MANUAL DE ANDROLOGIA

Segunda Edición

Traducción de la versión original en inglés
The American Society of Andrology

con el auspicio
de la Sociedad Argentina de Andrología

Prólogo

Tenemos el agrado de presentar a la comunidad de habla hispana la traducción al castellano de la segunda edición del Manual de Andrología publicado en 2010 por la Sociedad Americana de Andrología y co-editado por Bernard Robaire, PhD y Peter Chan, MD.

Este manual contiene un total de 41 capítulos que exploran diversas áreas de la Andrología básica y clínica, y han sido escritos por distinguidos colegas expertos en los diversos temas. El número de capítulos de esta edición se ha incrementado respecto del original de 24 que contenía la Primera Edición, lo que permitió abordar un temario más amplio.

La presente traducción nos fue solicitada por la Sociedad Americana de Andrología. Dada la complejidad de la tarea invitamos a un importante número de especialistas de habla hispana a colaborar traduciendo capítulos individuales. Luego de recibir todas las traducciones realizamos un trabajo editorial de compatibilización de las mismas en los aspectos lingüísticos y de diseño para asegurar su consistencia y homogeneidad.

Esperamos que esta traducción, que cuenta con el auspicio de la Sociedad Argentina de Andrología, contribuya a la difusión de los avances recientes de la especialidad en la comunidad iberoamericana.

Agradecemos a la Sociedad Americana de Andrología por la confianza depositada en nosotros para realizar esta tarea.

Co-Editores de la traducción al castellano
Héctor Chemes MD. PhD, Mónica Vazquez-Levin PhD.

Prefacio

Desde la primera edición del Manual de Andrología, publicado por la Sociedad Americana de Andrología hace 15 años, se han distribuido a andrólogos y colegas en formación de todo el mundo más de 20.000 copias impresas del mismo y un número difícil de estimar, y seguramente mayor, de copias electrónicas. La primera edición fue traducida al Castellano, Italiano y Chino, y la mayor parte de su contenido aún mantiene su vigencia. Sin embargo, el volumen de la literatura científica sobre los diversos aspectos de la Andrología se ha expandido vertiginosamente. Como consecuencia de ello se ha generado un volumen de conocimiento en constante crecimiento, no solamente en los aspectos de ciencia básica sino también en el manejo clínico de la salud masculina.

En esta edición el número de capítulos se ha incrementado de 24 a 41 y hemos hecho, al mismo tiempo, un esfuerzo especial para retener un estilo que permitiera a los colegas en formación iniciarse e internarse en la disciplina de la Andrología sintiéndose tan estimulados de trabajar en este campo como lo están los autores de este manual. Nuestros capítulos comprenden la muy amplia gama de tópicos característicos de la Andrología, desde la biología molecular a la medicina humana y veterinaria, así como desde la investigación clínica a los problemas éticos de nuestra especialidad. Nuevamente hemos sido muy afortunados de contar como autores a Andrólogos de renombre internacional, que son expertos en los variados tópicos incluidos en este Manual. Deseamos agradecer especialmente a estos colegas por su muy valiosa contribución.

Debido a los muy rápidos avances en la tecnología de la información, creemos que ha llegado el momento de avanzar más allá del formato tradicional de un libro impreso y adoptar una versión electrónica para la presente edición del Manual de Andrología. Gracias al apoyo de la Sociedad Americana de Andrología, esta edición será accesible a todos los miembros de nuestra sociedad en forma gratuita. La versión electrónica estará disponible en formato PDF tanto de su versión completa como de sus capítulos individuales. De esta manera creemos que se facilitará una circulación mucho más amplia del Manual de Andrología, serán posibles actualizaciones más frecuentes de su contenido y se ayudará a preservar el medio ambiente protegiendo los bosques de nuestro planeta.

Es nuestra esperanza que esta segunda edición del Manual de Andrología provea los cimientos para la formación en áreas básicas y clínicas de la Andrología, así como la de los profesionales en las otras disciplinas de la salud, colegas en formación, orientadores de políticas sanitarias y, en general, para proveer el conocimiento relevante que puedan buscar todos aquellos que se interesen en nuestra especialidad.

Finalmente, deseamos agradecer la dedicación y apoyo administrativo de Elise Boivin-Ford, así como el trabajo y colaboración de todos los miembros de la Sociedad Americana de Andrología por la asistencia y apoyo que han hecho de éste Manual de Andrología una realidad.

Bernard Robaire y Peter Chan, Co-editores
Febrero de 2010

Lista de Contribuyentes

Versión en Inglés

Co-editores

Bernard Robaire, Ph.D.
Department of Pharmacology and Therapeutics
McGill University
3655 Promenade Sir-William-Osler
Montreal, QC H3G 1Y6
Canada

Peter Chan, M.D.
McGill University
Department of Surgery
Royal Victoria Hospital
687 Pine Avenue West, S6.95
Montreal, QC H3A 1A1
Canada

Autores

Rupert P. Amann, Ph.D. Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory Colorado State University Fort Collins, CO 80523-1683 USA

John K. Amory, M.D. Center for Research in Reproduction & Contraception Department of Medicine University of Washington Box 356429 Seattle, WA 98195-6429 USA

Janice L. Bailey, Ph.D. Centre de recherche en biologie de la reproduction Faculté des Sciences de l'agriculture et de l'alimentation Pavillon Paul-Comtois, local 4147 Université Laval Québec, QC G1K 7P4 Canada

William J. Bremner M.D., Ph.D. University of Washington School of Medicine 1959 NE Pacific Street UW Mailbox 356420 Seattle, WA 98195-6420 USA

Terry R. Brown, Ph.D. Division of Reproductive Biology Department of Biochemistry and Molecular Biology Bloomberg School of Public Health Johns Hopkins University Baltimore, MD 21205 USA

Arthur L. Burnett, M.D., Ph.D. Brady Urological Institute Johns Hopkins Medical Institutions Baltimore, MA 21287 USA

Mary S. Croughan, Ph.D. Ob/Gyn Women’s Hlth Clinical Res University of California at San Francisco Box 1793, 1635 Divisadero St. 601 San Francisco, CA 94143-1793 USA

Géraldine Delbès, Ph.D. Department of Pharmacology and Therapeutics McGill University 3655 Prom. Sir-William-Osler Montreal, QC H3G 1Y6 Canada

Janice P. Evans, Ph.D. Division of Reproductive Biology Department of Biochemistry and Molecular Biology Bloomberg School of Public Health Johns Hopkins University Baltimore, MD 21205 USA

Duane L. Garner, Ph.D. Department of Animal Biotechnology University of Nevada, Reno Reno, NV 89557 USA

Marc Goldstein, M.D. Cornell Institute for Reproductive Medicine Weill-Cornell Medical College Box 580, 525 E 68th Street New York, NY 10065

Barbara F. Hales, Ph.D. Department of Pharmacology and Therapeutics McGill University 3655 Promenade Sir-William-Osler Montreal, QC H3G 1Y6 Canada

Mary Ann Handel, Ph.D. The Jackson Laboratory 600 Main Street Bar Harbor, Maine 04609 USA

Wayne J.G. Hellstrom. M.D. Tulane University School of Medicine Department of Urology New Orleans, LA 70112 USA

Barry T. Hinton, Ph.D. Department of Cell Biology University of Virginia Health. Sciences Center PO Box 800732 School Of Medicine #439 Charlottesville, VA 22908 USA

Ilpo Huhtaniemi, M.D., Ph.D. Department of ReproductiveBiology Imperial College London LondonW120NN UK Montreal, QC H3G 1Y6 Canada

Nigel Hunt, Ph.D. Institute of Work, Health and Organisations University of Nottingham Floor B, International House Jubilee Campus, Wollaton Road Nottingham NG8 1BB UK

Dolores Lamb, Ph.D. Scott Department of Urology Baylor College of Medicine Houston, Texas 77030 USA

Sue McHale, Ph.D. Faculty of Development and Society Sheffield Hallam University Collegiate Crescent Campus Sheffield S10 2BP UK

Robert I. McLachlan, Ph.D. Prince Henry's Inst of Med Res Level 4, Block E Monash Medical Centre 24 Clayton Rd Clayton, Victoria 3168 Australia

Kevin T. McVary, M.D. Department of Urology Feinberg School of Medicine Northwestern University School of Medicine Chicago, IL 60611 USA

Marvin L. Meistrich, Ph.D. Department of Experimental Radiation Oncology University of Texas M. D. Anderson Cancer Center Unit 066, 1515 Holcombe Blvd. Houston, TX 77030-4009 USA

Alvaro Morales, M.D. Department of Urology Centre for Applied Urological Res Queen's University Kingston, ON K7L 2V7 Canada

Abraham Morgentaler, M.D. Men's Health Boston Harvard Medical School One Brookline Place, Suite #624 Brookline, MA 02445-7224 USA

Makoto Nagano, Ph.D. Department of Obstetrics and Gynecology The Research Institute of the McGill University Health Centre McGill University 687 Pine Avenue West Montreal QC H3A 1A1 Canada

Falk Ochsendorf, M.D., Ph.D. Zentrum Dermatologie und Venerologie Klinikum der J.W. Goethe-Universität Frankfurt Theodor-Stern-Kai 7 60590 Frankfurt Germany

Vassilios Papadopoulos, Ph.D. Departments of Medicine and of Pharmacology and Therapeutics The Research Institute of the McGill University Health Centre McGill University 1650 Cedar Avenue Montreal, QC H3G 1A4 Canada

D.J. Parekh, M.D. Department of Urology The University of Texas Health Science Center at San Antonio San Antonio TX 78229 USA

Sally D. Perreault, Ph.D. US Environmental Protection Agency Mail Drop E205-09 Research Triangle Park NC 27711 USA

Phillip M. Pierorazio, M.D. James Buchanan Brady Urological Institute Johns Hopkins Medical Inst. Baltimore, MD 21287 USA

Tony M. Plant, Ph.D. University of Pittsburgh School of Medicine Dept. of Cell Biology and Physiology Magee-Womens Research Institute 204 Craft Avenue, Room B311 Pittsburgh, PA 15213 USA

Gail S. Prins, Ph.D. Department of Urology, MC 955 University of Illinois at Chicago 820 South Wood Street Chicago, IL 60612 USA

Mathew C. Raynor, M.D. Department of Urology Tulane Health Sciences Center 1430 Tulane Avenue New Orleans, LA 70112 USA

Kenneth Roberts, Ph.D. University of Washington School of Medicine 320N Health Sciences Building PO Box 1495 Spokane, WA 9 9210 USA

Susan A. Rothmann, Ph.D. Fertility Solutions Inc. 11811 Shaker Blvd., Suite 330 Cleveland, OH 44120 USA

Peter N. Schlegel, M.D. Department of Urology New York Presbyterian Hospital/Weill Cornell Medical Center 525 East 68th Street New York, NY 10021 USA

Richard J. Sherins, M.D. Columbia Fertility Associates 2440 M Street North West, # 401 Washington, DC 20037 USA

David W. Silversides, Ph.D. Department of Veterinary Biomedicine University of Montreal St-Hyacinthe, QC J2S 7C6 Canada

Niels E. Skakkebæk, M.D. Rigshospitalet, Department of Growth & Reproduction GR 5064, Blegdamsvej 9 DK-2100 Copenhagen Denmark

Ronald S. Swerdloff, M.D. Division of Endocrinology Department of Medicine Harbor-UCLA Medical Center and Los Angeles Biomedical Research Center 1000 W. Carson Street Torrance, CA 90509 USA

J. Lisa Tenover, M.D., Ph.D. Division of Geriatric Medicine Wesley Woods Health Center 1841 Clifton Road NE Atlanta, GA 30329-5102 USA

I.M. Thompson, M.D. Department of Urology The University of Texas Health Science Ctr at San Antonio 7703 Floyd Curl Drive San Antonio, TX 78229 USA

Jacquetta M. Trasler, M.D., Ph.D. Department of Pediatrics McGill University, MCH MUHC-RI 2300 rue Tupper Montréal, QC H3H 1P3 Canada

Robert S. Viger, Ph.D. Laval University Dept. of Ob/Gyn 2705 Laurier boulevard, T1-49 Centre de recherche CHUQ-CHUL Quebec, QC G1V 4G2 Canada

Thomas J. Walsh, M.D. Department of Urology University of Washington School of Medicine 1959 NE Pacific Street, # Bb667 Seattle, WA 98195-0001 USA

Christina Wang, M.D. Division of Endocrinology Department of Medicine Harbor-UCLA Medical Center and Los Angeles Biomedical Research Center 1000 W. Carson Street Torrance, CA 90509 USA

Selma F. Witchel, M.D. Children's Hospital of Pittsburgh Division of Endocrinology Pittsburgh, PA 15213 USA

William W. Wright, Ph.D. Division of Reproductive Biology Department of Biochemistry and Molecular Biology Bloomberg School of Public Health Johns Hopkins University Baltimore, MD 21205 USA

Barry R. Zirkin, Ph.D. Division of Reproductive Biology Department of Biochemistry and Molecular Biology Bloomberg School of Public Health Johns Hopkins University Baltimore, MD 21205 USA

Versión en Castellano

Co-editores

Dr. Héctor E. Chemes

Investigador Superior
CEDIE-CONICET
Laboratorio de Fisiología y Patología Gonadal
Centro de Investigaciones Endocrinológicas
División Endocrinología
Gallo 1330
C1425SEFD Buenos Aires
Argentina.
Tel (54) 11 4963-5931 Int. 118
Fax (54) 11 4963-5930
hchemes@cedie.org.ar

Dra. Mónica Vazquez-Levin
InvestigadoraPrincipal
IBYME-CONICET
Laboratorio de Estudios de la Interacción Celular
En Modelos de Reproducción y Cáncer
Instituto de Biología y Medicina Experimental
Vuelta de Obligado 2490
C1428ADN Buenos Aires
Argentina.
Tel (54) 11 4783-2869. Int. 248/271
Fax (54) 11 4786-2564
mhvazl@gmail.com

Traductores **(orden alfabético)**

Dr. Anibal Acosta

Dr. Sergio Aszpis

Dr. José Luis Ballescá

Dr. Ignacio Bergadá

Dra. Ana María Blanco

Dr. Jorge Blaquier

Dr. Santiago Brugo Olmedo

Dr. Eduardo Bustos Obregon

Dra. Lucrecia Calvo

Dr. Pablo Cetica

Dr. Héctor Chemes

Dra. Selva B. Cigorraga

Dr. Roberto Coco

Dra. Patricia Cuasnicu

Dra. María Florencia Fulco

Dr. Diego Golombek

Dr. Pablo Knoblovits

Dr. Oscar A. Levalle

Dra. Livia Lustig

Dra. Clara Marín-Briggiler

Dr. Osvaldo Mazza

Dr. Marcelo Miragaya

Dra. Rosa Molina

Dr. Alberto Nagelberg

Dr. Cristian O'Flaherty

Dr. Raymond Osés

Dr. Omar Pignataro

Dr. Ernesto Podestá

Dr. José Ma.Pomerol

Dra. Ana Puigvert

Dr. Jaume Reventós

Dr. Rodolfo Rey

Dr. Gastón Rey-Valzacchi

Dr. Javier Scaglia

Dr. Claudio Terradas

Dra. Mónica Vazquez-Levin

INDICE DE CONTENIDOS

Preámbulo
¿Qué pieza de arte es el hombre"
P. Troen

Capítulo 1. **Cuáles son los componentes del sistema reproductor masculino?** SNC, hipófisis, testículos, epidídimo, próstata, vesículas seminales, escroto, pene.
K.P. Roberts

Capítulo 2. **¿Cuál es la relación entre los diversos componentes endócrinos del sistema reproductor masculino?** Eje hipotálamo-hipófiso-testicular - Circuitos de retroalimentación
R.S. Swerdloff

Capítulo 3. **¿Cómo se leen las señales hormonales en el sistema reproductor masculino?**
I. Huhtaniemi

Capítulo 4. **¿Qué compuestos son los intermediarios de la comunicación dentro del testículo? ¿Dónde y cómo se producen las hormonas sexuales masculinas?**
B.R. Zirkin

Capítulo 5. **¿Cómo es regulada la síntesis de testosterona?**
V. Papadopoulos

Capítulo 6. ¿**Cómo se generan las células germinales y qué factores controlan su producción?**
M. Nagano

Capítulo 7. **¿Qué evento cromosómico distintivo conduce a la formación de la célula germinal haploide masculina?**
M. A. Handel

Capítulo 8. **Cómo se regula la producción de espermatozoides?**
R.I. Mclachlan

Capítulo 9. **¿Hay eventos epigenéticos asociados a la formación de las células germinales masculinas? ¿Cuál es el rol del "*imprinting*" genómico en las células germinales masculinas?**
J.M. Trasler

Capítulo 10. **¿Qué hace el epidídimo y cómo lo hace?**
B.T. Hinton

Capítulo 11. **¿Qué es la próstata y cuáles son sus funciones?**
G. S. Prins

Capítulo 12. **¿Cómo contribuye el análisis del semen al conocimiento del estado reproductivo del hombre?**
C. Wang

Capítulo 13. **¿Cómo se determina la calidad de la estructura de la cromatina espermática? ¿Qué utilidad tiene su estudio?** *Sistemas de estudio de la cromatina del espermatozoide*
B. Robaire

Capítulo 14. **¿Qué es el almacenamiento de semen? ¿Cuándo y cómo es (o debería ser) utilizado en humanos? ¿animales?** *Almacenamiento (Banco) de semen, consecuencias de su utilización en animales y práctica clínica*
S. Rothman

Capítulo 15. **¿Cómo hacen los espermatozoides para alcanzar el ovocito y cómo ocurre la fecundación?** *Los eventos de capacitación, exocitosis acrosomal, interacción espermatozoide-ovocito y activación ovocitaria*
J.P. Evans y J.L. Bailey

Capítulo 16. **¿Qué determina el sexo masculino?** *Determinación sexual, formación del testículo y desarrollo del fenotipo masculino*
D. W. Silversides y R. S. Viger

Capítulo 17. **¿Hay defectos genéticos específicos que afectan al aparato reproductor masculino? ¿Cuáles son los mecanismos subyacentes?**
T. R. Brown

Capítulo 18. **¿Existe un gatillo para el inicio de la pubertad en el varón? ¿Debería la pubertad temprana o retrasada ser tratada? Si es así, cómo?.**
T.M.Plant y S.F.Witchel

Capítulo 19. **Infertilidad masculina: Epidemiología y evaluación básica**
P. Chan

Capítulo 20. **¿Por qué evaluar al hombre infértil en la era de Técnicas de Reproducción Asistida (TRA)?** *Terapias médicas y quirúrgicas para la infertilidad masculina*
M. Goldstein

Capítulo 21. **¿Cuáles son las técnicas de reproducción asistida para la infertilidad masculina?** *Indicaciones de IIU/FIV/ICSI, Recuperación quirúrgica de espermatozoides*
P.N. Schlegel

Capítulo 22. **¿Existen factores genéticos asociados con la infertilidad masculina?**
D. Lamb

Capítulo 23. **¿Cómo podemos evaluar la salud resultante en los niños concebidos mediante técnicas de reproducción asistida?** *Consideraciones éticas en andrología.*
T.J. Walsh y M.S. Croughan

Capítulo 24. **¿Cómo se minimiza el factor del macho en la subfertilidad de los animales de compañia y de producción?**
R.P. Amann

Capítulo 25. **¿Qué debemos saber de inseminación artificial (ia) en animales?**
R.P. Aman y D.L. Garner

Capítulo 26. **¿Hay una disminución en el recuento de espermatozoides en los hombres?**
R.J. Sherins and G. Delbes

Capítulo 27. **¿Cómo afectan las señales ambientales a la reproducción en el macho?**
W.W. Wright

Capítulo 28. **¿Cuáles son los efectos de los tóxicos ambientales y/o disruptores endocrinos sobre la función espermática?***Efectos de la exposición a sustancias químicas en el varón, especies reactivas de oxígeno y el espermatozoide. ¿Cuál es la evidencia que los contaminantes ambientales pueden impactar la función espermática en el humano?*
S.D. Perrault

Capítulo 29. **¿Pueden los espermatozoides ser afectados por medicamentos/drogas?. Si así es, ¿Cuáles son las consecuencias de la exposición a medicamentos/drogas?. ¿Es necesario el consejo médico para el hombre en la pre-concepción?** *Medicamentos/drogas que afectan la estructura o la función espermática, toxicidad en el desarrollo mediada por el hombre, prevención, análisis para detectar daño del espermatozoide.*
B.F Hales y B. Robaire

Capítulo 30. **¿Podemos proteger la espermatogénesis ante las agresiones al testículo?** *Toxicología reproductiva masculina*
M.L. Meistrich

Capítulo 31. **¿Qué anticonceptivos masculinos existen en la actualidad y cuál es la perspectiva respecto al desarrollo de nuevos métodos de anticoncepción para el hombre?**
J. K. Amory & W.J. Bremner

Capítulo 32. **¿Cuáles son las consecuencias de las infecciones de transmisión sexual sobre la reproducción masculina?**
F.R. Ochsendorf

Capítulo 33. **¿Qué tipos de Cáncer Testicular ocurren en hombres? ¿Cuál es su pronóstico? ¿Cuán efectivos son los enfoques terapéuticos actuales?**
N.E. Skakkebaek

Capítulo 34. **¿Cómo ocurren las erecciones?, ¿Cuán frecuente es la disfunción eréctil?, ¿Cuál es su etiología? y ¿Cómo evalúa Usted a los hombres con este problema?**
P. M. Pierorazio y A. L. Burnett

Capítulo 35. **Cómo tratar la disfunción eréctil**
M.C.Raynor y W.J.G.Hellstrom

Capítulo 36. **¿Existe la andropausia, mejor conocida como Síndrome de Deficiencia de Testosterona? Y si existe: ¿qué tejidos están afectados y de qué manera?**
A. Morales

Capítulo 37. **¿Debe utilizarse la terapia de reemplazo hormonal en hombres mayores?**
J. L. Tenover

Capítulo 38. **¿Cuál es la importancia de los aspectos psicosociales, el asesoramiento y la psicoterapia en andrología?**
N. Hunt and S. McHale

Capítulo 39. **¿Qué es la HPB?**
K. Mc Vary

Capítulo 40. **¿Algunos hombres son más susceptibles que otros a padecer cáncer de próstata? Por qué? ¿Cuáles son los tratamientos aplicados y cuál es su eficacia? Cuáles son las posibilidades de mejorar estas terapias?**
D.J. Parekh and I.M. Thompson

Capítulo 41. **¿Cuál es el riesgo de la terapia con testosterona después del cáncer de próstata?**
A. Morgentaler

Preámbulo
¿Qué pieza de arte es el hombre"
Shakespeare, "Hamlet", acto ii, escena 2, línea 316

Philip Troen

¿Por qué un **Manual de Andrología**? Algunos manuales reúnen múltiples aspectos de un tema diversificado. Otros presentan un panorama general sobre un área en rápida expansión para ser utilizado por quienes trabajan en este campo, en tanto otros manuales compilan los progresos alcanzados. Si bien cada uno de estos elementos está representado en el Manual de Andrología, nuestro propósito principal es presentar a los científicos y clínicos tempranamente en sus carreras, el alcance, la relevancia y el incentivo de nuestra disciplina.

¿Qué es la Andrología? De manera simplista podemos decir que el andrólogo es para el hombre lo que el ginecólogo es para la mujer. Esto es, la Andrología trata los problemas que afectan al sistema reproductor masculino.
El primer uso de la palabra Andrología, según informa Mikko Niemi, se remonta a 1891 cuando el Journal of the American Medical Association informa sobre la creación de la American Andrological Association. Poco se supo de esa asociación y recién en la segunda mitad de este siglo aparece una revista de Andrología, en 1969, y una organización dedicada a esta disciplina, el Comité Internacional de Andrología, en 1970. En el cuarto de siglo transcurrido desde entonces hubo una verdadera explosión de publicaciones y revistas, de sociedades y congresos, de cursos y simposios dedicados a la Andrología. Parece que nos hallamos en una fase de crecimiento rápido del conocimiento y aplicación de la Andrología. La amplitud del alcance de la Andrología actual está dramáticamente ilustrada por la variedad de los temas tratados en este Manual. Los temas, expuestos por distinguidos científicos que lideran su área, fueron elegidos para ejemplificar la estimulante diversidad de la Andrología y las oportunidades que aguardan a los estudiantes de ciencias biológicas, medicina y veterinaria.

¿Por qué dedicarse a la Andrología? Al elegir una carrera uno identifica, en primera instancia, un área de su interés. Luego se determina la posibilidad de tener éxito en ella y efectuar una contribución relevante. Como andrólogo en los últimos 40 años, puedo dar testimonio del permanente estímulo e interés que esta disciplina me ha brindado. Como decíamos antes, hubo un rápido desarrollo del área que ahora abarca desde estudios genéticos hasta los cambio puberales del varón y desde la esterilidad y técnicas de reproducción asistida hasta las alteraciones de la próstata y la función sexual y también la anticoncepción. Los adelantos en éstas y otras áreas fueron posibles gracias a una notable serie de estudios clínicos y descubrimientos científicos que se basaron en las disciplinas clásicas como la fisiología, bioquímica, neurociencias y biología molecular.

A medida que pasábamos por los estadios progresivos del conocimiento nunca disminuyó el interés y estímulo que sentía junto a mis colegas. Al mismo tiempo, en razón de la naturaleza multidisciplinaria de la Andrología, se presentan nuevos problemas aún por resolver y se expanden las oportunidades para lograr el éxito en la disciplina.

Como dijera Alexander Albert, "la Naturaleza experimentó profusamente con el sistema reproductor" y esto constituye un desafío y brinda oportunidades. La Andrología cubre un amplio rango, desde la concepción hasta la vejez. Cuando el lector recorra este libro, esperamos que aprecie la diversidad del tema y que comparta nuestro entusiasmo por el estudio de esta ciencia.

Cuáles son los componentes del sistema reproductor masculino?
SNC, hipófisis, testículos, epidídimo, próstata, vesículas seminales, escroto, pene.

K.P. Roberts

El sistema reproductor masculino está integrado por varios órganos que actúan coordinadamente para producir espermatozoides funcionales y transportarlos al tracto reproductor femenino (Figura 1).
El espermatozoide, célula haploide, se produce en los testículos y sufre cambios madurativos durante su tránsito por el epidídimo. Los conductos deferentes transportan los espermatozoides desde el epidídimo hacia los conductos eyaculadores en la próstata. Los espermatozoides y las secreciones de las vesículas seminales se vuelcan junto con las secreciones prostáticas en la uretra prostática. Los productos de secreción de las glándulas bulbo - uretrales contribuyen con el eyaculado y la mezcla sale del cuerpo a través de la uretra peneana. El sistema completo depende de la testosterona, que también es producida en los testículos, bajo la regulación del eje hipotálamo – hipófiso-testicular.

El conocimiento del origen embriológico y anatómico de los componentes del sistema reproductor masculino es importante para comprender el sistema como un todo.

Testículo

Es el sitio donde las células germinales se desarrollan (espermatogénesis), siendo por lo tanto el tejido primario del sistema reproductor masculino. Es también es lugar de la síntesis y secreción de los andrógenos. La espermatogénesis ocurre dentro de los túbulos seminíferos de los testículos. Es el proceso por el cual las células germinales progresan desde células diploides (espermatogonias) a células meióticas (espermatocitos) y a células haploides (espermátides). Las células epiteliales de los túbulos seminíferos (células de Sertoli) facilitan ese proceso. Las células de Leydig que pueblan el espacio intersticial entre los túbulos seminíferos, producen testosterona.

Los testículos se originan en la gónada indiferenciada, hacia la cual migran las células germinales primitivas provenientes del Saco Vitelino, al mismo tiempo que el epitelio celómico prolifera formando los cordones sexuales. La formación de los mismos da a esa región un contorno elevado llamado cresta genital. Durante el cuarto mes de la embriogénesis, los cordones sexuales adoptan forma de herradura y se anastomosan en sus extremos para formar la rete testis. En este momento, las células sexuales primordiales son conocidas como pre-espermatogonias y las células epiteliales de los cordones sexuales como células de Sertoli. Los cordones sexuales se convertirán en túbulos seminíferos. La rete testis se extiende y se anastomosa con algunos de los túbulos mesonéfricos formando conductos eferentes que comunican con el epidídimo (discutido más adelante). El tejido mesenquimático en el espacio intersticial existente entre los túbulos da origen a las células de Leydig.

Escroto

La función del escroto es alojar y proteger a los testículos y a la vez ayudar a mantener la temperatura testicular óptima para la espermatogénesis. El testículo se desarrolla en la pared posterior abdominal y desciende al escroto tardíamente durante el desarrollo. El descenso exitoso de los testículos dentro del escroto es esencial para la fertilidad. El escroto se forma al evaginarse el epitelio celómico hacia la pared abdominal y protruir formando el proceso vaginal dentro de la protuberancia genital. Las capas de la fascia escrotal se forman por una extensión de la mayoría de las túnicas de la pared abdominal empujadas por la mencionada protrusión epitelial, lo que da lugar al escroto. A continuación los testículos descienden dentro del mismo. Las capas cremasteriana y dartos de la fascia escrotal contribuyen a la importante función termo reguladora del escroto.

Epidídimo

Es un túbulo único y muy plegado conectado con el testículo por una serie de ductos eferentes. La función del epidídimo es llevar los espermatozoides testiculares de su estado inmóvil, incapaz de fertilizar, a su completa maduración funcional. Cómo es que éste proceso de maduración se lleva a cabo no está completamente dilucidado. El epidídimo secreta proteínas y otras moléculas que componen el fluido epididimario que baña los espermatozoides y contribuye a su maduración.

El epidídimo, los conductos deferentes y las vesículas seminales tienen un origen común en el conducto mesonéfrico de Wolff. Inicialmente formado como el sistema excretor embrionario temprano, el mismo está compuesto por un conducto longitudinal y una serie de túbulos que se ramifican desde el mismo hacia la gónada en desarrollo. Aunque muchos van a degenerar, algunos de esos túbulos persisten y se anastomosan con la confluencia de los túbulos seminíferos (rete testis) para formar los conos eferentes a través de los cuales los espermatozoides salen de los testículos hacia el epidídimo. La porción del conducto mesonéfrico más cercana a los conos eferentes se elonga, se hace muy serpenteante y forma el epidídimo. El mismo permanece en contacto cercano con el testículo y desciende con él dentro del escroto.

Conducto deferente

Una porción del conducto mesonéfrico distal a la que forma el epidídimo se hace más grueso y muscular, formando el conducto deferente. En su curso, el conducto deferente asciende desde el escroto junto a los vasos que vascularizan el testículo y el epidídimo, y luego pasa a través del canal inguinal y cruza detrás de la vejiga para entrar en la próstata. El conducto eyaculador, también un derivado mesonéfrico, conecta el conducto deferente con la uretra prostática. La función primaria de los conductos deferente y eyaculador consiste en transportar los espermatozoides maduros y la secreción de las vesículas seminales (discutidas a continuación) hacia la uretra prostática.

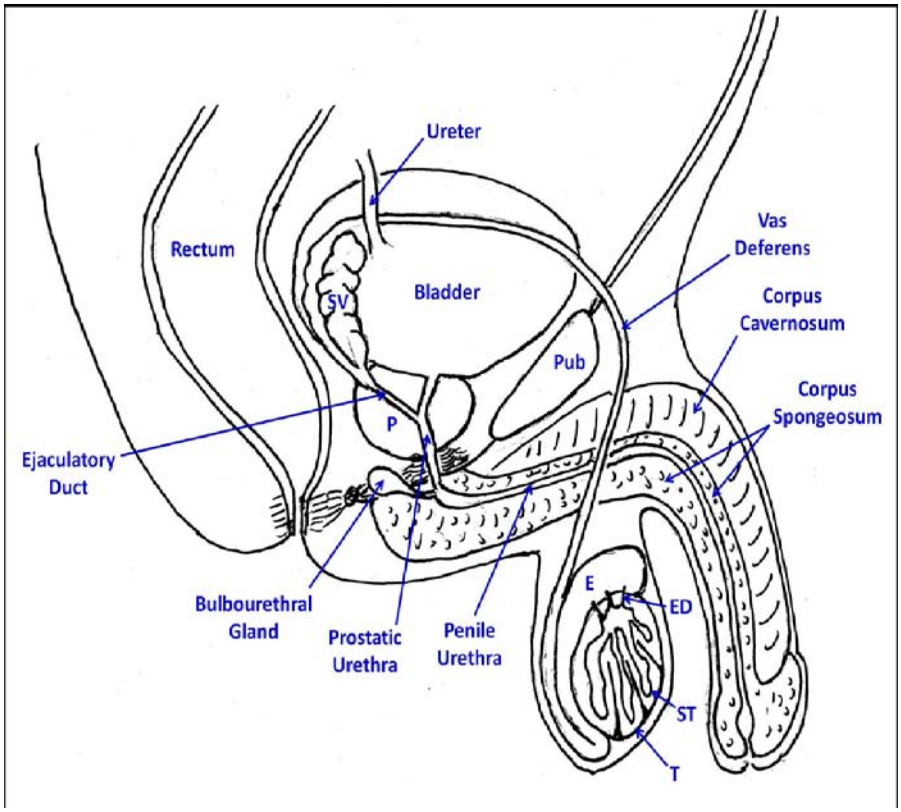


FIG 1. Visión de conjunto de la anatomía del tracto reproductivo masculino. E, epidídimo; ED, conducto eferente; P, próstata; SV, vesícula seminal; ST, túbulo seminífero; T, testículo. Rectum, recto; Ejaculatory Duct, Conducto Eyaculatorio; Ureter, Uréter; Bladder, Vejiga; Vas Deferens, Conducto Deferente; Corpus Cavernosum, Cuerpo Cavernoso; Corpus Espongeosum, Cuerpo Esponjoso; Bulbouretral Gland, Glándula Bulbouretral; Prostatic Uretra, Uretra Prostática; Penile Uretra, Uretra Peneana.

Vesículas seminales

La vesícula seminal completamente desarrollada se ubica inmediatamente por encima de la glándula prostática. Se desarrolla como una evaginación del conducto mesonéfrico, apenas proximal al desarrollo del conducto eyaculador. La vesícula seminal se compone de una serie de alvéolos tubulares, revestidos por un epitelio secretor muy activo. De hecho, las vesículas seminales contribuyen con la mayor parte del volumen del eyaculado (aprox. 70 %). Las secreciones de las vesículas seminales son ricas en fructosa y prostaglandinas. Además producen varias proteínas andrógeno-dependientes que están involucradas en procesos tales como la coagulación del eyaculado y la inmunoprotección de los espermatozoides.

Próstata

La glándula prostática se encuentra en el espacio que está por debajo de la vejiga. Su ubicación inmediatamente anterior al recto permite que la misma pueda ser palpada y biopsiada a través del recto. La próstata surge de varios conjuntos de túbulos evaginados de la uretra primitiva, cada uno de los cuales desarrolla un lóbulo prostático separado. Estos lóbulos están

compuestos por alvéolos revestidos por un epitelio secretor, que drena a través de una serie de túbulos que convergen en la uretra prostática. Los lóbulos son esencialmente continuos en la próstata adulta normal, no existiendo diferenciación morfológica aparente entre los mismos. Una subdivisión más actualizada de la próstata distingue zonas basadas en propiedades morfológicas y funcionales (tales como: central, periférica y de transición).

Las secreciones prostáticas contribuyen significativamente con el volumen del eyaculado (aprox. 25%). Las mismas son ricas en zinc, ácido cítrico y colina, así como varias proteínas secretorias incluyendo fosfatasa ácida, seminina, activador del plasminógeno y antígeno prostático específico (PSA). El rol exacto de la mayoría de las secreciones prostáticas se desconoce, aunque se presumen importantes para la función espermática durante y después de la eyaculación. Numerosas proteínas son proteasas involucradas en la licuefacción del coagulo eyaculado. Niveles elevados de PSA en sangre son frecuentemente diagnósticos de crecimiento prostático anormal, tal como ocurre con el cáncer de próstata.

Pene

El pene es el responsable de depositar las células germinales masculinas dentro del tracto genital femenino durante el coito. Está formado por dos cuerpos cavernosos y un cuerpo esponjoso. El cuerpo cavernoso es un tejido eréctil que, cuando se llena con sangre, produce la erección peneana. El cuerpo esponjoso, también un tejido eréctil, forma la uretra peneana y el glande del pene. La uretra peneana es continua con las porciones prostática y membranosa y constituye el último conducto que los espermatozoides y fluidos eyaculatorios recorren al salir del cuerpo. La fisiología de la erección (discutida en otro capítulo) es compleja y es sujeto de un número de desórdenes clínicos. La importancia de una apropiada función sexual eréctil para el desempeño sexual y la reproducción y la alta prevalencia de disfunción eréctil, han hecho de la misma una preocupación clínica primaria para los especialistas en Andrología.

Control endocrino y nervioso del tracto reproductivo masculino

El funcionamiento apropiado del sistema reproductor masculino es integralmente hormono-dependiente. La hipófisis produce las gonadotropinas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), bajo control del hipotálamo. La FSH se requiere para la iniciación de la espermatogénesis en tanto que la LH estimula la producción de andrógenos por parte de las células testiculares de Leydig. El testículo requiere altas concentraciones de testosterona para mantener la espermatogénesis, y los órganos accesorios son dependientes de andrógenos para su apropiada función secretoria. Adicionalmente al control hormonal, los órganos reproductivos están también bajo control neural simpático y parasimpático. Esto resulta particularmente cierto para la función eréctil del pene (control parasimpático) y la eyaculación (control simpático).

Conclusión

Esta breve introducción al sistema reproductivo masculino demuestra la naturaleza integrada del mismo. Los túbulos seminíferos son continuos con la

uretra peneana vía el epidídimo y los conductos deferentes, en tanto los órganos accesorios contribuyen con sus secreciones a lo largo de este trayecto. El sistema entero es mantenido por las trofinas hipofisarias y los andrógenos secretados por los testículos. Comprender el desarrollo anatómico y embriológico de los componentes del tracto reproductor masculino es esencial para entender tanto su función normal como los desórdenes comunes y no tan comunes que se pueden encontrar en la clínica.

Lecturas sugeridas:

Brooks JD. Anatomy of the Lower Urinary Tract and Male Genitalia. In Wein AJ, Kavoussi LR, Novik AC, Partin AW, Peters CA, Eds. Campbell-Walsh Urology, 9th. Edition. Philadelphia: WB Saunders; 2007; Chapter 2.

Langman J. Medical Embryology. 10th. Edition. Baltimore: William and Wilkins; 2006; 239-56.

¿Cuál es la relación entre los diversos componentes endócrinos del sistema reproductor masculino?
Eje hipotálamo-hipófiso-testicular - Circuitos de retroalimentación

R.S. Swerdloff

La unidad hipotálamo-hipófiso-testicular es un sistema integrado que asegura la secreción adecuada y apropiada de las hormonas masculinas y la producción espermática suficiente para la propagación de la especie. Cada sitio anatómico se integra con los demás a través de un proceso clásico de retroalimentación del sistema endócrino, con una amplia modulación local, paracrina e intracrina, necesaria para su funcionamiento más eficaz.

Testículos

Las células de Leydig de los testículos son el sitio de producción y secreción de la hormona testosterona. A través de su acción directa y la de sus metabolitos, la dihidrotestosterona y el estradiol, se crea el medio hormonal requerido para el desarrollo y la función sexual masculina; también se produce una amplia gama de efectos mediados por los andrógenos y los estrógenos sobre algunos órganos blanco críticos tales como el cerebro, hueso, músculo, hígado, piel, médula ósea, tejido adiposo y sistema inmune. Las células de Leydig están reguladas por los niveles circulantes de hormona luteinizante (LH) producida por la hipófisis bajo el control hipotalámico de la hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH). La GnRH es a su vez modulada por neurotransmisores producidos en el cerebro y por hormonas circulantes. El compartimiento espermatogénico está constituido por las células de Sertoli y las células germinales de los túbulos seminíferos, que actúan de manera integrada entre sí, y con las células de Leydig, a fin de producir células germinales normales. Las células de Sertoli son estimuladas por la testosterona intratesticular y la hormona folículo estimulante (FSH). Los testículos también proporcionan una retroalimentación regulatoria que controla los componentes hipotalámicos e hipofisarios del eje a través de su producción de esteroides y péptidos secretores.

Regulación hipotalámica de la hormona liberadora de gonadotrofina

Hipotálamo

El hipotálamo es la principal unidad integradora, responsable de la secreción pulsátil normal de GnRH, que es llevada a la hipófisis por el sistema sanguíneo portal hipotálamo-hipofisario. La liberación pulsátil de GnRH proporciona señales para la liberación oportuna de LH y FSH, la cual, en condiciones normales se produce aproximadamente cada 60 a 90 minutos.

Hipófisis

La GnRH actúa uniéndose a sus receptores específicos de membrana ubicados en la superficie de las células hipofisarias secretoras de LH y FSH. La secreción de GnRH es regulada de modo complejo por impulsos neuronales que parten de los centros cognitivos y sensoriales superiores y por los niveles circulantes de esteroides sexuales y hormonas peptídicas como la prolactina, la

activina, la inhibina y la leptina. Los efectores locales de la síntesis y liberación de GnRH incluyen a una serie de neuropéptidos, opioides, catecolaminas, indolaminas, óxido nítrico y aminoácidos excitatorios, ácido γ-aminobutírico (GABA), dopamina, neuropéptido Y, péptido intestinal vasoactivo (VIP), hormona liberadora de corticotrofina (CRH) y la kisspeptina. Las catecolaminas, los aminoácidos excitatorios y el óxido nítrico en cantidades fisiológicas son estimulantes, mientras que la kisspeptina, los péptidos opioides y la β-endorfina son inhibitorios. La testosterona, ya sea en forma directa o a través de sus metabolitos (estradiol y dihidrotestosterona), tiene efectos predominantemente inhibidores sobre la secreción y la liberación de GnRH, LH y FSH en el varón. Los efectos inhibitorios de la testosterona y el estradiol sobre la secreción de gonadotrofina son mediados por la inhibición de la producción de kisspeptina en el hipotálamo. La prolactina es un inhibidor potente de la secreción de GnRH, lo que explica la inhibición de la secreción de LH y testosterona en la hiperprolactinemia.

Integración del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal

La secreción pulsátil normal de LH y FSH es estimulada principalmente por los pulsos de GnRH liberados desde el hipotálamo. La regulación de LH y FSH es el resultado de la retroalimentación inhibitoria del componente hipotálamo-hipofisario por los productos de secreción de las células testiculares de Leydig y Sertoli. La testosterona, tanto directamente como a través de sus metabolitos, regula la LH y la FSH. Así, si la testosterona en suero está elevada, se inhibirán la LH y la FSH. Por el contrario, si la testosterona está baja debido a una disfunción de las células de Leydig, la LH y la FSH aumentarán en lo que se conoce como hipogonadismo primario. La FSH también es regulada por otros productos provenientes de las células de Sertoli tales como la inhibina, un inhibidor de la FSH. Si las células de Sertoli son disfuncionales, la espermatogénesis puede alterarse y la elevación de la FSH puede ser utilizada como marcador de dicha alteración. Algunos pacientes con infertilidad muestran reducción de la inhibina y elevaciones aisladas de la FSH sérica. Si el defecto de la esteroidogénesis o de la espermatogénesis es el resultado de la disminución de la secreción de LH y FSH, los bajos niveles séricos de testosterona no se acompañarán con aumento de las gonadotrofinas.

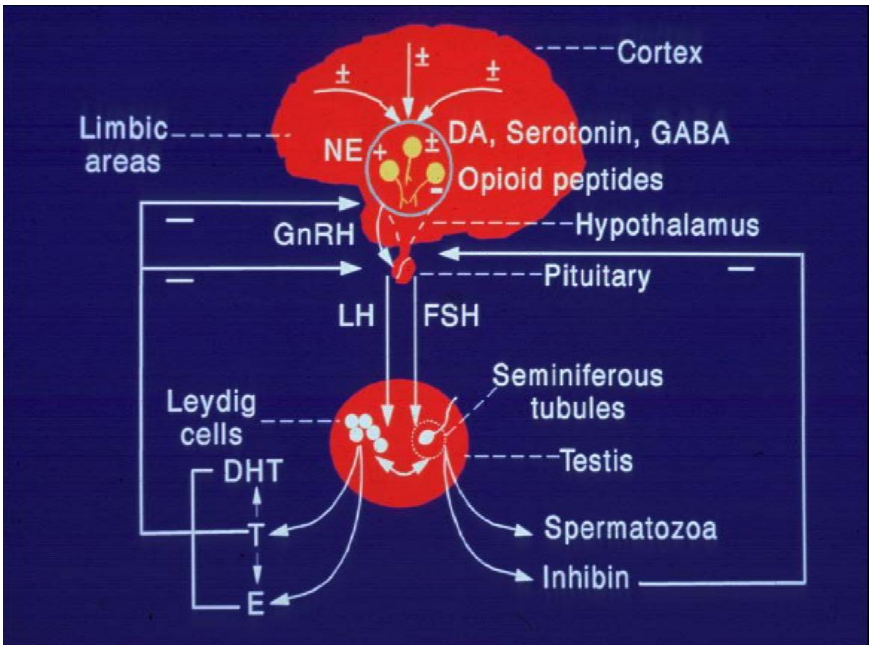


FIG 1. Representación esquemática de los componentes del eje hipotálamo-hipófiso-testicular y su regulación por retroalimentación. Limbic areas, Áreas límbicas; NE, Norepinefrina; Córtex, Corteza; DA, Serotonin, Gaba: DA, Serotonina, GABA; Opiod Peptides, Péptidos opioides; Hypothalamus, Hipotálamo; Leydig cells, células de Leydig; Pituitary, Hipófisis; Seminiferous Tabules, túbulos seminíferos; Testis, Testículo, Spermatozoa, Espermatozoides, Inhibin, Inhibina.

Lecturas sugeridas:

Crowley WF Jr, Filicori M, Spratt DI, Santoro NF. The physiology ofgonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in men and women. Recent Prog Horm Res. 1985; 41: 473-531.

Dhillo WS, Murphy KG, Bloom SR. The neuroendocrine physiology of kisspeptin in the human. Rev Endocr Metab Disord. 2007; 8: 41-46.

de Kretser DM, Buzzard JJ, Okuma Y, O'Connor AE, Hayashi T, Lin SY,Morrison JR, Loveland KL, Hedger MP. The role of activin, follistatin and inhibin in testicular physiology. Mol Cell Endocrinol.2004; 225:57-64.

Matsumoto AM, Bremner WJ. Modulation of pulsatile gonadotropin secretion by testosterone in men.J Clin Endocrinol Metab. 1984; 58: 609–14.

Roa J, Castellano JM, Navarro VM, Handelsman DJ, Pinilla L, Tena-Sempere M. Kisspeptins and the control of gonadotropin secretion in male and female rodents. Peptides 2009; 30: 57-66.

Santen RJ. Aromatization of testosterone to estradiol required for inhibition of LH secretion in men? J Clin Invest. 1975; 56: 1555–63.

Swerdloff RS, Wang C, SinhaHikim AP. Hypothalamic-pituitary-gonadal axisin men. In: Pfaff DW, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE, Rubin RT,eds. Hormones, Brain and Behavior. Academic Press, New York, 200; 1-36.

Tena-Sempere M. GPR54 and kisspeptin in reproduction. Hum Reprod Update. 2006; 12: 631-39.

Veldhuis JD, Urban RJ, Dufau ML. Evidence that androgen negative feedback regulates hypothalamic gonadotropin-releasing hormone impulse strength and the burst-like secretion of biologically active luteinizing hormone in men. J Clin Endocrinol Metab.1992; 74: 1227-35.

Winters SJ, Moore JP. Paracrine control of gonadotrophs. Semin Reprod Med**.** 2007; 25: 379-87.

¿Cómo se leen las señales hormonales en el sistema reproductor masculino?

I. Huhtaniemi

Receptores para gonadotrofinas y andrógenos

Las principales señales hormonales que regulan el sistema reproductor masculino son las dos gonadotrofinas hipofisarias, hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), que son esenciales para el mantenimiento de la producción testicular de hormonas sexuales y para la gametogénesis. La FSH estimula la proliferación prepuberal de las células de Sertoli y en la misma célula del animal adulto controla una variedad de funciones metabólicas que indirectamente mantienen la espermatogénesis. La LH ejerce su acción sobre las células de Leydig regulando la producción de testosterona. La testosterona o su metabolito androgénico más potente 5α-dihidrotestosterona (5α-DHT) estimula la espermatogénesis en conjunto con FSH a través de efectos sobre el metabolismo de las células de Sertoli. Testosterona y 5α-DHT también poseen acciones fuera de la gónada determinando la diferenciación, crecimiento y funciones diferenciadas de los órganos sexuales accesorios (Vg. próstata y vesículas seminales). Además de las gonadotrofinas y los esteroides sexuales, un conjunto de otras hormonas y factores de crecimiento provenientes de la circulación (Vg. prolactina, glucocorticoides, hormonas tiroideas; factores endócrinos) o de células vecinas (Vg. diversos factores de crecimiento, prostaglandinas; factores paracrinos y autócrinos) regulan el sistema reproductivo. Sin embargo, aparentemente existe considerable redundancia en la regulación paracrina y autócrina por lo que la importancia fisiológica de un cada factor local en particular es difícil de demostrar.

Se describen aquí los mecanismos de acción de los dos principales reguladores hormonales del sistema reproductor masculino, i.e. las gonadotrofinas y el andrógeno testosterona.

Receptores de gonadotrofinas

FSH y LH son dos hormonas glicoproteicas diméricas secretadas por la glándula hipófisis anterior. Ambas se unen a sus receptores específicos localizados en la membrana plasmática de células de Sertoli y de Leydig respectivamente. Debido a su naturaleza proteica, las gonadotrofinas no son capaces de ingresar a la célula y por lo tanto su contacto con las células blanco debe ocurrir a través de receptores que residen sobre la membrana plasmática. El contacto de la hormona con su receptor dispara dentro de las células blanco la formación de un “segundo mensajero”, que en el caso de la acción gonadotrófica resulta ser adenosina monofosfato cíclico (AMPc). Los eventos claves en el mecanismo de señales que se desencadenan en respuesta a las gonadotrofinas se muestran en la Figura 1. Además de la señal clásica mediada por AMPc, las gonadotrofinas también activan la entrada de calcio a la célula, la proteína quinasa C, la MAP quinasa y la fosfatidil-3-quinasa (PI3K), pero la relevancia de estas señales de transducción en la acción gonadotrófica global no ha sido aun elucidada.

Los andrógenos utilizan un mecanismo de acción hormonal diferente. Siendo las hormonas esteroideas moléculas pequeñas liposolubles, las mismas pueden entrar a la célula atravesando la membrana plasmática de las células blanco. Es por esta razón que sus receptores están localizados dentro de la célula, ya sea en el citoplasma o en el núcleo. Los receptores de andrógenos pertenecen, junto con los otros receptores de esteroides, a la superfamilia de factores de transcripción activados por ligando. Luego de la unión de testosterona o de 5α-DHT, lo que puede ocurrir ya sea en el citoplasma o en el núcleo, los receptores de andrógenos se unen como homodímeros a elementos específicos en la región promotora de genes blanco de andrógenos, actuando de esta forma como factores de transcripción. Los principales eventos en este proceso de activación se describen en la figura 2.

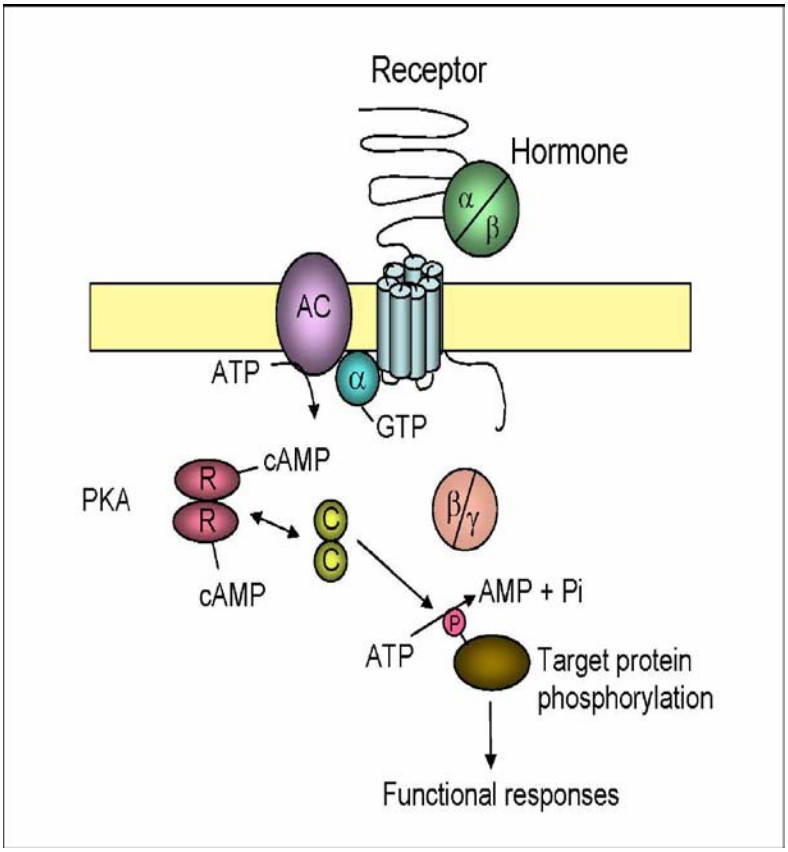


FIG 1: Mecanismo de acción de las gonadotrofinas. LH o FSH se unen al dominio extracelular de sus receptores específicos, los receptores de LH y de FSH. Ambos son receptores de 7-pasos transmembrana que se unen a proteínas G (GPCRs) y que poseen un gran dominio extracelular de unión con el ligando. La proteína G es una proteína heterotrimérica constituida por subunidades alfa, beta y gama. La unión del ligando en el dominio extracelular del receptor promueve la unión de guanosina trifosfato (GTP) a la subunidad α-de la proteína G heterotrimérica, y de esta forma activa la enzima adenililciclasa (AC) que está asociada a la membrana plasmática. Esta última enzima cataliza la conversión de adenosina trifosfato (ATP) a adenosina monofosfato cíclico (cAMP), que es el segundo mensajero intracelular de la acción gonadotrófica. El cAMP se une a la subunidad regulatoria (R) de la enzima tetramérica proteína quinasa A (PKA). La subunidad catalítica (C) de la PKA liberada cataliza la fosforilación de proteínas blanco (proteínas estructurales, enzimas, factores de transcripción) conduciendo a alteraciones en su nivel de activación; esto constituye la respuesta funcional de las células blanco a la acción gonadotrófica.

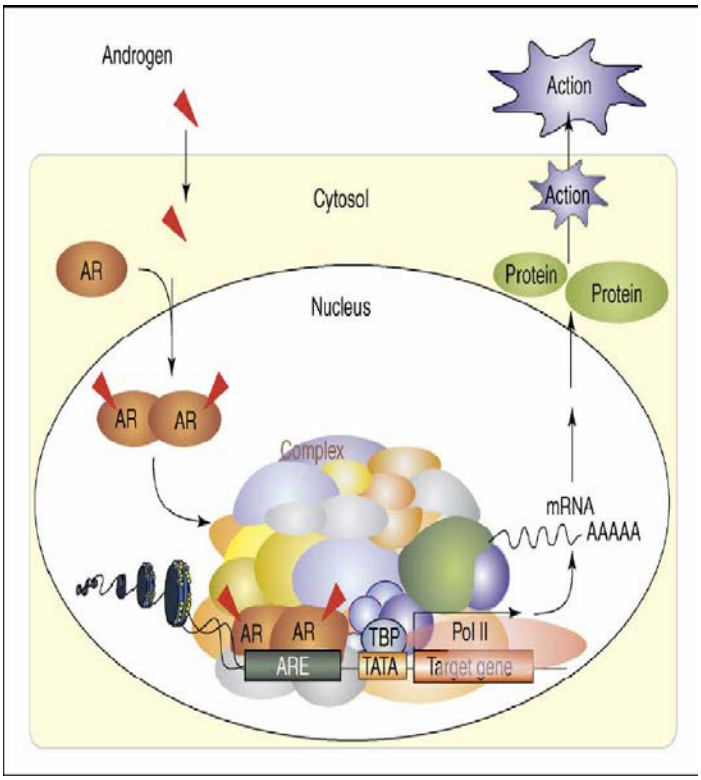


FIG 2: Mecanismo de acción de los andrógenos. Los andrógenos entran a sus células blanco y se unen a sus receptores específicos (AR), factores de transcripción activados por ligando. Después de unirse al ligando, el AR se homodimeriza y se transloca del citoplasma al núcleo donde reconoce y une a un motivo específico en el DNA, el elemento de respuesta a andrógenos (ARE) en la región promotora de los genes blanco de andrógenos. Adicionalmente, la unión de un conjunto de co-reguladores, que forman el complejo de co-regulación, es necesaria para que el andrógeno unido al receptor pueda mantener el control de la transcripción dependiente de ligando, que involucra la remodelación de la cromatina y modificaciones en las histonas. La consecuencia de esta acción es un aumento (algunas veces disminución) de la transcripción y traducción de genes que responden a andrógenos, con las subsecuentes alteraciones funcionales de las células blanco. Abreviaturas: TBP, proteína de unión a la caja TATA; TATA, caja TATA; Pol II, RNA polimerasa II (tomado de Kimura y col. 2007).

Lecturas sugeridas:

Ascoli M, Fanelli F, Segaloff DL. The lutropin/choriogonadotropin receptor, a 2002 perspective. Endocr Rev. 2002 23:141-74.

Heemers HV, Tindall DJ. Androgen receptor (AR) coregulators: a diversity of functions converging on and regulating the AR transcriptional complex. Endocr Rev. 2007 28:778-808.

Kimura S, Matsumoto T, Matsuyama R, Shiina H, Sato T, Takeyama K, Kato S. Androgen receptor function in folliculogenesis and its clinical implication in premature ovarian failure. Trends Endocrinol Metab. 2007; 18:183-9.

Plant TM, Marshall GR. The functional significance of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates. Endocr Rev. 2001; 22:764-86.

Themmen APN, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. Endocr Rev. 2000; 21:551-83.

¿Qué compuestos son los intermediarios de la comunicación dentro del testículo? ¿Dónde y cómo se producen las hormonas sexuales masculinas?

B.R. Zirkin

Integración del hipotálamo, la hipófisis y el testículo

Las dos funciones principales del testículo son la generación de gametas y la síntesis y secreción de testosterona. La hormona luteinizante (LH) liberada por la hipófisis anterior en respuesta a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) hipotalámica se une a receptores acoplados a proteína G (GPCR) sobre la membrana plasmática de las células de Leydig en el compartimiento intersticial del testículo, y así estimula esas células para convertir el colesterol en testosterona. Hemos conocido por décadas que la testosterona es esencial para la iniciación, mantenimiento y restauración cuantitativa de la espermatogénesis. Hay buena evidencia que las células germinales no responden directamente a los andrógenos. Más bien, las células blanco o efectoras para la testosterona dentro del testículo, son las células de Sertoli que contienen el receptor de andrógenos (AR). La hormona folículo estimulante (FSH), también producida por la hipófisis anterior, actúa sobre los receptores de las células de Sertoli para promover la espermatogénesis. Así, para una producción apropiada de gametas, debe haber una integración del hipotálamo, la hipófisis y el testículo.

Mecanismos de acción de la testosterona y la FSH

El mecanismo por el cual la testosterona actúa para regular la espermatogénesis permanece poco esclarecido. Se considera que las funciones biológicas de los andrógenos son mediadas a través del receptor de andrógenos. Sin embargo, para la espermatogénesis cuantitativa, se requiere mucho más testosterona dentro del testículo que la que se necesita para la saturación de AR. De esta manera, no es claro como la testosterona podría actuar como un regulador local de la espermatogénesis, a menos que, tal vez, la concentración de testosterona biodisponible esté reducida considerablemente respecto a la concentración total. Esto se debe, posiblemente, a que la proteína ligadora de andrógenos, producida por las células de Sertoli, compite con el receptor de andrógenos para la unión con la testosterona. Sin embargo, no es claro que este mecanismo reduzca la testosterona disponible lo suficiente como para explicar el requerimiento de las excepcionalmente altas concentraciones requeridas para la espermatogénesis. Existe la posibilidad que la testosterona tenga acciones no mediadas por receptores de andrógenos.

La FSH también estimula una variedad de funciones en las células de Sertoli, que incluyen la síntesis de proteínas secretadas (por ejemplo, transferrina). En respuesta a la FSH, las células de Sertoli también producen inhibina la cual, junto con la testosterona, está involucrada en la retroalimentación negativa (“feedback”) de la función hipofisaria. La FSH tiene un rol significativo en la iniciación puberal de la espermatogénesis. Su rol en la espermatogénesis adulta de algunas especies (por ejemplo en la rata) es incierta, pero desempeña un papel muy significativo en la espermatogénesis en el hombre y en primates no humanos.

Regulación paracrina de la espermatogénesis

El desarrollo de las células germinales involucra el mantenimiento, a través de divisiones de renovación, de un reservorio de espermatogonias madre ("stem") seguidos por la diferenciación, meiosis y espermiogénesis. Al dividirse y diferenciarse, las células germinales interactúan con las células de Sertoli e influyen en su expresión génica. Algunos de estos genes codifican factores de crecimiento que son capaces de regular la diferenciación, replicación y supervivencia de las células germinales. De esta manera, las células de Sertoli son mediadoras de los efectos de testosterona y FSH, responden a señales paracrinas y yuxtacrinas generadas por las células germinales, y producen factores de crecimiento involucrados en el mantenimiento y control del crecimiento y diferenciación de las células germinales.

La auto-renovación y diferenciación de las espermatogonias madre indiferenciadas debe ser regulada de tal manera que su fuente no se agote. Los productos de las células de Sertoli, ligando kit/factor de células stem (KL) y el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF), actuando conjuntamente, están entre los factores de crecimiento que desempeñan funciones en regular la supervivencia, renovación y diferenciación de las espermatogonias. Los receptores Ret y GFRα1 expresándose en las espermatogonias madre, las hacen blanco para el GDNF. En ratones transgénicos, la pérdida de espermatogonias madre como consecuencia de su diferenciación, ocurre cuando el GDNF está subexpresado, y la represión de la diferenciación espermatogonial ocurre en los ratones cuando el GDNF está sobreexpresado. A diferencia del GDNF, el KL tiene varias diferentes células blanco en el testículo maduro; su receptor Kit, se expresa en altas concentraciones en espermatogonias en diferenciación, pero también en las células meióticas ya que el KL actúa como factor de supervivencia para espermatocitos y espermátides. KL y GDNF pueden también ser mediadores de la testosterona y/o FSH sobre la espermatogénesis. El panorama se complica aún más siendo que las expresiones de GDNF y de KL, parecen estar reguladas por señales paracrinas provenientes de las células germinales y por hormonas.

Otros factores de crecimiento se expresan en el testículo, pero sus funciones, si tienen alguna, son inciertas. Receptores del factor de crecimiento símil a la insulina-1 (IGF-1) están localizados en las células germinales, sugiriendo que el IGF-1 puede actuar sobre ellas. También se expresan el factor de crecimiento transformante-α (TGF-α), el TGF-β la interleuquina-1 (IL-1) y las proteínas morfogénicas del hueso BMP8a y BMP8b. El KO (knockout) para BMP8b afecta la iniciación y el mantenimiento de la espermatogénesis, pero no reduce la fertilidad. El factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), producido por espermatocitos paquiténicos, es necesario para la replicación *in vitro* de las espermatogonias madre en algunas (pero no todas) cepas de ratones. Sin embargo, el knockout del gen que codifica las 3 isoformas básicas del FGF no causó infertilidad.

Las células mioides peritubulares, las células de Sertoli, las células de Leydig y las espermatogonias producen el factor inhibitorio de la leucemia (LIF), cuyos receptores están presentes en espermatogonias. *In vitro*, el LIF estimula la síntesis de DNA y promueve la supervivencia de las espermatogonias. Si embargo, el knockout específico para las células germinales del GP130, el receptor compartido por la

familia de citoquinas LIF/IL-6, no causó infertilidad en el macho. *In vitro*, la activina A y la inhibina A, dos productos de las células de Sertoli, estimulan o reprimen, respectivamente, a síntesis de DNA en los espermatocitos. Esto podría explicar por qué los ratones macho que no tienen el receptor de activina tipo AII, aunque fértiles, tienen una espermatogénesis menos eficiente. Finalmente, las células de Sertoli secretan IGF-1 en respuesta a FSH. Sin embargo, no se observó disminución de la espermatogénesis después del knockout del IGF-1. De esta manera, mientras que muchos factores de crecimiento se expresan en el testículo, a la fecha sólo los productos de la célula de Sertoli, KL y GDNF, han sido identificados como esenciales para la fertilidad en el macho. Estos dos factores de crecimiento, actuando en paralelo sobre diferentes células blanco, pueden definir el tamaño de la reserva ("pool") de células madre y así desempeñar funciones integrales en la espermatogénesis. A pesar de estas observaciones, no es claro si el desarrollo de las células germinales representa una cascada de eventos mediados por factores entre las células de Sertoli y germinales, si es un proceso predeterminado genéticamente con limitadas funciones modulatorias por los diversos factores, o si es una combinación de las 2 posibilidades. Por lo tanto, la supervivencia y el desarrollo normal de las células germinales, genéticamente predeterminado, podría ser modulada por la presencia de determinados factores de crecimiento. Alternativamente, podría haber una serie de señales recibidas por las células de Sertoli y por las germinales, que sean mediadoras de eventos específicos durante la espermatogénesis.

Las interacciones célula-célula en el testículo también son requeridas para el mantenimiento y control del crecimiento celular y la diferenciación. En la ausencia de macrófagos, íntimamente asociados a las células de Leydig en el compartimiento intersticial, estas células no se desarrollan ni funcionan normalmente. Sin embargo, la esteroidogénesis se inhibe cuando los macrófagos producen especies reac tivas de oxígeno o citoquinas inflamatorias como la interleuquina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα). Dentro de los túbulos seminíferos, divisiones citoplasmáticas incompletas conducen a puentes citoplasmáticos entre células germinales, permitiendo a clones de células coordinar las mitosis, meiosis y diferenciación. Uniones estrechas entre las células de Sertoli previenen el pasaje de macromoléculas desde el intersticio hacia el lumen tubular. Las células de Sertoli proveen lactato y piruvato para mantener el metabolismo de las células germinales, además de transferrina y ceruloplasmina, que transportan hierro y cobre a las células germinales. A su vez, las células germinales en desarrollo influencian la función de las células de Sertoli, incluyendo la estimulación de la producción de ABP que, a su vez, puede afectar la acción de la testosterona.

Puede haber también interacciones entre células peritubulares-Sertoli y entre células de Leydig-Sertoli. Por ejemplo, el daño a los túbulos seminíferos por agentes citotóxicos, deficiencia de vitamina A, irradiación o criptorquidismo alteran la morfología de las células de Leydig, y se mostró que el medio condicionado de células de Sertoli influencia la producción de testosterona por las células de Leydig. La inhibina y activina, y los factores de crecimiento producidas por las células de Sertoli, pueden influenciar la producción de testosterona *in vitro.*

Lecturas sugeridas:

Hales DB. Testicular macrophage modulation of Leydig cell steroidogenesis. J Reprod Immun. 2002; 57:3-18

Schlatt S, Meinhardt A, Nieschlag E. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. Eur J Endocrinol. 1997; 137:107-117

Skinner MK, Norton JN, Mullaney BP, Rosselli M, Whaley PD, Anthony CT . Cell-cell interactions and the regulation of testis function. Ann NY Acad Sci. 1991; 637:354-363

¿Cómo es regulada la síntesis de testosterona?

V. Papadopoulos

La capacidad de una célula para sintetizar testosterona esta definida por la presencia de la maquinaria esteroidogénica, ubicada en un medioambiente celular apropiado que permita responder en forma óptima cuando reciba el estímulo adecuado. La testosterona, que es la principal hormona sexual masculina, es sintetizada y secretada principalmente por las células de Leydig del testículo. En este tipo celular la síntesis de testosterona está estrictamente controlada por la hormona luteinizante (LH) de origen hipofisario, y también está influenciada por factores locales provenientes desde otras células testiculares o por factores externos tales como drogas o químicos ambientales.
Hay un número de puntos clave que son críticos para el establecimiento y la óptima función de la maquinaria esteroidogénica responsable de la síntesis de testosterona en la célula de Leydig (Figura 1). Estos incluyen (i) la integridad de la cascada de transducción de señales producida por el receptor para LH, ubicado en la membrana plasmática, responsable de detectar y responder a la LH circulante; (ii) la disponibilidad del sustrato colesterol precursor universal de la esteroidogénesis, que puede ser captado de la sangre o ser obtenido a partir de la síntesis de novo intracelular y mantener ese colesterol en depósito en forma esterificada o tenerlo disponible para la inmediata utilización para la síntesis de andrógenos; (iii) des-esterificar el colesterol de los depósitos o gotas lipídicas, para que sea utilizado en la síntesis de andrógenos; (iv) integridad del mecanismo de transporte y penetración del colesterol desde los depósitos intracelulares hacia el interior de la mitocondria; (v) disponer de niveles y combinación adecuados de factores de trascripción nucleares para la síntesis de proteínas involucradas en el transporte de colesterol y la biosíntesis de testosterona; (vi) mantenimiento de las estructuras de organelas apropiadas para la correcta síntesis de testosterona; vii) tener una apropiada síntesis temporal y espacial de las enzimas esteroidogénicas, principalmente las monoxigenasas y deshidrogenasas citocromo P450, responsables de metabolizar el colesterol a compuestos intermediarios que darán lugar a la síntesis de testosterona; (viii) disponibilidad de los co-factores necesarios para la acción de las enzimas esteroidogénicas. Los esteroides dejan la célula de Leydig por difusión pasiva. En circulación los esteroides pueden estar libres o unidos a proteínas extracelulares, tales como, la proteína (globulina) que une esteroides sexuales (SHBG), la proteína fijadora de andrógenos (ABP) y/o albúmina.

Para que la célula de Leydig responda y funcione en forma óptima al estímulo de LH, es crítico que las proteínas involucradas en la esteroidogénesis, incluyendo desde el receptor de LH hasta el transporte de colesterol, y las enzimas esteroidogénicas, sean sintetizadas sin ningún error en su secuencia aminoacídica. La mutación en algunas de las proteínas involucradas puede ser letal o dar lugar a enfermedades tales como seudohermafroditismo, hipogonadismo, e infertilidad. .

La cantidad formada de testosterona por la célula de Leydig refleja las necesidades específicas del cuerpo para el crecimiento celular, la formación de órganos, masculinización de los caracteres sexuales secundarios y mantenimiento de las funciones andrógeno-dependientes. Durante el desarrollo

la diferenciación de los precursores de las células de Leydig dan lugar al establecimiento de poblaciones de células de Leydig responsables de sintetizar la cantidad de testosterona necesaria a diversas edades. En el feto las células de Leydig fetales sintetizan la testosterona necesaria para inducir la masculinización del sistema urogenital masculino. Luego del nacimiento las células de Leydig fetales desaparecen y las células de Leydig maduras evolucionan, en ausencia de los factores ambientales maternos, a partir de un pequeño conjunto de células de Leydig indiferenciadas ("stem") auto-renovables, a través de una secuencia que incluye el desarrollo de células de Leydig progenitoras, inmaduras y adultas. Estos cambios reflejan la necesidad de la presencia de testosterona para el desarrollo de las características sexuales masculinas, de la pubertad y de las funciones dependientes de andrógenos. Los cambios en la estructura celular y la expresión de genes son

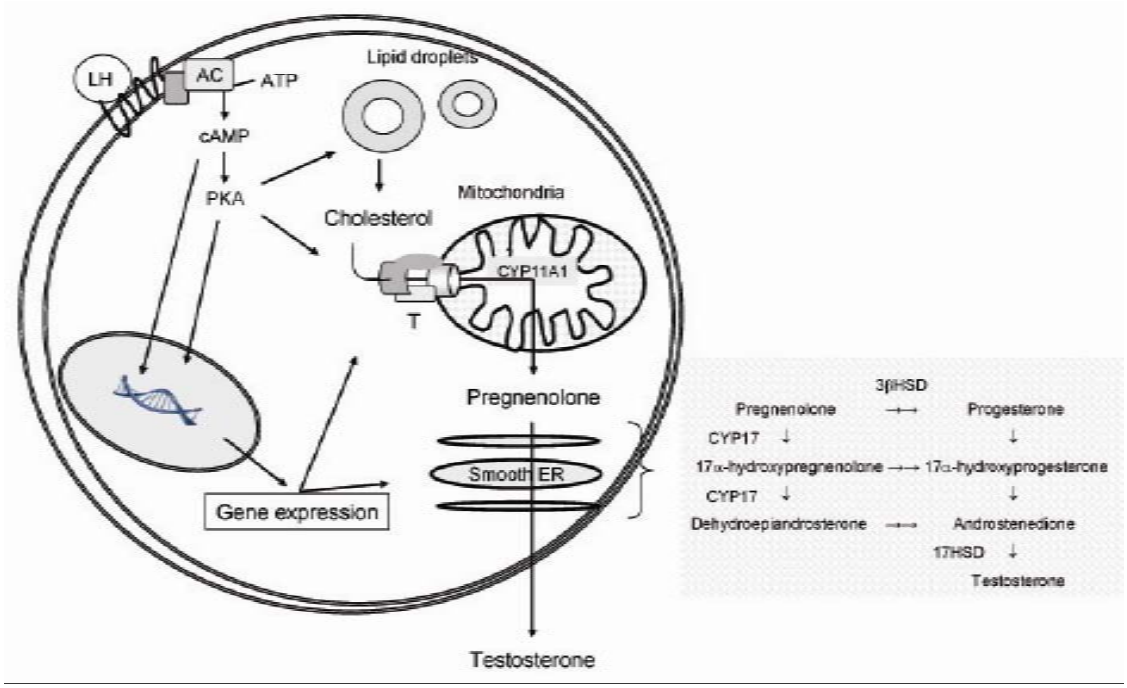


FIG 1. Representación esquemática de los pasos involucrados en la formación de testosterona. La LH circulante se une a su receptor de membrana acoplado a la "Proteína G" dando lugar a la activación de la adenilato ciclasa (AC) que convierte el ATP en AMP-cíclico (AMPc), el principal segundo mensajero de LH en las células de Leydig. El AMPc subsecuentemente activa la quinasa de proteína AMPc dependiente (PKA), un evento que gatilla una serie de reacciones que incluyen la de-esterificación del colesterol de las gotas lipídicas y la activación de proteínas, sustratos de la PKA, involucradas en el transporte de colesterol al interior de la mitocondria. El AMPc, así como la PKA, actúan también en el núcleo activando la expresión génica de proteínas y enzimas esteroidogénicas. El colesterol libre es transportado e importado a la mitocondria, vía un complejo multiproteico (T, "Transduceosome"), formado para amplificar el efecto de LH y AMPc. Este complejo incluye proteínas tales como las proteínas PAP7 y AKAP121 que producen el anclaje de la PKA, la StAR, proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR, "Steroidogenic Acute Regulatory Protein"), la proteína de translocación ("Traslocator Protein") o TSPO, de 18 kDA, y el canal aniónico voltaje-dependiente. El colesterol importado a la mitocondria es metabolizado a pregnenolona por la enzima citocromo P450 desmolasa CYP11A1, que rompe la cadena lateral del colesterol ("citocromo P450 side chain cleavage"). La pregnenolona es subsecuentemente metabolizada en el retículo endoplásmico liso por una serie de deshidrogenasas (CYP17, la 3-beta-deshidrogenada hidróxido-esteroidea y la 17-alfa-deshidrogenasa hidróxido-esteroidea) para formar testosterona.

los responsables de las diferencias morfológicas y funcionales en estos diferentes tipos celulares; los componentes de la maquinaria esteroidogénica están presentes pero no son utilizados con la misma magnitud. Es por ello que

la síntesis de testosterona cambia durante el desarrollo a consecuencia de cambios en el micro ambiente celular y están diseñados para la óptima producción de testosterona de acuerdo a las necesidades específicas. En la senescencia varios componentes de la maquinaria esteroidogénica dejan de funcionar en forma óptima dando lugar a una síntesis de andrógenos disminuida.

Aunque parezca que las etapas que dan lugar a la síntesis de testosterona y a su regulación por LH están bien establecidas y conocidas, hay numerosos pasos que aun no están bien identificados y se han planteado diversos interrogantes que dejan el campo abierto para futuras investigaciones.

Lecturas sugeridas:

Ascoli M, Fanelli F, Segaloff DL. The lutropin/choriogonadotropin receptor, a 2002 perspective. Endocr Rev. 2002; 23: 141-174.

Azhar S, Reaven E. Scavenger receptor class BI and selective cholesteryl ester uptake: partners in the regulation of steroidogenesis. Mol Cell Endocrinol. 2002; 195: 1-26.

Catt KJ, Harwood JP, Clayton RN, Davies TF, Chan V, Katikineni M, N0ZU K, Dufau ML. Regulation of peptide hormone receptors and gonadal steroidogenesis. Recent Prog Horm Res. 1980; 36: 557-662.

Dong L, Jelinsky SA, Finger JN, Johnston DS, Kopf GS, Sottas CM, Hardy MP, Ge RS. Gene expression during development of fetal and adult Leydig cells. Ann N Y Acad Sci. 2007; 1120: 16-35.

Ewing LL, Zirkin B. Leydig cell structure and steroidogenic function. Recent Prog Horm Res. 1983; 39: 599-635.

Huhtaniemi IT, Themmen AP. Mutations in human gonadotropin and gonadotropin-receptor genes. Endocrine. 2005; 26: 207-217.

Lieberman S. The generally accepted version of steroidogenesis is not free of uncertainties: other tenable and possibly superior renditions may be invented. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008; 109: 197-199.

Midzak AS, Ghen H, Papadopoulos V, Zirkin SR. Leydig cell aging and the mechanisms of reduced testosterone synthesis. Mol Cell Endocr. 2009; 299: 23-31.

Miller WL. Disorders of androgen synthesis--from cholesterol to dehydroepiandrosterone. Med Princ Pract. 2005; 14:58-68.

Papadopoulos V, Liu J, Gulty M. Is there a mitochondrial signaling complex facilitating cholesterol import? Mol Cell Endocrinol. 2007; 265-266:59-64.

Payne AH, Hales OS. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. Endocr Rev. 2004; 25:947-70.

Stocco OM, Wang X, Jo Y, Manna PRo Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: morecomplicated than we thought. Mol Endocrinol. 2005; 7 19: 2647-59.

Cómo se generan las células germinales y qué factores controlan su producción?

M. Nagano

Cada vez que late su corazón, un hombre genera aproximadamente 1000 espermatozoides, lo que hace una producción de 72.000 espermatozoides por minuto, más de 100 millones por día y 3000 millones en un mes. La espermatogénesis puede continuar hasta edades avanzadas. Esto hace que, a diferencia de la mujer, el hombre tenga el potencial de generar descendencia genéticamente propia por encima de los 60 años. Cómo es posible que el sistema reproductivo masculino pueda lograr semejante productividad?

La clave para entender el mecanismo biológico de la espermatogénesis reside en la naturaleza y función de las células madre. Estas se comportan de manera similar a lo que ocurre con las células madre de otros tejidos de nuestro cuerpo con capacidad auto-regenerativa, que son capaces de restaurar y mantener la estructura y función de los órganos en los que residen. Ejemplos de este funcionamiento son la piel, el epitelio intestinal y el sistema hematopoyético, lo que explica cómo, si bien la vida media de un eritrocito humano es de sólo 120 días, el número de eritrocitos que circula por nuestro cuerpo en un momento dado supera con creces los 1 x 10^{12} (***nota del traductor:*** entre 2,5 y 3 billones[1] dependiendo de la concentración de eritrocitos y la volemia). Algo similar pasa en los epitelios de la piel y el intestino que tienen capacidad auto-regenerativa, de manera que, a pesar que sus células mueren y se descaman continuamente, pueden mantener su estructura y función inalterada de por vida gracias a que las células perdidas son inmediatamente reemplazadas. Esto es posible gracias a la existencia de células madre tales como las que aseguran la auto-renovación de la espermatogénesis.

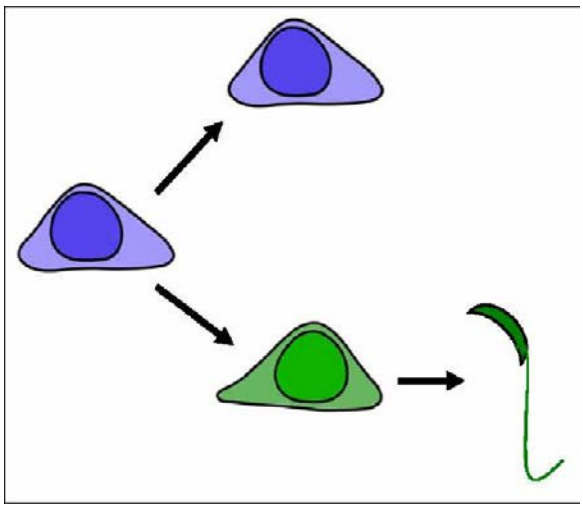


FIG 1. Auto renovación y diferenciación de las SCCs. Las SCCs se auto renuevan para mantener la reserva de células madre espermatogoniales. Alternativamente pueden también tomar el camino de la diferenciación para producir espermatozoides. Azul = SCCs, Verde = células germinales en vías de diferenciación.

Las células madre espermatogoniales *(spermatogonial stem cells,* ***SSCs****)* son las células madre de la espermatogénesis. Se trata de células diploides que, en condiciones de renovación estable, generan dos células por mitosis. Una de ellas permanece como célula madre (con capacidad auto-regenerativa) y se incorpora a la reserva de las mismas. La otra abandona esa reserva y toma el camino de la diferenciación para generar espermatozoides (diferenciación, Fig. 1), perdiéndose de la mencionada reserva ya que el espermatozoide abandona el testículo y pasa al tracto reproductivo. Cómo es que una SCC elige cuál camino tomar ("la elección de su destino"), es un tema de investigación de gran actualidad.

Las SCCs son una sub población de espermatogonias y, como tales, pueblan los tubos seminíferos, apoyadas sobre la membrana basal, y rodeadas por células de Sertoli. Este es el "nicho de espermatogonias madre", microambiente en el que residen y que consolida y regula su función. Este "nicho" está compuesto por la membrana basal, las células de Sertoli y las células germinales que las SCCs han producido. Tiene este "nicho" actividad regulatoria sobre las espermatogonias madre? Aunque no hay evidencia contundente que indique que hormonas como la FSH, LH y testosterona controlen a estas células madre, se sabe que las células de Sertoli secretan una proteína soluble, el GDNF (glial-cell-line-derived neurotrophic factor, o factor neurotrófico derivado de una línea de células gliales), que es importante para su auto-renovación. En ratones en los que el gen de GDNF se encuentra funcional solo en un alelo el número de SCC (espermatogonias madre) se reduce significativamente. En la preparación de un cultivo de SCC el GDFN es un factor indispensable para mantener la capacidad de auto renovación de las SCCs. Otros factores estimulantes de la renovación de las SCC incluyen el FGF2 (fibroblast growth factor 2, factor de crecimiento fibroblástico 2) derivado de células de Sertoli y el CSF1 (colony-stimulating factor 1, factor 1 estimulante de colonias) derivado de células de Leydig y una subpoblación de células peritubulares mioides. La mayoría de los investigadores creen que existen factores adicionales que pueden controlar y regular la actividad de SCC y es previsible que nuevos factores estimulantes sean identificados en el futuro.

El rendimiento espermatogénico estable es el resultado del equilibrio que se establece entre el aporte de nuevas células germinales por diferenciación de las SCCs (espermatogonias madre) y la pérdida que supone la salida de los espermatozoides del testículo. El número absoluto de SCCs en el testículo es muy bajo (se calcula en aproximadamente 0.01 a 0.02 % en el testículo de un ratón adulto) y se dividen infrecuentemente. Para compensar por esta "escasez" de SCCs, se cree que las SCCs generan una subpoblación de espermatogonias que se dividen más frecuentemente para expandir el tamaño de la población de reserva. Esta subpoblación se conoce como "compartimiento de amplificación".

No existen al momento presente marcadores morfológicos, bioquímicos o moleculares para identificar indudablemente las SCCs. Estas se definen funcionalmente por su capacidad de auto renovación continua y diferenciación. En consecuencia, las SCCs no pueden visualizarse microscópicamente y su detección requiere de bioensayos que midan la función de auto-renovación y diferenciación de las células madre espermatogoniales. El trasplante

espermatogonial es un ejemplo de este tipo de bioensayo que ha sido desarrollado en el ratón (Figura 2). En este ensayo, células germinales testiculares derivadas de un ratón donante se inyectan en los tubos seminíferos carentes de células germinales de un ratón receptor estéril. Dos meses después del trasplante las espermatogonias del donante regeneran la espermatogénesis en los tubos seminíferos del ratón receptor. La regeneración de espermatogénesis a partir de células "donadas" implica que entre las mismas había células capaces de auto renovación y diferenciación por períodos prolongados. Como vimos anteriormente, este es el tipo de actividades funcionales que caracterizan específicamente a la reserva de células madre espermatogoniales, cuya presencia en el testículo donante se ve confirmada por su exitoso desarrollo en el ratón receptor. Este ensayo es similar al de la detección de la gravedad, que es "invisible" por naturaleza pero cuya presencia se puede detectar al dejar caer libremente un objeto en el espacio. El problema de tales ensayos para identificar las SCCs es que su presencia se detecta sólo retrospectivamente y no nos permite identificar cuáles células son SCCs ***antes*** del trasplante. Este es el motivo por el cual los investigadores están actualmente comprometidos en una búsqueda muy activa para encontrar moléculas específicamente expresadas por las SCCs de manera que sea posible identificar estas células prospectivamente. De hecho, algunos marcadores ya han sido identificados.

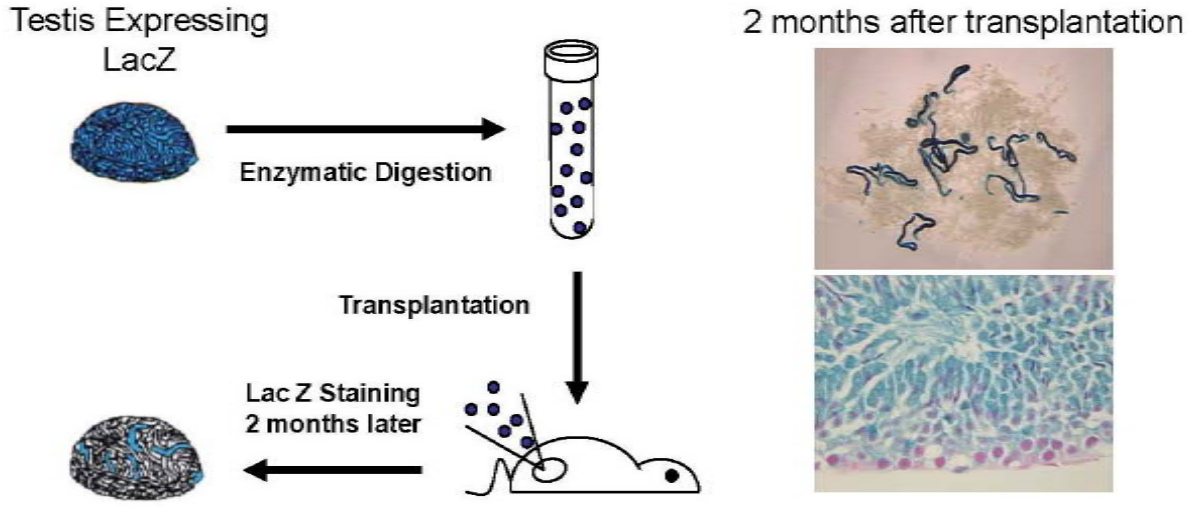


FIG 2. Trasplante espermatogonial. En la parte izquierda de la figura se muestra el procedimiento de trasplante. El testículo donante proviene de un ratón transgénico portador del gen bacteriano LacZ (nota del traductor: LacZ funciona como marcador del origen de las células germinales donadas). El testículo donante es sometido a tratamientos enzimáticos para lograr una suspensión de células individuales. Estas células son inyectadas dentro de los tubos seminíferos de un ratón receptor estéril. Dos meses más tarde el testículo receptor es resecado e incubado con un substrato de la LacZ lo que hace que las células donadas (que expresan ese gen) se tiñan de azul. Como se ve en los paneles de la derecha las SCCs derivadas del testículo donante regeneran la espermatogénesis focalmente lo que se manifiesta en los túbulos seminíferos del testículo receptor por la presencia de segmentos azules resultado de la reacción de la LacZ. Cada segmento azul es el resultado de la proliferación y diferenciación de las SCCs, lo que resulta en espermatogénesis completa.

Existe la expectativa que las SCCs puedan constituir un recurso importante para restaurar la fertilidad masculina en el futuro. El tratamiento quimioterápico del

cáncer es tóxico para las células germinales, incluyendo las SCCs. Por ello, aun en caso que el cáncer sea curado, el paciente puede perder su fertilidad. Este efecto no deseado del tratamiento es particularmente preocupante en el caso de niños prepuberales que por no haber aún comenzado su espermatogénesis no pueden recurrir al congelamiento de sus gametas en un banco de semen.

Siendo que las SCCs existen desde el nacimiento, sería posible obtener SCCs testiculares en pacientes de cualquier edad para ser criopreservadas antes de la quimioterapia. Llegado el momento que ese paciente desee tener su propia descendencia se pueden descongelar las SCCs y trasplantarlas en los tubos seminíferos del mismo paciente. Estas SCCs trasplantadas (originalmente recogidas antes del comienzo de la quimioterapia), tienen la capacidad de regenerar la espermatogénesis y producir espermatozoides, lo que da al paciente la posibilidad de concebir un hijo por medio de relaciones sexuales con su pareja o con la ayuda de la fertilización asistida. Es posible que los avances en la investigación sobre la biología de las espermatogonias madre puedan hacer posible esta estrategia de preservación de la fertilidad en un futuro cercano.

Lecturas sugeridas:

Brinster RL. Male germline stem cells: from mice to men. Science. 2007; 316: 404–5.

Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994; 91: 11298 –302.

Brinster RL, Avarbock MR. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994; 91: 11303–7.

Nagano MC. Germ line stem cells. In: Lester LB ed. Stem Cells In Endocrinology. Totowa: Humana Press, 2005; 23–47.

Oatley JM, Brinster RL. Regulation of Spermatogonial Stem Cell Self-Renewal in Mammals. Annu Rev Cell Dev Biol. 2008; 24: 263–86.

---

[1] En los Estados Unidos de América y también en el Reino Unido se usa la denominación de trillion para referirse a 10^{12}, pero en el mundo de habla hispana, francesa, italiana, etc. esta cantidad (10^{12}) se denomina billón.

¿Qué evento cromosómico distintivo conduce a la formación de la célula germinal haploide masculina?

M. A. Handel

La meiosis es un proceso distintivo de la gametogénesis cuya finalidad es doble: por un lado, reducir a la mitad el número de cromosomas en las gametas para permitir la restauración de la diploidía luego de la fecundación y por otro la recombinación de los alelos parentales que favorece la diversidad genética. La meiosis es el resultado de dos divisiones celulares extraordinariamente bien coordinadas, sin interposición de una fase S (síntesis de ADN) entre las mismas (Fig. 1). La primera división es reduccional, porque segrega los cromosomas homólogos en células separadas, mientras que la segunda es ecuacional y reduce el DNA al contenido haploide. El éxito de las mencionadas divisiones depende fundamentalmente de la muy especial dinámica de los cromosomas durante la extendida profase meiótica.

La meiosis se inicia después de la proliferación mitótica de las espermatogonias por la síntesis de ADN que logra una replicación precisa de cada cromosoma para formar dos cromátides. Así el contenido de ADN (valor "C") se duplica desde 2C a 4C, pero el número de cromosomas (valor "N") de la célula germinal no cambia -es todavía valor diploide 2N (46 cromosomas en humanos. Nota: los espermatocitos no son tetraploides). Durante la profase de la meiosis I, los cromosomas homólogos se aparean formando bivalentes que se fragmentan recombinándose simétricamente los segmentos fragmentados. Esta recombinación es un requisito distintivo de la meiosis y constituye la característica que la diferencia de la mitosis. La profase meiótica I se divide en varios sub-estadios que marcan el comportamiento dinámico de los cromosomas. Durante el leptotene, los cromosomas sufren las roturas endógenas de la doble cadena de ADN, mediadas por la enzima SPO11, que inicia los eventos moleculares de la recombinación meiótica. Además, durante el leptotene los cromosomas homólogos se reúnen por mecanismos de reconocimiento homólogo no bien conocidos, pero que pueden ser facilitados por la agrupación de telómeros en el "bouquet" de la envoltura nuclear y/o las roturas del ADN y la siguiente formación de terminales cortos de cadena simple. Durante el cigotene, el apareamiento cromosómico se extiende y los homólogos se asocian íntimamente por sinapsis, proceso mediado por el complejo sinaptonémico (CS).

El CS es un complejo proteico constituido por dos elementos laterales que forman el eje y armazón de cada homólogo y un elemento central que oficia de adhesivo estructural entre los elementos laterales y completa la sinapsis. La conclusión de la sinapsis marca el comienzo del extenso estadío de paquitene, el cual demanda aproximadamente 16 días en el humano, y se caracteriza por un crecimiento considerable del espermatocito y por el importante dinamismo cromosómico. Ahora los cromosomas son visualizados como pares homólogos, llamados bivalentes. En los humanos son 23, constituidos por 22 bivalentes autosómicos y el par sexual asociado solo por los extremos distales de los brazos cortos (conocidos como región seudo-autosómica), que quedan secuestrados en un dominio nuclear heterocromático

conocido como “sex body” o “XY body”. Durante el estadio de paquitene se despliegan los eventos moleculares de la recombinación homóloga. Cabe señalar que el número de roturas de la doble cadena donde se inicia la recombinación es aproximadamente 10 veces mayor al número de recombinaciones recíprocas finales (crossovers). Este número es siempre al menos un sitio de recombinación por cromosoma, número que puede aumentar a dos o tres en los cromosomas largos. Se piensa que el exceso de roturas de la doble cadena puede ser reparado por los mecanismos de recombinación que involucran la conversión de los genes que no sufren crossover o sitios de intercambio de información específicos sin cambio de las regiones cromosómicas que los rodean.

La conclusión de la recombinación marca el pasaje de la célula germinal hacia el estadio final de la profase de la meiosis I, el diplotene, en donde las sinapsis se separan y los cromosomas se condensan. En este estadio, los homólogos están todavía unidos a través de los quiasmas o sitios de recombinación. Los quiasmas tienen la función esencial de mantener los pares de homólogos en una orientación bi-polar al alinearse en el huso mitótico de la metafase I. La primera división meiótica es reduccional, separándose los miembros de cada par de homólogos. El resultado son 2 células, los espermatocitos secundarios, con contenido cromosómico haploide (n=23) pero con cada cromosoma todavía constituido por 2 cromátides. La división meiótica II sobreviene rápidamente y es una división ecuacional, como una mitosis, separándose las cromátides en las células resultantes después de la telofase, cada una de las cuales contiene ahora el número haploide de cromosomas (n= 23 en humanos) y un contenido C1 de DNA. Lo mismo que en las divisiones espermatogoniales, una característica de las dos divisiones meióticas es la citocinesis incompleta y la persistencia de puentes intercelulares. Por lo tanto, al completarse la meiosis, las espermátides resultantes están unidas en un sincicio al comenzar el proceso de diferenciación de la espermiogénesis.

Mucha atención se ha prestado a las alteraciones en los mecanismos por los cuales la coreografía del movimiento cromosómico y los procesos de recombinación meiótica pueden resultar fallidos, así como a la posibilidad que estos errores puedan explicar algunos casos de infertilidad humana. La consecuencia es la detención del desarrollo espermatogénico (arresto germinal), la generación de gametas aneuploides o el nacimiento de niños con anormalidades cromosómicas numéricas. La falta de recombinación o de la formación de quiasmas o la anormal persistencia de éstos últimos pueden alterar la segregación cromosómica correcta durante la meiosis I al causar no disyunción cromosómica (incapacidad de los homólogos de separarse hacia los dos polos del huso meiótico). Asimismo, la ausencia o persistencia de la cohesión de las cromátides puede inducir anormalidades en la segregación cromosómica. La búsqueda de gametas aneuploides en hombres infértiles por medio del FISH (hibridización in situ fluorescente) no ha demostrado correlaciones significativas entre la infertilidad y la aneuploidía espermática, lo que coincide con la observación que la no disyunción meiótica es menos frecuente en el hombre que en la mujer. Sin embargo, la infertilidad por detención de la espermatogénesis y muerte de células germinales es un fenotipo común en modelos murinos carentes de proteínas involucradas en la recombinación meiótica. Aun cuando se han encontrado similares mutaciones en hombres infértiles, el rol causal de las mismas es difícil de establecer. Se

puede anticipar que la aplicación de técnicas personales de secuenciación genómica completa facilitará la identificación de mutaciones meióticas en humanos.

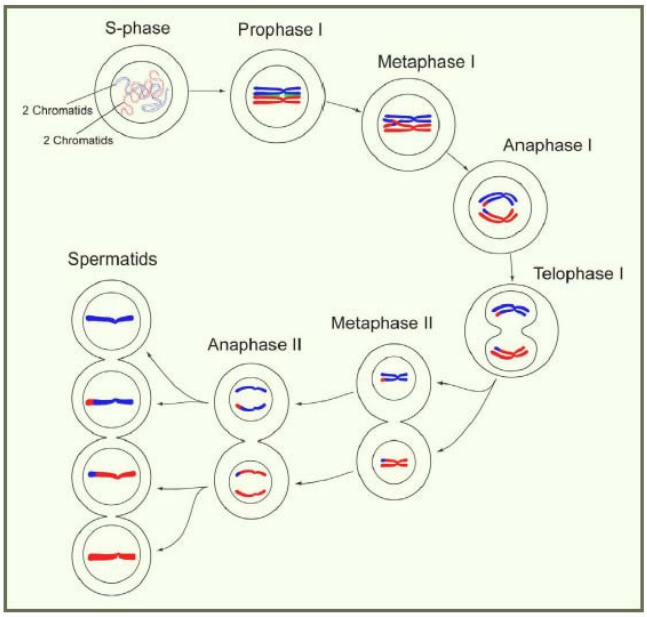


FIG 1: El diagrama ilustra los estadios de la meiosis en células germinales masculinas. Se ha representado a un solo par de cromosomas, uno de origen materno (rojo) y otro paterno (azul). Al final del periodo S cada cromosoma tiene dos cromátides. En el estadio de paquitene de la profase I los cromosomas forman bivalentes (sinapsis), evento mediado por el complejo sinaptonémico (verde). Antes de la metafase I se visualizan los quiasmas, manifestación visible de los focos de recombinación. Durante la anafase I y telofase I los homólogos se separan reduciendo el número de cromosomas al contenido haploide. Los espermatocitos rápidamente progresan al estadio de metafase II y luego las cromátides se separan en la anafase II para formar las 4 espermátides haploides.

En resumen, las dos divisiones meióticas son un evento definitorio de la espermatogénesis (Fig. 1). Los eventos de la profase I incluyen apareamiento y sinapsis de cromosomas homólogos y recombinación recíproca que resulta en nuevas combinaciones de alelos génicos. La meiosis I separa cromosomas homólogos y reduce el número de cromosomas de 2N a 1N. La meiosis II es ecuacional, separando las cromátides cromosómicas. Los productos de estas dos divisiones son 4 espermátides que contienen cada una un número haploide de cromosomas (N1) y un contenido 1C de DNA.

Lecturas sugeridas:

Cohen PE, Pollack SE, Pollard JW. Genetic analysis of chromosome pairing, recombination, and cell cycle control during first meiotic prophase in mammals. Endocr Rev. 2006;27:398-426.

Handel MA, Schimenti JC. Genetics of mammalian meiosis: regulation, dynamics and impact on fertility. Nat Rev Genet. 2010; 11:124-36

Hassold T, Hall H, Hunt P. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. Hum Mol Genet. 2007; 16(Review Issue 2):R203-R208.

Cómo se regula la producción de espermatozoides?

R.I. Mclachlan

Regulación hormonal de la espermatogénesis: papel de los andrógenos y de la FSH

La espermatogénesis involucra divisiones celulares mitóticas y meióticas, citodiferenciación e interacciones intercelulares que se modifican bajo la influencia de factores autocrinos, paracrinos y endocrinos. Los sistemas endocrinos regulan la iniciación (desarrollo neonatal y pubertad) y el mantenimiento de la espermatogénesis a través de un sistema clásico de retroalimentación negativo (Cap 2, Fig.1) que involucra elementos del eje hipotálamo-hipofisario-testicular (HPT). La producción de espermatozoides es dependiente de la estimulación de gonadotrofinas hipofisarias, LH y FSH, que son secretadas en respuesta a los factores liberadores de gonadotrofinas (GnRH). Su acción sobre la diferenciación de las células germinales es ejercida a través de los receptores de FSH y andrógenos de células somáticas, de Sertoli y de Leydig, respectivamente. La LH estimula a la célula de Leydig a secretar testosterona, ésta actúa estimulando a su vez, la producción de esperma, induciendo la virilización de los tejidos no gonadales e interviniendo en el mecanismo de retroalimentación del hipotálamo y de la pituitaria a efectos de regular la secreción de GnRH. La FSH estimula a las células de Sertoli a promover la espermatogénesis como se refleja por su secreción de inhibina B la cual ejerce un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH por parte de la hipófisis. La fisiología de estos reguladores endocrinos claves en la espermatogénesis es aquí descripta e ilustrada, en el contexto de la contracepción hormonal y del tratamiento de la infertilidad.

Reguladores hormonales de la espermatogénesis

Receptor de andrógenos (RA)

Los andrógenos regulan la espermatogénesis al unirse a los RA expresados en la célula de Sertoli. La testosterona o su metabolito reducido, la 5 α-dehidrotestosterona se une al RA citosólico que luego se dimeriza, transloca al núcleo y se une a los elementos de respuesta de los andrógenos en la región promotora de los genes de respuesta a los andrógenos, a efectos de modular la denominada “vía genómica” de la transcripción génica; aunque una vía “no genómica” también puede operar. Un receptor de andrógenos funcionante es esencial para la espermatogénesis. La expresión de los RA de las células de Sertoli es mayor en aquellos túbulos seminíferos que presentan meiosis y diferenciación de espermátides. Numerosos factores regulan la expresión de los RA incluyendo la FSH, los niveles intratesticulares de testosterona y las citocinas (ej., el factor nuclear-kB).

Receptor FSH (R-FSH)

La unión de FSH a su receptor en las células de Sertoli inicia eventos transduccionales que incluyen la estimulación del AMPc y la liberación de $Ca2^{+}$ lo que a su vez induce cascadas de señales intracelulares como las vías dependientes de las proteinquinasas - A y C. La producción de espermatozoides puede ocurrir sin la acción de la FSH en los ratones y ratas y quizás en el hombre, pero la producción normal del número de espermatozoides requiere de la FSH. El R-FSH se expresa en aquellos estadíos de túbulos seminíferos que presentan mitosis de espermatogonias.

Otras hormonas esteroides

Receptor de estrógenos (RE): el testículo es el sitio de mayor producción de estrógenos y los niveles intratesticulares son sumamente altos. Aparte del REα presente en los conductos eferentes, el REβ (incluyendo variantes de corte y empalme) se localiza en las células de Sertoli humanas y en la mayoría de los tipos de células germinales; no hay sin embargo evidencia de un papel directo en la espermatogénesis. La expresión del receptor de la hormona tiroidea es importante en el desarrollo de la célula de Sertoli.

Dependencia hormonal de la espermatogénesis humana

La FSH y la testosterona están involucradas en el inicio de la espermatogénesis y ambas hormonas son necesarias para una espermatogénesis cuantitativamente normal en el adulto. Este es el principio fisiológico en que se basa: (i) la contracepción por vía hormonal en el hombre mediante la cual la administración exógena de testosterona reduce la secreción de LH y FSH hipofisaria induciendo, en la mayoría de los casos, una azoospermia reversible y (ii) la terapia combinada gonadotrófica para restablecer la fertilidad en hipogonadismos hipogonadotróficos (HH) que pueden resultar de una deficiencia en la liberación del GnRH hipotalámico o de la secreción de gonadotrofinas hipofisarias. En el HH congénito, las células germinales no progresan más allá del estadío de las espermatogonias. El HH adquirido después de la pubertad resulta en una regresión espermatogénica y una marcada oligo/azoospermia. Cuando el HH es parcial, una reducida producción de esperma puede permitir la fertilidad pero cuando es completa, la espermatogénesis cesa. El restablecimiento de la secreción de gonadotrofina endógena o la terapia de reemplazo con gonadotrofinas exógenas podrá inducir o restablecer la espermatogénesis en la mayor parte de los casos, pero este proceso podrá llevar varios meses.

Efectos de gonadotrofinas y andrógenos en la espermatogénesis

Fisiología de las hormonas sexuales en el testículo

La espermatogénesis es absolutamente dependiente de la acción de los andrógenos. Debido a su producción local, los niveles intra-testiculares de testosterona en el hombre son aproximadamente 50 veces más altos que aquellos presentes en el suero y decaen en más del 98% cuando se suprimen los niveles de LH. Los resultados en ratas muestran que la espermatogénesis puede ser mantenida en forma completa a pesar de la reducción de la concentración de testosterona al 20% de los valores normales. El nivel de testosterona requerido para *iniciar* la espermatogénesis en el ratón es aproximadamente 15 veces mayor que aquella necesaria para su

mantenimiento, indicando que, dependiendo del estado de maduración, son distintos los mecanismos que operan.

La constante de disociación del RA testicular es $3x10^{-9}$ M lo que sugiere que el RA, en el testículo normal, está totalmente saturado. La unión de la testosterona a proteínas de unión a hormonas sexuales de alta afinidad, puede secuestrar parte de la testosterona libre del "pool" intratesticular. La enzima 5-α reductasa cataliza la conversión de testosterona a DHT. A pesar de la mayor afinidad de la DHT por el RA y la mayor actividad transcripcional RA-dependiente comparada con la de la testosterona, el gran exceso de esta última hormona por sobre la DHT (aproximadamente 100:1) en el testículo normal, sugiere que la DHT no es importante. Cuando la testosterona intra-testicular se reduce sensiblemente por la supresión de la LH, la DHT residual intratesticular puede desempeñar un papel de apoyo o mantenimiento. Se ha sugerido que la inhibición de la 5α-reductasa (especialmente el tipo de isoenzima 1 presente en el testículo) puede aumentar la eficacia de los contraceptivos hormonales en el hombre al disminuir el nivel de andrógenos, aunque no hay aun suficientes evidencias.

El papel de la FSH en la espermatogénesis humana

El requerimiento frecuente de FSH para establecer la espermatogénesis en un HH congénito (ver mas abajo) apunta a que la FSH es necesaria para la inducción de efectos permanentes en la maduración de las células de Sertoli /epitelio seminífero, como ocurre durante la pubertad normal.

Se han publicado raros casos de hombres con mutaciones de la FSH y de su receptor (FSH-R) que revelan algunas inconsistencias en los fenotipos espermatogénicos: los hombres con mutaciones del FSH-R tienen niveles moderadamente elevados de FSH y reducción más o menos severa en el número de espermatozoides, pero aquellos con una mutación inactivante de la FSHβ presentan azoospermia. Por lo tanto, a diferencia del ratón "knock out" para FSHβ, la FSH puede ser esencial en el establecimiento/ mantenimiento de cierto nivel de espermatogénesis en el hombre.

La doble dependencia hormonal en la espermatogénesis humana fue claramente demostrada en los experimentos de supresión de gonadotrofinas: la producción de esperma fue restablecida en un 50% de los niveles basales ya sea por tratamientos con FSH o con gonadotrofina coriónica humana (como un sustituto de la LH) mientras que el restablecimiento cuantitativo total sólo se obtuvo con tratamientos combinados de hCG y FSH. Cuando en el hombre normal se suprimen los niveles de gonadotrofinas, como en los tratamientos anti-conceptivos hormonales, ocurren efectos dramáticos en el desarrollo de las células germinales tales como: una acelerada apoptosis de las células germinales, una inhibición de la maduración de las espermatogonias y de la progresión de la espermiogénesis tardía así como la retención/degradación de espermátides en la célula de Sertoli.

Conclusión

Durante el desarrollo los andrógenos, la FSH y la hormona tiroidea logran establecer la infraestructura esencial para la futura espermatogénesis. En los adultos, la proliferación de las espermatogonias, la sobrevida de las células germinales, la espermiogénesis y la espermiación dependen de las vías de señalización de los andrógenos y de la FSH a efectos de lograr una óptima

producción de espermatozoides. El conocimiento ha contribuido al desarrollo de mejores tratamientos de la infertilidad por deficiencia de gonadotrofinas y al desarrollo de contraceptivos hormonales.

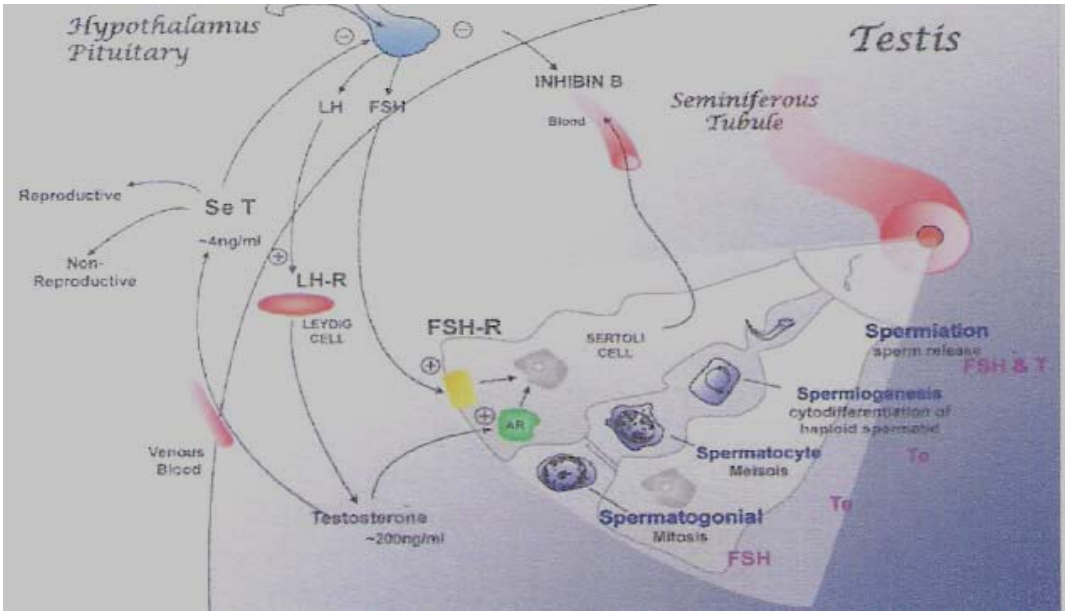


FIG.1. La regulación hormonal de la espermatogénesis. FSH; hormona folículo-estimulante, LH; hormona luteinizante, GnRH; hormona liberadora de gonadotrofinas, LH-R; receptor de LH, FSH-R; receptor de FSH, AR; receptor de andrógenos. Hypothalamus: hipotálamo, pituitary: pituitaria, Reproductive or non-reproductive: reproductivo o no reproductivo, Venous blood: sangre venosa, Testis: testículo, Seminiferous Tubule: túbulo seminífero. Spermatogonial mitosis: mitosis de espermatogonias, spermatocyte meiosis: meiosis de espermatocitos, Spermiogenesis: espermiogénesis. Cytodifferentiation of haploid spermatid: citodiferenciación de espermátides haploides. Notar la localización de FSH-R y AR en la célula de Sertoli que transducen sus efectos para completar la espermatogénesis. Se muestran las 4 fases de la espermatogénesis (mitosis, meiosis, espermiogénesis y liberación de los espermatozoides en la luz del túbulo seminífero (espermiación). Se indica la principal hormona (FSH o T) que regula cada fase (aunque hay evidencias de que existen, en muchos modelos, acciones combinadas). Notar también que los niveles de testosterona testicular son sumamente altos en relación a aquellos detectados en suero (Se T) y que la T sérica posee acciones androgénicas sobre otros tejidos del sistema reproductor o no reproductor proporcionando un mecanismo de retroalimentación negativo sobre la secreción de gonadotrofinas hipofisarias. La inhibina B ejerce efectos inhibitorios sólo sobre la liberación de la FSH.

Lecturas sugeridas:

Walker WH, Cheng J. FSH and testosterone signaling in Sertoli cells. Reproduction 2005; 130:15-28.

O' Donnel L, Meachem SJ, Stanton PG, Mc Lachlan RI. The endocrine regulation of spermatogenesis. En: Knobil E, Neill JD (Eds). The Physiology of Reproduction (3rd. Edition) Elsevier, San Diego CA, 2006,pp 1017-69.

Page ST, Amory JK, Bremner WJ. Advances in male contraception. Endocr Rev. 2008; 29:465-93.

McLachlan RI, O'Donnell L, Stanton PG, Balourdos G, Frydenberg M, de Kretser DM, Robertson DM. Effects of testosterone plus medroxy-progesterone acetate on semen quality, reproductive hormones, and germ cell populations in normal young men. J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87:546-56.

Zirkin BR, Santulli R, Awoniyi CA, Ewing LL. Maintenance of advanced spermatogenic cells in the adult rat testis: quantitative relationship to testosterone concentration within the testis. Endocrinology 1989; 124:3043-9.

Handelsman DJ, Spaliviero JA, Simpson JM, Allan CM, Singh J. Spermatogenesis without gonadotropins: maintenance has a lower testosterone threshold than initiation. Endocrinology. 1999;140:3938-46.

Isomaa V, Parvinen M, Jänne OA, Bardin CW. Nuclear androgen receptors in different stages of the seminiferous epithelial cycle and the interstitial tissue of rat testis. Endocrinology. 1985; 116:132-7.

Matsumoto AM, Karpas AE, Bremner WJ. Chronic human chorionic gonadotropin administration in normal men: evidence that follicle-stimulating hormone is necessary for the maintenance of quantitatively normal spermatogenesis in man. J Clin Endocrinol Metab. 1986; 62:1184-92.

McLachlan RI, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, de Kretser DM, Pratis K, Robertson DM. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. Recent Prog Horm Res. 2002; 57:149-79.

¿Hay eventos epigenéticos asociados a la formación de las células germinales masculinas? ¿Cuál es el rol del "*imprinting*" genómico en las células germinales masculinas?

J.M. Trasler

La epigenética se refiere a los mecanismos hereditarios de modulación de la expresión génica que no involucran alteraciones en la secuencia del ADN. Estos mecanismos epigenéticos afectan el fenotipo de la célula sin afectar su genotipo y son gobernados por procesos que permiten la heredabilidad desde la célula parental a su hija, siendo al mismo tiempo potencialmente modificable o incluso reversible. La metilación del ADN, la modificación de histonas y los ARNs pequeños son tres de los mecanismos moleculares que han sido asociados con la regulación epigenética de los genes. Estos tres mecanismos interactúan y se estabilizan entre ellos y perturbaciones en al menos de uno de ellos puede llevar a una expresión inapropiada o al silenciamiento de los genes, llevando a una "enfermedad epigenética" como el cáncer y trastornos de "imprinting**".** Los mecanismos epigenéticos están conservados en los eucariotas superiores incluyendo a los humanos sugiriendo que actúan en combinación para regular la cromatina y en última instancia la integridad del genoma.

El patrón epigenético comienza en la línea germinal y es esencial para el normal desarrollo embrionario y posnatal. Se postula que las modificaciones epigenética que ocurren durante el desarrollo de la célula germinal juegan un rol en la expresión génica, la meiosis, la integridad del genoma y el "imprinting" genómico. El desarrollo de la célula germinal masculina y femenina es un momento especialmente crítico para la adquisición de la "marca" diferencial de los genes *"imprintables"* para garantizar la expresión de origen parental específico. A la fecha el "imprinting" genómico afecta alrededor de 100 genes y se refiere a la variación en la expresión de esos genes de acuerdo a su origen materno o paterno. Los genes "*imprintables*" juegan un rol en el crecimiento, la función placentaria y muchos aspectos del desarrollo incluyendo procesos neuroconductuales. Muchos genes "*imprintables*" tienen distintas secuencias conocidas como regiones diferencialmente metilables o DMRs, donde la metilación del ADN difiere entre los alelos maternos y paternos. Como la metilación del ADN es el mecanismo epigenético mas ampliamente caracterizado, éste será utilizado en este trabajo, para ilustrar la importancia de la epigenética en la biología de la célula germinal masculina.

La metilación del ADN ocurre en la posición 5 de los residuos de citosina dentro de los dinucleótidos CpG (donde la citosina es 5' de la guanina) en los 20-30 millones de sitios a lo largo del genoma mamífero; alrededor del 60-80% de las citosinas dentro de las islas CpGs están metiladas. La metilación del ADN está invariablemente asociada al silenciamiento transcripcional. Ocurren dos tipos de metilación, la metilación de novo o adquisición de la metilación sobre citosinas desmetiladas, o el mantenimiento de la metilación, este toma lugar al momento de la replicación del ADN para garantizar la propagación de la metilación genómica de la célula madre a la hija. La mayoría de las metilaciones *de novo* son blanco para transposones y sus restos y se repite como secuencias satélites pericéntricas con pequeñas cantidades de secuencias de copia única y sus DMRs de genes "*imprintables*". La metilación

del ADN está catalizada por una familia de ADN (citosina-5) metil transferasas (las enzimas DNMT o DNMTs). Las principales DNMTs involucradas en el establecimiento y mantenimiento de los patrones de metilación son las DNMT1, DNMT3A Y DNMT3B. Aunque carece de actividad enzimática, la DNMT 3L (DNMT 3-like) está relacionada y trabaja con la DNMT3A y la DNMT3B. La desmetilación ocurre pasivamente cuando la metilación no se mantiene después de la replicación del ADN o activamente mediante un enzima/proceso aún no conocido.

Las modificaciones epigenéticas, incluida la metilación del ADN, son en su mayoría borradas en la célula primordial germinal y luego readquirida de una manera sexo específico durante el desarrollo celular germinal (FIG 1). El borrado es particularmente importante para los genes "imprintados" de origen materno, los cuales deben ser borrados para que sean incorporadas la nueva impronta paterna. Un segundo período del borrado ocurre en el embrión pre implantatorio y se piensa que afecta a la mayoría de las secuencias con la excepción de los genes "*imprintables*" y algunas secuencias repetidas. La metilación del los genes imprintados se mantiene durante el desarrollo preimplantational ya que solo en la línea germinal (masculina o femenina dependiendo del gen) los genes "*imprintables*" adquieren metilación alelo específica que resultará en expresión monoalélica en el embrión y el individuo nacido. Como la mayoría de las metilaciones van a ser borradas en etapas tempranas del embrión, se postula que la metilación del ADN en la línea germinal en otras secuencias que no correspondan a genes "*imprintables*" y secuencias repetidas, tiene un rol específico en el desarrollo de la línea germinal, en la expresión de genes o en la estructura de la cromatina durante la gametogénesis.

Luego del segundo borrado en las células germinales primordiales que ocurre en la etapa preimplantatoria (aproximadamente en la mitad de la gestación del feto masculino), la metilación en la línea germinal es adquirida premeioticamente en el gonocito prenatal o en la célula pro espermatogonia en el período entre la mitad de la gestación y el nacimiento (FIG 1). La adquisición de la metilación del ADN en la célula germinal masculina continúa después del nacimiento en las células germinales mitóticas y meióticas y se completa en el estadio de paquitene de la meiosis. La espermatogonia mitótica también debe mantener los patrones de metilación del ADN adquiridos en el período prenatal. Las señales precisas que dirigen la metilación del ADN a secuencias específicas de la célula germinal masculina no están claras pero deben incluir eventos ARN dirigidos. Los candidatos potenciales para la señalización basada en ARN son los recientemente descriptos ARN pequeños específicos de célula germinal, los piARNs. Los experimentos de señalización de genes en ratones han identificado a DNMT3a y DNMT3L como las enzimas predominantemente involucradas en la metilación de las secuencias repetitivas e "*imprintables*" en la línea germinal masculina. La ausencia de esas enzimas resulta en una falla en la espermatogénesis e infertilidad. Por ejemplo, en los ratones machos con ausencia de DNMT3L, las células germinales masculinas sobre expresan retrotransposones, y hay asinapsis y sinapsis de segmentos no homólogos durante la profase meiótica, con posterior apoptosis de la célula germinal antes del estadio de paquitene.

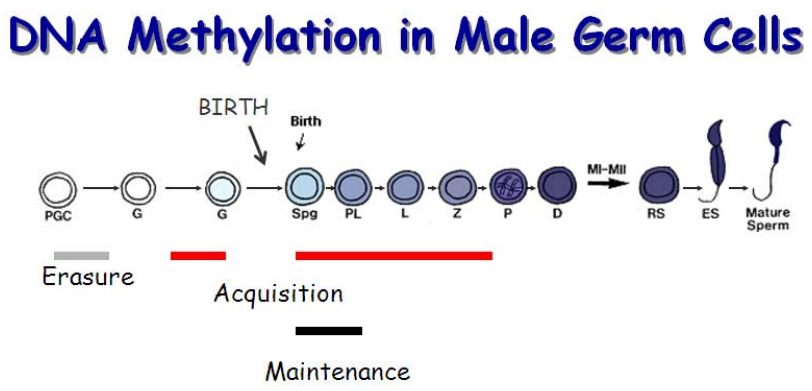


FIG 1. "*Timing"* del borrado (barra gris), adquisición (barra roja) y mantenimiento (barra negra) de los patrones de mutilación del ADN en los periodos prenatal y postnatal del desarrollo de la célula germinal masculina. PGC: célula germinal primordial (del inglés primordial germ cell); G: gonocito o pro-espermatogonia; Spg: espermatogonia (spermatogonia); PL: espermatocito pre-leptoténico (preleptotene spermatocyte); L: espermatocito leptoténico (leptotene spermatocyte); Z: espermatocito zigoténico (zygotene spermatocyte); P: espermatocito paquiténico (pachytene spermatocyte); D: espermatocito diplotene (diplotene spermatocyte); RS: espermátide redonda (round spermatid), ES: espermátide alongada (elongating spermatid).
Otros términos en inglés: DNA methylation in male germ cells (Metilación del ADN en células germinales masculinas; Erausre (Borrado), BIRTH (Nacimiento), Acquisition (Adquisición), Maintenance (Mantenimiento), Mature sperm (Espermatozoides maduros).

Existen evidencias de que los errores en el establecimiento y mantenimiento en los patrones de metilación del ADN en la célula germinal pueden causar enfermedades como síndromes por "imprinting" y cáncer. En muestras de semen de pacientes con oligozoospermia se ha reportado que poseen defectos en la metilación del ADN en *loci* "*imprintables*". Se ha sugerido que los efectos de la edad paterna en pacientes con esquizofrenia y otras desordenes podrían deberse a errores en el mantenimiento de la metilación genómica en las espermatogonias de los varones de edad avanzada. Además, esto es algo que concierne a más de una generación, ya que, mientras la mayoría de los errores epigenéticos deben ser borrados en la línea germinal de la progenie, hay muchos ejemplos de la posibilidad de heredar los defectos epigenéticos. Estudios en curso están evaluando los efectos de las condiciones ambientales, la dieta y las drogas sobre los patrones de metilación del ADN en los espermatozoides humanos.

Lecturas sugeridas:

Grewal SI, Moazed D. Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. Science 2003; 17: 2162-76.

Lin H. piRNAs in the germ line. Science 2007; 316: 397.
Richards EJ. Inherited epigenetic variation—revisiting soft inheritance. Nat Rev Genet 2006; 7: 395-401.

Sasaki H, Matsui Y. Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. Nat Rev Genet 2008; 9: 129-40.

Schaefer CB, Ooi SKT, Bestor TH, Bourc'his D. Epigenetic decisions in mammalian germ cells. Science 2007; 316: 398-99.

Page, ST, Amory, JK, Bremner, WJ. Advances in male contraception. Endocr Rev 2008; 29: 465-93.

Hayes FJ, Pitteloud N Hypogonadotropic hypogonadism (HH) and gonadotropin therapy. Section Ed McLachlan RI, in WWW.ENDOTEXT.org, Chapter 5 (February 6, 2004) published by MDTEXT, INC, South Dartmouth, MA, USA.

McLachlan, RI, O'Donnell, L, Stanton, PG, Balourdos, G, Frydenberg, M, de Kretser, DM, Robertson, DM. Effects of testosterone plus medroxyprogesterone acetate on semen quality, reproductive hormones, and germ cell populations in normal young men. J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87: 546-56.

Zirkin, BR, Santulli, R, Awoniyi, CA, Ewing, LL. Maintenance of advanced spermatogenic cells in the adult rat testis: quantitative relationship to testosterone concentration within the testis. Endocrinology. 1989; 124: 3043-49.

Handelsman, DJ, Spaliviero, JA, Simpson, JM, Allan, CM, Singh, J. Spermatogenesis without gonadotropins: maintenance has a lower testosterone threshold than initiation. Endocrinology. 1999; 140: 3938-46.

Isomaa, V, Parvinen, M, Janne, OA, Bardin, CW Nuclear androgen receptors in different stages of the seminiferous epithelial cycle and the interstitial tissue of rat testis. Endocrinology. 1985 116: 132-7.

Matsumoto, AM, Karpas, AE, Bremner, WJ. Chronic human chorionic gonadotropin administration in normal men: evidence that folliclestimulating hormone is necessary for the maintenance of quantitatively normal spermatogenesis in man. J Clin Endocrinol Metab. 1986; 62: 1184-92.

McLachlan, RI, O'Donnell, L, Meachem, SJ, Stanton, PG, de Kretser, DM, Pratis, K, Robertson, DM. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. Recent Prog Horm Res. 2002; 57: 149-79.

¿Qué hace el epidídimo y cómo lo hace?

B.T. Hinton

"Si alguien pregunta que es el epidídimo, debemos contestar que es un tubo que con varios enrollamientos que constituye un cuerpo que se fija al dorso del testículo" (de Graaf 1668, citado por Jocelyn y Setchell, 1972)

Los espermatozoides que salen del testículo no tienen motilidad ni la capacidad de reconocer y fertilizar un óvulo y deben atravesar un largo conducto, el epidídimo, para adquirir estas capacidades. Estas transformaciones post-testiculares del espermatozoide se denominan maduración espermática.

El epidídimo es un tubo único, altamente enrollado que mide aproximadamente 1 metro en el ratón, 3 metros en la rata, 6 metros en el hombre y 18 metros en el caballo. El tiempo de tránsito del espermatozoide por este órgano puede variar entre 1 y 14 días. Las primeras investigaciones consideraron al epidídimo como un reservorio para los espermatozoides donde estos envejecían. Se creía que el proceso de maduración era inherente al espermatozoide sin participación del epidídimo.

Hoy resulta claro que el epidídimo es un participante activo en el proceso de maduración espermática no solo aportando el fluido luminal necesario para el mantenimiento de los espermatozoides sino también aportando muchas de las moléculas que necesita el espermatozoide para adquirir fertilidad. Además de participar en la maduración, el epidídimo juega un papel en la protección de los espermatozoides durante el proceso y en su almacenamiento, una vez completada la maduración. Dado que los espermatozoides son inmóviles, necesitan ayuda para desplazarse a lo largo del conducto. Ésta es provista por las contracciones del músculo liso que rodea al túbulo y también por la presión que ejercen los nuevos espermatozoides y fluido que llegan desde el testículo. Desde el punto de vista clínico, un funcionamiento alterado del epidídimo resulta en infertilidad y, por consiguiente, el epidídimo es un órgano especialmente indicado para el desarrollo de un anticonceptivo masculino. Curiosamente, en contraposición al testículo y próstata, el epidídimo raramente desarrolla cáncer.

Estructura del epidídimo

En muchas especies es posible diferenciar 4 regiones en el epidídimo: el segmento inicial, la cabeza (*Caput*), el cuerpo (*Corpus)* y la cola (*Cauda*). En su extremo proximal, los túbulos eferentes conectan al testículo con el epidídimo. En la parte distal se conecta con el vaso o conducto deferente (FIG 1). Dentro de cada región, hay un número variable de segmentos separados por tabiques. El desafío para los investigadores es relacionar cada región y sus segmentos a la función epididimaria y a la maduración de los espermatozoides

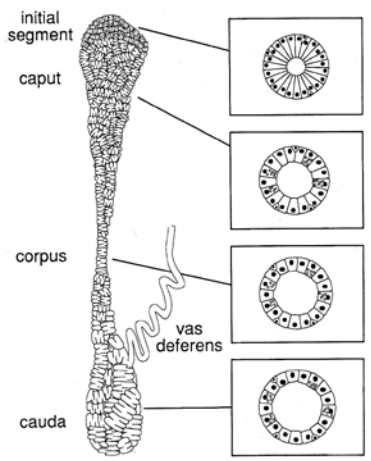


FIG 1. Representación esquemática de un epidídimo, mostrando las diferentes regiones: segmento inicial (initial segment), cabeza (caput), cuerpo (corpus) y cola (cauda), seguido del vaso deferente (vas deferens). A la derecha se presenta un diagrama de la estructura del túbulo en cada región. Es de notar el progresivo aumento del diámetro luminal entre la cabeza y la cola, acompañado de una disminución similar en la altura celular.

El epitelio epididimario está formado por varios tipos celulares: las células principales, las basales, las apicales, las halo, las claras y las angostas, cuyo número y tamaño varía a lo largo del conducto. Por ejemplo, las células principales en el segmento inicial son altas y esto reduce el diámetro luminal en tanto que en la cola estas células son bajas y el diámetro es mayor (FIG 1,2). Mediante extensos estudios comienza a tenerse una noción más clara de la función de cada célula en el epidídimo. Se sabe que las células principales tienen un papel activo en la secreción de iones, solutos orgánicos y proteínas, también participan en los fenómenos de endocitosis y se han descrito numerosos receptores y transportadores en su extremo apical y su membrana plasmática. Las células claras y las células angostas juegan un papel importante en la acidificación del fluido luminal y también contienen maquinaria para la endocitosis. La mantención de un pH ácido en el fluido luminal es importante para la maduración espermática. Las células basales producen proteínas antioxidantes y se supone que juegan un papel en la protección contra el estrés oxidativo y otros factores de agresión. Las células halo son una mezcla de linfocitos T, monocitos y linfocitos T citotóxicos y se supone que desempeña un papel en la protección inmunológica. La función de las células apicales no es clara aún pero se sabe que participan en la endocitosis de material luminal. Rodeando el túbulo, se encuentran células miodes/musculares cuyo número aumenta en la región de la cola y conducto deferente. Las contracciones musculares ayudan a mover el fluido a los largo del conducto.

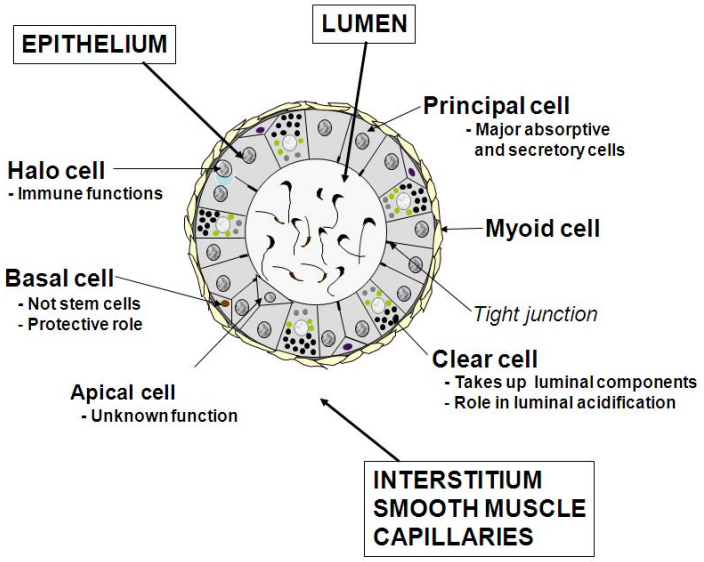


FIG 2. Representación esquemática de las principales células del epidídimo según se observan al microscopio óptico. Se ilustran los tres compartimientos del epidídimo: luminal, epitelial e intersticial y la posición y distribución de los principales tipos celulares y las principales funciones asociadas a cada célula (Adaptado de Robaire B., Hinton BT and Orgebin-Crist MC. The Epididymis, in Neil, JD, ed., Physiology of Reproduction, third edition, New York, Elsevier, 2006: 1071-1148)

Términos en inglés: Epithelium (epitelio); Lumen (Lumen); Principal cell: major absorptive and secretory cells (Célula principal: principalmente absortivas y secretorias); Myioid cell (célula mioide); Tight junction (unión estrecha); Clear cell: takes up luminal component, role in luminal acidification (Célula clara: captura componentes celulares y tiene un rol en la acidificación luminal); Apical cell: unknown function (Célula apical: función desconocida); Basal cell: not stem cells; protective role (Célula basal: no es célula madre; rol protector): Halo cell: immune function (Célula halo: función en la inmunidad).

La barrera hemato-epididimaria

Sabiendo de la existencia de una barrera hemato-testicular, no es extraño que también exista una barrera similar en el epidídimo. Estas barreras fisiológicas cumplen varias funciones, entre las cuales están el permitir la formación de un medio intraluminal altamente especializado, la protección contra patógenos de la sangre y otros agresores y una situación inmunológica privilegiada. El concepto clásico era que las barreras fisiológicas estaban formadas por las uniones estrechas entre células adyacentes. Hoy se sabe que la barrera incluye una compleja interacción entre las permeabilidades de las membranas apicales y baso-laterales, por ejemplo la presencia de canales y transportadores, la permeabilidad de las mismas uniones estrechas, por ejemplo la ruta paracelular, y cualquier mecanismo inmunoprotector existente en el lumen y el espacio intersticial. La barrera hemato-epididimaria es altamente dinámica y sus propiedades cambian desde el segmento inicial hasta el conducto deferente. Desde el punto de vista clínico, la barrera hemato-epididmaria es una valla formidable para el desarrollo de agentes anticonceptivos masculinos. Sin embargo es teóricamente posible diseñar nuevos gentes anticonceptivos de bajo peso molecular que sean tomados y llevado al lumen por transportadores específicos de las membranas baso-lateral y apical.

Modelos animales que exhiban infertilidad de origen epididimario

Otro de los desafíos que enfrentan los investigadores es entender el papel que juegan los iones, solutos y proteínas en la maduración espermática. Una de las estrategias para estudiar esto es producir ratones mutantes con una serie de genes nulificados hasta que se produzca esterilidad de origen epididimario. La más conocida de las mutaciones nulas es *Ros 1* (c-Ros), un receptor huérfano de tirosina quinasa. Los espermatozoides de estos animales, cuando son expuestos al medio uterino hipo-osmótico, sufren una angulación del flagelo que interfiere con la motilidad necesaria para llegar al ovocito y fecundarlo. Fue interesante observar una hipotrofia del segmento inicial en estos animales, sugiriendo una función relevante de esta región en el desarrollo de la fertilidad. Hay otros modelos en ratón que exhiben defectos similares: angulación del flagelo y falta de desarrollo del segmento inicial, como por ejemplo: *GPX5Tag2*, *XXSry*, "viable apolillado" nulo (SHP-1 tirosina fosfatasa), deleción del receptor 2 de apolipoproteina E, deleción de esfingomielinasa ácida, deleción de *Herc4*, deleción de *Foxi1*. *Foxi1* es de particular interés por tratarse de un factor de transcripción que regula la función de la bomba de protones H^+-ATPasa de las vacuolas, la anhidrasa carbónica II y el transportador de cloruro/bicarbonato que se localiza en las células angostas y las células claras. Estos modelos presentan evidencia de la importancia del fluido intraluminal para la maduración de los espermatozoides ya que la alteración de su pH produce infertilidad.

En resumen, el epidídimo promueve la maduración de los espermatozoides, facilita su transporte a lo largo del conducto, almacena los espermatozoides y los protege de factores agresivos. Todas estas funciones están finamente coordinadas para producir espermatozoides fértiles.

Lecturas sugeridas:

Cooper TG, Yeung CH, Wagenfeld A, Nieschlag E., Poutanen M, Huhtaniemi I., Sipila P. Mouse models of infertility due to swollen spermatozoa. Mol.Cell.Endocrinol 2004,216:55-63.

Jocelyn HD, Setchell BP. Regnier de Graaf in the human reproductive organs. J Reprod Fertil 1972, supp 17: 1-222.

Robaire B, Hinton BT, Orgebin-Crist MC. The Epididymis in Neil, JD, ed., Physiology of Reproduction, third edition, New York, Elsevier, 2006: 1071-1148).

Robaire B, Hinton BT The Epididymis: From molecules to clinical practice. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2002.

Turner TT. De Graaf´s thread: the human epididymis. J. Androl 2008, 29: 237-50.

¿Qué es la próstata y cuáles son sus funciones?

G. S. Prins

Glándulas sexuales accesorias del varón

La glándula prostática es una de las glándulas sexuales accesorias del varón. Para apreciar su función primero se debe comprender el rol de estas glándulas sexuales accesorias y la producción de semen. Las glándulas sexuales accesorias son la próstata, el par de vesículas seminales localizadas en la base de la vejiga, y las glándulas bulbo-uretrales de Cowper, directamente conectadas a la uretra. El semen está compuesto por espermatozoides, producidos por el testículo y madurados en el epidídimo, combinados con fluidos seminales de las glándulas sexuales accesorias. Las funciones del líquido seminal son: 1) servir como medio de nutrición y transporte, de pH controlado, para los espermatozoides depositados en la vagina, y 2) retener a los espermatozoides en la vagina durante un período de tiempo suficiente como para permitir la activación espermática, necesaria para la fertilización y para alcanzar el tracto genital superior femenino.

Los componentes del plasma seminal no son necesarios para que el espermatozoide maduro fertilice al ovocito. Esto se pone de manifiesto con las fertilizaciones *in vitro* exitosas usando espermatozoides recolectados desde el epidídimo o desde los testículos y que por consiguiente nunca estuvieron expuestos al fluido seminal. Sin embargo el plasma seminal aumenta la capacidad fertilizante del espermatozoide *in vivo*. El pH ligeramente alcalino (7,2-7,8) neutraliza la acidez vaginal; la fructosa del líquido seminal provee de energía a los espermatozoides; las prostaglandinas estimulan las contracciones del músculo liso del tracto genital femenino, lo que colabora con el transporte espermático; proteínas específicas cubren al espermatozoide y previenen la activación prematura de factores necesarios para la penetración del ovocito; El zinc y la IgA son bacteriostáticos; las proteínas antiaglutinantes previenen la agrupación de los espermatozoides.

Durante su emisión y eyaculación, los espermatozoides se mueven desde su lugar de almacenaje en el epidídimo a través del conducto deferente, impulsados por contracciones peristálticas de la musculatura del mismo. Esto se coordina con contracciones de las glándulas accesorias, y el contenido de todos ellos combinado -el semen- es expelido a través de la uretra. Sin embargo las glándulas accesorias no se contraen simultáneamente, sino que lo hacen de acuerdo a una secuencia específica. Con el estímulo sexual adecuado, las glándulas de Cowper segregan una pequeña cantidad que lubrica la uretra. Al comienzo de la eyaculación se emite una fracción del eyaculado rica en espermatozoides provenientes de los deferentes, junto con las secreciones prostáticas. Esta fracción tiene un volumen aproximado de 0,5 ml, o sea el 25% del total del eyaculado, siendo el grueso de este secreción prostática. La última fracción del eyaculado viene de las vesículas seminales. Su volumen varía entre 1 y 2,5 ml, o sea el 75% del volumen seminal total. Los espermatozoides y el fluido epididimario representan menos del 10% del volumen del eyaculado.

Al poco tiempo de ser eyaculado, el semen forma un coágulo gelatinoso que restringe el movimiento de los espermatozoides. Esta coagulación se produce por factores pro-coagulantes y enzimas producidas por las vesículas

seminales, similares al sistema de trombinas que participan de la cascada de la coagulación de la sangre. Luego de 15-30 minutos el semen coagulado comienza a licuarse como resultado de la digestión proteolítica por enzimas producidas por la próstata. Estas proteínas prostáticas son la seminina, enzima de estructura similar a la quimiotripsina, la uroquinasa y otros activadores del plasminógeno específicos. El proceso de liquefacción libera lentamente los espermatozoides, para que lleguen al cuello uterino y así alcancen al ovocito. Por lo tanto, este proceso de coagulación y liquefacción permite la exposición apropiada de las células espermáticas a los factores seminales que promueven la motilidad y estimulan la capacidad fertilizante, y permite una entrada ordenada de las células espermáticas al tracto genital superior de la mujer.

Anatomía de la glándula prostática

La próstata es una glándula pequeña, del tamaño de una nuez, situada en la base de la vejiga rodeando la uretra (figura 1). En su centro, la uretra se curva a 70º en un punto denominado verumontanum. Los conductos excretores de las vesículas seminales se unen al conducto deferente se unen en situación cranial a la próstata para formar los dos conductos eyaculatorios, que atraviesan la próstata y drenan en la uretra a nivel de verumontanum. Por debajo de este sitio, 15 a 30 conductos excretores de la próstata llegan a la uretra donde depositan las secreciones prostáticas durante la eyaculación. A esta porción de la uretra se la denomina uretra prostática. Aunque la próstata no es lobulada, se distinguen regiones o zonas de acuerdo al sitio anatómico, a las características histológicas y a la predisposición a enfermedades. La zona central se extiende entre los conductos eyaculatorios, desde la base de la vejiga hasta el verumontanum, y representa aproximadamente el 20% del volumen glandular. La zona periférica rodea a la zona central y se extiende hacia abajo hasta el vértice prostático, representando el 70% del volumen prostático. Los conductillos prostáticos que drenan en la uretra prostática están en esta zona periférica. La zona de transición (10% de su volumen) se encuentra adyacente a la uretra proximal por encima del verumontanum y en este punto se encuentra con las zonas central y periférica. La zona periuretral está compuesta por pequeños conductos ramificados en la pared de la uretra proximal, adyacentes al esfínter preprostático, cerca de la vejiga. Es importante mencionar que la hiperplasia prostática benigna (HPB) se desarrolla en las zonas periuretral y de transición, alrededor de la uretra proximal, mientras que la mayoría de los cánceres prostáticos aparecen en la zona periférica.

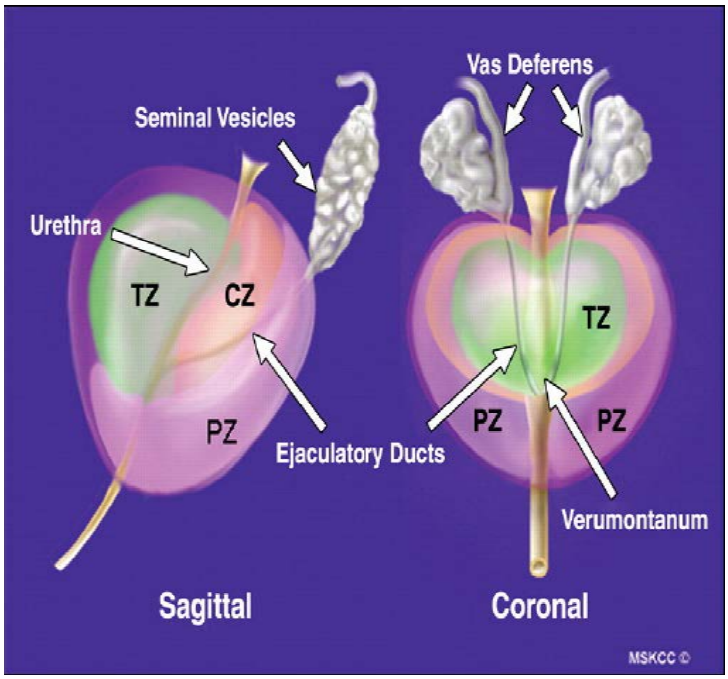


FIG 1: Representación esquemática de la glándula prostática. TZ: ZT zona de transición, PZ: ZP zona periférica, CZ: ZC zona central, Sagittal: sagital, Coronal: coronal, Seminal vesicles: vesículas seminales, Vas deferens: conductos deferentes, Urethra: uretra, Ejaculatory ducts: conductos eyaculadores, Verumontanum: verumontanum. Figura tomada de Currin S. y col, Am J Roentgenol, 2007; 188:13737, con permiso del autor.

Enfermedad prostática

La glándula prostática es bien conocida por ser propensa a desarrollar enfermedades que interfieren con la calidad de vida y que en algunos casos son fatales. Es en la única glándula sexual accesoria masculina que esto sucede, y puede estar relacionado con su origen embriológico del seno endodérmico urogenital, en contraste con las otras glándulas sexuales accesorias derivadas de los conductos mesodérmicos de Wolff. Las tres enfermedades prostáticas principales son, en orden de frecuencia, la prostatitis, la HPB y el cáncer. Son enfermedades del adulto mayor, siendo más frecuentes después de los 50 años. Aunque a continuación se presenta un resumen de las últimas dos condiciones, cada una será discutida en detalle en capítulos por separado. La prostatitis, es decir la inflamación de la próstata, puede ser tanto aguda como crónica y afecta aproximadamente al 50% de los hombres en el transcurso de su vida. Es interesante señalar que menos del 10% de los casos se deben a infecciones bacterianas, ya que la etiología de la mayoría de las prostatitis es desconocida. El síntoma primario de esta afección es el dolor pelviano, y los tratamientos pueden incluir antibióticos, α-bloqueantes, antiinflamatorios, relajantes musculares, terapia de calor o masaje prostático repetido.

La hiperplasia prostática benigna o HPB es un agrandamiento no canceroso de la próstata, debida a su crecimiento continuado durante el envejecimiento del hombre. La HPB ocurre en el 40-50% de los hombres mayores de 50 años de edad, y alcanza el 80% después de los 80 años. Como la próstata rodea la uretra, la HPB disminuye el flujo urinario porque aumenta la resistencia en la uretra, y puede conducir a distintos síntomas del tracto urinario inferior, como incremento de frecuencia miccional o retención aguda de orina.

El tratamiento es necesario en aproximadamente el 25% de los pacientes, pudiendo ser de manejo médico con α-bloqueantes o inhibidores de la enzima 5 α-reductasa, con stents uretrales o con cirugía.

El cáncer de próstata es, luego del cáncer de piel, el tumor maligno más frecuente en varones estadounidenses, y la segunda causa de muerte oncológica en Estados Unidos. Los factores de riesgo incluyen edad, historia familiar y raza, ya que los afro-amerianos tienen el doble de incidencia en comparación con los caucásicos, y los asiáticos tienen la incidencia más baja del mundo. El cáncer de próstata tiene una incidencia de 1 en 45 entre los 40 y 60 años, y 1 en 7 entre los 60 y los 80 años. Mientras que el 50% de los cánceres permanecen latentes, es decir que no progresan más allá de los límites de la próstata, el resto progresan en grados variables que pueden dar metástasis a distancia o causar la muerte. Actualmente no es posible distinguir estos tipos de cáncer en los estadíos tempranos, lo cual hace difícil la elección del tratamiento. El diagnóstico temprano del cáncer de próstata se ha facilitado debido al monitoreo en sangre de los niveles de Antígeno Prostático Específico (PSA), con lo cual se pueden detectar el 70-80% de los tumores. Los tratamientos incluyen observación activa, cirugía y radioterapia para los estadíos tempranos, (limitados a la próstata), y quimioterapia y bloqueo androgénico completo para los estadíos más avanzados. Tal como la próstata normal, el cáncer tiene inicialmente un crecimiento dependiente de los andrógenos. Desafortunadamente, cuando la enfermedad progresa se hace hormona-independiente, estadío en el cual ya no se puede ofrecer ningún tratamiento curativo. La incontinencia y la disfunción eréctil pueden ser efectos adversos de la cirugía y de la terapia radiante. Los efectos adversos del bloqueo hormonal son infertilidad y deterioro óseo y muscular. Se encuentran en desarrollo tratamientos basados en nuevas drogas y vacunas.

Lecturas sugeridas:

Prins GS. Semen. In: Encyclopedia of Reproduction. Ed: E. Knobil and JD Neill, Academic Press; 1998; 360-67.

Prostate Diseases. Eds: H Lepor and RL Lawson. WB Saunders Co, 1993.

Small E, Taplin ME, Prins GS. The androgen receptor and the physiology and endocrinology of the prostate gland. In: Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology, Second edition. Ed: NJ Vogelzang, P Scardino, WU Shipley, DS Coffey, Williams & Wilkins; 2000; 600-20.

¿Cómo contribuye el análisis del semen al conocimiento del estado reproductivo del hombre?

C. Wang

Como está compuesto el semen?

El semen está compuesto por espermatozoides y secreciones del testículo (Capítulo 6) y del epidídimo (Capítulo 10) las que, durante la eyaculación, son diluidas con secreciones de la glándula prostática (Capítulo 11) y de las vesículas seminales. La estructura del espermatozoide humano se muestra en la FIG 1. El espermatozoide está formado por la cabeza, que posee el núcleo (cromatina que contiene al material genético), cubierto por el acrosoma, la pieza media con las mitocondrias, y la cola (flagelo o pieza principal) con microtúbulos que formando el axonema recubierto por la vaina fibrosa, la cual es esencial para el movimiento progresivo de los espermatozoides. La forma y tamaño del espermatozoide difieren en distintas especies, como se muestra en la FIG 2.

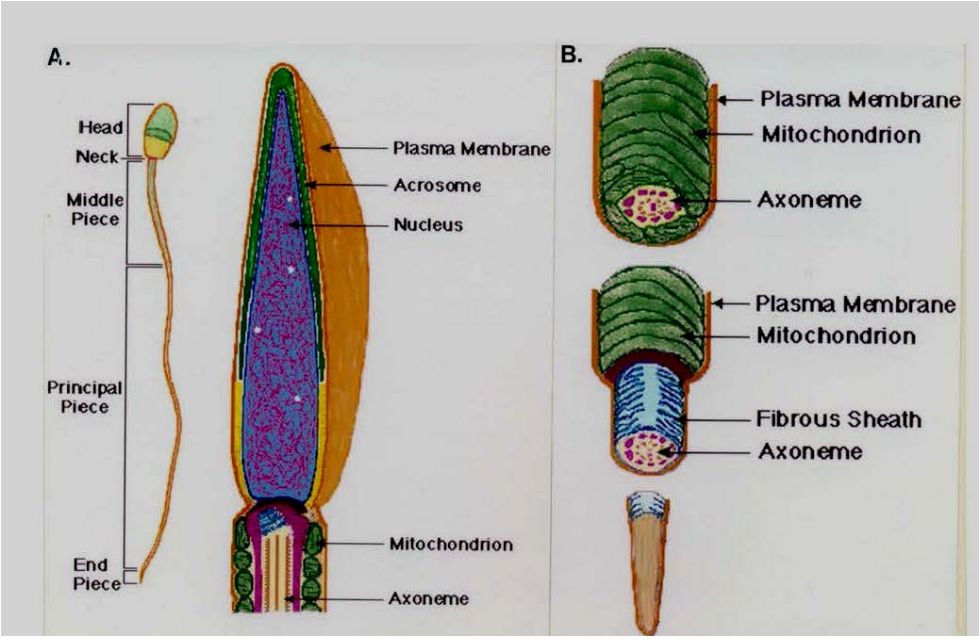


FIG 1. A. Principales elementos de un espermatozoide humano que son comunes en todas las especies de mamíferos. B. Pieza media (arriba), pieza principal (en el medio), y pieza terminal (abajo) de un espermatozoide visto transversalmente.
Términos en inglés: A. Head (Cabeza), Neck (Cuello), Middle Piece (Pieza Media), Principal Piece (Pieza Principal), End Piece (Pieza Final). Plasma membrane (Membrana Plasmática), Acrosome (acrosoma), Nucleus (Núcleo), Mitochondrion (Mitocondria), Axoneme (Axonema). B. Fibrous Sheat (Vaina Fibrosa).

El líquido seminal está compuesto por una mezcla de secreciones del testículo, epidídimo, próstata y vesículas seminales y la contribución de cada una de estas glándulas varía según la especie y depende del intervalo de abstinencia y el método empleado para obtener las muestras de semen. En el hombre, hay algunas publicaciones que señalan que las muestras de semen recolectadas por masturbación pueden ser de una calidad inferior que aquellas obtenidas durante relaciones sexuales. Debido a que el volumen del líquido

seminal puede ser bastante variable, se ha sugerido que el número total de espermatozoides en el eyaculado puede ser un parámetro más importante que la concentración espermática en el eyaculado.

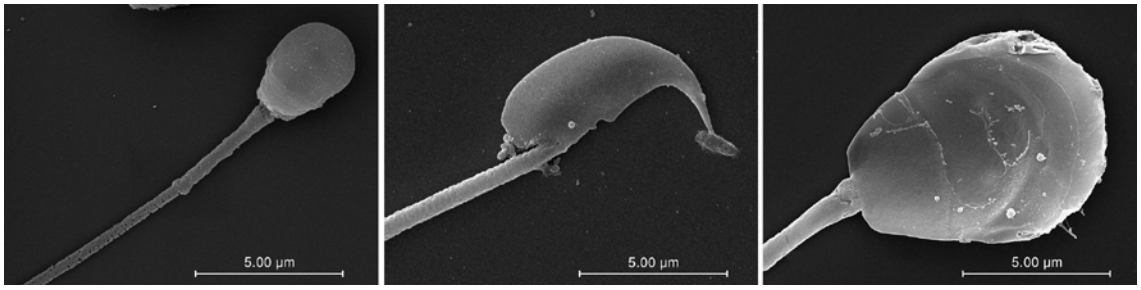


FIG 2. Microscopía electrónica de barrido de espermatozoides humano (izquierda), ratón (medio) y cobayo (derecha). Cortesía de G. Hunnicutt, The Population Council).

Como se analiza el semen?

La Organización Mundial de la Salud (OMS 2009) ha desarrollado un manual para proveer una guía respecto de los lineamientos aceptables para el análisis del semen humano. Esta sección hará foco en estas normas. La mayoría de las técnicas pueden ser aplicadas a otras especies. En los roedores, el semen eyaculado forma un coágulo y no licua, por lo que el recuento espermático es hecho examinando los espermatozoides en la región del *cauda* (zona de la cola) del epidídimo. En los conejos, el semen puede ser colectado por medio de una vagina artificial. En otras especies como bovinos, caballos, y la mayoría de los animales de zoológicos, el semen es recolectado por electro-eyaculación. En los monos, la estimulación usando un sujetador peneano resulta ser más eficiente que la electro-eyaculación. Para su análisis, el semen humano es obtenido por masturbación. No se recomienda la recolección usando preservativo durante las relaciones sexuales por la presencia en algunos preservativos de espermicidas o de agentes que interferentes y por la pérdida de parte del eyaculado durante el coito. La duración de la abstinencia se tiene en cuenta dado que períodos cortos de abstinencia se asocian con una disminución del volumen seminal y del número de espermatozoides. A la muestra de semen se la deja licuar (por proteasas presentes en el fluido seminal) y usualmente se determina:

- volumen, viscosidad, apariencia y pH del fluido seminal
- agregación espermática y presencia de otras células (microscopía óptica)
- movilidad espermática usando microscopía óptica
- concentración de esperma usando un hemocitómetro (cámara de conteo) bajo el microscopio
- vitalidad espermático luego de coloración
- morfología espermática luego de la preparación de frotis sobre portaobjeto
- otros tests especiales según se indiquen.

Dado que hay fluctuaciones entre diferentes día en los parámetros seminales del eyaculado humano, usualmente se requieren al menos dos

muestras para diagnosticar que la calidad del semen está por debajo del rango de referencia en hombres adultos. Un estudio reciente realizado sobre más de 4500 muestras en hombres que viven en cuatro continentes, da el rango de referencia para hombres adultos. Los límites inferiores de referencia (5th percentile) para parámetros en hombres adultos "fértiles" establecidos son los siguientes:

- volumen de semen 1,5 mL.
- número total de espermatozoides por eyaculado 39 millones.
- concentración espermática: 15 millones/mL.
- movilidad progresiva espermática 32%, movilidad total espermática: 40%
- vitalidad espermática 58% vivos.
- espermatozoides con morfología normal (usando criterios estrictos que excluyen a cualquier espermatozoide que posea aunque sea una leve anormalidad) 3%.

Otros ensayos para evaluar la función espermática incluyen la capacidad del espermatozoide de interactuar y penetrar el moco cervical humano, y ensayos para anticuerpos espermáticos cuando se observan espermatozoides agrupados. Una coloración especial puede revelar glóbulos blancos en muestras de semen, lo que sugiere la posibilidad de infección. La bioquímica seminal se indica solamente cuando se sospechan problemas en órganos accesorios; por ejemplo, la fructosa seminal es baja en hombres con ausencia congénita de conductos deferentes y vesículas seminales. La evaluación de la función espermática puede incluir pruebas para la cromatina espermática (daño espermático, Capítulo 13), la capacidad del espermatozoide para hincharse bajo condiciones hiposmóticas (test de la integridad de la membrana espermática), la capacidad de la cabeza del espermatozoide para perder el acrosoma bajo estimulación (reacción acrosomal, pre-requisito para la fecundación), determinar si los espermatozoides pueden unirse a la *zona pellucida* (ZP) humana (evaluando la capacidad de los espermatozoides para unirse a la zona), y penetrar al ovocito de hámster libre de ZP (la capacidad de penetrar la membrana y fecundar al ovocito). La evaluación asistida por computadora de las características de la movilidad espermática no ha demostrado ser útil para el diagnóstico clínico, pero es frecuentemente usada en investigación y en estudios epidemiológicos.

Cómo ayuda el análisis de semen en la evaluación de los desórdenes reproductivos masculinos?

El análisis de semen es usualmente la piedra angular de la evaluación de la capacidad reproductiva en animales machos. El semen de los roedores no licua y no puede ser utilizado para análisis. Para los criadores de animales, el análisis seminal provee una guía para determinar qué animal serviría como reproductor para múltiples generaciones de animales. Los análisis en semen son utilizados por toxicólogos de la reproducción para estudiar el efecto de la exposición al medio ambiente y a tóxicos sobre la función reproductiva masculina. El objetivo del desarrollo de un anticonceptivo masculino es suprimir el número y movilidad de los espermatozoides en el eyaculado, llevándolo a niveles muy bajos. Sin embargo, en la medicina clínica, el análisis del semen se usa principalmente para el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad

masculina. El diagnóstico de la infertilidad masculina depende, en gran parte, del análisis de las muestras de semen. La mayoría de los hombres a los que se les diagnosticó infertilidad, tienen defectos en la espermatogénesis que resultan en una baja concentración espermática (oligozoospermia), la cual es generalmente asociada a una pobre movilidad espermática (astenozoospermia) y a aumento de la morfología espermática anormal (teratozoospermia). De esta manera, cuando los análisis en semen muestran valores inaceptablemente bajos, se diagnostica infertilidad masculina. La concentración y la calidad de los parámetros espermáticos guían al clínico para poder determinar el tratamiento apropiado y para la estimación del pronóstico médico.

Cuán útil es el análisis del semen para predecir el potencial de fertilidad del hombre?. Esto fue examinado en un estudio de prospectivo que relaciona la calidad del semen con la probabilidad de concepción en 430 parejas con el tiempo transcurrido hasta el logro del primer embarazo. Este estudio mostró que el aumento de la concentración espermática por a 40 millones/mL se asociaba con un incremento de la probabilidad de concepción. La proporción de espermatozoides con morfología normal se relacionaba fuertemente con la posibilidad de embarazo. En otro estudio, realizado en 942 parejas, el tiempo hasta lograr el embarazo, aumentó con concentraciones espermáticas mayores a 55 millones/mL y un porcentaje de espermatozoides con morfología normal de 19%. De este modo, desde estos vastos estudios clínicos retrospectivos, la concentración espermática, el total del recuento espermático y la proporción de espermatozoides con morfología normal, hasta ciertos umbrales, son predictores importantes de la fertilidad masculina. Aumentar estos parámetros más allá de estos umbrales no parece incrementar las probabilidades de embarazo. No se han estudiado clínicamente a gran escala cuan útiles son las pruebas adicionales de funcionalidad para pronosticar la fertilidad.

Lecturas sugeridas:

Bonde JP, Ernst E, Jensen TK, Hjollund NH, Kolstad H, Henriksen TB, Scheike T, Giwercman A, Olsen J, Skakkebaek NE Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first pregnancy planners. Lancet. 1998; 352: 1172-77.

Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, Auger J, Baker HWG, Behre HM, Haugen TB, Kruger T, Wang C, Mbizvo M, Vogelsong KM. World Health Organization reference distribution of human semen charecteristics. Hum.Reprod in press

Slama R, Eustache F, Ducot B, Jensen TK, Jorgensen N, Horte A, Irvine S., Suominen J, Andersen AG, Auger J, Vierula M, Toppari J, Andersen AN, Keiding N, Skakkebaek NE, Spira A, Jouannet P. Time to pregnancy and semen parameters: a cross-sectional study among fertile couples from four European cities. Hum.Reprod. 2002; 17: 503-15.

World Health Organization. Laboratory Manual for the Examination of Human Semen 2009; Fifth Edition: World Health Organization, Geneva.

¿Cómo se determina la calidad de la estructura de la cromatina espermática? ¿Qué utilidad tiene su estudio?
Sistemas de estudio de la cromatina del espermatozoide

B. Robaire

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado los parámetros de normalidad en la valoración seminal, que se han ido actualizando en las últimas décadas, siendo la más reciente la publicada en el 2010. Como se expone en el Capitulo 12, estos parámetros se establecen en base a estudios poblacionales. Los valores límites de dichos parámetros, tanto en número de espermatozoides, como en la concentración de formas móviles, guardan una estrecha correlación con la fertilidad del varón. Sin embargo, se observan numerosos pacientes que logran la paternidad con parámetros seminales inferiores a los límites establecidos por la OMS, mientras muchos que presentan valores que cumplen con los estándares de la OMS no son fértiles. Un gran número de esterilidades inexplicadas, es decir idiopáticas, podrían deberse a causas diferentes a las estudiadas de rutina usando los métodos descriptos en el manual de la OMS.

Los parámetros seminales que se evalúan en el análisis de rutina no están diseñados para valorar otra “calidad” del espermatozoide, más allá de evaluar su capacidad de nadar y su apariencia normal. Pero para lograr una fertilidad exitosa se precisa no solo que el espermatozoide alcance al ovocito, sino también es necesario que se transmita su núcleo (carga cromatínica), que no esté dañado y pueda lograr el desarrollo de una progenie normal y sana. Hay muchos estudios de experimentación en animales en los que los espermatozoides, con alteraciones consecuentes a la exposición a productos químicos, fármacos o radiaciones pero que tienen una apariencia normal, pueden fecundar a los ovocitos, transmitiendo dichas alteraciones en su cromatina. Por ello, en las últimas dos décadas determinar la calidad de la cromatina espermática se ha convertido en un estudio de gran interés.

Hay numerosos aspectos de los componentes del núcleo espermático que pueden ser evaluados. Estos incluyen no solo la integridad del ADN (roturas de las cadenas simples o dobles, cambios de localización, “cross links” o cruzamientos), sino también la forma en que se pueden modificar (metilación del ADN; cómo es empaquetado y asociado a la matriz nuclear). Además del ADN, el núcleo espermático contiene pequeños ARNs no codificantes (pi y micro ARNs) y proteínas (protaminas, algunas histonas y proteínas de la matriz nuclear).

Hace más de cuarenta años que se empezaron a desarrollar técnicas, tales como la extracción alcalina, a fin de determinar algunos aspectos de la calidad cromatínica, tales como roturas del ADN y la formación de enlaces entre moléculas. Algunas de estas pruebas, como la de la decondensación nuclear (tanto *in vitro* como *in vivo*) o el ensayo funcional del molde de ADN (del inglés DNA template function assay), en la actualidad están cayendo en desuso, como consecuencia del desarrollo de nuevos métodos más rápidos y eficaces. Durante los últimos veinte años algunos de estos nuevos métodos se han desarrollado, entre ellos microscopía óptica de fluorescencia y microscopia confocal, citometría de flujo, PCR en tiempo real y técnicas de relevamiento global alto rendimiento. Hay varias maneras de agrupar estos procedimientos.

A continuación describiremos las técnicas más frecuentemente usadas o en vías de de investigación.

Sistemas usados para evaluar la integridad genómica

● Método de “COMET”. Test basado en la electroforesis que evalúa las roturas del ADN de una sola célula. Los pequeños fragmentos de ADN rotos se distancian del núcleo de la célula, generando una imagen que recuerda a la cola de un cometa. El porcentaje de ADN de la cola del cometa y la longitud del mismo se miden usando un programa de análisis de imágenes específico. Según se realice usando un pH básico o neutro el método, “Comet” detectará roturas de cadena simple o doble, respectivamente. Es un método muy sensible pero laborioso y variable según el laboratorio.

● Método TUNEL. La cantidad de terminales del 3´-(OH) del ADN pueden ser determinadas incorporando UTP fluorescente con la enzima deoxitransferasa terminal (TUNEL) en los extremos 3´-OH libres. La fluorescencia se incrementa proporcionalmente en relación al número de roturas en las cadenas del ADN. Este ensayo se puede ejecutar ya sea sobre un portaobjetos o mediante citometría de flujo.

● Método de lesión específica y reparación del ADN. Mediante el empleo de PCR cuantitativa se valora la presencia de “aductos” de ADN globales, así como la presencia de roturas de cadena simple/doble del ADN. Este procedimiento se basa en el principio de que el incremento en la formación de “aductos” o de las roturas de ADN previenen que la polimerasa complete la copia de las cadenas complementarias y, por lo tanto, disminuye los productos de PCR amplificados. Una de las ventajas de este método es que requiere muy pequeñas cantidades de ADN (nanogramos), pero tiene el inconveniente del extenso tiempo de realización y de su dificultad para realizarlo con precisión.

● Método de hibridación fluorescente *in situ* (FISH, del inglés Fluorescense *In Situ* Hybridization). Mediante el uso de sondas individuales específicas para cada cromosoma, la frecuencia de aneuploidias cromosómicas espermáticas (duplicación o deleción total o parcial de un cromosoma) pueden ser evaluadas en espermatozoides luego una adecuada descondensación. Hay disponibles numerosas sondas para el estudio de cromosomas espermáticos humanos, pero por el momento y hasta que no se automatice, este sistema sigue siendo fundamentalmente una herramienta de investigación, ya que para obtener un resultado preciso se requiere evaluar manualmente varios miles de espermatozoides.

Sistemas empleados para evaluar la conformación de la cromatina espermática y sus proteínas

● Método de naranja de acridina o SCSA®. Es un método comúnmente usado, basado en la citometría de flujo y en el que la susceptibilidad la cromatina espermática a la desnaturalización por acción del ácido y detergente se determina mediante el uso de naranja de acridina; este colorante se une a la cadena doble o simple de ADN, originando así una fluorescencia verde o roja, respectivamente. Tras la desnaturalización, se procede a la medición de las longitudes de ondas fluorescentes, evaluando así el porcentaje de fragmentación del ADN (índice de fragmentación del ADN: DFI, del inglés DNA Fragmentation Index). Este procedimiento puede funcionar como un “método en portaobjetos”, donde se realiza la lectura del color en el portaobjetos de un

microscopio, o como un ensayo de FACS, donde se pueden analizar con rapidez un gran número de espermatozoides.

● Método Fluorométrico CMA3. Este sistema ha sido desarrollado para determinar indirectamente la cantidad de protaminas presentes. El colorante CMA3 se une al ADN, en los lugares donde normalmente se unen las protaminas. Este método fue inicialmente desarrollado como un ensayo para portaobjetos, pero actualmente está disponible como un método FACS.

● Monobromobimano (mBBr) Método para el Marcaje de los Grupos Tiol. El objetivo de esta técnica es determinar la cantidad de grupos de sulfidrilos libres en los espermatozoides. Cuanto más inmaduros son los espermatozoides, mayor concentración de sulfidrilos libres tienen, mientras ésta es baja en los espermatozoides más maduros. El marcado de tiol se utiliza para cuantificar el total de tiol, el tiol libre y los niveles de disulfido en el núcleo del espermatozoide. Como los dos métodos anteriores, éste también puede emplearse como un sistema porta o un ensayo FACS.

● Test de la Dispersión de la Cromatina Espermática (SCD, del inglés Sperm Chromatin Dispersion). En esta técnica, la extensión del halo del espermatozoide, representativo de la descondensación del núcleo se logra embebiendo las células en agarosa y lisándolas por tratamiento con ácido. A mayor halo, mayor es la extensión de las roturas del ADN. A pesar de que los resultados obtenidos mediante esta técnica han sido correlacionados con roturas de doble cadena, no representan una medida directa de las roturas de ADN sino un reflejo global de la estructura de la cromatina.

● Análisis Proteómico. La estructura específica de la cromatina del espermatozoide es esencial para una correcta fertilidad y se logra, en parte, gracias a las proteínas unidas al ADN, incluyendo las protaminas, histonas y componentes de la matriz nuclear. Con los recientes avances en tecnología proteómica, usando geles de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS, del inglés sodium dodecyl sulfate) de una o dos dimensiones acoplados al análisis por espectometría de masas, se han identificado diversos componentes espermáticos. Con ello se aumenta el conocimiento de la composición estructural de la cromatina espermática, pero también abre la posibilidad de considerar nuevos criterios en la valoración de la calidad del espermatozoide.

Métodos usados para valorar el estado epigenético del espermatozoide

● Metilación del ADN. La metilación de los residuos de la citosina del ADN es uno de los principales marcadores epigenéticos durante la espermatogénesis. Los sistemas para determinar los cambios en la metilación en lugares determinados son bien conocidos, pero se están desarrollando diversos métodos que permitirán determinar con toda exactitud los cambios en la metilación del ADN de todo el genoma espermático.

● Modificaciones de las Histonas. Muchas histonas son eliminadas durante la espermatogénesis pero una significante proporción de hasta un 15% en el hombre, se mantiene en el espermatozoide maduro. El papel de estas histonas es aún discutido, pero estudios recientes indican que dichas histonas marcan genes activados tempranamente luego de la fecundación. Alteraciones en la cantidad o distribución de dichas histona o de sus numerosas marcas epigenéticas, por ejemplo, acetilación, metilación y sumoilación, pueden afectar las funciones del espermatozoide.

● ARN pequeños no codificantes. El tercer mayor pilar de la regulación epigenética es la expresión y función de los pequeños ARN no codificantes. No se conocen las funciones exactas de los distintos ARN (mARNs, piARNs, antisentido y miARNs), pero juegan un papel esencial en la espermatogénesis y potencialmente en el embrión post fecundación. Es posible que su relación con la calidad espermática se evidencie a medida que aumente el conocimiento de dichas moléculas.

No se ha logrado aún un consenso referente al valor de cada uno de los métodos para determinar la fertilidad de un individuo (Capítulos 12,19). Sin embargo, con el creciente poder, precisión y exactitud de los nuevos sistemas, basados en la estructura molecular del núcleo espermático, es posible que aparezcan nuevas herramientas clínicamente útiles para determinar con mayor precisión la calidad espermática.

Lecturas sugeridas:

Delbès G, Hales BF, Robaire B. Toxicants and human sperm chromatin integrity. Mol Hum Reprod. 2010; 16: 14-22.

Evenson DP, Wixon R. Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. Theriogenology. 2006; 65: 979-91.

Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, Purwar J, Carrell DT, Cairns BR. Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. Nature. 2009; 460: 473-8.

Makhlouf AA, Niederberger C. DNA integrity tests in clinical practice: it is not a simple matter of black and white (or red and green). J.Androl. 2006 27: 316-23.

O'Flaherty C, Vaisheva F, Hales BF, Chan P, Robaire B. Characterization of sperm chromatin quality in testicular cancer and Hodgkin's lymphoma patients prior to chemotherapy. Hum.Reprod. 2008; 23: 1044-52.

World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2010.

¿Qué es el almacenamiento de semen? ¿Cuándo y cómo es (o debería ser) utilizado en humanos? ¿animales?

Almacenamiento (Banco) de semen, consecuencias de su utilización en animales y práctica clínica

S. Rothman

Definición e historia

El almacenamiento o "Banco" de semen, más formalmente referido como criopreservación de semen, es un proceso destinado a la preservación de la función espermática a través del congelamiento y almacenado a temperatura ultra baja. Con el descongelamiento, los espermatozoides son introducidos en una receptora femenina adecuada a través de inseminación dentro del canal cervical o la cavidad intrauterina, o son utilizados para inseminar ovocitos en procedimientos de fecundación *in vitro*. El congelamiento de semen se originó a fines del siglo 18, pero el desarrollo de muchas aplicaciones del método comenzó después de 1950 a partir de los descubrimientos de que el glicerol puede actuar como un crioprotector y los gases líquidos a temperatura ultra baja, especialmente nitrógeno líquido, para el congelamiento y almacenamiento. Los beneficios de la criopreservación de semen incluyen:

- almacenamiento prácticamente indefinido (al menos por múltiples décadas), permitiendo la preservación del potencial de fertilidad que se perdería debido al inicio de enfermedad, infertilidad, eventos gonadotóxicos o muerte.

- capacidad de "colocar en cuarentena" el semen mientras el donante humano o animal puede ser testeado para infecciones que se trasmiten vía seminal o anomalías genéticas.

- adquisición anticipada de espermatozoides para uso posterior.

- envío a zonas alejadas del donante.

El proceso de la criopreservación de semen

A pesar de los usos importantes del semen criopreservado, poco se conoce acerca de los eventos físicos y bioquímicos que ocurren durante el congelamiento espermático, su almacenamiento y descongelamiento, o acerca de cómo detectar adecuadamente la presencia de daño criogénico. Los espermatozoides de la mayoría de las especies sobreviven pobremente a los protocolos actuales de criopreservación, y los mejores esfuerzos generalmente resultan en la recuperación de aproximadamente sólo la mitad de la motilidad espermática original. La función espermática también resulta comprometida, evidenciada por una sobrevida más corta luego del descongelamiento, una penetración en moco cervical pobre y una estabilidad de membrana reducida.

Los objetivos de los métodos de la criopreservación del semen son la prevención de la formación letal de cristales de hielo intracelulares, el control de las fluctuaciones

amplias del volumen celular y la reducción del daño de membrana que acompaña a los cambios de fase inducidos por la temperatura. Los compartimientos bioquímicos y físicos diversos de la célula espermática (acrosoma, núcleo, cadena mitocondrial-flagelar) complican el proceso, ya que pueden responder en forma bastante diferente al congelamiento y descongelamiento. Los espermatozoides también son sometidos a la exposición de los radicales de oxígeno perjudiciales durante su tránsito a través de amplios cambios de temperatura. Los intentos para maximizar la sobrevida post-descongelamiento ha llevado al desarrollo de diluyentes (medios seminales) de células espermáticas, crioprotectores, y varias tasas de cambios de temperatura para controlar las alteraciones en los solventes y solutos.

En un protocolo típico de congelamiento lento para criopreservación, el semen es mezclado con un diluyente buffer o un medio que contiene lípidos (por lo general yema de huevo), un crioprotector penetrante como el glicerol y un sustrato energético como la fructosa o la glucosa. Luego de la dilución, los espermatozoides inicialmente experimentan un encogimiento rápido a medida que el agua intracelular abandona la célula, y luego lentamente retornan a su volumen inicial a medida que el glicerol ingresa. El congelamiento rápido es iniciado a un ritmo de 20°C por minuto. La formación extracelular de cristales de hielo comienza y, a medida que el agua se congela, los solutos presentes en la fase líquida rodeando a los espermatozoides rápidamente se concentran. El glicerol disminuye el punto de congelamiento del agua intracelular, por lo que las células permanecen sin congelarse y son superenfriadas por debajo de su punto actual de congelamiento. En respuesta a una alta concentración extracelular de solutos y a la tendencia osmótica del agua intracelular superenfriada de abandonar las células, los espermatozoides experimentan un segundo ajuste de volumen a medida que el agua se moviliza hacia afuera, y las células se deshidratan. Cuando el agua extracelular se congela y, por lo tanto, se solidifica, una reacción exotérmica conocida como “calor de fusión” tiene lugar, y puede causar una seria disrupción de las células, a menos que se reduzca deliberadamente controlando el enfriamiento del medio ambiente. Una vez alcanzado la temperatura del nitrógeno líquido, −196°C, los espermatozoides son colocados en nitrógeno líquido o vapor de fase de almacenamiento, donde presumiblemente residen en un estado quiescente de mínimo movimiento molecular de manera indefinida.

Durante el descongelamiento, los espermatozoides son sometidos a cambios similares rápidos y dramáticos en el volumen celular y la permeabilidad de membrana. Cuando el hielo extracelular se derrite y se convierte en líquido, las concentraciones de solutos son diluídas rápidamente y el agua se precipita al interior de los espermatozoides. A medida que la temperatura sube, y mientras el glicerol abandona las células, el volumen celular espermático se expande. Para que la función espermática sea restaurada, el área de superficie y el volumen deben retornar a la normalidad, las proteínas de membrana y los lípidos deben redistribuirse para restablecer la estructura molecular, y las demandas de movilidad y bioenergética deben ser satisfechas.

Para que una recuperación funcional máxima ocurra, tanto los protocolos de congelamiento como de descongelamiento deben ser optimizados, lo que representa una tarea difícil dada la escasa información disponible sobre estos procedimientos. Las investigaciones recientes han enfocado en mecanismos de daño congelamiento-

descongelamiento y métodos alternativos de congelamiento como la vitrificación, congelamiento ultra rápido sin crioprotector.

Aplicaciones humanas clínicas del almacenamiento de semen

Las aplicaciones clínicas del almacenamiento de semen o banco de semen usualmente se dividen en criopreservación de semen de donante o criopreservación de semen de clientes (autólogo) para depósito. En cualquier caso, los espermatozoides son más comúnmente obtenidos por masturbación, pero pueden ser recuperados alternativamente por electroeyaculación o a través de procedimientos quirúrgicos como ser la aspiración epididimaria, aspiración testicular o extracción. En los Estados Unidos de Norteamérica, la Food and Drug Administration (FDA) regula el almacenamiento de semen humano bajo la Reglamentación de la Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue Based-Products (HCT/Ps). Bajo la autoridad de la Norma 1271, los bancos de semen deben registrarse con la FDA, cumplir con los lineamientos para la evaluación de donantes y respetar los estándares para el procesamiento, almacenamiento y distribución. La American Association of Tissue Banks (AATB) tiene estándares para el almacenamiento tanto de muestras de semen de donantes como de clientes depositantes y acredita a los bancos a través de inspecciones. Varios estados requieren licencia separada con inspección. Muchos otros países también poseen regulaciones relacionadas al almacenamiento de semen.

El almacenamiento de semen de donante más comúnmente utilizado depende de donantes anónimos para la infertilidad ocasionada por espermatozoides ausentes o defectuosos. En un sondeo de 1987, la United States Office of Technology estimó que habían ocurrido 30.000 nacimientos a raíz de inseminaciones con semen de donante, con aproximadamente 11.000 médicos realizando el tratamiento a cerca de 86.000 mujeres. A pesar de que los especialistas en fertilidad creen que la práctica ha disminuido a medida que las técnicas de reproducción asistida mejoran la posibilidad de lograr embarazos con bajo número de espermatozoides, la demanda de semen fértil y seguro sigue siendo elevada, especialmente entre mujeres solteras y parejas de mujeres.

La costumbre de utilizar semen criopreservado para la inseminación con semen de donante surgió a mediados de los años 80 luego de la aparición del virus de inmunodeficiencia humano (HIV, del inglés Human Immunodeficiency Virus). El período de incubación antes de poder detectar la enfermedad convirtió a la evaluación en el momento de la obtención en algo poco confiable. El reconocimiento de que este problema también existe para la mayoría de otras enfermedades infecciosas transmisibles vía seminal llevó a la utilización de una “cuarentena” de criopreservación para mejorar la seguridad. Esta costumbre permite examinar repetidamente al donante para exposición a enfermedad durante semanas, meses o años antes de utilizar los espermatozoides. Luego de una cuarentena mínima de 180 días, el semen puede ser utilizado siempre que el retesteo del donante sea negativo para enfermedad infecciosa. A medida que el testeo con ácido nucleico mejore y reemplace al testeo serológico tradicional, la reducción del período de cuarentena podrá ser posible.

La posibilidad de almacenar semen de hombres con diferentes fenotipos y genotipos aumenta la selección que poseen los pacientes para elegir un donante y disminuye el uso excesivo de un donante dentro de un área geográfica limitada. Las

estadísticas poblacionales pueden permitir la determinación del número de embarazos que pueden ser conseguidos sin aumentar el riesgo de consanguinidad en generaciones futuras. Por lo general, espermatozoides de un solo individuo son utilizados para conseguir no más de 10-15 embarazos en una ciudad mediana (500.000 a 1.000.000 de habitantes) en los Estados Unidos de Norteamérica. En otros países donde la diversidad étnica y el matrimonio interracial no es tan común, el número podría ser menor, pero depende en todo caso del número de nacidos vivos y del número de habitantes.

Usualmente, los bancos de semen tratan de empaquetar el semen de donante en recipientes plásticos o pajuelas conteniendo al menos 10 millones de espermatozoides mótiles post-descongelamiento, lo que ha sido sugerido como una dosis mínima adecuada de inseminación. Dado que el semen congelado-descongelado posee una menor sobrevida que el semen fresco, la vía y el momento de la inseminación es de importancia crítica para lograr un embarazo exitoso. Con la utilización de mediciones cuantitativas de hormona luteinizante urinaria (LH) para predecir la ovulación y una o dos inseminaciones intrauterinas dentro de las 20 a 40 horas del pico de LH, aproximadamente el 70% de las pacientes que eligen semen de donante conciben, la mayoría dentro de seis ciclos de inseminación.

El almacenamiento de semen de clientes depositantes, cuando el hombre preserva su propio semen para uso posterior, es útil en las siguientes situaciones:

1) Desórdenes médicos que pueden comprometer la fertilidad ocasionando una disminución del conteo o de la función espermática, pérdida fetal temprana, mutación genética, o impotencia por problemas inherentes o relativos al tratamiento utilizado para curar o estabilizar la enfermedad,. Ejemplos comunes incluyen cánceres, linfomas Hodgkin u otros, leucemia y desórdenes mielodisplásicos, síndrome nefrótico, diabetes y esclerosis múltiple. Los nuevos tratamientos oncológicos promueven la preservación de la fertilidad como un aspecto esencial del tratamiento oncológico, y es de esperar que aumente la utilización de semen almacenado.

2) Antes de la esterilización electiva o exposición a ambientes peligrosos. La exposición ocupacional a radiación, pesticidas, y químicos puede afectar la función espermática o la integridad genética. Los hombres que participan en operaciones militares donde existen riesgos de muerte o exposición a tóxicos espermáticos son también candidatos para el almacenamiento de semen.

3) Antes de emprender tratamientos de fertilidad que requieren la obtención de semen en un momento específico. Para los hombres que desarrollan impotencia relacionada a la ansiedad o falla en la emisión, el almacenamiento de semen asegura que los ciclos de tratamiento procedan de la manera planeada. Los pacientes cuya ocupación requiere viajes no programados también pueden utilizar el almacenamiento de semen para evitar la cancelación de ciclos de tratamiento.

Las derivaciones relativamente infrecuentes para almacenamiento de semen de clientes depositantes podrían estar vinculadas a inquietudes en cuanto a la calidad y utilidad de espermatozoides de hombres con enfermedades sistémicas. A pesar de que

el conteo espermático, la motilidad y la fisiología pueden estar alterados antes del inicio del tratamiento, los avances tecnológicos en reproducción asistida, como ser la inyección directa de espermatozoide dentro del ooplasma (inyección intracitoplasmática de espermatozoide o ICSI), con frecuencia pueden superar muchas anormalidades. El hecho de tener almacenados muchos espermatozoides es definitivamente una ventaja ya que puede disminuir la necesidad de fertilización in vitro o aumentar las chances de un embarazo exitoso permitiendo múltiples ciclos de tratamientos de fertilidad. Sin embargo, el deseo de almacenar múltiples eyaculados, que requerirá períodos de abstinencia adecuados entre los almacenamientos, debe ser balanceado contra la urgencia para el inicio del tratamiento. Dado el aumento del número de centros de reproducción y laboratorios que pueden realizar almacenamiento de semen, debería ofrecerse la oportunidad de criopreservación de semen a todos los hombres que podrían tener su fertilidad comprometida como consecuencia de su enfermedad o su tratamiento y, en la medida de lo posible, darles el tiempo para almacenar la mayor cantidad posible de muestras de semen.

Almacenamiento de semen en animales

La criopreservación de semen tiene usos importantes en la industria de animales de cría, especialmente en la reproducción de vacas, cerdos, ovejas y aves, y en la cría de animales domésticos como caballos, gatos y perros. Los espermatozoides genéticamente deseables o animales “premiados” pueden ser usados para inseminar muchas hembras para incrementar el número de crías con las características deseadas. La posibilidad de transportar semen con facilidad ha permitido el mejoramiento de manadas existentes o el establecimiento de nuevas manadas en regiones del mundo que requieren el desarrollo de fuentes de alimentación nativas. El almacenamiento de semen también se ha convertido en una manera importante de perpetuar especies en extinción o exóticas en zonas agrestes y en parques zoológicos.

La posibilidad de utilizar el almacenamiento de semen para preservar importantes razas animales de investigación ha sido apreciada en forma reciente. La criopreservación de semen puede disminuir el costo extraordinario de mantener líneas genéticas que, de otra manera, serían preservadas por la cría continua de los animales. También aumenta el acceso de los investigadores a varias razas debido a que el semen congelado es más fácil de transportar que animales vivos. El almacenamiento de semen disminuye el riesgo de perder material genético valioso por accidentes catastróficos, daño de la eficiencia reproductiva, desvío genético o enfermedad. Debido a que los millones de espermatozoides normalmente presentes en un solo eyaculado también representan millones de eventos de recombinación meiótica, el semen criopreservado puede ser almacenado para estudios futuros de frecuencia de recombinación génica y mapeo de locus genético cuando las nuevas sondas de ADN estén disponibles.

Resumen y oportunidades

Durante las últimas décadas se han intensificado los esfuerzos de investigación para mejorar las técnicas de almacenamiento de semen y de la sobrevida post

descongelamiento, y han sido renovadas desde la aparición de la fertilidad oncológica como especialidad médica. A medida que mejoren los protocolos, el éxito de las aplicaciones del semen criopreservado sin duda se incrementará. Existen numerosas oportunidades para carreras en almacenamiento de semen tanto para investigación básica como aplicada, al igual que para clínicos en aplicaciones tanto humanas como animal desde el laboratorio a la cama del paciente o a la granja.

Lecturas sugeridas:

Alvarez JG, Storey BT. Evidence for increased lipid peroxidative damage and loss of superoxide dismutase activity as a mode of sublethal cryodamage to human sperm during cryopreservation. J Androl 1992; 24: 232-41.

Bailey JL, Bilodeau JF, Cormier N. Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. J Androl 2000; 21: 1–7. Hammerstedt RH, Graham JK, Nolan JP. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. J Androl 1990; 11: 73-88

Isachenko E, Isachenko V, Katkov II, Rahimi G, Schöndorf T, Mallmann P, Dessole S and Nawroth F. DNA integrity and motility of human spermatozoa after standard slow freezing versus cryoprotectant-free vitrification. Human Reproduction 2004; 19: 932-39.

Karow AM, Critser JK, eds. Reproductive Tissue Banking. London, UK: Academic Press; 1997.

Lee SL, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, Beck LN, Brennan LV, Oktay K. American Society of Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients. J Clin Oncol 2006; 24: 2917-31.

Li H, Cui X, Arnheim N. Direct electrophoretic detection of the allelic state of single DNA molecules in human sperm by using the polymerase chain reaction. Proc Natl Acad Sci 1990; 87; 4580-85.

Ostermeier GC, Wiles MV, Farley JS, Taft RA . Conserving, Distributing and Managing Genetically Modified Mouse Lines by Sperm Cryopreservation. PLoS ONE 2008; 3: e2792.

Polge C. Freezing spermatozoa. In: Ashwood-Smith MJ, Parrant J, eds. Low Temperatures Preservation in Medicine and Biology. Pitman; 1980; 45-64.

Rothmann, S.A., M. Schroeder-Jenkins, L.M. Henrich, and A.J. Thomas. Rationale for sperm banking in men with cancer. Cleveland Clinic Quart 1986; 53: 89-94.

Watson PF, Critser JK, Mazur P. Sperm preservation: fundamental cryobiology and practical implications. In: Templeton AA, Drife JO, eds. Infertility. Springer-Verlag; 1992; 101-14

Woods EF, Benson JD, Agca Y, Critser JK. Fundamental cryobiology of reproductive cells and tissues. Cryobiology 2004; 48: 146-56.

¿Cómo hacen los espermatozoides para alcanzar el ovocito y cómo ocurre la fecundación?

Los eventos de capacitación, exocitosis acrosomal, interacción espermatozoide-ovocito y activación ovocitaria

J.P. Evans y J.L. Bailey

La fecundación es un proceso complejo que involucra múltiples eventos. Este fascinante proceso biológico comienza con dos células, el espermatozoide y el ovocito, que se encuentran sufriendo una serie de pasos preparatorios para que la fecundación sea posible (FIGURA 1). Durante la ovulación, el ovocito (ó múltiples ovocitos, dependiendo de la especie) deja el ovario e ingresa en el oviducto. Allí, el ovocito progresa en la meiosis, en un proceso conocido como "maduración ovocitaria" o "maduración meiótica", pasando desde la profase I, en la que se encuentra arrestado desde antes del nacimiento, hasta arrestarse nuevamente en la metafase II, en la mayoría de las especies.

Por su parte los espermatozoides se encuentran morfológicamente maduros cuando dejan el testículo, pero deben sufrir una serie de cambios hasta desarrollar totalmente su competencia para la fecundación. Durante la maduración epididimaria (Capítulo 10), los espermatozoides desarrollan la capacidad de 1) ser mótiles y 2) sufrir capacitación (ver más abajo), principalmente a través de la reorganización de la superficie espermática, que se piensa es importante para la capacidad fecundante de la gameta. Luego, cuando son eyaculados, los espermatozoides se mezclan con los componentes del fluido seminal, entre los que se encuentran soluciones "buffer" o tampones, que permiten que la gameta masculina sobreviva en el entorno ácido de la vagina. El fluido seminal puede además aportar proteínas que se asocian al espermatozoide y luego van a mediar la unión del espermatozoide al ovocito (ver abajo).

En el tracto femenino, los espermatozoides sufren el proceso de capacitación, definido como el conjunto de cambios fisiológicos que le confieren la habilidad de fecundar al ovocito. En este punto debe destacarse que el descubrimiento de métodos para reproducir el proceso de capacitación in vitro han constituido un avance importante que hizo posible la fecundación in vitro. Entre los cambios asociados a la capacitación se encuentran la pérdida de colesterol de la membrana plasmática espermática, la activación de una adenilato ciclasa soluble espermática, la generación del segundo mensajero AMP cíclico, y la activación de un grupo de proteína kinasas. Los espermatozoides capacitados además son capaces de sufrir la exocitosis acrosomal (ver abajo). En muchas especies de mamíferos, la capacitación se encuentra asociada con un cambio en el patrón de motilidad espermática, observándose una trayectoria no progresiva de tipo látigo, patrón que es característico de la motilidad hiperactivada.

Los espermatozoides pueden ser almacenados en el tracto reproductivo femenino a través de su interacción con las células epiteliales del oviducto. En muchos mamíferos, incluyendo a los humanos, los espermatozoides pueden sobrevivir en el tracto de la hembra por varios días. Entre las posibles funciones del almacenamiento espermático se encuentran la prevención de la polispermia (fecundación de un ovocito por más de un espermatozoide), el mantenimiento de

la viabilidad y la capacidad fecundante espermática, la regulación de la capacitación y de la motilidad hiperactivada. Eventualmente, los espermatozoides se trasladan al sitio de la fecundación localizado en la región de la ampolla o de la unión entre la ampolla y el istmo oviductal, dependiendo de la especie. El tránsito espermático en el oviducto puede ser mediado por diferentes factores, entre los que pueden mencionarse las contracciones del tracto de la hembra para empujar los espermatozoides hacia arriba, la migración espermática mediada por la motilidad propulsora, y/o la motilidad espermática dirigida posiblemente hacia arriba por un quimoatractante del folículo o del ovocito.

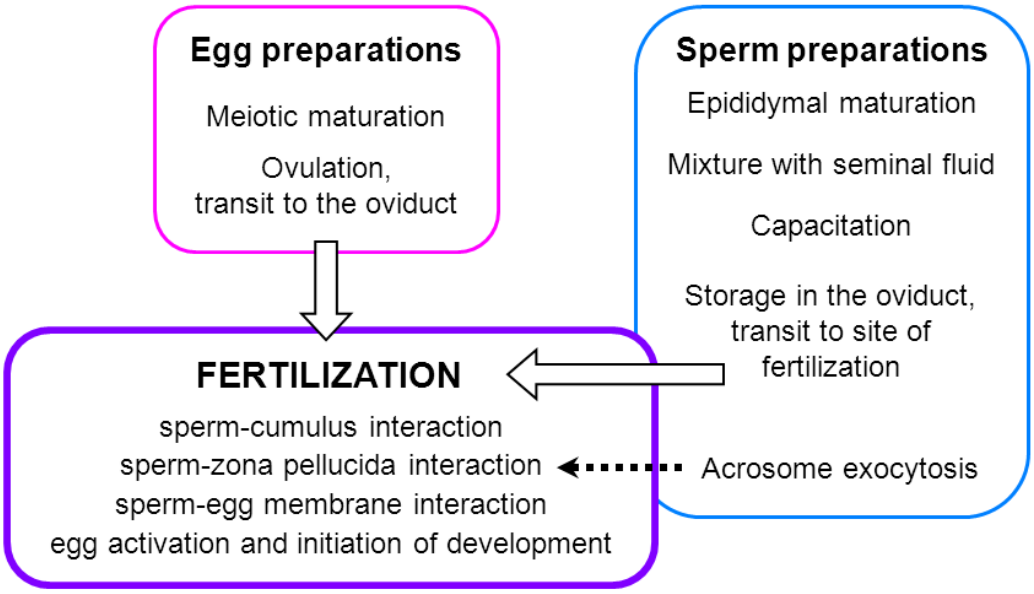


FIG 1: Diagrama esquemático mostrando los pasos mencionados en el capítulo, que incluye aquellos relacionados con la preparación del ovocito (caja borde rosado), los relacionados a la preparación del espermatozoide (caja borde celeste) y los específicos de la fecundación (caja borde violeta). Las líneas punteadas indican que la exocitosis acrosomal, último de los pasos de preparación del espermatozoide, ocurre durante la interacción del espermatozoide con la *zona pellucida* del ovocito (Concepto actualmente en revisión)..
Caja borde rosa: Egg preparation: preparación del ovocito. Meiotic maturation: maduración meiótica. Ovulation, transit to the oviduct: Ovulación, tránsito en el oviducto.
Caja borde celeste: Sperm preparations: Preparación del espermatozoide: Epididymal maturation: maduración epididimaria. Mixture with seminal fluid: mezcla con el fluido seminal. Capacitation: capacitación. Storage in the oviduct, transit to site of fertilization: Almacenamiento en el oviducto, tránsito al sitio de la fecundación. Acrosome exocytosis: Exocitosis acrosomal.
Caja borde violeta: Fertilization: fecundación. Sperm-cumulus interaction: interacción espermatozoides-cumulus. Sperm-zona pellucida interaction: interacción espermatozoides-zona pellucida. Sperm-egg membrana interaction: interacción espermatozoide-membrana oolema (membrana plasmática del ovocito). Egg activation and initiation of development: activación del ovocito fecundado e inicio del desarrollo.
La flecha con línea de puntos indica que la exocitosis acrosomal ocurre durante la interacción del espermatozoide con la ZP (concepto actualmente en revisión).

El proceso de la fecundación involucra varios eventos, destacándose: 1) las interacciones entre los espermatozoides y las células del cumulus, 2) las interacciones entre los espermatozoides y la *zona pellucida* (ZP), 3) las interacciones entre las membranas del espermatozoide y del ovocito y 4) la activación del ovocito y el inicio del desarrollo embrionario (FIG 1 y 2). El ovocito

ovulado está rodeado por células del cumulus (granulosa) embebidas en una matriz extracelular de ácido hialurónico. La penetración espermática de esa matriz es mediada por la fuerza mótil de la gameta masculina y, quizá en parte, facilitada por la hialuronidasa presente en la superficie espermática. El espermatozoide luego interactúa con la matriz extracelular que rodea el ovocito, la ZP, estructura sintetizada por el ovocito durante la ovogénesis y compuesta por tres o cuatro glicoproteínas, dependiendo de la especie. La identidad del receptor espermático para la ZP ha sido debatida por décadas, y es probable que no sea una única proteína sino un grupo de proteínas. La ZP es responsable de la unión del espermatozoide de manera específica de especie e induce a los espermatozoides que sufran la exocitosis acrosomal. Este último fenómeno, también conocido como reacción acrosomal, es la liberación de los contenidos del acrosoma, una vesícula secretoria grande localizada en la cabeza del espermatozoide. (FIG 2). La liberación de estos contenidos se logra a través de la formación de cientos de poros de fusión entre la membrana del acrosoma y la membrana plasmática de la cabeza espermática. La exocitosis acrosomal se asocia a dos cambios críticos del espermatozoide, que son 1) la liberación de las enzimas acrosomales para digerir la ZP y generar un agujero y, una vez completada la exocitosis acrosomal, 2) la exposición de nuevos componentes en la superficie del espermatozoide que lo hacen capaz de interactuar con la membrana plasmática del ovocito. Por lo tanto, la exocitosis acrosomal es un pre-requisito necesario para el paso siguiente de la fecundación, que involucra la interacción entre las membranas plasmáticas de ambas gametas. Se cree que la unión a componentes específicos de la ZP es la señal que lleva al espermatozoide a sufrir la exocitosis acrosomal, aunque una hipótesis más reciente especula sobre la posibilidad de que la exocitosis acrosomal en el espermatozoide de ratón sea inducida por una señal mecanosensorial mientras el espermatozoide atraviesa la matriz de la ZP[1]. Más allá de este gatillado inicial, el ión calcio es considerado un segundo mensajero clave que induce al espermatozoide a sufrir la exocitosis acrosomal.

Una vez que el espermatozoide ha penetrado la ZP, alcanza la membrana plasmática del ovocito. La interacción del espermatozoide con esa estructura es un proceso que involucra varios pasos, comenzando con la adhesión del espermatozoide a la membrana plasmática del ovocito, y de esta manera llevando a las membranas de ambas gametas a un contacto estrecho que culmina con su fusión, de manera de crear una continuidad citoplasmática entre ambas gametas (Figura 2). Las bases moleculares de las interacciones de las membranas del espermatozoide y ovocito, de manera similar a las interacciones entre el espermatozoide y la ZP, no se conocen totalmente, pero este proceso es muy probable que involucre múltiples moléculas. Una vez que se forma la continuidad citoplasmática entre las gametas, uno de los componentes espermáticos intracelulares incorporados en el ovocito es una forma de fosfolipasa C específica del espermatozoide (PLC-ξ). Esta enzima genera inositol trifosfato (IP3) a partir de fosfatidil inositol 4,5-difosfato (PIP2). El IP3 se une a receptores en los reservorios

---

[1] Nota del Traductor: Los resultados de un estudio reciente (Jin et al, Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(12):4892-6) permitirían proponer que la exocitosis acrosomal ocurre previo a la interacción de los espermatozoides con la *Zona Pellucida*

ovocitarios intracelulares de iones calcio, el retículo endoplásmico. Este fenómeno causa la liberación de iones calcio en el citoplasma, activando varias enzimas dependientes de dicho ión divalente. La activación de este camino de señalización induce la transición de ovocito a embrión, también conocida como activación ovocitaria. Los eventos principales de la activación ovocitaria son 1) el establecimiento de bloqueos a nivel de la ZP y la membrana plasmática para prevenir la fecundación polispérmica, así como 2) la compleción de la meiosis (salida del arresto en Metafase II), y la progresión hacia la mitosis embrionaria.

En resumen, la misión del espermatozoide de fecundar el ovocito y entregar el genoma paterno al futuro embrión involucra una serie altamente organizada de pasos que se inicia inmediatamente luego de la salida de la gameta masculina del testículo y continua a través del tracto masculino y luego femenino, finalizando con la fusión de las gametas, la activación ovocitaria y la conjunción de los genomas materno y paterno.

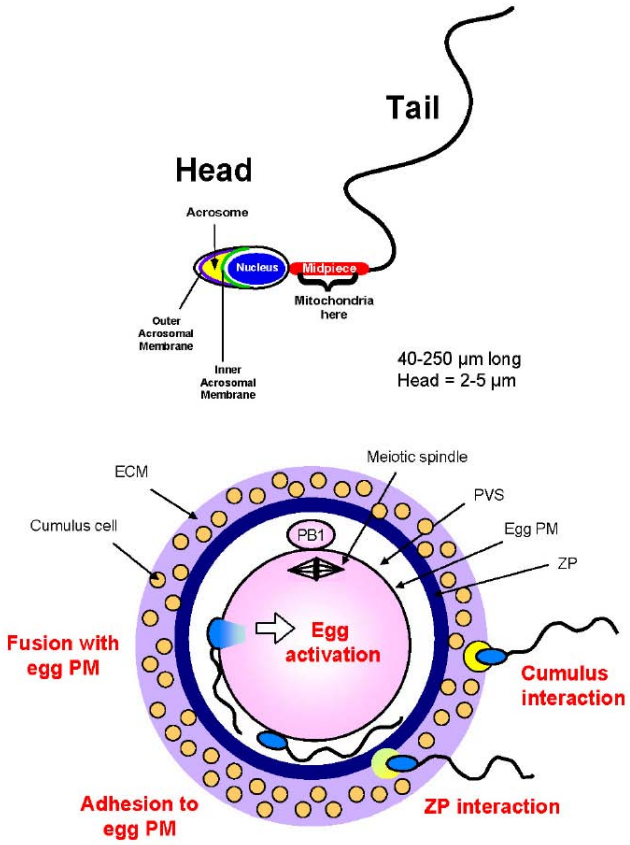


FIG 2. Panel superior: Diagrama esquemático del espermatozoide de mamífero, indicando los dos dominios principales, la cabeza (Head) y la cola (Tail). La cola o flagelo contiene microtúbulos e incluye la pieza media, en la que se localizan las mitocondrias (Mitochondria here, Midpiece, rojo). La cabeza incluye la cromatina espermática en el núcleo (Nucleus, azul) y el acrosoma (Acrosome, amarillo). La exocitosis acrosomal se logra por la formación de los poros de fusión entre la membrana acrosomal externa (Outer Acrosomal membrane, violeta) y la membrana plasmática (negro). Una vez que se ha completado la exocitosis acrosomal, se expone la membrana acrosomal interna (Inner Acrosomal membrana, verde) en la superficie del espermatozoide.
Panel inferior: Diagrama esquemático mostrando las estructuras del ovocito de mamífero (texto en negro) y los pasos del proceso de fecundación (texto en rojo).

ECM: matrix extracelular en la que se encuentran embedidas las células del cumulus. Cumulus cell: célula del cumulus. Fusion with egg PM: fusion con la membrana plasmática ovocitaria Adhesion to egg PM: adhesion a la membrana plasmática ovocitaria. ZP interaction: interacción con la ZP. Cumulus interaction: interacción con las células del cumulus. ZP: zona pellucida. Egg PM: membrana plasmática ovocitaria. PVS: espacio perivitelino. Meiotic Spindle: huso meiótico. Egg activation: Activación ovocitaria.

Lecturas sugeridas:

Dean J. The enigma of sperm-egg recognition in mice. Soc Reprod Fertil Suppl. 2007; 63: 359-65.

Ducibella T, Fissore R. The roles of Ca^{2+}, downstream protein kinases, and oscillatory signaling in regulating fertilization and the activation of development. Dev Biol. 2008; 315: 257-79.

Florman HM, Jungnickel MK, Sutton KA. Regulating the acrosome reaction. Int J Dev Biol. 2008; 52: 503-10.

Florman HM, T. Ducibella. Fertilization in mammals. In Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. J.D. Neill, editor. Elsevier, San Diego, CA. 2006; 55-112.

Kim E, Yamashita M, Kimura M, Honda A, Kashiwabara S, Baba T. Sperm penetration through cumulus mass and zona pellucida. Int J Dev Biol. 2008; 52: 677-82.

Okabe M, Cummins JM. Mechanisms of sperm-egg interactions emerging from gene-manipulated animals. Cell Mol Life Sci. 2007; 64: 1945-58.

Salicioni AM, Platt MD, Wertheimer EV, Arcelay E, Allaire A, Sosnik J, Visconti PE.
Signalling pathways involved in sperm capacitation. Soc Reprod Fertil Suppl. 2007; 65: 245-59.

Suarez SS. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. Int J Dev Biol. 2008; 52: 455-62.

Vjugina U., Evans JP. New insights into the molecular basis of mammalian sperm-egg membrane interactions. Front Biosci. 2008; 13: 462-76.

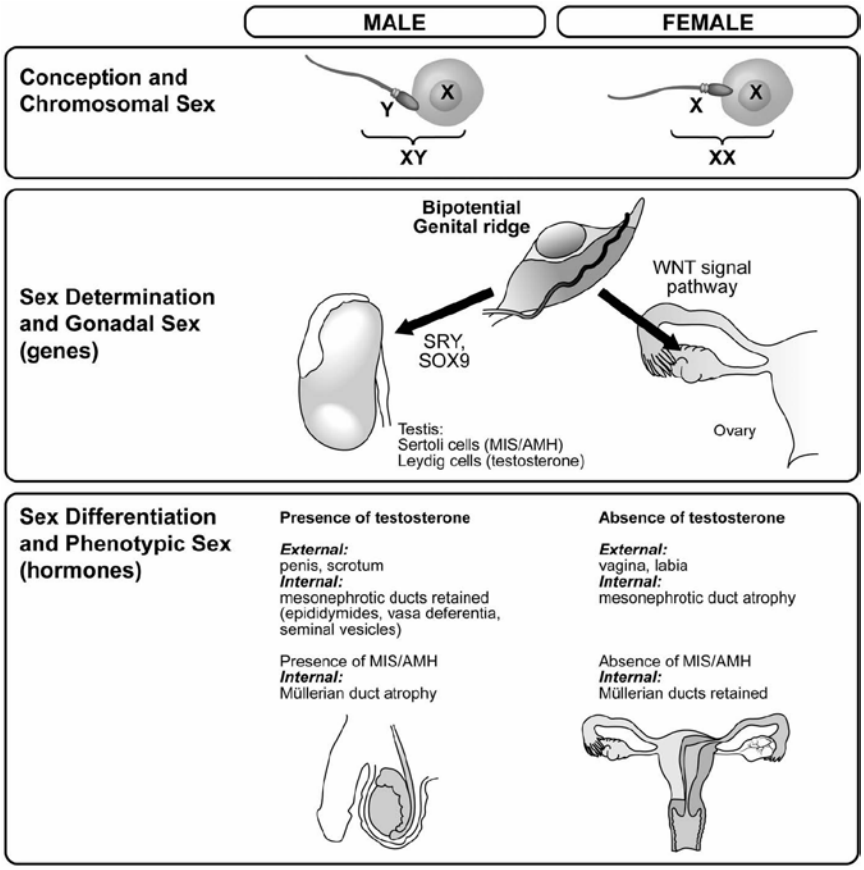
¿Qué determina el sexo masculino?

Determinación sexual, formación del testículo y desarrollo del fenotipo masculino

D. W. Silversides y R. S. Viger

Ser (de sexo masculino) *o no ser...*
De eso se trata (para la andrología)

Ser de sexo masculino o femenino es un aspecto fundamental del ser humano. Devenir varón o mujer es una historia del desarrollo que se divide en tres niveles (concepción, determinación sexual y diferenciación sexual) y que involucra a cromosomas, genes y hormonas (Fig. 1). En el caso del sexo masculino, el resultado es un individuo con un complemento de cromosomas sexuales XY, que tiene testículos, genitales masculinos tanto externos (pene y escroto) como internos (epidídimos, conductos deferentes, vesículas seminales).



Concepción y Sexo Cromosómico

Determinación Sexual y Sexo Gonadal (genes)

Diferenciación Sexual y Sexo Fenotípico (hormonas)

FIG 1: perspectiva general del sexo biológico en mamíferos

Sexo cromosómico

La definición de sexo biológico comienza en la concepción. Aunque la existencia del cromosoma Y humano se describió en la década de 1920, sorpresivamente recién en 1959, a través de los estudios de los fenotipos de los síndromes de Turner (X0) y Klinefelter (XXY), se asoció al cromosoma Y con la determinación sexual masculina. Todos los ovocitos humanos contienen un cromosoma X como parte de su genoma haploide. En el momento de la concepción, si un espermatozoide que contiene un cromosoma Y fecunda al ovocito, el cigoto resultante tendrá un complemento de cromosomas sexuales XY y se desarrollará (normalmente) como masculino; si un espermatozoide que contiene un cromosoma X se une al ovocito, el cigoto resultante tendrá un complemento XX y será femenino. La relación entre el sexo masculino y el cromosoma Y llevó a la hipótesis que este último contenía el "factor determinante testicular" (TDF); esto llevó a su vez a 30 años de búsqueda para determinar la naturaleza molecular de dicho factor.

El fenotipo masculino y la importancia de tener testículos

Desde el punto de vista del desarrollo, las próximas decisiones importantes para definir el sexo son la determinación del sexo gonadal (testículos en el sexo masculino, ovarios en el sexo femenino), seguida de la adquisición del fenotipo de los caracteres sexuales secundarios (masculino o femenino). Las gónadas se desarrollan a partir de las crestas genitales, que se encuentran en el techo de la cavidad abdominal del embrión inmediatamente después de la gastrulación. Las crestas genitales inicialmente tienen la capacidad de formar testículos u ovarios: son bipotenciales. Históricamente, desde la década de 1940 se sabe que el sexo de las gónadas es importante para determinar el sexo genital del individuo. Más específicamente, la presencia de testículos es necesaria para asegurar un fenotipo masculino, ya que la remoción de las crestas genitales en un embrión XY conlleva al desarrollo de genitales femeninos. Las hormonas secretadas por el testículo en desarrollo están involucradas en la diferenciación sexual. Las células de Sertoli secretan una proteína, la hormona anti-mülleriana (AMH, también conocida como sustancia inhibidora mülleriana o MIS), que causa la atrofia y la pérdida de los conductos paramesonéfricos (de Müller) en el feto XY. Las células de Sertoli, junto con las células germinales, se organizan entonces en estructuras cordonales que formarán los túbulos seminíferos. Las células de Leydig se desarrollan fuera de esas estructuras cordonales (en el intersticio). Las células de Leydig producen la hormona esteroide testosterona. La testosterona y su metabolito, la dihidrotestosterona (DHT), provocan el desarrollo del pene y el escroto a partir de los esbozos de los genitales externos, y el mantenimiento y la diferenciación de los conductos mesonéfricos (de Wolff) en epidídimos, conductos deferentes y vesículas seminales. La testosterona producida por el feto masculino también masculinizará el cerebro en desarrollo. En el feto XX la ausencia de testosterona asegura que se desarrollen la vagina y los labios a partir de los esbozos de los genitales externos y que los conductos mesonéfricos se atrofien. Al mismo tiempo, la ausencia de AMH/MIS en el sexo femenino permiten que los conductos

paramesonéfricos (de Müller) se desarrollen para formar los oviductos (trompas de Falopio), el útero y el cuello.

SRY y los mecanismos moleculares de la determinación testicular

El estudio de deleciones en el cromosoma Y que provocan una discordancia entre el sexo cromosómico y el sexo fenotípico (o sea, mujeres XY), junto con el advenimiento de las técnicas de genética molecular, culminaron en 1990 con el clonado de un gen del cromosoma Y denominado *SRY* (Sex-determining Region Y). Cuando un año más tarde se publicó que la introducción del gen *Sry* en el genoma de un ratón XX generó un fenotipo masculino, se aceptó que SRY era el tan buscado TDF. ¿Cómo cumple su rol? SRY se expresa en precursores de células de Sertoli de la cresta gonadal XY en desarrollo, inmediatamente antes de que la misma comience su transformación histológica para formar un testículo. SRY fue el primer miembro identificado de una familia de proteínas que se unen al ADN, las proteínas SOX (SRY related HMG box). Las proteínas SOX son importantes en una cantidad de decisiones claves del desarrollo de embriones animales. Curiosamente, *SRY* no es un gen *SOX* típico: mientras que otros genes *SOX* tienen una estructura bien conservada entre vertebrados y aún invertebrados, SRY se encuentra solamente en mamíferos placentarios y tiene una secuencia poco conservada entre especies. Como consecuencia de la expresión de *SRY*, los precursores de las células de Sertoli expresan otro gen *SOX* llamado *SOX9*. En contraste con SRY, SOX9 está altamente conservado en vertebrados, y la sobreexpresión de Sox9 en ratones puede forzar el desarrollo de testículos en fetos XY. SOX9 también desencadena la expresión del gen *AMH/MIS*. El escenario emergente de los mecanismos moleculares de la determinación sexual en mamíferos es que la cresta gonadal bipotencial, sea XX o XY, se encuentra ante un delicado balance entre dos vías del desarrollo en competencia, la vía masculina dominada por la expresión de *SOX9*, y la vía femenina que responde a la señal molecular extracelular WNT4. En la cresta gonadal XY normal, la presencia y expresión del gen *SRY* en los precursores de las células de Sertoli inclina la balanza hacia un incremento de la expresión de SOX9 y el desarrollo de la cresta gonadal procede en dirección a la formación de testículos. En ausencia de SRY, la señalización WNT domina en las células de la cresta gonadal favoreciendo el desarrollo del ovario.

Lecturas sugeridas:

DiNapoli L, Capel B 2008 SRY and the standoff in sex determination. Mol Endocrinol 22(1):1-9.

Koopman P, Gubbay J, Vivian N, Goodfellow P, Lovell-Badge R 1991 Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. Nature 351(6322):117-121.

Sekido R, Lovell-Badge R 2009 Sex determination and SRY: down to a wink and a nudge? Trends Genet 25(1):19-29.

Sinclair AH, Berta P, Palmer MS et al. 1990 A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. Nature 346(6281):240-244.

Vidal VP, Chaboissier MC, de Rooij DG, Schedl A 2001 Sox9 induces testis development in XX transgenic mice. Nat Genet 28(3):216-217.

Wilhelm D, Palmer S, Koopman P 2007 Sex determination and gonadal development in mammals. Physiol Rev 87(1):1-28.

¿Hay defectos genéticos específicos que afectan al aparato reproductor masculino? ¿Cuáles son los mecanismos subyacentes?

T. R. Brown

Síndromes de Turner y de Klinefelter, loci genéticos, GnRH/LH/FSH, biosíntesis de esteroides e insensibilidad a los andrógenos

El desarrollo y la función normales del aparato reproductor masculino comienza en el cigoto donde los cromosomas X e Y establecen el sexo genético y dirigen la evolución secuencial del sexo gonadal y fenotípico en el feto (Capítulo 16). En circunstancias normales, el sexo gonadal y el sexo fenotípico concuerdan con el sexo cromosómico; sin embargo, pueden surgir anomalías en el sexo fenotípico y la función sexual a partir de varios defectos durante el desarrollo. Más allá de los cromosomas sexuales, los trastornos de la diferenciación, el desarrollo y la función sexuales pueden ser el resultado de mutaciones en un solo gen. El análisis de dichos trastornos ha sido muy informativo para definir los determinantes genéticos y moleculares del desarrollo sexual y la función reproductiva (Fig. 1).

Anomalías gonadales

Hermafroditismo verdadero[1]

La definición clínica de hermafroditismo verdadero se basa en la existencia de tejido ovárico y tejido testicular. Los afectados tienen un testículo o un ovario en combinación con un ovotestis contralateral que contiene tejido ovárico y testicular (50%), o tienen un testículo de un lado y un ovario del otro (30%), u ovotestis bilaterales, o aún combinaciones de ovario y testículo bilaterales (20%). Es posible que existan ovocitos funcionantes en el tejido ovárico en tanto que la espermatogénesis está afectada en el tejido testicular no descendido. La capacidad funcional del tejido testicular determinará el fenotipo de los genitales internos. La secreción de hormona anti-mülleriana (AMH) por las células de Sertoli provoca un grado variable de regresión de los conductos de Müller, mientras que la secreción local de testosterona por las células de Leydig es necesaria para el desarrollo homolateral de los conductos de Wolff. Si existe un hemi-útero de un lado, la trompa de Falopio asociada también suele encontrarse. Los genitales externos son generalmente ambiguos, aunque una apariencia fenotípica masculina o femenina relativamente normal es posible. También pueden hallarse un hipospadias (orificio urinario anormalmente ubicado), criptorquidia (testículos

[1] A partir del consenso de Chicago se ha sugerido que esta terminología sea reemplazada por "Anomalía del Desarrollo Sexual Ovotesticular" (Hughes IA, Houk C, Ahmed SF et al. LWPES/ESPE Consensus Group: consensus statement on management of intersex disorders. Arch. Dis. Child. 91; 554-563, 2006).

no descendidos) o una hernia inguinal conteniendo una gónada o remanentes müllerianos. La mayoría de los hermafroditas verdaderos (pacientes con anomalía del desarrollo sexual ovotesticular) son criados como varones debido a la apariencia de los genitales externos. Más del 50% de los casos tienen un cariotipo 46,XX. Otros cariotipos, como 46,XY, 46,XX/46,XY o varias otras formas de mosaicismo pueden ser halladas. Muchos pacientes 46,XX con hermafroditismo verdadero no poseen el gen SRY, lo que sugiere que la etiología en estos casos difiere de la de los varones 46,XX que portan una translocación del cromosoma Y donde se encuentra el locus del gen SRY.

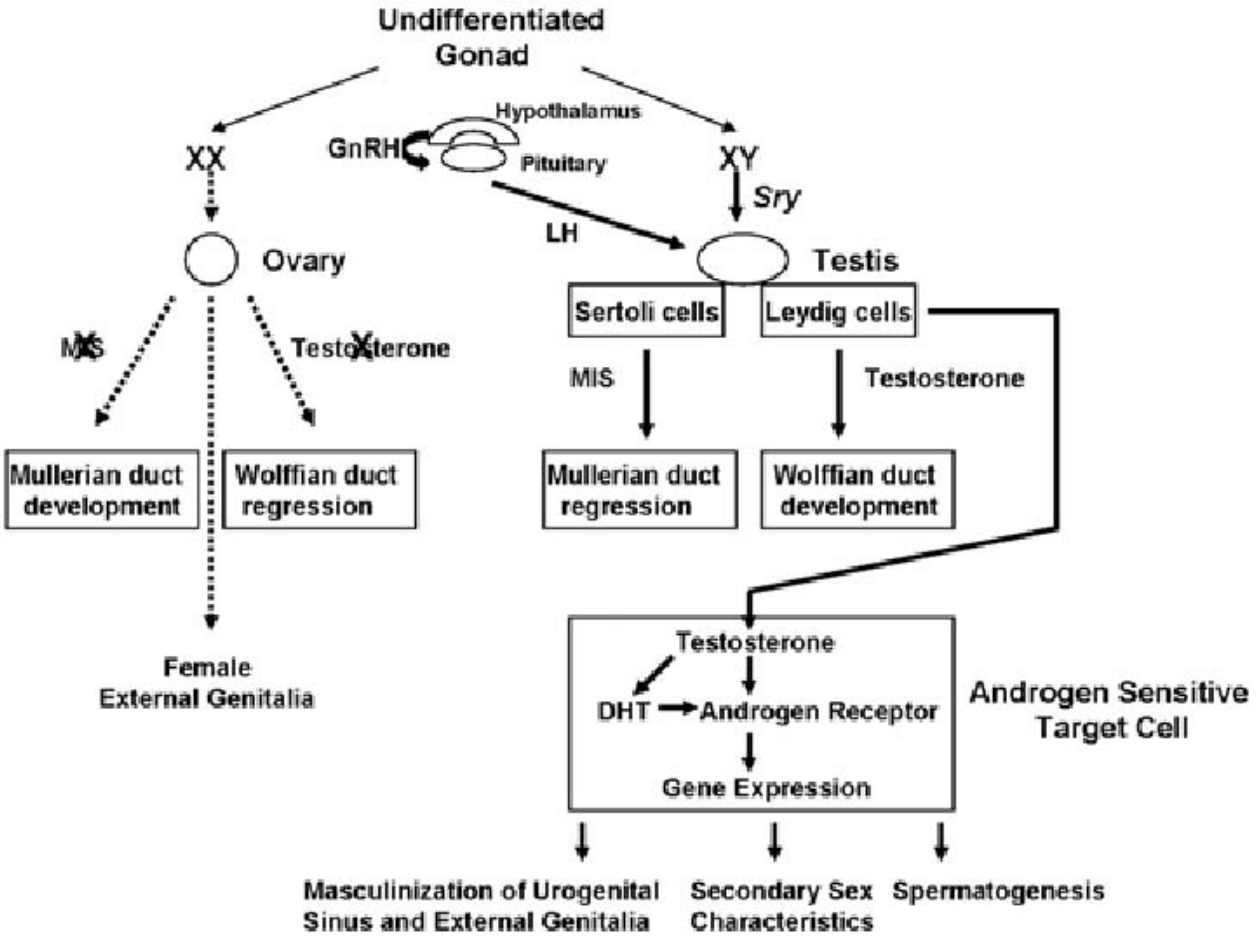


FIG. 1. Determinantes de la diferenciación y el desarrollo sexuales humanos. La gónada indiferenciada en el feto se desarrolla como testículo cuando el sexo cromosómico es XY debido a la presencia del gen Sry (Sex-determining region of the Y). Si el sexo cromosómico es XX, la gónada indiferenciada evoluciona en el sentido ovárico. Inicialmente bajo el control de la hCG placentaria, las células de Leydig fetales sintetizan y secretan testosterona, necesaria para el desarrollo de los conductos de Wolff. Las células de Sertoli del testículo fetal producen hormona anti-mülleriana (AMH), que causa la regresión de los conductos de Müller en el feto masculino. Subsecuentemente a la hCG, el hipotálamo sintetiza y secreta GnRH, que estimula la síntesis y secreción de LH por la adenohipófisis para provocar la biosíntesis y secreción de testosterona por las células de Leydig en el testículo durante los estadios del desarrollo fetales más avanzados, postnatal inmediato y puberal. Contrariamente al testículo fetal, el ovario no produce esteroides gonadales (por ejemplo, estradiol) ni AMH. En las células blanco, la testosterona o su metabolito 5α-reducido más potente, la dihidrotestosterona (DHT), se une al receptor de andrógenos y promueve la masculinización del seno urogenital y de los genitales

externos en el feto, así como la expresión de los caracteres sexuales secundarios y el inicio y el mantenimiento de la espermatogénesis en la pubertad.

Síndrome de Klinefelter

La disgenesia de los túbulos seminíferos debida a la aneuploidía 47,XXY en individuos con síndrome de Klinefelter representa la forma más común de falla testicular, con una incidencia de 1:500 varones. Otras aneuploidías del par sexual, 48,XXYY, 48,XXXY y 49,XXXXY, también pueden ser halladas pero con una frecuencia mucho menor y también son varones. Los pacientes 47,XXY pueden presentar una variedad de signos clínicos sutiles relacionados con la edad, incluyendo hipospadias, pene pequeño o criptorquidia en la infancia; retraso en el lenguaje, dificultades en el aprendizaje o problemas en la conducta, desarrollo puberal incompleto con hábito eunucoide, ginecomastia (agrandamiento mamario) y testículos pequeños con infertilidad debido a una disminución progresiva en el número de espermatogonias. Durante la pubertad, los niveles de gonadotrofinas (hormona luteinizante, LH, y hormona folículo-estimulante, FSH) aumentan pero la concentración de testosterona permanece relativamente disminuida. La ginecomastia se desarrolla como consecuencia de una relación testosterona:estradiol reducida. A pesar del deterioro de la función de los túbulos seminíferos, la recuperación de espermatozoides intratesticulares y la fecundación de ovocitos mediante la inyección intracitoplásmica de espermatozoides han sido exitosas en algunos pacientes.

Síndrome de Turner

El diagnóstico de síndrome de Turner se basa en el hallazgo de talla baja, disgenesia gonadal que conduce a una falla gonadal e infertilidad, características dismórficas típicas (pliegues epicánticos, paladar ojival, implantación baja del cabello en la nuca, cuello en efigie, tórax en escudo, nevos pigmentados y mamilas invertidas) y anomalías renales y cardíacas. El cariotipo se caracteriza por la ausencia parcial o completa de uno de los cromosomas del par sexual (45,X), aunque frecuentemente puede hallarse un mosaicismo (45,X/46,XX). La presencia de gónadas disgenéticas y material del cromosoma Y aumentan la probabilidad del desarrollo de gonadoblastomas. Es necesaria la terapia de reemplazo hormonal para promover el desarrollo de caracteres sexuales secundarios femeninos normales y prevenir complicaciones cardiovasculares y osteoporosis en las pacientes afectadas. La ovodonación es una opción para la reproducción asistida.

Varón XX

La existencia de un cariotipo 46,XX en un varón es el resultado de la translocación, frecuentemente al cromosoma X, de una porción del cromosoma Y que contiene el gen SRY. Los individuos generalmente tienen testículos pequeños que pueden ser normales a la palpación en la infancia pero luego se tornan firmes con la edad. La histología testicular revela una falta de desarrollo espermatogénico con diámetro tubular disminuido e hiperplasia de células de Leydig, similar a lo observado en el síndrome de Klinefelter. Los varones 46,XX son de talla más baja

que los individuos 47,XXY. La producción de testosterona está disminuida en tanto que las gonadotrofinas están elevadas.

Disgenesia gonadal XY

La disgenesia gonadal puede ser “pura” o “mixta”; la primera hace referencia a la presencia de gónadas aplásicas o cintillas (“streaks”) de ambos lados, mientras que la segunda indica la existencia de una cintilla de un lado y un testículo generalmente disgenético del otro. La forma pura puede ocurrir en individuos con cariotipo 46,XY mientras que la forma mixta se halla comúnmente en pacientes con un mosaicismo cromosómico (45,X/46,XY) si bien también se encuentra en pacientes 46,XY con grados variables de tejido testicular funcional en cada gónada. La etiología puede ser una deleción del cromosoma Y o deleciones o mutaciones del gen SRY u otros genes asociados con el desarrollo testicular, como SOX9, SF1 o WT1.

Anomalías genéticas del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal

Síntesis y liberación de GnRH

Las neuronas GnRH (hormona liberadora de gonadotrofinas) se originan en la placoda olfatoria y migran junto con las neuronas olfatorias hacia el bulbo olfatorio y, finalmente, hacia el hipotálamo fetal, una posición que permite a su producto de secreción, GnRH, acceder la circulación portal hipofisaria y llegar a la adenohipófisis. Si el proceso migratorio se ve perturbado, el resultado es el hipogonadismo hipogonadotrófico (una combinación de gonadotrofinas bajas y esteroides gonadales bajos) con anosmia (ausencia de olfato), conocido como síndrome de Kallmann, con una frecuencia de 1:8000 varones. Este síndrome es genéticamente heterogéneo, con formas ligadas al X, autosómicas dominantes y autosómicas recesivas. Las formas autosómicas representan el 85% de los casos. Dos genes pueden causar esta anomalía: KAL1, que codifica para la anosmina-1, está mutado en algunas formas ligadas al X, mientras que KAL2, que codifica para el receptor tipo 1 del factor de crecimiento fibroblástico (FGFR1), está mutado en algunos casos de la forma autosómica dominante. Otros genes candidatos son CHD7 (Chromodomain Helicase DNA-binding protein 7) y el del receptor acoplado a proteína G de la prokineticina tipo 2 (PROKR2). Los varones adultos con síndrome de Kallmann no desarrollan caracteres sexuales secundarios en ausencia de terapia de reemplazo con andrógenos y persisten azoospérmicos a menos que reciban tratamiento con GnRH o gonadotrofinas; la terapia sustitutiva con andrógenos exclusiva no es capaz de iniciar la espermatogénesis en estos pacientes.

Un gran avance en la comprensión de la regulación de la síntesis y secreción de GnRH fue el reciente descubrimiento que el receptor acoplado a proteína G, GPR54, y su ligando, la kisspeptina, desencadenan la pubertad en humanos y animales de experimentación (Capítulo 18). Individuos con mutaciones inactivantes de GPR54 presentan hipogonadismo hipogonadotrófico debido a la ausencia de síntesis y secreción de GnRH. Estos individuos no tienen desarrollo

puberal pero responden a la administración de GnRH exógeno. En casos raros, la deficiencia congénita de leptina o de su receptor pueden llevar a obesidad severa de comienzo temprano e hipogonadismo hipogonadotrófico por deficiencia de GnRH. La regulación de la secreción de gonadotrofinas dependiente de leptina se debe probablemente a su rol en la liberación de neurotransmisores, como el neuropéptido Y, que afecta la secreción de GnRH.

Aunque el gen GnRH es un candidato natural para mutaciones que provoquen hipogonadismo hipogonadotrófico, tales mutaciones no han sido aún detectadas. En cambio, se han publicado mutaciones inactivantes del receptor de GnRH, GnRHR. En varones, dichas mutaciones causan retraso puberal, disminución en la libido, pobre masculinización y tamaño testicular reducido con astenoteratozoospermia. Las mutaciones del GnRHR causan una disminución en la unión del ligando y/o en la respuesta del segundo mensajero (inositol trifosfato). En individuos afectados, los niveles de gonadotrofinas son bajos, con picos de frecuencia normal y amplitud baja; la respuesta a la estimulación con GnRH es variable.

Gonadotrofinas y sus receptores

Sería esperable que las mutaciones en las subunidades de las gonadotrofinas afecten directamente la fertilidad y la reproducción, y de ese modo serían probablemente eliminadas del pool de genes. De allí que se han descripto solo unos pocos casos esporádicos de mutaciones en dichos genes. Además de mutaciones inactivantes, se sugiere que polimorfimos podrían causar o contribuir en el desarrollo de perturbaciones leves de la función reproductiva masculina. La subunidad α es compartida por las tres gonadotrofinas, la hormona luteinizante (LH), la gonadotrofina coriónica humana (hCG) y la hormona folículo-estimulante (FSH), como así también por la tirotrofina (TSH). Por lo tanto, las mutaciones inactivantes del gen de la subunidad α debería tener consecuencias significativas con respecto al hipogonadismo, hipotiroidismo y seudohermafroditismo (anomalía del desarrollo sexual XY de acuerdo a la nueva nomenclatura). En el sexo femenino, la gestación se vería seriamente comprometida por la ausencia de hCG. Consecuentemente, no se han detectado mutaciones en el gen de la subunidad α en humanos. Raramente, se han descripto mutaciones del gen de la subunidad LHβ en varones. Estos pacientes están masculinizados al nacimiento probablemente debido a la actividad normal de la hCG durante la gestación, pero no se desarrollan sexualmente en la pubertad por la ausencia de la LH hipofisaria y de la estimulación postnatal de la biosíntesis de testosterona en las células de Leydig.

La existencia de mutaciones en el receptor de LH (LHR) se ha descripto en humanos; el fenotipo resultante se observa cuando ambos alelos están inactivados debido a mutaciones homocigotas o heterocigotas compuestas. Las mutaciones inactivantes pueden ser completas o parciales. Con mutaciones del LHR, el testículo carece del estímulo trófico y las células de Leydig no se desarrollan, lo que provoca una agenesia o una hipoplasia de células de Leydig. Los testículos poseen células de Sertoli y células germinales inmaduras ocasionales. Los individuos no se masculinizan debido a la ausencia de andrógenos testiculares fetales así como a la defectuosa biosíntesis de

andrógenos en respuesta a la hCG/LH en la vida postnatal. Las personas con hipoplasia de células de Leydig severa tienen genitales externos femeninos, testosterona baja y LH alta, concentraciones normales de FSH en la infancia y ausencia de desarrollo puberal Los bajos niveles de testosterona y la ausencia de desarrollo mamario distinguen a este cuadro de la insensibilidad completa a los andrógenos (como se discute más abajo). En los casos de inactivación parcial del LHR, la producción testicular de andrógenos puede ser suficiente para provocar una masculinización parcial de los genitales externos, dando como resultado criptorquidia, pene pequeño y/o hipospadias, remedando así la forma parcial del síndrome de insensibilidad a los andrógenos. Las mutaciones con ganancia de función asociadas con una activación constitutiva del LHR han sido descriptas en individuos con pubertad precoz familiar limitada al sexo masculino y de comienzo temprano, también llamada testotoxicosis debido a la elevación cronológicamente anormal en la producción de testosterona. El comienzo temprano de la pubertad causa talla baja en la edad adulta y provoca el impacto psicológico residual de un desarrollo puberal inapropiadamente temprano, mientras que la función testicular y la fertilidad son normales.
Interesantemente, los genes del receptor de FSH (FSHR) y del LHR están localizados en el cromosoma 2p. Las mutaciones con pérdida de función del FSHR provocan un fenotipo en las formas homocigotas o heterocigotas compuestas. Se conocen menos mutaciones del FSH que del LHR, probablemente porque los fenotipos asociados con las primeras son clínicamente menos llamativos. Si bien se presumía que la función de la FSH era esencial para la proliferación y la función de las células de Sertoli y para la regulación de la espermatogénesis, las mutaciones del FSHR reducen el volumen testicular y el recuento espermático, pero no causan azoospermia. Estos hallazgos sugieren que la producción de andrógenos normal en estos hombres es suficiente para iniciar y mantener una espermatogénesis cualitativamente y cuantitativamente reducida que elude el requerimiento de la bioactividad de la FSH.

Trastornos de la biosíntesis de andrógenos

Los andrógenos y los estrógenos se sintetizan a partir del colesterol a través de una serie de pasos enzimáticos bien definidos (Capítulo 5) (Fig. 2).Los defectos en dichas enzimas afectan la biosíntesis de andrógenos en las células de Leydig y la virilización del feto masculino, pero no interfiere con la regresión de los conductos de Müller. Los defectos enzimáticos pueden ser de severidad variable, parcial o completa, y pueden manifestarse en el recién nacido como grados de anomalías del desarrollo sexual que van desde la feminización completa hasta hipospadias leves, o pueden hacerse aparentes recién en la pubertad. Los defectos severos que afectan la biosíntesis de mineralocorticoides y glucocorticoides pueden poner en riesgo la vida del recién nacido.
El primer paso en la vía esteroidogénica involucra la entrada de colesterol a la mitocondria con la asistencia de la proteínas StAR (Steroidogenic Acute Regulatory) y TSPO (Translocator proteína, también conocida como PBR, receptor periférico de benzodiazepinas). Las mutaciones en la StAR causan hiperplasia adrenal lipoidea congénita, una enfermedad potencialmente letal asociada con severa deficiencias de glucocorticoides y mineralocorticoides, así como de otros

esteroides. En el interior de la mitocondria, el colesterol es convertido en pregnenolona por la enzima clivadora de la cadena lateral del colesterol, o sea el citocromo P450scc (también conocido como CYP11A). Los defectos en esta enzima son muy raros, probablemente debido a su letalidad embrionaria. En humanos, la pregnenolona experimenta 17α-hidroxilación, por acción de la P450c17 (CYP17) microsomal, primariamente a 17α-hidroxipregnenolona. La deficiencia de 17α-hidroxilasa es extremadamente rara pero presenta una combinación de infantilismo sexual femenino e hipertensión asociados a deficiencias en la síntesis de esteroides gonadales y suprarrenales, respectivamente. La 17α-hidroxipregnenolona es luego convertida en DHEA por la actividad dual 17,20-liasa del mismo P450c17. La razón 17,20-liasa/17α-hidroxilasa del P450c17 determina la razón de esteroides C21/C19 producidos por las gónadas y las suprarrenales. Dicha razón es regulada a nivel post-transcripcional por al menos tres factores: la abundancia de una proteína dadora de electrones, la P450 óxido-reductasa (POR), la presencia del citocromo b5 y la fosforilación en serina del P450c17. Recientemente se han descripto mutaciones

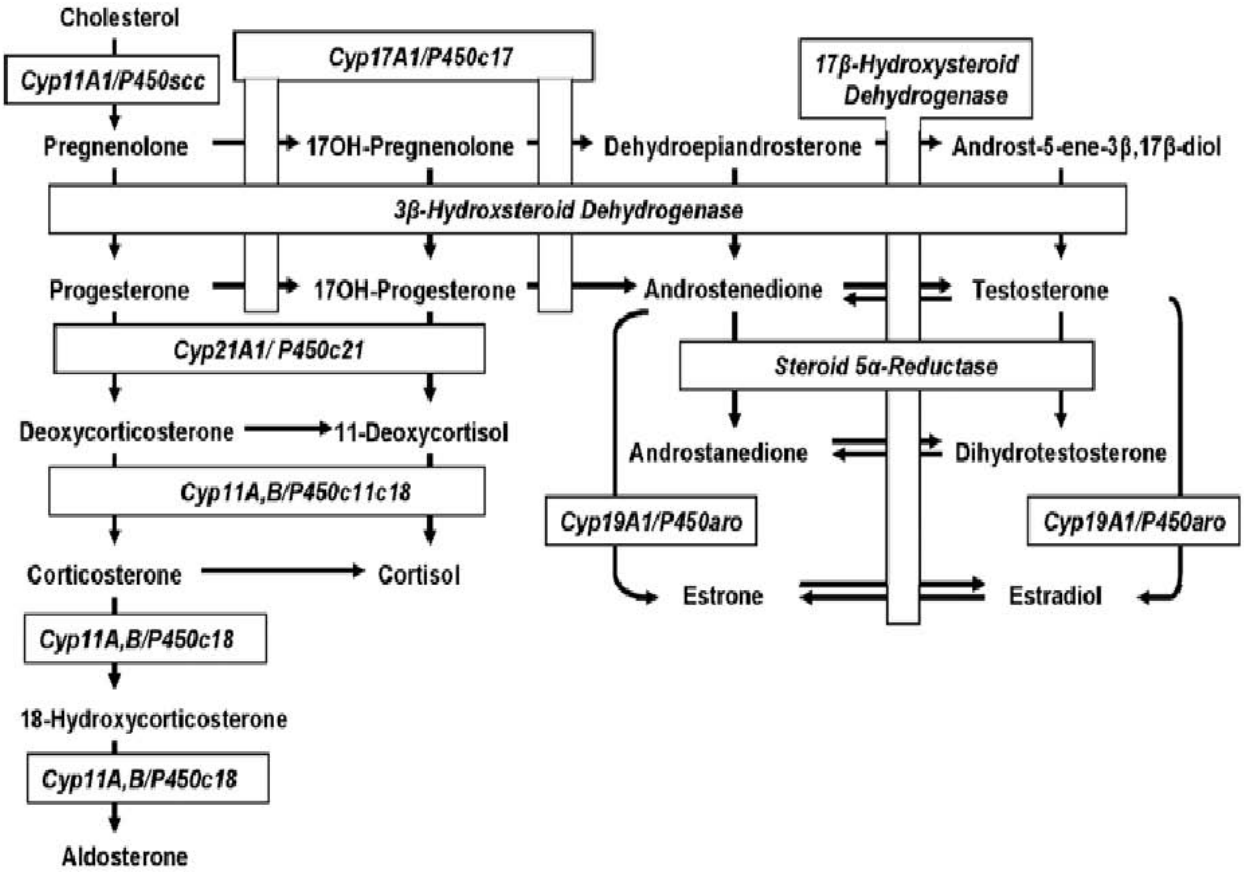


FIG. 2. Las relaciones precursor/producto y las enzimas metabólicas necesarias para la biosíntesis de esteroides en el humano. La vía biosintética primaria que conduce a la testosterona se origina del precursor común de todos los esteroides, el colesterol, que al entrar en la mitocondria es convertido en pregnenolona por el P450scc. A través de una serie de reacciones enzimáticas en el retículo endoplásmico liso, la pregnenolona es secuencialmente convertida siguiendo la vía Δ5 en 17-hidroxipregnenolona, dehidroepiandrosterona, androstenediona y testosterona. En los tejidos periféricos, la testosterona puede ser convertida en el potente andrógeno, dihidrotestosterona, o el potente estrógeno, estradiol.

en la POR, que se manifiestan clínicamente con el síndrome de displasia esquelética de Antley-Bixler, y formas de síndrome de ovario poliquístico. La androstenediona se produce primariamente a partir de la DHEA por la actividad de la 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa, con solo mínimas cantidades que derivan de la 17-hidroxiprogesterona en humanos. Finalmente, la 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa convierte a la androstenediona en testosterona. Esta enzima está presente en las gónadas pero no en las suprarrenales, y su deficiencia puede causar ambigüedad genital al nacimiento pero virilización en la pubertad.

Defectos en la acción de los andrógenos

5α-reductasa de esteroides

Existen anomalías en la bioactividad androgénica debidas a una inadecuada conversión de la testosterona en su metabolito más potente, la 5α-dihidrotestosterona (DHT). Los efectos de la DHT son indispensables en el tubérculo genital y los repliegues labio-escrotales del feto masculino en desarrollo entre las semanas 7 y 12 de gestación para masculinizar completamente los genitales externos. La producción testicular de testosterona y AMH es normal por lo que la regresión de los conductos de Müller ocurre normalmente y las estructuras derivadas de los conductos de Wolff se desarrollan en grado variable. Sin embargo, los conductos espermáticos terminan en forma ciega, por lo que no hay espermatozoides en el eyaculado y el desarrollo de la próstata está afectado. Las mutaciones están presentes en el gen de la isoenzima 5α-reductasa tipo 2. La herencia de la deficiencia en 5α-reductasa es autosómica recesiva y se encuentra frecuentemente en grupos étnicos aislados debido a la consanguinidad. Los individuos no tratados que llegan a la pubertad experimentan virilización de sus genitales externos con crecimiento obvio del falo y desarrollo de un hábito muscular y de un patrón del vello típicamente masculinos. El perfil hormonal se caracteriza por niveles de testosterona normales o elevados pero DHT baja en relación con la testosterona, y niveles elevados de metabolitos urinarios 5β/5α-reducidos en orina.

Receptor de andrógenos

Los defectos completos o parciales en la respuesta a la testosterona y/o DHT se definen como insensibilidad a los andrógenos; el síndrome se debe a mutaciones en el gen del receptor de andrógenos presente en le cromosoma X, que impiden la normal expresión de genes sensibles a los andrógenos. En la forma completa del síndrome de insensibilidad a los andrógenos, los genitales externos son femeninos a pesar de los elevados niveles de testosterona o DHT. En la infancia, los testículos pueden palparse en la región inguinal o labial en algunos casos, si bien son más frecuentemente descubiertos durante la exploración por una aparente hernia inguinal. La vagina es corta debido a la regresión de los conductos de Müller provocada por la secreción de AMH por las células de Sertoli. Los niveles elevados de testosterona son el resultado de la elevación de las gonadotrofinas como consecuencia de la falta de retroalimentación negativa a nivel del eje

hipotálamo-hipofisario. Sin embargo, la aromatización periférica de testosterona lleva a niveles elevados de estradiol que promueve el desarrollo mamario cuando no se le opone el efecto de los andrógenos. El vello axilar y pubiano es escaso. Si el diagnóstico no se realiza en la infancia, la presentación clínica puede ser la amenorrea primaria y la infertilidad a la edad esperada en la pubertad. La incidencia aumentada de tumores testiculares en los testículos no descendidos durante la tercera década de la vida ha llevado a la recomendación de realizar la orquiectomía seguida de la terapia estrogénica. Comparativamente, la forma parcial de insensibilidad a los andrógenos presenta grados variables de virilización genital, desde genitales femeninos apenas virilizados hasta hipospadias, testículos no descendidos y ginecomastia en la adolescencia o aún micropene o infertilidad aislada. Estos individuos pueden presentar genitales ambiguos en e período neonatal con un perfil hormonal que muestra testosterona y LH elevadas, característico de la insensibilidad a los andrógenos. Pruebas diagnósticas con estimulación androgénica pero inadecuado crecimiento peniano en respuesta a los andrógenos son indicativas de insensibilidad a los andrógenos. Si la ambigüedad genital es marcada y existe evidencia bioquímica que demuestra insensibilidad a los andrógenos, debe considerarse la asignación sexual femenina, dado que el defecto parcial puede permitir alguna masculinización en respuesta a la elevación de la testosterona en la pubertad que se acompaña con ginecomastia. La gonadectomía prepuberal impide dichas consecuencias en la pubertad. Recientemente se ha determinado que la expansión anormal de la repetición de trinucleótidos que codifica para la secuencia de poliglutamina en la región amino-terminal del receptor de andrógenos causa atrofia muscular bulbo-espinal en varones jóvenes que pueden presentarse inicialmente con signos de hipogonadismo. Estudios adicionales han sugerido que el polimorfismo de la región de repetición de glutaminas también podría influenciar la fertilidad masculina.

Lecturas sugeridas:

Dinapoli L, Capel B. SRY and the standoff in sex determination. Mol Endocrinol. 2008; 22: 1-9.

Hannema SE, Hughes IA Regulation of Wolffian duct development. Horm Res. 2007; 67: 142-51.

Hughes IA. Minireview: sex differentiation. Endocrinology 2001; 142: 3281-87

Huhtaniemi I. Symposium: Endocrinology of male reproduction and infertility. Mutations along the hypothalamic-pituitary-gonadal axis affecting male reproduction. Reproductive BioMedicine Online. 2007; 15: 622-32.

Miller WL. Disorders of androgen biosynthesis – from cholesterol to dehydroepiandrosterone. Med Princ Pract. 2005; 14: 58-68.

Ramos ES. Turner syndrome: counseling prior to oocyte donation. Sal Paolo Med J. 2007; 125: 112-14.

Visootsak J, Graham JM Jr. Klinefelter syndrome and other sex chromosomal aneuploidies. Ophanet Journal Rare Diseases (BioMed Central). 2006; 1: 42.

¿Existe un gatillo para el inicio de la pubertad en el varón? ¿Debería la pubertad temprana o retrasada ser tratada? Si es así, cómo?.

T.M.Plant y S.F.Witchel

La pubertad en los varones normalmente ocurre entre los 10 y 17 años edad, momento en el cual el individuo madura sexualmente y adquiere la facultad de producir esperma y su capacidad reproductiva.

La pubertad en niños ocurre entre los 10 y los 17 años de vida, cuando el individuo madura sexualmente y adquiere la capacidad de producir espermatozoides y reproducirse. Las manifestaciones clínicas de la pubertad en varones incluyen el aumento del tamaño testicular y del pene, desarrollo de vello pubiano, axilar y facial, olor sudoral, aceleración del crecimiento lineal, incremento de la fuerza muscular así como cambios en el humor y de comportamiento. La transición entre la segunda infancia y la adolescencia ocurre en respuesta a dos procesos fisiológicos que típicamente y secuencialmente se activan en forma independiente. El primero es la adrenarca, que resulta de la maduración de la corteza adrenal asociada a un incremento en la secreción de sulfato de dehidroepiandrosterona y de otros andrógenos adrenales. La adrenarca, cuya etiología es poco comprendida, lleva al desarrollo de vello axilar y pubiano, olor sudoral y acné. El segundo es la gonadarca que resulta del incremento en la secreción de testosterona de origen testicular por la célula de Leydig y la iniciación de la espermatogénesis. Todos los aspectos fenotípicos del desarrollo puberal incluyendo la espermatogénesis son el resultado del incremento en la secreción de testosterona. El estímulo para la liberación de testosterona es el aumento en la secreción de hormona luteinizante (LH) por la glándula pituitaria, que a su vez es generado por la activación de la descarga pulsátil de (1 pulso cada 2-3 hs) la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), desde las terminales axónicas en la eminencia media del hipotálamo hacia la circulación portal que irriga la pituitaria. El GnRH es sintetizado aproximadamente por mil neuronas que están difusamente distribuidas en el hipotálamo. La secreción pulsátil de GnRH también incrementa la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), la cuál actúa en conjunto con la testosterona a nivel de la célula de Sertoli amplificando la acción de los andrógenos para el mantenimiento de la espermatogénesis en su máximo nivel. Para completar la pubertad y mantener una adecuada concentración de testosterona y espermatogénesis en la adultez es necesaria una sostenida pulsatilidad de GnRH hacia la pituitaria.

La red neuronal hipotalámica responsable de la liberación pulsátil de GnRH se desarrolla en la etapa fetal durante la cual promueve el desarrollo de los genitales externos, y se mantiene funcional durante los primeros 6 meses de vida postnatal. Esto se refleja por una secreción elevada de gonadotropinas y testosterona testicular durante la lactancia. Sin embargo el túbulo seminífero del lactante es incapaz de responder a un *milieu* hormonal de “adulto” debido a que las vías de transducción de las señales del receptor de FSH y de andrógenos en la célula de Sertoli no están aún maduras. Más tarde en la infancia, la liberación intermitente de GnRH hipotalámico está muy reducida lo que determina niveles de gonadotropinas bajos que garantizan la continuidad

de la quiescencia del testículo prepuberal. Durante la segunda infancia tanto la pituitaria como el testículo son capaces de responder a la estimulación con GnRH y gonadotropinas, respectivamente, por ello estos componentes del eje reproductivo no limitan el momento del inicio de la pubertad.

El patrón de incremento-descenso-incremento de liberación de GnRH durante las transiciones lactancia-infancia / juventud-adolescencia indican que hay dos críticos “interruptores” o “gatillos” relacionados al inicio de la pubertad: el primero operacional en el lactante lleva a la supresión de la liberación de GnRH durante gran parte del desarrollo prepuberal, y el segundo es el responsable de la reactivación de la liberación intermitente de GnRH al final del desarrollo de la segunda infancia.

La reducción en la liberación de GnRH durante la infancia y segunda infancia es visto como el resultado de la imposición de un freno neurobiológico en el pulso generador de GnRH durante estas fases del desarrollo. Un componente mayor de este freno acontece por una reducción de la entrada estimulatoria de kisspeptina sobre las neuronas de GnRH. La kisspeptina está codificada en el gen KISS1, el cual se expresa en neuronas hipotalámicas localizadas en el núcleo infundibular que rodea la base del tercer ventrículo del cerebro. Kisspeptina es un potente estimulador de la liberación de GnRH vía el receptor 54 ligado a proteína G (GPR54 o KISS1R) el cual es expresado por la neurona de GnRH. La expresión de KISS1 es baja durante la segunda infancia y aumenta durante la pubertad. Mutaciones inactivantes del GPR54 están asociadas con ausencia o retardo puberal. Otros neuropéptidos, en particular neurokinina B, neurotransmisores (GABA y glutamato) y factores de crecimiento derivados de la glia también han sido implicados en este freno neurobiológico.

Dos sistemas de control han sido propuestos para gobernar la sincronización del freno neurobiológico que dicta el patrón de liberación de GnRH postnatal. El primero es un medidor somático que postula que la liberación de GnRH postnatal está gobernada por un sistema hipotalámico que percibe o sigue señales circulantes que reflejan el crecimiento somático. De esta manera, la adquisición de la talla adulta está coordinada con la adquisición de la fertilidad. El segundo postula un “reloj” puberal que también reside en el hipotálamo compuesto por una sofisticada red de genes que codifican para factores de transcripción.

Los trastornos de la pubertad pueden llevar a una pubertad precoz o tardía. Las causas de una pubertad tardía o ausente incluyen deficiencias primarias en la secreción o acción de GnRH y/o gonadotropinas, así como una falla testicular secundaria a un síndrome de Klinefelter (cariotipo 47, XXY), trastornos monogénicos o disgenesias gonadales (ver capítulo 17). Las enfermedades crónicas y la malnutrición pueden llevar a una menor secreción de gonadotropinas. La evaluación bioquímica de una pubertad retrasada incluye las determinaciones séricas de LH, FSH y testosterona, así como una radiografía de edad ósea para evaluar la maduración esquelética. Un retardo puberal secundario a una falla testicular puede ser fácilmente diferenciado de una deficiencia hipotalámica o pituitaria por la historia familiar o personal, el examen físico y los exámenes de laboratorio. Mientras la testosterona es baja en ambos casos, los niveles de gonadotrofinas están elevados solo en la falla testicular. Las enfermedades crónicas y la malnutrición (incluyendo la restricción calórica para limitar el aumento de peso) pueden generalmente ser

diagnosticadas en base a la historia personal, el examen físico y los exámenes de laboratorio. La implementación de un tratamiento específico y una mejoría en la ingesta calórica llevarán a una recuperación del eje reproductor. En ocasiones es necesario el tratamiento hormonal para elevar los niveles de testosterona utilizando gonadotrofina coriónica, LH o testosterona exógena.

El retardo de crecimiento y desarrollo constitucional (RCDC) es una variante familiar normal en la cual los varones presentan los signos de pubertad más tarde que sus pares. Frecuentemente, los varones con RCDC son derivados al endocrinólogo pediatra a medida que toman conciencia de sus discrepancias en talla, fuerza muscular, habilidades atléticas y desarrollo sexual respecto de sus pares. En algunos varones, el desarrollo puberal retrasado puede estar asociado con signos de depresión, ansiedad y dificultades escolares que pueden llevar a disfunciones psicológicas más severas. El tratamiento hormonal durante un periodo relativamente corto, puede aliviar algunas de las diferencias físicas y reducir el impacto de los problemas psicosociales.

La pubertad temprana o precoz es menos frecuente en los varones. Las potenciales consecuencias incluyen la talla alta durante la segunda infancia, aceleración de la maduración esquelética y la prematura manifestación física de la pubertad. El avance en la maduración esquelética frecuentemente lleva a una talla adulta baja secundaria a una temprana fusión de los cartílagos epifisarios de los huesos largos. La pubertad precoz puede ser el resultado de una reactivación prematura de la secreción pulsátil de GnRH causada por uno de varios factores que incluyen tumores cerebrales y disfunciones del hipotálamo. También puede ocurrir como consecuencia de trastornos centrales inflamatorios, posterior a radioterapia cerebral o trauma del cerebro. Los “súper-agonistas” del receptor de GnRH como el acetato de leuprolide y la histerelina son utilizados para tratar estas causas centrales de pubertad precoz.

La pubertad precoz también puede resultar de una excesiva y prematura secreción de andrógenos independiente de GnRH causada por una hiperplasia suprarrenal congénita virilizante, una pubertad precoz familiar autosómica dominante independiente de gonadotropinas (testostoxicosis) o por un tumor de células de Leydig. La hiperplasia suprarrenal congénita representa un grupo de trastornos causado por mutaciones inactivantes en los genes de las enzimas esteroidogénicas que resultan en bajos niveles de cortisol que llevan a un incremento en la secreción de adrenocorticotrofina (ACTH) y la consiguiente estimulación de la secreción de andrógenos adrenales. La testostoxicosis es secundaria a una mutación activante del receptor de LH. Tumores localizados en el hígado, mediastino o el sistema nervioso central pueden secretar gonadotropina coriónica que se une al receptor de LH testicular resultando en un incremento en la secreción de testosterona y pubertad precoz. El tratamiento está directamente dirigido al trastorno causal. En algunas circunstancias estas causas periféricas de pubertad precoz se complican por el desarrollo secundario de un incremento en la secreción pulsátil de GnRH.

Lecturas sugeridas:

Carel JC, Léger J. Clinical practice. Precocious puberty. N Engl J Med 2008; 358:2366-77.

Latronico AC. The neurokinin B pathway in human reproduction. Nat Genet 2009; 41:269-70.

Pescovitz OH, Walvoord EC. When Puberty is Precocious: Scientific and Clinical Aspects. Eds. Humana Press Inc. Totowa, 2007.

Plant TM, Ramaswamy S. Kisspeptin and the regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the rhesus monkey (Macaca mulatta). Peptides 2009; 30:67-75.

Richmond EJ, Rogol AD. Male pubertal development and the role of androgen therapy. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2007; 4:338-44.

Terasawa E, Fernández DL, Neurobiolocal mechanisms of the onset of puberty in primates. Endocr Rev 2001; 22:111-51.

Witchel SF, Plant TM. Puberty: Gonadarche and Adrenarche. In Strauss JF III and Barbieri RL,eds. Yen and Jaffe´s Reproductive Endocrinology. 6th Edition. Elsevier Science: New York. Chapter 17, 2008. in press.

Infertilidad masculina: Epidemiología y evaluación básica

P. Chan

Se estima que una de cada siete parejas tiene problemas para concebir. La incidencia de infertilidad es parecida en la mayoría de países, independientemente de su nivel de desarrollo. Hasta un 80% de parejas con una frecuencia "regular" de actividad coital (cada 2 - 3 días) y que no utilizan ningún método contraceptivo conseguirán la gestación dentro del periodo de un año. Aproximadamente el 92% de las parejas pueden conseguir el embarazo en el periodo de 2 años. A pesar de que en muchas culturas y sociedades la causa de la infertilidad se atribuye a la mujer, la realidad es que en aproximadamente un tercio de las parejas infértiles la causa se debe a problemas en el hombre, otro tercio se debe a problemas en la mujer y otro tercio se debe a una combinación de causas tanto en el hombre como en la mujer. Por lo tanto, la evaluación de la infertilidad masculina es esencial para poder aconsejar a las parejas sobre sus opciones de fertilidad.

La evaluación clínica de la fertilidad masculina se inicia con una historia clínica detallada y una exploración física, lo que generalmente puede aportar una información muy importante en el momento de indicar estudios adicionales analíticos o de imagen con el fin de completar la evaluación. Los dos objetivos principales del estudio de la fertilidad masculina son: identificar factores modificables que puedan mejorar la fertilidad del hombre y detectar cualquier patología encubierta como es el cáncer de testículo o la osteoporosis, así como problemas genéticos y endocrinológicos que se manifiestan por primera vez en forma de infertilidad.

La información fundamental que debe obtenerse de la historia clínica incluye la duración de la infertilidad, la gestación natural previa o los tratamientos para regular la fertilidad. Antecedentes médicos importantes como las infecciones de transmisión sexual, los problemas genitourinarios, las neoplasias, las malformaciones congénitas o los trastornos genéticos pueden ser las causas de la infertilidad. La historia de intervenciones quirúrgicas como la herniorrafia, la cirugía de testículos no descendidos (orquidopexia), traumatismos de la pelvis o del tracto genitourinario puede estar asociada a un mayor riesgo de infertilidad. Deben referirse los fármacos consumidos por el paciente en la actualidad y en el pasado. La historia familiar de infertilidad, alteraciones endocrinológicas, cánceres y otras condiciones genéticas como la fibrosis quística también pueden sugerir una causa subyacente de infertilidad. Una detallada historia sexual y social, incluyendo el consumo de tabaco, drogas recreacionales, esteroides anabólicos, así como la exposición a gonadotoxinas debe constituir parte importante de la evaluación.

La exploración física debe iniciarse con la valoración general del estado físico del hombre, focalizándose sobretodo en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios. Otros signos de infertilidad incluyen la ginecomastia (puede indicar problemas endocrinológicos o hepáticos), la anosmia (indicativo de hipogonadismo hipogonadotrófico) y el situs inversus (asociado a defectos espermáticos). La exploración genital debe realizarse en una sala caliente y debe incluir la evaluación del pene, prestando atención a alteraciones como el

hipospadias (meato urinario en posición ventral) y del desarrollo del escroto y su contenido. Son importantes el tamaño, la consistencia y la simetría de los testículos. El cáncer testicular, que se asocia con la infertilidad, puede presentarse como una masa dura indolora. Los testículos pequeños y blandos pueden estar asociados a hipogonadismo. Un orquidómetro puede ser de ayuda para determinar de forma objetiva el volumen testicular. Los hombres con síndrome de Klinefelter (capítulos 16 y 17), una de las causas genéticas diagnosticadas mas frecuentemente en infertilidad, pueden presentar testículos aumentados de consistencia con un volumen inferior a 3 ml. La presencia bilateral de conductos deferentes y posibles hernias inguinales, así como el volumen y la posición de los epidídimos constituyen datos importantes del examen genital. La inspección y la palpación de varicoceles en el cordón espermático (aumento anormal de las venas que drenan el testículo a nivel del escroto) se debe realizar con el paciente en bipedestación. Finalmente, el tacto transrectal de la próstata puede revelar un aumento de sensibilidad de la glándula, sugerir procesos inflamatorios o infecciosos del tracto genital, así como masas que pueden corresponder a formaciones quísticas, litiasis o cáncer de próstata.

La evaluación básica de laboratorio incluye dos seminogramas (con una diferencia entre ambos de al menos 1 ó 2 meses) y un perfil hormonal a partir de suero obtenido por la mañana. Ante la ausencia de datos significativos obtenidos de la historia clínica y la exploración física, hay investigadores que consideran que si un simple seminograma demuestra una concentración espermática por encima de 60 millones / ml (4 veces los valores de referencia de la OMS) sin que otros parámetros seminales se hallen por debajo de los valores de referencia de la OMS (capítulo 12), no se requiere de mas estudios. Debe enfatizarse que sin una historia clínica detallada y una exploración física completa, el seminograma por si solo, incluso cuando todos los parámetros se hallen dentro de los valores de referencia de la OMS, no es suficiente para descartar la presencia de factores corregibles de infertilidad masculina. A pesar de que el seminograma es el estudio de laboratorio realizado más frecuentemente en el hombre infértil, valores diferentes a los más extremos (muy bajos o muy altos) tienen un valor predictivo bajo respecto a la probabilidad de éxito para conseguir la gestación de la pareja, ya sea de forma natural o mediante técnicas de reproducción asistida.

La analítica básica de sangre para la evaluación de la fertilidad masculina incluye la determinación matutina de la testosterona y de la hormona folículo-estimulante (FSH). El estudio del estradiol, que juega un papel en la supresión negativa de los niveles de gonadotrofinas, también puede ser de utilidad. Ante la presencia de un hipogonadismo (nivel bajo de testosterona) deben determinarse los niveles de la hormona luteinizante (LH) y de la prolactina. La interpretación de los resultados del perfil hormonal debe realizarse conjuntamente con la historia clínica y la exploración física. Un nivel de FSH por encima de 10 UI/L en hombres con azoospermia u oligozoospermia severa es indicativo de patología no obstructiva o de disfunción testicular. Un nivel de FSH en la franja baja de los valores considerados como normales, puede ser indicativo de la presencia de una obstrucción de la vía seminal, lo que puede dar lugar a la ausencia de espermatozoides o a una gran disminución de los mismos en el semen. Valores de FSH muy por debajo del límite inferior de normalidad (< 1,5 UI/L) son

indicativos de hipogonadismo hipogonadotrófico. La determinación del nivel de inhibina B también puede aportar información importante sobre el estatus de la fertilidad. No obstante, el estudio de la inhibina B es caro y no se halla disponible en todos los laboratorios.

En hombres con azoospermia u oligozoospermia severa debe realizarse una evaluación genética. Ante una azoospermia con ausencia de los conductos deferentes debe indicarse un estudio tanto en el hombre como en su pareja para valorar posibles mutaciones del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). En hombres con azoospermia u oligozoospermia severa debido a una disfunción testicular debe realizarse un análisis de sangre para determinar el cariotipo y las microdeleciones del cromosoma Y, lo que permite detectar posibles anomalías cromosómicas. Muchos de los hombres con azoospermia u oligozoospermia severa son candidatos a técnicas avanzadas de reproducción asistida para poder procrear. Dado que estos hombres con alteraciones genéticas pueden transmitirla a su descendencia, es de la mayor importancia ofrecer a la pareja un consejo genético preciso.

Otros estudios para valorar la fertilidad masculina incluyen estudios de imagen como la ecografía transrectal para valorar la presencia de quistes prostáticos y obstrucciones de los conductos eyaculadores, la ecografía escrotal para detectar quistes epididimarios, masas testiculares, varicoceles y otras patologías escrotales y la resonancia magnética para identificar un prolactinoma hipofisario, posible causa de hipogonadismo. La biopsia testicular diagnóstica puede ser realizada para confirmar la presencia de una espermatogénesis normal en hombres con azoospermia u oligozoospermia severa como paso previo a la práctica de una reconstrucción microquirúrgica de la vía seminal con el fin de resolver la obstrucción.

Los estudios moleculares para determinar la integridad de la cromatina espermática han despertado recientemente mucho interés entre los clínicos (capítulo 13). Técnicas como el cometa, el TUNEL y el SCSA ® (estructura de la cromatina espermática) han sido aplicadas al esperma humano por diferentes investigadores. En general, los hombres con infertilidad clínica tienden a tener una integridad más pobre de la cromatina espermática en comparación con hombres que no tienen dificultad para conseguir la gestación natural. Algunos estudios han demostrado que existe una correlación entre la integridad de la cromatina espermática y el éxito reproductivo, mientras que otros no lo consiguen. Actualmente, de acuerdo a las guías de actuación publicadas por la American *Society of Reproductive Medicine*, los estudios de integridad de la cromatina espermática no tienen un relación coste-efectividad para ser indicados en todas las parejas infértiles. Se requieren más estudios para determinar el valor clínico de estos estudios para predecir el éxito en términos de fertilidad y los riesgos de resultados adversos reproductivos.

Lecturas sugeridas:

Alam S. & Niederberger C. Semen analysis. In: Reproductive Medicine Secrets. Chan, Goldstein, Rosenwaks (eds). Hanley & Belfus. Philadelphia. 2004; 31-36

American Society of Reproductive Medicine. The clinical utility of sperm DNA integrity testing (2008). American Society of Reproductive Medicine Practice Committee Report. 2008.

Chuang, W.W., Lo, K.D. and Lamb D. J. Genetic basis of male infertility. In: Reproductive Medicine Secrets. Chan, Goldstein, Rosenwaks (eds). Hanley & Belfus. Philadelphia. 2004; 31-36.

Sandlow, J. Evaluation of male reproductive disorders. In: Reproductive Medicine Secrets. Chan, Goldstein, Rosenwaks (eds). Hanley & Belfus. Philadelphia. 2004; 31-36.

World health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th edition. Cambridge University Press. 2009.

¿Por qué evaluar al hombre infértil en la era de Técnicas de Reproducción Asistida (TRA)?

Terapias médicas y quirúrgicas para la infertilidad masculina

M. Goldstein

Con la Fertilización *In Vitro* (FIV) empleando inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), se pueden lograr nacimientos con vida con sólo una pequeña cantidad de espermatozoides. Entonces por qué molestarse en evaluar al hombre?

1) Hay una incidencia de cáncer testicular de 9 a 20 veces mayor en hombres infértiles comparados con hombres de igual edad en grupos de control.
2) Hay una incidencia de anormalidades genéticas de 30 a 100 veces mayor en hombres infértiles.
3) Varicocele, una dilatación de las venas del plexo pampiniforme, afecta tanto a la espermatogénesis como a la función de las células de Leydig. A cualquier edad, los hombres con varicocele tienen menores niveles de testosterona que los hombres sin varicocele.
4) La mayoría de las parejas prefieren concebir tan naturalmente como sea posible. El tratamiento del hombre a menudo permite mejorar el estado de fertilidad: desde la adopción o el uso de donante de semen, a la recuperación testicular o epididimaria de espermatozoides para FIV/ICSI. El tratamiento puede inducir la aparición de espermatozoides en el eyaculado, permitiendo el FIV/ICSI sin la necesidad de cirugía para la recuperación de espermatozoides. Los hombres que sólo tienen suficiente espermatozoides para FIV/ICSI pueden mejorar su estado para inseminación intrauterina (IUI).
5) Finalmente, el tratamiento del hombre puede permitir la concepción natural.

Azoospermia Obstructiva

Toda azoospermia es obstructiva, mientras el hombre tenga producción normal, o no obstructiva, donde el problema es la falta de producción de espermatozoides. En hombres obstruidos, la presencia de anticuerpos circulantes contra los espermatozoides confirma la presencia de espermatogénesis y obvia la necesidad de la biopsia testicular. Las causas más comunes de azoospermia obstructiva son: previa vasectomía, lesión iatrogénica debido a reparación anterior de hernia (obstrucción del conducto deferente), hidrocelectomía (obstrucción epididimaria), orquidopexia por torsión testicular (obstrucción de un punto que pasa a través del epidídimo), o cualquier otro procedimiento escrotal o inguinal. La vasovasostomía es un procedimiento microquirúrgico altamente exitoso para revertir la obstrucción. La vasovasostomía microquirúrgica (Fig.1) resulta en la aparición de espermatozoides en la eyaculación en más del 90% de los hombres y

las tasas de embarazo, que dependen de la edad de la mujer del paciente, y varían desde 50-80%, dependiendo del tiempo que hace que existe la obstrucción. La obstrucción epididimaria requiere una epidídimo-vaso anastomosis, con la cual se obtienen tasas de éxito del 80% y de embarazo del 40%. Varones que presentan ausencia congénita de los conductos deferentes (usualmente asociado con mutaciones para el gen CFTR, del inglés "*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*") o con obstrucciones irreversibles, pueden ser tratados exitosamente con aspiración microquirúrgica de espermatozoides epididimarios y luego FIV/ICSI.

La eyaculación retrógrada (comúnmente el primer signo de presentación de la diabetes mellitus) puede ser tratada con drogas simpático-miméticas o con la recuperación de espermatozoides de orina para ser usados en inseminación intrauterina o FIV/ICSI.

La ana-eyaculación debida a daño de la médula ósea, diabetes mellitus, disección de nódulos linfáticos retro-peritoneales en casos de cáncer testicular o anaeyaculación de origen psicológico, debe ser tratada en primer lugar con estimulación con vibradores. Si esto no fuera suficiente para conseguir la eyaculación, entonces debe usarse la electro-eyaculación que es altamente exitosa en obtener espermatozoides.

Azoospermia no obstructiva

Las endocrinopatías como el Hipogonadismo Hipogonadotrófico, llamado Síndrome de Kallmann si está presente la anosmia, (Capítulo 18), se presentan usualmente como un retraso de la pubertad debido a la ausencia de testosterona que a su vez es causada por una falta de GnRH (LHRH, del inglés Luteinizing Hormone Releasing Hormone) hipotalámica. De esta manera, no se estimulan los gonadotropos pituitarios para producir LH y FSH. El tratamiento implica el reemplazo de hormonas pituitarias con LH, y, una vez que se logran los niveles de testosterona normales, se agrega FSH. Después de seis a veinticuatro meses del tratamiento, la mayoría de estos hombres atraviesan la pubertad normalmente y comienzan a tener la aparición de espermatozoides en el eyaculado, con buenas tasas de embarazo.

El Síndrome de Klinefelter (47, XXY) puede presentar una forma similar, con un retraso puberal y habito eunucoide (Capítulo 17). Distinto al caso de pacientes H-H, quienes tienen niveles indetectables de testosterona, LH y FSH, los hombres con Klinefelter tienen niveles bajos de testosterona, pero elevada LH y FSH (por ejemplo hipogonadismo hipergonadotrófico). El reemplazo de testosterona los hará pasar por la pubertad, pero esto no inducirá la espermatogénesis. Estos hombres son tratables con extracción testicular de espermatozoides, la cuál es exitosa para obtener espermatozoides en 60% de ellas.

Los hombres con micro-deleciones del cromosoma Y en las regiones AZFa, AZFb y AZFc usualmente presentan azoospermia no obstructiva. Los hombres con una deleción AZFc suelen tener o bien muy escasos espermatozoides en el eyaculado o 60% de las veces se puede encontrar en microdisección testicular espermatozoides adecuados para ser usados con FIV/ICSI. En los hombres con deleciones completas del segmento AZFa o b nunca se han encontrado espermatozoides.

La azoospermia idiopática no obstructiva es difícil de tratar. Si los hombres tienen varicocele palpable, la reparación microquirúrgica inducirá la aparición de espermatozoides en el eyaculado en aproximadamente 50% de las veces. El tratamiento empírico de los hombres con bajos niveles séricos de testosterona, usando citrato de clomifeno o los inhibidores de Aromatasa (Arimidex o Teslac), ha resultado en presencia de espermatozoides en el eyaculado en algunos de estos pacientes. Cuando todos los tratamientos han fallado, estos hombres son candidatos para la microdisección testicular para la recuperación de espermatozoides para ICSI con una tasa de éxito del 60% y tasas de nacimientos vivos del 40% cuando los espermatozoides son recuperados exitosamente.

Oligoastenoteratozoospermia

Los defectos aislados de conteo de espermatozoides, movilidad o morfología son raros. La mayoría de los hombres infértiles presentan bajo conteo, pobre movilidad y morfología anormal. La etiología más común para esto es el varicocele, encontrado en 30% - 40% de los hombres infértiles, 70-80% de los hombres con infertilidad secundaria, pero solo en el 15% de la población general. De todos los hombres que tienen varicocele, aproximadamente el 20% son grado III o lo que es lo mismo, varicoceles severos. Estos son visibles a través de la piel escrotal, y son los que más probablemente responderán al tratamiento. Esto significa que aproximadamente el 3% de todos los hombres en la población general tienen varicocele de grado III. La varicocelectomía profiláctica en hombres jóvenes o chicos con varicocele de grado III pueden prevenir infertilidad futura y deficiencia androgénica. Las técnicas micro quirúrgicas para reparar el varicocele son extremadamente seguras y efectivas. Se produce un significativo aumento de la cuenta y calidad espermáticas en el 70% de los hombres operados, con un 40% de embarazos. Además, la varicocelectomía microquirúrgica incrementa significativamente los niveles de testosterona y puede en el futuro ser aceptado como tratamiento para la deficiencia androgénica.

Cuando no hay etiología identificable, los tratamientos empíricos con citrato de clomifeno, el cual se combina con receptores de estrógeno y así bloquea la retroalimentación negativa al hipotálamo y pituitaria y aumenta los niveles de LH y FSH, se han reportado como tratamientos que mejoran la producción de espermatozoides en algunos hombres.

Prevención

Los testículos fabrican aproximadamente 50.000 espermatozoides por minuto. Es exquisitamente sensible a los efectos adversos de los perturbadores del ambiente y gonadotoxinas (Capítulos 28-30). Las recomendaciones de estilo de vida incluyen evitar gonadotoxinas tales como el alcohol, marihuana y cocaína. Tener cuidado con el efecto adverso de medicamentos recetados, tales como las sulfamidas usadas para el tratamiento de la enfermedad intestinal inflamatoria, bloqueantes de canales de calcio usados para el tratamiento de la hipertensión, así como también agentes quimioterapéuticos y terapia de radiación usadas para el tratamiento del cáncer. A todos los varones post-púberes y los hombres en quienes se planea quimioterapia o terapia de radiación se les debería aconsejar sobre la importancia de la criopreservación de espermatozoides antes del tratamiento (Capítulo 14). Experimentalmente, a los varones prepúberes con cáncer que se someterán a quimioterapia o terapia de radiación se les podría extirpar tejido testicular y luego criopreservarlo para su posterior maduración *in vitro.*

Resumen

Como resumen, hay muchas razones que obligan a tratar al hombre por infertilidad. La evaluación y tratamiento por un especialista entrenado en infertilidad masculina y microcirugía tiene resultados óptimos. La colaboración de especialistas en técnicas de reproducción asistida optimiza los resultados para las parejas infértiles permitiendo a la mayoría de los hombres tener sus propios hijos.

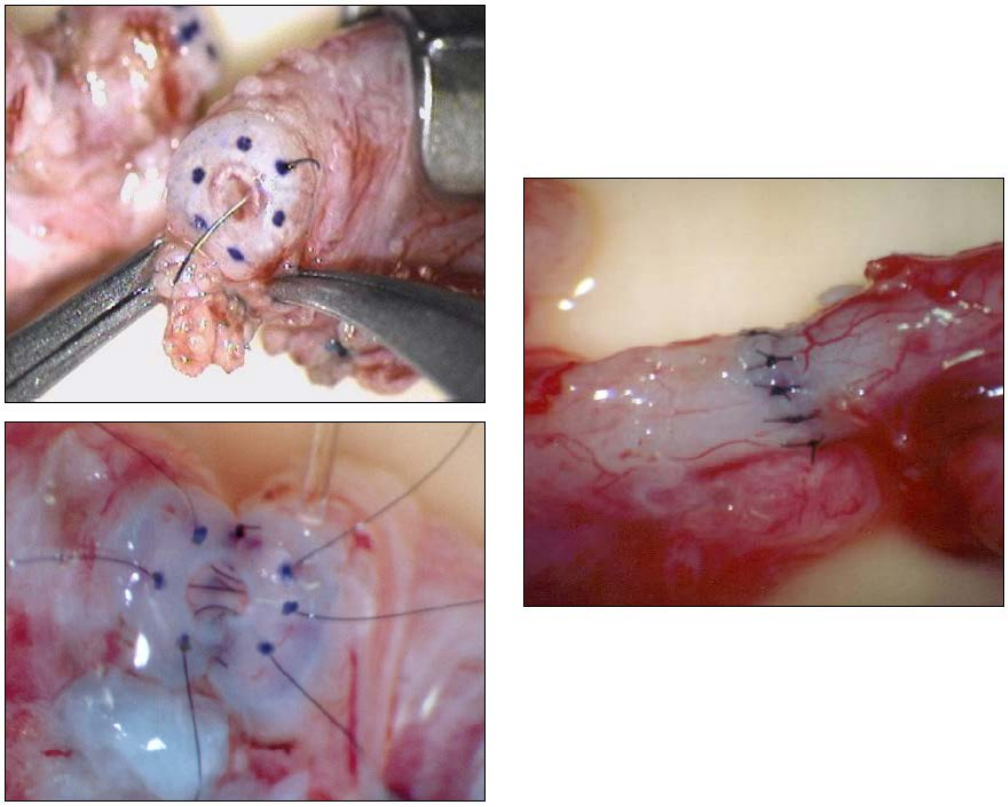


FIG 1. Procedimientos quirúrgicos involucrados en la microcirugía de vasovasostomía.

Lecturas sugeridas:

Chan P, Goldstein M, Rosenwaks Z (eds.) Reproductive Medicine Secrets. Hanley & Belfus, Inc., Philadephia, 2004.

Goldstein M. Trainee. J Androl. 2006; 27: 161-63.

Goldstein M, Tanrikut C. Microsurgical management of male infertility. Nature Clinical Practice Urology. 2006; 3: 381-91.

Kolettis PN, Sabanegh ES. Significant medical pathology discovered during a male infertility evaluation. J Urol. 2001; 166: 178-80.

Lee R, Goldstein M, Herman MP, Ullery BW, Ehrlich J, Soares M, Razzano RA, Callahan MA, Schlegel PN. Value of serum antisperm antibodies in diagnosing obstructive azoospermia. J Urol. 2009; 181: 264-9.

Marmar JL, Agarwal A, Prabakaran S, Agarwal R, Short RA, Benoff S, Thomas AJ, Jr. Reassessing the value of varicocelectomy as a treatment for male subfertility with a new meta-analysis. Fertility and Sterility. 2007; 88: 639-48.

Raman JD, Nobert CF, Goldstein M. Increased incidence of testicular cancer in men presenting with infertility and abnormal semen analysis. J Urol. 2005; 174: 1819-22.

Raman JD, Schlegel PN. Aromatase inhibitors for male infertility. J Urol. 2002; 167: 624-29.

¿Cuáles son las técnicas de reproducción asistida para la infertilidad masculina?

Indicaciones de IIU/FIV/ICSI, Recuperación quirúrgica de espermatozoides

P.N. Schlegel

Los problemas de infertilidad masculina se producen básicamente cuando hay una disminución en la cantidad y calidad de los espermatozoides. En algunos casos se concentran los espermatozoides por lavado y se colocan a nivel uterino en el momento en que la mujer está ovulando. Para que este proceso (denominado comúnmente inseminación intrauterina –IIU-) sea exitoso, se requieren habitualmente unos 5 millones de espermatozoides móviles en el eyaculado. Una técnica más avanzada para favorecer el encuentro entre los espermatozoides y los ovocitos, es la fecundación *in vitro* (FIV). Este proceso incluye el tratamiento de la mujer usando inyecciones de hormonas para estimular en los ovarios a producir múltiples ovocitos, la recuperación de los mismos y la fecundación de esos ovocitos fuera del cuerpo. Luego de la incubación de los ovocitos fecundados (embriones) durante varios días en el laboratorio, son transferidos en un número limitado al útero de la mujer. Desde un inicio se reconoció que un semen alterado se asocia con poca eficiencia para fecundar los ovocitos, aún cuando los espermatozoides sean puestos próximos a los ovocitos en el laboratorio. De hecho, se reconoció que el éxito en la FIV era bajo si los espermatozoides eran anormales. Entre las condiciones que incluyen alteraciones severas del semen se encuentra una baja cuenta espermática en el eyaculado, una severa disminución de la movilidad o anomalías en sus características morfológicas. Todas estas características se encuentran presentes en muestras de semen de individuos con alteraciones en la espermatogénesis. Cuando hay una deficiencia marcada del número o la calidad espermática o una capacidad limitada para la fecundación en FIV, se debe considerar la posibilidad de efectuar una inyección espermática intracitoplasmática (ICSI) para poder tener una expectativa razonable de embarazo.

En el año 1991, los Dres. Gianpiero Palermo y Andre Van Steiterghem de Bélgica, identificaron que la ICSI podría aumentar la capacidad fecundante de un semen alterado. El Dr. Palermo, durante un intento de colocar espermatozoides cerca del óvulo, inyectó accidentalmente un espermatozoide en el interior del mismo. Esto resultó en un óvulo fecundado y el desarrollo de un embrión que se transfirió al útero de la mujer obteniéndose el embarazo y el nacimiento de un niño sano. Con este “accidente” se inició una revolución en el tratamiento de la infertilidad, especialmente en el tratamiento de alteraciones muy severas de la fertilidad masculina. Por lo tanto la ICSI ha ampliado el espectro de casos de infertilidad masculina que pueden ser tratados. Así, mientras que los espermatozoides del testículo o el epidídimo eran considerados incapaces de fertilizar, la ICSI ha cambiado nuestra visión de la capacidad fecundante de espermatozoides “inmaduros” recuperados del tracto reproductivo masculino. Actualmente la utilización de ICSI no se limita al número bajo de espermatozoides (oligozoospermia), las alteraciones severas de la movilidad (astenozoospermia) o de la forma espermática (teratozoospermia), sino que también pueden ser utilizados espermatozoides

testiculares o epididimarios que no han pasado por el aparato reproductivo del hombre.

El desarrollo de la ICSI animó a realizar una búsqueda más exhaustiva de espermatozoides testiculares no solo en el caso de cuadros de obstrucción de la vía espermática, sino también en casos de hombres con alteración severas en la producción espermática por lo que no tienen espermatozoides en el eyaculado (azoospermia).

Para realizar la técnica de inyección de un solo espermatozoide (ICSI), es necesario efectuar una fecundación *in vitro*. Esta técnica involucra la estimulación controlada de la ovulación en la mujer, para que produzca múltiples folículos en ese ciclo de tratamiento, en vez del folículo único que se produce en cada ciclo. Para esto, se utilizan medicamentos que suprimen el control natural de la ovulación, seguidos de la inyección de hormonas con acción FSH por un lapso de 3-4 semanas para estimular el crecimiento folicular. La respuesta de la mujer es monitoreada con controles ecográficos periódicos y determinaciones hormonales. Cuando se obtiene un desarrollo folicular óptimo evaluado por el tamaño de los folículos y los niveles de hormonas femeninas en sangre, se administra una inyección de hormona hCG (del inglés human Chorionic Gonadotropin) que equivale al “pico de LH” que se produce naturalmente antes de la ovulación para producir la maduración final de los ovocitos. Los mismos son aspirados por punción folicular guiado por control ecográfico bajo una ligera anestesia general. Luego los ovocitos son inyectados en los ovocitos fuera del cuerpo (*in vitro*).

Los ovocitos fecundados (ahora embriones) son mantenidos en cultivo durante 3 a 5 días antes de transferirlos a la mujer. La probabilidad de un embrión de implantarse y desarrollar un feto es de 20 a 50%, dependiendo de la calidad embrionaria antes de la transferencia. Asimismo, las probabilidades de embarazo por cada intento de FIV varía mucho según la edad de la mujer. Las probabilidades de nacimiento de un chico por cada intento de FIV es promedio de alrededor de 30%, sin embargo esa probabilidad cae a 10% en mujeres de más de 40 años.

Teniendo en cuenta que los espermatozoides que se utilizan en FIV e ICSI no suelen tener capacidad para fecundar naturalmente, existen dudas de los potenciales defectos de nacimiento después de la aplicación de estas técnicas (Capítulo 23). A la fecha, el riesgo de defectos de nacimiento no parece ser mayor con espermatozoides seleccionados para ICSI, aunque existe un riesgo incrementado de anomalías cromosómicas, pequeño pero estadísticamente significativo. Este incremento del 0,2 al 0,8% con ICSI puede deberse a anormalidades en el hombre o por el procedimiento de ICSI por si mismo.

El desarrollo de las técnicas de reproducción asistida, FIV e ICSI, han revolucionado el tratamiento de la infertilidad masculina severa. En la actualidad muchos hombres con imposibilidad para ser padres naturalmente son tratados rutinariamente con el uso de FIV/ICSI. Muchos doctores creen que el tratamiento específico de las anormalidades del hombre hacen innecesarias estas técnicas de reproducción asistida, ya que si se obtiene una mejoría en la producción espermática se puede lograr un embarazo natural. La ICSI ha permitido también el tratamiento de otro grupo de hombres como son aquellos que no tienen espermatozoides en el eyaculado y en quienes se debe efectuar

una recuperación de espermatozoides. Los resultados de estos tratamientos continúan siendo estudiados.

Lecturas sugeridas:

Alukal JP, Lamb DJ. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)--what are the risks? Urol Clin North Am. 2008; 35: 277-88,

Neri QV, Takeuchi T, Palermo GD. An update of assisted reproductive technologies results in the United States. Ann N Y Acad Sci. 2008; 1127: 41-8.

Nyboe Andersen A, Carlsen E, Loft A. Trends in the use of intracytoplasmatic sperm injection marked variability between countries. Hum Reprod Update. 2008; 14: 593-604.

Sarkar NN. Intracytoplasmic sperm injection: an assisted reproductive technique and its outcome to overcome infertility. J Obstet Gynaecol. 2007; 27: 347-53.

Schlegel PN. Nonobstructive azoospermia: A revolutionary surgical approach and results. Semin Reprod Med. 2009; 27: 165-70.

¿Existen factores genéticos asociados con la infertilidad masculina?

D. Lamb

Las bases genéticas de la infertilidad masculina probablemente representen una de las más importantes, aunque subestimadas, causas de la infertilidad masculina. El diagnóstico actual de la infertilidad masculina ha sido principalmente descriptivo, p.ej. criptorquídea o falla en el descenso testicular, falla testicular, infertilidad idiopática (de causa desconocida). Estos diagnósticos reflejan un conocimiento pobre del proceso de regulación, desarrollo y función del tracto genital masculino, del proceso de la espermatogénesis, de la eyaculación y de la fecundación. Cada uno de estos procesos es complejo de estudiar debido a la expresión de miles de genes que son requeridos y la dificultad de estudiarlos. Por consiguiente, las causas genéticas de la infertilidad deberían ser un área muy importante en la medicina reproductiva. Las técnicas de reproducción asistida han sido desarrolladas para superar la infertilidad permitiendo, de esta manera, que las parejas infértiles puedan convertirse en padres biológicos (Capítulo 21). Estas tecnologías incluyen fecundación in vitro (FIV) (bebés de probeta), la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, del inglés *Intracytoplasmic Sperm Injection*), utilizada conjuntamente con la FIV y el Diagnóstico Genético Preimplantatorio (PGD, del inglés *Preimplantational Genetic Diagnosis*), para seleccionar el embrión libre de alguna enfermedad genética específica. Sin embargo, introduciéndonos en estas técnicas observamos que están destinadas a eludir presiones naturales evolutivas. En esencia, un hombre infértil representa el final de una línea genética. En la naturaleza la infertilidad es una condición genética letal, tal como los defectos genéticos que provocan infertilidad, y quizás síndromes genéticos, evitando que éstos se transmitan a otras generaciones. Las técnicas de reproducción asistida pasan por alto estos puntos de control evolutivos.

¿Cuáles son los problemas genéticos hasta ahora conocidos que causan infertilidad masculina? La evaluación más simple que se puede hacer a nivel genético es un cariotipo, estudio que consiste en ver los cromosomas, determinando cantidad, forma y tamaño. El cariotipo sería como mirar a los volúmenes de una enciclopedia en una biblioteca. El número de volúmenes son chequeados y se evalúa si faltan largas porciones. Con este tipo de estudio se pueden reconocer una cierta cantidad de defectos genéticos. Las anormalidades cromosómicas (ambas numéricas y estructurales) representan un porcentaje significativo en la infertilidad masculina. Si no existe un diagnóstico adicional o evaluación física en particular, se pueden encontrar defectos cromosómicos en el 6% de los hombres infértiles presentan defectos cromosómicos. Por ejemplo, el síndrome de Klinefelter (XXY, XXXY o XXXXY) está presente en el 14% de los azoospérmicos no obstructivos (ausencia de espermatozoides en el eyaculado debido a un problema en la producción espermática) (Capítulo 17). Este síndrome es un ejemplo de defecto numérico en los cromosomas, en el que se gana o se pierde un cromosoma. Otros defectos cromosómicos más complejos se presentan cuando existen mezclas de células o mosaicos (XY, XO, XYY, etc.). Cuando se pierde una parte del cromosoma, se duplican o se encuentran fragmentos

cambiados de lugar se dice que tenemos defectos estructurales a nivel de los cromosomas. Este tipo de defectos pueden ser, translocaciones, inversiones, duplicaciones o deleciones y también son causa de infertilidad masculina. Un ejemplo de esto está dado por las microdeleciones del cromosoma Y en la que la porción que se pierde es tan pequeña que no se puede ver en un cariotipo, razón por la cual hay que recurrir a técnicas o herramientas más avanzadas de diagnóstico molecular (análogo a la pérdida de páginas de un capítulo). Estas microdeleciones están presentes entre el 8 al 12 % de los hombres con infertilidad como azoospermia no obstructiva y en un pequeño porcentaje de hombres con oligozoospermia (bajo número de espermatozoides en el eyaculado).

También se pueden encontrar mutaciones o deleciones en genes individuales. Ésta es un área en la que se está investigando activamente y en la que gran parte del conocimiento proviene del estudio de modelos animales. La disrupción de genes que codifican para proteínas que están involucradas en: la determinación y desarrollo sexual, la biosíntesis de las hormonas esteroideas o proteicas, metabolismo o acción de receptores, genes involucrados en la señalización parácrina (célula a célula) del testículo por medio de los factores de crecimiento, citoquinas y sus receptores, genes involucrados en aspectos estructurales de la espermatogénesis, la formación y función de espermatozoides y la fecundación, pueden causar infertilidad masculina. El desafío de los investigadores es la complejidad del proceso que regula estos pasos importantes que son requeridos para la fertilidad, haciendo difícil la individualización del defecto específico en cada paciente. No obstante, como se discute más abajo, hay algunos ejemplos que dan idea de la importancia que tiene definir estos defectos.

Los hombres con obstrucción en el sistema ductal reproductivo asociado a ausencia congénita bilateral de vasos deferentes (CBAVD, del inglés *Congenital Bilateral Agenesis of the Vas Deferens*) poseen mutaciones en el gen de la proteína reguladora transmembrana de fibrosis quística o CFTR (del inglés *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) que codifica para un canal iónico que bombea cloro fuera de la célula. Las mutaciones más comunes del gen CFTR son aquellas asociadas a la fibrosis quística. La observación de que los pacientes con fibrosis quística tienen también CBAVD lleva a los investigadores a preguntarse si los pacientes con CBAVD que no tienen fibrosis quística tienen mutaciones en el mismo gen. El gen CFTR es “enorme”, con más de 1300 mutaciones diferente identificadas a la fecha. No es sorprendente que, las mutaciones que causan fibrosis quística difieran (las mutaciones severas) de aquellas que causa CBAVD (las mutaciones benignas). Los hombres con CBAVD podrían tener la mutación en un solo alelo o dos mutaciones benignas en cada uno de los alelos. Alternativamente una mutación fibrosis quística severa puede ser hallada en un alelo con una benigna en el otro. El polimorfismo del alelo 5T en una región no codificante (intrón 8) del gen CFTR, que es comúnmente encontrada en hombres con CBAVD en asociación con una mutación CFTR en el otro alelo, puede resultar en una disminución en la cantidad sintetizada de la proteína CFTR.

La reproducción asistida con recuperación quirúrgica de espermatozoides para ICSI es prácticamente la única esperanza para estos hombres de ser padres. Para los hombres con CBAVD, se asume que tienen una mutación en el gen

CFTR. La esposa es generalmente estudiada para averiguar las mutaciones genéticas que con mayor frecuencia causan fibrosis quística (entre 30-50 de las ~1300 mutaciones). Por consiguiente, aún cuando la evaluación genética en la esposa da “negativa” para una mutación CFTR, al menos que se secuencie el gen entero, ellas mantienen el riesgo de concebir un niño con fibrosis quística o CBAVD. En el pasado, antes que se identificara la causa genética de CBAVD, las parejas se sometían a la reproducción asistida con el riesgo de dar a luz un niño afectado. La historia CBAVD-CFTR representa un ejemplo en donde la tecnología (de reproducción asistida) se desarrolló antes de que se comprendieran las consecuencias clínicas del método.

Finalmente, a causa de que las técnicas de fecundación asistida superaron la infertilidad, son estas seguras para la descencia? En general los niños aparentan ser saludables aunque hay una alta incidencia de bajo peso y defectos al nacer (particularmente aquellos que afectan al sistema genitourinario) requiriendo corrección quirúrgica. Hay un sutil aumento en la incidencia de los desordenes genéticos como Beckwidth-Wiedeman. La mayoría de los niños que nacen parecen saludables. Obviamente se requieren estudios de seguridad y eficacia de estos procedimientos a largo plazo.

Para las parejas infértiles es importante entender la causa de la misma. Les permite tomar decisiones con respecto a sus opciones: técnicas de reproducción asistida, donante de esperma, adoptar o no tener hijos. Esto es particularmente importante cuando se conoce la causa genética de infertilidad, ya que este defecto puede ser transmitido a la descendencia. Además, como algunas causas genéticas de infertilidad pueden causar también anormalidades sistémicas en el hombre infértil (o la descendencia), en un futuro, será de crítica importancia el estudio genético avanzado para diagnosticar la causa de infertilidad.

Lecturas sugeridas:

Alukal JP, Lamb DJ. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)--what are the risks? Urol Clin North Am. 2008; 35: 277-88, ix-x.

Carrell DT, De Jonge C, Lamb DJ. The genetics of male infertility: a field of study whose time is now. Arch Androl. 2006; 52: 269-74.

Chillon M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, Romey MC, Ruiz-Romero J, Verlingue C, Claustres M, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. N Engl J Med. 1995; 332: 1475-80.

Costes B, Girodon E, Ghanem N, Flori E, Jardin A, Soufir JC, Goossens M. Frequent occurrence of the CFTR intron 8 (TG)n 5T allele in men with congenital bilateral absence of the vas deferens. Eur J Hum Genet.1995; 3: 285-93.

Handyside AH, Lesko JG, Tarin JJ, Winston RM, Hughes MR. Birth of a normal girl after in vitro fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. N Engl J Med.1992; 327: 905-9.

Jarvi K, Zielenski J, Wilschanski M, Durie P, Buckspan M, Tullis E, Markiewicz D, Tsui LC. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and obstructive azoospermia. Lancet.1995; 345: 1578.

Lipshultz LI, Lamb DJ. Risk of transmission of genetic diseases by assisted reproduction. Nat Clin Pract Urol. 2007; 4: 460-1.

Matzuk MM, Lamb DJ. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. Nat Cell Biol. 2002; 4 Suppl: s41-9.

Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet.1992; 340: 17-8.

Reijo R, Alagappan RK, Patrizio P, Page DC. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. Lancet.1996; 347: 1290-3.

¿Cómo podemos evaluar la salud resultante en los niños concebidos mediante técnicas de reproducción asistida?
Consideraciones éticas en andrología.

T.J. Walsh y M.S. Croughan

Introducción

Las últimas 4 décadas han contemplado una revolución en el tratamiento de la infertilidad, comenzando con el nacimiento de Louise Brown, concebida mediante fecundación *in vitro* (FIV) en el Reino Unido en 1978 (Steptoe & Edwards, 1978). La FIV evitó muchas dificultades para obtener un embarazo natural permitiendo que el óvulo pudiese ser fecundado fuera del cuerpo humano, transfiriendo el embrión así logrado a la cavidad uterina materna. Aunque esta técnica evita ciertas dificultades para el embarazo natural, los futuros padres deben tener espermatozoides adecuados en el eyaculado que ha de ser usado en la fecundación.

Este pre-requisito paterno fue casi eliminado en 1992 con el advenimiento de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), en la que aún hombres que producen muy pocos espermatozoides, son capaces de engendrar mediante la inyección directa de un único espermatozoide en el ovocito mismo. Esta tecnología fue luego superada por el conocimiento de que hombres sin espermatozoides en el eyaculado pueden establecer un embarazo mediante la obtención de espermatozoides testiculares. De esta manera son eliminados muchos aspectos de la selección natural a nivel de la fecundación del ovocito. Ciertas etiologías genéticas de la infertilidad masculina, que normalmente hubieran sido letales para la línea germinal, pueden ahora ser transmitidas a la próxima generación (Capitulo 22). Además, aún en casos en que hay múltiples espermatozoides disponibles en el eyaculado, el espermatozoide se selecciona manualmente basado en su apariencia más que en su habilidad natural para fecundar un ovocito.

Desde la introducción de FIV, con y sin ICSI, más de un millón de niños han nacido en todo el mundo hasta el año 2005 con el uso de esta tecnología. Más importante ahora, el uso de ICSI se ha incrementado dramáticamente aún en ausencia de infertilidad masculina severa. Las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) no tuvieron estudios clínicos rigurosos, de fase múltiple, para determinar los resultados e identificar consecuencias perinatales o infantiles adversas. Como resultado, parejas que se someten a tratamientos de infertilidad, especialmente aquellas tratadas por ICSI, pueden haberlo hecho sin una comprensión completa de los riesgos potenciales para su descendencia a corto y a largo plazo.

Barreras para el estudio de los resultados de TRA

Antes de intentar interpretar los datos disponibles en los resultados reproductivos de TRA es importante comprender las múltiples dificultades asociadas con este campo de estudios. En primer lugar, hay dificultades en la selección de un grupo adecuado de niños con el que pueda compararse el grupo concebido por tecnología. Esto alude a la pregunta fundamental: ¿los resultados adversos en TRA ocurren como resultado directo de la causa de infertilidad (por ejemplo anomalías fisiológicas o genéticas), como resultado de la tecnología aplicada o como una combinación de ambas? Para contestar correctamente estas preguntas los estudios deben comparar niños concebidos por parejas infértiles con TRA no solamente con aquellos concebidos espontáneamente por parejas fértiles sino también con aquellos concebidos espontáneamente por parejas infértiles. Además, como ICSI se aplica ahora a casos que no representan las formas más severas de infertilidad masculina, los niños concebidos mediante ICSI por padres con anomalías severas en el semen deben ser comparados con niños nacidos por tecnología similar, con padres con parámetros seminales

normales. El reclutamiento de tales poblaciones para comparar es no solo difícil sino también costoso.

Un segundo problema en el estudio de los resultados de acuerdo a la salud es la confusión que se ha creado por los muchos otros factores que están asociados con ambos, infertilidad y resultados adversos perinatales y de la niñez, y que pueden o no mediar la asociación entre infertilidad y resultados adversos. Son ejemplos las edades avanzadas maternas o paternas y las gestaciones múltiples.

En tercer lugar, es difícil evaluar objetivamente los resultados obtenidos en niños nacidos mediante TRA. Estas dificultades incluyen errores en la selección introducidos por el intenso escrutinio de los niños concebidos por TRA por parte de los padres y los médicos, en relación con aquellos concebidos naturalmente; la falta de seguimiento prolongado y consistente en ambos, el grupo de estudio y el grupo control y la falta de parámetros selectivos de clasificación confiables, mediante los cuales se clasifican los resultados adversos (incluyendo anomalías congénitas). Finalmente, la habilidad en el uso de TRA ha evolucionado en forma rápida y continua en las últimas tres décadas por lo que los resultados evaluados en los niños hoy son los resultados de tecnologías aplicadas muchos años antes. Esto incluye cambios en las técnicas de cultivo embrionario, en la duración del cultivo y en el tamaño y número de embriones transferidos al útero. Como corolario, la evaluación de los resultados ha demostrado ser un “blanco móvil”.

Resultados en la salud de la progenie en TRA

A pesar de las dificultades mencionadas anteriormente, muchos estudios han tratado de entender la potencial asociación entre TRA y los resultados adversos en la salud de la progenie. En general, el uso de TRA parece ser seguro; sin embargo datos retrospectivos sugieren que la infertilidad y/o sus tratamientos pueden conferir riesgo aumentado para ciertos eventos de salud adversos en ambos, el período perinatal y durante la niñez. Para mayor claridad las discusiones de los resultados en términos de la salud de la progenie, se estudian en las siguientes categorías: 1) enfermedades genéticas 2) período perinatal y 3) niñez.

Riesgo genético

Muchas formas de infertilidad masculina y femenina tienen una etiología genética subyacente. Ciertas anomalías que en cierto momento no eran transmisibles a la progenie debido a una infertilidad incurable, hoy pueden ser superadas con el uso de tecnología, en particular, ICSI. Ejemplos específicos incluyen la fibrosis quística, una enfermedad pulmonar grave que en la mayoría de los hombres se acompaña de la ausencia congénita bilateral de los vasos deferentes. Como resultado esta mutación fatal puede ahora ser transmitida directamente a la progenie. Deleciones de ciertos genes en el cromosoma Y pueden originar infertilidad masculina y cuando se transmiten a un componente masculino de la progenie pueden perpetuar y aún empeorar este “fenotipo infértil”. Además de estos “fenotipos infértiles” la progenie concebida por TRA parece tener riesgo mas elevado para enfermedades debidas a “imprinting” genético y anomalías cromosómicas, comparados con aquellos concebidos naturalmente.

Evidencia reciente ha sugerido que algunos hombres infértiles pueden tener deficiencias en la habilidad para reparar el ADN y que tales defectos pueden conferir un riesgo mayor para ciertos cánceres y son transmisibles a la prole.

Riesgo perinatal

Resultados de salud adversos que ocurren en la progenie en el período perinatal son virtualmente inseparables de aquellos que ocurren en la madre y en el feto. Claramente una gran parte del riesgo de eventos indeseables es el resultante de gestaciones múltiples. El uso

de TRA históricamente ha conferido un aumento del riesgo de embarazos múltiples, dado que comúnmente se transfiere más de un embrión en el útero materno en un esfuerzo por aumentar las posibilidades de embarazo. La relación entre gestaciones múltiples, trabajo de parto prematuro, bajo peso en el nacimiento y cuidados intensivos neonatales prolongados, ha sido claramente descripta. Más importante todavía, algunos datos sugieren que aun cuando se toman en cuenta las gestaciones múltiples, los niños nacidos por FIV tienen un riesgo mayor de resultados adversos y aquellos concebidos por ICSI tienen un riesgo aún mayor.

Riesgos en la infancia

A pesar de las inconsistencias para definir y categorizar las malformaciones congénitas y para adquirir datos de seguimiento prolongado, numerosos estudios han demostrado en forma consistente una incidencia más alta de malformaciones congénitas en la progenie concebida mediante TRA en relación a los niños concebidos naturalmente. Particularmente preocupante ha sido la incidencia mayor de ciertas anomalías génito-urinarias que requieren corrección quirúrgica y que pueden implicar riesgos para la salud a largo plazo en los hombres adultos. Mas importante aún, estudios comparativos de resultados en niños concebidos por parejas infértiles mediante el uso de ICSI, con los de niños concebidos espontáneamente por parejas infértiles no encontraron diferencia alguna en la tasa de malformaciones mayores o menores, sugiriendo que el aumento del riesgo puede tener su origen en la genética de la pareja y no en la aplicación de tecnología.

No se ha establecido con certeza si los niños nacidos mediante TRA tienen un mayor riesgo de anomalías del desarrollo neurológico. Este aspecto particular del conocimiento ha sido perjudicado por un seguimiento limitado y variable dentro de la progenie. Sin embargo, datos recientes de una cohorte significativa de niños concebidos por parejas estériles con o sin el uso de TRA, sugiere que puede haber un riesgo mayor de tales trastornos comparados con el de niños concebidos por parejas fértiles. En este estudio, los niños concebidos por parejas infértiles tenían tres veces más riesgo de ser portadores de un diagnóstico de parálisis cerebral, retardo mental, autismo, trastornos convulsivos o cáncer cuando estos problemas fueron considerados juntos como resultados “severos”. Los niños concebidos por parejas estériles, también tienen 40% más de posibilidades de que se diagnostiquen en ellos alteraciones de salud moderadas tales como déficit de atención en trastornos de hiperactividad, trastornos de atención deficitaria, trastornos de aprendizaje o de conducta, retardo del desarrollo, trastornos serios de la visión o de la audición a la edad de 6 años cuando se los compara con niños concebidos por parejas fértiles. Sin embargo los autores llaman la atención sobre el hecho de que estas afecciones eran aún muy raras en estos niños y que la mayoría de niños nacidos de parejas estériles eran sanos y no tenían problemas de salud significativos. Ellos confirmaron también que no parece haber diferencias significativas en los resultados en cuanto a la salud de estos niños, basados en los tratamientos de infertilidad usados para concebirlos. Más bien parece que los factores que inicialmente contribuyeron a la infertilidad pueden continuar y causar problemas durante el embarazo y en los niños resultantes.

Conclusiones

Cuando se asesore a pacientes que consideran la utilización de técnicas reproductivas de avanzada para concebir su hijo o hijos, es importante considerar la salud y la edad de la pareja, los problemas genéticos así como los indicadores previos de fertilidad y de gestación. Aunque la mayoría de los niños serán sanos, el riesgo de resultados adversos aumenta con la predisposición genética, edad materna y paterna avanzadas y la severidad de la infertilidad.

Las parejas deben considerar y pesar todas las opciones posibles para tener una familia, en vista de los riesgos y beneficios del tratamiento de la infertilidad.

Lecturas sugeridas:

Abuzeid MI, Chan YM, Sasy MA, Basata S, Beer M. Fertilization and pregnancy achieved by intracytoplasmic injection of sperm retrieved from testicular biopsies. Fertil Steril.1995; 64: 644-6.

Alukal JP, Lamb DJ. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)--what are the risks? Urol Clin North Am. 2008; 35: 277-88, ix-x.

Bonduelle M, Van Assche E, Joris H, Keymolen K, Devroey P, Van Steirteghem A, Liebaers I. Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. Hum Reprod. 2002; 17: 2600-14.

Bonduelle M, Wennerholm UB, Loft A, Tarlatzis BC, Peters C, Henriet S, Mau C, Victorin-Cederquist A, Van Steirteghem A, Balaska A, Emberson JR, Sutcliffe AG. A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. Hum Reprod. 2005; 20: 413-9.

Buck Louis GM, Schisterman EF, Dukic VM, Schieve LA. Research hurdles complicating the analysis of infertility treatment and child health. Hum Reprod. 2005; 20: 12-8.

Croughan M, Schembri M, Bernstein D, Chamberlain N, Purcell N, Camerano L. Maternal and Childhood Outcomes Following Infertility and Infertility Treatment. ASRM New Orleans, LA, 2006.

Halliday J. Outcomes of IVF conceptions: are they different? Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2007; 21: 67-81.

Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects--a systematic review. Hum Reprod. 2005; 20: 328-38.

Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. Obstet Gynecol. 2004; 103: 551-63.

Jain T, Gupta RS. Trends in the use of intracytoplasmic sperm injection in the United States. N Engl J Med.2007; 357: 251-7.

Lie RT, Lyngstadaas A, Orstavik KH, Bakketeig LS, Jacobsen G, Tanbo T. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. Int J Epidemiol. 2005; 34: 696-701.

Maduro MR, Casella R, Kim E, Levy N, Niederberger C, Lipshultz LI, Lamb DJ. Microsatellite instability and defects in mismatch repair proteins: a new aetiology for Sertoli cell-only syndrome. Mol Hum Reprod. 2003; 9: 61-8.

Maher ER. Imprinting and assisted reproductive technology. Hum Mol Genet. 2005; 14 Spec No 1: R133-8.

Mulhall JP, Reijo R, Alagappan R, Brown L, Page D, Carson R, Oates RD. Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod. 1997; 12: 503-8.

Nudell D, Castillo M, Turek PJ, Pera RR. Increased frequency of mutations in DNA from infertile men with meiotic arrest. Hum Reprod. 2000; 15: 1289-94.

Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet. 1992; 340: 17-8.

Pinborg A. IVF/ICSI twin pregnancies: risks and prevention. Hum Reprod Update. 2005; 11: 575-93.

Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. J Assist Reprod Genet. 2004; 21: 437-43.

Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet. 1978; 2: 366.

Zhu JL, Basso O, Obel C, Bille C, Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: Danish national birth cohort. BMJ. 2006; 333: 679.

¿Cómo se minimiza el factor del macho en la subfertilidad de los animales de compañia y de producción?

R.P. Amann

Introducción

La propagación de animales de compañía y de producción ocurre primariamente por el uso planificado de reproductores que se sabe tansmiten los rasgos deseados. También es un objetivo la exclusión de los machos que son evidentemente subfértiles. La utilización de reproductores superiores está facilitada por la inseminación artificial (IA) (Capítulo 25). La IA predomina en vacunos de leche y cerdos, es popular en perros y caballos, pero está prohibida en caballos de pura sangre. La cópula natural predomina en vacunos de carne y ovejas. Pocos toros de leche no seleccionados poseen una tasa de preñez mayor a 8% por debajo del promedio nacional, debido a que por más de 15 generaciones han sido sacrificados los toros con semen de mala calidad o bajo porcentaje de preñez antes de su uso extensivo en IA. Sin embargo, 1 de cada 5 toros de carne no seleccionados puede ser subfértil.

Función reproductiva

Las diferencias entre especies están magníficamente descritas e ilustradas en el trabajo de Senger. Los testículos se encuentran suspendidos entre los miembros posteriores, excepto en los cerdos que se encuentran debajo del ano. Los padrillos poseen un pene eréctil como los humanos, mientras que los toros, verracos y carneros tienen un pene fibroelástico el cual se endereza al ingurgitarse con sangre a partir de un pene flácido con forma de S. En el perro, un hueso peneano permite la intromisión antes de la completa ingurgitación vascular. Salvo en el perro, el complemento de glándulas sexuales accesorias es como en el humano, ej. vesículas seminales, próstata y glándulas bulbouretrales.

La espermatogénesis requiere 39 a 61 días, dependiendo de la especie. La producción diaria de espermatozoides por gramo de parénquima testicular es comúnmente de 10-19x10^6 en toros, perros o padrillos y 21-25x10^6 en verracos y carneros (en contraste al 4x10^6 en el hombre). El peso de un testículo puede variar entre un rango de 8 a más de 700 gramos (perro pequeño y verraco, respectivamente) y la producción diaria de espermatozoides por macho varía desde cerca de 0,4x10^6 en perros, 5-8x10^6 en toros, carneros y padrillos, hasta 16x10^6 en verracos (en contraste al 0,07-0,28x10^6 en el hombre). El tránsito de los espermatozoides a través del epidídimo dura 7-17 días, siendo el mayor intervalo el transcurrido en el *cauda* o cola del epidídimo. Las colas de ambos epidídimos pueden contener espermatozoides suficientes (3-130x10^9) para un determinado número de eyaculados. La eyaculación frecuente reduce el número de espermatozoides en la cola del epidídimo en más de un 50% cuando ocurren igual o más de 10 eyaculaciones en un día. Cuando no hay emisiones o eyaculaciones por más de 6 a 10 días, los espermatozoides son “volcados” en la uretra pélvica y eliminados con la orina.

La regulación endocrina de la función reproductiva en animales machos es similar a la descrita para hombres (Capítulos 2, 4, 5, 8). Sin embargo, existen

tanto variaciones diarias como estacionales en la secreción pulsátil de LH y testosterona. La variación estacional es pronunciada en carneros y padrillos, disminuyendo la producción espermática un 30-80% en la estación no reproductiva (otoño y primavera, respectivamente, en las latitudes nórdicas). El fotoperíodo es la señal primaria que sincroniza un ritmo endógeno.

Recolección de semen

La evaluación espermática es central para minimizar la subfertilidad. La recolección de semen es fácil en la mayoría de los animales utilizado una vagina artificial (VA), masturbación o electroeyaculación (EE). La motilidad y morfología de los espermatozoides no se afecta por el método de recolección de semen. Una VA es un cilindro, que contiene agua tibia entre una camisa y un forro de látex para proveer calor y ejercer una ligera presión sobre el pene inserto, acoplado a un recipiente para recibir el semen. La VA puede ser utilizada en machos de la mayoría de las especies. Al macho se le presenta un animal simulado o maniquí y cuando monta, el pene es dirigido hacia la VA permitiendo la intromisión y la eyaculación. Este método provee generalmente un eyaculado representativo. El semen de padrillos y toros es usualmente recolectado con una VA. En verracos y perros la presión sobre el pene estimula la eyaculación. Se permite que el macho monte a una hembra en estro o a un maniquí y el operador simplemente comprime el extremo libre del pene protruido para imitar el interior del cérvix de la cerda o los músculos del vestíbulo vaginal de la perra, se aplica la presión necesaria y se dirige el semen dentro de un receptáculo. La EE implica una apropiada sujeción del macho, la colocación transrectal de un vástago con tres electrodos longitudinales sobre los nervios adyacentes y la aplicación rítmica de una estimulación eléctrica suave. Este método es útil en toros, carneros y animales silvestres. El eyaculado resultante está generalmente más diluido que el obtenido usando una VA.

La emisión y eyaculación requiere sólo unos pocos segundos en toros y carneros o menos de un 1 minuto en padrillos. En verracos y perros el proceso de eyaculación está constituido por series de emisiones y eyaculaciones de varios minutos, por lo que es común dirigir sólo la fracción rica en espermatozoides dentro del receptáculo seminal. El espermatozoide de verracos, toros, perros, carneros y padrillos tiene una cabeza oval con un acrosoma compacto sobre la parte proximal del núcleo por debajo de la membrana plasmática. La forma de la cabeza permite distinguir a los espermatozoides de las diferentes especies.

Examen de aptitud física y reproductiva

Los propietarios de animales de producción y de compañía saben que la mayoría de los machos no serán utilizados como reproductores debido a que un macho puede preñar a más 25 hembras durante una estación reproductiva de 1 a 3 meses (vacunos de carne, caballos) o a lo largo de un año (vacunos de leche, perros, cerdos). Los futuros reproductores son seleccionados por razones genéticas y los machos no seleccionados son castrados. Luego de la pubertad, los machos seleccionados son generalmente sometidos a un examen de aptitud física y reproductiva (EAFR; en inglés BSE, Breeding Soundness Examination) o andrológico por un veterinario.

El objetivo del EAFR es identificar machos posiblemente subfértiles o no apropiados, por otras razones, para la reproducción al momento del examen. El término subfértil es relativo y para animales de compañía o producción podría ser un macho con testículos relativamente pequeños o cuyo semen posee más espermatozoides inmótiles o con anormalidades morfológicas que los esperados. Un EAFR incluye una historia, un examen físico completo, una evaluación de los testículos, epidídimos, glándulas accesorias y pene y una recolección y evaluación del semen. El número de espermatozoides en un eyaculado (considerando edad y especie) y la motilidad y características morfológicas de los espermatozoides obtenidos pueden ser diagnósticos, especialmente si son recolectadas múltiples muestras. La ausencia de espermatozoides en un eyaculado no significa que el macho sea estéril, debido a que ocasionalmente la emisión de espermatozoides de los conductos excretores no ocurre a pesar de la emisión de los fluidos de las glándulas sexuales accesorias que son luego eyaculados.

En el semen de buena calidad, más del 70% de los espermatozoides tienen cabezas con morfología normal, un acrosoma no hinchado, sin gota citoplasmática residual en el cuello o en la región del annulus y poseen una cola de aspecto normal. Especialmente en verracos y toros, se han asociado defectos morfológicos específicos con la incapacidad de un espermatozoide de fecundar un ovocito o de producir un embrión normal. En el semen de buena cualidad, más del 60% de los espermatozoides deben mostrar motilidad progresiva cuando son evaluados en una suspensión diluida a 37°C.

Un macho que falla un EAFR debería superar un examen similar de 1 a 6 meses más tarde. Pasar un EAFR es generalmente un prerrequisito para la venta de un reproductor. Un macho que supera un EAFR será de una fertilidad razonable, ej. útil comercialmente, cuando copule con hembras normales. Sin embargo, cambios subsecuentes o factores no detectados podrían disminuir su fertilidad. Un ejemplo es la falta de libido bajo condiciones extensivas, ya que una prueba de capacidad de servicio no es parte de un EAFR y la EE es generalmente utilizada para obtener el semen examinado. De manera importante, cuando un reproductor es utilizado con un grupo de hembras, el porcentaje de preñez colectiva dependerá de los factores hembra y manejo.

A medida que progresa el proceso reproductivo, los propietarios de los animales controlan la preñez de las hembras. Si un propietario sospecha que el porcentaje de preñez es bajo en situación de cópula natural, un veterinario podría ser requerido para realizar un EAFR en el (los) macho(s). Esto es de ocurrencia frecuente con valiosos perros de criadero, padrillos de haras o toros de carne de cabaña. Luego las preguntas incluyen “¿Por qué es pobre el porcentaje de preñez, la calidad seminal o el comportamiento sexual de este macho?” y “¿Cuál es el pronóstico de mejorara?”. Generalmente el paso del tiempo (más de 2 meses) es la terapia con mejor relación costo/beneficio. Las empresas de mejoramiento genético controlan la calidad del semen preparado para la venta en un laboratorio andrológico integral y también con resultados del semen vendido para IA. Ellas cesan la distribución de cualquier macho cuya calidad seminal cae por debajo de sus estándares o cuyo porcentaje de preñez parece bajo, ej. mayor o igual al 8% por debajo del promedio.

Factores asociados a la subfertilidad

Los problemas clínicos en animales previamente normales pueden deberse a varias causas. Tal vez las más comunes son el calor y la humedad. El calor afecta a muchos verracos, toros y padrillos. Para eliminar una "caída de verano" en la calidad seminal, ej. disminución de los porcentajes de espermatozoides morfológicamente normales y mótiles debido a la elevada temperatura intratesticular o de la cola del epidídimo, muchos criadores o empresas de mejoramiento genético mantienen a los machos valiosos en instalaciones con aire acondicionado. Los carneros son menos afectados porque son reproductores otoñales y sus testículos se "elevan" a medida que la temperatura desciende. Los perros de criadero generalmente son mantenidos en áreas más frescas. De todos modos, se ven casos de oligospermia y aumento del número de células morfológicamente anormales como consecuencia del estrés por calor. Las temperaturas frías generalmente no son un problema. Los cambios inducidos por la temperatura son diagnosticados por la reseña o los resultados del EAFR. La terapia involucra eliminar los factores causales y permitir de 2 a 6 meses de recuperación.

Los agentes infecciosos son problemas comunes, especialmente las enfermedades venéreas. La brucelosis es una enfermedad venérea que causa epididimitis, orquitis y azoospermia en vacunos, ovejas y perros. Los animales afectados deberían ser sometidos a eutanasia. Otras infecciones bacterianas son comunes en padrillos y perros de criadero. La presencia de células sanguíneas blancas en el semen causa sospecha y pruebas basadas en cultivo seminal diferencial identifican el microorganismo. La terapia es la indicada por la sensibilidad en cultivo.

Los traumas son un problema común en reproductores libres en condiciones extensivas. El diagnóstico es sencillo y el tratamiento involucra intervención quirúrgica o terapia médica. Las parasitosis y los problemas metabólicos son poco comunes, pero pueden ser diagnosticados por la reseña y la manifestación clínica que luego guía el tratamiento médico.

Resumen

El factor masculino/del macho en la subfertilidad es minimizado por la selección a través de exámenes andrológicos seguidos por evaluaciones del eyaculado y las características espermáticas. Los machos con testículos pequeños o que producen semen de calidad inferior, cuyos espermatozoides muestran una calidad por debajo de los estándares en las evaluaciones de laboratorio o cuyo semen no proporciona un porcentaje de preñez comercialmente útil, son eliminados del programa reproductivo.

Lecturas sugeridas:

Cupps PT. Reproduction in Domestic Animals (4th Ed). New York, NY: Academic Press Unc.; 1991.

McKinnon A, Voss J, eds. Equine Reproduction. Philadelphia: Lea and Febiger; 1993.

Morrow DA. Current Therapy in Theriogenology. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

Senger PL. Pathways to Pregnancy and Parturition (2nd Ed). Pullman, WA: Current Conceptions; 2005.

Youngquist RS, Threlfall WR. Current Therapy in Large Animal Theriogenology (2nd Ed). St. Louis, MO: Saunders Elsevier; 2007.

¿Qué debemos saber de inseminación artificial (ia) en animales?

R.P. Aman y D.L. Garner

¿Por qué la IA tiene un gran impacto?

El objetivo más importante de la IA es aumentar el número de crías de animales de calidad superior. Las ventajas secundarias son la eliminación de la transmisión de enfermedades durante el servicio y la reducción de lesiones en las personas involucradas en el manejo de los animales grandes. Mediante monta natural, un cerdo, un toro, un perro, un carnero o un padrillo equino pueden preñar más de 25 hembras en 1 a 3 meses. Con la producción semanal de espermatozoides de un macho pueden ser inseminadas alrededor de 25.000 vacas o hasta 100 cerdas. Como con el uso de IA la selección de los machos reproductores es muy intensa, la mayoría de los machos no son necesarios para generar las siguientes generaciones. Los reproductores potencialmente superiores son producidos por uso planificado del semen de un macho de abundante progenie presentando características sobresalientes de producción.

La IA facilita la selección intensiva paterna. Esto ha mejorado sustancialmente la producción de leche por vaca y en menos de 10 generaciones ha producido cerdos con reses magras y más tiernas. Un grupo reducido de toros produce más de 150.000 dosis inseminantes en un año o 1,5 millones de dosis en su vida reproductiva. Producir tantas dosis por macho permite, al repartir el costo proporcionalmente, realizar un control sanitario estricto de los reproductores utilizados para IA, cubrir sus necesidades de alojamiento, realizar controles andrológicos y de procesamiento en el laboratorio, monitorear la "*performance*" reproductiva y la transmisión de enfermedades a las crías.

La mayoría de los verracos que están en programas de IA son utilizados intensivamente a partir de los 7 meses de edad y son reemplazados en ≤ 12 meses después. En toros de razas lecheras el semen se procesa a partir de los 11 -15 meses de edad y es utilizado para inseminar aproximadamente 1.500 hembras en 75 a 150 rodeos. Ocasionalmente un macho joven de élite puede producir hasta 10.000 dosis para IA. Los toros se dejan de usar durante un año hasta establecer la calidad de sus hijas en términos de evaluación fenotípica para facilidad en el parto y producción de proteína en leche. Las hijas de un mismo toro son comparadas con las de los demás toros del mismo rodeo y de diferentes rodeos para determinar cuáles toros transmiten mejor las características deseadas. Aproximadamente 1 de cada 9 machos "evaluados" retornan a la actividad y los restantes 8 son eliminados. Para el año 2012, el análisis del polimorfismo de un solo nucleótido debería permitir la estimación del potencial genético para facilidad de parto y producción de leche de una hembra recién nacida. Datos de esta índole para las primeras 200 hembras nacidas de un mismo toro modificará el paradigma de la selección del macho, especialmente en la medida que aumente la precisión de la predicción. Actualmente un toro para IA puede permanecer en servicio durante 3 a 5 años. En cambio, perros y caballos permanecen en servicio mientras haya demanda de su semen.

La IA es realizada mediante el depósito transcervical intrauterino de espermatozoides. Una vez obtenido el eyaculado, el semen es diluido con un

medio especial y mantenido a 5 ºC (en la mayoría de las especies) o a 17 ºC en el cerdo para ser usado dentro de los 6 días pos-eyaculación o ser criopreservado y mantenido a -196 ºC para ser utilizado en meses o años futuros (Capítulo 14). Esto permite la distribución nacional de dosis refrigeradas para inseminar hembras o de dosis congeladas para su distribución nacional e internacional (según regulaciones internacionales de bioseguridad y salud). Dado que los procedimientos de criopreservación en cerdos son imperfectos, el semen refrigerado es el más utilizado en esta especie porque se pueden inseminar miles de hembras en áreas cercanas. Semen refrigerado y congelado son utilizados en perros y caballos (la IA esta prohibida en caballos pura sangre de carrera). El semen congelado es el más utilizado en ganado lechero. En ganado de carne si bien se utiliza semen congelado, la monta natural es predominante. La IA con semen refrigerado es obligatoria para los pavos dado que los machos alcanzan pesos considerables antes de la pubertad, siendo demasiado pesados para poder cubrir a las hembras. En todos los casos el manejo del semen es crucial.

Uso de la IA

Tanto en Norteamérica como en Europa se inseminan anualmente aproximadamente 11 millones de vacas. En el mundo se preparan anualmente 230 millones de dosis de semen congelado y 12 millones de dosis de semen refrigerado, necesitándose 2 a 3 dosis para lograr preñez en la mayoría de las hembras. La mayoría de las cerdas son inseminadas con semen refrigerado, llegando a un total de 21 y 18 millones de inseminaciones anuales en Norteamérica y Europa, respectivamente.

¿Cómo se miden los resultados de la IA?

Fertilidad simplemente significa “ser fértil”. El porcentaje de concepción o de fecundación es la proporción de ovocitos expuestos a espermatozoides que forman una zigota. Debido a que el porcentaje de fecundación *in vivo* no se puede medir, excepto en proyectos de investigación especiales, tiene un valor limitado. El porcentaje de preñez es útil siempre que el valor promedio esté acompañado por el método de determinación de la preñez, ej. La detección ultrasonográfica del embrión y el intervalo de tiempo desde el servicio o IA, el porcentaje de no retorno al celo y el número de hembras utilizadas para evaluar el promedio, además indicar si el porcentaje fue calculado tomando en cuenta todas las hembras potenciales de inseminar o sólo las que realmente fueron inseminadas. Los porcentajes de preñez son siempre menores a los porcentajes de fecundación porque algunos de los zigotos no desarrollarán embriones detectables o fetos viables.

Es muy común referirse a los machos como subfértiles o muy fértiles, basado en el porcentaje de preñez obtenido en un población de hembras. Sin embargo, esta apreciación no toma en cuenta tres hechos importantes. Primero, el macho puede ser penalizado por la falta de preñez obtenida en hembras que nunca fueron inseminadas. Segundo, el porcentaje de preñez primo-inseminación generalmente es menor a los porcentajes de preñez acumulados al final de la temporada reproductiva. Tercero, el porcentaje de preñez es = (fertilidad del macho) (fertilidad de la hembra x factor manejo). El factor manejo incluye hembras inseminadas que no estaban en estro. La validación de esta ecuación se evidencia mejor con muchos datos dado que

los resultados de preñez de un mismo animal pueden ser muy diferentes si se trata de hembras nulíparas (vaquillonas) vs. hembras que ya han parido varias veces (vacas) o de hembras ubicadas en distintas unidades de producción.

Mejorando el semen antes de la IA

Los especialistas en andrología animal han aprendido en 65 años que se puede mejorar la naturaleza. La exposición del semen a ciertas lipoproteínas o proteínas más que la simple dilución en soluciones con sales, mejoran la integridad de las membranas espermáticas y mejoran los porcentajes de preñez con IA. Miles de publicaciones describen diluyentes y procedimientos mejorados. Los estudios apuntan a mejorar la funcionalidad y la sobrevida luego del almacenamiento a 17 ºC, 5 ºC, o -196 ºC. Los aditivos utilizados incluyen antioxidantes, moléculas de origen vegetal y moléculas sintéticas derivadas de componentes del semen.

Uso de semen sexado

La modificación de los porcentajes de nacimientos de hembras o machos puede arrojar beneficios económicos en la producción de alimento de origen animal. Las hembras son preferidas en explotaciones de lechería y en explotaciones porcinas. La idea pasó de ser un sueño a la realidad en los años 80, con el desarrollo de citómetros de flujo capaces de detectar el 3 a 5% más de ADN que tiene el cromosoma X del espermatozoide con respecto al cromosoma Y. La separación por sexo basada en otros atributos aún continúa siendo investigada.

Trasladar el sexado de semen a la esfera comercial requería que el propietario de la patente resolviera un sinnúmero de problemas tales como problemas electrónicos, de programación en computación, de líquidos y biológicos. Desde 1999 en varias especies se produce regularmente progenie del sexo deseado. Mejoramientos técnicos permitieron establecer comercialmente el semen sexado en el Reino Unido en el 2000 y en Estados Unidos de Norteamérica (EEUU) en 2004. Desde 2006, las principales compañías de genética bovina, han adquirido equipos de sexado de semen. A fines de 2008 se establecieron los equipos de sexado en 17 centros comerciales alrededor del mundo. El sexado de semen limitó la dosis inseminante a ~2×10^6 espermatozoides, minimizando la posible disminución de los porcentajes de preñez utilizando hembras nulíparas (vaquillonas). Más del 60 % de los espermatozoides son descartados durante el proceso de sexado por motivos propios del equipo, por estar muertos o ser del sexo no requerido. Los espermatozoides sexados son procesados, envasados en pajuelas de 0,25 ml y criopreservados. Aproximadamente 90% de los espermatozoides sexados de una dosis tienen el cromosoma sexual requerido.

Tres millones de dosis de semen sexado criopreservado fueron producidas en 5 centros de EEUU en 2008 habiéndose exportado ~1 millón de esas dosis. Actualmente, ~7 millones de dosis han sido producidas en EEUU y otros 3 millones más en otros países. Aproximadamente el 97% de la producción de semen sexado ha sido seleccionado a favor del cromosoma X y los productores obtuvieron ~90% de nacimientos de hembras. En un reporte reciente se obtuvo un 47% de preñez a primo-inseminación en 33.879

hembras nulíparas inseminadas con semen sexado de 157 rodeos. Este porcentaje de preñez fue un 80% de la preñez obtenida luego de la IA con semen convencional (15-20 x 10^{6} espermatozoides) en otro grupo de hembras nulíparas pertenecientes a los mismos 157 rodeos.

Resumen

La IA fue la primera técnica de reproducción asistida utilizada masivamente y sigue siendo la más importante para el mejoramiento genético y la producción de recién nacidos. En EEUU, millones de vacas de razas lecheras, cerdos y vacas de razas de carne son reproducidas por inseminación artificial como también los equinos, aunque en menor número. La separación por sexo de espermatozoides por citometría de flujo funciona en muchas especies pero comercialmente solo en bovinos, produciéndose hasta el momento en EEUU 5 millones de dosis sexadas criopreservadas.

Lecturas sugeridas:

DeJarnette JM, Nebel, RL, Marshall CE. Understanding Estimates of AI Sire Fertility Plain City, OH; http://www.selectsires.com/ UnderstandingAISireFertility.pdf. 2008.

DeJarnette JM, Nebel RL, Marshall CE. Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from farm records. Theriogenology, 2009; 71: 49-58.

Garner DL, Seidel GE Jr. History of commercializing sexed semen for cattle. Theriogenology. 2008; 69: 886-95.

Salisbury GW, Van Demark NL. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle, 2nd Ed. San Francisco, CA: WH Freeman; 1978.

Seidel GE Jr. Brief introduction to whole-genome selection in cattle using single nucleotide polymorphisms. Reprod Fertil Dev. 2010; 22: 138-44.

Sharp JC, Evans KM. Advances in flow cytometry for sexing sperm. Theriogenology. 2009; 71: 4-10.

¿Hay una disminución en el recuento de espermatozoides en los hombres?

R.J. Sherins y G. Delbes

Hace ya varias décadas en las que existe una continua y generalizada preocupación en los países industrializados por la potencial disminución de la salud reproductiva en los hombres. Esto ha sido apoyado por el descubrimiento de defectos congénitos génito-urinarios en algunas especies inferiores, debido a la exposición a tóxicos industriales en el medioambiente. Los xeno-estrógenos o "estrógeno-símiles" han generado un particular interés debido a su potencial para alterar las funciones celulares y fisiológicas, incluso en dosis mínimas. Esto ha generado el concepto de que la exposición a tales "disruptores endócrinos" podría producir cambios clínicamente detectables en las funciones reproductivas humanas; siendo las exposiciones intrauterinas y tempranas, las potenciales causas de trastornos reproductivos masculinos a largo plazo.

Esta hipótesis fue apoyada por un meta-análisis publicado en 1992, que comprendía 61 estudios de calidad de semen humano dentro de un período de 50 años (1938-1991) que comprendía alrededor de 15.000 hombres de 23 países diferentes. Se encontró una disminución del 50% en el recuento de espermatozoides (113 a 66 millones/ml) durante ese período. Una preocupación adicional por la declinación de la calidad del semen a lo largo del tiempo fue generada por una publicación francesa de 1995, que comunica una disminución del 30% en los recuentos de espermatozoides (89 a 60 millones/ml) en los donantes parisinos durante un período de 20 años (1970-1992). A continuación, una gran cantidad de estudios, revisiones y editoriales adicionales han apoyado o rechazado la posibilidad de que la fertilidad masculina, evaluada en términos de recuento espermático, estuviera realmente cambiando. Sin embargo, entre las investigaciones agregadas, solo algunas mostraron declinaciones indudables en la calidad seminal; la mayoría de los trabajos no encontraron un decaimiento o hallaron aumentos o cambios mixtos en los parámetros seminales (Capítulo 12). No obstante, la inquietud por la disminución de la fertilidad masculina fue mantenida en los titulares principalmente por los medios que se focalizaban solo en una porción de la información (la declinación de los recuentos espermáticos), mientras que la comunidad científica planteaba interrogantes sobre la validez de los datos, como se discute a continuación.

En varios de los estudios reportados, las críticas relativas a las conclusiones obtenidas en los diversos estudios que sostienen la disminución global de la calidad del semen, se basan en numerosos cuestiones conocidas que afectan profundamente la calidad seminal. Estos incluyen: 1) falta de criterios estandarizados para la recolección de muestras de semen, 2) los sesgos introducidos por la utilización de diferentes metodologías de recuento espermático, 3) inadecuado muestreo intra individual en el análisis , 4) fallas en el reporte de los intervalos de abstinencia y la frecuencia eyaculatoria, 5) falta de evaluación de la producción total de espermatozoides en lugar de la concentración, 6) fallas en la valoración de otros parámetros seminales que no sea el numero de espermatozoides, 7) ausencia de la valoración de la edad de

los sujetos, 8) sesgos en la selección de los sujetos dentro de los estudios comparativos, 9) análisis estadísticos inapropiados, 10) ignorar diferencias geográficas en los recuentos de espermatozoides, y 11) la equiparación ocasional de la fertilidad masculina con el recuento de espermatozoides.

A diferencia de la estricta regulación homeostática de los niveles de los componentes sanguíneos en el medio interno, los parámetros seminales varían considerablemente debido a que la eyaculación es un producto excretorio que se encuentra influido por varias condiciones externas.

La frecuencia eyaculatoria y la abstinencia son los mayores determinantes de la producción y la calidad del semen. Con intervalos prolongados entre las eyaculaciones (días), aumenta la salida de espermatozoides debido a un mayor caudal de reserva del epidídimo, pero disminuyen los valores de movilidad y morfología normal. El volumen seminal también es altamente variable entre y dentro de los individuos; por lo tanto, solo la cantidad total de espermatozoides cuantifica adecuadamente el número de espermatozoides en el eyaculado. Además, es bien sabido que incluso en condiciones estandarizadas de recolección de semen, existe una marcada variabilidad intra - individual en los recuentos de espermatozoides (75% de coeficiente de variación); de tal manera que se requieren al menos tres muestras de semen para obtener una estimación estable de los parámetros seminales. Por lo tanto, los estudios retrospectivos que evalúan solo una muestra de semen, recolectada bajo condiciones no-estandarizadas, son seriamente defectuosos. Asimismo, la calidad del semen disminuye considerablemente con el avance de la edad paterna. Debido a que la edad de los sujetos reportados en varios estudios se extiende a muchas décadas, las comparaciones de estos datos entre grupos deberían hacerse con mucha precaución.

Además de las preocupaciones técnicas relativas a la interpretación de los análisis de semen reportados, los sesgos en la selección de sujetos entre los estudios aparece como un aspecto aún más crítico. Dentro de ciertas publicaciones, los sujetos de estudio incluyen donantes jóvenes, pacientes mayores pre-vasectomía, o pacientes que acudían a clínicas de infertilidad. Ninguno de éstos grupos son representativos de la población general, y dentro de cada grupo de sujetos, los criterios de selección no están definidos y puede haber variaciones significativas sobre el marco temporal del estudio.

Un factor adicional que debe ser adecuadamente explicado está dado por la marcada diferencia en los recuentos espermáticos reportados por diferentes regiones geográficas, incluso dentro del mismo país. Un análisis de inclusión de los 29 estudios disponibles sobre recuentos espermáticos de los Estados Unidos de América únicamente, durante casi 60 años (1938-1996), reveló una declinación secular estadísticamente significativa. Sin embargo, las concentraciones espermáticas de las cuatro publicaciones que incluían sujetos que vivían solamente en ciudades del estado de Nueva York eran significativamente más altas (30%) comparadas con el resto de las ciudades de los Estados Unidos; y no había diferencia estadística alguna entre los valores de estos cuatro estudios. Cuando los datos del estado de Nueva York fueron eliminados del análisis, no se observó una declinación temporal en los recuentos de espermatozoides en los restantes 25 estudios. Incluso el re-análisis del meta análisis de los 61 estudios de 1992, no reveló ninguna declinación secular evidente cuando se eliminaron los datos de los cuatro trabajos de Nueva York.

Dada la discusión anterior, parecería imposible concluir científicamente en la actualidad que existe o no una declinación (secular) mundial en los recuentos de espermatozoides humanos o en la fertilidad masculina. Sin embargo, las diferencias regionales en los recuentos espermáticos tienen que ser explicadas y merecen una investigación más en profundidad. Además, otras variables que no sean solamente el recuento, movilidad y morfología espermática deben ser consideradas para una evaluación del potencial de la fertilidad masculina. Estudios recientes de la estructura cromática de los espermatozoides pueden ser relevantes. Es creciente la preocupación de que tóxicos ambientales, obesidad y cambios en el estilo de vida podrían estar impactando en la salud reproductiva humana y deberían ser tomadas en cuenta. Evidencias a favor de estas consideraciones provienen de partes de Europa, donde existe actualmente evidencia de un incremento del cáncer testicular, y evidencia preliminar de anormalidades congénitas génito-urinarias (hipospadias, y posiblemente criptorquidia); así como también una declinación, independiente de la edad, en los valores séricos totales de testosterona y globulina transportadora de hormonas sexuales en grupos de hombres americanos y daneses ajustados por edad. Los riesgos compartidos por estos desórdenes testiculares han llevado al concepto de un “Síndrome de Disgenesia Testicular”, que puede incluir cambios en la declinación de los parámetros seminales. (Capítulo 33).

Lecturas sugeridas:

Andersson AM, Jensen TK, Juul A, Petersen JH, Jorgensen T, Skakkebaek N. Secular decline in male testosterone and sex hormone binding globulin serum levels in Danish population surveys. J Clin Endocrin Metab. 2007; 92: 4696-705.

Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. New Engl J Med. 1995; 332: 281.

Bujan L, Mansat A, Pontonnier F, Mieusset R. Time series analysis of sperm concentration in fertile men in Toulouse, France between 1977 and 1992. BMJ. 1996; 312: 471-72.
Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. Brit Med J. 1992; 305: 609.

Fisch H. Declining worldwide sperm counts: disproving a myth. Urol Clin North Am. 2008; 35: 137-46.

Rasmussen P, Erb K, Westergaard L, Laursen SB. No evidence for decreasing semen quality in four birth cohorts of 1,055 Danish men born between 1950 and 1970. Fertil Steril. 1997; 68: 1059-64.

Robaire B. The challenges of assessing the quality of spermatozoa.Fertil Steril. 2008; 89(2 Suppl):e67-8.

Saidi JA, Chang DT, Goluboff ET, Bagiella E, Olsen G, and Fisch H. Declining sperm counts in the United States? A critical review. J Urol. 1999; 161: 460-62.

Sherins RJ. Are semen quality and male fertility changing? New Engl J Med. Editorial. 1995; 332: 327.

Swan SH, Elkin EP, Fenster L. The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996. Environ. Health Perspect. 2000; 108: 961-966.

Sharpe RM, Skakkebaek NE. Testicular dysgenesis syndrome: mechanistic insights and potential new downstream effects. Fertil Steril. 2008; Supplement 1; 89: e33-38.

Travison TG, Araujo AB, O'Donnell AB, Kupelian V, McKinlay JB. A population-level decline in serum testosterone levels in American men. J Clin Endocrin Metab. 2007; 92: 196-202.

¿Cómo afectan las señales ambientales a la reproducción en el macho?

W.W. Wright

El efecto estacional en la reproducción

La reproducción es costosa en términos energéticos. Pese a que el costo fisiológico es principalmente asumido por la madre, los machos de muchas especies utilizan una cantidad considerable de energía para aparearse y para impedir por medio de la agresión que otros machos se apareen. Como una adaptación a estos altos costos energéticos, la reproducción de muchas especies está restringida a una estación específica de apareamiento. La localización temporal de esta estación asegura que las hembras tengan un máximo abastecimiento de comida durante los períodos más costosos energéticamente, la preñez avanzada y la lactancia. Por ejemplo, las ovejas salvajes que viven en latitudes del Norte se aparean en el otoño y los corderos nacen en la primavera. Para los machos, la estación reproductiva restringe sus costos energéticos relacionados con el apareamiento a la época del año en que las hembras están fértiles. El comienzo de la estación reproductiva tiene bases fisiológicas específicas y en el macho está asociado a la activación del eje hipotalámico-hipófiso-gonadal (Capítulo 2). Por lo tanto, la sincronización de este eje con factores ambientales específicos es importante para la reproducción masculina en muchas especies.

Es obvio que los humanos modernos no tienen reproducción estacional. Sin embargo, existen evidencias de que los factores ambientales juegan un rol en nuestra biología reproductiva. En el sur de los Estados Unidos el número de nacimiento es máximo entre julio y septiembre, y es más bajo entre marzo y mayo. De esta manera, las concepciones tienen un pico entre octubre y diciembre. Este ciclo reproductivo estacional es menos pronunciado en la zona norte de los EE.UU., indicando una disminución en la intensidad de las claves ambientales que afectan la reproducción humana. En contraste, en Finlandia, Dinamarca, Austria, Siria e Inglaterra el número de nacimientos presenta un pico entre enero y abril. No obstante, a lo largo de los últimos 500 años ha habido una marcada disminución en los cambios estacionales en el número de nacimientos en Inglaterra. Esto sugiere que el aumento del control humano sobre el ambiente en el que viven está reduciendo el impacto de las pistas ambientales naturales.

Las tres señales relevantes del ambiente son el fotoperíodo (la longitud del día), la temperatura y la disponibilidad de comida y agua. No cabe duda de que la importancia de las señales específicas varía entre diferentes zonas geográficas. En las latitudes más extremas (tanto hacia el norte como hacia el sur), el fotoperíodo cambia marcadamente a lo largo del año. Por ejemplo, los humanos que viven al norte del círculo ártico experimentan días de oscuridad constante en el invierno y días de luz constante en el verano. En los trópicos, la longitud del día es esencialmente constante pero los cambios estacionales en las lluvias pueden tener un marcado efecto sobre la disponibilidad de comida en algunos pueblos

indígenas y, en consecuencia, sobre su función reproductiva. En el sur de los EE.UU. las altas temperaturas ambientales del verano pueden ser responsables del mínimo en el número de concepciones que ocurre en junio, julio y agosto.

Cambios estacionales en la función reproductiva masculina

Existen importantes cambios en los niveles de gonadotrofinas séricas y en la función testicular de los animales con reproducción estacional. En monos rhesus macho, los niveles séricos de LH y testosterona aumentan 4 a 5 veces en el invierno (temporada de apareamiento), y el tamaño testicular y la producción de espermatozoides se duplican. Otras especies muestran cambios aun más pronunciados en la función testicular. Por ejemplo, cuando se completa la temporada reproductiva del ciervo Roe, la producción de espermatozoides gradualmente cae a cero, y los niveles de testosterona caen en más de un 95%.
También hay evidencias de una influencia estacional sobre los niveles séricos de LH y testosterona en hombres. Según un estudio realizado en Seattle (EE.UU.), los niveles de estas hormonas fueron más altos en junio-julio y más bajas en agosto-septiembre. En contaste, los niveles séricos de LH en hombres noruegos cayeron en diciembre; esta disminución estacional fue más marcada en hombres viviendo al norte del círculo polar. No obstante, los niveles de testosterona de hombres noruegos no se redujeron en diciembre, lo cual enfatiza los efectos dispares de las señales estacionales sobre la función reproductiva en humanos.

La melatonina como un mediador de la longitud del día en humanos

Como fue mencionado, un cambio sustancial en la longitud del día (fotoperíodo) es una señal potencialmente relevante para aquellas especies de reproducción estacional. Estas señales son primero captadas en la retina y luego interpretadas por el oscilador circadiano del cerebro. Una serie de conexiones neurales vinculan a este oscilador con la glándula pineal, que en humanos se encuentra localizada entre la corteza cerebral y el cerebelo. La pineal transduce la información sobre el fotoperíodo que le llega del oscilador central, mediante la alteración de la secreción diaria de la hormona melatonina. En animales de reproducción estacional la secreción de melatonina es suprimida por los días largos y los cambios en los niveles de melatonina en suero pueden afectar significativamente la función reproductiva. Sin embargo, la naturaleza de este efecto depende de si los animales se aparean en invierno o en primavera/verano. Por ejemplo, cuando se implanta a zorros árticos macho (que se aparean en invierno) con pellets de melatonina durante el verano ártico, el aumento de los niveles de testosterona sérica relacionado con el inicio del invierno se vio adelantado unos dos meses, y se bloqueó la regresión testicular que normalmente ocurre hacia el final del período reproductivo. En contraste, la melatonina provocó una regresión gonadal en hámsteres siberianos que fueron simultáneamente expuestos a fotoperíodos largos (estimulatorios). El mecanismo de acción de la melatonina en mamíferos aún no ha sido completamente definido. Aun así, en modelos experimentales específicos la melatonina puede causar un aumento en la secreción de GnRH, suprimir la secreción de LH o inhibir la esteroidogénesis inducida por gonadotrofinas.

En contraposición a lo que ha sido establecido para animales de reproducción estacional, no se ha establecido un rol para la melatonina en los cambios estacionales en la reproducción masculina (humana). Los cambios en el fotoperíodo afectan la secreción de melatonina solo en una subpoblación de humanos y, hasta el momento, no existe evidencia convincente de que un aumento sostenido en los niveles séricos de la hormona pineal afecte la concentración de LH o de testosterona en hombres.

El calor tiene un efecto inhibitorio directo sobre la espermatogénesis

Las temperaturas elevadas son deletéreas para la producción de espermatozoides. En humanos se ha comunicado que el calentamiento del escroto a 43°C durante 30 minutos provoca un aumento significativo en la muerte de células germinales y una disminución del 80% en el número de espermatozoides en el eyaculado. Por otro lado, un período de 12 semanas de enfriamiento escrotal durante la noche aumentó al cantidad de espermatozoides en los eyaculados de hombres con números bajos de esta variable. Los efectos deletéreos del calor también fueron notados en estudios retrospectivos de panaderos y soldadores, en los que se concluyó que la exposición ocupacional al calor resulta un factor de riesgo para la fertilidad masculina. El uso de ropa interior ajustada, andar en bicicleta o apoyarse una computadora portátil sobre el regazo aumentan la temperatura del escroto y por lo tanto, potencialmente, la temperatura de los testículos.

Resumen

Las señales ambientales afectan la capacidad reproductiva de los machos de diversas especies. Los cambios estacionales en el número de nacimientos en humanos sugieren que dichas señales también pueden afectar la biología reproductiva de los hombres. Los cambios dramáticos en el fotoperíodo que se experimentan en las latitudes más extremas o las temperaturas elevadas que se registran en latitudes cercanas a los trópicos, así como las que se sufren en determinados lugares de trabajo, pueden afectar los niveles séricos de hormonas reproductivas esenciales y/o la producción de gametas masculinas viables.

Lecturas sugeridas:

Bronson FH. Are humans seasonally reproductive?. Journal of Biological Rhythms. 2004; 19: 180-92.

Southorn T. Great balls of fire and the vicious cycle: a study of the effects of cycling on male fertility. Journal of Family Planning and Reproductive Helath Care. 2002; 28: 211-13.

Wang C, Cui Y-G, Wang X-H, Jia Y, Sinha Hikim A, Lue Y-H, Tong J-S, Qian L-X, Sha J-H, Zhou Z-M, Hull L, Leung A, Swerdloff RS. Transient scrotal hyperthermia and levonorgestrel enhance testosterone-induced spermatogenesis suppression in men through increased germ cell apoptosis. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2007; 92: 3292-304.

Wehr TA. Photoperiodism in humans and other primates: evidence and implications. Journal of Biological Rhythms. 2001; 16: 348-64.

¿Cuáles son los efectos de los tóxicos ambientales y/o disruptores endocrinos sobre la función espermática?
Efectos de la exposición a sustancias químicas en el varón, especies reactivas de oxígeno y el espermatozoide.
¿Cuál es la evidencia que l os contaminantes ambientales pueden impactar la función espermática en el humano?

S.D. Perrault

Nuestra apreciación del impacto potencial de las sustancias químicas y otros contaminantes ambientales en la función reproductiva masculina (espermatogénesis y fertilidad) comienza alrededor del año 1970, cuando un grupo de mujeres cuyos esposos trabajaban en una planta productora del fungicida DBCP (dibromo-cloropropano) descubrieron que todas tenían problemas para lograr un embarazo. Investigaciones epidemiológicas posteriores mostraron una asociación entre la exposición de los varones a DBCP y un bajo recuento espermático o aún azoospermia. Más aún, la producción espermática mejoró en la mayoría de estos varones cuando cesó la exposición al tóxico. Este hallazgo ocasional despertó conciencia de que la infertilidad no es necesariamente un problema femenino y motivó que agencias regulatorias tales como la Agencia de Protección Ambiental (US EPA, del inglés *United States Environmental Protection Agency*) de los EEUU, el Departamento de Agricultura (US DA, del inglés *United States Department of Agriculture*) y la Administración de Alimentos y Drogas (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*) mejoraran sus métodos de ensayo y protocolo para detectar potenciales tóxicos reproductivos masculinos. También motivó al Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH, del inglés *National Institute of Occupational Safety and Health*) y otros para realizar estudios de salud ocupacional respecto a una variedad de productos a. Se sabe ahora que además de ciertos pesticidas, muchos contaminantes ambientales que incluyen ciertos solventes industriales, plastificantes y metales (principalmente Plomo y Cadmio), que tienen la posibilidad de perturbar la espermatogénesis y/o alterar específicamente la función espermática si hay una exposición suficientemente alta.

En general, la evidencia de efectos reproductivos adversos en el humano se ha detectado solo en pequeñas cohortes de individuos expuestos a niveles relativamente altos de sustancias químicas en la actividad laboral o en la liberación accidental de dichas sustancias. La cuantía en la cual los niveles bajos de compuestos o combinaciones de ellos que se encuentran diariamente en el ambiente que pueden afectar la reproducción del varón, es mayormente desconocida y bastante difícil de determinar.

¿Cómo las agencias regulatorias ensayan sustancias químicas respecto a espermatotoxicidad y predicen los efectos reproductivos en el varón?

En 1998, la US EPA actualizó los protocolos de ensayo necesarios para el registro de los pesticidas (http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS_Harmonized/870_Health_Effects_Test_Guidelines/Series/870-3800.pdf).

Los protocolos actuales que se han consensuado entre distintas agencias en los EEUU e internacionalmente, requieren ensayos multigeneracionales en especies animales (principalmente ratas) en donde la medición de la producción y función espermáticas (motilidad y morfología) se obtienen en los animales parentales adultos y en su descencencia. El protocolo también evalúa el desarrollo del tracto reproductivo luego de la exposición *in utero* o en etapa temprana de la vida. Dado que los machos se analizan por la duración entera de la espermatogénesis antes que sean evaluados y puestos a reproducir, los efectos adversos en cualquier célula blanco espermatogénica o somática debería ser detectado bajo la forma de reducción del peso testicular y epididimario, alteración histológica testicular (uno de los indicadores de efecto más sensible) reducción del recuento espermático epididimario, alteración de la motilidad espermática o la morfología y/o reducción de la fertilidad. Cuando se observan efectos, ensayos adicionales específicos para función espermática, tales como fecundación *in vitro* (FIV) y evaluación de la estructura de la cromatina espermática, daño del ADN y del número/estructura de los cromosomas puede usarse para caracterizar adicionalmente el efecto (Capítulo 13).

Aunque típicamente no se requiere para compuestos químicos industriales que no son pesticidas, estos ensayos patrón especializados se han aplicado en forma voluntaria para evaluar la seguridad química de compuestos producidos y usados en grandes volúmenes y aquellos que predeciblemente tendrían efectos reproductivos dada su similitud con tóxicos conocidos (p.ej.: análisis de estructura/actividad) o basado en análisis *in vitro* para actividad endocrina, estrés oxidativo, mutagenicidad o citotoxicidad.

Las agencias regulatorias consideran toda la información disponible de estos ensayos cuando se realiza una evaluación de riesgo, proceso complejo que integra datos dosis-respuesta de la molécula en ensayo en la forma de acción química de ella (si se conoce), la relevancia de los datos animales aplicables al humano y todo otro dato de epidemiología humana con el objetivo de predecir el riesgo para el hombre. Además del ensayo del riesgo formal realizado por las Agencias Regulatorias, el Programa Nacional de Toxicología realiza revisiones de tóxicos de alta prioridad en reproducción a través del Centro para el Riesgo Ambiental de la Reproducción Humana (CERHR, del inglés *Center for Environmental Risks to Human Reproduction*) y publica informes en internet (http://cerhr.niehs.nih.gov/). El CERHR selecciona las sustancias químicas tanto en su existencia (volumen de producción y posible exposición humana) y modo de acción (como tóxico reproductivo), evaluando así compuestos de interés público y regulatorio, tales como acrilamida, bromopropano, ftalatos y bisfenol A.

Modos biológicos plausibles de espermatotoxicidad: Estrés oxidativo

Los espermatozoides son excepcionales en su metabolismo y en realidad usan el estrés oxidativo en su beneficio. Las especies oxígeno reactivas (EROS; en inglés ROS, *Reactive Oxygen Species*), se originan por espermatozoides metabólicamente activos que juegan un papel en la señalización normal que conduce a la capacitación o posibilidad de fecundar los ovocitos (Capitulo 15). Sin embargo el exceso de EROS puede causar daño de membranas (lipoperoxidación) y daño en el ADN con consecuencias no deseadas para la

capacidad fecundante e integridad genética del resultante embrión respectivamente. Por lo tanto, los contaminantes ambientales que generan estrés oxidativo o alteran el estado redox (incluyendo DBCP, acrilamida y bromopropano) son presumiblemente candidatos espermatotóxicos. El entendimiento del estrés oxidativo en el espermatozoide es también directamente aplicable a las tecnologías de reproducción asistida. Dado que el espermatozoide puede experimentar daño oxidativo durante un cultivo *in vitro*, los componentes del medio y los procesos de FIV han sido mejorados para minimizar estos efectos.

Pocos tóxicos reproductivos masculinos actúan solo o específicamente en la maduración espermática epididimaria. La Alfa-clorohidrina, un veneno metabólico que inhibe la motilidad espermática es uno de ellos. Sin embargo, algunos tóxicos pueden tener efectos directos en la motilidad espermática y/o capacidad fecundante, bloqueando etapas tempranas de la espermatogénesis. Por ejemplo, la exposición crónica a acrilamida puede dañar espermatogonias y espermatocitos e impedir la fertilidad por detención de estados tempranos de la espermatogénesis. A niveles en que no se detiene la espermatogénesis, los metabolitos reactivos de acrilamida pueden también alquilar las protaminas del núcleo espermático en los estados finales de la espermatogénesis. Como resultado, el espermatozoide puede fecundar ovocitos pero el embrión resultante muere debido al daño provocado por acrilamida en el pronúcleo espermático. La buena noticia es que los efectos de las sustancias químicas que reaccionan directamente con espermatozoides en maduración son de exposición transitoria. Una vez que la exposición termina y el espermatozoide afectado se libera del organismo, el riesgo desaparece.

El humo de los cigarrillos y la polución que resulta de la combustión del carbón y la gasolina, contienen reactivos químicos que pueden ocasionar estrés oxidativo y cambios inflamatorios en los sistemas respiratorio y cardiovascular. Tanto el consumo de cigarrillos como la exposición a aire con alta contaminación han sido también asociados a alteración de la calidad seminal y daño del ADN espermático. Dado que estas fuentes de estrés oxidativo son difíciles de evitar, hay suplementos dietéticos que pueden ser de utilidad terapéutica o valor protector. Sin embargo, los reales beneficios de esta estrategia han sido difíciles de constatar en estudios en el humano.

Modos biológicos plausibles de espermatotoxicidad: Disruptores endocrinos

Algunas sustancias químicas pueden alterar la función espermática interfiriendo con la acción androgénica. Por ejemplo, estudios toxicológicos en la rata muestran que el fungicida vinclozolina y sus metabolitos inhiben la acción androgénica al unirse al receptor de andrógenos y algunos ftalatos interfieren con la esteroidogénesis provocando una reducción en la síntesis de testosterona. Algunas sustancias químicas tales como el Bisfenol A pueden actuar como estrógenos, mientras otros son promiscuos y se unen a múltiples receptores. Dado que las hormonas son activas a muy bajas concentraciones, éstos así llamados “Disruptores Endocrinos” potencialmente pueden impactar los procesos reproductivos humanos aun cuando están presentes en bajas concentraciones típicamente encontradas en el ambiente. Más aún, el sistema reproductivo masculino en desarrollo es particularmente sensible a alteraciones en la

señalización de testosterona. Estudios toxicológicos en rata, en la cual hay ventanas específicas de exposición y la sensitividad puede ser definida con precisión, han mostrado que el bloqueo de la acción androgénica durante el desarrollo del tracto reproductivo puede ocasionar hipospadias y mal descenso testicular en los machos descendientes. Dado que los estadios tardíos de la diferenciación espermática dependen de andrógenos y que hay evidencia creciente para el rol de los estrógenos en la función espermática, los disruptores endocrinos pueden también alterar la función espermática en el adulto. A niveles ambientales de estos contaminantes, estos efectos son generalmente sutiles y difíciles de detectar. Sin embargo, aun así pueden tener impacto negativo en varones subfértiles que se supone son más susceptibles a estos estresores ambientales.

Basadas en creciente evidencia sobre la presencia y potencial efecto adverso de los disruptores endocrinos ambientales, las agencias regulatorias han sido instruídas por el Congreso de EEUU para desarrollar programas efectivos de sondeo y evaluación de contaminantes con potencial disruptor endocrino (http://www.epa.gov/endo/). Estos y otros estudios globales en desarrollo harán posible analizar un gran número de nuevas sustancias químicas introducidas en nuestro ambiente por el comercio y por lo tanto proteger nuestra salud reproductiva.

¿Cómo pueden los clínicos aconsejar a sus pacientes infértiles y parejas que intentan el embarazo?

Claramente hay necesidad de dar información orientada al paciente acerca de la relación entre contaminantes ambientales y riesgos para la función reproductiva masculina. La “Colaboración entre salud y ambiente” produce esta información fácilmente disponible en la web (http://www.healthandenvironment.org/working_groups/fertility). Actualmente los médicos pueden por lo menos incluir una corta historia sobre exposición laboral y ambiental y aconsejar a sus pacientes evitar la exposición a tóxicos conocidos como: el humo del cigarrillo, los solventes y los pesticidas.

Lecturas sugeridas:

Aitken JR, Baker MA. Oxidative Stress, sperm survival and fertility control. Mol. Cel Endocrinol. 2006;250:66-9.

Hotchkiss, AK, Rider CB, Blystone CR, Wilson BS, Hartig PC, Ankley GT, Foster PM, Gray CL, Gray LE. Fifteen years after “Wingspread-environmental endocrine disruptors and human an wildlife health: Where we are today and where wee need to know” Toxicol.
Sci. 2008;105:235-59.

Lawson CC, Schnorr TM, Daston GP, Grajewski B; Marcus M, McDiarmid M, Murono E,
Perreault SD, Schrader SM, Shelby M. An occupational reproductive research agenda for the third millennium. Environ Health Perspect. 2003;111:584-92.

Molina JM, Golden AL, Bar-Chama N, Smith E, Rauch ME, Chapin RE, Perreault SD, Schrader SM, Suk Wa, Landrigan PJ. Exposure to hazardous substances and male reproductive health: a research framework. Environ Health Perspect.2000;108:803-13

Perreault SD, Cancel AM. Significance of incorporating measures of sperm production and function into rat toxicology studies. Reproduction.2001;121:207-16.

¿Pueden los espermatozoides ser afectados por medicamentos/drogas?. Si así es, ¿Cuáles son las consecuencias de la exposición a medicamentos/drogas?. ¿Es necesario el consejo médico para el hombre en la pre-concepción?

Medicamentos/drogas que afectan la estructura o la función espermática, toxicidad en el desarrollo mediada por el hombre, prevención, análisis para detectar daño del espermatozoide.

B.F Hales y B. Robaire

Existen más de 100.000 compuestos químicos en nuestro medio ambiente. El hombre está expuesto a esos compuestos químicos presentes en el aire, el agua, la comida, en la vida diaria, en el lugar de trabajo y como drogas. Algunos de estos compuestos afectan a los espermatozoides (Capítulo 28). Los compuestos químicos pueden tener efectos adversos sobre el número de células germinales masculinas, disminuir la producción al bloquear la mitosis y/o la meiosis, o incrementar la muerte celular al inducir apoptosis, un proceso activo de suicidio celular. Alternativamente, los compuestos químicos pueden afectar la calidad de las células germinales, sin que existan efectos en la cantidad producida de espermatozoides. Finalmente, los compuestos químicos pueden alterar el genoma de las células germinales masculinas, por mutaciones del mismo ADN o por alterar el epigenoma (Capítulo 9), alterando las modificaciones de las bases de ADN o de las proteínas que integran la cromatina de las células germinales masculinas.

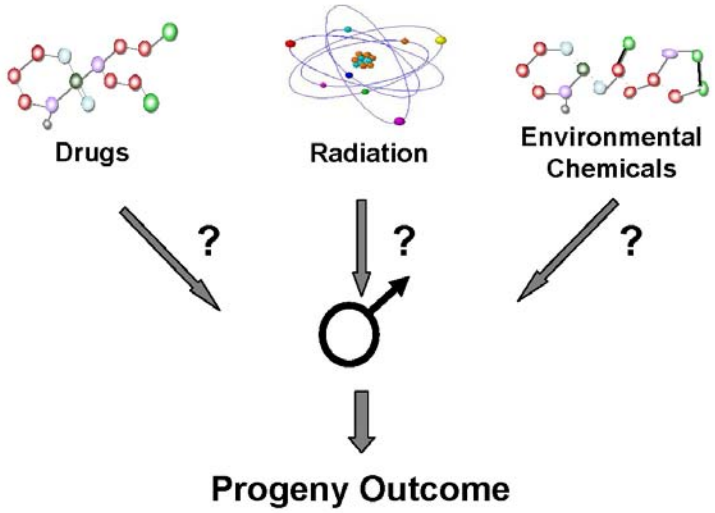


FIG 1. Los factores ambientales y xenobióticos pueden afectar a las células germinales con consecuencias en generaciones futuras.
Términos en Inglés: Drugs: Medicamentos/drogas; Radiation: radiación; Environmental Chemicals: compuestos químicos ambientales; Progenie outcome: Efectos en la descendencia.

Las células germinales masculinas están diseñadas para fecundar un ovocito y para proveer el genoma paterno al embrión. Los compuestos químicos que afectan a las células germinales pueden disminuir la capacitad fecundante o

inducir efectos adversos en el embrión, luego de ocurrida la fecundación. El éxito de las técnicas de fecundación *in vitro* (FIV) es una medida directa de la capacidad fecundante. La tecnología de la FIV está bien desarrollada en humanos y en ciertos modelos animales, como en el ratón, pero con menos éxito en otros animales de laboratorio como la rata. El test *in vitro* utilizando ovocitos de rata sin zona pellucida reveló que el potencial fecundante de los espermatozoides fue reducido por el tratamiento de las ratas con tóxicos, como el m-dinitrobenceno y el etilenglicol monometil eter, que no afectan la motilidad espermática. Sin bien existen pocos estudios en humanos, mujeres bajo tratamiento de FIV no tuvieron mayor riesgo de aborto espontáneo atribuible a la exposición paterna a pesticidas o a las condiciones generadas por el trabajo realizando soldaduras. Cuando se determinan otros parámetros, como la tasa de fecundación ciclo-específica, el tiempo transcurrido para obtener un embarazo, el porcentaje acumulado de embarazo y la probabilidad de concebir, que no distinguen entre un efecto en la capacidad fecundante y la pérdida embrionaria temprana, se han encontrados efectos después de la exposición paterna a tóxicos ambientales comunes, como el plomo.

Resultados adversos en la descendencia pueden incluir pérdidas tempranas o tardías de embarazo, parto a pre-término o parto prematuros, malformaciones, comportamiento anormal, o hasta cáncer durante la infancia. A partir de estudios animales, existe evidencia convincente de que la exposición paterna a agentes ambientales o terapeúticos específicos producen una alta incidencia en la descendencia anormal. La exposición paterna a una gran variedad de compuestos químicos presentes en el ambiente (por ejemplo plomo, dibromocloropropano, ftalatos) y drogas terapeúticas (como el agente anticancerígeno alquilante ciclofosfamida) produce descendencia anormal. Es posible deducir el estadío específico de la susceptibilidad de las células germinales al daño durante la espermatogenesis determinando el tiempo entre la exposición al compuesto tóxico y el efecto sobre la descendencia.

Estudios epidemiológicos muestran que ciertas ocupaciones del padre, como soldador, pintor, mecánico, trabajador en invernadero o bombero, que involucran la exposición a metales, combustión de productos, solventes, o pesticidas, están asociadas con una calidad espermática alterada, un tiempo de concepción aumentado, abortos espontáneos, defectos de nacimiento o cáncer de la infancia. Exposiciones debidas al estilo de vida del padre, como fumar, han sido asociadas a un aumento en la incidencia de linfomas en niños. La exposicion a agentes terapeuticos puede tambien ser considerada como riesgosa para la descendencia. Como consecuencia al tratamiento con drogas anticancerígenas, existe una alta incidencia infertilidad transitoria o permanente. Es necesaria más investigación clínica para determinar en qué momento la producción espermática puede ser considerada normal durante la recuperación después de la quimioterapia. Sin embargo, no se ha encontrado una mayor proporción de niños con malformaciones cuando estos hombres son padres, respecto de la observada en grupos controles.

Es muy difícil asociar la exposición paterna con un defecto de nacimiento o cáncer infantil ya que el número en los estudios es normalmente bajo, los métodos para determinar la exposición son frecuentemete imprecisos, y los resultados escasos; por lo tanto, los límites más bajos de intervalos de confianza que rodean a las estimaciones de riesgo están a menudo a menos de la mitad

de unidad del valor nulo. No se puede automáticamente descartar una relación causa-efecto solo porque ellas son pequeñas.

Es posible y preocupante que la línea germinal de la descendencia este también afectada, por lo que se incrementaría el riesgo para las generaciones futuras. En general, la premisa básica establece que los compuestos químicos son capaces de afectar la generación siguiente al inducir mutaciones en el genoma de las células germinales. Estudios realizados en poblaciones humanas y de ratones han provisto evidencia de que las exposiciones del padre a radiaciones produce una elevada tasa de mutaciones en la descendencia. Sin embargo, en años recientes, es evidente que la célula germinal masculina transmite al embrión más que su genoma, según las secuencias de ADN. En estudios con animales, existe una gran brecha entre la tasa, generalmente baja, de daño genético inducido luego de la exposición de células germinales masculinas a muchos compuestos químicos y el asociado resultado anormal en la descendencia. Esta brecha a conducido a la hipótesis de que un mecanismo clave por el cual la perturbación química del espermatozoide pueda conducir a alteraciones hereditarias en la descendencia sea de carácter epigenético, por ejemplo, la alteración de la función del ADN sin afectar su secuencia, regulada por modificación de histonas (Capítulo 9). La desregulación de la programación del genoma paterno puede ser responsable de la expresión alterada de genes y de fallas en el desarrollo del embrión luego de la implantación.

Se necesita realizar más investigación para determinar las implicancias para la salud pública de los hallazgos en los experimentos con animales que indican que la exposición química puede producir efectos trans-generacionales. Sin embargo, existe evidencia a partir de estudios en humanos, que sugiere que esto es posible. Existen casos de tasa de sexo alteradas en niños nacidos luego de la exposición a compuestos químicos como las dioxinas; una explicación para estas observaciones podria ser que exista un efecto en la supervivencia del espermatozoide que contiene al cromosoma Y. Los defectos en la metilación del ADN de genes regulados por ‘imprinting’ paterno pueden contribuir a errores y enfermedades en niños concebidos por medio de técnicas de fecundación asistida, quizás debido a las condiciones de cultivo *in vitro*.

Basados en los estudios epidemiológicos y con animales, existirían exposiciones del padre a compuestos químicos que resultan en descendencia anormales. Hombres expuestos a ciertos químicos, debido a su ocupación, deberían estar alertas de que existe la posibilidad de lograr resultados anormales en la descendencia. El consejo médico, para esos hombres que piensan convertirse en padres, luego de la exposición química o tratamientos con compuestos de reconocido efecto tóxico sobre las células germinales, podría verse facilitado por el desarrollo de un conjunto de tests para detectar los efectos de esa exposición sobre la cromatina y función del espermatozoide.

Lecturas sugeridas:

Anderson D, Brinkworth MH. Male-meidated Developmental Toxicity. Issues in Toxicology. RSC Publishing. Cambridge, UK. 2007.

Chang JS, Selvin S, Metayer C, Crouse V, Golembesky A, Buffler PA. Parental smoking and the risk of childhood leukemia. Am J Epidemiol. 2006; 163: 1091-100.

Guerrero-Bosagna CM, Skinner MK. Epigenetic transgenerational effects of endocrine disruptors on male reproduction. Semin Reprod Med. 2009; 27: 403-8.

Hales BF, Robaire B. Paternal exposure to drugs and environmental chemicals: effects on progeny outcome. J Androl. 2001; 22: 927-36.

Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Diamond MP, Puscheck E, Daly D, Paneth N, Wirth JJ. Cadmium, lead, and other metals in relation to semen quality: human evidence for molybdenum as a male reproductive toxicant. Environ Health Perspect. 2008; 116: 1473-9.

O'Flaherty C, Hales BF, Chan P, Robaire B. Impact of chemotherapeutics and advanced testicular cancer or Hodgkin lymphoma on sperm deoxyribonucleic acid integrity. Fertil Steril. 2009; Jul 8.

Rinaudo P, Schultz RM. Effcts of embryo culture on global pattern of gene expression in preimplantation mouse embryos. Reproduction. 2004; 128: 301-11

Shiau CY, Wang JD, Chen PC. Decreased fecundity among male lead workers. Occup Environ Med. 2004; 61:915-23.

¿Podemos proteger la espermatogénesis ante las agresiones al testículo?

Toxicología reproductiva masculina

M.L. Meistrich

Exposición del testículo a agresiones

El epitelio germinal del testículo humano se encuentra sujeto a menudo a agresiones químicas y físicas como resultado de intervenciones médicas o exposiciones ocupacionales y ambientales. Dentro de los tratamientos médicos inevitables, los agentes anticancerígenos y las drogas inmunosupresoras, en particular la radiación y los agentes alquilantes, provocan frecuentemente una reducción temporaria o permanente en el recuento espermático (oligospermia) y pueden incluso resultar en la ausencia total de espermatozoides (azoospermia). Los solventes industriales, como el bromopropano, y los compuestos liberados de los plásticos utilizados en recipientes de alimentos y cánulas médicas, tales como los ftalatos y el bisfenol A, también dañan la función espermatogénica. Los esteroides anabólicos, los antagonistas hormonales y compuestos ambientales tales como el bisfenol A o el fungicida vinclozolín pueden ser disruptores de las señales hormonales, esenciales para la espermatogénesis (Capítulos 28,29). Los posibles métodos para prevenir estos efectos deletéreos y restituir la función gonadal luego de la exposición a tóxicos son de gran importancia para aquellos hombres que desean tener hijos.

Naturaleza de las agresiones testiculares

A continuación se señalan algunos ejemplos de la naturaleza celular, química o endocrina de distintas agresiones testiculares.

La radiación y los agentes alquilantes, incluyendo aquellos utilizados en la quimioterapia oncológica, y los tóxicos ambientales como el dibromocloropropano, inducen la formación de radicales libres, especies reactivas de oxígeno y grupos alquilo reactivos que dañan directamente al ADN. Estos intermediarios reactivos pueden ser neutralizados y detoxificados químicamente, impidiendo así que produzcan daño al ADN.

Los agentes anticancerígenos destruyen preferentemente células en proliferación. En el testículo, éstas son células germinales específicas, fundamentalmente las espermatogonias en diferenciación, cuya tasa de proliferación es elevada; por otra parte, las espermatogonias madre (“stem”), cuya tasa de proliferación es menor, son ligeramente susceptibles (Figura 1). A medida que las células sobrevivientes progresan a través de la espermatogénesis con una cinética constante, el vacío dejado por la muerte de espermatogonias resultará en la depleción temporaria de células germinales tardías y la reducción del recuento espermático. Pero en el término de algunos meses, debería ocurrir la recuperación a partir de las células “stem” sobrevivientes.

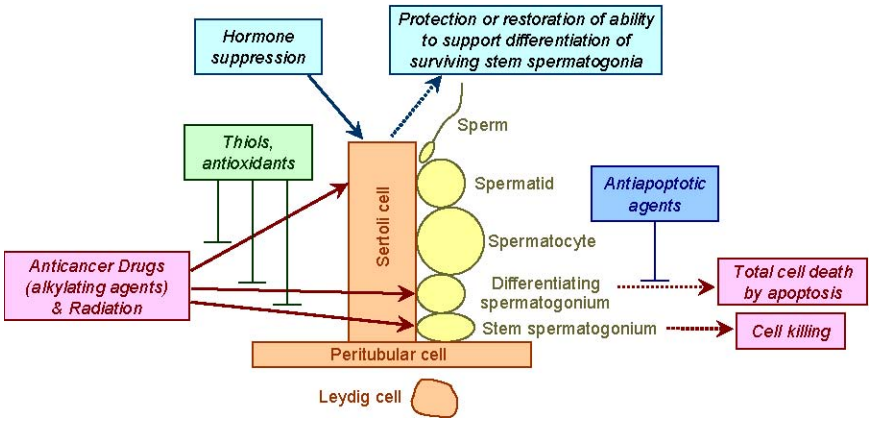


FIG. 1. Diagrama de la acción y consecuencias del uso de agentes anticancerosos en células específicas del testículo. Se muestran blancos celulares específicos a ser protegidos: bloqueo del daño inicial (tioles, agentes antioxidantes), restauración de la función de las células somáticas (de Sertoli) para asegurar, mediante la supresión hormonal, la sobrevivencia de las espermatogonias que puedan reiniciar la espermatogénesis, y posibilitar la persistencia de las células dañadas mediante el uso de drogas antiapoptóticas.

La muerte de las células “stem” reduce el potencial de recuperación y resulta en una azoospermia prolongada o permanente. Adicionalmente, las células somáticas del testículo, que en el adulto son generalmente no proliferativas, si bien sobreviven a la exposición citotóxica, sufren un daño funcional que, a su vez, puede impedir la recuperación de la espermatogénesis a partir de las espermatogonias “stem” sobrevivientes. Una de estas células somáticas, la célula de Sertoli, es esencial para la organización estructural, mantenimiento y regulación de las células germinales y es un blanco directo de algunos tóxicos (ftalatos). El daño en estas células somáticas conduce frecuentemente a la muerte de las células germinales por apoptosis.

Los agentes químicos que son disruptores endocrinos pueden, mediante varios mecanismos diferentes, reducir la producción o la acción de la testosterona, cuya presencia en el testículo en concentraciones elevadas, es esencial para la espermatogénesis (Capítulo 8). Los análogos de esteroides anabólicos pueden inhibir la producción de testosterona en la célula de Leydig, los inhibidores de la 5α-reductasa pueden reducir la activación de la testosterona, y el vinclozolín y otros antiandrógenos pueden bloquear la acción de la testosterona. Estos agentes pueden afectar el desarrollo testicular fetal y puberal y tener efectos irreversibles sobre la producción de espermatozoides en la adultez.

Diferentes estrategias protectoras

En animales de experimentación, se han utilizado diversas metodologías basadas en estrategias físicas, bioquímicas y biológicas, para evitar los efectos deletéreos antes mencionados y recuperar la función gonadal luego de los tratamientos tóxicos. El único ejemplo de protección del daño testicular que ha resultado confiable en el hombre, es el uso de un protector o escudo testicular durante la terapia radiante. Si bien de esta forma el testículo puede ser protegido

adecuadamente del haz radiactivo directo, el posible efecto de la radiación dispersada sigue siendo un motivo de preocupación.

Entre las metodologías cuyo uso se ha limitado a los animales de experimentación, se encuentran los neutralizadores de radicales libres, los antioxidantes y los compuestos reductores, incluyendo los tioles, que pueden proteger del daño primario al ADN (Figura 1). La amifostina, diseñada originalmente para proteger a las células de los radicales libres producidos por la radiación, protege de la quimioterapia a algunos tejidos normales pero no a los tumorales. Sin embargo, si bien en el ratón la amifostina protege parcialmente a la espermatogénesis de la radiación, presenta toxicidad directa sobre las espermatogonias “stem”, lo que neutralizaría el efecto benéfico protector de esta droga en los esquemas de radiación fraccionada utilizados para el tratamiento del cáncer.

Para proteger al testículo del daño causado por las drogas quimioterápicas de vida media corta, se ha investigado la reducción del flujo sanguíneo al testículo mediante la ligadura o criptorquidia temporaria. Efectivamente, la ligadura reversible protege al testículo animal de los efectos de la adriamicina y produce un daño directo mínimo, pero su potencial de producir daño isquémico sigue siendo una preocupación.

Los compuestos antiapoptóticos, como la esfingosina-1-fosfato, se han utilizado para proteger a las células germinales de los agentes tóxicos que las destruyen por apoptosis. Sin embargo, este tratamiento no provee protección significativa al testículo.

Se han utilizado, en animales, otros enfoques empíricos que incluyen la administración de prostaglandinas, vitaminas, factores de crecimiento y citoquinas, y que han demostrado proveer cierto grado de protección contra los efectos tóxicos. Sin embargo, no hay evidencia acerca de su beneficio terapéutico contra agentes anticancerígenos, es decir, que dichos tratamientos proporcionen mayor protección al testículo que a los propios tumores.

Estrategias hormonales de protección

El concepto de la supresión hormonal para proteger la función gonadal ante la exposición citotóxica se basó en la mayor resistencia de las células en reposo mitótico a la destrucción por agentes neoplásicos, en comparación con células altamente proliferativas. Se pensó erróneamente que la supresión de los niveles de las hormonas luteinizante (LH) y folículoestimulante (FSH) y de la testosterona, reduciría la proliferación de las correspondientes células blanco y las volvería más resistentes a los tóxicos. Pero la supresión de estas hormonas simplemente impide que se complete la espermatogénesis y no tiene ningún efecto protector sobre la proliferación de las células blanco cruciales: las espermatogonias “stem”.
Sin embargo, si bien este fundamento teórico es incorrecto, la supresión hormonal de ratas macho, previo a, durante, e incluso luego de la exposición a quimioterapia o radiación, favorece drásticamente la recuperación posterior de la espermatogénesis. Esto es consecuencia de la protección o restauración de la función de las células somáticas del testículo que sostienen la diferenciación de las espermatogonias “stem” sobrevivientes y no de impedir la destrucción de estas

espermatogonias. La supresión hormonal también puede estimular modestamente la recuperación de la espermatogénesis luego del daño citotóxico en el ratón, pero no en primates no humanos.

Los ensayos clínicos de protección o reestimulación de la espermatogénesis por supresión hormonal no han tenido éxito en general, existiendo solamente un estudio que muestra un efecto protector. Se necesitará conocer mejor los mecanismos que subyacen a la protección y recuperación de la espermatogénesis por supresión hormonal en los modelos de roedores, como así también sus semejanzas y diferencias con otras especies, antes de poder aplicar de manera más racional los resultados obtenidos a la espermatogénesis en el hombre.

Conclusiones

Hasta el momento no existen métodos de eficacia comprobada para proteger el epitelio germinal humano cuando se lo expone directamente a la agresión física o química, ni opciones terapéuticas comprobadas para mejorar la espermatogénesis luego de que haya ocurrido el daño. Sin embargo, se puede lograr protección mediante la remoción de células germinales previo a la exposición y la conservación de las mismas para su uso posterior. La preservación de espermatozoides en bancos de semen antes de llevar a cabo el tratamiento médico ha posibilitado casi siempre la obtención de embarazos exitosos. En los animales de experimentación, la criopreservación de espermatogonias “stem” o tejido testicular y su posterior reintroducción en los túbulos seminíferos o trasplante subcutáneo respectivamente, trae como resultado la producción de espermatozoides viables que producen descendencia. El conocimiento de estas investigaciones novedosas en animales de experimentación, diseñadas para proteger el epitelio germinal de agresiones tóxicas o restaurar su función posteriormente a la agresión, podría conducir a su aplicación en el hombre.

Lecturas sugeridas:

Jahnukainen K, Jahnukainen T, Salmi TT, Svechnikov K, Eksborg S, Soder O. Amifostine protects against early but not late toxic effects of doxorubicin in infant rats. Cancer Res 2001, 61: 6423-7.

Meistrich ML, Shetty G. Inhibiton of spermatogonial differentiation by testosterone. J Androl 2003, 24: 135-48

Meistrich ML, Vassilopoulou-Sellin R, Lipshultz LI. Gonadal disfunction. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg, SA, eds. Cancer: Principles and Practice of Oncology. Philadelphia: Lippincot Willliams & Wilkins 2005, 2560-74.

Meistrich ML, Zhang Z, Porter, KL, Bolden-Tiller, OU, Shetty, G. Prevention of adverse effects of cancer treatment on the germline. In: Anderson D, Brinkworth MH, eds. Male-Mediated Developmental Toxicity. Cambridge: Royal Society of Chemistry 2007, 114-23.

Geens M, Goossens E, De Block G, Ning L, Van Saen D, Tournaye H. Autologous spermatogonial stem cell transplantation inman: current obstacles for a future clinical application. Hum Reprod Update 2008, 14: 121-30.

¿Qué anticonceptivos masculinos existen en la actualidad y cuál es la perspectiva respecto al desarrollo de nuevos métodos de anticoncepción para el hombre?

J. K. Amory y W.J. Bremner

Vasectomía y preservativos

Actualmente, las opciones anticonceptivas más eficaces para los hombres son la vasectomía y los condones o preservativos, las cuales representan el 20-30% de los procedimientos anticonceptivos en Estados Unidos. La vasectomía es una cirugía segura, simple, poco invasiva, bajo anestesia local, durante la cual se realiza una pequeña incisión en el escroto por la cual se corta el vaso deferente y se ligan y/o cauterizan sus extremos. Las vasectomías son altamente efectivas con un margen de error de menos del 1%. La técnica denominada de "no bisturí", en la cual se realiza una sola punción con tijeras en la mitad de la zona escrotal, probablemente es superior a las viejas técnicas. Las desventajas de la vasectomía incluyen una demora de varios meses en el inicio de la azoospermia, dolor, y raras veces infecciones. Mientras que el dolor post-operatorio se resuelve rápidamente, algunos hombres experimentan una molestia crónica en el escroto. La vasectomía es más apropiada para hombres que ya no desean tener hijos, debido a que la cirugía para revertirla no siempre restaura la fertilidad.

Los preservativos hechos a base de intestino animal han sido usados como método de control de la fertilidad masculina por cientos de años. Desde 1920, la mayoría de los preservativos han sido hechos a base de látex, los cuales aportan también alguna protección contra enfermedades de transmisión sexual incluyendo el VIH/SIDA. Sin embargo, los preservativos tienen una baja eficacia anticonceptiva con tazas de embarazos cercanas al 10-15% por año debidas, principalmente, a un uso incorrecto o inconsistente, si bien la ruptura de los mismos también puede ocurrir. Asimismo, las alergias al látex pueden representar un problema para algunos usuarios para los cuales los preservativos de poliuretano son una alternativa razonable.

Anticonceptivos masculinos experimentales

Actualmente, los esfuerzos están siendo dirigidos a desarrollar nuevos métodos anticonceptivos para hombres. El abordaje más utilizado involucra la administración de testosterona, la cual suprime la secreción hipofisaria de las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) (Capítulo 8; Fig. 1) privando al testículo de las señales requeridas para la espermatogénesis. Esto trae como resultado una marcada disminución en la producción de espermatozoides y una efectiva anticoncepción en la mayoría de los hombres. La anticoncepción hormonal masculina es bien tolerada, completamente reversible y aparentemente libre de efectos adversos serios. Desafortunadamente, los regímenes en los cuales se utiliza únicamente testosterona, no suprimen completamente la espermatogénesis en algunos hombres, lo que significa que el potencial de fertilidad persiste. Por ello se han estudiado combinaciones de

testosterona y progestágenos, las cuales suprimen las gonadotropinas en forma sinergística (ver abajo).

Normalmente, la concentración de espermatozoides supera los 15 millones/ml. La ausencia de espermatozoides en el eyaculado, denominada azoospermia, impide la fecundación. Una concentración de espermatozoides por debajo de 1 millón/ml, es decir una “oligospermia severa”, se asocia con un riesgo de embarazo de aproximadamente 1% por año. Por lo tanto, se considera que lograr una “oligospermia severa” en todos los hombres es una meta razonable en el desarrollo de anticonceptivos masculinos. Debido a que la anticoncepción hormonal inhibe la producción de espermatozoides, en la mayoría de los hombres se requieren 2-3 meses para que la producción de espermatozoides se suprima completamente. Por razones aun desconocidas, los hombres asiáticos exhiben tasas más altas de azoospermia que los no asiáticos.

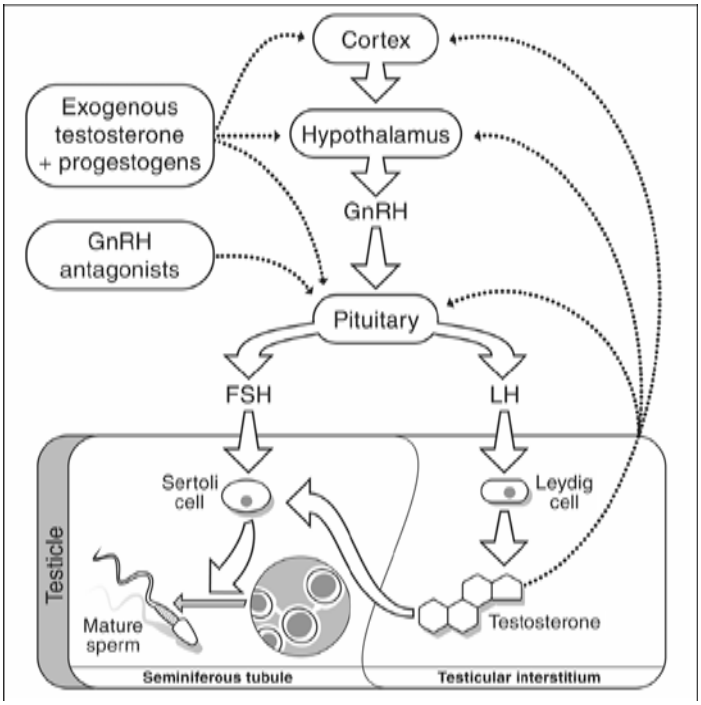


FIG 1. Espermatogénesis y anticoncepción hormonal masculina. Flechas llenas, estimulación de la espermatogénesis; flechas punteadas, inhibición de la espermatogénesis. Abreviaturas: FSH, hormona folículo estimulante; GnRH, hormona liberadora de gonadotrofina; LH, hormona luteinizante. La retroalimentación negativa de testosterona ocurre a nivel de la hipófisis, el hipotálamo y el córtex.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) llevó a cabo dos grandes ensayos clínicos multicéntricos de inyecciones de enantato de testosterona como método de anticoncepción masculina. El primer estudio reunió 271 individuos a los cuales se les administraron 200mg de enantato de testosterona mediante una inyección semanal intramuscular, por un período de 6 meses. El 60% de los hombres de este estudio se volvieron azoospérmicos, y un 30% adicional presentó una oligospermia severa. La eficacia del método se evaluó estudiando la fertilidad

de los 119 hombres azoospérmicos durante un periodo de 12 meses. En estas parejas, sólo hubo un embarazo, lo cual corresponde a una tasa de embarazo de menos del 1%.

El segundo estudio examinó la fertilidad de los hombres que se volvieron azoospérmicos u oligospérmicos (definido en este estudio como menos de 3 a 5 millones de espermatozoides/ml eyaculado) mediante inyecciones semanales de 200mg de enantato de testosterona. De un total de 399 hombres mayoritariamente asiáticos, todos, excepto 8 (2%) se volvieron oligospérmicos o azoospérmicos. No se registraron embarazos generados por aquellos hombres que se volvieron azoospérmicos, y la fertilidad se redujo a 8.1 embarazos por 100 años/persona en aquellos individuos con menos de 3 millones de espermatozoides/ml. Por lo tanto, la tasa total de fracasos fue de 3.4% para una eficacia anticonceptiva total de 96.6%. Todos los individuos volvieron a la normalidad tras la interrupción de las inyecciones de testosterona. Estos dos estudios demuestran que la administración de testosterona es segura, reversible y altamente efectiva en la mayoría de los hombres, si bien también demuestran que es posible tener embarazos aún con concentraciones muy bajas de espermatozoides.

Los efectos secundarios observados en estos ensayos incluyen una disminución del 10-20 % en la concentración sérica del colesterol HDL, acné ocasional, y una pequeña y reversible reducción del volumen testicular. Es importante destacar que las funciones cognitivas, el bienestar, la calidad de vida y el funcionamiento sexual no fueron afectadas. El régimen resultó mejor que el esperado por la mayoría de los individuos; sin embargo, la necesidad de inyecciones intramusculares semanales llevó a que el 12 % de los individuos interrumpiera su participación. Por esta razón, las investigaciones en anticoncepción hormonal masculina se han enfocado a lograr formulaciones de testosterona que puedan ser administradas con una menor frecuencia, tal como el undecanoato de testosterona. Es así que se estudiaron los efectos de inyecciones mensuales de 500 mg de esta hormona a 308 hombres chinos, de los cuales 299 llegaron a tener concentraciones espermáticas por debajo de 3 millones espermatozoides/ml. Doscientos noventa seis de estos hombres continuó con el uso de las inyecciones de undecanoato de testosterona como único método anticonceptivo durante un año. En estas parejas, se registró tan sólo un embarazo, para una eficacia anticonceptiva total de 97%. El undecanoato de testosterona también se probó combinado con el progestágeno etonogestrel en forma de implantes en 350 individuos, observándose una supresión de la espermatogénesis mayor del 90% con una concentación espermática menor a 1 millón espermatozoides/ml.

Aun se desconoce la razón por la cual en algunos hombres no se observa supresión de la espermatogénesis, a pesar de la profunda supresión de las gonadotrofinas Dado que durante el tratamiento, se observan pocas diferencias significativas en los niveles de gonadotrofinas entre aquellos hombres que llegan a la azoospermia y aquellos que no lo hacen, el grado de supresión de las gonadotrofinas no sería la respuesta. Por lo tanto, es muy probable que estén involucrados la genética, la dieta u otros factores. Claramente, se requieren estudios adicionales sobre el control de la espermatogénesis.

Resumen

La vasectomía y el condom son métodos de anticoncepción masculina masivamente utilizados y efectivos. El método experimental de anticoncepción hormonal que utiliza la combinación de testosterona y progestágenos suprime en forma reversible la espermatogénesis en el hombre sin traer aparejados efectos adversos severos en la mayoría de los individuos. Sin embargo, aun no se ha logrado desarrollar un régimen efectivo uniforme. De todas maneras, es posible que el mejoramiento de este enfoque resulte en la futura incorporación a la clínica de un método anticonceptivo masculino seguro, reversible y efectivo.

Lecturas sugeridas:

Gu Y-Q, Wang X-H, Xu D, et al. A multicenter contraceptive efficacy study of injectable testosterone undecanoate in healthy Chinese men. J Clin Endocrinol Metab. 2003; 88: 562-8.

Jamieson DJ, Costello C, Trussell J, et al. The risk of pregnancy after vasectomy. Obstet Gynecol. 2004;103: 848-50.

Mommers E, Kersemaekers WM, Elliesen J et al. Male hormonal contraception: a double-blind, placebo controlled study. J Clin Endocrinol Metab. 2008; 93: 2572-80.

Nieschlag E. 10th Summit meeting consensus: recommendations for regulatory approval for hormonal male contraception. Contraception. 2007; 75: 166-7.

Piccinino LJ, Mosher WD. Trends in contraceptive use in the United States: 1982:1995. Fam Plan Persp. 1998;30:4-10.

Trussell J, Vaughan B. Contraceptive failure, method-related discontinuation and resumption of use: results from the 1995 National Survey of Family Growth. Fam Plann Perspect. 1999; 31: 64-72.

World Health Organization Task Force on Methods for the Regulation of Male Fertility. Contraceptive efficacy of testosterone-induced azoospermia and oligozoospermia in normal men. Fertil Steril .1996; 65: 821-9.

World Health Organization. Contraceptive efficacy of testosterone-induced azoospermia in normal men. Lancet. 1990; 336: 995-9.

¿Cuáles son las consecuencias de las infecciones de transmisión sexual sobre la reproducción masculina?

F.R. Ochsendorf

Las infecciones/enfermedades de transmisión sexual (STI, por sus siglas en inglés, *Sexual Transmitted Infections*) son causadas por organismos que comparten las siguientes propiedades: 1) muy sensibles a factores físicos/químicos, por lo tanto solamente trasmisibles por contacto directo, 2) infecciosos solamente para los humanos, 3) colonizan la región genital, 4) a menudo causan síntomas leves y 5) no conducen al desarrollo de inmunidad. Como consecuencia, pueden ocurrir al mismo tiempo infecciones simultáneas con diferentes agentes de STI (Tabla 1).

Mecanismo de daño

La fertilidad puede ser afectada por daño a órganos debido al organismo en sí mismo, daño celular por mediadores de la inflamación, obstrucción inflamatoria del sistema ductal excurrente, o unión a los espermatozoides. Así, con respecto al impacto sobre el sistema reproductor masculino, las STI crónicas o tratadas inadecuadamente son más relevantes que las infecciones agudas.

Relevancia

La diferencia en la prevalencia de las STI en diferentes regiones del mundo, así como el acceso a su diagnóstico y tratamiento adecuados, explican los datos conflictivos sobre la relevancia de estas infecciones en la infertilidad masculina. En los países occidentales las STI sólo dan cuenta de una minoría del daño inflamatorio en el tracto reproductor. Sin embargo, en otras partes del mundo las STI pueden afectar severamente la fertilidad masculina: los hombres con historia de secreción del pene, micción dolorosa y úlceras genitales, que no buscaron tratamiento adecuado para estos síntomas, son más proclives a ser infértiles que hombres sin estos síntomas o adecuadamente tratados. Recientemente ha sido mostrado que el 18,7 % de las muestras de semen (45/241) de hombres asintomáticos bajo investigación por infertilidad contienen ADN de patógenos STI (por ej: CMV (Citomegalovirus), HPV (Virus del papiloma Humano, del inglés Human Papiloma Virus), HSV (Virus del Herpes Simple, del inglés Herpes Simplex Virus), HHV6 (Virus de Herpes Humano tipo 6, del inglés Human Herpes Virus type 6), EBV (Virus de Epstein-Barr, del inglés Epstein-Barr Virus), *C. trachomatis*). No existe ninguna diferencia en la prevalencia entre muestras con o sin leucocitospermia. La presencia de ADN de STI en muestras de semen ha sido asociada con alteraciones en los parámetros seminales (por ej: concentración, concentración de espermatozoides mótiles, cuenta total espermática y concentración de alfa-glucosidasa neutral). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la presencia de un germen no necesariamente significa “infección”, dado que el patógeno sólo puede colonizar el tejido sin causar una infección clínica con secuelas patológicas. Este hecho puede explicar también algunos datos conflictivos en la literatura. Otro impacto de las STI es su potencial de aumentar la tasa de transmisión de HIV (Virus de Inmunodeficiencia Humana; del inglés *Human Immunodeficiency Virus*). Así, el diagnóstico y tratamiento adecuado de las STI

no es solamente relevante para la prevención de consecuencias negativas a largo plazo para la fertilidad, sino también para la prevención de la propagación del VIH.

Infecciones relevantes

Varios de los patógenos comunes que pueden ser aislados en el tracto reproductor masculino son listados en la Tabla 1. Actualmente, la literatura apoya la asociación de la infección con gonococos y VIH con un impacto negativo significativo sobre la fertilidad masculina, mientras que el rol de otros patógenos como *Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum,* HSV, HPV y *Trichomonas vaginalis* en afectar la fertilidad masculina se mantiene controvertido.

Bacterias y protozoos

La revisión de la literatura no puede demostrar una conexión general entre uretritis y la infertilidad masculina. Sin embargo, la gonorrea puede causar estenosis uretral, así como un impedimento importante en la función testicular. En la mujer, la infección con *C. trachomatis* puede impedir la fertilidad por obstrucción tubaria. Por otra parte, su impacto sobre la fertilidad masculina aún debe ser determinado aunque algunos datos epidemiológicos apuntan al riesgo de subfertilidad en hombres (y mujeres) con infección previa de *C. trachomatis*. El rol exacto de *Mycoplasmae*, esto es, *M. hominis, Ureaplasma urealyticum*, y *M. genitalium* aún debe ser dilucidado. El *U. urealyticum* podría ser causa de infertilidad por efectos deletéreos en la cromatina espermática y en la integridad del ADN, conduciendo a un impedimento del desarrollo embrionario. *Trichomonas vaginalis* fue más frecuentemente encontrada en hombres infértiles que en controles fértiles; sin embargo, no se ha demostrado un efecto sobre la motilidad o la interacción espermatozoide-moco cervical (Soper 2004).

Virus

Hasta el presente la relevancia clínica de los virus como causa de infertilidad masculina es desconocida. El citomegalovirus y el virus del herpes humano tipo 6 (HHV-6) han sido encontrados en el semen sin mostrarse una asociación con parámetros seminales alterados. Los datos sobre la relevancia del virus del herpes simple (HSV) así como del virus del papiloma humano (HPV) y sus asociaciones con los parámetros seminales son contradictorios (Ochsendorf 2006).

VIH

Los leucocitos infectados son la fuente más relevante de virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en el tracto reproductor masculino. En pacientes con el Sindrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA; sigla en inglés, AIDS, *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) se ha reportado oligozoospermia, azoospermia, orquitis e hipogonadismo. La morfología espermática está particularmente alterada con la progresión de la enfermedad. La disminución en el volumen del semen y el incremento en la viscosidad pueden ser explicados por alteración en la función de las vesículas seminales. Con los últimos avances en la terapia de medicamentos, la infección por VIH es considerada una enfermedad crónica. La seguridad tanto de la pareja no

infectada como de la descendencia son de particular interés. En una pareja serodiscordante, el riesgo de adquirir VIH es dependiente de la carga viral del semen. Dependiendo de la calidad del semen, los espermatozoides pueden ser usados para inseminación intrauterina, FIV o ICSI luego de la preparación adecuada del eyaculado. El semen debe ser liberado del VIH por una técnica de gradiente y el éxito de este procedimiento debe ser controlado antes del uso. Por lo tanto, es necesario un asesoramiento detallado de ambos miembros de la pareja sobre las alternativas terapéuticas y sobre aspectos psicosociales y económicos con respecto a su salud sexual y reproductiva.

Tabla 1: Infecciones de transmisión sexual: patógenos y relevancia para la infertilidad masculina, + = relevancia clínica demostrada; ? = relevancia posible pero no demostrada aún.

Enfermedad	Patógeno	Relevancia para la infertilidad
Bacteria		
Gonorrea	*Neisseria gonorrhoea*	Hombre + Mujer +
Infección con Chlamydia	*Chlamydia trachomatis* (D-K)	Hombre? Mujer +
Uretritis (debido a)	*Ureaplasma urealyticum*	Puede afectar la motilidad, la condensación de la cromatina espermática?
Sífilis	*Treponema pallidum*	Co-factor para la transmisión de HIV Lesiones testiculares gomatosas: + Mujer +
Chancro	*Haemophilus ducrey*	-
Linfogranuloma venéreo	*Chlamydia trachomatis* (L1-L3)	-
Granuloma inguinal	*Calymmatobacterium granulomatis*	-
Virus		
AIDS	HIV	Hombre +
Mononucleosis	CMV	-
Infección asintomática	HSV	Calidad seminal afectada?
Infección asintomática	HPV	Calidad seminal afectada? Astenozoospermia
Infección asintomática	Adenovirus	Infertilidad?
Paperas	Virus de paperas	Atrofia testicular +
Protozoos		
Uretritis (prostatitis, epididimitos) debido a	*Trichomonas vaginalis*	? Controvertido
Levaduras		
Balanitis, uretriris (debido a)	*Candida albicans*	-

Lecturas sugeridas:

Bezold G, Politch JA, Kiviat NB, Kuypers JM, Wolff H, Anderson DJ. Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leukocytospermia. Fertil Steril. 2007; 87: 1087-1097.

Dejucq N, Jégou B. Viruses in the mammalian male genital tract and their effects on the reproductive system. Microbiol Mol Biol Rev. 2001; 65: 208-231.

Karinen L, Pouta A, Hrtikainen AL, et al. Association between Chlamydia trachomatis antibodies and subfertility in the Northern Finland Birth Cohort 1966 (NFBC 1966), at the age of 31 years. Epidemiol Infect. 2004; 132: 977-984.

Ness RB, Markovic N, Carlson CL, Coughlin MT. Do men become infertile after having sexually transmitted urethritis? An epidemiologic examination. Fertil Steril. 1997; 68: 205-213.

Ochsendorf FR. Reproductive tract infections/sexually transmitted diseases. In: Schill WB, Comhaire FH, Hargreave TB, eds. Andrology for the clinician Berlin - Heidelberg - New York Springer. 2006: 125-130.

Okonofua F, Menakaya U, Onemu SO, Omo-Aghoja LO, Bergstrom S. A case-control study of risk factors for male infertility in Nigeria. Asian J Androl. 2005; 7: 351-361.

Paavonen J, Eggert-Kruse W. Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction. Hum Reprod Update. 1999; 5: 433-447.

Reichart M, Kahane I, Bartoov B. In vivo and in vitro impairment of human and ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted Ureaplasma urealyticum infection. Biol Reprod. 2000; 63: 1041-1048.

Soper D. Trichomoniasis: under control or undercontrolled? Am J Obstet Gynecol. 2004; 190: 281-290.

van Leeuwen E, Prins JM, Jurriaans S, et al. Reproduction and fertility in human immunodeficiency virus type-1 infection. Hum Reprod Update. 2007; 13: 197-206.

¿Qué tipos de Cáncer Testicular ocurren en hombres? ¿Cuál es su pronóstico? ¿Cuán efectivos son los enfoques terapéuticos actuales?

N.E. Skakkebaek

Tumores de células germinales

La incidencia del cáncer testicular ha estado aumentando en todo el mundo hasta llegar a ser el cáncer más frecuente en hombres jóvenes. La gran mayoría de estos tumores son germinales y se cree que se originan en células germinales primordiales o gonocitos que no han podido diferenciarse a espermatogonias durante la vida fetal. Estas células precursoras persisten durante la infancia y no evolucionan a cáncer invasor hasta luego de la pubertad. El pico de incidencia del cáncer germinal testicular ocurre entre los 20 y 40 años, y su incidencia es muy baja en hombres de edad avanzada. La neoplasia de células germinales puede permanecer como no infiltrante por muchos años adoptando el patrón de carcinoma in situ preinvasivo (CIS), en el que las células germinales normales de los tubos seminíferos son reemplazadas por una hilera basal de células germinales de carcinoma in situ (Figura 1).

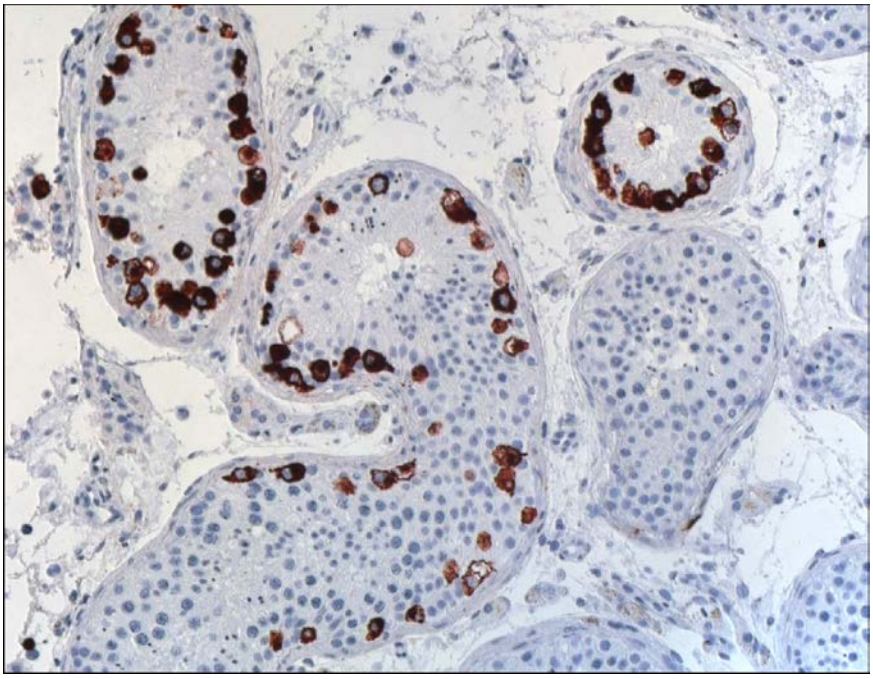


FIG 1. Biopsia testicular que muestra varios túbulos seminíferos con células de carcinoma in situ sobre la membrana basal (teñidas de color marrón rojizo por la inmunomarcación con anticuerpos anti fosfatasa alcalina). Los dos túbulos superiores contienen células de CIS y células de Sertoli, pero no células germinales normales, mientras que el túbulo con CIS de la parte inferior de la figura también contiene células germinales. Como comparación, en la esquina inferior derecha se puede observar un túbulo seminífero con espermatogénesis normal.

Los túbulos seminíferos conteniendo CIS pueden ocupar una pequeña porción del testículo o extenderse hasta casi el 100% del parénquima testicular.

En los mismos, las células de Sertoli son un componente habitual, pero las espermatogénicas normales están frecuentemente ausentes. Investigaciones recientes han demostrado que las células de CIS expresan marcadores de células madre como el OCT-4, NANOG, AP-2 gamma y C-Kit. Se piensa que los pacientes portadores de CIS eventualmente desarrollarán tumores invasores de tipo seminoma o no-seminoma. Debe entenderse que los seminomas son en realidad gonocitomas (no tumores “seminales o de semen” como su nombre podría sugerir). Hay cuatro sub tipos de tumores no seminomatosos: carcinoma embrionario, terato-carcinomas, coriocarcinomas y carcinomas del saco vitelino (tumores del seno endodermal). En muchos casos elementos de tipo seminoma y no-seminoma coexisten en el mismo tumor testicular (nota del traductor: son los tumores germinales “mixtos”).

La principal razón para dividir los tumores germinales en estas categorías es que el pronóstico y el tratamiento para los seminomas y los no-seminomas es diferente. Antes de la introducción de la quimioterapia basada en el cis-platino en los 1980s, los seminomas tenían un pronóstico relativamente bueno, mientras que los no-seminomas se asociaban con una tasa de mortalidad elevada, particularmente si habían metastatizado al momento de la presentación inicial.

Diagnóstico

El diagnóstico de un tumor testicular debe basarse en una historia clínica cuidadosamente confeccionada. En la mayor parte de los casos los pacientes se presentan con una masa testicular con muy escasos síntomas acompañantes. Se deben explorar los posibles antecedentes de criptorquidia. La cuidadosa palpación de ambos testículos generalmente revela un nódulo consistente. La evaluación clínica puede incluir una ecografía testicular y la medición de marcadores tumorales en suero incluyendo la gonadotrofina coriónica humana (hCG, elevada en casos de coriocarcinoma) y la α-feto proteína (elevada en el carcinoma del saco vitelino). Desafortunadamente, el diagnóstico de cáncer testicular puede demorarse por la falta de atención del paciente a los signos de tumor o la confusión del médico tratante con una patología infecciosa del epidídimo.

Tratamiento y Pronóstico

El manejo inicial de los tumores germinales del testículo incluye la orquidectomía radical y la estadificación del tumor por tomografía computada para descartar metástasis mediastinales y retroperitoneales. En ausencia de signos de metástasis y dependiendo del diagnóstico histopatológico y los niveles de marcadores séricos, es necesario realizar frecuentes visitas de seguimiento y estudios de imágenes. En casos de tumores de tipo más agresivo y de acuerdo a la clasificación histopatológica, elevación de marcadores séricos o presencia de metástasis es posible indicar quimioterapia combinada o radioterapia. En caso de haber metástasis y debido a pueden ser de un tipo histológico diferente a la del tumor original es necesaria la exploración quirúrgica con biopsia y/o extirpación. Las metástasis de seminoma puro son habitualmente muy sensibles a la radioterapia. En casos de presencia de tejidos seminomatosos y no

seminomatosos en el mismo tumor la estrategia terapéutica debe dirigirse a los tejidos no seminomatosos que requieren terapias más agresivas tales como quimioterapia combinada basada en cis-platino. Con los avances recientes en el diagnóstico y opciones terapéuticas ocurridos durante la última década, el pronóstico del cáncer testicular ha mejorado dramáticamente, incluyendo sobrevidas del 90-95 % a los 5 años y muy buena calidad de vida.

La mayor parte de los cánceres germinales testiculares son unilaterales, pero el testículo contralateral tiene riesgo aumentado de desarrollar un segundo cáncer germinal, que puede presentarse meses o años después del diagnóstico inicial. Este riesgo aumentado no se debe a metástasis del tumor original, sino a la presencia de carcinoma in situ que es encontrado en un 5% de los testículos contralaterales al momento del diagnóstico inicial. Por lo tanto, algunos oncólogos recomiendan la biopsia del testículo contralateral al momento de la orquidectomía primaria. Si se detecta neoplasia en estado preinvasivo (CIS), se puede evitar una segunda orquidectomía y preservar al menos parcialmente la función testicular recurriendo a tratamiento coadyuvante con 16-20 Gy de terapia radiante.

Factores de riesgo

Los hombres con cáncer germinal testicular son en general menos fértiles que los de la población general, aún antes de la aparición del tumor. El cáncer testicular se asocia también con una historia de criptorquidia o hipospadias. El ***sindrome de disgenesia testicular*** agrupa muchas de estas patologías relacionadas, siendo el cáncer germinal la más severa. Además de las lesiones de CIS los testículos disgenéticos pueden tener áreas de tipo Sertoli solo, tubos seminíferos inmaduros, nódulos de células de Leydig y microlitiasis intratubular. Debido al riesgo de infertilidad que los tratamientos antineoplásicos mas agresivos pueden causar, es recomendable que los pacientes con tumores testiculares criopreserven su semen antes del tratamiento (ver capítulo 14).

Otros tumores testiculares

Los tumores germinales testiculares ocurren raramente en neonatos y durante los primeros años de vida. Estos tumores tienen diferente origen y patogénesis que sus contrapartes del adulto. Los hombres mayores de 60 años pueden desarrollar un tumor germinal especial conocido como seminoma espermatocítico. El seminoma clásico que ocurre en hombres menores, y el seminoma espermatocítico no están biológicamente relacionados y tienen una patogénesis completamente diferente. La variedad espermatocítica deriva de células de la espermatogénesis más bien que de gonocitos que son las células originarias del seminoma clásico. Esta última es más agresiva y tiene mayor riesgo metastásico que el seminoma espermatocítico.

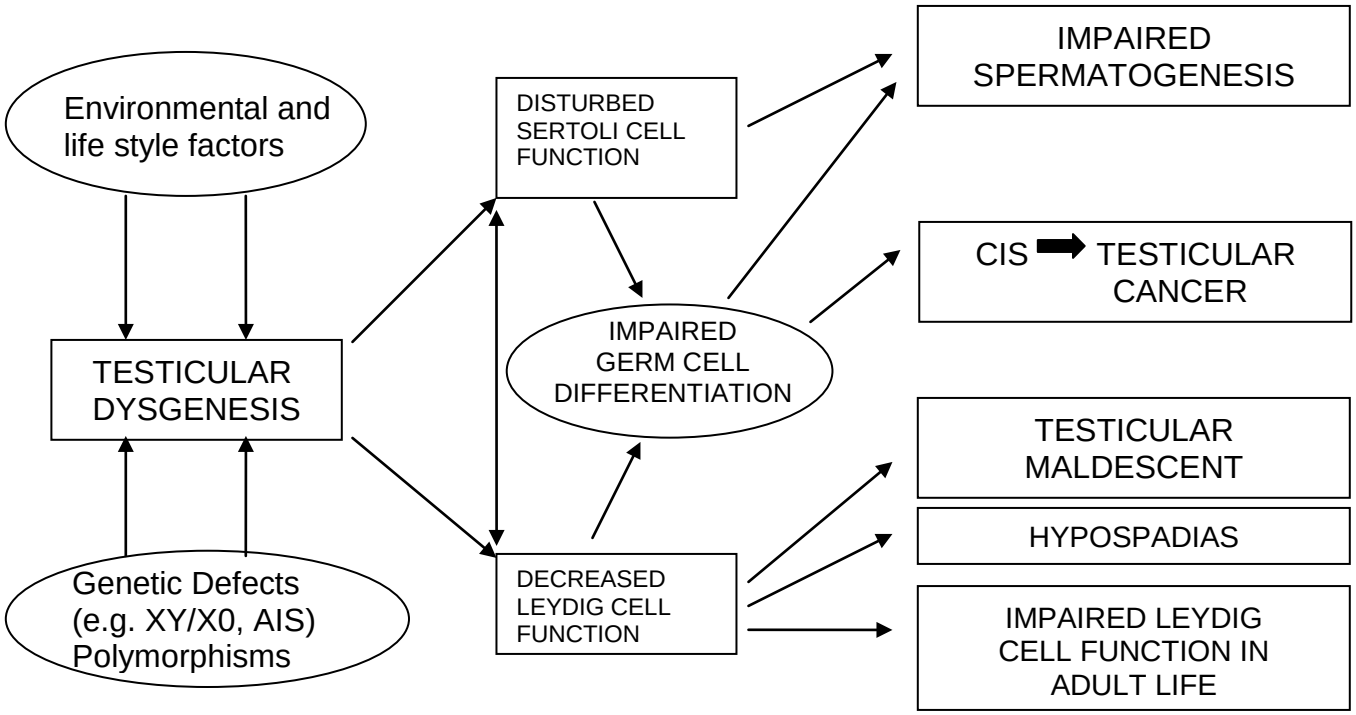


FIG. 2. Patogénesis del síndrome de disgenesia testicular. Tanto factores genéticos como ambientales pueden contribuir a la disgenesia testicular (modificado de (9))

Las células somáticas testiculares, incluyendo las de Sertoli y Leydig desarrollan tumores muy raramente, benignos en su mayoría. Los tumores de Leydig pueden producir elevados niveles de testosterona que, a través de su conversión a estrógenos por aromatización periférica causan ginecomastia. Finalmente, los linfomas y las leucemias son capaces de infiltrar el testículo y simular un tumor gonadal, por lo que es necesario que el médico tratante conozca las varias formas de presentación clínica de los tumores testiculares.

Lecturas sugeridas:

Einhorn LH, Donohue JP. Improved chemotherapy in disseminated testicular cancer. J Urol. 1977; 117: 65-9.

Horwich A, Shipley J, Huddart R. Testicular germ-cell cancer. Lancet. 2006; 367(9512): 754-765.

Huyghe E, Matsuda T, Thonneau P. Increasing incidence of testicular cancer worldwide: a review. J Urol. 2003; 170(1): 5-11.

Møller H, Skakkebæk NE. Risk of testicular cancer in subfertile men: case control study. Br Med J. 1999; 318: 559-62.

Petersen PM, Skakkebæk NE, Vistisen K, Rørth M, Giwercman A. Semen quality and reproductive hormones before orchiectomy in men with testicular cancer. J Clin Oncol. 1999; 17: 941-7.

Purdue MP, Devesa SS, Sigurdson AJ, McGlynn KA. International patterns and trends in testis cancer incidence. Int J Cancer. 2005; 115: 822-7.

Rajpert-De Meyts E. Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. Hum Reprod Update. 2006; 12(3): 303-23.

Rajpert-De Meyts E, Jacobsen GK, Bartkova J, Aubry F, Samson M, Bartek J, Skakkebæk NE. The imunohistochemical expression pattern of Chk2,p53, p19-INK4d, MAGE-A4 and other selected antigens provides new evidence for the pre-meiotic origin of spermatocytic seminoma. Histopathology. 2003; 42: 217-26.

Skakkebæk NE, Berthelsen JG, Giwercman A, Müller J. Carcinoma-in-situ of the testis: possible origin from gonocytes and precursor of all types of germ cell tumours except spermatocytoma. Int J Androl. 1987; 10: 19-28.

Skakkebæk NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. Hum Reprod. 2001; 16: 972-8.

¿Cómo ocurren las erecciones?, ¿Cuán frecuente es la disfunción eréctil?, ¿Cuál es su etiología? y ¿Cómo evalúa Usted a los hombres con este problema?

P. M. Pierorazio y A. L. Burnett

Cómo ocurren las erecciones?

La erección peneana requiere una elaborada coordinación de procesos neurológicos, vasculares y neurales, en un contexto psicológico apropiado. Este proceso sucede con el llenado de sangre de los cuerpos cavernosos, que son las cámaras esponjosas vasculares del pene, de manera que se forme un órgano rígido apto para el acto sexual. Las erecciones se inician y mantienen por dos procesos principales: relajación de las arterias de los cuerpos cavernosos para permitir un mayor aflujo de sangre, y resistencia aumentada de las venas, para mantener la tumescencia. La resistencia aumentada al eflujo sanguíneo es un proceso pasivo –los sinusoides venosos se comprimen contra la túnica albugínea por la expansión del tejido peneano-. El aflujo sanguíneo aumentado es un proceso neurohormonal complejo en el cual mensajeros moleculares (óxido nítrico, GMPc, AMPc entre otros) liberados por neuronas locales conducen a la relajación del músculo liso, a la dilatación arterial y al aumento del aflujo sanguíneo.

Cuán frecuente es la disfunción eréctil?

La disfunción eréctil (DE) es definida como “la incapacidad de lograr y/o mantener una erección peneana suficiente para una relación sexual satisfactoria” (guía AUA 2005). La prevalencia de la DE aumenta con la edad. En hombres menores de 40 años la tasa mundial de DE varía de 1 a 9%. En la 7º década la tasa es del 20 al 40%. Luego de los 70 años el 50-75% del os hombres tendrán DE. Se estima que en Estados Unidos aproximadamente 600.000 hombres por año desarrollarán DE. El riesgo es mayor cuando el paciente sufre diabetes mellitus, problemas cardíacos e hipertensión.

Cuál es su etiología?

La DE se puede manifestar de varias formas y puede tener muchas causas fisiológicas. Los pacientes pueden ser incapaces de lograr una erección completa o de mantenerla; pueden tener dolor durante la erección o cambios en la sensación erógena peneana. Estos problemas pueden ser causados por neuronas disfuncionales que llevan mensajes al pene, o puede haber una incapacidad de los vasos para suministrar un flujo sanguíneo adecuado para lograr una erección.

Las causas de DE se agrupan en 5 categorías: (1) vasculogénica, por problemas arteriales o venosos, (2) neurogénica, (3) endocrinológica, (4) medicamentosa y (5) psicológica. La etiología más común de la DE es por lejos la vasculogénica, y probablemente las causas venosas son ligeramente más frecuentes que las arteriales. La etiología vasculogénica puede estar relacionada con la enfermedad cardiovascular, como la arteriosclerosis, que conduce a insuficiencia arterial o a acambios degenerativos del tejido fibroelástico peneano. Se estima que las causas neurogénicas son responsables del 10-19% de la DE. Pueden estar relacionadas con enfermedades neurológicas (como la esclerosis múltiple) o ser el resultado de

daño orgánico a los nervios durante cirugías o traumatismos pelvianos. Las causas endocrinológicas de DE son más raras; sin embargo trastornos tiroideos o de las hormonas sexuales son más frecuentes en pacientes con DE que en la población general. Muchos casos de DE están relacioonados con medicamentos. Los más frecuentes son los antihipertensivos, especialmente los β-bloqueantes, que llevan a una perfusión sanguínea disminuida a nivel peneano. Otras medicaciones, como algunos psicofármacos o aquellas drogas que reducen las hormonas sexuales masculinas (por ejemplo la testosterona) también están relacionadas con la DE. Se cree que las causas psicológicas tienen algún tipo de implicancia en hasta el 90% de los casos de DE (habitualmente combinadas con alguna otra etiología). Las causas psicológicas más frecuentes son depresión, ansiedad y estrés, aunque muchos desórdenes psiquiátricos pueden contribuir a la DE. Muchos estados de DE pueden tener más de una etiología claramente identificada. Por ejemplo, la diabetes mellitus puede producir disfunción tanto vasculogénica como neurogénica, que puede dificultar la erección.

Cómo evalúa Usted a los hombres con este problema?

Además de recabar datos respecto de la etiología de la DE, es importante comprender si ésta es un problema físico (no hay erecciones, o no son satisfactorias) o es circunstancial (hay erecciones pero no durante la estimulación sexual). Los casos funcionales se pueden comprender como orgánicos versus psicogénicos. La DE orgánica hace referencia a un problema físico que impide lograr una erección funcional, y habitualmente es vasculogénica, neurogénica, endocrinológica, o relacionada con alguna medicación. En ausencia de estos estados podemos inferir que la causa es psicológica. Las clasificaciones etiológicas y funcionales de la DE son expuestas en la Figura 1.

Por lo tanto, los parámetros más importantes para evaluar la DE son una buena historia clínica y un completo examen físico. Primero, comprender las circunstancias de la DE del paciente puede ayudar a definir el tipo de la misma y en algunos casos su etiología. Los detalles importantes de la historia sexual, particularmente los referidos a la erección, incluyen el grado de rigidez alcanzado, la presencia de erecciones nocturnas o matutinas, la capacidad para mantener una relación sexual o para masturbarse, y la presencia de alguna deformidad o curvatura peneana. Los cuestionarios como el Inventario de Salud Sexual Masculina (SHIM, por sus siglas en inglés) tambiérn conocido como en Indice Internacional de Función Eréctil en su versión de 5 items (IIEF-5, por sus siglas en inglés), son herramientas estandarizas para comprender y clasificar la severidad de la DE de cada paciente. Habitualmente calificaciones altas indican función eréctil normal, mientras que calificaciones bajas indican grados cada vez peores de DE.

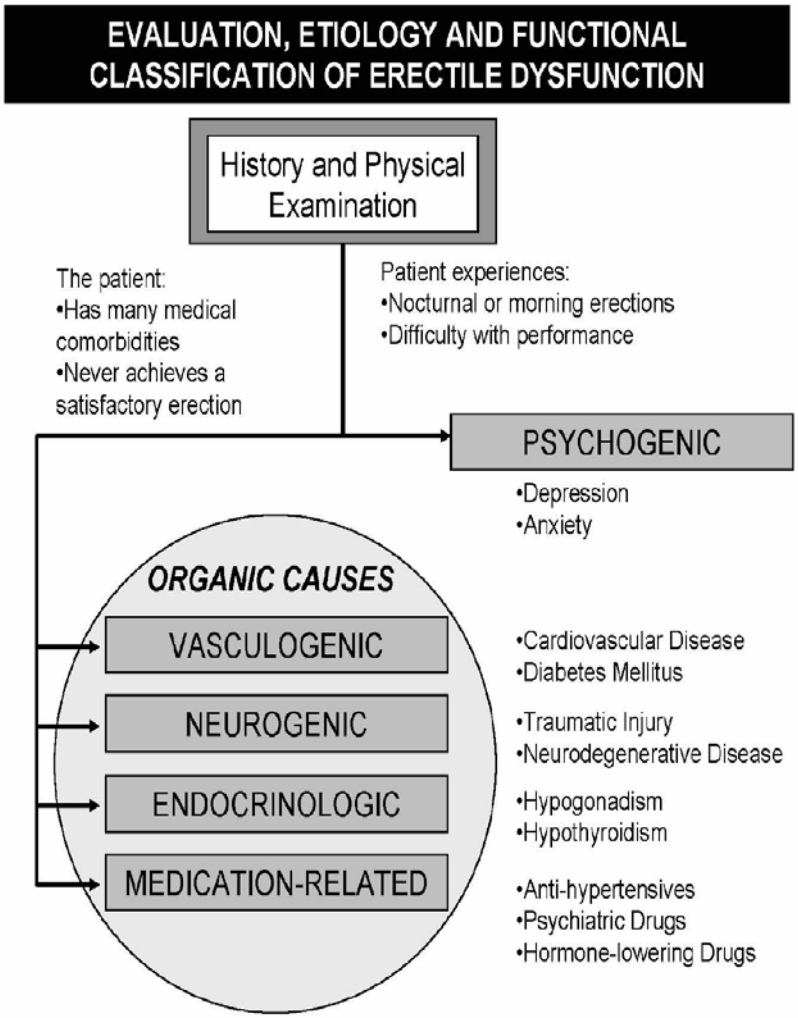


FIG 1: Evaluación, etiología y clasificación funcional de la disfunción eréctil (DE). Al lado de cada categoría se citan ejemplos frecuentes de enfermedades

[recuadro] Historia clínica y exámen físico

[a la izq] el paciente:
-- tiene varias comorbilidades médicas
-- nunca logra una erección satisfactoria
[a la der] el paciente experimenta:
-- erecciones nocturnas o matutinas
-- dificultad para mantener una relación sexual
[fuera del círculo] Causas psicógenas: depresión – ansiedad
[en el círculo y a su derecha] Causas orgánicas:
--Vasculogénicas: enfermedad cardiovascular – diabetes mellitus
--Neurogénicas: injuria traumática – enfermedad neurodegenerativa
--Endocrinológicas:hipogonadismo - hipotiroidismo
--Relacionadas con medicamentos: antihipertensivos – medicación psiquiátrica – drogas que disminuyen las hormonas

Muchos de estos detalles pueden ayudar al médico a discernir entre los tipos orgánicos y psicológicos de DE. Una vez aclarado que una causa orgánica es responsable de la DE (o hay una alta sospecha de que así sea) es importante pesquisar las comorbilidades del paciente, la historia médica y quirúrgica, y las medicaciones. Con estos datos el médico puede encontrar causas corregibles de DE. Por ejemplo, un paciente cuya DE coincide con

haber comenzado a recibir metoprolol (un antihipertensivo de uso frecuente) puede intentar un cambio de medicación para controlar su presión. Además es muy importante definir el riesgo de cada paciente para enfermedad cardiovascular. Estos factores son edad avanzada, hipertensión, dislipemia, diabetes mellitus, obesidad, tabaquismo y sedentarismo. Determinanda la presencia de estos factores potencialmente modificables los pacientes pueden cambiar hábitos que mejoren sus erecciones y disminuir el riesgo de tener eventos cardiovasculares (infarto) en el futuro. Información reciente demostró que la DE puede ser un signo temprano y un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular.

El examen físico debe comprender una inspección detallada de los genitales para detectar deformidades que pueden contribuir a la DE. La enfermedad de La Peyronie, por ejemplo, es una curvatura peneana asociada a DE. Testículos pequeños o ausentes pueden indicar hipogonadismo. Además, un examen vascular y neurológico meticuloso que incluya la detección de pulsos periféricos y reflejos puede sugerir causas vasculares o neurogénicas de DE.

Una vez completadas la historia clínica y el examen físico hay varios test de laboratorio y fisiológicos que pueden ser llevados a cabo para medir el grado de DE y definir causas específicas para ella. Los niveles plasmáticos de lípidos y de hormonas pueden identificar muchas causas endocrinológicas de DE. La ecografía y las técnicas por imagen vasculares pueden definir si hay o no flujo sanguíneo adecuado peneano. Generalmente muchas evaluaciones para la DE se completan sin exámenes complicados. Una historia clínica detallada y un examen físico completo habitualmente son suficientes antes de iniciar el tratamiento de la DE.

Lecturas sugeridas:

Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, McKinlay JB. Impotence and its medical and pschosocial correlates: Results of the Massachusetts Male Aging Study. JUrol. 1994; 151: 54-61.

Lue TF. Erectile Dysfunction. New England Journal of Medicine. 2000; 342:1802-13.

Lue TF. Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA (Eds.). Campbell-Walsh Urology, 9th Edition, Philadelphia, Saunders Elsevier. Chapter 21, 2007; pp-718-49.

Lue TF, Broderick GA. Evaluation and Nonsurgical Management of Erectile Dysfunction and Premature Ejaculation. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA (Eds.). Campbell-Walsh Urology, 9th Edition, Philadelphia, Saunders Elsevier. Chapter 22, 2007; pp-750-87.

Melman A, Gingell J. The epidemiology and pathophysiology of erectile dysfunction. J Urol. 1999; 161: 5-11.

Montague DK and the AUA Guidelines Panel: The management of Erectile Dysfunction: an update. AUA Education and Research, Inc., 2005 (www.auanet.org).

Saenz deTejada I, Gonzalez-Cadavid N, Heaton J, Hedlund H,, Nehra A, Pickard RS, Simonsen W, Steers W. Anatomy, physiology and pathophysiology of erectile function. In: Jardin A, Wagner G, Khoury S, Giuliano F, Padma-Nathan H, Rosen R (Eds.). Erectile Dysfunction, Plymouth, UK, Health Publication, Ltd. 2000; Chapter 3, Chapter 6, pp. 65-102.

¿Cómo tratar la disfunción eréctil?

M.C.Raynor y W.J.G.Hellstrom

Introducción

El manejo de la disfunción eréctil (DE) varía considerablemente dependiendo de la etiología. Tras una evaluación detallada del paciente afecto de DE (Capítulo 34), la terapia recomendada habitualmente dependerá de la alteración existente. En la mayoría de varones será suficiente una historia clínica, exploración física y una analítica sanguínea básica. Estudios complementarios mas invasivos podrían estar indicados en pacientes con alteraciones mas específicas (enfermedad de la Peyronie, lesión pélvica, patología endocrinológica, varones jóvenes no respondedores a tratamiento oral etc.).

Tratamiento no farmacológico

El manejo o tratamiento no farmacológico de la DE puede ser útil en algunos pacientes. El cambio en los hábitos de vida deben tenerse en cuenta para variar ciertos factores de riesgo para la DE. La obesidad y sedentarismo se asocian significativamente con la DE. Varones con un elevado índice de masa corporal (IMC) y una vida sedentaria se consideran de alto riesgo para la DE. El tabaquismo incrementa el riesgo de padecer de DE en varones con otros factores de riesgo tales como la HTA (hipertensión arterial) o diabetes mellitus. Un estudio randomizado demostró que los varones que disminuyeron su peso corporal y aumentaron su actividad física presentaron una mejoría significativa de su función eréctil.

La medicación puede también producir efectos severos sobre la función sexual. Estos efectos varían desde disminución de la tensión arterial, alteraciones en la tasa hormonal, deseo sexual inhibido o bien efectos supresivos a nivel central. (Capítulo 34). El tratamiento de la hipertensión es uno de los que, con más frecuencia, inducen a una DE y en el que se comprueba mayor efecto fármaco-DE. Los antagonistas alfa adrenérgicos no específicos y los diuréticos tiazídicos se asocian frecuentemente con DE. La espironolactona interfiere con la síntesis de testosterona y los fármacos antidepresivos pueden tener un impacto significativo sobre la función sexual. Los inhibidores de la mono amino oxidasa (IMAOS) y los inhibidores de la recaptación selectiva de la serotonina actúan a través de mecanismos del sistema central y pueden disminuir la excitación y el deseo sexual. Simplemente llevando a cabo un cambio en la medicación puede revertir la DE.

Los fármacos bloqueadores del canal del calcio y los inhibidores de la enzima convertora de angiotensina (ACE) ambos tienen una acción que disminuye la función sexual. Otros fármacos antidepresivos tales como el bupropion o la venlafaxina también pueden tener una actividad inhibidora de la función sexual.

Terapia psicosexual

La psicoterapia ha sido empleada con éxito en varios grupos de varones afectos de DE. Generalmente, aquellos pacientes afectos de DE de

componente psicógeno son los principales beneficiarios de este tipo de terapia. Estos pacientes no presentan alteraciones de la fisiología de la erección pero presentan una alteración cognitiva que perjudica a su función sexual. Por ejemplo, en varones jóvenes con incurvación congénita de pene o cordee o bien en el caso de una infertilidad se puede producir una DE psicógena secundaria a dismorfia o ansiedad. La psicoterapia individual o de pareja puede mejorar la auto confianza y disminuir la ansiedad en la actividad sexual mejorando la percepción de su imagen corporal. Asimismo la psicoterapia se utiliza combinada con terapia farmacológica para optimizar los resultados.

Bombas de vacío para la disfunción eréctil

Un tratamiento no farmacológico dirigido a producir una erección por medios físicos sin intentar modificar los factores de riesgo es el uso de bombas de vacío (Vacuum). El Vacuum o mecanismo de vacío consiste en un cilindro que produce una presión negativa y la consecuente ingurgitación peneana, con un anillo constrictor que se ubica en la base del pene una vez producida la erección. La gran ventaja del mecanismo de vacío consiste en poder producir una rigidez peneana que permite el coito con ingurgitamiento del glande. Si bien su costo no es elevado hay que tener en cuenta que puede provocar dolor en la base del pene, disminución del volumen del eyaculado o aneyaculación y ocasionalmente lesiones en el área peneana.

Tratamiento farmacológico de la DE

Inhibidores de la Fosfodiesterasa Tipo 5

El tratamiento farmacológico se ha transformado en el pilar de la terapia de la mayoría de hombres afectos de DE tras la aparición de los inhibidores de la fosfodiestersa tipo 5 (PDE-5). Aprobado en 1998, el sildanefilo (Viagra, Pfizer, NY, NY) cambio significativamente el tratamiento de los hombres afectos de DE. Posteriormente, el vardenafilo (Levitra; Bayer, GlaxoSmithKline, Schering-Plough) y tadalafilo (Cialis, Lilly) también fueron aprobados para este uso. Los tres fármacos tienen una eficacia similar y efectos adversos parecidos. Estos fármacos actúan mediante la potenciación del efecto del oxido nítrico sobre la musculatura lisa cavernosa. El oxido nítrico estimula la guanilciclasa y provoca la elevación de los niveles de GMPc. Estos segundos mensajeros, entonces, disminuyen los niveles del calcio intracelular que facilita la relajación de la musculatura lisa induciendo la erección. La PDE-5 facilita el paso de GMPc a GMP por lo que la inhibición de esta enzima aumenta los niveles de GMPc (Fig.1).

Los efectos secundarios incluyen rubor facial, dolor de cabeza, mialgias y alteraciones de la visión. Estos efectos son debidos a la reactividad cruzada con otras fosfodiesterasas (habitualmente PDE-6 y 11). Se han comunicado casos aislados de pérdida de visión tras el empleo de inhibidores de la PDE-5, catalogados como neuropatía isquémica óptica anterior de características no arteríticas (NAION por sus siglas en inglés). Hombres con patología retiniana incluida la retinitis pigmentosa no deberían emplear este tipo de fármacos. El vardenafilo comporta un riesgo añadido en aquellos casos de defecto de conducción cardiaca ya que tiene un efecto sobre el intervalo QT, por lo tanto, hay que evitar el uso de vardenafilo en aquellos hombres en tratamiento con anti arrítmicos. Los inhibidores de la PDE-5 están también contraindicados en varones en tratamiento con nitratos porque potencian el riesgo de hipotensión.

Hombres en tratamiento con antagonistas alfa adrenérgicos para el tratamiento de la HBP (Hiperplasia Benigna de Próstata) deben ser prudentes teniendo en cuenta el riesgo de hipotensión arterial con el uso concomitante de inhibidores de PDE-5. Pacientes con prostatectomía radical por cáncer de próstata y pacientes con diabetes mellitus presentan una mejoría de su función eréctil con el empleo de estos fármacos. A menos que exista una contraindicación para el empleo de estos fármacos, los inhibidores de la PDE-5 son el tratamiento de primera línea para la DE.

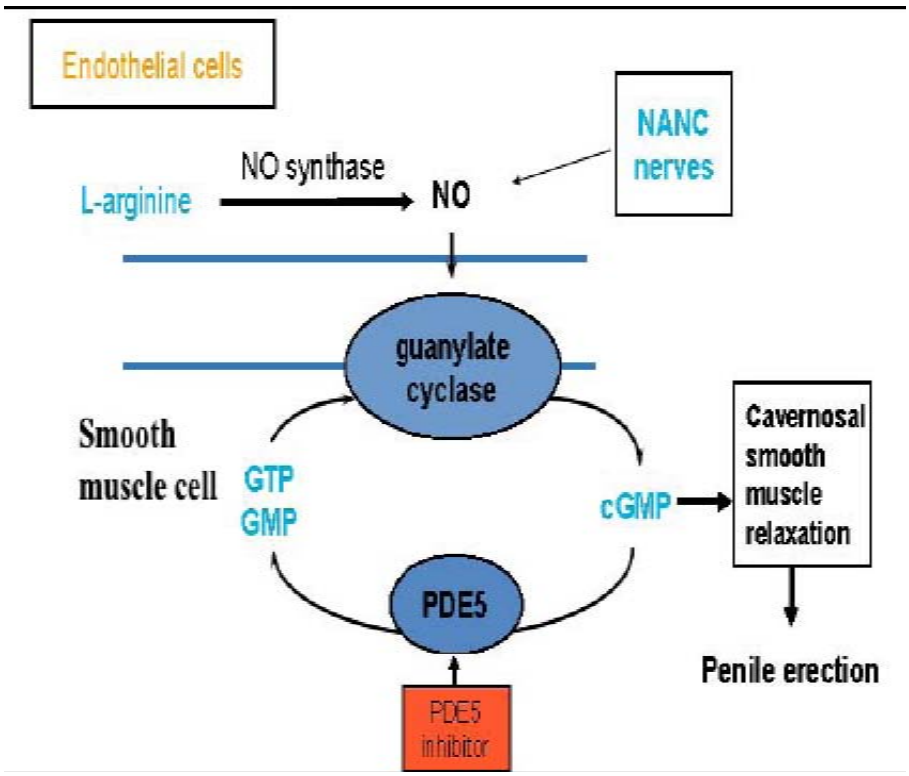


FIG. 1. El rol del óxido nítrico y cGMP en la fisiología de la erección. Endotelial Cells: células endoteliales; NO synthase: sintasa del óxido nítrico, smooth muscle cells: células musculares lisas; Cavernosal smooth muscle relaxation: relajación de la musculatura de los cuerpos cavernosos.

Tratamientos intracavernosos

En los casos en que los inhibidores de PDE-5 fracasan después de informar correctamente de su empleo o bien ante contraindicación para su uso, los pacientes pueden tener en cuenta otros tratamientos médicos. Los fármacos para terapia intracavernosa mediante inyección (ICI) existen desde hace 25 años. Estas substancias vasoactivas se inyectan directamente en el tejido cavernoso provocando una erección. Estos fármacos incluyen la papaverina, fentolamina y alprostadil. La papaverina es un inhibidor no selectivo de PDE que aumenta los niveles intracelulares de AMPc y GMPc. La fentolamina es un antagonista alfa adrenérgico que aumenta los niveles presinápticos de norepinefrina. El alprostadil actúa aumentando los niveles intracelulares de AMPc y disminuyendo el calcio intracelular.

Estas substancias se emplean solas o bien combinadas para la inyección. Los efectos secundarios más frecuentes son dolor en erección, priapismo y aumento de incidencia de fibrosis de tejido cavernoso (sobretodo con la papaverina y fentolamina). Aquellos hombres que se medican con

anticoagulantes deben ser informados de la necesidad de aplicarse presión manual durante varios minutos en la zona de inyección para prevenir la formación de hematomas. El alprostadil también está disponible como supositorio uretral (MUSE, VIVUS, Mountain View, CA) y tiene la ventaja de no necesitar inyectarse para su empleo.

Tratamiento sustitutivo con testosterona

Hay estudios demuestran que varones hipogonádicos con DE presentan una mejoría de su función eréctil con tratamiento sustitutivo con testosterona. Además muchos pacientes ven mejorada la respuesta de los inhibidores de PDE-5 en combinación con terapia sustitutiva de testosterona. Estos pacientes en tratamiento sustitutivo deben conocer los riesgos de dicho tratamiento incluyendo la eritrocitosis y los posibles efectos sobre la próstata. Los pacientes deben ser supervisados sistemáticamente durante el tratamiento sustitutivo mediante la exploración anual de la próstata con tacto rectal, control de la tasa de PSA y recuentos eritrocitarios. Ante cualquier elevación del PSA o cambios en el tacto rectal prostático debe indicarse una biopsia de próstata para descartar un cáncer de próstata subyacente. Varones con historia clínica previa de cáncer de próstata deben estar informados de los riesgos del tratamiento sustitutivo con testosterona. Recientes estudios demuestran que la sustitución con testosterona es segura en pacientes con historia clínica de cáncer de próstata, si bien el paciente debe estar perfectamente informado y conciente de la necesidad de un seguimiento exhaustivo. El tratamiento sustitutivo de testosterona está disponible en inyección intramuscular, gel transdermal o bien implantes de pellets.

Tratamiento quirúrgico de la DE

El tratamiento quirúrgico de la DE esta reservado para aquellos pacientes en que el tratamiento médico no ha sido efectivo o bien en aquellos casos en que la terapia medica no esté indicada. El tratamiento quirúrgico consiste en el implante de una prótesis de pene. Las prótesis de pene consisten en cilindros inflables o hidráulicos o varillas cilíndricas maleables. Los dispositivos inflables están formados por unos cilindros intracavernosos con un reservorio y una bomba escrotal. En los dispositivos formados por dos elementos, la bomba escrotal y el reservorio están autocontenidos en un mismo elemento mientras que los dispositivos formados por tres elementos se diferencia porque el reservorio se implanta en la pelvis. Estos mecanismos presentan un elevado nivel de satisfacción tanto a los pacientes como a sus parejas. Los riesgos que se pueden presentar esta la infección o malfuncionamiento de la prótesis, en estos casos se requiere de su extracción. En algunos pacientes con DE de causa arteriogénica a consecuencia de un traumatismo pélvico, perfectamente documentada por arteriografía pélvica, puede estar indicada la cirugía de revascularización peneana. La situación ideal son pacientes jóvenes sin factores de riesgo de DE diagnosticados de insuficiencia arterial. La cirugía de revascularización puede conseguir una función eréctil normal en un porcentaje elevado de estos hombres.

Resumen

Generalmente, la mayoría de hombres con DE pueden iniciar con seguridad el tratamiento con inhibidores de PDE-5 tras una historia clínica,

exploración física y estudios básicos de sangre. Los pacientes con contraindicación en el empleo de inhibidores de PDE-5 o bien con respuesta negativa a estos fármacos pueden optar por el empleo de los mecanismos de vacío, terapia intracavernosa o transuretral o bien por la alternativa quirúrgica.

Lecturas sugeridas:

Carson CC 3rd. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: state of the therapeutic class. Urol Clin North Am.2007; 34:507-15.

Derby CA, Mohor BA, Goldstein I, Feldman HA, Johannes CB , McKinlay JB. Modifiable risk factors and erectile dysfunction: can lifestyle changes modify risk? Urology.2000:56:302-6

Greenstein A , Mabjeesh NJ, Sofer M, Kaver I ,Matzkin H ,Chen J. Does sildanefil combined with testosterone gel improve erectile dysfunction in hypogonadal men in whom testosterone supplement therapy alone failed? J Urol.2005 , 173:530-2

Khera M , Lipshultz LI. The role of testosterone replacement therapy following radical prostatec tomy. Urol Clin North Am.2007; 34: 549-53.

Marks LS, Mostaghel EA, Nelson PS. Prostate tissue androgens : history and current clinical relevance. Urology .2008;72: 247-54.

Melnik T, Soares BG, Nasselo AG. Psychosocial interventions for erectile dysfunction.Cochrane Database Syst Rev.2007;(3): CD004825.

Hellstrom Varady JC and Place VA. A double-blind ,placebo-controlled evaluation of the erectile response to transurethral alprostadil. Urology 1996;48:851-56.

Hellstrom WJ, Montague DK, Moncada I, Carson C,Minhas S, Faria G, Krishnamurti S. Implants, mechanical devices and vascular surgery for erectile dysfunction. J Sex Med.2010:7:501-23.

Segraves RT. Sexual dysfunction associated with antidepressant therapy. Urol Clin North Am.2007 ;34:575-9.

Shabsigh R, Kaufman JM, Steidle C, Padma-Nathan H. Randomized study of testosterone gel as adjunctive therapy to sildanefil in hypogonadal men with erectile dysfunction who do not respond to sildanefil alone. J Urol. 2004; 172:658-63.

¿Existe la andropausia, mejor conocida como Síndrome de Deficiencia de Testosterona?. Y si existe: ¿qué tejidos están afectados y de qué manera?

A. Morales

Fertilidad, producción y sensibilidad a los andrógenos, osteoporosis y función sexual en el hombre de edad.

El asilamiento y síntesis de la molécula de testosterona hace más de 70 años llevó a importantes descubrimientos en urología en los campos de la diferenciación sexual, fertilidad, función sexual y, por supuesto, desarrollo y salud de la glándula prostática. A pesar de muchos años de estudio, existe aún gran controversia en relación al diagnóstico, tratamiento y monitoreo del Síndrome de Deficiencia de Testosterona (SDT). La figura 1 resume estos puntos y la Sociedad de Endocrinología de EEUU ha elaborado una guía confiable sobre este tema.

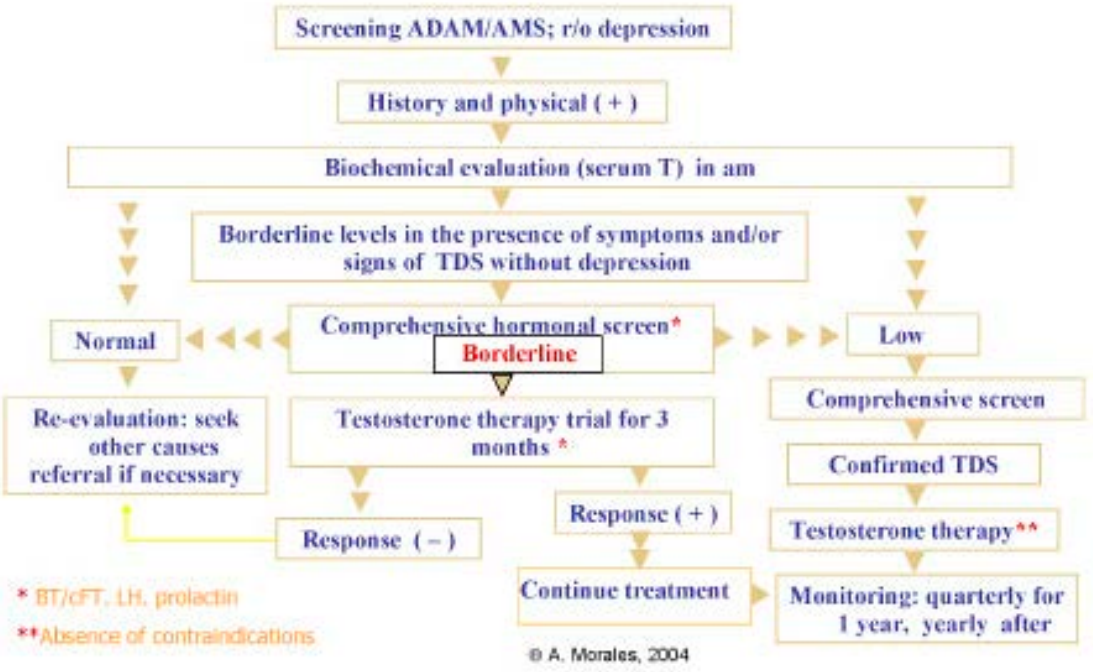


FIG. 1: Algoritmo diagnóstico del Sindrome de Deficiencia de Testosterona

Diagnóstico

El diagnóstico clínico incluye una adecuada anamnesis y examen físico como así también un conjunto de estudios básicos para confirmar niveles insuficientes de testosterona en plasma. Las manifestaciones comunes de la deficiencia de testosterona incluyen cansancio, fatiga, irritabilidad, dificultades sexuales, trastornos del sueño, sofocos y acaloramientos. Ninguno de los

síntomas puede establecer por sí mismo el diagnóstico, dado que otras enfermedades como la depresión o la disfunción tiroidea pueden presentar un cuadro clínico similar. Existen cuestionarios estandarizados que facilitan la evaluación inicia. De todos modos, estos instrumentos carecen de especificidad por lo que no pueden ser utilizados como herramienta diagnóstica. Los signos físicos del SDT incluyen la obesidad troncal, sarcopenia y osteoporosis. El hipogonadismo ha sido ligado, cada vez con más énfasis, a las manifestaciones del síndrome metabólico (SMet), una combinación de desórdenes médicos que aumentan el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes.

La evaluación bioquímica es mandatoria en el proceso diagnóstico del SDT. Como mínimo se requiere la medición de testosterona total en plasma. Si se encuentran valores cercanos al límite inferior normal debe repetirse la determinación. Un nivel bajo de testosterona en presencia de gonadotrofinas elevadas hace diagnóstico. Si bien la hiperprolactinemia es una condición rara en el hombre, es causa de hipogonadismo. Por lo tanto, es aconsejable, la medición de prolactina sérica si el nivel de testosterona es bajo. Ocasionalmente puede suceder, que un cuadro clínico claro de SDT no se corresponda con los resultados de laboratorio. Dado que la medición de testosterona en la sangre periférica es un reflejo inexacto de los niveles tisulares de la hormona, se ha recomendado, en esta situación, ofrecer un tratamiento de reemplazo con testosterona, de prueba, por tres meses. La interpretación de los resultados de laboratorio es importante. La medición de testosterona total es adecuada en la mayoría de los casos, es una técnica confiable, consistente y de amplia disponibilidad. La medición de testosterona libre no es recomendable dado que son pocos los laboratorios que realizan esta prueba en forma confiable. Mediante la medición de la globulina ligadora de andrógenos y estrógenos y realizando un simple cálculo, se puede medir las llamadas testosterona libre y biodisponible calculadas, ambas consideradas como un reflejo confiable del estado androgénico.

Tratamiento

Luego de la confirmación del SDT y en ausencia de contraindicaciones, hay pocas razones para no iniciar el tratamiento con testosterona (TT). Actualmente existen muchas opciones disponibles, cada una con sus ventajas y desventajas.

1. Oral: el udecanoato de testosterona es seguro pero debe ser ingerido con una cantidad sustancial de lípidos para permitir una adecuada absorción por el intestino. Cuando se cumple esta condición, se pueden alcanzar adecuados niveles de testosterona sérica.

2. Transdérmica: los parches no escrotales son de uso muy infrecuente en América del Norte dada la alta incidencia de reacciones dérmicas de severidad variable. Existen nuevos parches actualmente disponibles en Europa. Los fabricantes parecen haber evitado los problemas dérmicos sin interferir con la transferencia del medicamento.

3. Inyectables: es la forma más antigua de administración de testosterona. Las preparaciones de depósito que requieren inyecciones cada 2 a 3 semanas son aún muy populares debido al bajo coso y la seguridad en la absorción. Una nueva formulación inyectable de undecanoato de testosterona está disponible en varios continentes (excluyendo América del Norte en el momento de escribir este manual). Se administra cada 12 semanas lo que constituye una ventaja definitiva.

4. Geles Transdérmicos: estas preparaciones se han vuelto cada vez más populares, debido a su fácil aplicación, disponibilidad y eficacia.

5. Alternativas distintas a la testosterona. En circunstancias especiales (i.e. hipogonadismo secundario / hipogonadotrófico) un hombre puede ser candidato a la administración de gonadotrofinas. También existes hierbas, llamadas fitoandrógenos, de eficacia no probada. El uso de dehidroepiandrosterona (DHEAS) fue popular por décadas pero su eficacia sigue siendo controvertida.

Es importante tener presente las siguientes consideraciones mientras se realiza el diagnóstico, tratamiento y monitoreo de hombres con SDT:

1. El diagnóstico requiere una combinación de características clínicas y bajos niveles de testosterona en suero. Con cierta frecuencia, los pacientes se encuentran en una zona gris de síntomas claros pero bioquímica cuestionable.

2. En general es suficiente la determinación de la testosterona total. Solo pocos laboratorios puede realizar en forma confiable la medición de testosterona libre y biodisponible, por lo tanto estos ensayos bioquímicos no se recomiendan para la práctica clínica de rutina.

3. En presencia de síntomas de SDT (y ausencia de co-morbilidades como depresión, hipotiroidismo) y estudios bioquímicos que no confirman la impresión clínica, nosotros recomendamos una prueba terapéutica de 3 meses.

4. No existe evidencia que la administración de testosterona promueva el desarrollo del cáncer de próstata, pero el crecimiento de un cáncer subclínico puede ser mayor durante el tratamiento con testosterona.

5. El monitoreo debe realizarse cada 3 meses (algunos sostienen que cada 6 meses es suficiente) durante el primer año. Si un paciente responde al tratamiento y no hay efectos adversos significativos, se continua con el monitoreo una vez por año durante la duración del tratamiento que normalmente, es de por vida.

6. El monitoreo competente requiere al menos de:

7. a. La evaluación de la respuesta clínica y el ajuste de la dosis de testosterona cuando fuera necesario.

   b. Evaluación de cualquier efecto adverso.

   c. Examen físico que incluya el examen digito-rectal.

d. Evaluación bioquímica que incluye: testosterona total; hemoglobina y hematocrito, colesterol total, HDL y LDL; PSA.

e. La determinación del nivel de gonadotrofinas, otras hormonas (prolactina) y función hepática se realizan solo en circunstancias especiales.

Resumen

El SDT ocurre por una variedad de razones pero la edad es, probablemente, la razón más común para que estos hombres busquen consejo médico. La comprensión del síndrome, su diagnóstico, tratamiento y monitoreo no son particularmente complicados pero demandan interés y serio compromiso.

Lecturas sugeridas:

Black AM, Day AG, Morales A. The reliability of the clinical and biochemical assessment in symptomatic late onset Hypogonadism: can a case be made for a 3-month therapeutic trial? BJU Int. 2004; 94:1066-70.

Bhasin S, Cunningham GR, Hayes FJ et al. Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2006; 91: 1995-2010.

Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K et al. Testosterone and sexhormone binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in midle age men. Diabetes Care. 2004; 27: 1036-41.

Morley JE, Patrick P, Perry II HM. Evaluation of assays available to measure free testosterone. Metabolism. 2002; 51: 554-9.

Sreekumaran K, Rizza RA, O'Brian PO, et al;. DHEA in elderly women and DHEA or testosterone in elderly men. NEJM. 2006; 355: 1647-59.

¿Debe utilizarse la terapia de reemplazo hormonal en hombres mayores?

J. L. Tenover

El envejecimiento masculino normal se asocia a la declinación sérica de varias hormonas con propiedades anabólicas y otros efectos beneficiosos comprobados, cuando son administradas a adultos jóvenes con deficiencia confirmada de las mismas. La declinación de esas hormonas vinculada a la edad, se acompaña de cambios en los órganos blanco y en las funciones fisiológicas, avalando la hipótesis que su reemplazo puede prevenir, estabilizar o aún revertir algunos de los cambios presentes en el envejecimiento. Frecuentemente estas hormonas, entre las cuales se encuentran la testosterona, la dehidroepiandrosterona (DHEA) y la hormona de crecimiento (GH), son consideradas *hormonas tróficas*. El abanico de efectos potencialmente beneficiosos, aportados por el reemplazo con estas hormonas tróficas, es extenso e incluye: impacto sobre la composición corporal, fuerza y función física, actividad sexual, función inmune, densidad ósea, estado de ánimo y funciones cognitivas. Sin embargo, al día de hoy, los estudios sobre el reemplazo con testosterona, DHEA y GH en hombres añosos han aportado solamente modestas evidencias favorables, mientras que algunas observaciones mostraron algunos efectos adversos con el riesgo potencial de otros efectos colaterales.

Testosterona

Los niveles séricos de testosterona total y libre declinan a lo largo del envejecimiento masculino normal (Fig. 1). Los eventuales efectos beneficiosos de la terapia de reemplazo con testosterona (TRT) en hombres mayores incluyen mejoría de la masa ósea, composición corporal, fuerza, capacidad cognitiva, estado de ánimo y función sexual.

La masa ósea en hombres disminuye con la edad, siendo el hipogonadismo un factor de riesgo para desarrollar osteoporosis. En general, los estudios con TRT han demostrado una menor degradación ósea y un incremento en la densidad mineral ósea. No hay aún datos del efecto de la TRT sobre la tasa de fracturas en hombres mayores.

La pérdida de masa muscular vinculada con la edad produce una disminución de la fuerza muscular y de las funciones físicas. Varios estudios efectuados en hombres mayores bajo sustitución androgénica han mostrado una disminución de la masa grasa corporal junto al aumento de la masa magra (predominantemente músculo) con el tratamiento. La magnitud de los cambios, tanto de la masa muscular como de la masa grasa en hombres añosos, se asemeja en magnitud a lo observado con la TRT en hombres jóvenes hipogonádicos. Las modificaciones en la fuerza muscular con la TRT en hombres mayores no fueron tan consistentes como los cambios en la masa muscular, por lo cual varios estudios no describen efectos beneficiosos. Un meta-análisis analizando los cambios en la fuerza muscular con la terapia androgénica en hombres añosos, concluyó en un moderado aumento en la fuerza muscular, pero un estudio influyó en el efecto promedio. En términos de cambios de la función física con la TRT, sólo dos estudios a la fecha han

mostrado una mejoría aunque la magnitud de los cambios observados en el rendimiento físico con la TRT fue menor que el esperable en respuesta al ejercicio. El significado clínico, si lo tiene, de los cambios en la masa grasa con la TRT deben aún ser establecidos.

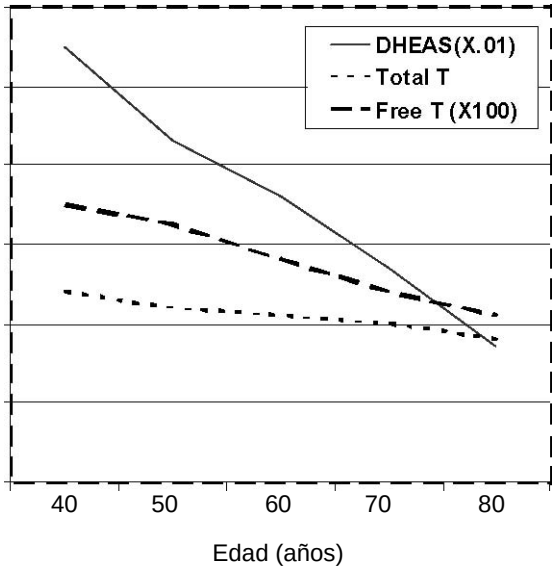


FIG. 1. Niveles plasmáticos medios de Testosterona total (T), testosterona libre y DHEAS por edad en hombres sanos.

Los hombres jóvenes con deficiencia marcada de testosterona tienen síntomas, tales como malestar general, astenia e irritabilidad, los que mejoran con la normalización de los niveles séricos de testosterona. Al día de hoy, no hay estudios con la TRT en hombres mayores depresivos. En los mayores sin depresión, sólo uno de los siete estudios clínicos publicados mostró alguna mejoría del estado de ánimo con la TRT. Otros cinco estudios bajo terapia con testosterona en hombres mayores evaluaron aspectos de la calidad de vida mediante varias escalas y ninguno informó algún cambio significativo.

A la fecha, se han publicado ocho estudios clínicos controlados y randomizados evaluando funciones cognitivas con la TRT en hombres mayores, sin poder identificar en condiciones basales algún déficit cognitivo de relevancia. La mitad de esos estudios mostraron alguna mejoría en aspectos cognitivos tales como memoria viso espacial, memoria global o memoria verbal y la otra mitad no encontró diferencias. Hay tres pequeños estudios controlados de la TRT contra placebo en hombres añosos con demencia senil. Dos de estos estudios reportaron que el grupo bajo TRT mejoró los tests cognitivos al final del estudio respecto de los que recibieron placebo, mientras que un estudio no mostró diferencias.

Los efectos de la TRT sobre aspectos del sistema cardiovascular son variados. Los estudios epidemiológicos han demostrado que niveles séricos bajos de testosterona, más bien que altos, se asociaron con aumento de riesgo de enfermedad cardiovascular en hombres mayores. Los estudios con la TRT establecieron que la testosterona tiende a mejorar varios parámetros de riesgo cardiovascular, entre ellos una menor agregación plaquetaria, mayor dilatación arterial y mejoría de los niveles de colesterol total y LDL-colesterol. Sin embargo, el impacto final de la TRT sobre los eventos cardiovasculares en hombres añosos aún es desconocido.

Un meta-análisis de estudios sobre disfunción eréctil y tratamiento con testosterona, demostró que la prevalencia de testosterona, como causa reversible de disfunción eréctil, es baja. La TRT no es el tratamiento primario para la mayoría de los hombres añosos con trastornos de erección, pero puede ser beneficioso en algunos individuos en los cuales la disminución de la libido es una manifestación significativa, cuando los niveles de testosterona son muy bajos o cuando la terapia de reposición de testosterona se utiliza como adyuvante en hombres que fracasaron con la administración aislada de inhibidores de la PDE-5 (Capítulo 35).

Los efectos adversos potenciales o informados con la TRT en hombres mayores incluyen: retención de líquido, ginecomastia, policitemia, exacerbación de la apnea del sueño o agravamiento de una enfermedad prostática. La mayoría de ellos son poco frecuentes o controlables con un monitoreo adecuado y el consecuente ajuste de la dosis. La mayor preocupación deviene de la potencial exacerbación de la hiperplasia benigna de próstata y del cáncer prostático. Un meta-análisis de efectos adversos por el reemplazo con testosterona en estudios doble-ciego y controlados contra placebo, mostró que en hombres de avanzada o mediana edad, la tasa de cáncer de próstata, el número de biopsias prostáticas efectuadas y el aumento de PSA no fue estadísticamente diferente entre los grupos bajo la TRT o placebo.

Resumiendo: la TRT mejora la densidad mineral ósea y puede prevenir o tratar la osteoporosis; sin embargo, hay otras terapias disponibles. Aún no se han demostrado efectos clínicos importantes de la TRT sobre el tejido graso y muscular, tal como la mejoría del síndrome metabólico y/o funciones físicas. Los efectos de la TRT sobre el estado de ánimo y funciones cognitivas son inconsistentes, aunque puede ser de ayuda en algunos hombres mayores. Los efectos cardiovasculares de la TRT pueden ser beneficiosos, pero no hay datos de seguimiento en cuadros clínicos significativos tales como accidentes cerebrovasculares o infarto de miocardio. La mayoría de los efectos adversos son predecibles o manejables. La posibilidad de cáncer prostático o de exacerbación de la hiperplasia benigna de próstata bajo la TRT sigue siendo preocupante aunque no hay datos actuales datos de que ello haya ocurrido.

DHEA

Los niveles de DHEA-S declinan marcadamente con el envejecimiento normal (Fig. 1) y los estudios epidemiológicos han informado de la asociación entre un mejor estado general de salud y mayores niveles de DHEA. Estudios previos en humanos, aunque pequeños, sugirieron que la suplementación con DHEA podría ser beneficiosa sobre varios parámetros clínicos. Sin embargo trabajos más importantes, controlados y randomizados en hombres mayores, no demostraron evidencias claras de beneficios significativos. Un estudio reciente con dos años de administración de DHEA en hombres y mujeres mayores de 60 años, no presentaron efectos notables sobre la composición corporal, el rendimiento físico, la sensibilidad insulínica o la calidad de vida. Otros ensayos randomizados del reemplazo con DHEA en adultos mayores también fracasaron en demostrar mejoría en el estado de ánimo, bienestar general y funciones cognitivas. Varios estudios de reemplazo con DHEA han informado leves incrementos en la densidad mineral ósea, pero los efectos son mínimos comparados con los tratamientos establecidos para la osteoporosis.

Hubo efectos menores poco consistentes de la suplementación con DHEA en adultos mayores sobre la función inmune.

No se registraron efectos adversos significativos con la DHEA en los estudios clínicos, pero en ellos se han utilizado dosis de reemplazo fisiológicas con DHEA de alta calidad. La DHEA puede ser metabolizada a esteroides sexuales pero los efectos deletéreos, tales como elevación de PSA o incremento del volumen prostático, no se han informado.

Resumiendo: la suplementación de DHEA puede producir un leve incremento en la densidad ósea, pero mucho menor que las terapias convencionales; no hay efectos consistentes o significativos sobre cualquier otro parámetro clínico. No hubo efectos adversos significativos con el reemplazo en dosis fisiológicas de DHEA de alta calidad.

Hormona de Crecimiento

A pesar de existir bastantes datos que avalan a la terapia sustitutiva en adultos con deficiencia de hormona de crecimiento y enfermedad hipotálamo-hipofisaria, hay pocos informes que avalen suplementar con GH para mejorar los cambios relacionados con la edad en cuanto al músculo, hueso y otros parámetros. En la actualidad, en EEUU el uso de GH como terapia anti-envejecimiento está prohibido.

Una revisión reciente de trabajos clínicos controlados y randomizados basados en la terapia con GH, mostró pequeños incrementos en la masa muscular y disminución de la masa grasa, comparado contra placebo, en hombres mayores. Sin embargo, no hubo mejoría en la fuerza, resistencia o función muscular con este tratamiento. Los niveles de colesterol tendieron a disminuir con GH pero otros niveles de lípidos en suero, la densidad ósea y la calidad de vida no cambiaron.

Los efectos colaterales con la terapia con GH en personas adultas incluyen edema periférico, artralgias, síndrome del túnel carpiano, ginecomastia y alteración del nivel de glucosa. No hay aún estudios de suficiente duración en personas mayores bajo esta terapia para evaluar el riesgo de desarrollo de cáncer.

Lecturas sugeridas:

Calof OM, Singh AB, Lee ML, et al. Adverse events associated with testosterone replacement in middle-aged and older men: a metaanalysis of randomized, placebo-controlled trials. *J Gerontol Med Sci.* 2005; 60A: 1451-57.

Jain P, Rademaker AW, McVary KT. Testosterone supplementation for erectile dysfunction: results of a meta-analysis. *J Urol.* 2000; 164:371-5.

Kaufman JM, Vermeulen A. The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocr Rev*. 2005; 26:833-76.

Liu H, Bravata DM, Olkin I, et al. Systematic review: The safety and efficacy of growth hormone in the healthy elderly. *Ann Intern Med.* 2007; 146:104-15.

Nair KS, Rizza RA, O'Brien P, et al. DHEA in elderly women and DHEA or testosterone in elderly men. *N Eng J Med.* 2006; 355: 1647-59.

Ottenbacher KJ, Ottenbacher ME, Ottenbacher AJ, et al. Androgen treatment and muscle strength in elderly men: a meta-analysis. *J Am Geriatr Soc.* 2006; 54: 1666-73.

¿Cuál es la importancia de los aspectos psicosociales, el asesoramiento y la psicoterapia en andrología?

N. Hunt and S. McHale

Muchos problemas andrológicos, como la infertilidad, la disfunción eréctil y la eyaculación precoz tiene serias consecuencias psicosociales para el que las sufre. Estas consecuencias varían en naturaleza y severidad, pero todas pueden tener efectos subsecuentes en el *manejo* de estos problemas. Es importante por lo tanto que los pacientes reciban un apoyo y guía psicosocial apropiados. Esto se puede realizar mediante el consejo conductual práctico al individuo o a la pareja, sugerencias de lectura para mejorar la comprensión de los problemas, o a través de varias formas de asesoramiento o abordajes psicoterapéuticos para facilitar la resolución de estas cuestiones. El abordaje del apoyo psicosocial varía dependiendo de un número de factores como las preocupaciones individuales, la naturaleza o severidad del problema psicológico, y la naturaleza y severidad del problema psicosocial. Muchos problemas andrológicos son frecuentes (se ha estimado que el 20 a 40% de los hombres experimentan eyaculación precoz), pero no todos requieren tratamiento. Otros problemas andrológicos pueden desaparecer o resolverse por sí mismos o con el apoyo de la pareja.

Los problemas andrológicos son muy personales y con frecuencia es muy difícil para los hombres discutir estas cuestiones con otros, incluso con su pareja. Existe una serie de problemas psicosociales que pueden derivar de los problemas andrológicos. Los problemas más comunes se relacionan con la pérdida del control, angustia, ansiedad y depresión, que pueden con frecuencia exacerbar la condición fisiológica. Por ejemplo, una persona con síntomas depresivos puede tener disminución del deseo sexual. Otros problemas psicosociales pueden también interactuar con el funcionamiento fisiológico, como el alcohol o el abuso de drogas. Nosotros nos centraremos aquí en los componentes psicosociales de varios problemas andrológicos.

Psicoterapia y asesoramiento para la disfunción eréctil y la eyaculación precoz

Ésta es un área muy difícil para los hombres. Existen similitudes en los aspectos psicosociales de la disfunción eréctil y la eyaculación precoz ya que ambas son formas de disfunción sexual. Cualquiera sea la causa del problema, una vez que el desorden ocurre, muchos hombres sufren ansiedad por el desempeño y es esta ansiedad la que contribuye a la persistencia del desorden. Dependiendo de la extensión y severidad del problema, esta ansiedad puede distrae al hombre de focalizarse en la excitación o en controlar la eyaculación. La ansiedad por el desempeño por si misma exacerba entonces el problema físico. La psicoterapia es más efectiva cuando existe una causa psicógenica, pero puede ser beneficiosa aún cuando exista un problema fisiológico subyacente.

Es aconsejable la terapia de pareja, cuando el hombre y su pareja deciden transitan juntos el abordaje del problema. Esto es difícil si el hombre no está en una relación estable (por lo tanto se limitan las oportunidades de practicar las técnicas discutidas en la sesión terapéutica), y es también difícil cuando hay problemas de relación. Es importante poder discriminar si los

problemas entre los miembros de la pareja son causados por la disfunción, si son la causa de la disfunción o si ambas condiciones no están relacionadas.

Existe un número de obstáculos psicosociales en el tratamiento de la eyaculación precoz. Esto incluye factores psicosociales como el grado de ansiedad por el desempeño o depresión, aspectos de la pareja, problemas en la relación, variables del contexto como la falta de privacidad y la expectativa de la pareja sobre el tratamiento.

La Terapia Cognitivo-Conductual (TCC, en inglés CBT, *Cognitive Behavior Therapy*) es el tratamiento de elección para muchos problemas psicosociales y es beneficiosa tanto para la eyaculación precoz como para la disfunción sexual. Es importante que el paciente pueda cambiar tanto sus conductas (logrando y manteniendo la erección: retrasando la eyaculación) y sus cogniciones. Mientras la evaluación inicial va a determinar los problemas específicos que enfrentan el hombre y su pareja, hay un rango de conductas y cogniciones comunes que están a menudo presentes. Tanto para la eyaculación precoz como para la disfunción eréctil, el hombre puede necesitar un cambio en sus conductas sexuales; esto puede incluir el incremento de la comunicación y también resolver las cuestiones interpersonales con su pareja. También existe un número de desordenes cognitivos claves que el hombre (y su pareja) necesitan enfrentar. Estos están ligados a las conductas descriptas e incluyen: sobre-generalizaciones ("si no pude excitarme anoche no podré tampoco esta noche"), lectura de la mente ("yo sé que ella piensa que yo soy un fracaso"), razonamiento emocional ("si yo siento que esto es cierto entonces lo es"), pensamiento todo o nada (soy un inútil porque tengo el orgasmo demasiado rápido) y la "catastrofización" ("si fallo la próxima vez mi esposa me dejará"). Por supuesto que los patrones de cambios requeridos en conductas y cogniciones, varían enormemente, pero estos son algunos de los problemas comunes. Existen investigaciones relacionadas con el rol de la psicoterapia psicodinámica, pero la evidencia en relación a su efectividad es menor que para la TCC.

El asesoramiento y la comunicación mutua con la pareja o el agente de salud pueden ser útiles. Cuando se examinó el uso del asesoramiento en combinación con el sildenafil para el tratamiento de la disfunción eréctil, el asesoramiento demostró jugar un rol importante en la efectividad del tratamiento. La comunicación tiene también un impacto positivo en el manejo de este desorden.

Infertilidad

Se estima que aproximadamente el 10% de la población presenta problemas de infertilidad. El consejo médico para las parejas infértiles es provisto regularmente tanto antes como durante el tratamiento. Pero gran parte de este proceso constituye dar consejos prácticos sobre los componentes fisiológicos de la infertilidad, como los problemas del espermatozoide y el ovocito cuestiones relacionadas con el método de tratamiento y la efectividad del mismo. La infertilidad y su tratamiento pueden además generar problemas psicosociales como angustia, pérdida del control y la estigmatización de ser ignorado. El TCC, como se describe más arriba, puede utilizarse para tratar los problemas psicológicos relacionados con la infertilidad, actuando en general sobre los dos miembros de la pareja. La mayoría de las investigaciones sobre este tema se focalizan en la mujer, pero existe evidencia que los hombres

sufren el mismo grado de afectación psicológica debida a la infertilidad, particularmente en relación con la autoestima y el no cumplimiento de su rol social. Estas cuestiones deben ser el foco de cualquier psicoterapia para parejas infértiles.

Conclusiones

Los hombres con desórdenes andrológicos tienen en general en forma concomitante problemas psicosociales. El tratamiento médico efectivo puede por sí mismo resolver el problema, dependiendo de la causa inicial del mismo. De todos modos, en muchos casos, los hombres pueden beneficiarse con alguna forma de psicoterapia o asesoramiento. Existen distintos tipos de psicoterapia, pero el TCC es habitualmente el más efectivo. Es más, el TCC es particularmente efectivo en aquellos casos en los que se requieran cambios conductuales como ocurre en la disfunción eréctil y la eyaculación precoz. El hombre puede focalizarse más claramente en estas tareas que en muchos otros desórdenes más efímeros. Si bien el foco fue puesto en los hombres, cuando se tratan estos problemas psicosociales, es importante que se involucre también a la pareja. A veces los problemas surgen como resultado de cuestiones inherentes a la relación que deben, por lo tanto, ser abordados apropiadamente. En muchos casos es la pareja quien debe proveer reaseguro y sostén. En cuanto a la infertilidad es particularmente importante para la pareja recibir ayuda psicoterapéutica. Por lo tanto, para la mayoría de los hombres, el tratamiento más efectivo para los desórdenes andrológicos, dependiendo de la causa del problema, puede ser una combinación de tratamiento médico y psicológico.

Lecturas sugeridas:

Althof SE. Psychological approaches to the treatment of rapid ejaculation. Journal of Men's Health and Gender. 2006; 3:180-6.

Carmeli YS, Birbaum-Carmeli, D. The predicament of masculinity: Towards understanding the male experience of infertility treatments. Sex Roles. 1994; 30: 663-77.

Cousineau TM, Domar AD. Psychological impact of infertility. Best Practice and Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. 2007; 21: 293-308.

Fisher WA, Meryn S, Sand M. Communication about erectile dysfunction among men with ED, partners of men with ED, and physicians: The Strike up a Conversation study (Part II). Journal of Men's Health & Gender. 2005; 2; 309.e1-309.e12.

Gruenwald I, Shenfeld O, Chen J, Raviv G, Richter S, Cohen A, Vardi Y. Positive effect of counselling and dose adjustment in patients with erectile dysfunction who failed treatment with sildenafil. European Urology. 2006; 50: 134-40.

Waldinger MD. Drug treatment and psychotherapy of premature ejaculation. European Psychiatry (Abstracts). 2007; 22, S7.

World Health Organisation. Current Practices and Controversies in Assisted Reproduction. 2002; Geneva: WHO.

¿Qué es la HPB?

K. Mc Vary

La próstata se localiza entre el piso pélvico y el cuello vesical. Rodea la uretra y tiene funciones en la continencia urinaria y la fertilidad. Las secreciones prostáticas ayudan a fluidificar el eyaculado. Anatómicamente la próstata se puede dividir en zonas (Capítulo 11) la hipertrofia benigna prostática (HPB) se desarrolla primordialmente en la zona de transición. Los dos constituyentes principales histológicos son glándulas y el estroma fibromuscular (comprende el músculo liso y el tejido conectivo que ocupan el espacio entre las glándulas) Hay una constante renovación de estos elementos- de igual manera que hay un recambio constante en piel y otros tejidos corporales. El desbalance entre la renovación celular y la muerte celular produce acumulación de tejido glandular y estroma lo que resulta en la hipertrofia benigna prostática (HPB). En contraste con el cáncer prostático, los componentes glandulares y estromales mantienen su normal diferenciación histológica y respetan los confines habituales de la próstata. Estos cambios se detectan clínicamente por el agrandamiento prostático. La causa exacta de la HPB es desconocida aunque se la relaciona con edad, susceptibilidad genética, andrógenos (testosterona y dihidrotestosterona), estrógenos y neurotransmisores.

Los hallazgos histológicos en la HPB son dependientes de la edad y se detectan en aproximadamente el 50 % de los varones de 50 años y en el 90% en los de más de 90 años. Las consecuencias clínicas de la HPB se calcula afectan mas de 16 millones de varones en Estados Unidos, convirtiéndolo en el problema urológico mas frecuente. Alrededor de 500.000 hombres son operados por año en estados Unidos por síntomas relacionados con HPB, con costos estimados en más de 2000 millones de U$S.

Cómo causa síntomas la HPB y cómo se realiza el diagnóstico?

Al analizar los aspectos clínicos de la HPB es importante definir su rol en la fisiopatología de los síntomas del tracto urinario inferior (LUTS) La HPB es un diagnostico clínico más que histológico. Por ende, mientras que muchos hombres tienen evidencia histológica de HPB, el número de los que tienen síntomas relacionados (LUTS) es mucho menor. Los pacientes se presentan en función de estos síntomas, no por el agrandamiento prostático per se, y son esos síntomas en los que hay que centrar el foco para el diagnóstico y tratamiento.

La uretra pasa por el centro de la próstata y la HPB puede causar obstrucción al flujo vesical por disminución del lumen uretral. El mecanismo del agrandamiento puede ser el incremento del tamaño prostático por proliferación glandular o aumento del músculo liso prostático por proliferación fibromuscular. Es importante reconocer que 1) no todo hombre con HPB o agrandamiento prostático tiene síntomas relacionados con esta condición 2) los síntomas clínicos de HPB pueden aparecer en ausencia de agrandamiento prostático marcado 3) el grado de agrandamiento prostático no predice la severidad de los síntomas y viceversa. No todos los síntomas de la HPB están relacionados

directamente con la obstrucción al flujo vesical. Los síntomas pueden estar relacionados con cambios en la musculatura vesical en respuesta a la obstrucción (Hipertrofia, inestabilidad) o estar relacionados con la edad.

Si bien no hay criterios universalmente aceptados para el diagnóstico de HPB, se puede realizar habitualmente su diagnóstico en base a la historia clínica, el examen físico y algunos tests. El diagnóstico es dirigido a determinar si hay síntomas o complicaciones de la HPB (retención urinaria, hematuria, infección, litiasis vesical o falla renal) y excluir condiciones no relacionadas con la HPB que pueden dar origen a esos síntomas.

El tratamiento está enfocado en los síntomas y por lo tanto la historia clínica es de suma importancia. Como herramienta mas útil se emplea el Index estandarizado por la Asociación Americana de Urología. La suma de las 7 preguntas auto administradas produce un máximo de puntaje de 35, con índices leves hasta 7, moderados hasta 19 y severos con más de 20. Este índice no es específico de HPB, pero es útil para estratificar a los pacientes con esta patología.

En el examen físico se deben detectar signos de complicaciones de HPB, aumento de volumen o características sospechosas de cáncer prostático. El análisis de Anfígeno próstata específico (PSA) y de orina son rutinariamente empleados. Son de utilidad la medición del residuo posmiccional y estudios urodinámicos.

¿Cómo se trata la HPB?

El tratamiento es instituido en hombres que presentan síntomas clínicos que resultan molestos. El manejo de la HPB ha cambiado notablemente en los últimos 20 años.

El tratamiento quirúrgico se indica en hombres que tienen síntomas moderados-severos de HPB, en los que el tratamiento médico ha sido insatisfactorio o que presentan complicaciones de la HPB. El tratamiento médico es considerado de primera línea en todos los otros casos. Los alfa –bloqueantes y los inhibidores de la 5-alfa reductasa tiene como objetivo el músculo liso prostático y el sector glandular, respectivamente. El subtipo de receptor alfa 1 se localiza en abundancia en la próstata y el músculo liso del cuello vesical. El bloqueo del receptor alfa 1 relaja el músculo liso pero no reduce el tamaño de la próstata. Los alfa–bloqueantes usados habitualmente son la terazocina, alfuzocina, doxazocina y tamsulosina. La tamsulosina y alfuzocina tienen la ventaja de no necesitar un proceso de titulación de dosis.

El comienzo de sus efectos es rápido y se logra mejoría de LUTS y del flujo miccional. Los efectos colaterales son poco frecuentes e incluyen hipotensión, mareos, debilidad y retroeyaculación. Los inhibidores de la 5-alfa reductasa, finasteride y dutasteride, actúan sobre el componente glandular bloqueando la conversión de testosterona en dihidrotestosterona (responsable del crecimiento glandular). El volumen glandular se reduce mejorando los síntomas clínicos y el flujo miccional con el paso de algunos meses. Los efectos colaterales incluyen agrandamiento mamario y disminución del volumen de eyaculado. Los alfa bloqueantes y los inhibidores de la 5-alfa reductasa tienen diferentes mecanismos de acción. La terapia combinada, usando simultáneamente ambos fármacos ha resultado útil en varones con agrandamiento prostático notorio y PSA elevado. En tales pacientes, el uso de

los inhibidores de la 5-alfa reductasa disminuye la progresión de síntomas y complicaciones, tales como retención urinaria, en tanto los alfa bloqueantes no previenen la progresión. En los hombres con urgencia miccional, polaquiuria y nocturia que no son consecuencia de un incompleto vaciamiento vesical, se pueden agregar en forma segura al tratamiento medicamentos anticolinérgicos con especificidad para la relajación del músculo liso vesical.

El principio que guía la terapia quirúrgica es la apertura del pasaje urinario mediante la remoción o ablación de tejido. La cirugía habitual se realiza por vía endoscópica sin necesidad de una incisión quirúrgica en la piel. La resección transuretral es considerada de elección ("gold Standard") en el tratamiento quirúrgico de la HPB. La evolución e innovación en las técnicas quirúrgicas es continua y hay una variedad de opciones, cada una con características propias.

Entre estas técnicas quirúrgicas se utilizan la ablación con laser o la destrucción tisular con calor o microondas. Las complicaciones incluyen sangrado, infección, incontinencia, eyaculación retrógrada y disfunción eréctil. La incidencia de complicaciones significativas es baja y las más severas son muy infrecuentes. En general, el grado de mejoría medido por el Index de la Asociación Americana de Urología (calidad de vida y mejora del flujo) es superior con la cirugía que con el tratamiento médico.

Resumen

La HPB es una condición benigna frecuente que produce síntomas urinarios molestos en los hombres. No todas la HPB causan síntomas y cuando los síntomas urinarios se presentan, la obstrucción al flujo miccional es sólo uno de los mecanismos. Es importante la evaluación con un patrón estandarizado, reconocer los efectos en la calidad de vida y excluir otras causas que pueden originar estos síntomas. La HPB es ocasionada por un desbalance de la proliferación glandular y fibromuscular, ambos controlables con el empleo de inhibidores de la 5-alfa reductasa y alfa –bloqueantes, respectivamente. Cuando el tratamiento medico falla o aparecen complicaciones de la HPB, hay opciones de tratamientos quirúrgicos poco invasivos que continúan evolucionando con el tiempo.

Lecturas sugeridas:

Burnett AL, Wein AJ. Benign prostatic hyperplasia in primary care: what you need to know. J Urol. 2006; 175: S19-24.

Marks LS, Roehrborn CG, Andriole GL. Prevention of benign prostatic hyperplasia disease. J Urol. 2006; 176: 1299-306.

Patel AK, Chapple CR. Benign prostatic hyperplasia: treatment in primary care. BMJ. 2006; 333: 535-9.

Roehrborn CG, Schwinn DA. Alpha1-adrenergic receptors and their inhibitors in lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. J Urol. 2004; 171: 1029-35.

Wilt TJ, N'Dow J. Benign prostatic hyperplasia. Part 1--diagnosis.BMJ. 2008; 336: 146-9.

Wilt TJ, N'Dow J. Benign prostatic hyperplasia. Part 2--management.BMJ. 2008; 336: 206-10.

¿Algunos hombres son más susceptibles que otros a padecer cáncer de próstata? Por qué? ¿Cuáles son los tratamientos aplicados y cuál es su eficacia? Cuáles son las posibilidades de mejorar estas terapias?

D.J. Parekh y I.M. Thompson

¿Algunos hombres son más susceptibles que otros a padecer cáncer de próstata? Por qué?

El cáncer de próstata es la neoplasia maligna más común en hombres en los Estados Unidos. El riesgo estimado de padecerlo durante la vida es del 17%, mientras que el riesgo de fallecimiento es del 3%. El cáncer de próstata tiene un origen multifactorial, desempeñando, tanto los factores genéticos como los ambientales, importantes roles en su origen y evolución. Los factores de riesgo más habituales asociados al desarrollo del cáncer de próstata son la edad avanzada, la existencia de antecedentes familiares de la enfermedad así como el pertenecer a la etnia afro-americana. Varios locus de susceptibilidad genética asociados al riesgo de padecer cáncer de próstata han sido ya identificados; así como también lo han sido, la asociación de la presencia de mediadores de infecciones y de la inflamación. Otros factores que también se supone que están asociados con el riesgo de padecer cáncer de próstata son la exposición a los andrógenos, a los estrógenos, o a otros factores hormonales como a los factores de crecimiento parecidos a la insulina y la obesidad.

¿Cuáles son los tratamientos aplicados y cuál es su eficacia?

Los pacientes con un cáncer de próstata órgano-confinado son tratados con terapias curativas. Las más frecuentes son:

1. Vigilancia activa: Ésta es la estrategia adecuada a seguir en los pacientes afectados de cánceres menos agresivos y que evitarán la morbilidad asociada al tratamiento a cambio de quizás no ser tratados en el tiempo que dura la ventana curativa. Los pacientes con los que se sigue esta estrategia son controlados con análisis seriados del antígeno prostático específico (PSA, del inglés Prostate Specific Antigen) en suero, tactos rectales también seriados (DRE, del inglés *Digital Rectal Examination*), resonancia magnética nuclear (MRI, del inglés *Magnetic Resonance Imaging*) endorrectal (si se dispone de ella) así como con biopsias prostáticas de repetición (con 18-24 meses de intervalo) con un umbral bajo para pasar al tratamiento activo si aparecieran indicaciones de la presencia del cáncer o también si se exacerbara la ansiedad del paciente. Actualmente no se dispone todavía de datos suficientes acerca de la eficacia de este tratamiento.

2. Cirugía: La Prostatectomía Radical por laparotomía media o por cirugía laparoscópica de baja invasividad, con la ayuda o no de un robot, son las técnicas quirúrgicas más comúnmente utilizadas en los pacientes afectados de cáncer de próstata localizado. En el único ensayo clínico randomizado donde se compara un tratamiento con el otro, randomizando tanto los pacientes quirúrgicos como los que siguieron en observación, los primeros resultaron presentar menores incidencias de enfermedad metastásica y de mortalidad relacionada con el cáncer. Aunque la cirugía resulta ejercer un mejor control del proceso canceroso, conlleva, sin embargo, más morbilidad en forma de incontinencia urinaria y disfunción eréctil.

3. Radioterapia: La Radioterapia es un tratamiento efectivo en el cáncer de próstata localizado o en el localmente avanzado. Se administra en forma de “semillas” radioactivas que se implantan en la próstata bajo control ecográfico (Braquiterapia) o también en forma de Irradiación Externa. Hasta la fecha, no existen ensayos clínicos prospectivos randomizados que hayan comparado la eficacia de la radioterapia con la cirugía o con la vigilancia activa para determinar la superioridad de alguno de estos tratamientos. Además de incontinencia urinaria y de disfunción eréctil, la radioterapia puede causar morbilidad asociada al intestino delgado y a la vejiga urinaria.

4. Terapias ablativas: Recientemente, las terapias ablativas, como son la Crioterapia y los Ultrasonidos Focalizados de Alta Densidad (HIFU, del inglés *High Intensity Focused Ultrasound*) se están utilizando para tratar el cáncer de próstata localizado así como en los rescates de tratamientos radioterápicos fallidos. De momento, no se dispone de resultados amplios y de larga duración de estas dos técnicas.

Aspectos importantes en la prevención del cáncer de próstata

El objetivo de la quimioprevención primaria es disminuir la incidencia de un cáncer específico, reduciendo, idealmente, no únicamente el riesgo del cáncer y de sus efectos secundarios, sino también su mortalidad. El cáncer de próstata es una diana atractiva y apropiada para la prevención primaria debido a su incidencia, prevalencia, y mortalidad relacionada con la enfermedad. El hecho más significativo en la quimioprevención del cáncer de próstata ocurrió con la publicación de los resultados del Ensayo Clínico de Prevención del Cáncer de Próstata (del inglés *Prostate Cancer Prevention Trial* o PCPT). Este estudio emblemático, que empezó en 1993, fue el primer ensayo de una estrategia de quimioprevención en hombres con riesgo de padecer cáncer de próstata basado en una gran población. En el PCPT, 18882 hombres de 55 años o más de edad, con hallazgos normales en lo referente a tacto rectal (DRE) y a niveles de PSA de 3,0 ng/mL o menos, fueron randomizados y se les administró un tratamiento con finasteride (5mg/día) o placebo durante 7 años. Se recomendó realizar biopsias prostáticas a los pacientes que tuvieran unos valores de PSA anuales, ajustados por el efecto del finasteride, por encima de 4,0 ng/mL o a los que presentaran un DRE anormal. La primera conclusión fue la prevalencia del cáncer de próstata durante los 7 años del estudio, diagnosticado por causas indicadoras de biopsia (hallazgos anormales en el DRE o en los niveles de PSA) o por biopsia de final de estudio. El PCPT demostró que el finasteride reduce el período de prevalencia del cáncer de próstata de un 24,8%, con un ligero mayor riesgo de enfermedad de alto grado. Estudios más recientes han confirmado que los cánceres, con quimioprevención por finasteride, son clínicamente significativos y que el tratamiento con finasteride no conlleva una incidencia aumentada de cáncer de alto grado. Estos estudios *post hoc* demostraron que la mayor frecuencia de cánceres de alto grado era debida a una detección sesgada en el grupo de pacientes tratados con finasteride a causa de una mejor sensibilidad del PSA, del tacto rectal, y de la biopsia prostática. Otros inhibidores de la 5 alfa-reductasa como el dutasteride o los antioxidantes como el selenio o la vitamina E, así como otros múltiples agentes, están siendo actualmente objetos de ensayos randomizados.

¿Cuáles son las posibilidades de mejorar estas terapias?

A pesar de las múltiples opciones terapéuticas actualmente disponibles, la morbilidad asociada al tratamiento sigue siendo una preocupación importante para los pacientes con cáncer de próstata. En la actualidad, existen varias posibilidades que pueden mejorar las opciones actuales de tratamiento del cáncer de próstata. La más

importante es la capacidad de diferenciar los cánceres clínicamente indolentes de los más agresivos. El desarrollo de nuevos biomarcadores, de técnicas de imagen mejores y más precisas así como mejores estrategias para realizar las biopsias pueden resultar en una mejora de la predicción del curso biológico del cáncer de próstata. Los pacientes con cánceres insignificantes recibirán, probablemente, vigilancia activa o terapias focalizadas, mientras que los que tengan cánceres más agresivos seguirán siendo tratados con cirugía o radioterapia.

Lecturas sugeridas:

Andriole G, Bostwick D, Brawley O, et al. Chemoprevention of prostate cancer in men at high risk: rationale and design of the reduction by dutasteride of prostate cancer events (REDUCE) trial. The Journal of urology. 2004;172: 1314-7.

Aus G. Current status of HIFU and cryotherapy in prostate cancer--a review. European urology. 2006; 50: 927-34; discussion 34.

Burmester JK, Suarez BK, Lin JH, et al. Analysis of candidate genes for prostate cancer. Human heredity. 2004; 57: 172-8.

Eastham JA, Kattan MW, Groshen S, et al. Fifteen-year survival and recurrence rates after radiotherapy for localized prostate cancer. J Clin Oncol. 1997; 15: 3214-22.

Eastham JA, Scardino PT, Kattan MW. Predicting an optimal outcome after radical prostatectomy: the trifecta nomogram. The Journal of urology. 2008; 179: 2207-10; discussion 10-1.

Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. CA: a cancer journal for clinicians. 2008; 58: 71-96.

Klotz L. Active surveillance for favorable risk prostate cancer: rationale, risks, and results. Urologic oncology. 2007; 25: 505-9.

Lippman SM, Goodman PJ, Klein EA, et al. Designing the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). Journal of the National Cancer Institute. 2005; 97: 94-102.

Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. Journal of the National Cancer Institute. 2006; 98: 529-34.

Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, et al. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. The New England journal of medicine. 2003; 349: 215-24.

¿Cuál es el riesgo de la terapia con testosterona después del cáncer de próstata?

A. Morgentaler

Un tópico habitual de controversia es la posibilidad que la terapia con testosterona pueda ser administrada con seguridad a hombres después del tratamiento por un cáncer de próstata (CaP). Por muchas décadas, el antecedente de CaP fue considerado una contraindicación absoluta para la terapia con testosterona, pero recientes evidencias sugieren que tal conducta no sería tan arriesgada como se supuso. De hecho, usando el antígeno prostático específico (PSA) como marcador bioquímico, varios estudios pequeños de serie de casos no han informado recurrencia bioquímica en hombres después de la prostatectomía radical o la braquiterapia, mientras que un caso reciente mostró declinación de PSA en un hombre no tratado por su CaP quien recibió testosterona por dos años. El impulso para reconsiderar la terapia con testosterona en estos hombres, nace del creciente reconocimiento de los beneficios sobre la salud que aporta la terapia con testosterona a hombres hipogonádicos, que incluyen aumento de la energía, vitalidad, deseo sexual, función eréctil, composición corporal y densidad mineral ósea (Capítulo 37), así como del deseo de los hombres hipogonadales sobrevivientes al CaP de mejorar su calidad de vida.

El origen de la histórica prohibición contra la terapia con testosterona en hombres con antecedentes de CaP, proviene de la demostración que el CaP retrograda con la deprivación androgénica y progresa con la administración de testosterona. La evidencia convencional indica que el CaP es sumamente sensible a los cambios de los niveles séricos de testosterona en un rango extremadamente bajo, mientras que se vuelve indiferente a los cambios de la testosterona sérica en concentraciones mayores.

Terapia con testosterona en hombres con antecedentes de CaP

En tres pequeñas series de casos se comunicaron resultados de la terapia con testosterona después del tratamiento del CaP localizado. Los resultados de esa terapia en un grupo de 7 hombres con PSA indetectable después de la prostatectomía radical, no reveló recurrencia de la enfermedad luego de un largo seguimiento de 12 años. En una tercera serie, no hubo recurrencia bioquímica en 31 hombres tratados con testosterona durante una mediana de 4.5 años después de la braquiterapia.

Es de interés la comunicación de un caso clínico en el cual se observó la declinación del PSA después de 2 años de terapia con testosterona en un hombre hipogonádico de 84 años con un CaP no tratado. La anatomía patológica había mostrado un Score 6 de Gleason con cáncer bilateral, en dos de seis muestras, pero el paciente rechazó cualquier tratamiento para su cáncer. No se observó progresión clínica de la enfermedad a pesar del incremento sostenido de la testosterona sérica acompañado por una mejoría de los síntomas clínicos del hipogonadismo.

Relación entre altos niveles séricos de testosterona y CaP

La prohibición de la terapia con testosterona en hombres con antecedentes de CaP proviene de la antigua creencia que la testosterona elevada conduciría a un crecimiento más rápido del CaP. Una considerable cantidad de evidencias sugiere que esta creencia es incorrecta. Un estudio fundamental, que incluyó en conjunto los datos de 18 estudios longitudinales, no encontró ninguna relación entre el riesgo de CaP y las concentraciones de andrógenos séricos en 3886 hombres con CaP versus 6438 hombres sanos que sirvieron de controles. Específicamente, los hombres con altos niveles séricos de testosterona no tuvieron un riesgo mayor de desarrollar CaP que los hombres con baja testosterona sérica. Por otra parte, un meta-análisis de estudios con terapia con testosterona controlados contra placebo, no mostró un incremento de la tasa de CaP u otros efectos prostáticos adversos en los hombres tratados con testosterona versus los que recibieron placebo. Además, no se demostró asociación entre las altas concentraciones de testosterona y alguna preocupación en el cuadro clínico o evolución del CaP, tales como el grado de score de Gleason, estadío de presentación, márgenes quirúrgicos positivos, recurrencia bioquímica o sobrevida. Curiosamente, cada uno de estas características ha sido asociada a *bajos* niveles de testosterona sérica.

Mecanismo de acción de los andrógenos sobre el tejido prostático

Al menos existen dos mecanismos probables que contribuyen a la falta de efecto de los andrógenos sobre el cáncer de próstata en concentraciones de testosterona más allá de las cercanas a las de castración. Uno se basa en que el receptor androgénico (RA) tiene una capacidad limitada de unión a andrógenos, con una unión máxima (saturación) que se manifiesta a concentraciones bajas de andrógenos, aproximadamente 4 nM (120 ng/dl). El segundo, es la demostración que las concentraciones intra-prostáticas de testosterona y dehidrotestosterona no cambian después de 6 meses del tratamiento con testosterona, a pesar del franco incremento de la testosterona sérica, sugiriendo que el medio hormonal intra-prostático puede estar relativamente protegido de los cambios en suero. La hipótesis de la saturación está avalada por múltiples estudios en modelos animales, líneas celulares de cáncer prostático y en humanos. Por ejemplo, animales castrados expuestos a distintas concentraciones de testosterona sérica muestran una empinada curva de crecimiento prostático andrógeno-dependiente, pero luego se alcanza una meseta en la cual, el incremento de la concentración de testosterona, no produce un crecimiento prostático adicional. Resultados similares se observaron en líneas celulares LnCaP andrógeno-sensibles, en las cuales aún con un incremento logarítmico de testosterona o dihidrotestosterona, no se produce una tasa de división celular mayor una vez que se alcanzó una meseta. En hombres sanos, no se observaron cambios significativos del volumen prostático o del PSA con la exposición por 40 semanas a concentraciones suprafisiológicas de testosterona, lo que indica que hay un límite en la capacidad de los andrógenos de estimular el crecimiento prostático.

Discusión

Aunque faltan estudios controlados en hombres con CaP bajo tratamiento con testosterona, la evidencia limitada disponible sugiere que tal tratamiento no significaría un riesgo inadecuado. La histórica prohibición contra este tratamiento se ha basado en la suposición de que el CaP es sensible a los cambios de la testosterona sérica en todo el rango de concentraciones de testosterona, mientras que la evidencia más reciente sugiere que la sensibilidad androgénica del CaP es limitada a rangos extremadamente bajos de las concentaciones séricas y que se vuelve indiferente al andrógeno en concentraciones típicas observadas en hombres hipogonádicos o eugonádicos.

Sin duda se necesitan estudios que aporten una evaluación concluyente sobre la seguridad y el riesgo bajo la terapia con testosterona en hombres que han sido sometidos a tratamiento por CaP. Es importante considerar la posibilidad de que tales estudios pueden aún demostrar un impacto *beneficioso* de esta terapia sobre la evolución del CaP, basándose en la preocupante asociación de cuadros severos de CaP con bajos niveles de testosterona sérica y en la evidencia experimental de que los andrógenos pueden inhibir la proliferación prostática y promover un fenotipo más diferenciado y menos invasivo. Entre tanto, es aconsejable que los médicos que deseen ofrecer la terapia con testosterona a hombres con antecedentes de CaP, les informen de la falta de evidencia de certeza y que documenten un consentimiento informado.

Lecturas sugeridas:

Agarwal PK, Oefelein MG. Testosterone replacement therapy after primary treatment for prostate cancer. J Urol. 2005; 173: 533-6.

Calof OM, Singh AB, Lee ML, Kenny AM, Urban RJ, Tenover JL, Bhasin S. Adverse events associated with testosterone replacement in middleaged and older men: a meta-analysis of randomized, placebocontrolled trials. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2005; 60: 1451-7.

Endogenous Hormones Prostate Cancer Collaborative Group, Roddam AW, Allen NE, Appleby P, Key TJ. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. JNCI. 2008; 100:170-83.

Kaufman JM, Graydon RJ. Androgen replacement after curative radical prostatectomy for prostate cancer in hypogonadal men. J Urol. 2004;172: 920-2.

Marks LS, Mazer NA, Mostaghel E, et al. Effect of testosterone replacement therapy on prostate tissue in men with late-onset hypogonadism: a randomized controlled trial. JAMA. 2006; 296: 2351-61.

Morgentaler A, Traish AM. The saturation model and the limits of androgen stimulation of prostate cancer. Eur Urol (in press).

Morgentaler A. Two years of testosterone therapy associated with decline in serum prostate-specific antigen in a man with untreated prostate cancer. J Sex Med. 2009; 6: 574-7.

Morgentaler A. Testosterone replacement therapy and prostate cancer. Urol Clin N Am. 2007; 34: 555-563.

Morgentaler A. Testosterone and prostate cancer: an historical perspective on a modern myth. Eur Urology. 2006; 50: 935-9.

Sarosdy MF. Testosterone replacement for hypogonadism after treatment of early prostate cancer with brachytherapy. Cancer 2007; 109: 536-41.

Traish AM, Williams DF, Hoffman ND, Wotiz HH. Validation of the exchange assay for the measurement of androgen receptors in human and dog prostates. Prog Clin Biol Res. 1988; 262 145-60.