

11204



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
SUBDIRECCION DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

6
2ej

Castelazo

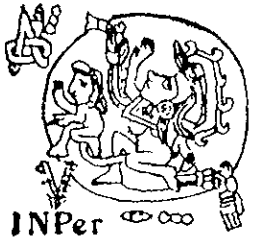
DR. ERNESTO CASTELAZO MORALES
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DR. ANTONIO ESPINOSA DE LOS MONTEROS
PROFESORA TITULAR
ASTENOCOSPERMIA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE LA
REPRODUCCION HUMANA
PRENATAL:
DR. JOSE ALONSO ORDOÑEZ ZAVALA
DIRECCION DE ENSEÑANZA

ASESOR: DR. ALFONSO G. CARRERA RIVAPALACIC



MEXICO, D. F.

1968

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

268746



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:

AL DR. ALFONSO G. CARRERA RIVAPALACIO
POR SU APOYO Y ASESORIA.

A MIS MAESTROS Y AMIGOS.

INDICE

ESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE	2
FUNCIONES DEL ESPERMATOZOIDE	3
TRANSPORTE DE ESPERMATOZOIDES	5
EVALUACION DE LA MOVILIDAD ESPERMATICA	7
ASTENOZOOSPERMIA AISLADA	9
CAUSAS DE ASTENOZOOSPERMIA AISLADA	9
DEFECTOS AXONEMALES	10
DEFICIENCIA DE PROTEIN CARBOXIL METILASA	11
ANTICUERPOS ANTIESPERMA	12
INFECCION	13
VARICOCELE	15
FACTORES EN PLASMA SEMINAL	15
DEFECTOS FUNCIONALES DEL FLAGELO	17
TRATAMIENTO	17
BIBLIOGRAFIA	23

ESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE

El espermatozoide es el producto final del proceso de gametogénesis en el varón, la cual ocurre dentro de los túbulos seminíferos del testículo. El espermatozoide de mamífero tiene 2 componentes principales la cabeza y el flagelo (Eddy, 1994).

ESTRUCTURA DE LA CABEZA

La cabeza consiste de las siguientes partes : a) acrosoma, b) núcleo y c) pequeñas cantidades de estructuras citoesqueléticas y citoplasma. El acrosoma está rodeado por una membrana y contiene enzimas hidrolíticas que cubren la extremidad anterior del núcleo. El núcleo contiene un sólo miembro de cada par de cromosomas, y la cromatina está altamente condensada.

Una característica única de los espermatozoides es que la membrana plasmática está subdividida en dominios regionales bien delineados que difieren en composición y función.

Los principales dominios de la membrana plasmática sobre la cabeza espermática de la mayoría de los mamíferos son : a) la región acrosomal (cabeza anterior) y b) la región post-acrosomal (cabeza posterior). El margen entre las regiones acrosomal y post-acrosomal puede ser delimitado por la banda endentada, la cual rodea la cabeza espermática en el margen posterior del segmento ecuatorial.

El anillo posterior (anillo nuclear) está en la unión entre la cabeza y la cola formando aparentemente un sello hermético entre los compartimientos citoplásmicos de las dos principales porciones del espermatozoide (Eddy, 1994).

El acrosoma está localizado en la extremidad anterior de la cabeza, próxima a la superficie inferior de la membrana plasmática y está profundamente endentada posteriormente por el núcleo. Aunque los espermatozoides son uniformes en tamaño y forma en la mayoría de las especies, hay frecuentemente variabilidad en la forma y tamaño de la cabeza espermática en los humanos, aún en individuos fértiles.

El acrosoma se origina del complejo de Golgi en la espermatide y contiene las enzimas necesarias para que el espermatozoide penetre a través de las cubiertas del huevo para lograr la fertilización.

Durante la reacción acrosomal, la membrana acrosomal más externa se funde, y la mayoría de los contenidos acrosomales son descargados.

ESTRUCTURA DEL FLAGELO

El flagelo consiste de 4 distintos segmentos : a) la pieza conectante (cuello), b) la pieza media, c) la pieza principal y d) la pieza terminal (Eddy, 1994).

Los principales componentes estructurales dentro del flagelo del espermatozoide de mamífero son : a) el axonema, b) la vaina o cubierta mitocondrial, c) las fibras densas externas y d) la vaina fibrosa.

Los principales componentes de la pieza conectante son : a) el capitulum (placa fibrosa densa que da forma a la fosa de implantación) y b) las columnas segmentadas.

Los filamentos finos que atraviesan la región angosta entre el capitulum y la placa basal presumiblemente son los responsables de la unión del capitulum del flagelo a la placa basal de la cabeza.

Extendiéndose desde el capitulum en la parte posterior están usualmente 2 columnas segmentadas mayores y 5 menores de 1 a 2 Mm de longitud. Las 2 columnas mayores se

dividen en 2 columnas cada una, a lo largo con las otras 5 columnas, se funden a las 9 fibras densas externas, y se extienden a través de la mayoría de la longitud restante del flagelo.

El axonema o complejo filamento axial de la cola espermática, consiste de 2 microtúbulos centrales rodeados por 9 pares de microtúbulos. Cada par consiste de un microtúbulo A completo, sobre el cual está fijo un microtúbulo B. Dos brazos se extienden desde el microtúbulo A hasta el microtúbulo B del par adyacente.

La dineína fue originalmente identificada en el axonema del espermatozoide del erizo de mar. Tiene actividad ATP y se mueve unidireccionalmente hacia la extremidad negativa de los microtúbulos. Es responsable de las fuerzas de deslizamiento generadas entre pares adyacentes de microtúbulos durante el movimiento flagelar. El ATP ha sido extraído de espermatozoides de mamíferos e identificado por citoquímica sobre los brazos de los pares y en la unión entre brazos radiales y túbulo central en el espermatozoide humano.

Vaina mitocondrial. Las mitocondrias envuelven helicoidalmente a las fibras densas externas en la pieza media de la cola espermática. Tienen generalmente un arreglo termino-terminal, pero el número de hélices paralelos, el número de giros y la longitud de la pieza media varían entre las especies.

La vaina mitocondrial se adhiere a un complejo subyacente de filamentos denominado el retículo submitocondrial (SMR). El complejo SMR puede funcionar en la unión y mantenimiento del orden de mitocondrias en la pieza media.

Fibras densas externas. Las 9 fibras densas externas se sitúan externas al axonema en la pieza media y la mayoría de la pieza principal del flagelo del espermatozoide de mamífero. Las fibras son más gruesas en la parte proximal de la pieza media y gradualmente se adelgazan hacia la cola distal. Ocupan el 60% de la longitud de la pieza principal en humanos.

Las proteínas de las fibras densas externas contienen altas cantidades de cisteína, tirosina, prolina, y glicina pero menos cantidades de ácido glutámico.

Vaina fibrosa. La vaina fibrosa define la extensión de la pieza principal. Esta estructura citoesquelética es única para el flagelo de espermatozoides de mamíferos y algunas aves. Está estrechamente subyacente a la membrana plasmática pero no directamente ligada a ésta. Es un cilindro ahusado formado por 2 columnas longitudinales conectadas por arcos circunferenciales. Las columnas longitudinales sustituyen a las fibras densas externas 3 y 8 en la pieza principal. Las proteínas de la vaina fibrosa son estabilizadas por uniones disulfuro (Eddy, 1994).

FUNCIONES DEL ESPERMATOZOIDE

FUNCION DE LA CABEZA

El espermatozoide de mamífero eyaculado y previamente madurado en el epidídimo, no está todavía listo para fertilizar óvulos. Debe residir en el tracto genital femenino por algún tiempo y padecer cambios endógenos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos (capacitación y reacción acrosomal) antes de adquirir la capacidad fertilizante (Yamamoto, 1991).

En especies en las cuales los espermatozoides son depositados en la vagina en el coito (ej. conejo y humano), la capacitación puede comenzar mientras los espermatozoides están pasando a través del cérvix o moco cervical. No se sabe si los espermatozoides fertilizantes completan su capacitación en el útero antes de migrar dentro del oviducto. Virtualmente no

dividen en 2 columnas cada una, a lo largo con las otras 5 columnas, se funden a las 9 fibras densas externas, y se extienden a través de la mayoría de la longitud restante del flagelo.

El axonema o complejo filamento axial de la cola espermática, consiste de 2 microtúbulos centrales rodeados por 9 pares de microtúbulos. Cada par consiste de un microtúbulo A completo, sobre el cual está fijo un microtúbulo B. Dos brazos se extienden desde el microtúbulo A hasta el microtúbulo B del par adyacente.

La dineína fue originalmente identificada en el axonema del esperma del erizo de mar. Tiene actividad ATP asa y se mueve unidireccionalmente hacia la extremidad negativa de los microtúbulos. Es responsable de las fuerzas de deslizamiento generadas entre pares adyacentes de microtúbulos durante el movimiento flagelar. El ATP ha sido extraído de espermatozoides de mamíferos e identificado por citoquímica sobre los brazos de los pares y en la unión entre brazos radiales y túbulos centrales en el espermatozoide humano.

Vaina mitocondrial. Las mitocondrias envuelven helicoidalmente a las fibras densas externas en la pieza media de la cola espermática. Tienen generalmente un arreglo termino-terminal, pero el número de hélices paralelos, el número de giros y la longitud de la pieza media varían entre las especies.

La vaina mitocondrial se adhiere a un complejo subyacente de filamentos denominado el retículo submitocondrial (SMR). El complejo SMR puede funcionar en la unión y mantenimiento del orden de mitocondrias en la pieza media.

Fibras densas externas. Las 9 fibras densas externas se sitúan externas al axonema en la pieza media y la mayoría de la pieza principal del flagelo del espermatozoide de mamífero. Las fibras son más gruesas en la parte proximal de la pieza media y gradualmente se adelgazan hacia la cola distal. Ocupan el 60% de la longitud de la pieza principal en humanos.

Las proteínas de las fibras densas externas contienen altas cantidades de cisteína, tirosina, prolina, y glicina pero menos cantidades de ácido glutámico.

Vaina fibrosa. La vaina fibrosa define la extensión de la pieza principal. Esta estructura citoesquelética es única para el flagelo de espermatozoides de mamíferos y algunas aves. Está estrechamente subyacente a la membrana plasmática pero no directamente ligada a ésta. Es un cilindro ahusado formado por 2 columnas longitudinales conectadas por arcos circunferenciales. Las columnas longitudinales sustituyen a las fibras densas externas 3 y 8 en la pieza principal. Las proteínas de la vaina fibrosa son estabilizadas por uniones disulfuro (Eddy, 1994).

FUNCIONES DEL ESPERMATOZOIDE

FUNCION DE LA CABEZA

El espermatozoide de mamífero eyaculado y previamente madurado en el epidídimo, no esta todavía listo para fertilizar óvulos. Debe residir en el tracto genital femenino por algún tiempo y padecer cambios endógenos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos (capacitación y reacción acrosomal) antes de adquirir la capacidad fertilizante (Yamamoto, 1991).

En especies en las cuales los espermatozoides son depositados en la vagina en el coito (ej. conejo y humano), la capacitación puede comenzar mientras los espermatozoides están pasando a través del cérvix o moco cervical. No se sabe si los espermatozoides fertilizantes completan su capacitación en el útero antes de migrar dentro del oviducto. Virtualmente no

se sabe acerca de las condiciones o factores directamente controlando la capacitación de espermatozoides dentro del tracto genital femenino.

Embarazos posteriores a la transferencia intrafalopiana de gametos (GIFT) sugieren que el espermatozoide humano no requiere del útero y de la región ístmica del oviducto para capacitarse. Embarazos obtenidos por inseminación intraperitoneal directa (DIPI), sugieren que la capacitación espermática es posible en la cavidad peritoneal y/o en la porción ampular. Estos hechos evidencian la inespecificidad orgánica de la capacitación *in vivo* (Yanagimachi, 1994).

El acrosoma es una membrana que cubre los 2 tercios anteriores de la cabeza espermática. La reacción acrosomal se refiere a la serie de cambios en el acrosoma conduciendo a la eventual pérdida de la membrana externa. De ésta manera permite la liberación de enzimas hidrolíticas del acrosoma entre las cuales se encuentran la hialuronidasa, una enzima penetrante de corona (CPE), acrosina, y una enzima neuraminidasa, entre otras. Estas enzimas intervienen para penetrar las capas que envuelven al óvulo.

Una vista simplificada de la penetración del óvulo es como sigue: La reacción acrosómica comienza cuando el espermatozoide se acerca al óvulo. En la mayoría de las especies el cumulus oophorus consiste de cumulus de células y su matriz, ácido hialurónico. Aunque el cumulus es dispersado para cuando el espermatozoide llega, se cree que el ácido hialurónico liberado de la membrana espermática digiere algún cumulus de matriz residual y permite al espermatozoide penetrarlo. Una segunda enzima, tal como CPE, dispersa la corona radiada. La ZP3 en la zona pellúcida, se une a un receptor en la superficie espermática. La acrosina asiste al esperma en esta vía al través de la zona por aclaramiento de proteínas mientras la flagelación de la cola del espermatozoide empuja la cabeza espermática a través de la misma. Una vez que es penetrada por un espermatozoide normal la zona pellúcida sufre la "reacción de zona" la cual cambia las características de penetrabilidad de las proteínas de zona y previene la entrada de otros espermatozoides. Así, la cabeza espermática cruza el espacio perivitelino y se liga a la membrana celular del óvulo. Se cree que esta unión es debida a la ligadura receptor-ligando entre el esperma y la membrana vitelina. El esperma y la membrana vitelina se fusionan, y el esperma es gradualmente incorporado dentro del óvulo, donde la descondensación y singamia (fusión con el pronúcleo femenino) ocurre y se completa el proceso de fertilización (Yamamoto, 1991).

FUNCIONES DEL FLAGELO

Las características estructurales especializadas de los espermatozoides son un reflejo de sus actividades funcionales únicas. El flagelo contiene las fuentes de energía y maquinaria necesaria para producir movilidad que llevará al espermatozoide al sitio de fertilización y la capacidad de penetración a través de la zona pellúcida (Eddy, 1994).

La estructura básica responsable para generación de movimiento flagelar es el axonema, y consiste de un patrón único 9 + 2 pares microtubulares. Los nueve pares externos consisten de subfibras A y B, ambas compuestas de dímeros de tubulina. Proyectándose desde los pares microtubulares están los brazos de dineína interno y externo, los cuales interactúan con los pares adyacentes para producir deslizamiento del axonema (Motores moleculares que acoplan la hidrólisis del ATP a movimiento) (McConnell, 1997).

La dineína es la adenosintrifosfatasa (ATP asa) dependiente de magnesio, presente sobre los brazos del par microtubular, la cual proporciona la fuerza de impulsión para el

movimiento flagelar y ciliar. La dineína se ha estudiado extensamente en los cilios de tetrahymena, flagelo de Chlamydomonas, y flagelo de erizo de mar. Sin embargo, no ha sido bien caracterizada en especies vertebradas.

Los brazos de dineína en el axonema intacto forman puentes cruzados con la subfibra-B de los pares microtubulares adyacentes.

Los pares microtubulares constituyen las estructuras citoesqueléticas que interactúan con la dineína para producir deslizamiento (McConnell, 1997)

Las ligaduras de nexina (o puentes), están fijas al microtúbulo A, y así conectan parejas microtubulares, y los brazos radiales se extienden desde cada uno de los 9 pares microtubulares externos hacia el par microtubular central. Los 2 microtúbulos centrales semejan a los microtúbulos A y están unidos uno al otro a lo largo de su longitud por puentes cruzados espaciados regularmente.

Aunque los brazos de dineína internos y externos contienen los mecanismos enzimáticos responsables del movimiento flagelar, los otros componentes del axonema (par microtubular central, brazos radiales, ligaduras de nexina y placa basal) son necesarios para la conversión de deslizamiento microtubular en onda flagelar, también como para la modulación de la onda flagelar (McConnell, 1997).

Las fibras densas externas tienen abundancia de enlaces disulfuro que pueden endurecer la cola espermática, proporcionar retroceso elástico y alterar la amplitud de la onda flagelar. La vaina fibrosa puede alterar la onda flagelar y puede tener un impacto directo sobre los movimientos de deslizamiento responsables del batimiento flagelar (Eddy, 1994).

Regulación molecular de la movilidad espermática.

Una variedad de factores parecen estar involucrados en la iniciación y regulación de la movilidad espermática, pero no hay unificación de hipótesis de cómo estos factores interactúan para producir actividad flagelar coordinada.

La movilidad espermática es un proceso que involucra una cascada de eventos mediados por AMPc y Ca^{2+} . El AMPc en la iniciación de movimiento flagelar, y el Ca^{2+} en la regulación de batimiento asimétrico. Se ha sugerido que estos 2 mensajeros actúan a través de fosforilación/ defosforilación de proteica (Eddy, 1994).

La adenilato ciclasa se ha identificado en espermatozoides de mamíferos. Esta es una enzima membranar que cataliza la formación de AMPc a partir de ATP.

Mientras la producción de AMP cíclico está regulada por la adenil ciclasa, la inactivación de este importante segundo mensajero se completa por fosfodiesterasas.

El papel principal del AMPc en el esperma es probablemente mediando la fosforilación de proteínas esenciales estimulada (Garbers, 1980) para iniciación o mantenimiento de la movilidad. El ATP es convertido a AMPc por una adenilato ciclasa dependiente de calcio que puede ser controlada parcialmente por calmodulina.

Los iones de bicarbonato, en presencia de calcio, elevan los niveles de AMPc en la cauda espermática. El ATP es requerido para la movilidad, y uno de sus papeles es su interacción con ATP asadas asociadas con los brazos de dineína para promover deslizamiento de los pares externos (Gibbons, 1981).

TRANSPORTE DE LOS ESPERMATOZOIDES

La espermatogénesis termina con la liberación de espermatozoides inmóviles desde las células de Sertoli hacia el interior de la luz de los túbulos seminíferos, atraviesan

movimiento flagelar y ciliar. La dineína se ha estudiado extensamente en los cilios de tetrahymena, flagelo de Chlamydomonas, y flagelo de erizo de mar. Sin embargo, no ha sido bien caracterizada en especies vertebradas.

Los brazos de dineína en el axonema intacto forman puentes cruzados con la subfibra-B de los pares microtubulares adyacentes.

Los pares microtubulares constituyen las estructuras citoesqueléticas que interactúan con la dineína para producir deslizamiento (McConnell, 1997)

Las ligaduras de nexina (o puentes), están fijas al microtúbulo A, y así conectan parejas microtubulares, y los brazos radiales se extienden desde cada uno de los 9 pares microtubulares externos hacia el par microtubular central. Los 2 microtúbulos centrales semejan a los microtúbulos A y están unidos uno al otro a lo largo de su longitud por puentes cruzados espaciados regularmente.

Aunque los brazos de dineína internos y externos contienen los mecanismos enzimáticos responsables del movimiento flagelar, los otros componentes del axonema (par microtubular central, brazos radiales, ligaduras de nexina y placa basal) son necesarios para la conversión de deslizamiento microtubular en onda flagelar, también como para la modulación de la onda flagelar (McConnell, 1997).

Las fibras densas externas tienen abundancia de enlaces disulfuro que pueden endurecer la cola espermática, proporcionar retroceso elástico y alterar la amplitud de la onda flagelar. La vaina fibrosa puede alterar la onda flagelar y puede tener un impacto directo sobre los movimientos de deslizamiento responsables del batimiento flagelar (Eddy, 1994).

Regulación molecular de la movilidad espermática.

Una variedad de factores parecen estar involucrados en la iniciación y regulación de la movilidad espermática, pero no hay unificación de hipótesis de como estos factores interactúan para producir actividad flagelar coordinada.

La movilidad espermática es un proceso que involucra una cascada de eventos mediados por AMPc y Ca^{2+} . El AMPc en la iniciación de movimiento flagelar, y el Ca^{2+} en la regulación de batimiento asimétrico. Se ha sugerido que estos 2 mensajeros actúan a través de fosforilación/ defosforilación de proteica (Eddy, 1994).

La adenilato ciclasa se ha identificado en espermatozoides de mamíferos. Esta es una enzima membranal que cataliza la formación de AMPc a partir de ATP.

Mientras la producción de AMP cíclico está regulada por la adenil ciclasa, la inactivación de este importante segundo mensajero se completa por fosfodiesterasas.

El papel principal del AMPc en el espermatozoide es probablemente mediando la fosforilación de proteínas esenciales estimulada (Garbers, 1980) para iniciación o mantenimiento de la movilidad. El ATP es convertido a AMPc por una adenilato ciclasa dependiente de calcio que puede ser controlada parcialmente por calmodulina.

Los iones de bicarbonato, en presencia de calcio, elevan los niveles de AMPc en la cauda espermática. El ATP es requerido para la movilidad, y uno de sus papeles es su interacción con ATP asas asociadas con los brazos de dineína para promover deslizamiento de los pares externos (Gibbons, 1981).

TRANSPORTE DE LOS ESPERMATOZOIDES

La espermatogénesis termina con la liberación de espermatozoides inmóviles desde las células de Sertoli hacia el interior de la luz de los túbulos seminíferos, atraviesan

aproximadamente 6 metros en el tracto reproductivo masculino antes de salir del meato uretral para ser depositados en la vagina (Paz,1988)

Con las contracciones rítmicas de las células mioideas peritubulares de los túbulos seminíferos, y/o cápsula testicular, se facilita la liberación de los espermatozoides hacia el interior de la rete testis, los vasos eferentes y el epidídimo.

El transporte a través de la porción proximal del epidídimo es debido a contracciones peristálticas espontáneas de músculos lisos que rodean el ducto epididimario, pero es asistida por presión hidrostática la cual es mayor en la cabeza que en la parte proximal de la cauda. El movimiento al través de las regiones distales del epidídimo es contra un gradiente de presión y es el resultado de peristalsis intermitente del ducto epididimario, particularmente al tiempo de la eyaculación.

Se han propuesto mecanismos adrenérgicos, colinérgicos y la vasopresina, como los factores que regulan la actividad peristáltica epididimaria. Así como la prostaglandina F2alfa que aumenta la frecuencia y amplitud de las contracciones.

El tiempo requerido para el tránsito a través de la cabeza del epidídimo y el cuerpo es de 3 a 5 días y es independiente de la eyaculación. La variación en el tiempo total de tránsito epididimario (10 a 15 días) se debe a diferencias en la tasa de pasaje a través de la cauda) (Paz,1988).

El espermatozoide de mamífero está altamente diferenciado en el momento que sale del testículo, pero no tiene la capacidad para moverse progresivamente hasta que alcanza el epidídimo. Así, los espermatozoides tomados de los conductos eferentes y suspendidos en medio de cultivo exhiben muy pobre, si es que alguna movilidad.

El movimiento lineal parece requerir la presencia de una proteína epididimaria específica, I que aunque no ha sido bien estudiada en el humano, ha sido estudiada en el toro (McConnell, 1997).

Ocurren cambios bioquímicos en el espermatozoide durante el tránsito epididimario, que incluyen la formación de uniones disulfuro dentro de la cola espermática y núcleo, la oxidación de la membrana plasmática por grupos sulfhidrilo que incrementa la capacidad para glucólisis, la modificación de la actividad adenilatociclasa, así también la alteración del contenido de fosfolípido en la membrana. Otros estudios (McConnell, 1997) sugieren que la maduración de la movilidad está primariamente relacionada a la edad del espermatozoide durante el tránsito epididimario, más que a efectos específicos del epidídimo sobre el mismo espermatozoide. Estudios microquirúrgicos (Patrizio, 1994), sugieren que el espermatozoide móvil puede ser obtenido de la cabeza del epidídimo siguiendo a la vasoepididimostomía. Se requieren más estudios para determinar el papel preciso del epidídimo en la maduración de la movilidad.

El epidídimo es un órgano andrógeno dependiente. Los efectos regulatorios de los andrógenos sobre el epidídimo parecen estar mediados por dihidrotestosterona (Silver, 1994).

La inmovilidad de los espermatozoides en el epidídimo se mantiene por una variedad de mecanismos, incluyendo la alta tensión de CO₂, constricción mecánica, así como sustancias específicas inhibitoras de la movilidad en el fluido epididimario (Usselman, 1983).

En humanos, el tránsito espermático a través de los vasos deferentes ocurre principalmente al tiempo de la eyaculación, ya que no hay evidencia que contracciones espontáneas ocurran *in vivo*. En animales experimentales y el hombre los vasos deferentes

contienen grandes cantidades de catecolaminas y están inervados por abundantes fibras adrenérgicas que pueden causar contracción cuando son estimuladas (Paz, 1988).

En el estadio preeyaculatorio las vesículas seminales se vuelven tensas y comienzan a mostrar movimientos peristálticos. Sin embargo, en este estadio se observa que la ampolla presenta contracción activa, expulsando su contenido hacia el interior de la uretra posterior a través del conducto eyaculador obviando las vesículas seminales (Paz, 1988).

Durante la eyaculación el semen es liberado por medio de contracciones poderosas, cortas mediadas adrenérgicamente, de la cola distal del epidídimo y de los vasos deferentes ; los espermatozoides se mezclan con las secreciones de las glándulas ampulares, de las vesículas seminales, de la próstata y de las glándulas uretrales y de Cowper. Al tiempo de la eyaculación las constricciones mecánicas sobre el movimiento del esperma son eliminadas y algunos factores inhibidores de la movilidad presentes son presumiblemente diluidos por el plasma seminal.

EVALUACION DE LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA

Una variedad de técnicas han sido descritas para evaluar la movilidad espermática. Basicamente se puede decir que existen métodos manuales y automatizados. De cualquier manera, la subjetividad en la evaluación de la movilidad ha preocupado a los investigadores durante muchos años. Se han propuesto métodos sofisticados para la objetivación : Botella Lluisa (1956) utilizó vasos de vidrio graduados y midió el tiempo requerido por las células espermáticas para viajar de uno a otro extremo del vaso. Janick y McLeod (1970) midieron el curso de las células espermáticas por unidad de tiempo sobre microfilm, y Castenholz (1974) utilizó el enfoque fotoquimográfico. Jecht y Russo (1973) utilizaron un método de circuito cerrado que comprendía una cinta de video, un display de datos digital, y una computadora. Jouannet y col. (1977) propusieron un método con determinación por dispersión de luz de la movilidad de los espermatozoides y Katz y Overstreet (1981) diseñaron un método basado en videomicrografía. Mackler (1978) diseñó una cámara de recuento especial con medición de la movilidad con técnica fotográfica que mejoró posteriormente con técnica computarizada (1980) (Glezerman, 1988)

Varias técnicas para la determinación objetiva de la movilidad espermática se han desarrollado en años recientes. La OMS recomienda un sistema sencillo de graduación sin requerir equipo complejo ; un volumen de 10 microlitros de semen se deposita en un portaobjetos y se cubre con cubreobjetos de 22 x 22 mm, lo que permite un espesor de 20 micrómetros aproximadamente, y esta profundidad permite la expresión completa del movimiento rotatorio de los espermatozoides normales. Este preparado se examina con una magnificación de 400x o 600x. a una temperatura corporal, es decir, próxima a los 37 grados centígrados (OMS, 1988). Se ha observado un incremento en la velocidad de progresión hacia adelante a temperaturas de 23 a 37 grados centígrados. La temperatura ambiente influye en la movilidad espermática, en un estudio de Baker y col (1981), se encontró mayor movilidad en verano y menor en invierno (Glezerman, 1988).

El campo microscópico observado, es recorrido sistemáticamente y la movilidad de cada espermatozoide observado se clasifica en: a) movilidad progresiva rápida, b) movilidad progresiva lenta, c) movilidad no progresiva, y d) inmóviles. La movilidad total se obtiene de la suma de A+B+C, y el índice de movilidad de la suma de A+B/100. Usualmente se cuentan de 4 a 6 campos para acumular 100 espermatozoides y obtener un porcentaje de cada categoría. Se repite la cuenta con otros 100 espermatozoides y se obtiene

un promedio para cada categoría, que luego es informado. Es recomendable repetir el recuento en una segunda gota de semen preparada de la misma manera.(OMS, 1988).

Análisis seminal asistido por computadora (CASA)

La tecnología de video y computación ha producido varios sistemas comerciales usando tecnología de análisis de imagen digital capaces de seguir la trayectoria de cada espermatozoide y calcular los parámetros que caracterizan la cinemática (geometría dependiente del tiempo) de su movimiento. Estos instrumentos utilizan una computadora para procesar las señales de video provistas por una cámara integrada al microscopio, ya sea de manera directa o a partir de una grabación en cinta de video. (OMS, 1988). La tecnología CASA y su utilización no se han difundido suficientemente para considerarlas un procedimiento de rutina. Cuando se utiliza adecuadamente mejora la precisión de análisis de la movilidad, comparada con la determinación visual subjetiva. La utilidad de estos sistemas se ha visto limitada por la escasez de caracterización de sistemas individuales y la ausencia de estandarización entre laboratorios (Pedigo,1989), por lo que se han creado guías para la aplicación de tecnología CASA, entre ellas las recomendaciones del ESHRE Andrology Special Interest Group 1998.

Los sistemas CASA han sido diseñados para obtener las medidas de la concentración de espermatozoides, el porcentaje de espermatozoides móviles y los parámetros que caracterizan la forma y vigor del movimiento de la cabeza del espermatozoide en su trayectoria. La definición de espermatozoide móvil para CASA está basada en un umbral de movilidad progresiva. En contraste el método visual está influenciado por el movimiento del flagelo, aun cuando la célula no muestre movilidad progresiva, por lo que, las estimaciones de movilidad suelen ser menores por CASA.

Parámetros de movilidad espermática medidos por CASA (OMS, 1988):

Velocidad rectilínea (VSL). Es la velocidad (tiempo promedio) de una cabeza de espermatozoide en su trayectoria rectilínea entre su posición inicial y final. Los valores se reportan en micrómetros por segundo.

Velocidad curvilínea (VCL). Es la velocidad (tiempo promedio) de una cabeza de espermatozoide en su trayectoria curvilínea real, calculada por la suma de líneas rectas que unen posiciones secuenciales de la cabeza espermática. En micrómetros por segundo.

Velocidad promedio (VAP). Es la velocidad (tiempo promedio) de una cabeza de espermatozoide a lo largo de su trayectoria espacial. Calculada por el promedio de los puntos secuenciales de la cabeza espermática a lo largo de su pista. En micrómetros por segundo.

Amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH). Es la magnitud del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide con respecto a su trayectoria espacial. Se reporta en micrómetros.

Linearidad (LIN). Linearidad de la trayectoria curvilínea : VSL/VCL .

Rectitud (STR). Linearidad de la trayectoria espacial promedio : VSL/VAP .

Desplazamiento angular medio (MAD). Promedio de los valores absolutos de los cambios instantáneos de dirección de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria curvilínea. En grados.

Los distintos equipos CASA usan diferentes algoritmos matemáticos para calcular estos parámetros.

Se considera movilidad espermática normal cuando los porcentajes de movilidad y VSL alcanzan o exceden los límites inferiores. VSL es medida de progresión espermática y su

límite inferior es 25 micrómetros/seg. Otros parámetros de normalidad VCL mayor a 45 micrómetros/seg. LIN > 59, y MAD > a 15 grados (Overstreet, 1995).

Estas técnicas de análisis de imagen han avanzado significativamente nuestro entendimiento del movimiento espermático normal y anormal. Aunque, no ayuda en el diagnóstico diferencial de la astenozoospermia.

ASTENOZOOSPERMIA AISLADA

Se considera cuando múltiples análisis de semen demuestran la presencia de menos de 50% de espermatozoides con movilidad progresiva anterógrada (categorías A y B) o menos de 25% de espermatozoides con movilidad A, en ausencia de otras alteraciones seminales como en concentración y morfología. Esta se presenta en el 20% de los varones subfértiles (OMS, 1988. McConnell, 1997)

CAUSAS DE ASTENOZOOSPERMIA AISLADA.

Probadas.

- . Incubación prolongada en plasma seminal.
- . Exposición del eyaculado a frío o espermicidas.
- . Síndrome de cilios inmóviles (Defectos ultraestructurales del axonema severos)
- . Defectos axonemales parciales.
- . Anormalidades periaxonemales (ej. defectos de fibra densa y vaina fibrosa)
- . Deficiencia de proteína-carboxil-metilasa (PCM)
- . Anticuerpos antiesperma.
- . Necrospermia (Muchos actualmente tienen síndrome de cilios inmóviles)
- . Infección (Cultivo probado Gram-negativo).

Posibles pero no probadas.

- . Disfunción epididimaria (ej. obstrucción previa).
- . Varicocele
- . Presencia de factores inhibitorios en plasma seminal y esperma.
- . Deficiencia de factores seminales necesarios para la movilidad.
- . Defectos funcionales del axonema.
 - Defectos en la producción o utilización de energía (ATP).
 - Anormalidades de la membrana espermática
 - Anormalidades en el manejo de Ca²⁺
 - Defectos en los pasos reguladores de la cola espermática (ej. AMPc)
- . Piospermia
- . Nivel bajo de zinc en plasma seminal.
- . Asintomático.

Improbable

- . Anormalidades hormonales (ej. bajo nivel de testosterona).

límite inferior es 25 micrómetros/seg. Otros parámetros de normalidad VCL mayor a 45 micrómetros/seg. LIN > 59, y MAD > a 15 grados (Overstreet, 1995).

Estas técnicas de análisis de imagen han avanzado significativamente nuestro entendimiento del movimiento espermático normal y anormal. Aunque, no ayuda en el diagnóstico diferencial de la astenozoospermia.

ASTENOZOOSPERMIA AISLADA

Se considera cuando múltiples análisis de semen demuestran la presencia de menos de 50% de espermatozoides con movilidad progresiva anterógrada (categorías A y B) o menos de 25% de espermatozoides con movilidad A, en ausencia de otras alteraciones seminales como en concentración y morfología. Esta se presenta en el 20% de los varones subfértiles (OMS, 1988. McConnell, 1997)

CAUSAS DE ASTENOZOOSPERMIA AISLADA.

Probadas.

- . Incubación prolongada en plasma seminal.
- . Exposición del eyaculado a frío o espermicidas.
- . Síndrome de cilios inmóviles (Defectos ultraestructurales del axonema severos)
- . Defectos axonemales parciales.
- . Anormalidades periaxonemales (ej. defectos de fibra densa y vaina fibrosa)
- . Deficiencia de proteín-carboxil-metilasa (PCM)
- . Anticuerpos antiesperma.
- . Necrozoospermia (Muchos actualmente tienen síndrome de cilios inmóviles)
- . Infección (Cultivo probado Gram-negativo).

Posibles pero no probadas.

- . Disfunción epididimaria (ej. obstrucción previa).
- . Varicocele
- . Presencia de factores inhibitorios en plasma seminal y esperma.
- . Deficiencia de factores seminales necesarios para la movilidad.
- . Defectos funcionales del axonema.
 - Defectos en la producción o utilización de energía (ATP).
 - Anormalidades de la membrana espermática
 - Anormalidades en el manejo de Ca²⁺
 - Defectos en los pasos reguladores de la cola espermática (ej. AMPc)
- . Piospermia
- . Nivel bajo de zinc en plasma seminal.
- . Asintomático.

Improbable

- . Anormalidades hormonales (ej. bajo nivel de testosterona).

ASTENOZOOSPERMIA POR ARTEFACTOS

Se considera que la primera prueba diagnóstica que se debe hacer en caso de astenozoospermia aislada debe ser la repetición del análisis seminal bajo condiciones bien controladas e instrucciones específicas al paciente. Debido a que artefactos introducidos en la recolección de semen y análisis repercuten en la movilidad espermática como por ejemplo los contenedores con espermicidas, el uso de detergentes, la exposición de la muestra a temperaturas extremas. Se ha visto mayor movilidad a temperaturas de los 23 a 37 grados centígrados. La temperatura ambiental influye en la movilidad espermática, con menor movilidad en invierno y mayor en verano y esto es más notable cuando la muestra seminal es transportada del domicilio al laboratorio (Glezerman, 1988) etc. Por esto es esencial que las muestras sean analizadas dentro de 30-60 minutos de la recolección, después de completa licuefacción y a temperatura controlada (Hellstrom, 1992, OMS 1988). Un período de abstinencia de 48 a 72 hrs. se considera adecuado. En un estudio de Tur-Kaspa 1994, se demostró que un segundo eyaculado contiene un similar o aún mayor número de espermatozoides móviles comparado con el primer eyaculado, siendo esto debatido por otros autores quienes refieren deterioro en la movilidad. Por lo que los efectos de la frecuencia en la eyaculación sobre la movilidad espermática son debatidos.

DEFECTOS AXONEMALES : SINDROME DE CILIOS INMOVILES.

Las características clínicas del síndrome de cilios inmóviles son: a) Triada de Kartagener (situs inversus, bronquiectasia y sinusitis crónica) sólo en la mitad de pacientes con síndrome de cilios inmóviles, b) Incidencia de 1 :20,000, c) Herencia autosómica recesiva, y d) Los cilios respiratorios inmóviles y las colas espermáticas usualmente exhiben los mismos defectos axonémicos.

La mayoría de pacientes con colas espermáticas inmóviles también tienen anomalías del epitelio respiratorio ciliado, causándoles enfermedad sinopulmonar crónica. Los oviductos contienen epitelio ciliado, las pacientes afectadas con síndrome de cilios inmóviles tienen infertilidad (McComb,1995), aunque se han referido tasas de fertilidad normales.

El diagnóstico de síndrome de cilios inmóviles es confirmado por análisis de la ultraestructura axonemal por microscopía electrónica. Se han descrito una variedad de alteraciones ultraestructurales. En general, si los brazos de dineína externos y externos están ausentes, el espermatozoide es inmóvil. La ausencia de brazos externos puede limitar el movimiento espermático. Los pacientes con anomalía de las estructuras accesorias del axonema (por ejemplo ausencia de ligaduras y pares microtubulares centrales) pueden tener discinesia más que la ausencia total de movimiento.

En una evaluación cuantitativa (Hancock, 1992), de los espermatozoides de 10 hombres normales, se ha reportó que el axonema ideal con un complemento completo de microtúbulos, brazos de dineína y brazos radiales, en sólo el 0.8% de las colas espermáticas. En los 10 sujetos astenozoospermicos se demostró una significativa reducción de los pares microtubulares externos y brazos externos e internos en pacientes astenozoospermicos. Otras alteraciones encontradas en la ultraestructura fueron ausencia de pares centrales microtubulares y brazos radiales. Los sujetos astenozoospermicos mostraron una significativa reducción en al menos 3 estructuras axonemales (Hancock, 1992).

Los espermatozoides de pacientes con ausencia completa de brazos de dineína muestran movilidad nula, y con ausencia parcial de brazos de dineína muestran alguna movilidad. El estudio muestra que una proporción pequeña de pacientes astenozoospermicos poseen

defectos específicos estructurales finos que afectan todos los espermatozoides en el eyaculado. Estas incluyen ausencia de brazos de dineína o de pares microtubulares centrales. Todas estas características han sido descritas en relación al síndrome de cilios inmóviles. Una gran proporción de pacientes exhiben múltiples patrones de anomalías de la cola espermática (Ryder, 1990).

Numerosos reportes en la literatura de defectos estructurales de la cola espermática asociados con astenozoospermia han reportado inmovilidad espermática en pacientes con una mitocondria flagelar rudimentaria o ausente, piezas medias elongadas, desorganización de la vaina fibrosa, y en el axonema, pares microtubulares supernumerarios o ausentes y disrupción de los brazos radiales.

Los espermatozoides humanos más que aquellos de otras especies son estructuralmente heterogéneos, y un amplio espectro de morfología puede ser encontrada en eyaculados donde la movilidad espermática es normal.

En un estudio (Wilton, 1992), donde se examinó la morfología de la cola espermática de 10 pacientes con astenozoospermia. Se realizó un análisis cuantitativo del número de pares microtubulares externos y centrales, brazos de dineína internos y externos y brazos radiales donde se contó con secciones transversas de 75 axonemas de cada paciente y se comparó con datos similares previamente colectados de 10 hombres con características de semen normal. Cuatro pacientes tuvieron defectos axonemales: 2 pacientes tuvieron severas anomalías axonemales y 2 tuvieron más sutiles pero significativas deficiencias de los brazos de dineína. 3 pacientes no tuvieron anomalías detectables de la cola espermática, posiblemente indicando una deficiencia metabólica. 3 pacientes tuvieron anomalías de la pieza media. Dos pacientes tuvieron pocas si es que alguna mitocondria flagelar y el tercer paciente tuvo mitocondrias irregulares y desorganizadas. Este análisis reveló anomalías axonemales en 7 de 10 pacientes con astenozoospermia previamente inexplicable.

Las anomalías genéticas precisas que conducen al síndrome de cilios inmóviles no han sido elucidadas. En especies invertebradas, los brazos internos y externos de dineína están compuestos de múltiples polipéptidos en adición a cadenas pesadas de dineína y mutaciones a nivel de estas cadenas o en las proteínas de bajo peso molecular que ligan los brazos a los pares microtubulares pueden conducir a una ausencia de brazos de dineína o una función deteriorada. Por la complejidad de los axonemas de mamíferos es probable que muchas mutaciones génicas diferentes puedan conducir al síndrome de cilios inmóviles (McConnell, 1997).

Otras anomalías en varones con astenozoospermia incluyen una completa disrupción o desorganización del axonema (Hancock, 1992).

No se ha determinado en la literatura, la incidencia de necrozoospermia verdadera, porque en un inicio los pacientes con síndrome de cilios inmóviles fueron incluidos en este grupo. El diagnóstico es excluido con tinciones supravitales en pacientes con inmovilidad espermática total.

DEFICIENCIA DE PROTEIN CARBOXIL METILASA (PCM)

La proteína-carboxil-metilasa y la proteína metilesterasa, son 2 enzimas que reversiblemente modifican la carga neta de proteínas espermáticas, y que varían durante el tránsito epididimario. Mientras la actividad metilasa se incrementa tres veces, la metilesterasa disminuye 7 a 20 veces cuando los espermatozoides adquieren movilidad y maduran de la cabeza a la cauda del epidídimo, así parece que un alto nivel de actividad

PCM y bajo nivel de actividad metiltransferasa son requeridos para la movilidad espermática (Gagnon, 1986). La PCM es una enzima que juega un papel en varios tipos de movilidad celular. La función de la PCM es transferir grupos metilo desde S-adenosinmetionina a grupos carboxilo de proteínas. Encontrándose la más alta concentración de esta enzima en mamíferos a nivel de testículo, específicamente en la cola espermática. Aunque la función precisa de la PCM en la regulación de la movilidad espermática aún no ha sido definida, la alta concentración de la enzima en la cola espermática implica una función significativa.

Gagnon y colaboradores en 1986, encontraron en nueve pacientes con completa inmovilidad espermática, una deficiencia de PCM en los espermatozoides con desarrollo ultraestructural axonemal normal. Estos hallazgos sugieren que la deficiencia de PCM no es debida a una simple mutación génica, sino a algún tipo de defecto post-translacional. Demostrando así, una correlación entre actividad PCM y el índice de movilidad ($r=0.78$) después del procesado de semen a través de un gradiente de Percoll.

Por no haber relación clara causa-efecto entre baja actividad PCM y movilidad espermática, la actividad PCM es limitada a estudios de investigación.

ANTICUERPOS ANTIESPERMA

Los anticuerpos antiesperma tienen una variedad de efectos sobre la fertilidad humana, incluyendo deterioro de la movilidad espermática, atrapamiento y fagocitosis de los espermatozoides en moco cervical, y deterioro en la interacción oocito-espermatozoide. Los ensayos más comunmente usados para detectar anticuerpos antiesperma son la prueba de inmunobeads (IBT) y las pruebas de antiglobulinas mixtas (MAR). Estas pueden ser usadas como ensayos directos para detectar anticuerpos ya ligados a la superficie espermática y requieren la presencia de un adecuado número de espermatozoides móviles y no son factibles para hombres con pobres parámetros seminales. Ambas pruebas requieren que el investigador determine el porcentaje de espermatozoides móviles que son positivos para anticuerpos antiesperma por cuenta de un mínimo de 100 espermatozoides usando microscopio de luz. Esto puede ser subjetivo (Nicholson, 1997).

El principio de la detección de anticuerpos antiesperma por citometría de flujo es que los espermatozoides con anticuerpos ligados a la superficie del espermatozoide son incubados con un anticuerpo marcado fluorescente antihumano. La proporción de espermatozoides con anticuerpos positivos es identificada por el paso de miles de espermatozoides a través de un clasificador de células fluorescente activado, el cual es un determinante altamente objetivo. Además el número de moléculas de anticuerpos ligados a la superficie de los espermatozoides puede ser calculada usando cabezas de calibración fluorescentes.

Nicholson y cols. en 1997 encontraron buena correlación entre la prueba de inmunobeads indirecta y la citometría de flujo indirecta para la detección de anticuerpos antiesperma en plasma seminal. De 63 muestras que tuvieron mayor o igual a 50% de inmunobeads ligados, 55 tuvieron resultados equivalentes por citometría de flujo.

Son varios mecanismos por los que los anticuerpos antiesperma pueden afectar la función espermática, pero el mecanismo preciso por el cual los anticuerpos dañan la movilidad en el semen no ha sido claramente definido, probablemente estos anticuerpos inducen defectos de membrana que afectan adversamente los niveles de calcio intracelular, AMPc, o ATP. La presencia de anticuerpos antiesperma puede explicar la astenozoospermia aislada.

El significado clínico de los anticuerpos antiesperma (ASA) en la infertilidad masculina es poco claro, y la importancia de ASA circulantes es probablemente poca. Aunque la

PCM y bajo nivel de actividad metiltransferasa son requeridos para la movilidad espermática (Gagnon, 1986). La PCM es una enzima que juega un papel en varios tipos de movilidad celular. La función de la PCM es transferir grupos metilo desde S-adenosinmetionina a grupos carboxilo de proteínas. Encontrándose la más alta concentración de esta enzima en mamíferos a nivel de testículo, específicamente en la cola espermática. Aunque la función precisa de la PCM en la regulación de la movilidad espermática aún no ha sido definida, la alta concentración de la enzima en la cola espermática implica una función significativa.

Gagnon y colaboradores en 1986, encontraron en nueve pacientes con completa inmovilidad espermática, una deficiencia de PCM en los espermatozoides con desarrollo ultraestructural axonemal normal. Estos hallazgos sugieren que la deficiencia de PCM no es debida a una simple mutación génica, sino a algún tipo de defecto post-translacional. Demostrando así, una correlación entre actividad PCM y el índice de movilidad ($r = 0.78$) después del procesado de semen a través de un gradiente de Percoll.

Por no haber relación clara causa-efecto entre baja actividad PCM y movilidad espermática, la actividad PCM es limitada a estudios de investigación.

ANTICUERPOS ANTIESPERMA

Los anticuerpos antiesperma tienen una variedad de efectos sobre la fertilidad humana, incluyendo deterioro de la movilidad espermática, atrapamiento y fagocitosis de los espermatozoides en moco cervical, y deterioro en la interacción oocito-espermatozoide. Los ensayos más comunmente usados para detectar anticuerpos antiesperma son la prueba de inmunobeads (IBT) y las pruebas de antiglobulinas mixtas (MAR). Estas pueden ser usadas como ensayos directos para detectar anticuerpos ya ligados a la superficie espermática y requieren la presencia de un adecuado número de espermatozoides móviles y no son factibles para hombres con pobres parámetros seminales. Ambas pruebas requieren que el investigador determine el porcentaje de espermatozoides móviles que son positivos para anticuerpos antiesperma por cuenta de un mínimo de 100 espermatozoides usando microscopio de luz. Esto puede ser subjetivo (Nicholson, 1997).

El principio de la detección de anticuerpos antiesperma por citometría de flujo es que los espermatozoides con anticuerpos ligados a la superficie del esperma son incubados con un anticuerpo marcado fluorescente antihumano. La proporción de espermatozoides con anticuerpos positivos es identificada por el paso de miles de espermatozoides a través de un clasificador de células fluorescente activado, el cual es un determinante altamente objetivo. Además el número de moléculas de anticuerpos ligados a la superficie de los espermatozoides puede ser calculada usando cabezas de calibración fluorescentes.

Nicholson y cols. en 1997 encontraron buena correlación entre la prueba de inmunobeads indirecta y la citometría de flujo indirecta para la detección de anticuerpos antiesperma en plasma seminal. De 63 muestras que tuvieron mayor o igual a 50% de inmunobeads ligados, 55 tuvieron resultados equivalentes por citometría de flujo.

Son varios mecanismos por los que los anticuerpos antiesperma pueden afectar la función espermática, pero el mecanismo preciso por el cual los anticuerpos dañan la movilidad en el semen no ha sido claramente definido, probablemente estos anticuerpos inducen defectos de membrana que afectan adversamente los niveles de calcio intracelular, AMPc, o ATP. La presencia de anticuerpos antiesperma puede explicar la astenozoospermia aislada.

El significado clínico de los anticuerpos antiesperma (ASA) en la infertilidad masculina es poco claro, y la importancia de ASA circulantes es probablemente poca. Aunque la

mayoría de los estudios muestran una clara asociación entre anticuerpos de superficie espermática y el potencial de fertilidad del varón.

Los anticuerpos antiesperma encontrados en semen, son usualmente isotipos IgG o IgA que son dirigidos a varios sitios en el espermatozoide, por ejemplo, cabeza, pieza media, cola o combinación de estos. Los IgG en semen son investigados como trasudados desde la circulación sistémica vía la glándula prostática, mientras la IgA es usualmente (60-90 %) de tipo secretoria sugiriendo síntesis testicular y/o epididimaria. El acoplamiento de estos anticuerpos puede ser dirigida a través de mitades de péptidos o carbohidratos de antígenos espermáticos, aunque puede ocurrir también vía receptores Fc. En general ASA dirigidos a la cola espermática tienden a influenciar y alterar la movilidad espermática progresiva, mientras los anticuerpos dirigidos a la cabeza espermática, pueden alterar la fertilización ocluyendo los sitios de ligadura para la unión a la zona pellucida, o por afectar los parámetros de movilidad por ejemplo, la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza. La reacción acrosómica, otro paso crucial en la función espermática humana también puede ser alterada por ASA (Ombelet, 1997).

La prueba de Inmunoesferas no puede ser utilizada en hombres con movilidad extremadamente baja, de ésta manera la técnica con un segundo anticuerpo radiomarcado parece ser el único medio de medición directa de la inmunoglobulina sobre la superficie espermática en estos pacientes. Los pacientes astenozoospermicos con historia de obstrucción ductal genital y trauma testicular, así como pacientes astenozoospermicos sin otra explicación, deben tener determinado su estado de anticuerpos antiesperma.

INFECCION.

La infección en el tracto reproductivo masculino es una causa de una calidad espermática mala. Las infecciones asintomáticas de las glándulas sexuales pueden conducir a cicatrización permanente del sistema ductal y disturbios en la función tubular y glandular (Purvis 1995).

La *Escherichia coli*, es la causa más común de infección del tracto urinario, y se sabe que tiene efecto tóxico sobre los espermatozoides. Se observa aglutinación cuando se agregan cultivos bacterianos a espermatozoides *in vitro*. Un producto dializable de *E. coli* puede causar inmovilización espermática y reducir la viabilidad. (Teague 1971).

El *Mycoplasma* se ha encontrado en cultivos de pacientes con infertilidad idiopática primaria, afectando la movilidad espermática. Se ha encontrado asociado a la cabeza y pieza media del espermatozoide. Se han encontrado espermatozoides con cola enrollada más frecuentemente en infecciones por *U. urealyticum*, así como cubiertas granulares vellosas que cubren la pieza media y la cola del espermatozoide. Aunque algunos autores *no encuentran relación entre parámetros seminales específicos asociados a la infección por U. urealyticum reportando un promedio de movilidad normal entre cultivos positivos y negativos a U. urealyticum* (Cintron 1981). También se ha reportado que el pH del semen es mayor en caso de cultivo positivo a *Ureaplasma* probablemente debido a la enzima ureasa presente en el *Ureaplasma* (Berger, 1995).

En un estudio de 129 varones con cultivos de control negativos a *Mycoplasma* y tratados exitosamente con doxiciclina, presentaron una tasa de embarazo de 60 % a tres años posteriores al tratamiento, en contraste con 5 % en pacientes que no tuvieron tratamiento exitoso (Toht y cols. 1983)

La infección por *C. trachomatis* puede causar epididimitis obstructiva y conducir a azoospermia. A causa de que la infección uretral por *Chlamydia* es extremadamente

prevalente, puede ser una causa común de infertilidad masculina. Probablemente menos del 1 % de los hombres con infección uretral, sin embargo, tienen infección por Chlamydia. En pacientes con infertilidad la infección por Chlamydia es muy rara (Berger, 1995).

En recientes estudios con microscopía electrónica se ha encontrado que la Chlamydia se adhiere a la cabeza y cola espermática. La Chlamydia puede penetrar y afectar la cabeza espermática (Weström, 1996).

Las infecciones por Chlamydia Trachomatis en el hombre son frecuentemente asintomáticas. La reacción en cadena de polimerasa puede identificar a la *C. trachomatis* cuando los organismos están presentes en niveles inferiores a los detectables por cultivo. Esta infección asintomática puede ser capaz de inducir una respuesta inmune dentro del tracto genital masculino. Los anticuerpos antiesperma pueden estar presentes en el semen en ausencia de una respuesta de anticuerpos sistémica (Witkin, 1993).

En un estudio de Plante en 1994, se reportó que la producción de 5×10^6 PMN activados por mililitro fue suficiente para causar disminución en los 3 parámetros de movilidad estudiados; a) movilidad en 47 %, b) velocidad curvilínea en 27 % y c) amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza en 28 %. Concluyendo que la presencia de PMN en concentraciones suficientemente altas son un factor responsable de la posible pérdida de movilidad en la población espermática normal.

La presencia de más de un millón de células blancas por mililitro en semen humano es definida como leucocitospermia por la OMS, y se ha reportado que la incidencia de leucocitospermia tiene una gran variabilidad (7-23 %) entre los varones de parejas infértiles (Erel, 1997).

Un número incrementado de leucocitos se ha encontrado en el semen de hombres subfértiles, y esto se ha asociado con una movilidad espermática disminuida y también puede ocurrir en ausencia de infección (Berger 1982).

La leucocitospermia es mayor en hombres con anticuerpos antiesperma que en aquellos sin anticuerpos, y las enfermedades transmitidas sexualmente también parecen predisponer a los hombres al desarrollo de anticuerpos antiesperma (Purvis, 1995)

En un estudio prospectivo de Tomlinson 1993, de 512 parejas con esterilidad. En los análisis seminales la concentración de leucocitos, medida por anticuerpos monoclonales, se encontró que la concentración de leucocitos no estuvo asociada con una calidad seminal reducida, o tasas de concepción. Similarmente, ni la concentración de especies reactivas a oxígeno o anticuerpos antiesperma (immunobead) tuvieron alguna relación con el resultado. De todos los parámetros seminales medidos, sólo el nivel de células germinales inmaduras se encontró negativamente asociado a la tasa de concepción. La medida de leucocitos en el análisis seminal de rutina parece ser de poco valor pronóstico con respecto al potencial de fertilidad masculina.

Se debe tener cuidado en la interpretación del significado de la leucocitospermia durante el examen de rutina de los eyaculados. Para que la leucocitospermia tenga valor para el andrólogo, debe ser considerada junto con otra información, incluyendo la anamnesis (síntomas genitales pasados o presentes en la pareja), un detallado examen físico del sujeto (palpación escrotal y de próstata), ultrasonido rectal y serología relevante ej. *C. trachomatis*.

Un gran número de estudios indican que los leucocitos pueden directamente dañar a los espermatozoides por la liberación de radicales libres (Purvis, 1995).

En humanos, las especies reactivas a oxígeno (ROS) son producidas por una variedad de componentes del semen incluyendo espermatozoides inmóviles o morfológicamente anormales, leucocitos y espermatozoides morfológicamente normales pero funcionalmente

anormales, por otro lado el plasma seminal y los espermatozoides móviles no producen especies reactivas a oxígeno bajo condiciones normales (Lamirande 1995).

El peróxido de hidrógeno es la ROS tóxica primaria para los espermatozoides humanos. Bajas concentraciones de ROS no afectan la viabilidad espermática pero causan inmovilización espermática a través de la depleción del ATP intracelular y el subsecuente decremento en la fosforilación de proteínas axonemales. Altas concentraciones de peróxido de hidrógeno inducen peroxidación y resultan en muerte celular. Por otro lado, el anión superóxido parece jugar un papel en el desarrollo de hiperactivación y capacitación (Gordon,1996).

VARICOCELE

Es la dilatación del plexo pampiniforme que rodea el cordón espermático y se presenta con una frecuencia aproximada de 40% de los hombres con infertilidad (Parikh,1996).

Las alteraciones seminales en hombres subfértiles con varicocele incluyen un número incrementado de formas anormales en 95%, movilidad disminuida en 90%, y cuentas espermáticas bajas en 70 % de los pacientes (Howards SS,1992. Mac Leod, 1965).

Muchas de las investigaciones relacionadas con el posible mecanismo a través del cual el varicocele altera la fisiología testicular no han sido aclaradas. Alteración hormonal, hipoxia secundaria a estasis venosa, reflujo de metabolitos adrenales o renales, y temperatura testicular elevada han sido propuestos como factores contribuyentes a la función gonadal alterada.

La mayoría de pacientes con varicocele no exhiben astenozoospermia aislada sino defectos combinados de maduración, movilidad y densidad. No obstante se debe excluir este diagnóstico por examen clínico en pacientes con defectos en la movilidad espermática. La investigación del varicocele subclínico no es apropiada en pacientes con astenozoospermia aislada.

La varicocelectomía mejora la movilidad espermática de $10 \pm 5\%$ hasta $35 \pm 12\%$ (Hudson 1985). Se ha reportado que la varicocelectomía mejora la calidad seminal en un 60-80%, con tasas de embarazo de 30-55%. En un estudio de Parikh en 1996, posterior a varicocelectomía, 46.2% pacientes tuvieron parámetros seminales normales y la tasa de embarazo fue de 50%.

FACTORES EN PLASMA SEMINAL

Varias sustancias pueden ser importantes en el mantenimiento de la movilidad espermática. Sin embargo, no se ha establecido ninguna relación clara entre la deficiencia de factores del plasma seminal y la astenozoospermia. Además la respuesta limitada de los espermatozoides inmóviles a procedimientos de lavado tiende a confirmar el papel limitado del plasma seminal en hombres con astenozoospermia.

El bicarbonato de sodio en el plasma seminal estimula la movilidad de los espermatozoides de mamíferos por activación directa de la adenilatociclasa sobre la membrana plasmática del espermatozoide, conduciendo a un incremento del AMPc. Algunos hombres subfértiles con pobre movilidad espermática tienen niveles bajos de bicarbonato en plasma seminal (Okamura,1986).

El espermatozoide requiere altos niveles de ATP para mantener su movilidad. El ATP es generado por la vía glicolítica y sistema de transporte electrónico mitocondrial. Estudios recientes han notado que el óxido nítrico puede reducir los niveles de ATP en las células inhibiendo la capacidad de las enzimas para generar ATP en estas vías. Hay varios

anormales, por otro lado el plasma seminal y los espermatozoides móviles no producen especies reactivas a oxígeno bajo condiciones normales (Lamirande 1995).

El peróxido de hidrógeno es la ROS tóxica primaria para los espermatozoides humanos. Bajas concentraciones de ROS no afectan la viabilidad espermática pero causan inmovilización espermática a través de la depleción del ATP intracelular y el subsecuente decremento en la fosforilación de proteínas axonemales. Altas concentraciones de peróxido de hidrógeno inducen peroxidación y resultan en muerte celular. Por otro lado, el anión superóxido parece jugar un papel en el desarrollo de hiperactivación y capacitación (Gordon,1996).

VARICOCELE

Es la dilatación del plexo pampiniforme que rodea el cordón espermático y se presenta con una frecuencia aproximada de 40% de los hombres con infertilidad (Parikh,1996).

Las alteraciones seminales en hombres subfértiles con varicocele incluyen un número incrementado de formas anormales en 95%, movilidad disminuida en 90%, y cuentas espermáticas bajas en 70 % de los pacientes (Howards SS,1992. Mac Leod, 1965).

Muchas de las investigaciones relacionadas con el posible mecanismo a través del cual el varicocele altera la fisiología testicular no han sido aclaradas. Alteración hormonal, hipoxia secundaria a estasis venosa, reflujo de metabolitos adrenales o renales, y temperatura testicular elevada han sido propuestos como factores contribuyentes a la función gonadal alterada.

La mayoría de pacientes con varicocele no exhiben astenozoospermia aislada sino defectos combinados de maduración, movilidad y densidad. No obstante se debe excluir este diagnóstico por examen clínico en pacientes con defectos en la movilidad espermática. La investigación del varicocele subclínico no es apropiada en pacientes con astenozoospermia aislada.

La varicocelectomía mejora la movilidad espermática de $10 \pm 5\%$ hasta $35 \pm 12\%$ (Hudson 1985). Se ha reportado que la varicocelectomía mejora la calidad seminal en un 60-80%, con tasas de embarazo de 30-55%. En un estudio de Parikh en 1996, posterior a varicocelectomía, 46.2% pacientes tuvieron parámetros seminales normales y la tasa de embarazo fue de 50%.

FACTORES EN PLASMA SEMINAL

Varias substancias pueden ser importantes en el mantenimiento de la movilidad espermática. Sin embargo, no se ha establecido ninguna relación clara entre la deficiencia de factores del plasma seminal y la astenozoospermia. Además la respuesta limitada de los espermatozoides inmóviles a procedimientos de lavado tiende a confirmar el papel limitado del plasma seminal en hombres con astenozoospermia.

El bicarbonato de sodio en el plasma seminal estimula la movilidad de los espermatozoides de mamíferos por activación directa de la adenilato ciclasa sobre la membrana plasmática del espermatozoide, conduciendo a un incremento del AMPc. Algunos hombres subfértiles con pobre movilidad espermática tienen niveles bajos de bicarbonato en plasma seminal (Okamura ,1986).

El espermatozoide requiere altos niveles de ATP para mantener su movilidad. El ATP es generado por la por la vía glicolítica y sistema de transporte electrónico mitocondrial. Estudios recientes han notado que el óxido nítrico puede reducir los niveles de ATP en las células inhibiendo la capacidad de las enzimas para generar ATP en estas vías. Hay varios

tipos de células capaces de generar óxido nítrico en el tracto genital masculino y femenino, incluyendo fagocitos mononucleares, células endoteliales, células de músculo liso, y fibroblastos. En un estudio de Weinberg y cols. 1995, se encontró que el óxido nítrico puede causar inhibición de la respiración celular espermática independientemente de una elevación del GMP intracelular, sugiriendo que el óxido nítrico afecta la movilidad espermática por interferir con la capacidad para generar ATP. El óxido nítrico elaborado en el tracto genital femenino o masculino *in vivo* puede influenciar adversamente la función espermática y la fertilidad.

El óxido nítrico endógeno es un mediador funcional importante en varios sistemas fisiológicos, incluyendo el sistema reproductivo. Sin embargo, cuando se genera en excesivas cantidades por largos períodos, principalmente durante reacciones inmunológicas, el óxido nítrico es citotóxico y citostático tanto para los microbios que invaden, como para las células que lo generan y los tejidos presentes alrededor de ésta. Ya que la infertilidad asociada con infección del tracto genital masculino y femenino está también acompañada por movilidad espermática reducida y viabilidad, es posible que la fertilidad reducida en estos pacientes sea debida a toxicidad espermática inducida por óxido nítrico.

La excesiva síntesis de óxido nítrico en respuesta a infección e inflamación podría ser un importante factor contribuyente a un cambio funcional del espermatozoide, conduciendo a su disfunción e infertilidad (Roselli, 1995).

El plasma seminal es un medio de transporte y supervivencia para espermatozoides donde las reacciones enzimáticas ocurren. De esta manera pueden actuar sobre las membranas espermáticas y disminuir su calidad. Entre los numerosos componentes del plasma seminal, las poliaminas (putrescina, espermidina y principalmente espermina) están presentes en muy altas concentraciones. Las poliaminas juegan un importante papel en la estructura y función del DNA. Recientemente se demostró que una liberación de espermina nuclear endógena durante la diferenciación de células espermátogénicas tiene un papel en la interacción DNA-nucleoproteína. Previamente en el espermatozoide de carnero, la espermina estuvo localizada en la región acrosomal sugiriendo un posible papel en el mecanismo de capacitación y reacción acrosomal.

La diamino-oxidasa, una enzima que degrada las poliaminas, tiene una muy alta actividad en el plasma seminal. El posible papel *in-vivo* de la degradación de espermina por DAO en semen humano puede dar aumento a la formación de aldehídos citotóxicos, los cuales pueden inhibir la fructólisis *in vitro*. De hecho, algún cambio en las enzimas estrechamente asociadas con el metabolismo de la poliamina puede interferir con la calidad del espermatozoide.

En un estudio de Le Calvé y cols. 1995, se encontró que la actividad de la DAO fue mayor en el grupo de astenozoospermicos, que en los grupos de oligoastenozoospermicos, normozoospermicos y azoospermicos. Los productos de degradación de la aminooxidasa sobre la espermina y espermidina son tóxicos para una variedad de células incluyendo los espermatozoides. La espermina juega un papel en la maduración de los espermatozoides. En el grupo de astenozoospermicos donde se encontró la más alta actividad de DAO algunos productos de oxidación pueden ser formados y actuar sobre las membranas espermáticas durante el transporte epididimario, conduciendo a la pérdida de la movilidad, y ésta DAO proviene parcialmente de la parte superior del tracto genital (testículo o epidídimo), en adición a secreciones de próstata, conduciendo a una ausencia de correlación con marcadores prostáticos en grupos normo y astenozoospermicos (Le Calvé, 1995).

Una alta concentración de Aluminio en espermatozoides ha sido correlacionada con una movilidad espermática disminuida. Como contaminante ambiental en trabajadores europeos de fábrica de poliolefin. (Hovatta, 1998).

El zinc es secretado en el fluido prostático en 2 formas evaluables para las células espermáticas (zinc libre y complejo zinc-citrato). Un incrementado nivel del zinc seminal no ligado, puede contribuir a la disminución de la movilidad espermática en pacientes normoastenozoospermicos y oligoastenozoospermicos. La disminución en la movilidad espermática puede ocurrir en pacientes oligoastenozoospermicos, donde, el incremento del zinc libre seminal es seguido por una mayor captación de zinc por el espermatozoide. El mayor contenido de zinc intraespermático en estos pacientes puede ser un reflejo de la baja funcionalidad de la membrana espermática (Carpino, 1998)

La mala movilidad espermática en pacientes con lesión de médula espinal en quienes se han recuperado espermatozoides por electroeyaculación sugieren que la denervación del testículo o estructuras genitales (ej. próstata y vesículas seminales) puede alterar la función secretoria de estos órganos y así afectar la movilidad espermática.

DEFECTOS FUNCIONALES DEL FLAGELO

La movilidad de los espermatozoides de hombres con astenozoospermia aislada no puede ser reactivada en la mayoría de los casos. Estudios sugieren que aunque el axonema sea normal ultraestructuralmente, pueden existir anomalías en los brazos de dineína u otros procesos regulatorios en la cola espermática que previenen la iniciación de movimiento. Es altamente improbable que estas anomalías puedan ser tratadas con lavado espermático u otras técnicas de manipulación, aunque la microinyección puede ser factible.

Las causas potenciales para defectos funcionales de la cola espermática incluyen: función de membrana espermática defectuosa, defectuosa producción de ATP, disminuida actividad de adenil-ciclase, y deficiencia de calmodulina (la principal proteína ligadora de calcio), también como defectos genéticos de movilidad espermática asociada con ultraestructura axonemal normal (McConnell, 1997).

Si la densidad espermática y morfología son normales y la movilidad es menor a 10%, las anomalías ultraestructurales o funcionales del axonema son probables.

TRATAMIENTO

El tratamiento debe ser específico para la causa de astenozoospermia, y cuando esta no puede ser identificada, la terapia empírica es poco exitosa. Se debe elaborar una historia clínica investigando enfermedad sinopulmonar, factores de riesgo de anticuerpos antiesperma e infecciones genitales buscando secreciones prostáticas o uretrales, se debe explorar varicocele y anomalías epididimarias. Se debe repetir el análisis seminal en un inicio, buscar anticuerpos antiesperma y microscopía electrónica en caso de movilidad menor a 10 %.

Síndrome de cilios inmóviles

En caso de síndrome de cilios inmóviles no hay terapia específica para revertir las anomalías axonemales, IVF e ICSI pueden ser útiles en esta enfermedad. Cuando la movilidad es menor a 10 % e inexplicable, se puede intentar ICSI.

Una alta concentración de Aluminio en espermatozoides ha sido correlacionada con una movilidad espermática disminuida. Como contaminante ambiental en trabajadores europeos de fábrica de poliolefin. (Hovatta, 1998).

El zinc es secretado en el fluido prostático en 2 formas evaluables para las células espermáticas (zinc libre y complejo zinc-citrato). Un incrementado nivel del zinc seminal no ligado, puede contribuir a la disminución de la movilidad espermática en pacientes normoastenozoospermicos y oligoastenozoospermicos. La disminución en la movilidad espermática puede ocurrir en pacientes oligoastenozoospermicos, donde, el incremento del zinc libre seminal es seguido por una mayor captación de zinc por el espermatozoide. El mayor contenido de zinc intraespermático en estos pacientes puede ser un reflejo de la baja funcionalidad de la membrana espermática (Carpino, 1998)

La mala movilidad espermática en pacientes con lesión de médula espinal en quienes se han recuperado espermatozoides por electroeyaculación sugieren que la denervación del testículo o estructuras genitales (ej. próstata y vesículas seminales) puede alterar la función secretoria de estos órganos y así afectar la movilidad espermática.

DEFECTOS FUNCIONALES DEL FLAGELO

La movilidad de los espermatozoides de hombres con astenozoospermia aislada no puede ser reactivada en la mayoría de los casos. Estudios sugieren que aunque el axonema sea normal ultraestructuralmente, pueden existir anomalías en los brazos de dineína u otros procesos regulatorios en la cola espermática que previenen la iniciación de movimiento. Es altamente improbable que estas anomalías puedan ser tratadas con lavado espermático u otras técnicas de manipulación, aunque la microinyección puede ser factible.

Las causas potenciales para defectos funcionales de la cola espermática incluyen : función de membrana espermática defectuosa, defectuosa producción de ATP, disminuída actividad de adenil-ciclasa, y deficiencia de calmodulina (la principal proteína ligadora de calcio), también como defectos genéticos de movilidad espermática asociada con ultraestructura axonemal normal (McConnell, 1997).

Si la densidad espermática y morfología son normales y la movilidad es menor a 10%, las anomalías ultraestructurales o funcionales del axonema son probables.

TRATAMIENTO

El tratamiento debe ser específico para la causa de astenozoospermia, y cuando esta no puede ser identificada, la terapia empírica es poco exitosa. Se debe elaborar una historia clínica investigando enfermedad sinopulmonar, factores de riesgo de anticuerpos antiesperma e infecciones genitales buscando secreciones prostáticas o uretrales, se debe explorar varicocele y anomalías epididimarias. Se debe repetir el análisis seminal en un inicio, buscar anticuerpos antiesperma y microscopía electrónica en caso de movilidad menor a 10 %.

Síndrome de cilios inmóviles

En caso de síndrome de cilios inmóviles no hay terapia específica para revertir las anomalías axonemales, IVF e ICSI pueden ser útiles en esta enfermedad. Cuando la movilidad es menor a 10 % e inexplicable, se puede intentar ICSI.

Anticuerpos antiespermatozoide

El tratamiento en pacientes con autoanticuerpos antiespermatozoides con título de aglutinación en suero de 1 : 64. El tratamiento con dosis bajas de prednisona de 10 - 20 mg diarios durante 3 - 6 meses es cuestionable. Las dosis altas parecen ser más efectivas. Dosis de 96 mg de metilprednisolona por vía oral por 7 días han demostrado efectos positivos en el espermograma y la capacidad de penetración del moco cervical. (Schill, 1988)

Como la reducción de las inmunoglobulinas séricas se observa después de 2-3 semanas de comenzado el tratamiento, se ha recomendado el tratamiento corto adaptado al ciclo femenino administrando metilprednisolona de los días 15 a 21 del ciclo, por 3 ciclos consecutivos.

La azatioprina a dosis de 100 mg diarios durante 1 a 3 meses, con reducción gradual a 50 mg y continuada por varios meses, puede tener efectos colaterales severos y sólo se debe administrar en casos muy especiales (Schill, 1988).

La movilidad de los espermatozoides menor al 20% al inicio de la terapia responde pobremente a la inmunosupresión.

Se ha realizado inseminación artificial eliminando anticuerpos del plasma seminal con lavado de espermatozoides, y aunque se pueden lograr embarazos con técnicas de IVF con y sin ICSI, la pobre movilidad predice la tasa de éxito.

Infección

En caso de cultivo positivo el tratamiento debe ser en base a la sensibilidad bacteriana. El tratamiento empírico sin evidencia de infección, no mejora la movilidad y la tasa de embarazo. Sólo si la pioespermia u obstrucción sintomática del tracto genital es evidente, la tetraciclina a dosis de 2 gr/día/10 días se puede iniciar hasta el resultado de los cultivos. Algunos de los tratamientos propuestos para infecciones son Doxiciclina 100-200 mg / día / 10 días, prolongarlo hasta 21 a 28 días no representa ventaja. Se ha utilizado la eritromicina 500 mg c/6 hrs. por 7 días, pero la tasa de erradicación es más baja. La clindamicina es alternativa para el tratamiento de *M. hominis* pero es más efectiva contra *U. urealyticum*, sucediendo lo contrario con la eritromicina.

Por el incremento en la producción de penicilinas por la neisseria gonorrhoeae, la droga de elección para el tratamiento de la uretritis gonocócica es la ceftriaxona 250 mg IM, siendo también de utilidad la estreptomina 2 gr. IM y la ciprofloxacina 500 mg IM en dosis única, así como la Norfloxacina 800 mg en 1 dosis oral, y la amoxicilina 3 gr. orales (Berger, 1995).

En un estudio de Toht en 1983, se encontró que de 129 parejas en las cuales los hombres fueron tratados exitosamente para *Mycoplasma*, con cultivos negativos después del tratamiento, el éxito en tasa de embarazo a 3 años fue de 60 %, en contraste con el 5 % en 32 parejas en las cuales los hombres fueron tratados sin éxito para *Mycoplasma*, con cultivos positivos después del tratamiento.

En un estudio, utilizando doxiciclina 100 mg 2 veces/día por 10 días y ceftriaxona 1 gr. I.M. 1 día, se encontró que la terapia no demostró algún beneficio para la leucocitospermia asintomática porque aunque hubo una disminución en la cuenta de células blancas no disminuyeron por debajo del nivel establecido por la OMS, por lo que los autores dudan de la terapia antibiótica para tratar la leucocitospermia en varones asintomáticos, en contraste a otros estudios previos (Erel, 1997).

Efecto protector de los antioxidantes sobre la movilidad espermática.

En un estudio realizado por Gordon y cols. en 1996, se encontró un deterioro de la movilidad espermática, la trayectoria y velocidad promedio en presencia de leucocitos polimorfonucleares activados, y éste efecto fue reducido por la presencia concomitante de glutatión, N-acetilcisteína, hipotaurina y catalasa (Gordon 1996).

Una variedad de agentes antioxidantes, son accesibles para contrarrestar los efectos dañinos de las especies reactivas a oxígeno. La catalasa remueve el peróxido de hidrógeno convirtiendo éste oxidante en agua y oxígeno. La hipotaurina y el dimetilsulfóxido (DMSO) son antioxidantes preventivos. La vitamina E es conocida como un antioxidante que rompe la reacción en cadena lipoperoxidativa interactuando con el lípido peroxilo y radicales alcoxilo. Las moléculas que contienen Thiol como el glutatión reducido o la N-acetilcisteína, pueden exhibir muchas diferentes clases de actividad antioxidante, como por ejemplo el glutatión actúa como un sustrato para la enzima peroxidasa de glutatión que descompone el peróxido. Algunos de estos antioxidantes han demostrado previamente ser efectivos en la prevención del daño espermático. (Gordon 1996)

Tratamiento de la astenozoospermia severa inexplicable.

Si la movilidad inicial es inferior a 10 %, cualquiera que sea la causa, el éxito terapéutico es poco común. Las técnicas de micromanipulación han mejorado el éxito pero también se debe dar consejo a los pacientes acerca de las opciones de inseminación con donador o adopción (McConnell 1997).

Terapia empírica.

Se sugiere que las acciones de la hormona de crecimiento (GH) son mediadas parcialmente por el factor de crecimiento similar a insulina (IGF-I), el cual es producido principalmente en hígado, pero también en tejido periférico donde actúa como un factor de crecimiento autocrino-paracrino. Una considerable fracción de IGF-I e IGFBP-3 en plasma seminal puede ser de origen testicular. Además se han encontrado en hombres subfértiles niveles bajos de GH. Aunque el significado fisiológico de GH, IGF-I e IGF ligado a proteínas en el sistema reproductivo masculino todavía permanece incierto, la demostración de la presencia de IGF-I e IGFbps en los testículos soporta el papel funcional en la regulación de la función gonadal. Estos hallazgos y la demostración en hombres subfértiles de una insuficiencia relativa de GH, sugieren la iniciación de ensayos terapéuticos.

Ovesen y cols. en 1996 realizaron un estudio reportando que la movilidad espermática se incrementó en pacientes oligozoospermicos y astenozoospermicos posteriormente al tratamiento con GH durante 12 semanas, comenzando con 2 UI/día /14 días, seguidos por 4 UI/día por los siguientes 14 días, y posteriormente 6 UI/día hasta completar 12 semanas.

En la oligospermia idiopática hay un incremento en la cuenta espermática de algunos pacientes tratados con citrato de clomifeno, aunque muchos individuos no tienen respuesta. La mayoría de los reportes demuestran que no hay un incremento significativo en la movilidad espermática después de la terapia con citrato de clomifeno.

En un estudio de Chang en 1985, se encontró un significativo efecto depresivo de la movilidad con citrato de clomifeno en concentraciones de 0.05 microgramos/ml. o mayores. Sugiriendo con sus resultados que el CC disminuye la capacidad fertilizante de los espermatozoides in vitro y esto puede ser debido a la actividad inmovilizante espermática del citrato de clomifeno.

El tamoxifeno ejerce un efecto benéfico sobre la densidad y número de espermatozoides vivos, pero no tiene efecto substancial sobre la movilidad y morfología (Kotoulas 1994).

La fosfodiesterasa cataliza la descomposición de AMPc el cual es importante en la iniciación y regulación de la movilidad espermática normal. Hay estudios que sugieren que los inhibidores de la fosfodiesterasa mejoran la movilidad de los espermatozoides ya móviles, pero hacen poco para iniciar el movimiento en células inmóviles. Los pacientes tratados tienen incremento leve a moderado en la movilidad espermática, pero probablemente no tengan mejoría en la astenozoospermia severa.

La cafeína inhibe la fosfodiesterasa de AMPc, y mejora el porcentaje de movilidad, grado de movilidad y longevidad del espermatozoide humano eyaculado (Schoenfeld, 1975).

La teofilina tiene un mecanismo similar a las otras metilxantinas; a) inhibe la fosfodiesterasa causando una acumulación de AMP cíclico intracelular, b) modifica la traslocación de calcio resultando en una disminución del nivel de calcio intracelular, y c) tiene antagonismo directo del receptor de adenosina. Algunos estudios han sido contradictorios. Un estudio reciente muestra una mejoría en la capacidad fertilizante en huevo de hámster, con tasa de penetración de 16 % a 51 % con tratamiento (Lanfazame, 1994).

La pentoxifilina en un estudio de Jayaprakash en 1997, muestra que en hámsters, los espermatozoides tratados con pentoxifilina exhiben una marcada mejoría en los parámetros de movilidad que caracterizan a un patrón hiperactivado de la movilidad espermática. Los efectos benéficos de la pentoxifilina sobre los parámetros de cinética espermática e hiperactivación están relacionados a su capacidad para incrementar el contenido de AMPc intracelular (Calegoro 1998).

La 3-Isobutil-1-metilxantina también ha demostrado efecto mejorando la movilidad espermática como inhibidor de la fosfodiesterasa (Lanfazame 1994).

La kalikreína es una enzima que favorece la liberación de kininas, las cuales subsecuentemente estimulan la permeabilidad vascular, la contracción del músculo liso y el transporte de glucosa. Las kininas pueden mejorar la movilidad espermática. La utilidad de la kalikreína es debatida, algunos estudios muestran mejoría en la movilidad y otros sólo en la densidad espermática. En un estudio utilizando dosis de 600 UI/día no se observó mejoría de las variables seminales, ni incremento en la tasa de embarazo y no es apropiada para terapia de esterilidad masculina idiopática, resultados contradictorios han sido reportados en otro estudio (Keck 1994, Lanfazame 1994).

El factor activador de plaquetas (PAF) es un fosfolípido potente con muchas actividades biológicas diferentes. Se ha encontrado que la actividad de PAF es mayor en espermatozoides más móviles comparado con menos móviles, algunos autores no encontraron mejoría en el porcentaje de movilidad usando PAF. Un estudio reciente demuestra que el PAF y sus derivados mejoran la velocidad espermática y la movilidad (Lanfazame 1994).

La 2-deoxiadenosina es un análogo de adenosina con un anillo de ribosa modificado, paradójicamente favorece la producción de AMPc en el espermatozoide y se ha propuesto que esto es secundario a la mejoría en la actividad adenilato ciclasa. Se ha observado que favorece la movilidad, velocidad y linealidad espermática. En estudio en hámster el porcentaje de ovocitos penetrados fue de 80.8 % para 2-deoxiadenosina, 92.9 % para pentoxifilina, 80.6 % para cafeína y 85.5 % para pentoxifilina + 2-deoxiadenosina. (Lanfazame 1994).

La progesterona incrementa la movilidad espermática especialmente la movilidad hiperactivada, la cual es dependiente de AMPc, el mecanismo de acción de la progesterona parece involucrar varias vías bioquímicas: canales de calcio, receptores ligados a GABA y proteínas fosfotirosinas (Giojalas 1998, Parinaud 1996)

La relaxina es una hormona peptídica presente en el plasma seminal humano, se ha pensado que es producida por la próstata. La adición de relaxina mejora el grado de progresión hacia adelante, y el porcentaje de movilidad de los espermatozoides viejos, sugiriendo que el semen viejo tiene bioactividad disminuida de la relaxina. (Lanfazame 1994). En un estudio previo de Brenner de 1987 el contenido de relaxina inmunoreactiva no correlacionó con el porcentaje de movilidad espermática, volumen, o alguno de los parámetros medidos en el análisis seminal de rutina.

En un estudio, la indometacina y ketoprofen incrementaron la densidad, movilidad espermática y capacidad fertilizante (Barkay 1984).

Entre otros estimulantes de la movilidad espermática; el AMPc incrementa la duración de actividad del espermatozoide con mejoría en la proporción de espermatozoides con movilidad progresiva. La prostaglandina E2 mejora el grado de movilidad progresiva. El calcio y creatina fosfato se asocian con mejoría en velocidad y movilidad espermática. La adenosina también incrementa la movilidad. Las bradikininas mejoran la velocidad y movilidad espermáticas (Lanfazame 1994).

Procesamiento espermático

Recientemente se ha enfocado la atención sobre el uso de técnicas de procesamiento espermático para el tratamiento de la astenozoospermia. Después del procesamiento los espermatozoides pueden ser utilizados para Inseminación intrauterina (IUI), transferencia intratubaria de gametos (GIFT), o fertilización in vitro (IVF). No está claro si el procesamiento espermático mejora la movilidad de células pobremente móviles o simplemente selecciona una población de células ya móviles. Las características de movimiento de los espermatozoides individuales pueden mejorar, pero las células inmóviles raramente se convertirán en móviles. Por lo tanto las técnicas de procesamiento espermático son de beneficio limitado para pacientes con astenozoospermia severa.

Los gradientes de Percoll seleccionan espermatozoides con mejores características de movimiento, más hiperactivación y mejoran la longevidad, comparada con swim-up (Moohan 1995).

En un estudio de Kahraman de 1996, comparando la eficacia de los espermatozoides testiculares y los eyaculados totalmente o inicialmente inmóviles, utilizando inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI), se reportó una tasa de fertilización de 53.5 % para el grupo de espermatozoides testiculares y 54.5 % en el grupo de eyaculados. Se logró un total de 10 embarazos, de los cuales 8 fueron del grupo de espermatozoides testiculares y 2 en el de eyaculados que resultaron en aborto. Concluyendo que mayores tasas de embarazo pueden ser obtenidas cuando se usan espermatozoides testiculares. Aunque el número de pacientes fue bajo (10 pacientes en el grupo de espermatozoides eyaculados y 14 en el grupo de recuperados de testículo).

Tomás en el año de 1988, utilizó ICSI, por fertilización in vitro previamente baja o fallida. Se reportó que la tasa de fertilización e implantación fueron significativamente más bajas en el grupo con fertilización previamente fallida (19.6% y 9.6%), que en el grupo con factor masculino severo (33.5% y 19.5%). Concluyendo que los pacientes con fertilización previa fallida o baja tasa de fertilización con IVF standard sin factor masculino, tienen

significativamente una más pequeña oportunidad de lograr el embarazo después de ICSI, que los pacientes con factor masculino primario. Este pobre éxito probablemente refleja defectos intrínsecos del ovocito no superados por ICSI (Tomás, 1998).

Terriou en 1993, evaluó la inserción subzonal (SUZI), en casos de astenozoospermia total (100 % de espermatozoides inmóviles), o extrema (5 % de movilidad no progresiva). La tasa de fertilización fue de 45 % . La calidad de los embriones fue satisfactoria y una tasa de implantación por embrión transferido de 40 %. Concluyendo que la astenozoospermia extrema o severa son buenas indicaciones para SUZI (Terriou,1993).

En un estudio del Hospital de la Universidad de Ghent en Bélgica para evaluar costo/efectividad de las técnicas de reproducción asistida, utilizando inseminación intrauterina, utilizando gradientes de Percoll, la tasa de éxito fue de 25 % en el primer ciclo, 15 % en el segundo y 10 % en el tercero, con un costo entre 40,000 y 120.000 francos Belgas. Con IVF la tasa de éxito en términos de bebé a casa fue de 18 % por ciclo iniciado, y el costo por nacimiento exitoso fue de 550,000 francos Belgas. Cuando se utilizó ICSI, la tasa de éxito por intento se incrementó a 35% en los primeros 2 intentos, con un costo por nacimiento de 360,000 francos Belgas . Concluyen que ICSI parece ser más costo/eficiente que IVF convencional (Comhaire 1995).

BIBLIOGRAFIA

- . Barkay J, Harpaz-Kerpel S, Ben-Ezra S, Gordon S, and Zuckerman H. The prostaglandin inhibitor effect of antiinflammatory drugs in the therapy of male infertility. *Fertil Steril* 1984 ; 42 : 406- 411.
- . Berger RE. Infection and Male Infertility. Chapter 42 in Keye WR. *Infertility : Evaluation and Treatment* . Philadelphia, Saunders Company, 1995 : 455.
- . Berger RE, Karp LE, Williamson RA, Koehler J, Moore DE, Holmes KK. The relationship of pyospermia and seminal fluid bacteriology to sperm function as reflected in the sperm penetration assay. *Fertil Steril*. 1982 ; 37 : 557-563.
- . Brenner SH, Lesing JB, Schoenfeld C, Goldsmith LT, et al. Human semen relaxin and its correlation with the parameters of semen analysis. *Fertil Steril*. 1987 ;47 : 715-719.
- . Calegoro A E, Fishel S, Hall J, Ferrara E, et al. Correlation between intracellular cAMP content, kinematic parameters and hyperactivation of human spermatozoa after incubation with pentoxifylline. *Hum Reprod*. 1998 ; 13 : 911-915.
- . Carpio A, Siciliano L, Petrone MF, De Stefano C, Aquila S, Ando S. Low seminal zinc bound to high molecular weight proteins in asthenozoospermic patients : evidence of increased sperm zinc content in oligoasthenozoospermic patients. *Hum Reprod*. 1998 ; 13 : 111-114.
- . Chan SYW, Wang C, Tang LCH. Effect of clomiphene citrate on human spermatozoal motility and fertilizing capacity in vitro. *Fertil Steril*. 1985 ; 43 :773-776.
- . Chemes HE, Brugo S, Zanchetti F, Carrere C, Lavieri JC. Dysplasia of the fibrous sheath : an ultrastructural defect of human spermatozoa associated with sperm immotility and primary sterility. *Fertil Steril*. 1987 ; 48 : 665-669.
- . Cintron RD, Wortham JW, Acosta A. The association of semen factors with the recovery of ureaplasma urealyticum. *Fertil Steril*. 1981 ;36 : 648-652.
- . Comhaire F. Economic strategies in modern male subfertility treatment. *Hum Reprod*. 1995 ; 10 : 103-105.
- . de Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa : a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod*. 1995 ;10, suppl 1 :15-21.
- . Eddy EM, O'Brien DA. The Spermatozoon. Chapter 2 in Knobil E, Neil JD (eds) : *The Physiology of Reproduction*. Second Edition. New York. Raven Press. 1994 : 29-62.

- . Erel CT, Sentürk LM, Demir F, Irez T, Ertüngealp E. Antibiotic Therapy in Men with Leucocytospermia. *Int J. Fertil.* 1997 ;42 :206-210.
- . ESHRE Andrology Special Interest Group. Guidelines on the application of CASA technology in the analysis of spermatozoa. *Hum Reprod.* 1998 ; 13 : 142-145.
- . Gagnon C, Lamirande E, Sherins RJ. Positive correlation between the level of protein-carboxyl methylase in spermatozoa and sperm motility. *Fertil Steril.* 1986 ; 45 : 847-853.
- . Garbers DL, Kopf GS. The regulation of spermatozoa by calcium and cyclic nucleotides. In: Greengard P, Robinson GA, eds. *Advances in cyclic nucleotide research.* New York: Raven P. 1980: 251-306.
- . Gibbons IR. Cilia and flagella of eukaryotes. *J Cell Biol* 1981; 91: 107s-124s.
- . Giojalas L. Correlation between response to progesterone and other functional parameters in human spermatozoa. *Fertil Steril*, 1998 ; 69 : 107-111.
- . Glezerman M, Bartoov B. Diagnóstico de la Infertilidad Masculina. Análisis de semen. Capítulo 10 en Insler/ Lunenfeld. *Infertilidad en el Hombre y la Mujer.* Argentina. Ed. Médica Panamericana 1988 : 164-165.
- . Gordon HW, Brindle J, Irvine DS, Aitken RJ. Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated polymorphonuclear leucocytes. *Fertil Steril.* 1996; 65 : 411-419.
- . Hancock AD, Kretser DM. The axonemal ultrastructure of spermatozoa from men with asthenospermia. *Fertil Steril.* 1992 ; 57 : 661-664.
- . Hovatta Outi, Venäläinen E-R, Kuusimäki L, Heikkilä J, Hirvi T, Reima I. Aluminium, lead and cadmium concentrations in seminal plasma and spermatozoa, and semen quality in Finnish men. *Hum Reprod.* 1998 ;13 :115-119.
- . Howards SS. Varicocele. *Infertil Reprod Med. Clin North Am.* 1992 ;3 :429-441.
- . Hudson RW, Perez-Marrero R, Crawford VA, McKay DE. Hormonal parameters of men with varicoceles before and after varicocelectomy. *Fertil Steril.* 1985 ;43 : 905-916.
- . Jayaprakash D, Kumar KS, Shivaji S, Seshagiri PB. Pentoxifylline induces hyperactivation and acrosome reaction in spermatozoa of golden hamsters : changes in motility kinematics *Hum Reprod.* 1997 ; 12 : 2192-2199.
- . Kahraman S, Tasdemir M, Tasdemir I, Vicdan K, Özgür S, et al. Pregnancies achieved with testicular and ejaculated spermatozoa in combination with intracytoplasmic sperm injection in men with totally or initially immotile spermatozoa in the ejaculate. *Hum Reprod.* 1996 ; 11 : 1343-1346.

- . Keck C, Behre HM, Jockenhövel, Nieschlag E. Ineffectiveness of kallikrein in treatment of idiopathic male infertility : a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hum Reprod.* 1994 ; 9 : 325-329.
- . Kotoulas Ion- George, Cardamakias E, Michopoulos J, Mitropoulos D, Dounis A. Tamoxifen treatment in male infertility. I Effect on spermatozoa. *Fertil Steril.* 1994 ;61 : 911-914.
- . Lanfazame F, Chapman MG, Guglielmino A, Gearon CM, Forman RG. Pharmacological stimulation of sperm motility. *Hum. Reprod.* 1994 ; 9 : 192-199.
- . Le Calvé M, Segalen J, Querneé, Lavault MT, Lecoat D. Diamine oxidase activity and biochemical markers in human seminal plasma. *Hum Reprod.* 1995 ; 10 : 1141-1144.
- . McConnell JD. Abnormalities in Sperm Motility : Techniques of Evaluation and Treatment. Chapter 13 in Lipshultz LI, Howards SS (eds) *Infertility in the Male.* Second Edition. St Louis. Mosby 1997 : 249-267.
- . McComb PF, Fleige-Zahradka BG. The Falopian tuba : Pathophysiology. Chapter 30 in Keye WR. *Infertility :Evaluation and Treatment.* Philadelphia, Saunders Company 1995 : 455.
- . McLeod J. Seminal Cytology in the Presence of Varicocele. *Fertil Steril.* 1965 ; 16 :735-757.
- . Moohan JM, Lindsay KS. Spermatozoa selected by a discontinuous Percoll density gradient exhibit better motion characteristics, more hyperactivation, and longer survival than direct swim-up. *Fertil Steril.* 1995 ; 64 : 160-165.
- . Nicholson SC, Robinson JN, Sargent IL, Barlow DH. Detection of antisperm antibodies in seminal plasma by flow cytometry : comparison with the indirect immunobead binding test. *Fertil Steril,* 1997 ; 68 : 115-119.
- . Okamura N, Tajima Y, Ishikawa H, Yoshii S, Koiso K, Sutiga Y. Lowered levels of bicarbonate in seminal plasma cause the poor sperm motility in human infertile patients. *Fertil Steril.* 1986 ; 45 : 265-279.
- . Ombelet W, Vandeput H, Janssen M, Cox A, Vossen C, Pollet H, et al. Treatment of male infertility due to sperm surface antibodies : IUI or IVF ? . *Hum Reprod.* 1997 ; 12 : 1165-1170.
- . Organización Mundial de la Salud. Manual de laboratorio para el examen de semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. Tercera edición. Editorial Panamericana. 1988.

- . Overstreet JW, Davis RO. Methods and Interpretation of Semen Analysis. Chapter 38 in Keye WR. Infertility : Evaluation and Treatment. Philadelphia. Saunders Company. 1995 : 588.
- . Ovesen P, Jorgensen JOL, Ingerslev J, Ho KKY, Orskov H, Christiansen JS. Growth hormone treatment of subfertile males. Fertil Steril. 1996 ; 66 : 292-298.
- . Parikh FR, Kamat SA, Kodwaney GG, Balaiah D. Computer-assisted semen analysis parameters in men with varicocele :is surgery helpful ? Fertil Steril 1996 ;66 :440-445.
- . Patrizio P, et al: Correlation between epididymal length and fertilization rate in men with congenital absence of the vas deferens. Fertil Steril. 1994; 61: 265.
- . Parinaud J, Milhet P. Progesterone Induces Ca⁺⁺- Dependent 3',5'- Cyclic Adenosine Monophosphate Increase in Human Sperm. JCE & M. 1996 ;81 :1357-1360.
- . Paz GF, Homonnai ZT. Bases Estructurales y Funcionales de Infertilidad Masculina. Capitulo 6 en Insler/Lunenfeld. Infertilidad en el Hombre y la Mujer. Argentina. Editorial Médica Panamericana 1988 ; 164-165.
- . Pedigo NC, Vernon MW, Curry TE. Characterization of a computerized semen analysis system. Fertil Steril. 1989 ; 52 :659-666.
- . Plante M, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species released by activated neutrophils, but not by deficient spermatozoa, are sufficient to affect normal sperm motility. Fertil Steril. 1994 ; 62 : 387-393.
- . Purvis K, Christiansen E. The impact of infection on sperm quality. Journal of the British Fertility Society. 1995 ;1 :31-41.
- . Roselli M, Dubey RK, Imthurn B, Macas E, Keller PJ. Effects of nitric oxide on human spermatozoa: evidence that nitric oxide decreases sperm motility and induces sperm toxicity. Hum Reprod. 1995 ; 10 : 1786-1790.
- . Ryder TA, Mobberley MA, Hughes L, Hendry WF. A survey of the ultrastructural defects associated with absent or impaired human sperm motility. Fertil Steril. 1990 ; 53 : 556-560.
- . Schill WB. Tratamiento de la infertilidad masculina. Capítulo 23 en Insler/Lunenfeld. Infertilidad en el Hombre y la Mujer. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 1988 :557.
- . Silver IR, et al: Expression and regulation of steroid 5 alfa reductase 2 in prostate disease, J Urol 152: 433, 1994.
- . Schoenfeld CY, Amelar RD, Dubin L. Stimulation of Ejaculated Human Spermatozoa by Caffeine. Fertil Steril. 1975 ;26 :158-161.

- . Teague NS, Boyarsky S, Glenn JF. Interference of Human Spermatozoa motility by Escherichia Coli. *Fertil Steril.* 1971 ; 22 :281-285.
- . Terriou P, Giorgetti C, Hans E, Spach J-L, Salzmann, et al. Subzonal sperm insemination and total or extreme asthenozoospermia : an effective technique for an uncommon cause of male infertility. *Fertil Steril.* 1993 ; 60 :1057-1061.
- . Toht A, Lesser ML, Brooks C, Labriola D. Subsequent pregnancies among 161 couples treated for T-Mycoplasma genital-tract infection. *N Engl J Med.* 1983 ;308 :505-507.
- . Tomás C, Ovara M, Tuomivaara L, Martikainen H. Low pregnancy rate is achieved in patients with intraytoplasmic sperm injection due to previous low or failed fertilization in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1998 ; 13 : 65-70.
- . Tomlinson MJ, Barratt CL, Cooke ID. Prospective study of leukocytes and leukocyte subpopulations in semen suggest they are not a cause of male infertility. *Fertil Steril.* 1993 ; 60 :1069-1075.
- . Tur-Kaspa I, Maor Y, Levran D, Yonish M, Mashiach S, Dor J. How often should infertile men have intercourse to achieve conception ?. *Fertil Steril.* 1994 ;62 :370-375.
- . Usselman MC, Cone RA: Rat sperm are mechanically immobilized in the caudal epididymis by "inmovilin", a high molecular weight glycoprotein. *Biol Reprod.* 29: 1241, 1983.
- . Weinberg JB, Doty E, Bonaventura J, Haney AF. Nitric oxide inhibition of human sperm motility. *Fertil Steril.* 1995 ;64 :408-413.
- . Weström LV. Chlamydia and its effect on reproduction. *Journal of the British Fertility Society.* 1996 ;1 :23-30.
- . Wilton LJ, Tempe-Smith PD, Kretser DM. Quantitative ultrastructural analysis of sperm tails reveals flagellar defects associated with persistent asthenozoospermia. *Hum Reprod.* 1992; 7 : 510-516.
- . Witkin SS, Jeremias J, Grifo JA, Ledger WJ. Detection of Chlamydia trachomatis in semen by the polymerase chain reaction in male members of infertile couples. *Am J Obstet Gynecol.* 1993 ;168 :1457-1462.
- . Yanagimachi R. Mammalian Fertilization. Chapter 5 in Knobil E, Neil JD (eds) : *The Physiology of Reproduction.* Second Edition. New York. Raven Press 1994 : 189-225.
- . Yamamoto M, Turner TT. Epididymis Sperm Maturation and Capacitation. Chapter 6 in Lipshultz LI, Howards SS (eds) : *Infertility in the Male.* Second edition. St Louis. Mosby. 1991 : 103-123.