsatile pattern of luteinizing hormone in men with idiopathic normogonadotropic oligospermia. Fertil Steril 1988; 50: 337-342.

26.- Wieland R, Ansari AH, Klein D, Doshi N, Marvin H and Jeffrey C.. Idiopathic oligospermia : Control , observation and response to cisclonidine. Fertil Steril 1972; 23: 471-474.

27.- Kretser DM, Burger HG, Fortune D, Hudson B, Long R, Pausen CA, Taft HP. Hormonal, histological and chromosomal studies in adult males with testicular disorders. J Clin Endocrinol Metab 1972; 35: 392-98.

28.- Kretser DM, Burger HG, Hudson B. The relationship between germinal cells and serum FSH levels in males with infertility. J Clin Endocrinol Metab 1974; 38: 787-793.

29.- Giagiulli VA, Vermeulen A. Leydig cell function in infertile men with idiopathic oligospermic infertility. J Clin Endocrinol Metab 1988; 66: 62-67.

30.- Both J, Merian G, Clark R, Loriaux DL, Sherins RJ. Evidence for leydig cell dysfunction in infertility men with a selective increase in plasma follicle stimulating hormone. J Clin Endocrinol Metab 1987; 64: 1194-1198.

31.- Wu FC, Taylor PL and Sellar RE. LHRH pulse frequency in normal and infertility men. J Endocrinol 1989; 123: 149-158.

32.- Bennet A, Bujan L, Plantavid M, Barbe P, Caron PH, Louvet JP. Luteinizing

- hormone pulse frequency and in vitro bioactivity in men idiopathic infertility. *Fertil Steril* 1991; 55: 612-618.
- 33.- Schwirztein L, Aparicio NJ, Turner D, et al. Pituitary and testicular response to hypothalamic LHRH in normal and oligospermic men. *Int J Fertil* 1976; 21: 96-102.
- 34.- Levalle OA, Aszennil G, Espinola B, et al. Altered pulsatile pattern of luteinizing hormone in men with idiopathic normogonadotropic oligospermia. *Fertil Steril* 1988; 50: 337-342.
- 35.- Spratt DI, Carr DB, Merriam GR et al. The spectrum of abnormal patterns of gonadotropin-release hormone secretion in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: Clinical and laboratory correlations. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 283-291.
- 36.- Martin-du Pan and Bichof P. Increased follicle stimulating hormone in infertile men. *Human Reprod* 1995; 10: 1940-50.
- 37.- Echavarría SM, Carranza LS, Barron GA, Villanueva C. Correlación morfo-funcional del eje hipotálamo-hipófisis testículo en pacientes con síndrome de células de Sertoli. *Ginecol Obstet Mex* 1993; 61 (suppl 1): 52.
- 38.- Echavarría SM, Barron A, Torres A, Carranza S, Villegas H y Villanueva C. Cambios en la reserva hipofisiaria de gonadotropinas en relación al daño testicular. *Perinatol Reprod Hum* 1994 ; 8: 83-90.
- 39.- Girgis SM, Hafez ESE. Evaluation of testicular biopsy. En : Hafez ESE (Ed). *Techniques in human andrology* (Vol. 1) Elsevier North Holland Biomedical Press, Amsterdam 1977; 83-112.
- 40.- Santen RJ and Bardin CW. Episodic luteinizing hormone secretion in men: pulse analysis, clinical interpretation, physiologic mechanisms. *J Clin Invest* 1973; 52: 2617-2628.
- 41.- Levalle OA, Zylberstein C, Azpis S. Serum luteinizing hormone pulsatility and intratesticular testosterone and oestradiol concentrations in idiopathic infertile men with high and normal follicle stimulating hormone serum concentrations. *Human*

Reprod 1994; 9: 781-787.

42.-Veldhuis J, Johnson M, and Dufau M. Physiological attributes of endogenous bioactive luteinizing hormone secretory bursts in man. Am J Physiol 1989; 256 (EM 19): E199-E207.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA