

Laboratorio y Clínica

CUADERNOS DE FORMACIÓN AEFA

Infertilidad masculina. Aspectos clínicos e investigaciones biológicas

C. Poirot, B. Cherruau

**Editor: Dr. Camilo Fernández Espina
Colaboración: Dr. Miguel Blasco Vega**

**Asociación Española de Farmacéuticos Analistas
Modesto Lafuente, 3 – 28010 Madrid**

AEFA agradece a **Biologiste et Praticien** las facilidades y autorización desinteresada para la traducción al español y la inserción de sus artículos en los Cuadernos de Formación. Los autores de los originales no son, en ningún caso, responsables de la absoluta fidelidad en la traducción de los mismos.

Infertilidad masculina

Aspectos clínicos e investigaciones biológicas

C. Poirot¹, B. Cherruau²

¹ Assistance médicale à la procréation, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris

² Service de Biochimie A, Groupe hospitalier Cochin-St. Vincent de Paul, AP-HP, Paris

- 1. Infertilidad de la pareja e infertilidad masculina**
- 2. Recuerdo fisiológico: elaboración del esperma**
 - 2.1. Órganos que participan en la elaboración del esperma**
 - 2.2. Caracteres fisicoquímicos del esperma**
 - 2.2.1. Caracteres físicos**
 - 2.2.2. Composición química**
- 3. Estrategia de exploración de la infertilidad masculina**
- 4. Interrogatorio**
- 5. Examen clínico**
- 6. Pruebas analítico-clínicas de primera intención: espermiograma espermocitograma, espermiocultivo**
 - 6.1. Espermiograma**
 - 6.1.1. Condiciones de obtención de la muestra**
 - 6.1.2. Características del plasma seminal**
 - 6.1.3. Características de los espermatozoides**
 - 6.2. Espermocitograma o análisis morfológico de los espermatozoides**
 - 6.3. Espermiocultivo**

- 7. Pruebas analítico-clínicas de segunda intención
 - 7.1. Cariotipo y anomalías
 - 7.2. Pruebas de exploración de los caracteres funcionales de los espermatozoides
 - 7.2.1. Anticuerpos antiespermatozoides
 - 7.2.2. Prueba de interacción moco cervical-esperma
 - 7.2.3. Análisis del movimiento de los espermatozoides asistido por ordenador (CASA)
 - 7.2.4. Estudio de la reacción acrosómica
 - 7.2.5. Prueba de fijación a la zona pelúcida
 - 7.2.6. Prueba de fecundación heteroespecífica
 - 7.2.7. Pruebas para explorar la calidad del núcleo espermático
 - 7.2.8. Estudio por microscopía electrónica de los espermatozoides
 - 7.3. Dosificaciones hormonales
 - 7.4. Bioquímica seminal
 - 7.4.1. ¿Qué marcador prescribir?
 - 7.4.2. Marcador del epidídimo
 - 7.4.3. Marcador de las vesículas seminales
 - 7.4.4. Marcador de la próstata
 - 7.4.5. Obtención de la muestra de semen
 - 7.4.6. Caracteres fisicoquímicos
 - 7.4.7. Dosificación de marcadores bioquímicos
 - 7.4.8. Interpretación de los resultados

Bibliografía

1. Infertilidad de la pareja e infertilidad masculina

Una pareja fértil es una pareja **apta para concebir**, es una **potencialidad**. Cuando una **pareja ha concebido un hijo, es fecunda**, es un **hecho**. Existen parejas fértiles que no han concebido, son infecundos. Se puede ser pues fértil (apto para concebir), pero infecundo (no tener un hijo). La esterilidad es la incapacidad de concebir.

Es prudente ahora y particularmente después de las prácticas de asistencia médica a la procreación (AMP) **emplear el término «esterilidad» con precaución**. En efecto, las parejas estériles son ahora raras. Es preferible pues hablar de «**hipofertilidad**».

Del diez al quince por ciento de las parejas en Francia presentan una esterilidad, definiéndose por la ausencia de embarazo a pesar de mantener relaciones sexuales

regulares durante un período de 2 años. En cerca de **la mitad de los casos, la causa está ligada a una hipofertilidad masculina** exclusiva o asociada a una hipofertilidad femenina.

En consecuencia, la exploración de la pareja y la búsqueda de las causas de hipofertilidad masculina son **imperativas**. Es imposible concebir el abordaje de la pareja estéril sin este estudio, lo que era no ocurría hasta muy recientemente. El estudio del **espermograma** y el **espermocitograma** permite orientar hacia una hipofertilidad de origen masculino. Muchos otros exámenes como las dosificaciones hormonales, la bioquímica seminal, el cariotipo sanguíneo, las pruebas de interacción moco-esperma (prueba de Hühner, prueba de penetración cruzada *in vitro*), la leucospermia o incluso exámenes aún más especializados, como el examen por microscopía electrónica de los espermatozoides, la prueba hámster, el estudio del movimiento, confirman eventualmente un **etiología sospechosa en el espermograma-espermocitograma**.

Cualquiera que fuere su grado de especialización, la buena ejecución de todos estos exámenes será esencial para lograr una actuación terapéutica adaptada y eficaz.

En efecto, las técnicas de asistencia médica a la procreación (IIC: inseminaciones intracervicales, IIU: inseminaciones intrauterinas, FIV: fecundación *in vitro*, ICSI: fecundación *in vitro* con micromanipulación) permiten ahora ampliar los límites de la terapéutica.

2. Recuerdo fisiológico: elaboración del esperma

2.1. Órganos que participan en la elaboración del esperma

El esperma es un **líquido que contiene en suspensión los espermatozoides**. Los espermatozoides se producen en el testículo en dos etapas que duran unos 60 días:

1. La **espermatogénesis**, que es la producción de las espermátidas a partir de las células madre.
2. La **espermioagénesis**, que consiste en una modificación morfológica de la espermátida en espermatozoide, con formación particularmente del **acrosoma** y del **flagelo**.

Así se individualizan las diferentes partes del espermatozoide:

- la **cabeza**, que contiene el núcleo, culminada con el acrosoma;
- **pieza intermedia**;
- **flagelo**.

En los testículos, los espermatozoides son **inmóviles o móviles *in situ* y no fecundantes**. Son evacuados hacia el epidídimo por los conductos espermáticos intratesticulares (túbulos rectos, *rete testis*).

El epidídimo está constituido de tres partes: la cabeza, el cuerpo y la cola.

En el epidídimo hay al mismo tiempo reabsorción y secreción epididimaria. Sólo aquí los espermatozoides adquieren **su movilidad progresiva y su aptitud para la fecundación**. Como la secreción de los espermatozoides entre dos eyaculaciones es continua, son almacenados en la cola del epidídimo.

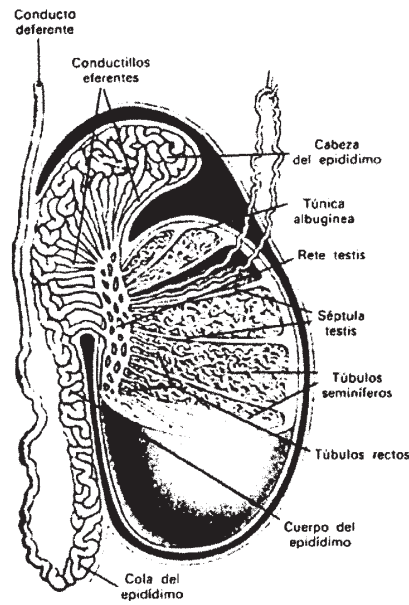
En el momento de la eyaculación, el **líquido del epidídimo** que contiene los espermatozoides es expulsado por el **conducto deferente** que acaba en la ampolla deferente, después pasa por los **conductos eyaculadores** hasta la **uretra prostática**. A esta altura se añade la secreción prostática.

Luego, en un segundo tiempo, al contraerse las vesículas seminales, se descarga su secreción en los conductos eyaculadores.

En total, el volumen de esperma representa el **5%** de la secreción epididimaria, el **30%** es de secreción prostática y el **65%** la secreción de las vesículas seminales (**Figura 1**).

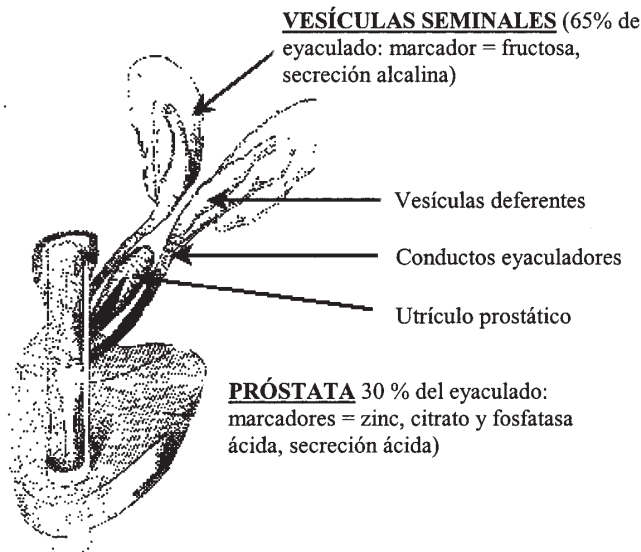
Si se fracciona la recogida del esperma:

- la primera fracción contendrá las **secreciones epididimarias, testiculares y prostáticas, ricas en espermatozoides**;
- la segunda fracción contendrá la **secreción de las vesículas seminales**.



SECRECIÓN DEL EPIDÍDIMO

(5% del eyaculado:
marcador = Carnitina)



VESÍCULAS SEMINALES (65% de eyaculado: marcador = fructosa, secreción alcalina)

Vesículas deferentes
Conductos eyaculadores
Utrículo prostático

PRÓSTATA 30 % del eyaculado:
marcadores = zinc, citrato y fosfatasa
ácida, secreción ácida)

Figura 1. Órganos que participan en la elaboración del espermatozoides

2.2. Caracteres fisicoquímicos del espermatozoides

2.2.1. Caracteres físicos

- El volumen de un eyaculado después de un lapso de abstinencia de 3 a 5 días es de 2 a 6 ml;

- el esperma presenta aspecto **límpido**, color **blanquecino** y consistencia **viscosa**;
- coagula espontáneamente *in vivo* en la vagina, lo mismo que *in vitro* y luego se licua en 20-30 mn a 37 °C.
- el pH del esperma es **neutro** comprendido entre 7,2 y 7,8, resultado de la mezcla de la acidez prostática y de la alcalinidad vesicular.

2.2.2. Composición química

El plasma seminal es un medio rico y complejo. Sirve a la vez de **vehículo** y de **medio nutritivo** y **protector de los espermatozoides**.

Está compuesto de:

- **constituyentes minerales:** Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Zn⁺⁺;
- **glúcidos: poca glucosa** (0,39 mmol/l) sobre todo **fructosa** (de 5,5 a 27,5 mmol/l fuente de energía para los espermatozoides) producida a partir de la glucosa sanguínea;
- ácidos orgánicos: son numerosos, en particular:
 - ácido cítrico que contribuye al mantenimiento de la presión osmótica del esperma;
 - ácido ascórbico protector de los espermatozoides de cara a los radicales libres.
- **lípidos:** tres veces menos que en el plasma sanguíneo:
 - colesterol;
 - glicerofosforilcolina.
- **esteroides:**
 - testosterona;
 - deshidroepiandrosterona.
- **constituyentes azotados** de pequeña masa molecular:
 - aminoácidos;
 - carnitina: papel importante en el metabolismo de los espermatozoides bajo la forma de acetilcarnitina;
 - espermidina;
 - espermina: responsable del olor de el esperma (oxidación) y utilizada en medicina legal para identificar rastros de esperma (cristales de Charcot);
 - glutatión: protector de los espermatozoides por su poder reductor.

- proteínas: concentración inferior a la del suero sanguíneo con un perfil electroforético que muestra un reparto de las fracciones muy diferentes:

albúmina = 6,3%;

α globulina = 15,9%;

β globulina = 41,1%;

γ globulina = 23,2%;

fracciones que no migran = 13,5%.

- **más de 50 actividades enzimáticas:** hidrolasas (fosfatasa ácida, α 1, α 4 glucosidasas...), deshidrógenas;
- **prostaglandinas.**

3. Estrategia de la exploración de la infertilidad masculina

Los trastornos de la espermatogénesis son de origen **genético** o ligados a **factores extrínsecos**.

Las causas genéticas se manifiestan, bien de modo evidente en caso de anomalías cromosómicas por ejemplo, o bien en el estudio de hipofertilidad de la pareja o en la fecundación. Los pacientes afectados producen pocos o ningún espermatozoide o espermatozoides en número normal pero no fecundadores.

Los factores extrínsecos afectan a la espermatogénesis durante la vida pre- y pospubescente, resultando en una producción reducida de espermatozoides y en infertilidad.

Globalmente, la estrategia de exploración de la infertilidad masculina tiene 4 pasos: un interrogatorio, un examen clínico, los exámenes biopatológicos de primera intención y los exámenes de segunda intención. Cada uno de estos pasos se detalla en los apartados de 4 a 7.

4. Interrogatorio

El interrogatorio permite la investigación de los factores de riesgo de la infertilidad. Tiene que ser tan **completo** como sea posible. En efecto, excepto causas específicas, no olvidar que una patología general puede repercutir en la espermatogénesis.

Hay que considerar:

- la **duración de la infertilidad** de la pareja;
- los **antecedentes de embarazo o hijos** con la pareja actual o con otras parejas;
- la **profesión** y la **exposición a diferentes tóxicos** (disolventes, insecticidas, etc.);
- las **medicaciones** actuales o pasadas;
- los **antecedentes quirúrgicos**, sobre todo los de la esfera urogenital;
- los antecedentes de **infecciones genitourinarias**;
- los antecedentes de **infecciones de la esfera ORL o pulmonar**;
- los antecedentes de **traumas testiculares**;
- las **costumbres** (sauna, prendas íntimas, cigarrillo, alcohol, frecuencia de las relaciones sexuales...);
- los antecedentes de **enfermedades infantiles** (parotiditis...);
- los antecedentes **familiares** (hipofertilidad, patologías genéticas...);
- los antecedentes de **patologías graves**;
- la presencia de una **patología crónica** (diabetes, HTA...);
- la presencia de **enfermedad genética**;
- cualquier otro síntoma como **cefaleas...**

5. Examen clínico

En la biología de la reproducción, el examen de las **bolsas** testiculares es esencial en el estudio de las azoospermias. A menudo, permite orientar hacia una **azoospermia secretoria** o un **azoospermia excretoria**. Cuanto **más pequeño es el volumen testicular**, más sugestivo es el origen secretorio de la azoospermia. Igualmente ocurre cuando los **testículos son blandos**. En cambio, la ausencia de los conductos deferentes orienta hacia un azoospermia excretoria por **agenesia de los conductos deferentes**. El examen puede poner de manifiesto quistes testiculares o **del epidídimo**. El examen investiga la presencia de un eventual **varicocele**. Ante la menor duda o la menor anomalía, es importante orientar al paciente hacia un urólogo.

6. Pruebas analítico-clínicas de primera intención: espermiograma, espermocitograma, espermicultivo

El **espermiograma-espermocitograma** es la primera etapa biopatológica de la exploración de la fertilidad masculina (ver ejemplo de informe al final del artículo). Sólo este examen permite orientar hacia una participación masculina en la hipofertilidad de pareja o bien en confirmarla. También es el punto de partida de un proceso etiológico.

6.1. Espermiograma

Para una primera valoración de la fertilidad de un paciente deben realizarse **dos espermiogramas con tres meses de intervalo**. En efecto, el **esperma no es una constante biológica**, el trastorno puede ser sólo pasajero y es imposible sacar conclusiones de un solo espermiograma, incluso cuando presente azoospermia. Existen numerosas alteraciones observadas en un espermiograma que jamás se confirmaron en otros ulteriormente realizados.

6.1.1. Condiciones de obtención de la muestra

La obtención de la muestra hay que hacerla después de un **lapso de abstinencia sexual de 3 a 5 días**, porque ciertas características del esperma varían en función del tiempo de abstinencia (volumen del eyaculado, concentración espermática, etc.).

Después de un lavado esmerado de las **manos** y del **glande**, el esperma se recoge en el laboratorio, por masturbación, en un **recipiente estéril y de un solo uso**. El recipiente se pone inmediatamente en una estufa de cultivo a 37 °C durante 20-30 minutos, tiempo necesario para la **licuefacción**. El examen del esperma tiene que hacerse **inmediatamente después de la licuefacción** o en la hora que sigue a su la obtención.

6.1.2. Características del plasma seminal

◆ Aspecto

Un eyaculado normal tiene un aspecto **opalescente**. Un color pardo del eyaculado debe hacer pensar en una **hemospermia** y puede incluso que aparezca sangre en la orina. En este caso es aconsejable una consulta **urológica**.

◆ Volumen

Tiene que ser medido de modo preciso o por aspiración con una pipeta graduada en 0,1 ml o por pesada, siendo este último método más preciso (1g = 1 ml de esperma).

El volumen medio del eyaculado está entre 2 y 6 ml. Un eyaculado de gran volumen evoca la posibilidad de un varicocele.

Un volumen inferior a 2 ml debe hacer pensar en primer lugar, una pérdida parcial de esperma en el momento de su recogida o en una eyaculación incompleta. La ausencia de estas dos causas frecuentes, fácilmente descartables por interrogatorio al paciente, tiene

que llevar a la búsqueda de una infección de la vía seminal profunda, una agenesia epidídimo deferente o de una eyaculación retrógrada parcial.

La ausencia de espermatozoides eyaculados (aspermia) sugiere, en primer lugar, una eyaculación retrógrada total, que se confirmaría por la búsqueda de espermatozoides y la dosificación de la fructosa en la orina.

La fructosa, marcador bioquímico de las vesículas seminales, está normalmente ausente en la orina.

◆ **Viscosidad del espermatozoides**

Después de licuefacción, ésta se evalúa mediante una aspiración suave en una pipeta y observando el modo en que el espermatozoides gotea por efecto de la gravedad. La viscosidad es normal si el espermatozoides cae gota a gota. Está aumentada cuando el espermatozoides no gotea o lo hace de forma filamentosas. Una viscosidad aumentada puede dificultar la medida de las diferentes características espermáticas como la movilidad o la concentración de los espermatozoides.

◆ **pH**

Se mide depositando una gota de espermatozoides sobre una tira de papel de pH por comparación con una escala colorimétrica.

Hay que medirlo en la hora que sigue a la eyaculación. El pH normalmente está comprendido entre 7,2 y 8,0. Un pH inferior a 7 sugiere una insuficiencia o una agenesia vesículo-deferente.

Un pH superior a 8 puede evocar una afección de la próstata.

6.1.3. Características de los espermatozoides

Para el examen en fresco de las preparaciones de espermatozoides se necesita un **microscopio recto equipado en contraste de fase y una pletina calefactora**. La práctica se hace por el siguiente orden: la **movilidad**, la **vitalidad** y la **concentración** de los espermatozoides.

◆ **Movilidad de los espermatozoides**

Este estudio es a la vez cuantitativo (estimación del porcentaje de espermatozoides móviles) y cualitativo (tipo del movimiento de los espermatozoides).

Es importante hacer esta apreciación a 37 °C, lo cual es posible gracias a la pletina calefactora del microscopio. Una temperatura diferente de 37 °C modifica el movimiento espermático.

Dos gotas calibradas de 10 µl de espermatozoides licuado se depositan sobre un portaobjetos limpio y cada gota se cubre con un cubreobjetos de 22 x 22 mm. Esta lectura de la movilidad se hace después de licuefacción o en la hora que sigue a la eyaculación; se puede completar con una segunda lectura a las 4 h.

La medida de la movilidad espermática es muy subjetiva y a pesar de las precauciones que se puedan tomar para normalizarla, las variaciones intra- e interindividuales son numerosas. Se examinan bastantes campos microscópicos. La observación se hace con un aumento de

40x. Según su tipo de movimiento los espermatozoides se clasifican en 4 categorías: a, b, c y d, (clasificación del OMS): rápidos y progresivos (a), lentos y progresivos (b), móviles en el sitio (c) o inmóviles (d). Estas categorías se expresan en porcentaje, siendo el total igual al 100%.

La movilidad es considerada como normal si el porcentaje de espermatozoides progresivos, **tipo a + tipo b**, con al menos la mitad de tipo **a** es superior a 40. Una disminución del porcentaje de espermatozoides móviles o **astenospermia** puede sugerir una infección del esperma, tanto más cuanto disminuye la movilidad a las 4 h. También puede hacer pensar en una disquinesia flagelar.

Otras alteraciones del movimiento de los espermatozoides pueden haberse observado previamente en el simple examen en fresco entre porta- y cubreobjetos, por ejemplo los espermatozoides con trayectoria rectilínea por ausencia del movimiento lateral de la cabeza o espermatozoides hipermóviles, evocadores de un infección por micoplasmas.

En la lectura de la movilidad de los espermatozoides es importante observar si existe **aglutinación de espermatozoides**. Son agrupaciones de algunos espermatozoides, paradójicamente hipermóviles, unidos ya sea por la cabeza, por el pieza intermedia, el flagelo o de modo mixto.

Cuando los **aglutinados** de espermatozoides son **numerosos**, hay que confirmar el origen inmunológico investigando la presencia de anticuerpos antispermatozoides en el plasma seminal o en los espermatozoides.

◆ Vitalidad de los espermatozoides

Se expresa en **porcentaje de espermatozoides vivos**. Se hace con la ayuda de una coloración vital. Se basa en el hecho de que el colorante penetra las células muertas y no penetra las células vivas. Para los espermatozoides, la tinción más utilizada es la asociación eosina-nigrosina. Los espermatozoides rosados son los muertos, los vivos permanecen blancos. Una disminución de la vitalidad, necrospermia, se encuentra en las infecciones espermáticas o en las causas tóxicas.

◆ Concentración de espermatozoides

Se mide con la ayuda de un **hemocitómetro**. Una muestra de esperma se diluye, a un determinado título, en una solución que tiene también por objeto inmovilizar los espermatozoides. La dilución elegida está en relación con y adaptada a una primera evaluación del número espermatozoides hecha cuando se midió la movilidad.

La concentración de espermatozoides se considera normal si el número de espermatozoides es superior a 20 millones/ml e inferior a 200 millones/ml. Se habla de **oligozoospermia** si el recuento es inferior a 20 millones/ml. Si la concentración es superior a 200 millones/ml, se habla de **polizoospermia**. La **azoospermia** es la ausencia de espermatozoides en el eyaculado, incluso después de una centrifugación.

En caso de **oligozoospermia**, las causas pueden ser múltiples, pero a menudo son desconocidas. Por ejemplo, el cariotipo sanguíneo elimina una anomalía cromosómica cuya frecuencia aumenta cuando el recuento es inferior a 5 millones/ml. La mayor parte de las causas obstructivas son diagnosticadas por la bioquímica seminal, las causas secretoras por un estudio hormonal. La etiología infecciosa es frecuente (presencia de leucocitos).

En caso de azoospermia, el estudio mínimo a solicitar tiene que incluir un **cariotipo** sanguíneo, una **bioquímica seminal** y un **perfil hormonal** que permita saber si la azoospermia es **excretora**, espermatogénesis normal pero obstaculizada en los conductos seminales, o secretora (defecto de espermatogénesis).

◆ **Concentración de células redondas**

El eyaculado contiene siempre otras células además de los espermatozoides, pudiéndose tratar de células epiteliales de la uretra, de células de la línea germinal y leucocitos, todas llamadas células redondas. En la práctica, es indispensable poder identificar los leucocitos.

6.2. *Espermocitograma o análisis morfológico de los espermatozoides*

Se hace mediante la coloración de un frotis de espermatozoides, fijado y teñido mediante **la técnica de Shorr** (se utilizan otros tipos de coloración pero con menos frecuencia, como por ejemplo el Giemsa).

Existen varios tipos de clasificación. Aquí se describe la **clasificación modificada de David** (Auger y Eustache, 2000). Morfológicamente, el espermatozoide en microscopía óptica está constituido por tres partes, cabeza, pieza intermedia y el flagelo. Las anomalías se clasifican pues en anomalías de la cabeza, de la pieza intermedia y de los flagelos.

- **Cabeza:** cabeza alargada, pequeña, macrocéfalo, microcéfalo, múltiple, anomalías de la base, anomalía del acrosoma;
- **Pieza intermedia:** presencia de un resto citoplasmático, pieza delgada y angulación;
- **Flagelo:** flagelo ausente, corto, de calibre irregular, enrollado o múltiple.

La valoración morfológica es multiparamétrica porque tiene en cuenta el conjunto de las anomalías del espermatozoide, ya que raramente se presentan aisladas.

La evaluación se hace sobre **100 espermatozoides**. Por cada categoría morfológica, el número de espermatozoides que presenta una anomalía es expresado con 2 cifras. La primera corresponde al número de espermatozoides que presentan esa anomalía y la segunda cifra corresponde al número de espermatozoides que presentan, además, una o varias otras anomalías.

Se calcula el **IAM** (índice de anomalías múltiples) o relación entre el número total de anomalías contadas y el número total de espermatozoides atípicos. Se expresa en porcentaje y se correlaciona bastante bien con la calidad fecundadora de los espermatozoides. Cuando es superior a 1,6, a menudo se observa una disminución de la fecundidad de los espermatozoides. Si una misma anomalía afecta a todos los espermatozoides, se habla entonces de «síndrome puro». Algunas anomalías morfológicas están correlacionadas directamente con la fertilidad. Por ejemplo, la ausencia de acrosoma en todos los espermatozoides es responsable de esterilidad. El aumento del porcentaje de espermatozoides con flagelo enrollado sugiere una infección espermática, sobre todo si además existe astenospermia y necrospermia.

El frotis permite también en parte, la identificación de las células redondas presentes en el espermatozoides. Estas células son identificadas, contabilizadas y el resultado se expresa al final

del espermograma, como también se hace con los flagelos aislados. Este recuento se da en cifra absoluta por 100 espermatozoides observados y su concentración se calcula con la ayuda de la fórmula siguiente:

$$C = \frac{N}{S} \times 100$$

C = concentración células, N = número de células, S = concentración en espermatozoides.

6.3. Espermicultivo

Una infección del esperma puede ser el origen de obstrucción y evoluciona a menudo de forma crónica. Exceptuando los episodios agudos sintomáticos, una infección del esperma frecuentemente pasa inadvertida y de ahí la importancia de solicitar un espermicultivo cuando están alterados ciertos parámetros tanto del espermograma como del espermicitograma:

- astenospermia;
- presencia de numerosos leucocitos (sup. a 106);
- presencia de numerosos espermatozoides con el flagelo enrollado.

También se solicita sistemáticamente en los meses precedentes una asistencia médica a la procreación. El examen se basa en la investigación de los gérmenes comunes, aunque también de los micoplasmas y a veces de las *chlamydiae*. Si es positivo, se impone el correspondiente tratamiento y un espermicultivo de control.

7. Pruebas analítico-clínicas de segunda intención

7.1. Cariotipo y anomalías

◆ El síndrome de Klinefelter (47,XXY)

Se trata de la anomalía cromosómica más frecuente responsable de **hipogonadismo** y de **infertilidad** en el hombre. Este síndrome está ligado a una no-disyunción meiótica, los 2/3 de origen materno y un tercio de origen paterno. La fórmula cromosómica más frecuente es 47,XXY, pero existen mosaicos 46,XY/47,XXY. En los pacientes con una forma típica de síndrome de Klinefelter, el **volumen testicular** en el 80-90% de los casos, está **disminuido** y **no hay o son pocos los espermatozoides en el eyaculado**. La biopsia testicular muestra tubos seminíferos fibrosos e hialinizados con pocas o ninguna espermatogonia. En raros casos, se han encontrado espermatozoides.

Se han descrito algunos embarazos de parejas con síndrome de Klinefelter en mosaico.

◆ El doble Y (47,XYY)

La espermatogénesis es normal, pero la producción de gametos de fórmula cromosómica 24,XY o 24,YY **es más importante** que en los pacientes que tienen un cariotipo normal.

◆ Síndrome de los hombres XXES

Se trata de una **translocación de genes del cromosoma Y durante el meiosis paterna**l que acaba en un fenotipo masculino y una fórmula cromosómica 46,XX. Son escasos los pacientes que presentan esta anomalía cuando consultan por hipofertilidad. El **volumen testicular está reducido** y en su mayor parte son **azoospermicos**. Estos pacientes presentan caracteres sexuales secundarios normales, pero frecuentemente presentan ginecomastia.

◆ Anomalía en la estructura de los cromosomas

El cariotipo de los hombres infértiles muestra que las translocaciones de los autosomas son 10 veces más frecuentes en los hombres estériles que en los hombres fecundos. En caso de translocaciones robertsonianas (se producen entre cromosomas acrocéntricos o por fusión centromérica o por roturas en las regiones juxtacentroméricas) la espermatogénesis puede estar disminuida. El impacto de tales translocaciones sobre la espermatogénesis es imprevisible, porque una misma translocación puede producir desde una espermatogénesis normal a casi la detención del desarrollo de las células germinales.

En cuanto a las otras translocaciones autosómicas, algunas están asociadas a un trastorno de la espermatogénesis, lo que permite pensar que un gen implicado en la espermatogénesis está próximo a los puntos de rotura.

Las anomalías de estructura que implican a los cromosomas sexuales también son responsables de trastornos de la espermatogénesis. Más conocida es la fragilidad del cromosoma X. Su expresión sobre la espermatogénesis es variable.

7.2. Exámenes de exploración de los caracteres funcionales de los espermatozoides

7.2.1. Anticuerpos antispermatozoides

La incidencia de la esterilidad inmunológica sería del orden del 2 al 10%, según los autores.

Una **autoinmunización antiesperma** hay que sospecharla en todas las situaciones patológicas que permita el paso de antígenos espermáticos a la sangre, como una **intervención quirúrgica** o un **traumatismo** o una **infección de la esfera genital**. Pero muy frecuentemente no hay antecedentes evocadores. Únicamente la presencia de **aglutinados de espermatozoides** en el esperma sugiere la presencia de anticuerpos antispermatozoides. Cuando la prueba de Hühner es negativa y la prueba del moco y los parámetros espermáticos son normales, hay que solicitar una investigación de anticuerpos antiespermatozoides. La detección de los anticuerpos antispermatozoides se realiza mediante pruebas con inmunoesferillas (*immunobeads*). El diagnóstico de infertilidad inmunológico es sumamente probable cuando al menos el 50% de los espermatozoides son portadores de anticuerpos.

7.2.2. Prueba de interacción moco cervical-esperma

Estas pruebas permiten apreciar la aptitud de los espermatozoides para migrar en el moco y además, son esenciales en la evaluación de la calidad funcional de los espermatozoides. **La prueba de Hühner es un examen solicitado sistemática y precozmente** en el estudio de la hipofertilidad de la pareja.

◆ Prueba de Hühner o prueba poscoital

Se trata de una prueba **simple, no invasiva y barata**. Aporta información sobre la calidad del moco cervical consecuencia de la secreción de estrógenos y de la calidad del movimiento flagelar de los espermatozoides. Las anomalías en la interacción moco-esperma son responsables del 5 al 15% de los casos de infertilidad.

Esta prueba **a menudo se practica de primera intención**. Se hace en el **período preovulatorio**. Para un ciclo de 28 días, se recomienda practicarla al decimotercer día. Los pacientes **tienen que tener una relación sexual de 2 a 18 horas antes del examen**. La paciente **no tiene que hacer la limpieza íntima antes de ir al laboratorio**. La primera etapa de este examen consiste en apreciar la calidad del moco cervical por el estudio de su volumen, su viscosidad, su filancia, su cristalización y su celularidad. El estudio de estos parámetros permite establecer un índice, el **índice de Insler** (*Insler score*). Si el índice de Insler es superior a 10, el moco es de buena calidad, de **tipo ovular**, si es inferior a 10, el moco no es de tipo ovular.

La prueba es considerada como positiva si existen más de 10 espermatozoides móviles por campo con un aumento de 400. Si la prueba es negativa, puede tratarse o de un moco inadecuado o de una patología espermática (disquinesia flagelar). En caso de negatividad de la prueba por problema del moco, debe repetirse cuando mejore, o después de tratamiento antibiótico si había infección o, lo más frecuentemente, después de tratamiento estrogénico.

Si la prueba es negativa y el moco es de buena calidad, se solicita una prueba de penetración cruzada *in vitro*.

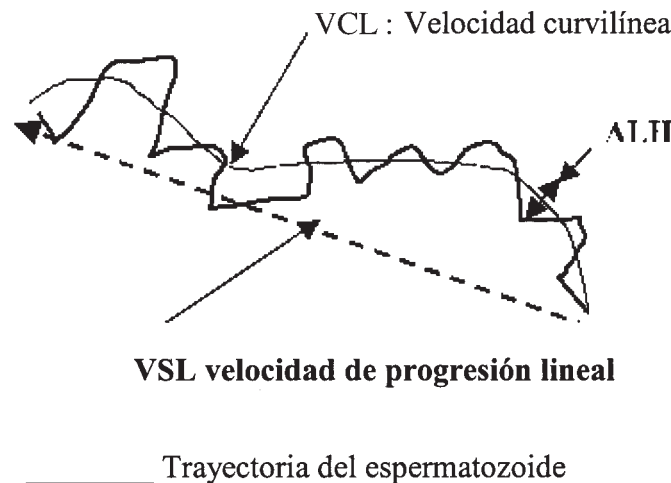
◆ **Prueba de penetración cruzada *in vitro***

Exige diferentes materiales biológicos: moco cervical de la mujer, esperma del marido, esperma testigo y moco testigo. Consiste en poner en contacto el moco de la mujer con el esperma de su pareja, los espermatozoides del paciente con un moco testigo y el moco de la paciente con el esperma testigo. Esta prueba también se realiza lo más próximo posible a la ovulación. Evalúa la calidad y la cantidad de espermatozoides que ha penetrado en los diferentes mocos. Permite ver si se trata de un problema de moco o un problema de espermatozoides. La interpretación de esta prueba es a veces difícil cuando existe participación del moco y de los espermatozoides, en los defectos de migración.

Si los espermatozoides probados no penetran ni en el moco de su pareja, ni en el moco testigo, mientras que el esperma testigo sí penetra en el moco testigo, se trata de un problema espermático. Si al contrario, el esperma probado penetra en el moco testigo y no en el moco probado y el esperma testigo no penetra tampoco en el moco probado, se trata de un problema de moco.

7.2.3. Análisis del movimiento de los espermatozoides asistido por ordenador (CASA)

El objetivo es poner de manifiesto las anomalías del movimiento difícilmente visibles en la observación microscópica simple. Se puede solicitar el caso de prueba de Hühner y prueba de penetración cruzada negativas por causa espermática, en caso de sospecha de anomalía del movimiento en el espermiograma (como por ejemplo presencia de espermatozoides de migración deslizante). Un espermatozoide presenta habitualmente un movimiento sinusoidal y su trayecto se caracteriza por bastantes parámetros:



- amplitud del giro lateral de la cabeza respecto a la pieza intermedia (ALH);
- velocidad de progresión lineal en $\mu\text{m/s}$ (VSL): velocidad media del desplazamiento según una línea recta trazada entre la primera y la última posición detectada de la cabeza;

- velocidad curvilínea en $\mu\text{m/s}$ (VCL): velocidad media del desplazamiento de la cabeza a lo largo de su trayectoria real, tal como se ve en dos dimensiones en el microscopio;
- velocidad según el trayecto medio en $\mu\text{m/s}$ (VAP): velocidad media de desplazamiento de la cabeza siguiendo el trayecto medio;
- linealidad del trayecto igual a la relación VSL/VCL.

7.2.4. Estudio de la reacción acrosómica

Este examen se practica en muy pocos laboratorios.

Los espermatozoides capacitados tienen que ser capaces de efectuar la **reacción acrosómica** con el fin de penetrar en los ovocitos. Parece bien demostrado que el resultado de la *fecundación in vitro* (FIV) está bien correlacionado con la tasa de reacción acrosómica y que un fracaso de FIV puede ser debido a la ausencia de reacción acrosómica. Así, una tasa de reacción acrosómica inducida inferior o igual al 5% sería predictiva de una tasa débil de fecundación.

Este examen se solicita en el caso de presencia en el espermocitograma de un porcentaje importante de anomalías del acrosoma o después de un fracaso de la FIV.

7.2.5. Prueba de fijación a la zona pelúcida

Estas pruebas se correlacionan con la aptitud fecundadora de los espermatozoides. En la práctica, es una prueba difícil por el hecho de la dificultad de conseguir zonas pelúcidas humanas utilizables para una prueba. Se utilizan las zonas pelúcidas de los ovocitos en metafase II no fecundados *in vitro*.

El interés de estas pruebas reside en la identificación de factores masculinos de infertilidad, particularmente en caso de fracaso de la FIV.

7.2.6. Prueba de fecundidad heteroespecífica

Permite estudiar, por una parte, **la interacción entre las membranas ovocitarias y la membrana del espermatozoide** y por otra parte, **la aptitud de los espermatozoides para desarticular su núcleo después de su penetración en un citoplasma ovocitario**. Se hace con ovocitos de hámster depelucidados, ya que la pelúcida es una barrera interespecies. Es de realización delicada y sólo se hace en algunos laboratorios de Biología de la Reproducción.

La prueba es positiva si se observa la presencia de una o más cabezas expandidas en más del 10% de los ovocitos. Cuando el porcentaje es nulo, las probabilidades de conseguir embriones en FIV convencional son muy débiles. En estos casos está indicada la inyección intracitoplásmica de espermatozoides.

Esta prueba está indicada para explicar un fracaso de la fijación en la fecundación *in vitro* (FIV), **pero actualmente se solicita cada vez más ante toda tentativa de FIV, cuando en el espermocitograma hay numerosas anomalías de la cabeza de los espermatozoides (anomalías del acrosoma, base disminuida)**. Si la prueba es negativa, evita un fracaso de fijación en la FIV convencional y está indicada la prueba ICSI.

7.2.7. Pruebas para explorar la calidad del núcleo espermático

El fenómeno de condensación o compactación del núcleo se desarrolla en la maduración del espermatozoide, al final de la espermiogénesis y durante el tránsito epididimario. El

estado de condensación y estabilidad del núcleo puede ser apreciado por diferentes métodos. En el eyaculado humano, los espermatozoides forman una población muy heterogénea que presenta niveles diferentes de madurez nuclear.

La coloración por el azul de anilina permite evaluar **el grado de condensación de la cromatina**. Desde hace poco tiempo, hay pruebas que estudian el grado de fragmentación del ADN de los espermatozoides. Ciertos equipos consideran que estas pruebas tienen un **valor pronóstico con respecto a los resultados de la asistencia médica a la procreación**.

7.2.8. Estudio por microscopía electrónica de los espermatozoides

Permite confirmar las **anomalías constitucionales de los espermatozoides**, como es el caso de las **disquinesias flagelares**. Confirma, por ejemplo, las anomalías del axomena de los espermatozoides (ausencia de brazos de dineína, ausencia de los túbulos centrales, anomalías de la vaina fibrosa...) o las ausencias de capa posacrosómica. Este examen se efectúa en laboratorios especializados equipados con un microscopio electrónico.

7.3. Dosificaciones hormonales

Un estudio hormonal es indispensable ante una **azoospermia**, una **oligospermia** o ante una **degradación de los parámetros del espermatozoide**.

Investiga un origen **secretorio** de los trastornos de la **espermatogénesis** cuando se ha observado un **hipogonadismo** o una **hiperprolactinemia** reveladora de un adenoma hipofisario.

En consecuencia, el estudio hormonal comprende las dosificaciones de **FSH, LH, testosterona y prolactina**. En caso de ginecomastia, se añade una dosificación de los **estrógenos**. El recurso a una consulta de endocrinología es necesario en caso de alteración compleja del balance hormonal.

7.4. Bioquímica seminal

El estudio del hombre infecundo no estaría completo sin la exploración sistemática de los conductos espermáticos y las glándulas anexas por la dosificación de marcadores bioquímicos. Los órganos que participan en la elaboración del espermatozoide se han descrito en el apartado 2.1.

7.4.1. ¿Qué marcador prescribir?

La elección de los marcadores bioquímicos se basa, no en su papel o interés fisiológico, sino únicamente en que sea producido específicamente mediante una de las glándulas anexas o una zona muy determinada del tracto genital masculino. Permiten realizar una verdadera cartografía anatómica del aparato genital (**Figura 2**).

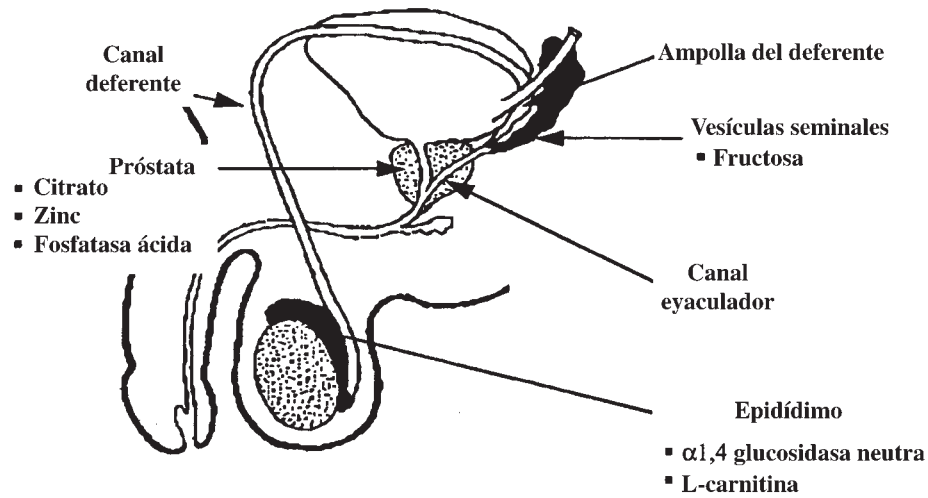


Figura 2. Marcadores bioquímicos del conducto seminal.

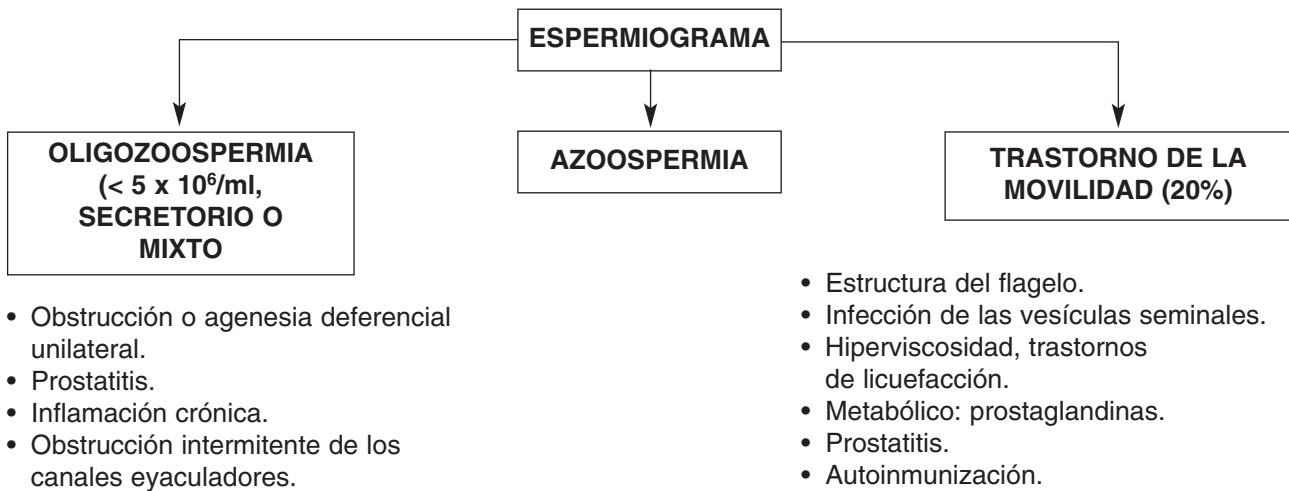
Es posible, en efecto, localizar una afección del tracto genital en función de la disminución de un determinado marcador, teniendo en cuenta que:

- cada glándula posee su marcador específico;
- si una glándula está afectada, hay disminución de la concentración de su marcador;
- esta disminución no es compensada porque no hay mecanismos de regulación homeostásica, como para la glucemia;
- si hay obstrucción al nivel del tracto, las secreciones de las glándulas situadas más arriba no se pueden evacuar y se observará una disminución del marcador correspondiente.

Las indicaciones más frecuentes de la bioquímica seminal son (**Tabla 1**):

- un azoospermia;
- una oligozoospermia;
- un volumen pequeño;
- una infección genital;
- una disminución de la movilidad (< al 20%);
- otros: viscosidad anormal, preparación de espermatozoides para FIV o ICSI.

Tabla 1. Principales indicaciones de la Bioquímica seminal.



7.4.2. Marcadores del epidídimo

◆ L-carnitina

La carnitina está en dos formas en el esperma: **L-carnitina** y **acetilcarnitina**. Desempeña un papel en la adquisición de la **movilidad progresiva**, es un transportador de ácidos grasos. Es el marcador del cuerpo y la cola del epidídimo, pero no es secretada por las células de la cabeza. Existe una pequeña secreción extraepididimaria del orden del 15 al 20%.

◆ α 1,4 glucosidasa neutra

La α 1,4 glucosidasa es un hidrolasa que está en dos formas en el esperma: una forma **ácida de origen prostático** y una **neutro epididimaria**. En el epidídimo desempeñaría un papel en la maduración de los espermatozoides. Sólo es segregada en el cuerpo del epidídimo. Existe una débil secreción extraepididimaria, inferior al 10%.

7.4.3. Marcador de las vesículas seminales

La **fructosa** es el marcador más **específico** segregado en ellas. Es sintetizada por las células epiteliales a partir de la glucosa sanguínea. Es la fuente de energía de los espermatozoides. Su secreción es androgenodependiente.

7.4.4. Marcador de la próstata

◆ Citrato

El citrato es el anión principal. Desempeña un papel de quelante de cationes. Existe una estrecha correlación entre las concentraciones de zinc y citrato.

◆ **Zinc**

El zinc es un cation específico del plasma seminal dotado de poder bactericida. Su papel sería estabilizar la condensación de la cromatina. Es transportado por el citrato y las proteínas.

◆ **Fosfatasa ácida**

Es una enzima activa en la desfosforilación de los ésteres ortofosfóricos. La isoenzima hallada en el esperma es específica de la próstata.

Estos seis marcadores son los que se prescriben habitualmente.

7.4.5. Obtención de la muestra de semen

El esperma se recoge en un recipiente estéril de base estrecha, para limitar el contacto aire-esperma, de un solo uso.

En el esperma recientemente obtenido, se realiza la medida del pH, el espermiograma y el espermiocitograma. La muestra se pone a 37 °C en una estufa de cultivo durante 20 a 30 minutos, **tiempo necesario para su licuefacción.**

Luego el esperma se centrifuga para separar los espermatozoides. 1 mililitro del plasma seminal obtenido se congela a -20 °C para la determinación de los marcadores bioquímicos. La muestra tiene que ser transportada a -20 °C y no debe descongelarse más que en el momento de la dosificación.

7.4.6. Caracteres fisicoquímicos

◆ **Medida del volumen**

El volumen medio del eyaculado (obtenido según 6.1.1), es de 2 a 6 ml en las condiciones estándar de abstinencia. Un volumen inferior a 2 ml puede corresponder a una eyaculación incompleta o retrógrada, una disfunción glandular (vesículas seminales), una obstrucción de los conductos genitales. En los casos en que se sospeche una eyaculación retrógrada, o sea una eyaculación en la vejiga, después de preparar al paciente, se investiga bien los espermatozoides en la orina o bien, si se trata de una azoospermia, la fructosa en la orina. En efecto, la fructosa está ausente normalmente en la orina.

◆ **Medida del pH**

Se efectúa nada más ser emitido con el papel de pH (de 6,1 a 10). Tiene que estar comprendido entre 7,2 y 8,0. Un pH ácido indica una ausencia de secreción de las vesículas seminales. Un pH alcalino una disminución de la secreción prostática.

◆ **Tiempo de licuefacción-aspecto**

A una temperatura de 37 °C, el esperma se licua en menos de 20 minutos después de la emisión. El aspecto normal después de licuefacción es opalescente, blanco nacarado, pero puede ser ocre si hay presencia de hemáties.

◆ **Viscosidad**

La viscosidad será registrada de + a +++.

7.4.7. Dosificación de marcadores bioquímicos

◆ Pretratamiento del plasma seminal

Es largo y meticuloso.

Para la dosificación del L-carnitina, hay dos posibilidades: o bien se realiza previamente la desproteínización con ácido perclórico, seguida de una neutralización o bien se realiza una desproteínización por paso a través de membrana de filtración Millipore™ que elimina las proteínas del plasma seminal.

Para la dosificación de la fructosa y el citrato se realiza una desproteínización seguida de una neutralización.

La dosificación del zinc, de las fosfatasa ácidas, de la α -1,4 glucosidasa se realiza directamente en el plasma seminal o después de simple dilución en NaCl 0,15 M.

◆ Técnica UV a 340 nm

Principio

La dosificación de los tres sustratos, carnitina, fructosa y citrato, se basa en el mismo principio cuando se realiza a 340 nm. El parámetro a dosificar es el primer sustrato de una cascada de reacciones enzimáticas a 37 °C, es pues el parámetro limitante. La última reacción es la reacción indicadora, que acaba en la formación o el consumo de NADH_2 o a NADPH_2 , que se mide por la variación a punto final de la absorbancia por espectrofotometría UV a 340 nm. La dosificación se desarrolla en 2 tiempos. Se incuba en primer lugar el plasma seminal con el reactivo 1 que contiene el tampón de reacción, los sustratos anexos necesarios y las diferentes enzimas de la cascada, excepto la primera enzima. Luego se añade el reactivo 2, reactivo desencadenante, conteniendo la primera enzima que inicia la cascada de reacciones. Se efectúa la medida al final de la reacción, cuando se agota el sustrato inicial (**Figura 3**).

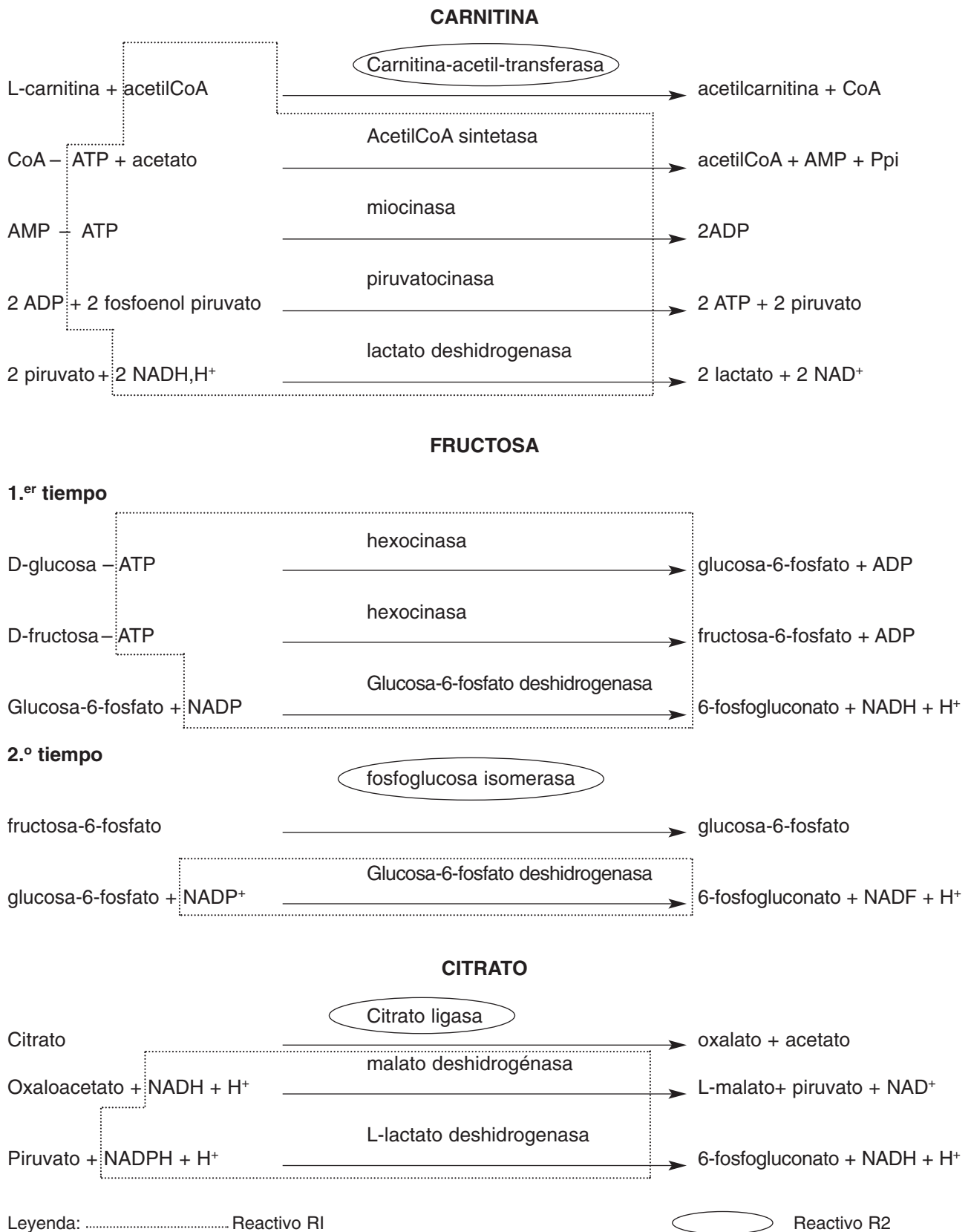


Figura 3. Principio de las dosificaciones del L-carnitina, de la fructosa y del citrato a 340 nm.

L-Carnitina

El reactivo desencadenante es la carnitina acetil transferasa.

Fructosa

El estuche comercial utilizado está concebido para dosificar al mismo tiempo la fructosa y la glucosa. El esperma contiene poca glucosa, pero sin embargo hay que eliminar esta interferencia.

Con ese fin, el primer reactivo contiene la hexocinasa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa que realiza la totalidad de la cascada enzimática de la glucosa, mientras sólo la fructosa es transformada en fructosa-6-fosfato.

La primera medida efectuada tiene en cuenta la formación de NADH_2 debida específicamente a la presencia de glucosa.

Luego la fosfoglucosa isomerasa, contenida en el segundo reactivo, da lugar a la continuación de la dosificación específica de la fructosa.

Así, por diferencia entre las dos medidas de absorbancia, se consigue la dosificación de la fructosa.

La fructosa es sintetizada en las células epiteliales de las vesículas seminales, por conversión a partir de la glucosa sanguínea. **La diabetes conlleva un «falso» aumento de la fructosa seminal y puede, por ejemplo, disfrazar una bajada de este parámetro.**

Citrato

La técnica es parecida a la de la carnitina, con un reactivo que activa la citrato liasa.

◆ Técnicas colorimétricas

L-Carnitina

Se mide la formación de CoASH después de la acción de la carnitina acetil transferasa sobre el acetil CoA y sobre la L-carnitina de la muestra. El CoASH formado reacciona con el DTNB para formar el anión 5-tio-2-nitrobenzoato amarillo que absorbe a 405 nm.

Zinc

El zinc forma con el 5 Br PAPS un complejo coloreado el cual se mide a punto final a 560 nm.

Fosfatasa ácida

Un sustrato específico, el α -naftilfosfato, es hidrolizado a 37 °C, acabando en la formación de un compuesto azóico coloreado. Es un método cinético colorimétrico: se mide el aumento medio de densidad óptica por minuto a 405 nm durante 3 minutos (método de Hillmann modificado).

α -1,4 Glucosidasa neutra

El esperma contiene numerosas oxidasas como la α -glucosidasa neutra, la α -glucosidase ácida y la β -3-glucosidasa, pero únicamente la **α -glucosidasa neutra es específicamente de origen epididimario** (técnica de Cooper *et al.*) recomendada por la OMS.

La actividad enzimática es medida por hidrólisis a pH 6,8 y a 37 °C del p-nitrofenilglucopiranosido en p-nitrofenol y medición de la absorbancia a 405 nm.

Para que la medida de esta isoenzima sea específica, se utilizan dos inhibidores:

- el dodecilsulfato de sodio, SDS, que inhibe la actividad de la isoenzima α -glucosidasa ácida prostática.
- la castanospermina, alcaloide que inhibe todas las actividades hidrolásicas del esperma y permite realizar un blanco de muestra.

La actividad de la α -1,4-glucosidasa neutra es fácil de medir, rápida, sensible y específica. Las dosificaciones de L-carnitina, fructosa, citrato y fosfatasa ácida están comercializadas y son automatizables.

7.4.8. Interpretación de los resultados

◆ Expresión de los resultados

Los valores normales de los marcadores seminales varían de un laboratorio a otro, en función de las técnicas utilizadas. Cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores usuales. Tienen que ser establecidos a partir de esperma procedente de sujetos que ya hayan procreado.

Los resultados se expresan en concentración o en cantidad por eyaculado.

Para la interpretación de los resultados, nos situaremos en el 10.º percentil (**Tabla 2**), e **investigaremos los valores inferiores a este umbral.**

Tabla 2. Valores de referencia del marcador bioquímico del plasma seminal.

	Fructosa	Citrato	Zinc	Fosfatasa ácida	α -1,4 Gluc. neutra	L-Carnitina
Órgano	Vesículas seminales	Próstata	Próstata	Próstata	Epidídimo	Epidídimo
Principio de la dosificación	cinética enzimática a 340 nm		colorimetría a 560 nm	cinética enzimática a 405 nm		cinética enzimática a 340 nm o colorimétrica a 405 nm
Valores de referencia al percentil 10	superior a 59 μ mol/E	superior a 60 μ mol/E	superiores a 3 μ mol/E	superior a 1234 UI/E	superior a 59 mU/E	superior a 654 nmol/E o superior a 390 nmol/E

E= eyaculado.

El estudio bioquímico del plasma seminal se limita de hecho a las dosificaciones de la α -1,4 **glucosidasa** (epidídimo), de la **fructosa** (vesículas seminales) y del **zinc** (próstata).

El citrato y las fosfatasa ácidas son los otros dos marcadores prostáticos cuya interpretación y valor diagnóstico son idénticos a los del zinc, pero es suficiente **un único marcador por cada glándula anexa**.

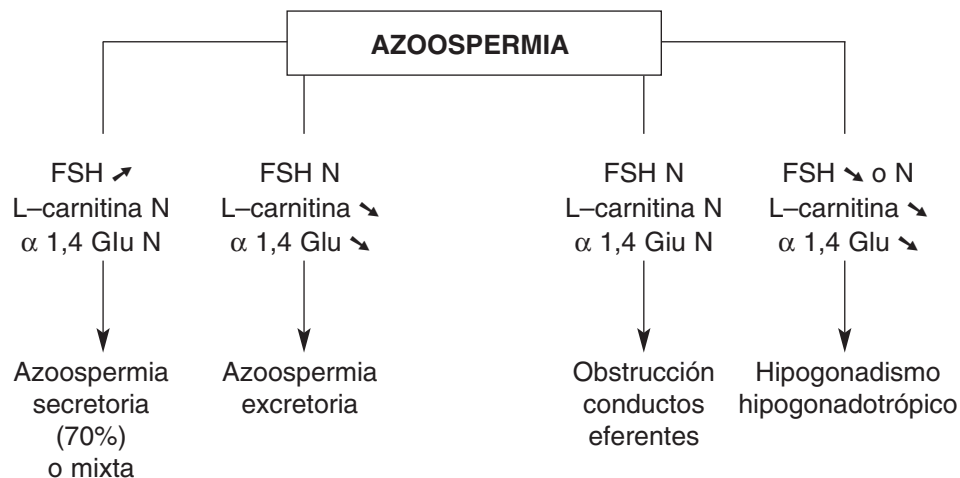
◆ Azoospermia

Es la ausencia de espermatozoides en 2 espermiogramas practicados con 2 meses de intervalo, según las recomendaciones de la OMS.

Los azoospermias pueden ser **secretoras no obstructivas u obstructivas** con función secretora conservada. La ausencia de espermatozoides en el eyaculado puede ser debida a una obstrucción bilateral de las vías excretoras. Las azoospermias excretoras pueden ser congénitas o adquiridas.

Las dosificaciones hormonales, en particular la de **FSH plasmática y los marcadores bioquímicos, la medida del volumen y el pH del plasma seminal, son esenciales** para orientar el diagnóstico hacia una azoospermia secretora de origen testicular o antehipofisaria o hacia un azoospermia excretora debido a una obstrucción o un agenesia de los conductos genitales (**Tabla 3**).

Tabla 3. Marcadores bioquímicos del epidídimo en las azoospermias



— la FSH plasmática permite explorar el eje gonadotropo y orientar hacia un etiología pretesticular y testicular.

— la L-carnitina y la α 1,4 glucosidasa seminales permiten explorar todo el tracto a partir de los cuerpos del epidídimo porque son los marcadores más significativos.

Si la FSH está disminuida, puede tratarse de un hipogonadismo **hipogonadotrófico**. La anomalía es pues de origen endocrino **pretesticular**, la testosterona estaría también

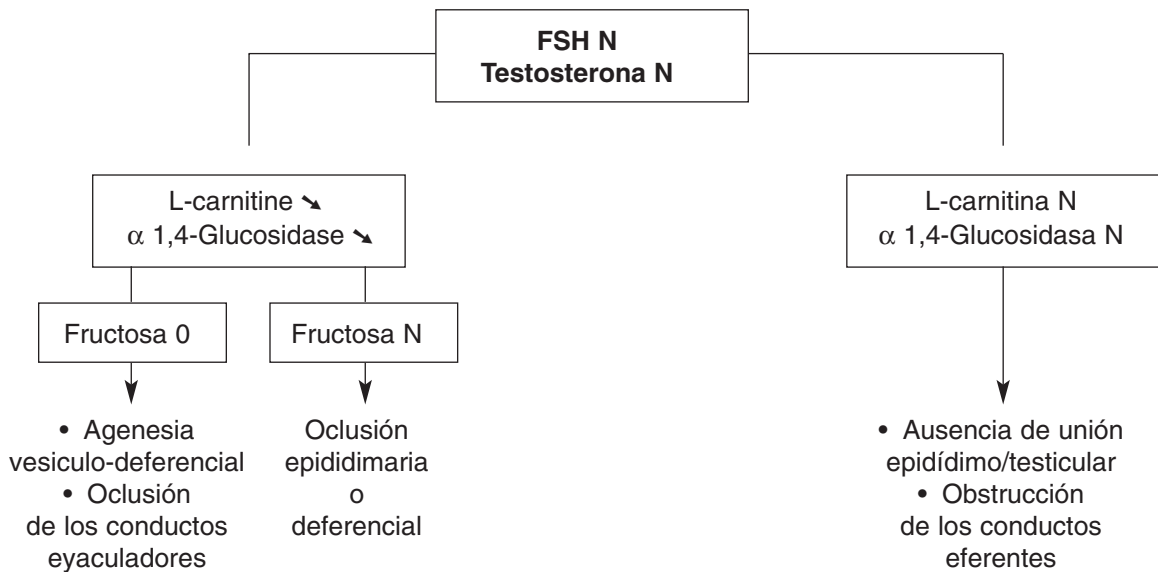
disminuida y los marcadores bioquímicos serían normales o bajos. Es una anomalía rara, curable con **tratamiento hormonal**.

Si la FSH está aumentada con una L-carnitina y una α 1,4 glucosidasa normales, el origen es testicular y es una **azoospermia secretoria**. Esto representa cerca del 70% de las azoospermias. La elevación de la concentración de FSH **es proporcional al grado de afección testicular**. Las etiologías son numerosas: el síndrome de Klinefelter, los defectos de maduración de la línea germinal, la criptorquidia, las secuelas infecciosas, las lesiones traumáticas o térmicas. **Ciertas azoospermias secretoras tienen, sin embargo, una tasa de FSH normal que complica así su diagnóstico.**

Si el FSH es normal con un L-carnitina y una α 1,4 glucosidasa baja, la azoospermia se la denomina excretoria. Es debida a una **obstrucción o una agenesia del tracto genital**.

La dosificación de otros marcadores (fructosa) permitirá situar el nivel de esta obstrucción. Si la fructosa es normal, se puede sospechar una oclusión del epidídimo o deferencial. **Si la fructosa es baja** con un volumen débil de espermia y un pH ácido, se puede sugerir una oclusión de los conductos eyaculadores o una agenesia vesículo-deferencial (**Tabla 4**).

Tabla 4. Marcador bioquímico en las azoospermias excretorias u obstructivas.



Hay un caso difícil de diagnosticar, es la afección de la cabeza del epidídimo, ya que **la L-carnitina y el resto de marcadores no están alterados.**

En estas azoospermias excretorias, la **cirugía** se utiliza frecuentemente para confirmar la topografía de la obstrucción y eventualmente quitarla.

◆ **Oligozoospermias**

En las oligozoospermias, las dosificaciones de los marcadores bioquímicos pueden orientar hacia ciertas etiologías:

- una **obstrucción unilateral: ciertos marcadores** están bajos;
- un **prostatitis**: la inflamación provoca la compresión de los conductos excretorios, el **volumen está disminuido, el pH aumentado y todos los marcadores están bajos**. Hay con frecuencia **una leucospermia** e incluso una **alternancia oligo/azoospermia** (espermias **fluctuantes**).

◆ **Astenozoospermias**

En ciertas astenozoospermias es interesante dosificar **la L-carnitina y la fructosa**, porque su disminución puede estar en relación con una disminución de la movilidad del espermatozoide.

◆ **Otras anomalías**

Los marcadores bioquímicos pueden estar alterados en los varicoceles, en los sujetos VIH...

Conclusión

La exploración completa y escrupulosa de la hipofertilidad masculina es esencial. El **espermiograma es un examen capital, la bioquímica del plasma seminal lo completa**: permite explicar ciertas anomalías, en particular las **azoospermias obstructivas**.

El diagnóstico exacto de la causa de infertilidad es el resultado de un proceso pluridisciplinar, pudiendo recurrir a numerosos exámenes complementarios más o menos complejos. Es muy importante, ya que condiciona la elección de un tratamiento o de una técnica de procreación médicamente asistida.

BIBLIOGRAFÍA

Auger J, Eustache F. Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. *Andrologie* 2000,10, 358-373.

Cooper TG, Yeung CH, Nashan D, Jockenhövel, Nieschlag E. Improvement in the assessment of human epididymal function by the use of inhibitors in the assay of α -glucosidase in seminal plasma. *Int. J. Androl.* 1990, 13, 297-305.

Cooper TG, Weidner W, Nieschlag E. The influence of inflammation of the human male genital tract on secretion of the seminal markers α -glucosidase, glycerophosphocholine, carnitine, fructose and citric acid. *Int. J. Androl.* 1990, 13, 329-336.

Johnsen O and Eliasson R. Evaluation of a commercially available kit for colorimetric determination of zinc in human seminal plasma. *Int. J. Androl.* 1987, 10, 435-440.

Manuel de laboratoire de l'OMS. Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical Ed INSERM1993, traduction J Auger, P Jouannet.

Schmidt FH. Die enzymatische bestimmung von glucose und fructose nebeneinander. *Klinische Wochenschrift*, 1961, 39, 1244-1247.

Soufir JC, Weber P. Seminal carnitine: definition of the concept of epididymal marker. Methodological problems. Diagnostic value. *Front. Endoc.*1995, 11, 211-217.

Manual on Basic Semen Analysis. ESHRE Monographs. Editors: U. Kvist and L. Björndahl. Oxford University Press. June 2002.

David G, Bisson JP, Czyglik F, *et al.* Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain. 1) Propositions pour un système de classification. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 1975, 4 (Suppl. 1): 17-36.

**EJEMPLO DE INFORME DE
ESPERMIOGRAMA/ESPERMIOCITOGAMA (I)**

Apellidos: _____ Fecha: _____
 Nombre: _____
 Fecha de nacimiento: _____ Período de abstinencia: _____ días
 Muestra: _____ Laboratorio
 Domicilio
 N.º de informe: _____ Médico prescriptor: _____

ESPERMIOGRAMA:

Volumen: _____ ml **pH:** _____ **Viscosidad:** _____
Concentración: _____ x 10⁶ espermatozoides/ml **Células redondas:** _____ x 10⁶/ml
Leucocitos: _____ x 10⁶/ml
Recuento total: _____ 10⁶ espermatozoides

MOVILIDAD:	Después de minutos	Después de horas
Veloz y progresiva:	%	%
Lenta y progresiva (b):	%	%
Móvil <i>in situ</i> (c):	%	%
Inmóvil (d):	%	%

Vitalidad: _____ % **Presencia de aglutinados:** _____

**EJEMPLO DE INFORME DE
ESPERMOGRAMA/ESPERMIOCITOGRAMA (II)**

ESPERMIOCITOGRAMA:

Con _____ espermatozoides observados **FORMAS TÍPICAS:** %

CABEZA	PIEZA INTERMEDIA	FLAGELO
Alargada:	Resto citoplásmico:	Ausente:
Adelgazada:	Delgada:	Corto:
Microcéfalo:	Angulación:	Irregular:
Macrocéfalo:		Enrollado:
Cabezas múltiples:		Múltiples:
Base anormal:		
Acrosoma ausente o mal formado:		

ÍNDICE DE ANOMALÍAS MÚLTIPLES:

Flagelos aislados:	Polinucleares:
Espermatozoides en lisis:	Otras células:
Células de la línea germinal:	Fragmentos celulares:

CONCLUSIÓN: