

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA
MENCION CITOLOGIA



**EVALUACION DE LA ACTIVIDAD BIOLOGICA
DE *Lepidium meyenii* (Maca),
SOBRE LA ESPERMATOGENESIS
Y CALIDAD ESPERMATICA,
EN UN GRUPO DE
VARONES INFERTILES
ENTRE 25 Y 50 AÑOS DE EDAD**

Postulante: Univ. BEATRIZ EULALIA QUELCA TANCARA

Tesina presentada para optar al Grado de Licenciatura en Bioquímica

LA PAZ – BOLIVIA
2008

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA
MENCION CITOLOGIA



**EVALUACION DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA
DE *Lepidium meyenii* (Maca),
SOBRE LA ESPERMATOGENESIS Y CALIDAD
ESPERMATICA, EN UN GRUPO
DE VARONES INFERTILES
ENTRE 25 Y 50 AÑOS DE EDAD**

Postulante:

Univ. BEATRIZ EULALIA QUELCA TANCARA

Asesores:

ROGER CARVAJAL S., Ph.D.
Dra. JACQUELINE CORTEZ G.

Co- Asesores:

Dra. MAGALI SOLARES
Dra. YOLANDA SALCEDO
Dr. GROVER VELEZ

Tesina presentada para optar al Grado de Licenciatura en Bioquímica

LA PAZ – BOLIVIA
2008

Dedicatoria:

A Dios, por concederme la gracia de la Vida y ser la luz que me acompaña en cada paso que doy, por ser quien me levanta y me anima cuando las fuerzas se agotan y se pierden las esperanzas.

A mis queridos padres: Agustín y Victoria, por darme todo su amor y apoyo incondicional; a mis hermanos: Bertha, Ruth y Eddy, por su ayuda y sus consejos; a mis sobrinitos: Rosvi, Alexis e Ivar, por darme esa alegría que me anima a seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo ha sido para mí un arduo y provechoso camino en el que he aprendido muchas cosas, no solo a nivel profesional sino también personal; por lo que al final de este trabajo, quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que desinteresadamente me colaboraron.

En primer lugar quiero agradecer al Dr. Roger Carvajal por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo, por sus enseñanzas y sobretodo por su apoyo y asesoramiento en la realización de este estudio.

A la Dra. Jacqueline Cortez, por haberme transmitido sus conocimientos, por su valiosa colaboración y asesoramiento constante en la realización de este trabajo.

A la Dra. Magali Solares, por su constante dedicación en este trabajo, por su apoyo, sus enseñanzas y consejos, por transmitirme esa pasión hacia la investigación y sobretodo por brindarme su amistad, la cual valoro mucho.

A la Dra. Yolanda (Lita) Salcedo, por haberme recibido con los brazos abiertos, por su confianza, asesoramiento y enseñanzas, en especial por su amistad y sus consejos.

Al Dr. Grover Velez, por el tiempo dedicado en la atención de nuestros pacientes, por su apoyo incondicional y colaboración constante que fueron imprescindibles en la realización de este estudio.

A todo el personal del Laboratorio Clínico del Hospital de Clínicas, por su apoyo y cooperación en la realización de este trabajo, un especial agradecimiento a la Dra. Elsa Chungara.

A todo el personal del Laboratorio de Análisis Hormonales y Clínicos: “Hormobiolab s.r.l.”, por recibirme siempre con una sonrisa y amabilidad; en especial a la Dra. Ana María Salinas, por su colaboración en las determinaciones hormonales y apoyo incondicional que fueron muy importantes en la realización de este trabajo.

A la Empresa NATURALCOS S.A., que financió este estudio y proporcionó el producto: Maca Spirit™ para los pacientes

Al Dr. Lido Saravia, por su constante apoyo, confianza y colaboración.

Al Dr. Carlos Molina y al Dr. Jorge Zelada, por su valiosa colaboración al inicio del estudio.

A mi familia, que son los pilares esenciales de mi vida, por apoyarme en todo momento, por creer siempre en mis sueños y aspiraciones. Gracias!!!

A todos mis amigos, en especial a aquellos que pasaron por el Laboratorio Clínico del Hospital de Clínicas, haciendo su Internado Rotatorio o Pasantía en las gestiones 2006 y 2007, y que me dieron ánimos, apoyo, colaboración y sobre todo me brindaron su valiosa amistad. A cada uno de ellos gracias por haber sido partícipes en este trabajo de alguna manera u otra.

Y a todas aquellas personas que pusieron su Confianza y Fe en el equipo de investigación, “*Los Pacientes*”, ya que sin ellos este estudio no se hubiera realizado.

¡ A TODOS, MI AGRADECIMIENTO !

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCION.....	2
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
III. ANTECEDENTES.....	6
IV. JUSTIFICACION.....	10
V. MARCO TEORICO	
A. SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO.....	12
1. Testículo.....	12
2. Túbulos Seminíferos.....	14
a. Células de Sertoli.....	14
b. Células espermatozógenas.....	16
c. Espermatogénesis.....	16
1) Espermatocitogénesis.....	16
2) Meiosis.....	17
3) Espermiogénesis.....	19
a) Fase de Golgi.....	20
b) Fase de caperuza.....	20
c) Fase Acrosómica.....	20
d) Fase de maduración.....	21
3. Estructura del espermatozoide.....	22
a. Cabeza del espermatozoide.....	22
b. Cola del espermatozoide.....	23
1) Cuello.....	23
2) Pieza intermedia.....	23
3) Pieza principal.....	23
4) Pieza Terminal.....	24
4. Células Intersticiales de Leydig.....	24
5. Conductos Genitales.....	24
a. Conductos genitales intratesticulares.....	25
1) Túbulos rectos.....	25
2) Red testicular.....	25

b. Conductos testiculares extratesticulares.....	25
1) Conductillos eferentes.....	25
2) Epidídimo.....	26
3) Conducto deferente.....	27
4) Conducto eyaculador.....	28
6. Glándulas genitales accesorias.....	28
a. Vesículas seminales.....	28
b. Próstata.....	29
c. Glándulas bulbouretrales.....	29
7. Histofisiología del Testículo.....	30
a. Función Hipotálamo-Hipofisario.....	30
1) Hipotálamo.....	30
a) <i>Secreción pulsátil de GnRH</i>	30
b) <i>Regulación de GnRH</i>	31
2) Hipófisis.....	31
a) <i>LH</i>	31
b) <i>FSH</i>	31
c) <i>Regulación de gonadotropinas</i>	32
b. Función testicular	
1) Síntesis y acción de hormonas esteroideas	
a) <i>Síntesis y secreción de Testosterona</i>	32
b) <i>Proteínas de unión y transporte de Testosterona</i>	32
c) <i>Conversión de Testosterona en E₂ y DHT</i>	33
d) <i>Unión al receptor de Andrógenos</i>	33
B. FERTILIZACION.....	34
1. Activación Espermática.....	35
a. Maduración Epididimaria.....	35
b. Capacitación.....	36
c. Motilidad Hiperactivada.....	36
d. Reacción Acrosómica.....	37
C. INFERTILIDAD EN LA PAREJA E INFERTILIDAD MASCULINA.....	38
1. ESTRATEGIA DE LA EXPLORACIÓN DE LA INFERTILIDAD MASCULINA	39
a. Interrogatorio.....	39
b. Examen Clínico.....	39
c. Pruebas Analítico-Clínicas de primera intención.....	39
1) Espermatograma.....	40
a) <i>Volumen</i>	40
b) <i>Aspecto</i>	41
c) <i>Licuefacción</i>	41
d) <i>Viscosidad</i>	42
e) <i>pH</i>	42
f) <i>Motilidad</i>	43

g) Vitalidad.....	45
h) Concentración Espermática.....	46
i) Morfología.....	47
j) Elementos celulares diferentes de los espermatozoides.....	49
- Leucocitos	49
- Células Germinales.....	49
k) Aglutinación.....	50
d. Pruebas Analítico-Clínicas de segunda intención.....	50
2. CAUSAS DE INFERTILIDAD MASCULINA.....	50
a. Trastornos Hormonales.....	51
b. Trastornos genéticos o moleculares.....	51
c. Criptorquidia.....	52
d. Varicocele.....	52
e. Procesos Infecciosos.....	53
f. Factores inmunológicos.....	55
g. Otros factores.....	55
1) Neurológicos.....	55
2) Ambientales.....	55
3) Medicamentosos.....	55
3. ABORDAJE TERAPEUTICO.....	56
a. Intervención Quirúrgica.....	56
b. Tratamiento Farmacológico.....	56
c. Técnicas de Reproducción Asistida.....	56
d. Otros.....	56
D. LA FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA DEL SIGLO XXI.....	56
E. LA MACA.....	57
1. CLASIFICACION TAXONOMICA.....	58
2. DESCRIPCION BOTANICA.....	59
3. CARACTERISTICAS NUTRICIONALES.....	59
4. PRINCIPIO ACTIVO DE ALGUNOS COMPUESTOS DE <i>Lepidium meyenii</i>	60
VI. OBJETIVOS	
A. OBJETIVO GENERAL.....	65
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	65
VII. HIPOTESIS.....	65
VIII. DISEÑO METODOLOGICO	
A. DISEÑO DE INVESTIGACION.....	66
B. POBLACION Y MUESTRA.....	66

C. CRITERIOS DE INCLUSION.....	67
D. CRITERIOS DE EXCLUSION.....	67
E. METODOS	
1. ESPERMATOGRAMA.....	67
a. Procedimientos para evaluar las características macroscópicas	
1) Volumen.....	68
2) Aspecto y Color.....	68
3) Consistencia o Viscosidad.....	68
4) pH.....	68
b. Procedimientos para evaluar las características microscópicas	
1) Motilidad.....	69
2) Vitalidad o Viabilidad.....	69
3) Concentración.....	70
4) Morfología y Células germinales o inmaduras.....	70
2. DETERMINACIÓN DE TESTOSTERONA.....	70
a. Fundamento del método.....	71
b. Procedimiento.....	71
3. ANALISIS ESTADISTICO.....	72
IX. RESULTADOS.....	73
X. DISCUSION.....	114
XI. CONCLUSIONES.....	121
XII. RECOMENDACIONES.....	122
XIII. BIBLIOGRAFIA.....	123
ANEXOS.....	134

RESUMEN

La infertilidad es un problema de salud pública, que afecta alrededor del 13% de las parejas, de las cuales aproximadamente un 40% puede deberse al factor masculino. Varios factores han sido identificados como posibles causantes de alteraciones en la espermatogénesis y por consiguiente a la calidad seminal, aunque un porcentaje de la población presenta infertilidad idiopática.

El enfoque terapéutico actual produce efectos colaterales y carece de eficacia, por lo que finalmente el paciente es conducido a la reproducción asistida. Por lo anterior, actualmente se considera el uso de plantas medicinales, tal es el caso del *Lepidium meyenii* (Maca); que es una planta alto-andina que ha sido utilizada con propósitos medicinales y nutricionales desde los tiempos preincaicos, y posteriormente por los españoles, como estimulante para aumentar la fecundidad en humanos y animales. En el presente trabajo se estudió la actividad biológica de este producto sobre la espermatogénesis y la calidad espermática en un grupo de varones, entre 25 y 50 años de edad, afectados de infertilidad. En el estudio fueron incluidos diez sujetos, que fueron remitidos por el Servicio de Urología del Hospital de Clínicas al Laboratorio Clínico, los mismos que presentaban alteraciones en la espermatogénesis y/o en la calidad espermática. El tratamiento con *Lepidium meyenii* (Maca) duró 3 meses (3000 mg/día) y se evaluaron parámetros seminales, de acuerdo a las guías de la Organización Mundial de la Salud; también se determinó la concentración de Testosterona sérica antes y después del tratamiento.

Los resultados obtenidos demuestran que el tratamiento con Maca mejora la calidad espermática: motilidad y vitalidad; también se observa un efecto sobre la espermatogénesis expresado en la disminución de las células germinales y mejora de la morfología espermática. Debe destacarse que el efecto más importante está dado en el incremento drástico de la motilidad espermática en los sujetos cuya deficiencia se expresa en este parámetro; este incremento correlacionó directamente con el hecho de que tales sujetos pudieron embarazar a sus parejas. No se pudo evidenciar una respuesta hormonal directa.

I. INTRODUCCION.

La capacidad reproductiva de la especie humana es baja, si tenemos en cuenta que la probabilidad máxima de embarazo en período fértil es de 30-35%. La incapacidad de obtener un embarazo que finalice con un nacido vivo después de un año de relaciones se define como infertilidad. Se calcula que alrededor de un 15% de parejas están afectadas por este problema y la causa masculina es el motivo de ello en un 40% de los casos (Rosas, 2007).

La calidad reproductiva del hombre adulto está condicionada por el esencial proceso de la espermatogénesis. La producción continuada de un número adecuado de gametos masculinos funcionalmente competentes depende de múltiples factores y su disrupción parcial o total produce alteraciones en los parámetros de calidad seminal siendo una de las causas más frecuentes de infertilidad masculina (Bassas, 2001).

En los últimos años la calidad del semen ha caído en deterioro debido a muchos factores, y se ha demostrado que varios agentes químicos y otros como: calor, vibraciones, radiaciones ionizantes tienen un efecto potencial de producir alteraciones en la estructura del espermatozoide o provocar un descenso de los niveles de producción espermática. La exposición a pesticidas, pinturas y barnices causa oligospermia y azoospermia así como el estrés laboral y la temperatura afectan a la producción de espermatozoides (Sellés et al, 2006).

Según un estudio publicado en el British Medical Journal (2003) las investigaciones realizadas entre 1938 y 1991 que incluían datos de 15000 varones, llegaron a la conclusión que en esos cincuenta años la concentración de espermatozoides había reducido en un 50% a ritmo de un 1% anual. A este trabajo le siguieron muchos otros respaldando esta tesis del deterioro de la calidad del semen (Bustos et al., 1979).

El deterioro en la calidad del semen no solo se debe a los factores ya mencionados, también existen hipótesis sobre los efectos negativos de factores ambientales como la altura y su efecto sobre la calidad espermática y la fertilidad masculina, la hipoxia parece inhibir la espermatogénesis y produce cambios en la cantidad y características del semen (Bustos et al., 1979).

La imposibilidad de procrear supone para la pareja una situación de crisis emocional que en los últimos años está representando un motivo de consulta creciente en la salud pública (Rosas, 2007).

Se advierte que gran parte de las terapias empleadas desde hace décadas en el tratamiento de la infertilidad masculina carecen de eficacia demostrada (Matorras, 2002) y la mayoría de los casos se conducen a reproducción asistida. Sin embargo entre otras están las terapias alternativas que consideran el uso de plantas medicinales, las que están ligadas al uso ancestral.

El uso de plantas medicinales con fines terapéuticos ha sido preservado en nuestra cultura durante siglos. Diversas especies vegetales en la actualidad son ampliamente utilizadas para tratar los problemas de salud que se presentan en determinado momento o simplemente para prevenirlos, tal es el caso de *Lepidium meyenii* (Maca), que ha sido utilizada desde tiempos remotos, no solo por sus propiedades nutritivas sino por los efectos en la fertilidad; por lo que dicha planta es conocida como Ginseng de los Andes y “Viagra de los Incas”. Estudios realizados tratando de determinar efectos reproductivos de la Maca en el sexo masculino sugieren que esta planta tiene un efecto favorable tanto sobre la reproducción estimulando el deseo sexual, como sobre la producción de espermatozoides la cual parece ser independiente de cambios hormonales (Gonzales et al., 2001; Gonzales et al., 2002). Es en este sentido que el presente trabajo propone confirmar y ampliar la información de los efectos biológicos de *Lepidium meyenii* (Maca) sobre la espermatogénesis y la calidad espermática.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Según un estudio realizado por la OMS, el 13-14% de las parejas estables tienen problemas de fertilidad, considerándose como infértil la pareja que no consigue llevar a término una gestación después de un año de coitos regulares sin utilizar métodos anticonceptivos. Las causas de infertilidad son variadas y en parte desconocidas, de las cuales aproximadamente un 40% puede ser de origen femenino, un 40% de origen masculino y el 20% restante mixto o de causa desconocida.

Existen diferentes causas de infertilidad en la pareja entre estos se destacan: alteraciones del tracto genital masculino o femenino, hormonales y otros menos conocidos. Desde la perspectiva masculina, las causas más frecuentes pueden ser las alteraciones en la espermatogénesis y los parámetros de calidad seminal como las modificaciones de la morfología y/o motilidad de los gametos,

Por otra parte, los estudios en el campo muestran que la disminución en la calidad del semen puede deberse a factores ambientales: hipoxia de altura, temperatura, radiaciones, estrés; fármacos, estimulantes (drogas, alcohol, tabaco) o deficiencias nutricionales (selenio, zinc, vitaminas).

El nivel de la Testosterona es un factor endógeno asociado a la calidad espermática, por lo que en procesos de infertilidad una alternativa inicial es el tratamiento hormonal sustitutivo; sin embargo, son conocidas las consecuencias desfavorables para el paciente. Ante estas circunstancias se busca tratamientos alternos; actualmente en nuestro medio el uso de productos naturales como *Lepidium meyenii* (Maca) es cada vez mayor ya que se conoce que esta planta posee efectos beneficiosos para la salud, algunos de ellos son la mejora de la libido y la calidad espermática (González et al, 2001; Cicero et al, 2001; Zheng et al, 2000). Sin embargo, gran parte de estos estudios han sido realizados en modelos animales. Los estudios en humanos son escasos y en general no han

sido confirmados, particularmente en sujetos afectados por trastornos en los parámetros seminales. Por lo que consideramos de trascendental importancia evaluar el papel biológico del *Lepidium meyenii* (Maca) sobre la espermatogénesis y la calidad espermática, en un grupo de varones entre 25 y 50 años de edad que estén afectados en su fertilidad, y poder así plantear la posibilidad de un tratamiento alternativo natural de bajo costo para la infertilidad masculina en nuestro medio.

III. ANTECEDENTES.

Diversos estudios han sugerido que la espermatogénesis y calidad seminal puede verse afectada por riesgos asociados al desempeño de una profesión. Entre las profesiones que se han asociado a alteraciones de la funcionalidad reproductiva se encuentran los conductores profesionales por una deficiente termorregulación testicular, y los agricultores por la exposición a diversas sustancias químicas con acción tóxica y/o disruptores endocrinos (Sellés et al, 2006).

Datos recientes indican que la concentración espermática está disminuyendo en los hombres de los países industrializados. La exposición a agentes tóxicos tales como bifenil policloronado (PCB), desechos radioactivos, pesticidas, agentes organoclorados y organofosforados, así como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHA) y disolventes usados en las pinturas durante periodos de tiempo prolongados pueden afectar a la calidad seminal en los trabajadores de estos sectores. No solo los agentes tóxicos pueden alterar la calidad seminal, el estrés, la exposición habitual a baños de vapor (saunas) y el uso de ropa ajustada también puede tener efectos nocivos en la producción espermática. La temperatura y la exposición a sustancias tóxicas en el ambiente pueden tener un efecto negativo en la espermatogénesis con consecuencias en la calidad seminal (Sellés et al, 2006).

Dentro de los efectos ambientales en el estudio sobre el "Efecto de la hipoxia hipobárica crónica intermitente en la espermatogénesis de ratas, post exposición en cámara hipobárica", donde un grupo de ratas fue expuesto a la cámara hipobárica simulando 4.600 metros sobre el nivel del mar, se comprobó un deterioro de los túbulos seminíferos y de las células de Leydig responsables de suministrar las hormonas masculinas necesarias para la diferenciación y proliferación de las células germinales (Bustos, 1979). Antecedentes informados de experimentaciones con conejos y gatos a 4.000 msnm señalan que se observó cese del proceso gametogénico, con ausencia de elementos germinales a nivel

tubular y presencia de un gran número de células de Sertoli. No obstante, las células de Leydig se presentaron inalteradas. Adicionalmente, se observó ausencia de espermatogonias y espermatocitos, asociada a una disminución del peso corporal. Por otra parte, en carneros expuestos a 3.500 msnm se encontró azoospermia y oligospermia severa con un elevado porcentaje de teratospermia y disminución de la motilidad espermática (Cikutovic, 2005).

Para varios autores, estos resultados sugieren daño en estados tempranos de la espermatogénesis, quienes infieren, además, alguna acción del fenómeno a nivel epididimario. Los resultados obtenidos por Monge et al, permitieron postular que la infertilidad en la altura radica fundamentalmente en el macho, es decir, habría una acción diferencial respecto al sexo. La exposición de ratas hembra a 6.000 msnm, por 5 meses, demostró que el ciclo no se ve afectado y los ovarios aparecen normales. A presiones atmosféricas menores, por 14 a 20 días de exposiciones discontinuas, aparecen algunos folículos ováricos degenerados (Gordon et al, 1943; Moore y Price ,1948). Los estudios realizados a este respecto en simios y en el hombre son escasos y en su totalidad muestran una alteración en la función reproductora, analizada por medio del examen de semen, antes, durante y después de la exposición a la altura. Estas alteraciones se expresan por una disminución de la motilidad espermática, alteración de la morfología espermática con un incremento de formas anormales y alteraciones en la bioquímica seminal (Saxena 1995; McGrady 1984; Gómez y Johnson 1970). Investigaciones más recientes han centrado su atención en la identificación de factores que, a nivel testicular y epididimario, mantienen la homeostasis del oxígeno, preservando el epitelio y los espermios de los efectos de la hipoxia (Erkkila et al 2003; Depping et al 2004; Palladino et al 2004). En humanos llevados a 4.620 msnm, por 7 días, se encontró un gran porcentaje de formas espermáticas anormales con motilidad disminuida y variaciones en los valores de fructosa. El pH se encontró elevado, en tanto los valores de ácido cítrico se mostraron dentro de lo normal (García-Hjarles 1989).

Entre los estudios que buscan solucionar este problema está el uso de plantas medicinales: en el trabajo realizado por Gonzáles G. et al: “Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) roots on spermatogenesis of male rats” , cuyo objetivo fue determinar el efecto de la administración oral del extracto acuoso de la raíz de *Lepidium meyenii* (Maca) en la espermatogénesis de ratas macho adultas, las ratas recibieron 66,7 mg/mL del extracto dos veces al día por 14 días consecutivos; se pudo evidenciar que este tratamiento aumenta el peso de los testículos y epidídimo pero no así el peso de las vesículas seminales. La longitud y la frecuencia de las estadios IX-XIV en los túbulos seminíferos, donde ocurre la mitosis, fueron incrementados, mientras que los estadios I –VI se redujeron en las ratas tratadas con *Lepidium meyenii*. En conclusión, la raíz de *Lepidium meyenii* revitaliza la espermatogénesis por acción en las estaciones IX – XIV (Gonzales et al, 2001).

En otro estudio realizado por Gonzáles y col. sobre “*Lepidium meyenii* (Maca) improved semen parameters in adult men” se determinó el efecto del tratamiento oral, mediante la administración de comprimidos de *Lepidium meyenii* (Maca), de 1500 o 3000 mg/día durante 4 meses, sobre el análisis seminal en nueve varones adultos normales con edades de 24 - 44 años. El análisis seminal fue realizado según las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS). También las hormonas: Hormona Luteinizante (LH), Hormona Folículo Estimulante (FSH), Prolactina (PRL), Testosterona (T) y Estradiol (E2) fueron medidos en el suero antes y después del tratamiento. Los resultados demostraron que el tratamiento con Maca provocó un incremento en el volumen seminal, en el número de espermatozoides por eyaculación y en la motilidad de los espermatozoides. Los niveles de hormonas en el suero no fueron modificados con el tratamiento de Maca, por lo que se concluyó que el tratamiento con Maca mejora la producción y la motilidad de espermatozoides por un mecanismo no relacionado con LH, FSH, PRL, T y E2 (Gonzales et al, 2001).

Otro trabajo realizado también por Gonzáles GF. y col , “ Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) on sexual desire and absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men”, cuyo objetivo fue determinar si el efecto sobre el deseo sexual se debía a cambios en los niveles de testosterona y /o estradiol en el suero de varones adultos sanos comprendidos entre la edad de 21 y 56 años a los cuales se les administró dosis de 1500 mg y 3000 mg de Maca . Los niveles séricos de la hormona luteinizante (LH), la hormona folículo estimulante (FSH), prolactina, 17 alfa hidroxiprogesterona, testosterona y 17 beta estradiol fueron medidos antes y las 2, 4, 8 y 12 semanas del tratamiento con el placebo o con Maca. Los resultados de este estudio demostraron que *Lepidium meyenii* (Maca) administrada por vía oral, en comprimidos, durante 12 semanas tienen un efecto benéfico en el deseo sexual en varones adultos sanos. También se demostró que este efecto de la Maca en el deseo sexual es independiente de algún efecto sobre la ansiedad y/o depresión. Además en este estudio la mejora del deseo sexual no se asocia con ningún incremento en los niveles en suero de testosterona o estradiol (Gonzales et al, 2002).

IV. JUSTIFICACION.-

Para enfrentar los problemas de infertilidad se han buscado muchas alternativas terapéuticas entre convencionales y naturales, dirigidas a resolver problemas en la espermatogénesis, la calidad espermática y el deseo sexual. En el campo de la medicina alternativa, las culturas locales han recurrido a elementos que ofrece la naturaleza, con éxitos ostensibles revelados tanto por la medicina tradicional como por reportes científicos en aspectos concretos de la biología reproductiva.

Uno de los productos naturales de mayor prestigio y popularidad que se tiene en este campo, es el tubérculo *Lepidium meyenii* (Maca), que desde tiempos antiguos ha sido usado por la cultura alto andina tanto para resolver los problemas de fertilidad que se presentan en la población, como para incrementar la fertilidad/fecundidad del ganado con objeto de aumentar su productividad.

En el caso de la administración de Maca a varones de diversas edades, existen varios reportes que muestran un efecto francamente estimulante, particularmente en la espermatogénesis. En modelos animales experimentales, este producto muestra la misma actividad junto a un incremento en la capacidad y vigor sexual, incluyendo el aumento del peso de los testículos y el desarrollo de los túbulos seminíferos. También se ha observado un incremento drástico de la actividad sexual incluyendo un aumento en la función eréctil. Tal incremento es independiente del incremento del vigor físico y es particularmente evidente en los trastornos espermatogénicos de la altura.

Por lo tanto, lo que se pretende lograr con este trabajo es conocer los efectos de la Maca sobre la espermatogénesis y la calidad espermática ya que de encontrarse alguna mejoría en alguno de estos parámetros con el consumo de la Maca, dicha planta sería un recurso terapéutico natural de elevadas perspectivas de uso para aquellos hombres que se ven afectados en su fertilidad, por la

ausencia del riesgo de afectar a otros órganos como efecto de la inducción de cambios hormonales que entrañan peligro tal como ocurre con otros productos farmacológicos, por su bajo costo y accesibilidad en nuestro medio.

V. MARCO TEORICO.

A. SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO.- El sistema genital masculino está constituido por dos testículos suspendidos en el escroto, conformado por un sistema intratesticular y otro extratesticular de conductos genitales asociados a glándulas, y el órgano copulador, el pene. Los testículos son los encargados de la formación de los gametos masculinos, conocidos como espermatozoides, así como de la síntesis, el almacenamiento y la liberación de la hormona masculina testosterona. Las glándulas asociadas al sistema reproductor masculino son las vesículas seminales que son pares, la próstata que es única, y las dos glándulas bulbouretrales (de Cowper). Estas glándulas producen el plasma seminal que constituye la fracción no celular del semen, que no solo nutre a los espermatozoides, sino que también proporciona un vehículo líquido para su transporte en el interior del sistema reproductor femenino. El pene tiene una función doble: descarga al semen en las vías reproductoras femeninas durante la copulación, y sirve como conducto de la orina desde la vejiga hacia el exterior (Gartner, 1997).

1. TESTICULO.- Los testículos son órganos pares situados fuera de la cavidad abdominal, en una bolsa de piel altamente especializada, denominada escroto, lo que significa que se mantienen a temperatura de alrededor de 2 - 3° C por debajo de la temperatura corporal; esta temperatura más baja es esencial para la espermatogénesis normal (Stevens y Lowe, 1995).

Cada testículo del varón maduro es de forma oval, redondeado y de aproximadamente 4 cm de largo, 2 a 3 cm de ancho y 3 cm de grosor. Durante la embriogénesis el testículo se desarrolla en el retro peritoneo a nivel de la pared posterior de la cavidad abdominal y conforme desciende hacia el escroto, se lleva con él una porción de peritoneo. Esta bolsa peritoneal externa, la túnica vaginal, forma una cavidad serosa que rodea parcialmente a la cara antero lateral de cada

testículo, lo que permite cierto grado de movilidad dentro del escroto (Gartner, 1997).

Los testículos están rodeados por una cápsula de tejido conectivo denso de distribución irregular llamada túnica albugínea. Inmediatamente por debajo de esta capa se encuentra la túnica vascular formada por tejido conectivo laxo que irriga al testículo. La cara posterior de la túnica albugínea es un poco más gruesa, y forma el mediastino del testículo, sitio desde cual salen tabiques de tejido conectivo que subdividen a cada testículo en aproximadamente 250 compartimientos intercomunicados y de forma piramidal llamados lobulillos testiculares.

Cada lobulillo tiene uno a cuatro túbulos seminíferos de fondo ciego, rodeados por tejido conectivo laxo muy innervado y vascularizado que se deriva de la túnica vascular. Dispersos entre estos túbulos, existen conglomerados de células endocrinas, las células intersticiales (de Leydig) que son las encargadas de la secreción de testosterona.

Los espermatozoides se producen en el epitelio de los túbulos seminíferos. Estos entran por unos conductos rectos cortos que conectan cada lóbulo del conducto seminífero con la red testicular (rete testis) que es un sistema de espacios en forma de laberinto ubicado en el mediastino del testículo. Los espermatozoides dejan la red testicular a través de 10 a 20 túbulos cortos, los conductillos eferentes, para entrar al conducto del epidídimo. Juntos los conductos eferentes y los del epidídimo constituyen el epidídimo propiamente dicho (Gartner, 1997).

El riego vascular de cada testículo se deriva de la arteria testicular, que desciende con el testículo hacia el escroto junto con el conducto deferente. La arteria testicular emite varias ramas antes de atravesar la cápsula testicular para formar los elementos vasculares intratesticulares. Los lechos capilares del testículo llegan a varias venas, el plexo de venas pampiniformes, que están envueltas alrededor de la arteria testicular. Arteria, venas y conducto deferente, forman en conjunto el

cordón espermático, que pasa por el conducto inguinal desde el abdomen hacia el escroto. La sangre del plexo de las venas pampiniformes es más fría que la de la arteria testicular, y reduce la temperatura del riego arterial y forma, de esta manera, un sistema de contracorriente para el intercambio de calor. De esta manera ayuda a conservar la temperatura de los testículos unos grados más abajo que la temperatura corporal. A esta temperatura más baja (35° C) los espermatozoides se desarrollan normalmente, en tanto que los que se desarrollan a temperatura corporal no lo hacen (Gartner, 1997).

2. TÚBULOS SEMINÍFEROS.- Son una serie de túbulos especializados en la producción de espermatozoides, muy plegados, huecos, de 30 a 70 cm. de largo y de 150 a 250 μm de diámetro, rodeados por una extensa red capilar. En ambos testículos hay aproximadamente 1000 túbulos seminíferos que, en conjunto, alcanzan una longitud aproximada de 500 m.

Su pared está compuesta por una capa delgada de tejido conectivo, la túnica propia o propria, y un epitelio seminífero grueso. La túnica propia y el epitelio seminífero están separados el uno del otro por una bien desarrollada lámina basal. El tejido conectivo consiste principalmente en grupos intercalados de fibras de colágena del tipo I con varias capas de fibroblastos. (Gartner, 1997).

El epitelio seminífero, conocido también como epitelio germinal, tiene varias capas de espesor y está formado por dos tipos celulares, las células de Sertoli y las espermatogénicas. Estas últimas se encuentran en diversas etapas de maduración.

a. Células de Sertoli.- Son células cilíndricas o cilíndricas altas que tienen en sus paredes laterales gran cantidad de plegaduras, por lo que sus límites laterales no pueden identificarse en la microscopía de luz. Su membrana apical presenta gran cantidad de pliegues que se proyectan hacia la luz de los túbulos

seminíferos. Estas células tienen un núcleo de ubicación basal con un gran nucleolo central.

La ultraestructura revela que el citoplasma de las células de Sertoli está repleto de retículo endoplásmico liso (REL), pero tienen poco retículo endoplásmico rugoso (RER). Tiene también gran cantidad de mitocondrias, un bien desarrollado aparato de Golgi y numerosas vesículas que corresponden al complejo endolisosomal. El citoesqueleto es muy abundante, lo que indica que la función de esta célula consiste en brindar sostén estructural para el desarrollo de los gametos.

Las membranas laterales contiguas de las células de Sertoli forman uniones ocluyentes entre ellas, y subdividen a los túbulos seminíferos en dos compartimientos concéntricos. El compartimiento basal es más delgado y está ubicado basalmente en relación con las uniones ocluyentes y rodeado por una zona más amplia, el compartimiento luminal. Estas zónulas ocluyentes establecen una barrera hematotesticular que aísla el compartimiento luminal de las influencias del tejido conectivo cercano, y protege por tanto a los gametos en desarrollo contra el sistema inmunológico. Como la gametogénesis se inicia después de la pubertad, el sistema inmunológico podría considerar “extrañas” a las nuevas células germinales diferenciadas (Gartner, 1997).

Las células de Sertoli tienen las siguientes funciones:

- Sostén nutricional y físico de las células germinales en desarrollo.
- Fagocitosis del citoplasma eliminado durante la espermiogénesis.
- Establecimiento de una *barrera hematotesticular* mediante formación de zónulas ocluyentes entre las células de Sertoli vecinas.
- Síntesis y liberación de la *proteína fijadora de andrógenos* (ABP), macromolécula que facilita el aumento de la concentración de testosterona en los túbulos seminíferos, adhiriéndola a ella e impidiendo su salida del túbulo.

- Síntesis y liberación (durante la embriogénesis) de la *hormona antimülleriana*, la cual suprime la formación del conducto mülleriano (precursor del sistema reproductor femenino) y estableciendo la “masculinidad” del embrión.
- Síntesis y secreción de *inhibina*, hormona que inhibe la liberación de la hormona folículo estimulante por la hipófisis anterior.
- Secreción de un medio rico en *fructuosa* para nutrir y facilitar el transporte de los espermatozoides hacia los conductos genitales.
- Síntesis y secreción de *transferrina testicular*, apoproteína que acepta hierro de la transferrina sérica y lo lleva a los gametos en proceso de maduración.

b. Células espermatogénicas.- La mayor parte de las células que estructuran al grueso epitelio consisten en células espermatogénicas en varias etapas de maduración. Algunas de estas células, las espermatogonias, se encuentran en el compartimiento basal, en tanto que la mayoría de las células en desarrollo (espermatoцитos primarios y secundarios, espermátides y espermatozoides) se ubican en el compartimiento luminal. Las espermatogonias son células diploides que entran en mitosis para formar más espermatogonias, así como espermatoцитos primarios, mismos que emigran desde la porción basal hacia el compartimiento luminal. Los espermatoцитos primarios entran en la primera división meiótica para formar espermatoцитos secundarios, que a su vez entran en la segunda división meiótica para formar células haploides conocidas como espermátides. Estas células haploides se transforman en espermatozoides (células maduras) al eliminar parte de su citoplasma, rearreglar sus organitos y formar un flagelo (Gartner, 1997).

c. Espermatogénesis.- Es el proceso de maduración que se divide en tres fases: espermatogénesis, meiosis y espermiogénesis.

1) Espermatocitogénesis: Las células madre (espermatogonias) sufren una mitosis para producir no sólo más espermatogonias, sino también células que se diferencian dando origen a espermatoцитos primarios.

En el hombre, las espermatogonias pueden dividirse en tres grupos según su aspecto nuclear: células de tipo A oscuras (Ad), células de tipo A pálidas (Ap) y células de tipo B (Stevens y Lowe, 1995).

Las espermatogonias oscuras del tipo A son pequeñas (12 μm de diámetro), con forma redondeada. Tiene un núcleo oval (aplanado) con abundante heterocromatina, lo que otorga un aspecto más denso al núcleo (Gartner, 1997).

Se cree que las espermatogonias del tipo Ad son las células madre del sistema, y que su división mitótica produce más células del tipo Ad y algunas células del tipo Ap, que se replican mediante nuevas mitosis formando agregados de células hijas unidas entre sí por puentes citoplasmáticos.

Las espermatogonias claras del tipo A son idénticas a las oscuras con excepción de su núcleo, que en este caso es oval y claro ya que contiene gran cantidad de eucromatina; tiene pocos organitos entre ellos mitocondrias, un aparato de Golgi limitado, un poco de RER y numerosos ribosomas libres. La testosterona induce a estas células a proliferar y dar origen, por mitosis, a espermatogonias pálidas del tipo A y a espermatogonias del tipo B.

Las espermatogonias del tipo B son muy parecidas a las claras del tipo A, pero generalmente su núcleo es redondo más que aplanado. Estas células originan por mitosis espermatocitos primarios (Stevens y Lowe, 1995).

Los espermatocitos primarios replican su ADN inmediatamente después de su formación (es decir; son $4n$). La formación del espermatocito primario marca el final de la espermatocitogénesis (Gartner, 1997).

2) Meiosis: Tan pronto como se forman los espermatocitos primarios, emigran desde el compartimiento basal hacia el luminal. En su emigración entre las células de Sertoli ayudan también a la formación de la zónula ocluyente de las células de

Sertoli y conserva, de este modo, la integridad de la barrera hematotesticular. Los espermatocitos primarios son las células más grandes del túbulo seminífero. Tienen un gran núcleo vesiculoso en el que se observan los cromosomas en diversas etapas de condensación. Poco después de su formación, los espermatocitos primarios duplican sus cromosomas para obtener un contenido de DNA $4N$ con un número diploide de cromosomas. Durante la primera división meiótica, el contenido de DNA se divide a la mitad (DNA $2N$) en cada célula hija, y el número cromosómico se hace haploide. Durante la segunda división meiótica el contenido de DNA en cada nueva célula hija se reduce a $1N$, y sigue siendo haploide (Stevens y Lowe, 1995).

Durante la meiosis, además de la reducción cromosómica a la mitad, se produce el “crossing-over” o intercambio génico entre los cromosomas homólogos heredados del padre y de la madre. El intercambio génico tiene lugar durante la fase paquiténica de la profase I. En la fase anterior, la de zigotene, se produce el apareamiento de cromosomas homólogos de una forma muy precisa gracias a una estructura, los complejos sinaptinémicos que permiten el intercambio de genes alelos. La rotura del DNA y su reparación son aspectos importantes dentro del proceso meiótico. En la profase I se distinguen, por este orden, los estadios de leptotene, zigotene, paquitene, diplotene (se separan los cromosomas) y diacinesis (Simon, 2003).

En la metafase I, el par de cromosomas se alinean el plano ecuatorial. Los integrantes de par emigran hacia los polos opuestos de la célula en la anafase I, y las células hijas se separan (aunque persiste un puente citoplasmático), lo que produce dos espermatocitos secundarios durante la telofase I.

Como los cromosomas se segregan en la anafase, el cromosoma X y el Y se distribuyen al azar en espermatocitos secundarios diferentes, y como resultado se producen unos espermatozoides que llevan el cromosoma X y otros el Y. Por este motivo, los espermatozoides son los que determinan el sexo del futuro embrión.

Los espermatocitos secundarios son células relativamente pequeñas y, como tienen una vida muy breve, no se observan con facilidad en el epitelio de los túbulos seminíferos. Estas células que contienen DNA 2N, no replican sus cromosomas; entran rápidamente en la segunda división meiótica, y forman dos espermátides haploides (DNA 1N) (Gartner, 1997).

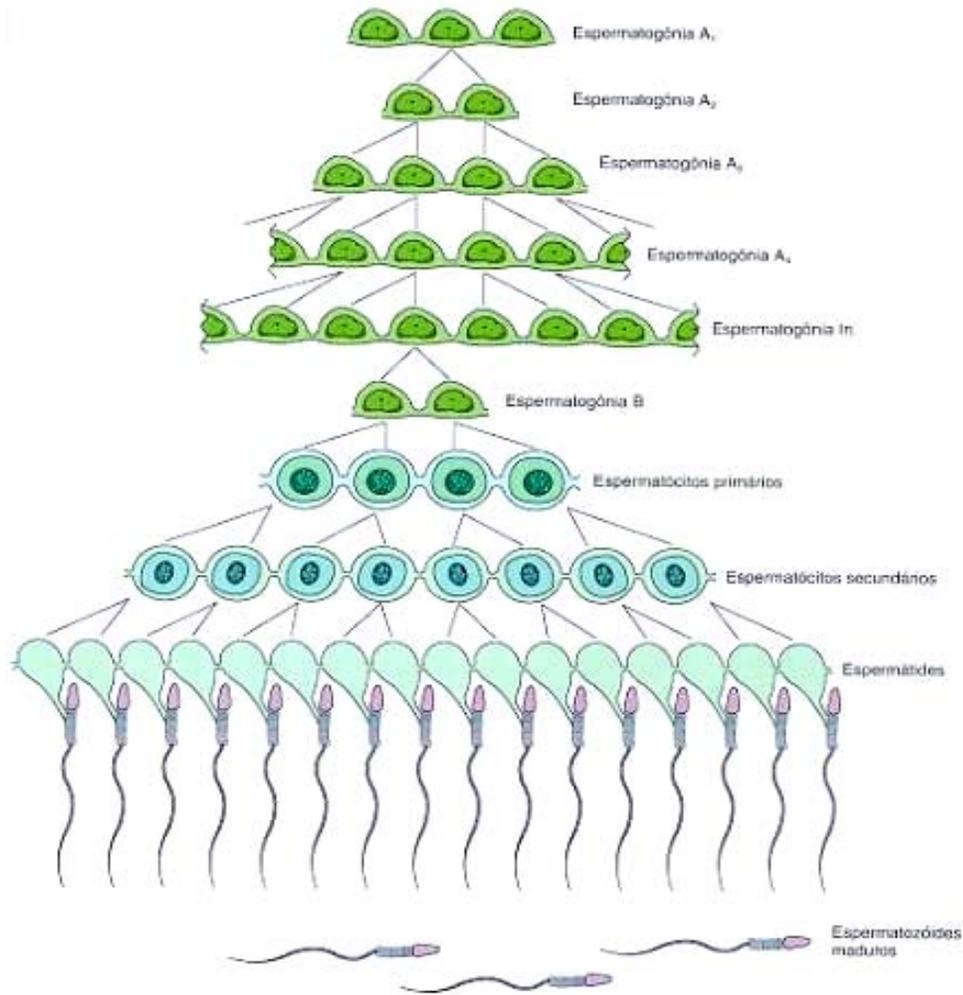


Figura 1. Esquema de la Espermatogénesis.

Fuente: Gartner, L. y Hiatt, J. **Histología: Texto y Atlas**, 1997. p 430

3) Espermiogénesis: las espermátides son pequeñas y haploides (8 μ m de diámetro). Todas las espermátides derivadas de una espermatogonia pálida del tipo A están unidas por un puente citoplasmático. Estas células tienen un

abundante RER, muchas mitocondrias y un complejo de Golgi bien desarrollado. Durante su transformación en espermatozoides, acumulan enzimas hidrolíticas, rearreglan sus organitos y los reducen en número, forman un flagelo y un esqueleto asociado y eliminan citoplasma. Este proceso de espermiogénesis esta subdividido en cuatro fases: fase de Golgi, fase de caperuza o cubierta, fase acrosomal y fase de maduración.

a) En la **fase de Golgi** las enzimas hidrolíticas se forman en el RER, se modifican en el aparato de Golgi y se empacan en la cara *trans* del Golgi como pequeños gránulos preacrosomales unidos a la membrana celular. Estos gránulos se fusionan entre sí, y forman una vesícula acrosomal (Stevens y Lowe, 1995).

Esta vesícula aumenta de tamaño, y su localización marca lo que será el polo anterior del espermatozoide. Los dos centriolos migran hacia el polo opuesto (posterior) de la espermátide, de forma que el centriolo distal queda alineado en un ángulo recto con la membrana celular. A continuación se inicia la formación del complejo axonémico de la cola del espermatozoide.

b) En la **fase de caperuza**, la vesícula acrosómica cambia de forma para englobar la mitad anterior del núcleo y convertirse en la caperuza acrosómica. La membrana nuclear situada por debajo de la caperuza acrosómica sufre un engrosamiento y pierde sus poros, y la cromatina nuclear se vuelve más condensada.

c) En la **fase acrosómica**, el núcleo cada vez más denso se aplana y se alarga; pueden identificarse un polo anterior, cubierto por la caperuza acrosómica, y un polo posterior, estrechamente relacionado con el complejo axonémico en desarrollo. Paralelamente al cambio de forma del núcleo, el citoplasma que se encuentra entre la caperuza acrosómica y la membrana celular anterior migra hacia la parte posterior de la célula.

Toda la célula se orienta de tal modo que el polo anterior queda incluido en la superficie luminal de la célula de Sertoli, apuntando a la base del túbulo seminífero; el polo posterior, de la espermátide, rico en citoplasma, protruye en la luz tubular. Al mismo tiempo una vaina de microtúbulos se extiende desde la parte posterior de la caperuza acrosómica hacia la cola en desarrollo, constituyendo la denominada manchette o manguito.

Los centriolos que han migrado hacia la zona posterior, forman el cuello del espermatozoide en desarrollo, que es la porción que conecta la cabeza (que contiene el núcleo y la caperuza acrosómica) con la cola en desarrollo. Un centriolo continúa sintetizando el complejo axonémico de la cola del espermatozoide, produciendo un complejo tubular regular formado por dos microtúbulos centrales rodeados por un anillo de nueve dobletes. En la zona del cuello se producen nueve fibras densas que se extienden distalmente hacia la cola, alrededor de los microtúbulos del complejo axonémico.

Se produce una agregación de mitocondrias prominentes en el cuello y por debajo de él, para rodear a las nueve fibras densas; esto da origen al segmento denominado segmento medio. Las mitocondrias terminan bruscamente en un anillo que separa al segmento medio de las porciones principales de la cola (el segmento principal y el segmento final) (Stevens y Lowe, 1995).

d) La **fase de maduración** se caracteriza por la eliminación del citoplasma sobrante, en especial del cuello y del segmento medio, y su fagocitosis por parte de las células de Sertoli. Los espermatozoides, aún inmaduros, se separan entonces de la superficie de la célula de Sertoli y quedan libres en la luz del túbulo seminífero, hecho que señala el final de la espermiogénesis. Los gametos masculinos, inmaduros, son modificados posteriormente en los sistemas de conductos que los llevan hacia el pene.

La duración de la espermatogénesis, desde la espermatogonia de tipo Ad hasta la liberación del espermatozoide inmaduro, es de unos 70 días (Stevens y Lowe, 1995).

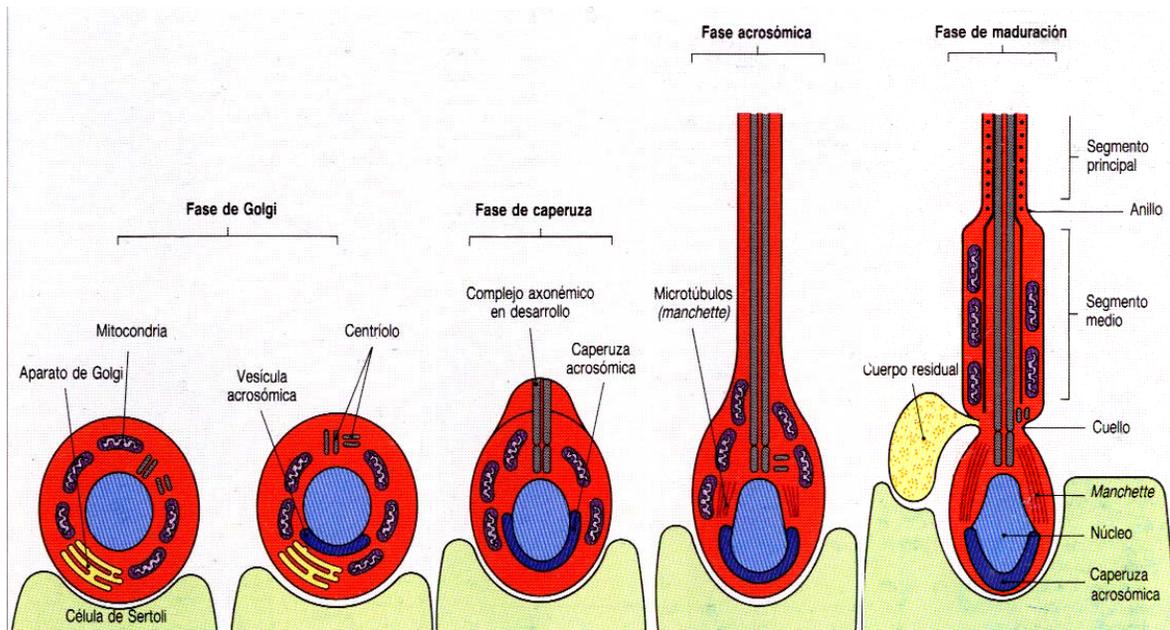


Figura 2. Fases de la Espermiogénesis.

Fuente: Stevens, A. Lowe, J.S. **Texto y Atlas de Histología**, 1995. p 309

3. ESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE.- Los espermatozoides producidos por la espermiogénesis son células alargadas de aproximadamente 65 μm de largo. Cada uno está compuesto por una cabeza que guarda al núcleo y una cola que corresponde a la porción más larga (Gartner, 1997).

a. Cabeza del espermatozoide.- La cabeza aplanada de los espermatozoides mide aproximadamente 5 μm de largo y está rodeada por el plasmalema. Esta ocupada por masa electrodensa que corresponde al núcleo, por los 23 cromosomas y por el acrosoma, que rodea parcialmente a la cara anterior del núcleo. El acrosoma entra en contacto con la membrana celular anterior del espermatozoide y guarda varias enzimas, como neurominidasa, hialuronidasa, fosfatasa ácida, arilsulfatasa y acrosina (proteínas semejantes a la tripsina) (Gartner, 1997).

Las enzimas acrosómicas son liberadas cuando el espermatozoide entra en contacto con el óvulo, facilitando la penetración de la cabeza nuclear del espermatozoide en la corona radiata y la zona pelúcida (Stevens y Lowe, 1995).

b. Cola del espermatozoide.- Esta estructura del espermatozoide se subdivide en cuatro regiones: cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal. El plasmalema de la cabeza se continúa con la membrana plasmática de la cola.

1) El **cuello** mide aproximadamente 5 μm de largo, y conecta a la cabeza con el resto de la cola. Esta compuesto por un arreglo cilíndrico de nueve columnas de la pieza conectora que rodea a los dos centriolos, uno de los cuales se fragmenta. Las superficies posteriores de las densidades cilíndricas recontinúan con las nueve fibras densas externas.

2) La **pieza intermedia**, de unos 5 μm de largo, se ubica entre el cuello y la pieza principal. Se caracteriza por la presencia de una cubierta de mitocondrias que envuelve a las fibras densas externas y al axonema de ubicación más central. La pieza intermedia termina en el anillo, estructura densa a la que se adhiere el plasmalema y previene el desplazamiento caudal de la cubierta mitocondrial. También a nivel del anillo terminan dos de las nueve fibras densas; las siete restantes se continúan hacia la pieza principal (Gartner, 1997).

3) La **pieza principal** es el segmento más largo de la cola, mide cerca de 45 μm de largo y se extiende desde el anillo hasta la pieza final. El axonema de la pieza principal se continúa con el de la pieza intermedia. El axonema está rodeado por las siete fibras densas externas, que recontinúan con las de la pieza intermedia y quedan rodeadas, a su vez, por la vaina fibrosa. La pieza principal disminuye de grosor cerca de la extensión caudal, sitio en el que terminan las fibras densas externas y la capa fibrosa, y se continúan con la pieza terminal.

4) La **pieza terminal**, que sólo mide 5 μm , está constituida por el axonema central rodeado por el plasmalema. El axonema se desorganiza en los últimos 0,5

a 1 um por lo que, en lugar de nueve dupletes y dos singletes, hay 20 microtúbulos individuales distribuidos al azar (Gartner, 1997).

4. CELULAS INTERSTICIALES DE LEYDIG.- Las regiones entre los túbulos seminíferos plegados están ocupadas por elementos de la túnica vascular rica en vasos sanguíneos, tejido conectivo laxo con algunos fibroblastos, células cebadas (mastocitos) y otros constituyentes normales del tejido conectivo. Dispersos entre la túnica vascular hay grupos de células endocrinas, las células intersticiales (de Leydig) que son las encargadas de la producción de testosterona.

Estas células de Leydig son poliédricas, miden unos 15 um de diámetro, poseen un solo núcleo (aunque en casos raros son binucleadas). Son típicas células productoras de esteroides que tienen mitocondrias con crestas tubulares, gran cantidad de retículo endoplásmico liso (REL) y un aparato de Golgi bien desarrollado. Estas células también presentan retículo endoplásmico rugoso (RER) y múltiples gotitas de lípidos, pero no tienen vesículas de secreción porque, al parecer, la testosterona se libera con la misma rapidez que con la que se sintetiza. Se encuentran también peroxisomas y lisosomas, así como pigmentos policrómicos, especialmente en sujetos de edad madura. En el citoplasma se encuentran, del mismo modo, proteínas cristalizadas, los llamados cristales de Reinke, que son característicos de las células intersticiales humanas (Gartner, 1997).

5. CONDUCTOS GENITALES.- Los conductos genitales se pueden subdividir en dos categorías: los localizados dentro los testículos (conductos genitales intratesticulares) y los localizados fuera de los testículos (conductos genitales extratesticulares).

a. Conductos genitales intratesticulares.- Los conductos genitales ubicados dentro de los testículos, que conectan a los túbulos seminíferos con el epidídimo, son los túbulos rectos y la red testicular o rete testis.

1) Túbulos rectos: Los túbulos rectos son cortos y, como su nombre indica, rectos y están comunicados con los túbulos seminíferos y conducen a los espermatozoides formados en éstos últimos túbulos hacia la red testicular. Están rodeados por las células de Sertoli en su primera mitad, cerca del túbulo seminífero, y por un epitelio cuboideo simple en la segunda mitad, cercana a la red testicular. Las células cuboideas tienen abundantes microvellosidades cortas y rechonchas y, por lo general, un flagelo único.

2) Red testicular: Consiste en un laberinto de espacios, tapizados por un epitelio cuboideo simple, dentro del mediastino testicular. Estas células cuboideas, que se parecen a las de los túbulos rectos, tienen también abundantes microvellosidades cortas y un solo flagelo.

b. Conductos genitales extratesticulares.- Hay cuatro tipos de conductos extragenitales asociados a cada testículo: los conductillos eferentes y el conducto del epidídimo, que en conjunto originan el epidídimo, el conducto deferente y el conducto eyaculador. El epidídimo secreta numerosos factores que facilitan la maduración de los espermatozoides por mecanismos no aclarados hasta la fecha (Gartner, 1997).

1) Conductillos eferentes: Los 10 a 20 conductillo eferentes son cortos y pequeños, y conducen a los espermatozoides desde la red testicular y perforan la túnica albugínea del testículo para hacerlos llegar al conducto del epidídimo. El epitelio simple que lo reviste consiste en grupos de células cuboideas no ciliadas que se alternan con otras cilíndricas ciliadas. Estos parches sucesivos de epitelio alto y bajo imparten un aspecto festoneado a la luz de los conductillos eferentes. Se cree que las células cuboideas tienen la función de resorber algo del líquido producido por las células de Sertoli que están en la luz, en tanto que los cilios de las células cilíndricas desplazan a los espermatozoides hacia el epidídimo.

El epitelio simple se apoya sobre una membrana basal que los separa del tejido conectivo laxo de la pared de cada conducto. Este tejido conectivo esta rodeado por una capa delgada de células de músculo liso dispuestas de manera circular (Gartner,1997).

2) Epidídimo (conducto del epidídimo): Cada conducto del epidídimo es un tubo largo y delgado, de 4 a 6 m de longitud, muy enrollado en un espacio de sólo 7 cm de largo en la cara posterior del testículo. Este conducto puede dividirse en tres porciones, cabeza, cuerpo y cola. La cabeza formada por 10 a 20 conductillos eferentes muy enrollados, se conserva igualmente enrollada y se continúa con el cuerpo, que conserva esta misma característica. La porción distal de la cola pierde este enrollamiento y se continúa con el conducto deferente. Los espermatozoides se almacenan en la cola del epidídimo durante un tiempo breve.

La luz del epidídimo esta cubierta por un epitelio pseudoestratificado compuesto por dos tipos celulares: células basales bajas y células principales altas. Las células basales bajas del epidídimo varían entre piramidales y poliédricas con núcleo redondo, y la acumulación de heterocromatina les imparte un aspecto denso. Su escaso citoplasma es relativamente claro y tiene muy pocos organitos. Se cree que estas células funcionan como células madre que restituyen a las células principales según las necesidades del conducto.

Las células principales altas del epidídimo tienen núcleos ovals irregulares con uno o dos nucleolos grandes, el núcleo de estas células es mucho más pálido que el de las células basales, y está ubicado en la base de la célula. Su citoplasma tiene gran cantidad de RER ubicado entre el núcleo y el plasmalema basal. El citoplasma también tiene un aparato de Golgi bien desarrollado de ubicación supranuclear; se observan del mismo modo, varios contornos de retículo endoplásmico liso, endolisosomas y cuerpos multivesiculares. La membrana apical manifiesta muchas vesículas pinocíticas y vesículas cubiertas en la base de

los abundantes estereocilios que se proyectan hacia la luz del epidídimo (Gartner, 1997).

Estas células tienen las siguientes funciones absorptivo-fagocitarias y de secreción:

- Absorción del líquido testicular iniciada en los conductillos eferentes.
- Fagocitosis y digestión de los espermatozoides degenerados y los cuerpos residuales.
- Secreción de glucoproteínas, ácido siálico y una sustancia denominada glicerilfosforicolina, que se cree desempeña un papel en la maduración de los espermatozoides, aunque no se conoce el mecanismo exacto. Las glucoproteínas se unen a las membranas de superficie de los espermatozoides, pero tampoco se conoce su función (Stevens y Lowe, 1995).

El epitelio del conducto del epidídimo está separado por una lámina basal de tejido conectivo subyacente. Lo rodea una capa de tejido muscular liso. Esta parte manifiesta contracciones peristálticas que ayudan al desplazamiento de los espermatozoides hasta el conducto deferente.

3) Conducto deferente (vas deferens): Cada conducto deferente es un tubo muscular grueso con una luz pequeña e irregular que lleva a los espermatozoides de la cola del epidídimo al conducto eyaculador.

El epitelio cilíndrico pseudoestratificado con estereocilios del conducto deferente es similar al del epidídimo, aunque las células principales son más pequeñas. Una membrana basal separa el epitelio del tejido conectivo fibroelástico subyacente (Gartner, 1997).

5) **Conducto eyaculador:** Cada conducto eyaculador es un túbulo corto y recto que entra en la sustancia prostática y la rodea. El conducto termina en el sitio en el que perfora la pared posterior de la uretra prostática en el montículo seminal, o verumontanum. La luz del conducto eyaculador está cubierta por epitelio cilíndrico simple. El tejido conectivo subepitelial está plegado. El conducto eyaculador no tiene músculo liso en su pared (Gartner, 1997).

6. **GLANDULAS GENITALES ACCESORIAS.-** El sistema reproductor masculino tiene cinco glándulas accesorias: las vesículas seminales pares, la próstata que es única y las dos glándulas bulbouretrales.

a. **Vesículas Seminales.-** Estas glándulas tubulares pares están muy enrolladas, y miden aproximadamente 15 cm de largo. Se encuentran a nivel de las paredes posteriores del cuello de la vejiga y de la próstata, y se unen con el ámpulo o ampolla del conducto deferente justamente por debajo de la próstata.

Su mucosa está muy contorneada, y forma estructuras semejantes a un laberinto en un fondo de saco en tres dimensiones; se abren en un punto central. Este punto o luz está cubierto por epitelio cilíndrico pseudoestratificado con células basales pequeñas y cilíndricas bajas.

Las células cilíndricas tienen muchas microvellosidades y un solo flagelo que se proyecta hacia la luz de la glándula. El citoplasma de estas células presenta RER, aparato de Golgi, muchas mitocondrias, algunos lípidos, pigmento lipocrómico y muchos gránulos de secreción. La altura de las células varía directamente con las concentraciones de testosterona en la sangre. El tejido conectivo subepitelial es fibroelástico y está rodeado por tejido muscular, distribuido como una capa interna circular y una capa externa longitudinal. Las capas de músculo liso están rodeadas, a su vez, por una capa de tejido conectivo fibroelástico (Gartner, 1997).

Por algún tiempo se creyó que las vesículas seminales almacenaban a los espermatozoides, ya que siempre hay algunos en su luz. Se sabe que esta glándula produce un material viscoso de color amarillo con gran cantidad de fructuosa, y que constituye el 70 % del semen. El color del semen se debe a un compuesto policromático secretado por la glándula (Gartner, 1997).

b. Próstata.- La próstata está formada por glándulas de secreción que desembocan en la uretra, la cual transcurre a través de su cuerpo. Estas glándulas y conductos están inmersos en una estructura de sostén por fibroblastos, colágeno y músculo liso.

Toda la próstata está rodeada por una cápsula fibrocolagenosa de la que surgen tabiques que se extienden hacia el cuerpo, dividiéndolo en lóbulos poco definidos. La próstata aumenta progresivamente de tamaño alrededor de los 45 años, y puede llegar a ser muy grande en los varones de edad avanzada (Stevens y Lowe, 1995). Las secreciones prostáticas forman parte del semen. Son un material seroso blanco rico en lípidos, enzimas proteolíticas, fosfatasa ácida, fibrolisina y ácido cítrico. Su formación, síntesis y liberación están reguladas por la dihidrotestosterona.

c. Glándulas bulbouretrales.- Las glándulas bulbouretrales, también conocidas como glándulas de Cowper, son pequeñas (3 a 5 mm de diámetro) y están ubicadas en la raíz del pene, exactamente en donde empieza la uretra membranosa. Estas glándulas producen un líquido viscoso que lubrica las paredes de la uretra. Estas son las primeras glándulas que excretan su material después de la erección del pene. Justo antes de la eyaculación se secreta el material prostático hacia la uretra, así como el semen con los espermatozoides que están en el ámpula del conducto deferente. La secreción prostática otorga al parecer movilidad a los espermatozoides. La última secreción sale de las vesículas seminales, que son las encargadas del aumento del volumen del

semen, y este líquido rico en fructuosa se utiliza para dar energía a los espermatozoides (Stevens y Lowe, 1995; Gartner, 1997).

El eyaculado, conocido como semen, tiene un volumen aproximado de 3 mL en el ser humano y está constituido por secreciones de las glándulas accesorias y por 200 a 300 millones de espermatozoides.

7. HISTOFISIOLOGIA DEL TESTICULO.- Las funciones más importantes del testículo son la producción de espermatozoides y la síntesis y liberación de testosterona. Entre los dos testículos producen aproximadamente 200 millones de espermatozoides por día, por un proceso calificado como secreción de tipo holocrina. Las células de Sertoli producen un líquido que actúa como nutriente y ayuda al transporte de los espermatozoides recién formados hacia los conductos genitales extratesticulares (Gartner, 1997).

La función testicular está regulada por una serie de sistemas de retroalimentación de bucle cerrado, con seis componentes principales: a) sistema nervioso central (SNC) extrahipotalámico, b) hipotálamo, c) hipófisis, d) testículos, e) órganos terminales sensibles a los esteroides sexuales y f) lugares de transporte y metabolismo de los andrógenos (Lavin, 2003)

a. FUNCIÓN HIPOTÁLAMO – HIPOFISARIO.-

1) Hipotálamo.-

a) Secreción pulsátil de GnRH: El hipotálamo es el centro integrador para regulación de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH). La GnRH se libera en forma de pulsos predeterminados hacia la circulación portal para estimular la síntesis y liberación de gonadotropinas hipofisarias. La frecuencia de los pulsos de liberación de GnRH es importante para determinar la relación entre

Hormona Luteinizante (LH) y Hormona Folículo Estimulante (FSH) liberadas hacia la circulación.

b) Regulación de GnRH: La síntesis y liberación de GnRH están reguladas por el SNC extrahipotalámico, los andrógenos circulantes y ciertas hormonas peptídicas circulantes, como prolactina, activina, inhibina y leptina. Los moduladores locales de la secreción de GnRH incluyen diversos neuropéptidos, catecolaminas, indolaminas, óxido nítrico, aminoácidos excitadores, dopamina, neuropéptido Y, polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) y corticoliberina. La testosterona (T), directamente a través de sus productos metabólicos, el Estradiol (E₂) y la dihidrotestosterona (DHT) ejercen un efecto inhibitor sobre la secreción de GnRH.

2) Hipófisis: La LH y la FSH son glucopéptidos producidos por las células gonadotrópicas de la hipófisis y se secretan con un patrón pulsátil. Su estructura básica consta de dos subunidades (α y β). Las subunidades α son idénticas en ambas gonadotropinas y la especificidad depende de la subunidad β .

a) La **LH** se une a receptores de la membrana superficial específicos y de alta afinidad en las células de Leydig. La unión se sigue de acontecimientos mediados por la proteína G, que estimulan la producción de Testosterona dentro de los testículos.

b) La **FSH** se une a receptores de las células de Sertoli y estimula la síntesis de un gran número de proteínas específicas, tales como proteína fijadora de andrógenos (ABP), inhibina, activina, activador de plasminógeno, γ -glutamyl transpeptidasa e inhibidor de proteína cinasa. La FSH, en conjunción con la testosterona producida por las células de Leydig, actúa sinérgicamente para estimular la espermatogénesis e inhibir la apoptosis de las células germinales.

c) Regulación de gonadotropinas: La liberación de gonadotropinas es regulada por la liberación pulsátil de GnRH. La regulación por retroalimentación de LH y FSH ocurre en la hipófisis por medio de la testosterona y sus productos metabólicos. La inhibina y la activina son glucoproteínas que participan en la regulación de la secreción de FSH. La inhibina B, producida por las células de Sertoli, entra en la circulación periférica e inhibe la secreción hipofisaria de FSH. La activina estimula la secreción de FSH y la espermatogénesis. Se cree que tanto la inhibina como la activina actúan localmente como reguladores paracrinós de la espermatogénesis (Lavin, 2003)

b. FUNCIÓN TESTICULAR.-

1) Síntesis y acción de hormonas esteroideas.-

a) Síntesis y secreción de Testosterona: Los testículos se componen de células intersticiales secretoras de esteroides (células de Leydig) y túbulos seminíferos que contienen células de Sertoli y células germinales. Bajo la regulación de la LH, las células de Leydig son la fuente principal de los aproximadamente 7 mg de testosterona producidos cada día. La síntesis de testosterona tiene lugar a través de las vías $\delta 4$ o $\delta 5$, siendo el paso limitante la conversión, inducible por LH, del colesterol en pregnenolona por la enzima P50sc (enzima encargada de la escisión de las cadenas laterales).

b) Proteínas de unión y transporte de Testosterona: La mayor parte de la testosterona se encuentra unida a la globulina de unión a hormonas sexuales (SHBG) o a albúmina, mientras que el 2% y el 3% permanece sin unirse (testosterona libre). La T libre y la unida a albúmina están disponibles para entrar en las células y, por tanto, se hace referencia a ellas como testosterona biodisponible. La síntesis hepática de SHBG está influida por varios factores fisiológicos y metabólicos.

Los esteroides sexuales son moduladores importantes de la síntesis de SHBG: los estrógenos estimulan, mientras que los andrógenos inhiben, la producción de SHBG. La relación estrógenos/andrógenos es un determinante importante de la síntesis hepática de SHBG.

Las hormonas Tiroideas influyen en las concentraciones de SHBG. Las cifras reducidas de tiroxina (T_4) o triyodotironina (T_3) disminuyen la SHBG, mientras que los estados hipertiroides se asocian a concentraciones altas de proteínas de unión (Lavin, 2003).

c) Conversión de Testosterona en E_2 y DHT: Un varón adulto produce alrededor de 40 mg de E_2 diarios. Las tres cuartas partes de esta cantidad derivan de la aromatización periférica de la Testosterona por la enzima Aromatasa y el resto se secreta directamente por los testículos. Prácticamente toda la DHT procede de la conversión periférica de Testosterona por la 5α -reductasa, sobre todo en la próstata. Así pues, la Testosterona actúa como una prohormona para E_2 y DHT.

d) Unión al receptor de Andrógenos: El gen del receptor de andrógenos está codificado en el brazo largo del cromosoma X y se expresa en los órganos sensibles a los andrógenos. El receptor de andrógenos es un receptor esteroideo típico, que consta de tres regiones principales: un sitio de unión esteroideo, un sitio de unión a ADN y una región reguladora que influye en la transcripción del ARN mensajero (mARN). El mismo receptor se une a Testosterona y con mayor afinidad a DHT. La unión Testosterona- receptor conduce al desarrollo de los genitales masculinos internos en el feto, así como la estimulación de la espermatogénesis. La unión a DHT es responsable del desarrollo y el mantenimiento de los genitales externos masculinos, la virilización y los caracteres sexuales secundarios. Tanto Testosterona como DHT ejercen retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la hipófisis para disminuir la liberación de LH (Lavin, 2003).

B. FERTILIZACION.- La fertilización tiene lugar por la unión exitosa entre un gameto masculino y uno femenino. Normalmente se produce a nivel del límite entre el tercio externo y el tercio medio de la trompa. A menos que esto ocurra, ambos gametos mueren en el lapso de horas. Mediante la fertilización, sobreviven; el ovocito es “activado” y los núcleos se unen para originar el genoma diploide (Cingolani, 2000).

Durante la eyaculación, un varón normal deposita en la cavidad vaginal un volumen de semen que oscila entre 2 y 6 mL, con una concentración de espermatozoides que varía de 50 a 250 x 10⁶ / mL. El plasma seminal coagula tras la eyaculación por la presencia de proteínas similares a la fibrina, pero normalmente licua dentro de los 45 a 60 minutos posteriores por la acción de proteasas provenientes de la secreción prostática. El plasma seminal, de pH alcalino, protege a los espermatozoides de las secreciones ácidas vaginales; esta protección es transitoria, y la mayor parte de los espermatozoides que quedan en la vagina reencuentran inmóviles dentro de las dos horas siguientes. Los espermatozoides, células móviles gracias al batido de su flagelo, escapan rápidamente del lago seminal y penetran en el útero por el orificio externo del conducto cervical (Cingolani, 2000).

La velocidad de desplazamiento normal es de 30 a 40 µm/seg, y se ha observado una relación directa entre este parámetro y la morfología normal del gameto. Por otra parte, existen evidencias de que el moco secretado por el cuello uterino actuaría como filtro funcional destinado a seleccionar a los espermatozoides de acuerdo con su calidad; en efecto, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales detectable en el moco cervical es significativamente mayor que en el eyaculado. Impulsados por su flagelo, los espermatozoides penetran en el ectocérvix siguiendo las lengüetas del moco cervical que emergen de aquél. Estas lengüetas se originan por la orientación paralela de las moléculas de mucina favorecida por el predominio estrogénico en el período fértil de la mujer y facilitan la migración de los espermatozoides.

La reducción del número de espermatozoides desde la vagina hasta las trompas es drástica: de un promedio de 200 a 300 millones de gametos aportados por la eyaculación, menos de 200 alcanzarán la zona circundante al ovocito. La pérdida mayor ocurre en la vagina por salida al exterior, por otra parte, en el mismo órgano sufren digestión enzimática o son fagocitados por células macrofágicas, y una cantidad más o menos significativa se pierde por salida hacia la cavidad peritoneal a través de las ampollas tubarias (Cingolani, 2000).

1. ACTIVACION ESPERMÁTICA: Cuando los gametos masculinos abandonan los túbulos seminíferos, son inmóviles, inmaduros y no tienen habilidad para fertilizar un ovocito. Estas características funcionales se adquieren durante el tránsito de los gametos por el tracto reproductor del macho y de la hembra. Tienen lugar una serie de procesos denominados genéricamente activación espermática, que incluyen cambios estructurales y funcionales de las células haploides y que siguen una secuencia cronológica determinada, que comprende maduración epididimaria, capacitación, motilidad hiperactividad y reacción acrosómica.

a. Maduración epididimaria: En el ser humano, los espermatozoides maduran durante su paso por el epidídimo; sin embargo, la relación funcional entre los gametos y las regiones sucesivas del epidídimo parece flexible y, por lo menos en esta especie, el epidídimo no desempeña un papel absolutamente esencial en el proceso de maduración.

Un cambio importante que ocurre en el gameto masculino durante el tránsito epididimario es la adquisición de motilidad. La incapacidad de los espermatozoides testiculares para desplazarse parece deberse, al menos en parte, a la inmadurez de su membrana y, por otro lado, a la carencia de sustancias como glicerofosforilcolina y proteína de motilidad progresiva (FMP del inglés *forward motility protein*), que se encuentran en el fluido epididimario. La incorporación de moléculas proteicas a la membrana espermática y su

reorganización durante esta etapa dan lugar a la formación de la denominada cubierta primaria.

Una vez eyaculado, el contacto con el plasma seminal aporta nuevas moléculas bioactivas (espermadésinas, factor descapacitante y otras) que conforman la cubierta secundaria. Ambas modifican la actividad funcional espermática y actúan como moduladores de las etapas que describiremos a continuación.

b. Capacitación: Este es un proceso que involucra una activación bioquímica del espermatozoide con alteración de sus propiedades metabólicas, lo cual permite su unión a la zona pelúcida ovular. Es un acontecimiento reversible y dependiente del calcio (Cingolani, 2000).

Si bien su base molecular no está completamente elucidada, el proceso consiste en la remoción de las cubiertas de la membrana espermática, lo que la hace sensible a señales provenientes del ovocito y del microambiente donde ocurre la fertilización. La capacitación comienza cuando los espermatozoides pasan a través del moco cervical. La red intrincada que posee este permite la remoción de moléculas que se encuentran en la superficie del gameto masculino y posibilita además la separación de todas las proteínas del plasma seminal.

Durante este proceso tienen lugar además cambios en la concentración iónica intracelular y en el metabolismo celular (incremento de actividad glucolítica), con aumento del consumo de oxígeno. Los materiales de cubierta que son removidos incluyen factores de descapacitación, proteínas con actividad inhibitoria de proteinasas y una proteína de origen epididimario que estabiliza al acrosoma (Cingolani, 2000).

c. Motilidad Hiperactivada: Se refiere a las modificaciones del patrón de desplazamiento que sufren los espermatozoides de algunas especies antes de que ocurra la reacción acrosómica y como paso previo a la fertilización. A

semejanza del anterior, este proceso es también reversible y dependiente del calcio. Estudios recientes revelaron que los espermatozoides humanos utilizados para inseminar ovocitos exhibieron una calidad de movimientos que no había sido descrita en esta especie: el desplazamiento es inicialmente lineal, pero luego muestran un batido vigoroso del flagelo (en forma de latigazo) y un desplazamiento lateral de la cabeza en figura de ocho.

El patrón de hiperactivación es influido por el microambiente que rodea a los espermatozoides y por su viscosidad. Existe una estrecha relación entre la habilidad del espermatozoide para exhibir motilidad hiperactivada y su capacidad para fertilizar ovocitos con zona pelúcida intacta.

d. Reacción Acrosómica: Es un proceso irreversible que se produce luego de completada la capacitación y una vez que el espermatozoide se pone en contacto con la zona pelúcida. Los cambios estructurales que ocurren durante la reacción acrosómica consisten básicamente en fusiones múltiples entre la membranas plasmática y acrosómica externa, con exposición de la membrana acrosómica interna y fenestraciones de ésta, lo cual permite la exocitosis del contenido acrosómico. Las enzimas liberadas (hialuronidasa, acrosina, etc.) facilitan la penetración espermática a través de la zona pelúcida.

En cuanto a la duración de la reacción acrosómica, se ha observado que cuando espermatozoides humanos capacitados son expuestos a fluido folicular, la fusión entre la membrana plasmática y la acrosómica externa se detecta a los 5- 10 segundos y luego la reacción se completa en los siguientes 3 minutos.

La reacción acrosómica puede ser provocada por determinados disparadores fisiológicos que se encuentran en la proximidad del ovocito, tales como fluido folicular, cúmulo prolífero, células granulosas y zona pelúcida. Existen evidencias de que la progesterona induce la reacción acrosómica. En el sitio de la fertilización

hay dos fuentes probables de progesterona: las células del cúmulo prolífero y el fluido folicular.

La integridad acrosómica es muy importante, ya que los espermatozoides sin acrosoma son incapaces de fertilizar ovocitos tanto *in vivo* como *in vitro* (Cingolani, 2000).

C. INFERTILIDAD DE LA PAREJA E INFERTILIDAD MASCULINA.- Una pareja fértil es una pareja apta para concebir, cuando una pareja ha concebido un hijo, es fecunda. 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 10 al 15 % de las parejas presentan 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 (Poirot, 2005).

En consecuencia, la exploración de la pareja y la búsqueda de las causas de hipofertilidad masculina son imperativas. El estudio del espermatograma 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 una etiología sospechosa en el espermatograma.

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 (Poirot, 2005).

1. ESTRATEGIA DE LA EXPLORACIÓN DE LA INFERTILIDAD MASCULINA:

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.

a. 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.

b. 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 una 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 una 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.

c. Pruebas Analítico-Clínicas de primera intención: El espermatograma es la primera etapa biopatológica de la exploración de la fertilidad masculina. Sólo este examen permite orientar hacia una participación masculina en la hipofertilidad de pareja o bien en confirmarla (Poirot, 2005).

El propósito de un análisis básico del semen es evaluar los parámetros descriptivos clásicos del eyaculado. Estos son, apariencia, licuefacción, viscosidad, pH, volumen, concentración espermática, número total de espermatozoides, motilidad espermática, morfología, aglutinación, así como la presencia de elementos celulares, como leucocitos o células germinales (Remohi, 1996).

1) Espermatoograma.- El semen normal es una combinación de espermatozoides suspendidos en las secreciones del testículo y epidídimo, y las secreciones de la próstata, vesículas seminales y glándulas bulbouretrales que se mezclan con aquella en el momento de la eyaculación. El producto final es un líquido viscoso denominado eyaculado.

Las mediciones del total de los espermatozoides eyaculados no pueden definir la capacidad fertilizante de aquellos pocos que llegan al sitio de la fertilización. Aún así el análisis de semen provee información esencial sobre el estado clínico del individuo (OMS, 2001).

Para llevar a cabo de forma rigurosa el estudio de una muestra de semen se deben seguir unos procedimientos lo más estandarizados posibles, con el fin de evitar variaciones entre diferentes análisis. En 1980, la Organización Mundial de la Salud dio las primeras directrices de cómo debía llevarse a cabo este estudio y de cuales serían los valores normales del semen (Remohi, 1996).

a) Volumen.- El volumen es un parámetro importante puesto que los valores bajos nos pueden orientar hacia una patología de vías excretoras (obstrucción, agenesia o eyaculación retrógrada). Cuando el volumen es elevado, se interpretan de distinto modo las disminuciones numéricas de los espermatozoides por el efecto diluyente del plasma seminal, en cuyo caso se puede hablar de una espermodilución. Se consideran valores de referencia los iguales o superiores a 2

mL. El término de hipospermia se reserva a los valores que están por debajo de 1,5 mL. El término de espermioconcentración se aplica cuando el número de espermatozoides es elevado, superiores a 250 000 000/mL , y el diluyente (plasma seminal) es bajo, inferior a 1,5 mL (Andolz, 1995). Este parámetro depende también de la condición afectiva en la relación sexual.

b) Aspecto.- El semen se comporta como cualquier líquido biológico puesto que numerosas sustancias pueden excretarse a través del eyaculado, como ocurre con algunos medicamentos. Sin embargo lo que tiene valor diagnóstico es la presencia de un contenido hemático, que confiere al eyaculado un color rojizo rutilante (lesión reciente o distal) u oscuro, de observación mucho más frecuente, que corresponde a sangre digerida (lesión antigua o proximal). La presencia de eritrocitos en el eyaculado se denomina hemospermia.

El aspecto blanco opalescente, se considera normal y a menudo se relaciona con el número de espermatozoides, es decir, cuando el número es bajo el aspecto se observa ligeramente transparente, e incluso transparente cuando existe un descenso celular muy importante o una ausencia de espermatozoides, azoospermia.

Un aspecto típico y muy peculiar es el nacarado, que unido a hipospermia, es sugestivo de agenesia de vías excretoras. El volumen en este caso, es inferior a 1 mL. Sin embargo, esta patología no es frecuente (Andolz, 1995).

c) Licuefacción.- Inmediatamente después de la emisión del semen se pone en marcha el mecanismo de la coagulación, dependiente de factores que se hallan en las vesículas seminales. Posteriormente comienza la fase de licuefacción, dependientes de factores que se originan en la próstata y en las glándulas de Cowper.

La licuefacción ocurre tras la coagulación, es decir, que de un estado de gel donde los espermatozoides se hallan atrapados entre las fibras de un coágulo mucoso y se encuentran en “letargo”, pasan a un medio líquido por la acción de los activadores del plasminógeno. Esta fase depende de la temperatura, es decir, ocurre con mayor prontitud a 37° C que a temperatura ambiente 20-25° C. Es importante el conocimiento de la fase de coagulación y licuefacción, que son independientes del concepto de viscosidad.

d) Viscosidad.- Una vez finalizada la fase coagulación y posteriormente la de licuefacción, que tienen lugar en el curso e 30 minutos (temperatura dependiente), es cuando realmente hay que valorar la viscosidad, puesto que al realizarlo en un momento anterior, se estará cometiendo un error en su valoración real. La viscosidad es fácilmente valorable; una vez homogeneizada la muestra se toma una alícuota mediante una pipeta Pasteur y se deja caer espontáneamente. Si la caída se produce gota a gota corresponde a una viscosidad normal. Si la caída se produce de forma continua, e incluso hay que ayudar en su proyección hacia el exterior, corresponde a una viscosidad aumentada.

Es difícil poder asegurar que el aumento de la viscosidad implique forzosamente una disminución de la fertilidad. La viscosidad puede ser variable en un mismo individuo, cuando se valoran muestras diferentes, pudiendo ser una condición transitoria (Andolz, 1995).

e) pH.- El valor de referencia está comprendido entre 7,2 y 8,0; no obstante, en la inmensa mayoría de los casos se encuentra entre 7,2 y 7,6. Valores de pH por encima de 8,0 sugieren procesos inflamatorios agudos de los órganos sexuales accesorios (próstata, vesículas seminales y/o epidídimos) o pueden ser debidos a defectos técnicos, como un excesivo tiempo en la valoración del pH o en la realización de su lectura. Por el contrario, los valores por debajo de 7,0 pueden sugerir procesos obstructivos de las vías excretoras, agenesia de las mismas o

procesos inflamatorios crónicos (próstata, vesículas seminales y/o epidídimos) (Andolz, 1995).

f) Motilidad.- La motilidad espermática constituye uno de los parámetros fundamentales para valorar la calidad del eyaculado. Esta depende tanto de factores intrínsecos (estructura del flagelo, actividad enzimática de la dineína), como de factores extrínsecos (composición bioquímica del medio extracelular en el que se encuentra el espermatozoide, la calidad del plasma seminal, moco cervical, etc.).

Los espermatozoides se forman en el testículo como resultado de un complejo proceso, la espermatogénesis, durante el cual ocurre una serie de importantes cambios citológicos, morfológicos y estructurales que tienen como finalidad que los espermatozoides estén perfectamente capacitados para cumplir su objetivo, fecundar el ovocito. Entre los más interesantes, al margen de los cambios nucleares, están la pérdida de volumen citoplasmático y alargamiento de la célula, así como modificaciones de la estructura de las mitocondrias que acabarán situándose en la pieza media del espermatozoide maduro, desde donde aportarán la mayor parte del Adenosin-Trifostato (ATP) que se utiliza para los procesos de motilidad que consumen energía, y parte de ella se utiliza para mantener la integridad de su membrana (López et al., 2003; Salisbury, 1978)

Se conoce también que, los cambios en la concentración intracelular de Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) juegan un papel determinante en la motilidad espermática. Así, el movimiento flagelar se activa cuando el espermatozoide es liberado del epidídimo caudal; sin embargo, este proceso se hace mucho más aparente después de la inseminación en donde un proceso llamado *hiperactivación* confiere al espermatozoide la capacidad de desprenderse de la mucosa del oviducto y penetrar la zona pelúcida del óvulo (Suarez, 1996). Durante la hiperactivación ocurren fluctuaciones en la $[Ca^{2+}]_i$, principalmente en la región media del flagelo

del espermatozoide, las cuales se asocian a oscilaciones en la frecuencia del ciclo o movimiento flagelar (Suarez and Dai, 1995).

En el término "motilidad" se incluyen frecuentemente dos conceptos diferentes: la "motilidad lineal activa" y el porcentaje general de espermatozoides dotados de movimiento. En la valoración de la motilidad espermática hay un aspecto cuantitativo, o porcentaje de espermatozoides con motilidad, y un aspecto cualitativo, o velocidad y direccionalidad de los espermatozoides móviles. La evaluación de la motilidad espermática a través de la observación directa con el microscopio óptico adolece de un presupuesto básico para la correcta realización de un análisis: la objetividad. Es evidente que calcular el porcentaje de espermatozoides móviles de una preparación microscópica no es fácil: los espermatozoides atraviesan el campo óptico con diferentes patrones de movilidad (Padron, 1998).

En años recientes se han desarrollado nuevas técnicas que permiten medir objetivamente y con medios computadorizados las características del movimiento de los espermatozoides, pero los equipos no están disponibles en muchos centros, pues son costosos. Por esta razón, la OMS recomienda un sistema simple de medir la movilidad espermática sin necesidad de equipos complejos, para esto la movilidad se divide en 4 categorías, a saber: a) movilidad progresiva rápida (grado III), b) movilidad progresiva lenta, lineal o no (grado II), c) movilidad no progresiva (grado I) y d) inmovilidad (grado 0) (espermatozoides inmóviles).

Se considera normal cuando el 50 % de los espermatozoides o más presentan una movilidad progresiva (grado III y II). La disminución de la movilidad se denomina astenozoospermia, puede ser un hallazgo aislado en el espermatograma o acompañarse de alteraciones en la concentración y morfología normal de los espermatozoides (que es lo más común); en este último caso indica un daño global de la espermatogénesis. La disminución de la movilidad espermática tiene múltiples causas que no son posibles diagnosticar por el simple

análisis seminal y en la mayoría de los casos tampoco es posible establecer un pronóstico por este examen. Una excepción a lo dicho anteriormente es el hallazgo de una movilidad menor del 5 % o incluso nula por completo, asociada a densidad, morfología y viabilidad espermática normal o muy cercanas a lo normal; en este caso es muy probable se trate de un síndrome de cilias inmóviles, trastorno de causa genética que es irreversible y que por tanto hasta el presente los pacientes son definitivamente estériles; el diagnóstico de certeza se realiza por medio de la microscopia electrónica.

Se considera que es menos probable que un hombre sea fértil si tiene menos del 40 % de espermatozoides con movimiento lineal progresivo, pero no existe una relación directa entre el porcentaje de espermatozoides móviles y la fertilidad potencial de un individuo (Padron, 1998).

g) Vitalidad.- La vitalidad espermática, también denominada viabilidad, viene reflejada por la proporción de espermatozoides que están vivos. Si el porcentaje de espermatozoides inmóviles excede del 50%, la proporción de espermatozoides vivos debe determinarse utilizando técnicas de tinción supravital, (Padron, 1998).

Existen diferentes métodos para estudiar la vitalidad; unos valoran el estado en que se encuentra la membrana plasmática del espermatozoide, y son los más usados en el laboratorio. Mediante la utilización de un determinado colorante que penetra a través de la membrana lesionada, se observa una coloración interna del espermatozoide que indica que es una célula muerta.

Otros sistemas permiten detectar, mediante la utilización de fluorocromos fluorescentes, marcadores específicos del ADN cuando el núcleo del espermatozoide está alterado. Esta técnica se basa en que: la fluorescencia roja de los núcleos celulares que se registra al morir las células es atribuible a un aumento de la permeabilidad de la membrana nuclear para el colorante, así como a una cierta despolimerización del ácido desoxirribonucleico. (Andolz, 1995).

h) Concentración Espermática.- Las cifras "normales" tomadas de una población general, sin tener en cuenta su fertilidad, han variado a través del tiempo; de la cifra entre 60 y 120 000 000/mL que aparece en libros de texto antiguos se ha llegado al criterio actual de normalidad (normozoospermia), que un comité de expertos de la OMS ha situado en la cifra de 20 000 000/mL o más. Sin embargo, en lo referente a cuáles son las cifras "fértiles" la discusión es aún mayor. Se ha definido como oligozoospermia a la concentración de espermatozoides menor de 20 000 000/mL, a su vez esta puede dividirse en 3 grados: a) oligozoospermia ligera: cifras entre 10 y 20 000 000/mL, b) oligozoospermia moderada: concentración entre 5 y 10 000 000/mL y c) oligozoospermia severa cuando el conteo está por debajo de 5 000 000/mL. La severidad de la oligozoospermia no permite conocer la causa del trastorno. En cuanto al pronóstico, actualmente sólo es posible afirmar que cifras inferiores a 5 000 000/mL (oligozoospermia severa) tienen una relación inequívoca con el grado de fertilidad del sujeto en cuestión; por encima de esa cantidad los resultados son variables pues no se ha hallado una relación constante y resulta frecuente observar embarazos con concentraciones entre 10 y 20 000 000/mL. El límite de 10 000 000/mL expresa cambios de importancia en el epitelio germinal o en el testículo en general; por debajo de este límite se ha encontrado elevación de las gonadotropinas (FSH y LH) y disminución de testosterona y dihidrotestosterona en plasma, lo cual no se observa con cifras mayores.

La azoospermia se define como la ausencia de espermatozoides en el semen e indica un daño severo del epitelio germinal (azoospermia secretora), cuyas causas más comunes son la aplasia germinal o síndrome de sólo células de Sertoli y la detención de la maduración espermática o arresto de la espermatogénesis, también puede deberse a una obstrucción total de las vías seminales (azoospermia obstructiva); el hallazgo de azoospermia en una muestra de semen, ya sea secretora u obstructiva, es siempre de muy mal pronóstico, prácticamente nunca responde al tratamiento aunque se conozca su causa precisa.

El conteo total de espermatozoides suele reflejar el estado de la espermatogénesis, pero también está en relación directa con el volumen eyaculado y con el período de abstinencia sexual previo. Se calcula con una simple operación aritmética de multiplicar la concentración de espermatozoides/mL por el volumen eyaculado. En la actualidad se considera normal cuando la cifra es de 40 000 000 de espermatozoides o más. Este indicador tiene las mismas implicaciones y limitaciones que la concentración/mL (Padron, 1998).

i) Morfología.- Los espermatozoides, en la mayoría de los mamíferos, presentan una morfología muy homogénea que se correlaciona claramente con la capacidad de fertilización. Por el contrario en la especie humana se observa el fenómeno de anizospermia, que expresa una heterogeneidad morfológica de los espermatozoides. Para el estudio de la morfología, se ha de utilizar un sistema de clasificación adecuado que permita evidenciar el máximo número de anomalías que puedan relacionarse con la esterilidad del varón. Estas anomalías morfológicas pueden deberse a situaciones tales como: traumatismos, infección, disfunción en los túbulos seminíferos por la acción de drogas, alteración en el intercambio metabólico y/o desequilibrio hormonal que afecte directamente la espermatogénesis y patología funcional de los epidídimos, con alteraciones en la maduración de los espermatozoides. Por todo ello, el porcentaje de espermatozoides normales es la información principal en el estudio del semen basal (Andolz, 1995).

La morfología del espermatozoide ha sido tema de discusión durante años, puesto que algunos autores afirman que tiene un valor predictivo de la capacidad fecundante, y otros en cambio no encuentran una clara relación entre morfología y fertilidad. A pesar de que no se ha establecido un valor umbral en este parámetro, se sabe que las alteraciones del acrosoma, tanto a nivel morfológico como funcional, reducen de manera significativa la capacidad fecundante del espermatozoide. Existen también alteraciones severas, aunque poco frecuentes,

en las que se ha demostrado claramente la pérdida de dicha capacidad fecundante; como ejemplos se pueden citar: el síndrome de cabezas redondas (globozoospermia), la presencia de un cráter acrosomal y el síndrome de los espermatozoides decapitados (cabezas anucleadas). La ausencia completa del acrosoma, ocasionada por un defecto genético, es debida a una falta de asociación entre la vesícula acrosomal y la membrana nuclear, provocada por la carencia de una proteína básica de la teca perinuclear del espermatozoide. La presencia del cráter acrosomal comporta la pérdida de gran parte del acrosoma; la incapacidad de estas células resulta de la ausencia del segmento ecuatorial, responsable de la fusión con el ovocito. En los espermatozoides decapitados o anucleados, la alteración se origina por la disociación entre los centriolos proximal y distal durante el primer estadio de diferenciación de las espermátides. Estas células pueden presentar una buena movilidad e incluso migrar a través del moco cervical, pero en lugar de cabeza se observa un pequeño botón que se asemeja a restos citoplasmáticos y que corresponde a la pieza intermedia que contiene mitocondrias. Todas las anomalías mencionadas conllevan una anulación en la capacidad fecundante de los espermatozoides; no obstante, es fundamental reconocer otras formas anormales en las que puede estar anulada o comprometida tal función.

El porcentaje de formas normales debe ser $\geq 30\%$; cuando este valor descende corresponde a una teratozoospermia. A nivel óptico, las alteraciones estructurales pueden localizarse en la cabeza, en el cuello, en la pieza intermedia y en la cola; en algunas ocasiones, fundamentalmente, cuando existe un aumento importante de formas anormales, los defectos pueden ser múltiples sobre un mismo espermatozoide. Se considera en primer lugar la anomalía de la cabeza sobre las demás y las anomalías de la pieza intermedia sobre las de la cola (Andolz, 1995).

La Teratozoospermia puede observarse en un gran número de trastornos, como el varicocele, la sepsis seminal, el estrés y la exposición a agentes externos nocivos, entre otros, por lo cual su presencia no es suficiente para establecer un

diagnóstico causal. En cuanto a su valor pronóstico, también es muy difícil de establecer, aunque es necesario aclarar que en raras ocasiones se encuentran anomalías morfológicas que invariablemente den lugar a esterilidad, entre estas tenemos los espermatozoides de cabeza redonda, los de cabeza en forma de pera y los de cabeza en forma de cabeza de alfiler (Padron, 1998).

j) Elementos celulares diferentes de los espermatozoides.- Indefectiblemente el eyaculado contiene células diferentes de los espermatozoides a las que se refiere genéricamente como “células redondas”. Encontramos células epiteliales del tracto uretral y la próstata, células de la espermatogénesis y leucocitos. Como referencia, un eyaculado normal no debe contener más de 5×10^6 células redondas/mL.

- **Leucocitos.-** Los leucocitos, con predominancia los neutrófilos, están presentes en la mayoría de los eyaculados humanos. Un número excesivo de esas células (leucocitospermia) sugiere la existencia de una infección. El número de leucocitos no debe superar 1×10^6 / mL.

Cuando el número de leucocitos en semen es elevado, se deben practicar análisis microbiológicos para investigar la existencia de infección de las glándulas anexas. Sin embargo, la ausencia de leucocitos en el semen no excluye la posibilidad de infección de las glándulas anexas.

- **Células germinales.-** Las células redondas no identificadas como leucocitos incluyen las espermátides, espermocitos y espermatogonias. Estas suelen ser degenerativas y difíciles de identificar.

Los diferentes tipos de células germinales inmaduras que aparecen en el semen suelen indicar desórdenes de espermatogénesis. Pueden ser distinguidos de los leucocitos por sus características citológicas y por la ausencia de peroxidasa intracelular o falta de antígenos específicos de los leucocitos. Una excesiva

descamación de las células germinales inmaduras suele ser el resultado de una función defectuosa de los túbulos seminíferos, como en la hipoespermatogénesis, el varicocele y la disfunción de las células de Sertoli, y está asociado con un éxito reducido en la fertilización *in vitro* (OMS, 2001).

k) Aglutinación.- La aglutinación de los espermatozoides significa que los espermatozoides móviles se adhieren entre ellos, cabeza con cabeza, cola con cola o de un modo mixto, por ejemplo, cabeza con cola. La adherencia de espermatozoides inmóviles o móviles a filamentos de moco, a células que no son espermatozoides o a detritos no es considerada aglutinación, sino agregación inespecífica y debe anotarse como tal.

La presencia de aglutinación sugiere la existencia de una causa inmunológica de la infertilidad, pero no es evidencia suficiente para probarla. La aglutinación es evaluada en el momento de determinar la motilidad de los espermatozoides. El tipo de aglutinación debe ser informado, por ejemplo cabeza con cabeza, cola con cola o de formas mixtas (OMS, 2001). Existen pruebas inmunológicas para determinar si la aglutinación ocurre por la presencia de anticuerpos contra los espermatozoides (autoanticuerpos).

d. Pruebas Analítico-Clínicas de segunda intención: Son exámenes especializados 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, etc (Poirot, 2005).

2. CAUSAS DE INFERTILIDAD MASCULINA: El conocimiento etiológico de la infertilidad masculina conlleva la realización de un buen diagnóstico y la posibilidad de un tratamiento adecuado que permita obtener resultados positivos

en el proceso reproductivo. Las principales causas de la infertilidad masculina son los trastornos hormonales, los genéticos y los vasculares, los procesos infecciosos y los factores inmunológicos, entre otros. También hay un porcentaje de la población (15%) que presenta infertilidad por causas inexplicadas (Rosas, 2007).

a. Trastornos hormonales: La existencia de una alteración en la hipófisis o hipotálamo puede dar lugar a un hipogonadismo hipogonagotrópico, que se manifestará con una disminución de los valores de gonadotropinas. Esta alteración puede ser congénita y debida a una deficiencia en la producción de Hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH), o secundaria a la aparición de adenomas hipofisarios tipo prolactinomas, craneofaringiomas, otros tumores cerebrales o la radioterapia. Se puede diagnosticar clínicamente y las pruebas analíticas confirman el diagnóstico. La incidencia es baja, pero es interesante, porque los tratamientos son específicos.

b. Trastornos genéticos o moleculares: La existencia de abortos de repetición, azoospermia u oligozoospermia alta puede indicar alguna alteración genética o molecular.

El síndrome de Klinefelter es la anomalía cromosómica más común (1:500 recién nacidos varones). Se caracteriza por el cariotipo 47XXY (aunque puede haber múltiples variantes) y se relaciona con un 10,8% de los pacientes que presentan azoospermia. La presencia de traslocaciones u anomalías cromosómicas se traduce en la existencia de anomalías estructurales. En la forma clásica del síndrome, los individuos presentan testículos pequeños, ginecomastia, azoospermia, gonadotropinas elevadas y testosterona baja.

Hay otras alteraciones, como el síndrome de Turner, síndrome XYY, síndrome XX, que se podrán revelar con alteración de gonadotropinas, azoospermia o disminución de testosterona, entre otras manifestaciones. En síntesis, se produce una alteración de la producción o de la función de espermatozoides (Rosas, 2007).

Se ha constatado que la delección de un segmento específico del cromosoma Y (factor de la azoospermia humana) es la causa molecular (genética) más frecuente del fallo espermatogénico (7 - 20%). Es importante conocer la imposibilidad de tratamiento médico del problema y la seguridad de descendencia masculina con la misma alteración (Rosas, 2007).

c. Criptorquidia: En el momento del nacimiento, o poco tiempo después, los testículos deben encontrarse en el interior de las bolsas. La alteración de ese descenso se denomina criptorquidia. La incidencia varía según la edad y se discute la causa genética u hormonal. En muchos síndromes genéticos es característica. El tratamiento puede ser hormonal o quirúrgico (Rosas, 2007).

d. Varicocele: El varicocele es la dilatación varicosa de las venas espermáticas y el plexo pampiniforme por incompetencia valvular venosa y aumento de la presión intravascular con un reflujo retrógrado espermático. Está considerado como el factor más frecuente relacionado con la infertilidad masculina. La incidencia en la población masculina general es aproximadamente del 15%. Diferentes teorías explican el mecanismo de esterilidad en el varicocele:

- Insuficiencia del eje hipotálamo-hipofisario-testículo.
- Temperatura escrotal: En el varicocele hay una elevación de la temperatura escrotal que provoca una disminución de la espermatogénesis.
- Reflujo de metabolitos suprarrenales.
- Hipertensión venosa e hipoxia gonadal.

Se distinguen tres tipos de varicocele: Espermático, Cremastérico o mixto. En el 68% de los casos el varicocele es espermático, afectando a la vena espermática interna y al plexo anterior. Es más frecuente en el lado izquierdo (80-93%), debido a la mayor longitud de la vena espermática izquierda y su anatomía ya que esta desemboca en la vena renal izquierda con válvulas incompetentes. Se han

descrito tres tipos de alteraciones resultantes del estudio hemodinámico del varicocele:

Tipo 1: Reflujo venoso de la espermática y comunicantes.

Tipo 2: Obstrucción de la vena ilíaca común izquierda con retorno venoso por la espermática normal.

Tipo 3: Engloba a los dos anteriores.

En el testículo con varicocele inciden diversas circunstancias que conducen a lesionar la línea germinal: temperatura, metabolitos tóxicos, factores enzimáticos y hormonales, hipoxia, alteraciones epididimarias e hipertensión. Los cambios histopatológicos que se van a producir en el testículo pueden ser: cambios ultra estructurales en las células de Sertoli, detención incompleta de la maduración de espermátides y espermatoцитos, engrosamiento tubular con disminución del diámetro y fibrosis de los túbulos, alteración en las células de Leydig y alteraciones en el testículo contra lateral. El diagnóstico principalmente del tipo 1 es a veces controvertido y su relación con el Espermatoograma sigue siendo un enigma. La valoración del paciente con varicocele debe implicar una historia clínica exhaustiva incluyendo antecedentes reproductivos, una exploración testicular y examen físico y exploraciones complementarias tipo ecografías, termografía y análisis hormonales y con un mínimo de dos Espermatoogramas.

En el análisis del semen podemos encontrar: oligospermia, astenospermia, teratospermia, incremento de formas inmaduras y otras alteraciones (Guerra, 2005).

e. Procesos infecciosos: La infección sistémica que más se asocia a la afección testicular y daño del epitelio germinal es la orquitis consecutiva a parotiditis. La esterilidad se da en la mitad de los casos de afectación bilateral.

Se ha demostrado que las infecciones sistémicas de origen bacteriano o viral pueden causar disminución en la producción del esperma. Los últimos estudios señalan como factor probable de esterilidad la infección por *Mycoplasma T.* y *Chlamydia trachomatis*. La epididimitis inespecífica, y en particular la gonorreica, puede dar lugar a obstrucción al paso de los espermatozoides y, por lo tanto, se asocia a azoospermia y oligospermia grave (Rosas, 2007).

Chlamydia trachomatis es una de las bacterias más importantes en las infecciones de transmisión sexual; en la mujer puede causar enfermedad pélvica inflamatoria, infertilidad por obstrucción tubárica y embarazo ectópico, mientras que en el varón puede provocar uretritis no gonocócica, proctitis y epididimitis. En 1995, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que en el mundo cada año se presentan cerca de 89 millones de casos nuevos de infección por *C. trachomatis* (Guerra, 2005).

Aunque *C. trachomatis* es causa del 40 al 60% de las uretritis no gonocócicas (UNG) de los varones, en los últimos años se ha demostrado una disminución en el porcentaje total de individuos con esta patología (10-20%). Sin embargo, se ha observado un aumento en la infección por esta bacteria en varones jóvenes que no muestran sintomatología de UNG (3.7 - 10.3%) o que presentan mínimas manifestaciones clínicas de infección uretral, estos últimos son de considerable importancia epidemiológica debido a que al no ser detectados no reciben tratamiento y por lo tanto actúan como reservorio de *C. trachomatis* transmitiendo constantemente el patógeno a sus parejas sexuales. De hecho, los estudios de microscopía electrónica han demostrado la presencia de este patógeno en las células epiteliales del epidídimo, así como en los espermatozoides de varones asintomáticos cuyas parejas sexuales muestran infertilidad.

Además, se ha informado que las muestras de semen de los compañeros sexuales de mujeres con diagnóstico de infertilidad son positivas a *C. trachomatis* entre 10 y 39.3%. A pesar de lo anterior, se ha demostrado que las muestras

seminales positivas a este patógeno no presentan alteraciones en los parámetros seminales y de fertilidad masculina, aunque esto todavía está aún en controversia (Guerra, 2005).

f. Factores inmunológicos: En el 5-10% de varones tratados por infertilidad, se observa una reacción autoinmunitaria frente a los espermatozoides. Se han demostrado 2 tipos de anticuerpos, los aglutinantes de espermatozoides y los inmovilizantes.

g. Otros factores:

1) Neurológicos: Las lesiones neurológicas, por diversas causas, son capaces de provocar disfunción eyaculatoria, oligozoospermia y azoospermia.

2) Ambientales: Se ha comprobado que la exposición a determinados tóxicos, normalmente en el ámbito laboral, como el nematocida clorado dibromocloropropano (DBCP), el clordecone, carbaril, etilendibromuro, ciertos ésteres del glucol y metales, pueden alterar la producción de esperma.

De hecho se asocia el uso y dispersión masiva de pesticidas agrícolas, en países como Holanda, con la drástica disminución de la concentración espermática en los jóvenes de este país.

Por otra parte, la función reproductora puede alterarse por afectación emocional, estrés y hábitos de vida inadecuados (dieta desequilibrada, vestimenta, ejercicio, consumo de alcohol, drogas, tabaco).

3) Medicamentosos: Hay estudios que certifican que el tratamiento con determinados fármacos puede llevar a una reducción de la calidad del semen (Rosas, 2007).

3. ABORDAJE TERAPÉUTICO: En general, es importante enfrentarse al problema con el tratamiento adecuado a la causa específica; ahora bien, dado que en muchos casos no es posible descubrir la etiología, se recurre a las técnicas de reproducción asistida.

Se conocen 3 líneas de abordaje terapéutico: intervención quirúrgica, tratamiento médico y técnicas de reproducción asistida.

a. Intervención Quirúrgica: Se aconseja en los casos en los que haya obstrucción de los conductos excretorios. Puede ser una alteración de tipo congénita o adquirida. Destaca, por ejemplo, la vasovasostomía, que es la intervención con la que se intenta conseguir la reversión de la vasectomía.

b. Tratamiento Farmacológico: En el caso de determinarse un problema endocrino específico, el tratamiento estará bien definido. Sin embargo, en la mayoría de los casos se presentan oligozoospermias idiopáticas donde las gonadotrofinas y la testosterona son normales, y las espermatobioscopias anormales. Estos casos se intentan resolver con diferentes tratamientos empíricos.

c. Técnicas de Reproducción Asistida: Son las técnicas con que se pretende sustituir o complementar al contacto sexual para que la fertilización tenga lugar. Es la opción después del fracaso del tratamiento médico o quirúrgico. Las técnicas de reproducción asistida son: inseminación artificial y fecundación in vitro (Rosas, 2007).

d. Otros: Actualmente existen terapias experimentales con productos naturales, con resultados aún en procesos de validación.

D. LA FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA DEL SIGLO XXI.- La utilización de la Fitoterapia no es nueva; ya en el año 2100 a.C. la civilización mesopotámica

utilizó las plantas medicinales, tal como demuestra el descubrimiento de Alepo en una parte de la Biblioteca Real escrita en tablillas de arcilla (Valle y Lucas, 2000; Herrera, 1999, citados por Quisbert, 2007).

La materia Médica de Dioscórides (siglo I) reportaba alrededor de 600 especies de plantas de uso medicamentoso y en la actualidad se reporta alrededor de 8 000 000 especies. Sin embargo solo 80 000 han sido objeto de alguna investigación química o farmacológica y solamente unas 2 000 han sido sometidas a un riguroso estudio científico (Valle y Lucas, 2000; Herrera, 1999; Villavicencio, 1994, citados por Quisbert, 2007).

Durante el último siglo, tanto países desarrollados como los que se encuentran en vías de desarrollo han aumentado la utilización de las plantas medicinales o subproductos ya sea basándose en el uso ancestral heredado y ampliamente difundido en los segundos, o por una tendencia casi generalizada al consumo de productos ecológicos en los primeros (Galiano, 2002, citado por Quisbert, 2007).

E. LA MACA.- La Maca (*Lepidium meyenii*), es una especie nativa de la región alto andina. Los primeros cultivos reportados fueron en la zona de la meseta de Bombón, en el departamento de Junín (Perú), entre los 3700 y 4500 metros sobre el nivel medio del mar, región que presenta un clima agreste y bajas temperaturas extremas. Actualmente existen cultivos en mesetas altas de Perú, Bolivia y Argentina (Marín, 2003; Balick, 2002). Sin embargo se sabe que su uso fue difundido en la cultura Tiahuanacota, precursor de la mayor parte de las culturas altoandinas.

Los mayores cultivos se llevan a cabo a gran altitud, en terrenos inhóspitos, extremadamente pobres y rocosos, de intensa luminosidad, vientos violentos y baja temperatura. La Maca se ha constituido en un recurso valioso para los nativos de altura, dado el activo intercambio comercial que éstos realizan con comunidades que viven en zonas de menor elevación, obteniendo así otros

productos vegetales tales como maíz, verduras verdes, yuca y variedades de tubérculo (Cikutovic, 2005).

La Maca ha sido utilizada por siglos en Los Andes para aumentar la fecundidad humana y la de los animales. En efecto, poco tiempo después de que se iniciara la conquista española en Sudamérica, los conquistadores constataron que su ganado se reproducía con mucha dificultad en las tierras altas. Cuenta la tradición que fueron los nativos locales quienes recomendaron a los españoles suplementar con Maca los pastos utilizados como forraje, obteniendo tan notables resultados que los cronistas españoles de la época los consignaron en exhaustivos informes. Los registros de la colonización del Perú, de hace unos doscientos años atrás, señalan la utilización de áreas altoandinas específicas para el cultivo de esta planta y la obtención de cosechas, aproximadas a las nueve toneladas, destinadas a contrarrestar los efectos de la altitud sobre las tropas y caballares. Utilizada con propósitos medicinales y nutricionales desde los tiempos preincaicos, estimada por los incas y, posteriormente por los españoles como estimulante para aumentar la fecundidad en humanos y animales (Cikutovic, 2005).

1. CLASIFICACION TAXONOMICA.- La primera descripción corresponde al botanista Wilhem Gerhard Walpers (Balick, 2002; Obregón, 1998).

División:	Fanerógamas
Subdivisión:	Angiospermas
Clase:	Hipocotiledóneas
Sub-clase:	Arquidámides
Orden:	Readales
Familia:	Brassicaceae
Género:	<i>Lepidium</i>
Especie:	<i>Lepidium meyenii</i> Walpers
Nombre común:	Maca

2. DESCRIPCION BOTANICA.- La Maca, *Lepidium meyenii*, descrita inicialmente por Gerhard Walpers en 1843, es una planta perenne, de bajo crecimiento, cuyas hojas pequeñas y onduladas se desarrollan muy cerca del suelo. Autopolinizante, de flores pequeñas de color blanquecino típicas de la familia de la mostaza (Brassicaceae) a la cual pertenece, a diferencia de la mayoría de las plantas tuberosas se reproduce mediante semillas. La porción utilizada corresponde a la raíz en forma de tubérculo, la cual se asemeja a un gran rábano, de color blanco-amarillento que sobrepasa los 8 cm de diámetro y cuya cosecha requiere de un crecimiento previo comprendido entre 7 y 9 meses, al cabo de los cuales el producto es secado, pulverizado y posteriormente consumido mediante infusiones o como suplemento de otros alimentos (Marín, 2003; Cikutovic, 2005).

La raíz es napiforme, con presencia de pequeñas raicillas blancas de 15 cm de longitud, descrita como tubérculo hipocotileo. Presenta un eje carnoso cuya parte superior termina en una superficie plana de la que brotan de 6 a 15 hojas; mientras la inferior es cónica y se alarga en una raíz ancha y fuerte con dos áreas irregulares en la mitad inferior, de donde nacen las raicillas. Los colores de la maca más frecuentes son: amarillo, morado, morado-blanco y negro (Obregón, 1998).

3. CARACTERISTICAS NUTRICIONALES.- La raíz de la maca es la única especie del género *Lepidium* que es utilizado como alimento de alto valor nutritivo por su elevado contenido en aminoácidos esenciales comparables con los recomendados por la FAO-OMS. El valor nutricional de la raíz seca de Maca es alto, semejándose al de cereales tales como maíz, arroz y trigo y superando ampliamente en contenido calórico, proteínas y carbohidratos a otras hortalizas (Cikutovic, 2005; Balick, 2002).

Según el Instituto de Nutrición de Lima, Perú, *Lepidium meyenii* contiene altas cantidades de proteína (11% en raíz seca y 14% en pasta entera). El contenido proteico de la Maca se manifiesta principalmente bajo la forma de cadenas polipeptídicas y aminoácidos, encontrándose presentes entre estos últimos la

totalidad de los diez considerados “esenciales”, es decir, aquellos aminoácidos que el organismo humano no sintetiza y que deben ser incorporados, necesariamente, en la dieta diaria. Adicionalmente, aminoácidos tales como arginina, serina, histidina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, valina, fenilalanina, tirosina y treonina, se encuentran en cantidades altamente significativas. Además, contiene altas concentraciones de hierro, calcio, ácidos grasos: ácidos linoleico, palmítico y oleico y es rico en esteroides (Marín, 2003; Cikutovic, 2005).

El análisis de los compuestos químicos derivados del carbono revela que el tubérculo contiene concentraciones cercanas al 60% de carbohidratos, 10% de proteínas, casi un 9% de fibra, y poco más de 2% de lípidos. Asimismo, las vitaminas se encuentran disponibles en concentraciones que van desde 0,20 mg (Cikutovic, 2005).

El estudio llevado a cabo por Dini et al (1994) reveló que Maca es también un importante depósito de diversos ácidos grasos (linoleico, palmítico y oleico, entre otros), esteroides (stigmasterol, sitosterol y campesterol), saponinas, taninos y alcaloides, los cuales actúan como una importante fuente energética.

Por otra parte, la composición mineral de la raíz de Maca, previamente desecada, reveló en el estudio llevado a cabo por estos mismos autores altas concentraciones de potasio, superando largamente a otros vegetales considerados tradicionalmente como depósitos naturales, y calcio y hierro, cuya concentración en este bulbo altoandino supera en más del doble a la leche y lentejas, respectivamente. Por esta razón, ha sido usada tradicionalmente para el tratamiento de la osteoporosis (Dini et al, 1994).

4. PRINCIPIO ACTIVO DE ALGUNOS COMPUESTOS DE *Lepidium meyenii*.

En la medicina tradicional andina actual, la Maca es recomendada para el tratamiento de la anemia, la tuberculosis, el cáncer de estómago, el síndrome

crónico de fatiga, la pérdida de memoria, los desórdenes menstruales, los síntomas de la menopausia, variadas formas de impotencia y disfunción sexual y el desequilibrio hormonal, entre otras enfermedades (Cikutovic, 2005). No obstante lo anterior, la comunidad científica internacional sólo se enteró en el año 1961, a partir de la obra seminal de Chacón (1961), de la acción estimulante que sobre la actividad reproductiva, fundamentalmente, parecen ejercer los bulbos o “amañocos” de *Lepidium meyenii*.

Johns (1981), citado por Balick (2002), sugiere que las propiedades afrodisíacas son atribuibles a la acción biológica de los isotiocianatos aromáticos: benzilisotiocianato y p-metoxibenzil isotiocianato, debido al poder estimulante en pituitaria-hipotálamo, lo que explica el efecto en hombres como en mujeres. También sugirieron que los efectos positivos en la fertilidad son atribuidos a los glucosinolatos presentes en la raíz.

El Departamento de Farmacología de la Universidad de Modena- Italia, demostró esta propiedad en roedores, el drástico incremento de la frecuencia copulatoria con disminución del intervalo intercostal, y el tiempo de erección y de latencia post-eyaculatoria respecto a los controles ($P < 0,05$). Tal actividad fue independiente del incremento en la actividad física medida por los cambios en la movilidad (Cicero et al., 2001).

Por su parte, Zheng et al. (2000), resalta que en modelos experimentales murinos, el número de cópulas en 3 horas se incrementa con las diferentes fracciones etanólicas administradas, encontrando presencia de espermatozoides en concentraciones normales en la vagina después de las respectivas intromisiones, aún en casos de disfunción eréctil inducida.

Los resultados anteriores fueron ampliamente confirmados en modelos clínicos sobre el desempeño sexual en sujetos adultos de diferentes edades. Así en ensayos clínicos controlados se demostró el incremento en el deseo sexual en

voluntarios a las 8 semanas de administración de 1.5 – 3.0 gramos diarios a través del test de Hamilton para percepción de la capacidad sexual (Gonzales et al., 2002).

Es posible que la Maca pueda estar actuando sobre la fertilidad debido a su alto valor nutricional, derivado de las también altas concentraciones de hidratos de carbono, proteínas, lípidos, vitaminas, fibras y aminoácidos esenciales (Dini et al 1994; Li et al 2001; Piacente et al 2002).

Por otra parte, es razonable considerar que no obstante el sistema endocrino regula un elevado número de funciones corporales, inclusive la producción de diversos tipos de hormonas, aunque éstas sean químicamente diversas, se encuentran básicamente conformadas por aminoácidos y esteroides (Cikutovic, 2005). Dini et al. (1994) reporta que las propiedades afrodisíacas son vinculadas con esteroides y prostaglandinas de Maca. Según Muhammad (2002), los principales responsables del incremento de las propiedades benéficas en la fertilidad podrían ser los alcaloides:

- 1,2-dihidro-N-hidroxi piridina (macaridina)
- Bencilalcamidas (macamida)
- 3-bencil-1,2-dihidro-N-hidroxi piridina-4-carbaldehído (macaridina)
- N-bencil-5-oxo-6E,8E-octadecadienamida
- N-bencilhexadecanamida
- Ácido 5-oxo-6E,8E-octadienoico

También se realizaron estudios acerca de los componentes esenciales del aceite de Maca obtenidos de las partes aéreas de la planta, destacándose de entre 53 componentes lipídicos los siguientes:

- Fenilacetónitrilo
- Benzaldehído

- 3-metoxifenilacetoniitrilo
- Benciltiocianato

Se investigaron 2 nuevos alcaloides: la Lepilidina A (cloruro de 1,3 dibencil-4,5 dimetilimidazolio) y la Lepidilina B (cloruro de 1,3-dibencil, 4,5-trimetilimidazolio) (Muhammad et al, 2002).

Variados aminoácidos son requeridos por el organismo para la fabricación de neurotransmisores, tales como la Dopamina y la Noradrenalina. Estas sustancias transmiten señales en el sistema nervioso que juegan un importante rol funcional en el proceso del despertar sexual y el desempeño físico durante la actividad sexual. Los principales aminoácidos que estos neurotransmisores requieren incluyen fenilalanina, tirosina e histidina y los tres existen en alta concentración en la Maca (Cikutovic, 2005).

La Arginina, otro constituyente de Maca clínicamente demostrado, juega un importante rol en la fertilidad masculina, estimulando la producción y la motilidad de los espermatozoides. Se piensa que este aminoácido participa en la generación de óxido nítrico, el que, a su vez, viene siendo usado desde hace tiempo para contrarrestar la impotencia masculina (Scibona et al 1994).

La Histidina también se encuentra en altas concentraciones en las raíces o hipocotilos de la Maca y se ha demostrado que desempeña una importante función en la eyaculación y el orgasmo. El organismo de los mamíferos utiliza la histidina para producir histamina y ésta actúa sobre los cuerpos cavernosos del pene, los que, a su vez, participan activamente en el proceso de erección, desencadenando los estímulos que conducirán a la posterior eyaculación (Cikutovic, 2005).

Para prevenir en pacientes humanos la eyaculación prematura debido a un incremento de la actividad de histamina, a menudo se utiliza un antihistamínico

sencillo o el aminoácido metionina, que contrarrestan la formación de histamina a partir de histidina. De manera opuesta, varones y mujeres que tienen dificultades para lograr el orgasmo pueden ser ayudados mediante un suplemento de histidina, lo que incrementa los niveles de histamina en el tracto reproductivo facilitando este fenómeno. Probablemente, lo anterior explique el aumento en el número de las cópulas observadas en ratas tratadas con extractos de Maca (Cikutovic, 2005).

La Maca también contiene esteroides, tales como Campesterol, Stigmasterol y sitosterol (Zheng et al 2000). No obstante, se ha encontrado que sitosterol disminuye la capacidad fértil de ratas machos (Malini y Vanithakumari 1991); otros autores han demostrado que Maca también contiene (1R, 3S)-1-metiltetrahydro carbolina-3 ácido carboxílico). Dado que las carbolinas inhiben la apoptosis (Park et al 2003), pudiera ser éste el mecanismo que incrementa la celularidad de la espermatogénesis en ratas tratadas con esta planta altoandina. Sin embargo este compuesto, derivado de la 5 hidroxitriptonina (Serotonina), también puede tener efectos sobre el Sistema Nervioso Central; relacionados con la actividad sobre la ansiedad al interactuar con receptores de serotonina.

VI. OBJETIVOS.

A. OBJETIVO GENERAL:

Contribuir al conocimiento del efecto de *Lepidium meyenii* (Maca) sobre la infertilidad, a través de la evaluación de su actividad biológica sobre la espermatogénesis y la calidad espermática del semen en un grupo de varones afectados de infertilidad, entre 25 – 50 años de edad.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar el efecto de *Lepidium meyenii* (Maca) sobre la espermatogénesis en sujetos infértiles que reciben el producto a través de la valoración de los parámetros espermáticos.
2. Determinar el efecto de *Lepidium meyenii* (Maca) sobre la calidad espermática en muestras de semen de los varones infértiles tratados con el producto.
3. Contribuir a la determinación del perfil hormonal, de varones infértiles que reciben el producto, mediante la detección del nivel de Testosterona sérica.
4. Definir el efecto de la Maca en la fertilidad de los sujetos tratados con *Lepidium meyenii* (Maca).

VII. HIPOTESIS.

La actividad biológica de *Lepidium meyenii* (Maca) induce modificaciones de expresión celular favorables en la calidad espermática en sujetos infértiles.

VIII. DISEÑO METODOLOGICO.

A. DISEÑO DE INVESTIGACION:

Se planteó un Estudio de Serie de Casos, los pacientes fueron remitidos al Laboratorio Clínico por el Servicio de Urología del Hospital de Clínicas con diagnóstico de Infertilidad y cada caso a su vez fue diagnosticado de infertilidad mediante los parámetros del Espermatograma; se suministró la variable independiente: administración del extracto total de *Lepidium meyenii* (Maca Spirit™) durante tres meses, en una dosis de 3000 mg/día, y se midieron las variables dependientes: espermatogénesis, calidad espermática de las muestras de semen y la concentración de Testosterona sérica antes y después del tratamiento, para correlacionar la razón de cambio entre ambos tiempos.

B. POBLACION Y MUESTRA

La población de estudio fueron los pacientes varones que consultaron en el Servicio de Urología del Hospital de Clínicas por problemas de fertilidad, de los cuales, aquellos que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión constituyeron la muestra.

La muestra estuvo integrada por 10 varones entre 25-50 años de edad, infértiles y que presentaban alteraciones en la espermatogénesis y la calidad espermática, que decidieron utilizar un recurso natural: *Lepidium meyenii* (Maca) como tratamiento alternativo para su problema de fertilidad. El cálculo muestral se realizó por el método no probabilístico.

A cada paciente se le explicó el objetivo del estudio y solicitó su participación voluntaria en el mismo; mediante la firma del Consentimiento Informado los pacientes dieron aceptación escrita, expresa y consciente para incorporarse al estudio.

C. CRITERIOS DE INCLUSION:

- Varones que hayan firmado el Consentimiento Informado.
- Varones entre 25 - 50 años
- Varones que presenten al menos uno de los parámetros seminales alterados: volumen seminal, morfología, motilidad, vitalidad, concentración espermática, presencia de células germinales.

D. CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Enfermedades crónicas inflamatorias, infecciosas o degenerativas.
- Dependencia a fármacos o drogas de abuso.
- Consumo elevado de alcohol y cigarrillo
- Consumo de AINE's y/o ansiolíticos por más de 2 años.
- Malformaciones congénitas en la esfera genital.
- Incapacidad o discapacidad que interfiera en el correcto manejo de los cuestionarios del protocolo.
- Programación de viaje de más de 15 días durante la ejecución del protocolo.
- Infecciones de transmisión sexual crónica, particularmente Gonorrea o Chlamidiasis
- Hipertensión Arterial.
- Diabetes.

Los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión fueron reclutados, y se elaboró una base de datos donde se registraron las variables

E. METODOS:**1. ESPERMATOGRAMA:**

Las muestras de semen fueron colectadas por masturbación, después de una abstinencia sexual de 3 a 5 días, tanto al inicio como al final del tratamiento

(3 meses), los pacientes eyacularon dentro de un recipiente de vidrio estéril, de boca ancha.

Las muestras de semen fueron analizadas de acuerdo a las guías de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001).

a) PROCEDIMIENTOS PARA EVALUAR LAS CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS.-

- 1) Volumen:** Se trasvasó el eyaculado, previa rotación suave del contenedor, a un tubo cónico graduado en décimas de mililitro. Se consideran valores de referencia aquellos iguales o superiores a 2 mL hasta 5 mL.
- 2) Aspecto y Color:** La muestra fue examinada por simple inspección, inmediatamente después de su licuefacción o dentro de los 60 minutos de emitida. Una muestra normal tiene una apariencia homogénea gris – opalescente. Puede aparecer menos opaca cuando la concentración de espermatozoides es muy baja, marrón cuando contiene glóbulos rojos, o amarillenta en el caso de un paciente con ictericia o que consume algunas vitaminas.
- 3) Consistencia o Viscosidad:** La consistencia o viscosidad fue estimada, inmediatamente después de su licuefacción o dentro de los 60 minutos de emitida, aspirando la muestra en una pipeta Pasteur y permitiendo la libre caída de las gotas, en las que se observó la longitud del filamento formado. En una muestra normal se observan gotas pequeñas y bien definidas, mientras que en una muestra de viscosidad anormal se forma un filamento mayor de 2 cm.
- 4) pH:** El pH fue medido antes de la hora post-eyaculación. Se distribuyó una gota de semen sobre la tira de papel tornasol con un intervalo de 6,0 a 8,5; al

cabo de 30 segundos el color de la zona impregnada fue comparada con la cartilla de calibración para determinar el pH. El valor de referencia está comprendido entre 7,2 y 8,0.

b) PROCEDIMIENTOS PARA EVALUAR LAS CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS:

Para valorar tanto la motilidad como la vitalidad, las muestras fueron mantenidas en un Baño maría a 37° C; los portaobjetos, cubreobjetos y todo el material que se utilizo fueron mantenidos a la misma temperatura; así como también la platina del microscopio. Se valoraron estas dos parámetros a la 1° hora y la 3° hora de emitida la muestra.

1) Motilidad: En un portaobjetos se depositó 10 uL de la muestra y se cubrió directamente con un cubreobjetos. Se observó al microscopio a 400x . Se valoraron 100 espermatozoides, diferenciando el movimiento traslativo de los espermatozoides, que pueden ser más o menos rápido (que corresponde al movimiento útil), de la movilidad “in situ” expresada por el movimiento más o menos rápida de la cabeza o de la cola, pero sin desplazamiento. Se diferencian cuatro patrones:

- *Grado 0* Espermatozoide inmóvil
- *Grado I* Movimiento de la cabeza o de la cola sin traslación “in situ”
- *Grado II* Movimiento progresivo lento, de vaivén o circular
- *Grado III* Movimiento progresivo rectilíneo rápido

En un eyaculado normal deben existir el 50% o más de espermatozoides con movimiento progresivo (grado II y III), o el 25 % con movimiento progresivo rápido (grado III). Los valores inferiores corresponden a una astenoospermia.

2) Vitalidad o Viabilidad: En un portaobjetos se depositó 10 uL de muestra a la que se adicionó 10 uL de eosina Y al 0,5%, se mezcló suavemente y cubrió

con un cubreobjetos. Se observó al microscopio a 400x y se examinaron 100 espermatozoides: los teñidos en rojo corresponden a células muertas y los que no se tiñen a células vivas.

- 3) **Concentración:** Se realizó una dilución 1/100 de la muestra de semen, con solución de recuento; se cargó en una cámara de Neubauer y realizó el recuento en los 25 cuadrantes para glóbulos rojos. Para saber el número de espermatozoides por mililitro se multiplica el número obtenido por 10^6 . En muestras oligoespérmicas la dilución fue 1/10.

Se considera como valor de referencia $\geq 20 \times 10^6$ espermatozoides/mL, valores inferiores corresponden a oligozoospermia.

- 4) **Morfología y células germinales o inmaduras:** Se realizó una extensión sobre un portaobjetos con 10 uL de la muestra de semen; la preparación fue secada al aire y posteriormente se fijó con una solución fijadora (etanol-éter) durante 30 minutos. Las preparaciones fijadas se trataron con la tinción de Papanicolaou y se dejaron secar al aire. Las preparaciones, una vez secas, se montaron con una Bálsamo de Canadá y un cubreobjetos de 24 x 60 mm. La observación microscópica se realizó sobre 100 espermatozoides, a 1000x, bajo aceite de inmersión.

2. DETERMINACION DE TESTOSTERONA:

Las muestras de sangre en un volumen de 10 mL, fueron obtenidas de la vena de la flexura del codo, en ayunas, tanto al inicio y al final del tratamiento; posteriormente fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos, los sueros fueron separados y guardados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de las determinaciones hormonales, las cuales fueron procesadas simultáneamente.

La testosterona sérica total fue medida por radioinmunoensayo (RIA). La testosterona marcada con I^{125} es utilizada como marcador radioactivo. El ensayo se realizó utilizando kits comerciales (Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA). Todas las muestras fueron analizadas en un mismo ensayo para evitar la variación inter-ensayo. El rango normal para la testosterona sérica total es de 3-10 ng/mL. La sensibilidad de este método para testosterona total es de 0.04 ng/mL.

a. Fundamento del método.- La Testosterona fue determinada por radioinmunoensayo en fase sólida, donde un anticuerpo específico para Testosterona es inmovilizado en la pared de un tubo de polipropileno. La Testosterona marcada con I^{125} compete con la Testosterona de la muestra del paciente, en igualdad de condiciones, por unirse con el anticuerpo disponible, en un determinado tiempo. El tubo es decantado para separar la fracción libre; la radioactividad de la fracción ligada es medida con un contador gamma. La concentración de testosterona en la muestra del paciente se determina mediante una curva de calibración.

b. Procedimiento.-

- Se pipeteó 50 uL de los Calibradores, Control y los sueros de los pacientes en los respectivos tubos para RIA.
- Se adicionó 1,0 mL de I^{125} Testosterona Total (antígeno) a todos los tubos y se mezcló.
- Se incubaron los tubos por 3 horas en Baño maría a 37° C.
- Se decantó el contenido de los tubos y luego se lo lavo con una solución tampón
- Se eliminó la humedad de los tubos escurriéndolos en papel absorbente.
- Se procedió a leer la concentración de Testosterona en el Contador Gamma.

3. ANALISIS ESTADISTICO.-

Los datos fueron expresados en promedio \pm desviación estándar, promedio \pm error estándar. La significancia estadística fue determinada por el método de t de Student's*. La diferencia fue considerada significativa cuando $p < 0.05$

* El estadístico W.S. Gosset, que escribió bajo el seudónimo de "Student", desarrolló para los experimentos con muestras pequeñas una familia de distribuciones que contienen un reconocimiento inherente de las limitaciones impuestas por las muestras pequeñas. SCHEFLER, W. "**Bioestadística**", Fondo Educativo Interamericano, 1981. p 85.

IX. RESULTADOS.

A. VOLUMEN

Los resultados muestran que de 10 sujetos estudiados, cuatro de ellos (1, 2, 4 y 7) presentaban un volumen de eyaculado por debajo del rango normal antes del tratamiento, sin embargo estos tienden a aumentar después del tratamiento sin llegar al rango normal, pero el sujeto 1 aumentó en un 467%, el sujeto 10 presentaba el volumen de eyaculado por encima del rango normal antes del tratamiento pero disminuye después del tratamiento llegando a ubicarse en el rango normal; los cinco sujetos restantes (3, 5, 6, 8 y 9) presentaban un volumen de eyaculado en el rango normal, sin embargo después del tratamiento se observa que el volumen de eyaculado aumenta en dos sujetos (5 y 9) en un promedio del 30%, disminuye en otros dos sujetos (6 y 8) en un promedio del 10% y el sujeto 3 mantiene sus valores iniciales. (p: NS).

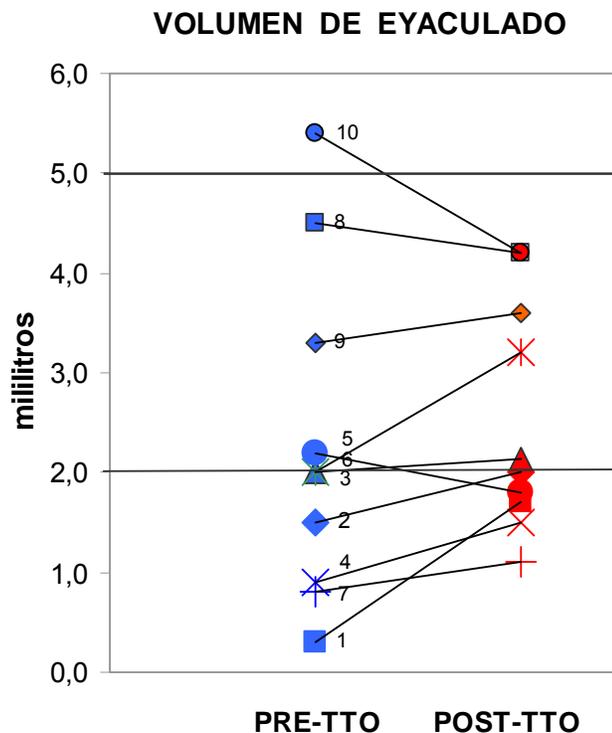


Figura 3. Volumen de eyaculado antes y después del tratamiento. Valor de referencia establecido por la OMS: 2 - 5 mililitros. Los números e iconos representan los pacientes. (p: NS).

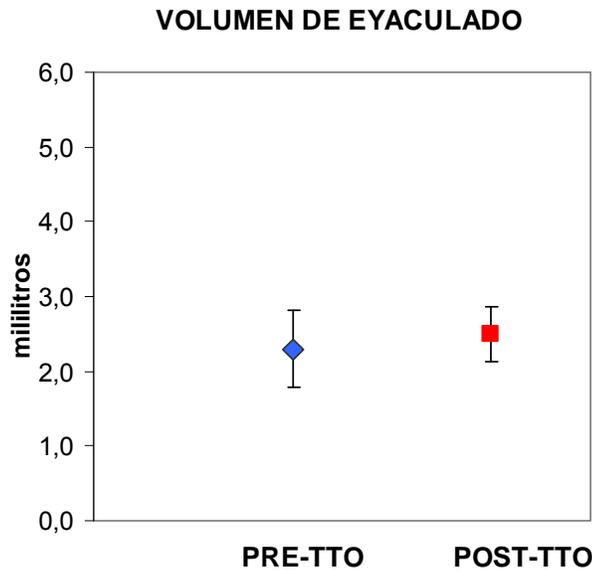


Figura 4. Volumen de eyaculado antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de las medias poblacionales muestra una tendencia general para normalizar los valores de volumen de eyaculado por mililitro en el rango normal, respaldado por la disminución en la dispersión alrededor del promedio.

B. CONCENTRACION ESPERMATICA

1. CONCENTRACION ESPERMATICA POR MILILITRO

Los resultados muestran que el sujeto 1 presentaba una concentración espermática por debajo del rango normal antes del tratamiento, el mismo que tiende a aumentar después del tratamiento en un 38 % situándose cercano al valor mínimo normal; el sujeto 4 presentaba la concentración espermática por encima del rango normal antes del tratamiento, sin embargo este tiende a disminuir después del tratamiento en un 10 %, manteniéndose aún por encima del rango normal; ocho sujetos presentaban una concentración espermática en el rango normal tanto antes como después del tratamiento; sin embargo se observa que tres sujetos (3, 5 y 7) que tenían la concentración espermática cercana al valor mayor del rango normal tienden a disminuir en un promedio del 14%

después del tratamiento; cuatro sujetos (6, 8, 9 y 10) que tenían la concentración espermática cercana al valor mínimo del rango normal tienden a aumentar en un promedio del 14% después del tratamiento; el sujeto 2 que tenía la concentración espermática cercana al valor mínimo del rango normal antes del tratamiento tiene un notorio aumento del 318% después del tratamiento (p: NS).

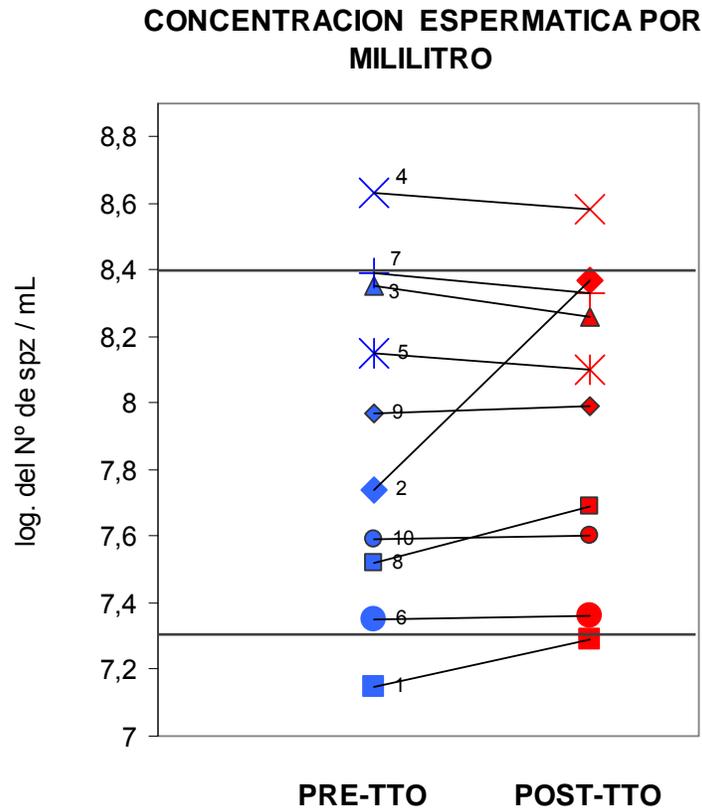


Figura 5. Concentración Espermática por mililitro antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $20 - 250 \times 10^6$ spz/mL (valores en logaritmos: 7,3 – 8,4). Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

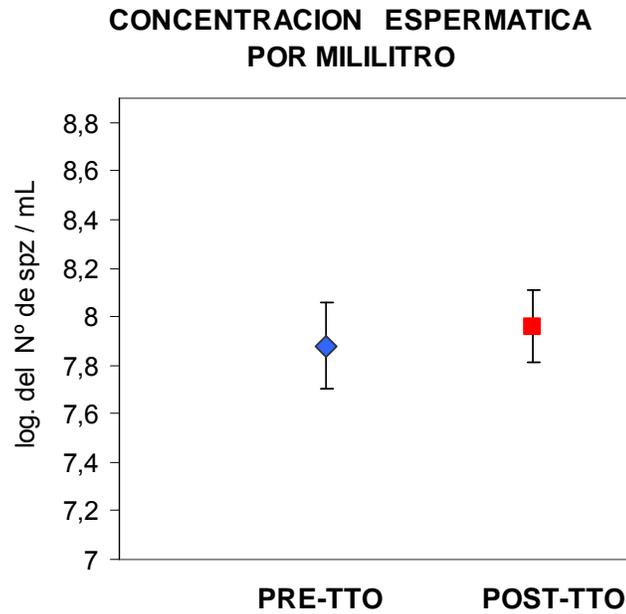


Figura 6. Concentración espermática por mililitro antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales no evidencia diferencia entre el pre-tratamiento y el post tratamiento en el grupo de pacientes estudiados.

2. CONCENTRACION ESPERMATICA POR EYACULADO

Los resultados muestran que el sujeto 1 que presentaba una concentración espermática por eyaculado debajo del rango normal antes del tratamiento tiene un notorio aumento después del tratamiento de 684 % situándose cercano al valor mínimo normal; el sujeto 2 que tenía la concentración espermática cercana al valor mínimo del rango normal antes del tratamiento tiene un aumento del 458% después del tratamiento; ocho sujetos (3, 4, 5, 6, 7, 8 9 y 10) presentan una concentración espermática en el rango normal tanto antes como después del tratamiento. (p: NS)

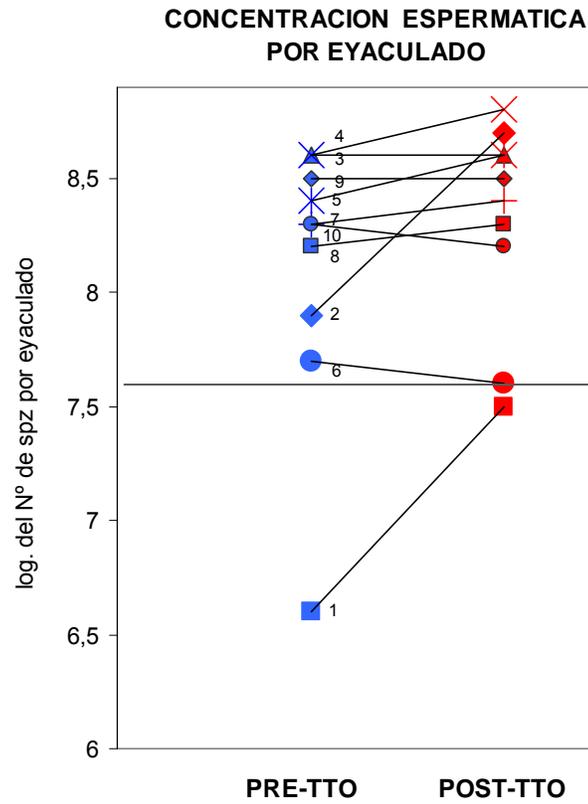


Figura 7. Concentración Espermática por eyaculado antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $\geq 40 \times 10^6$ spz/mL (valor en logaritmos: $>7,6$). Los iconos y números representan a los pacientes. (p : NS).

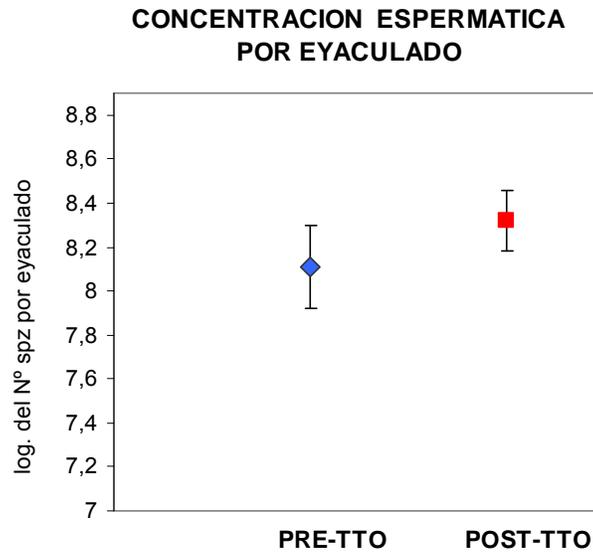


Figura 8. Concentración espermática por eyaculado antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales no evidencia diferencia entre el pre-tratamiento y el post tratamiento en el grupo de pacientes estudiados.

C. MOTILIDAD ESPERMATICA

1. MOTILIDAD DE GRADO III A LA PRIMERA HORA

En la motilidad de grado III a la primera hora, los resultados muestran que los 10 sujetos estudiados presentan motilidad espermática disminuida antes del tratamiento. Después del tratamiento se observa que existe una tendencia al aumento de la motilidad en un 109 % (promedio de 10% a 15%), el cual muestra una diferencia estadística significativa ($p < 0.001$).

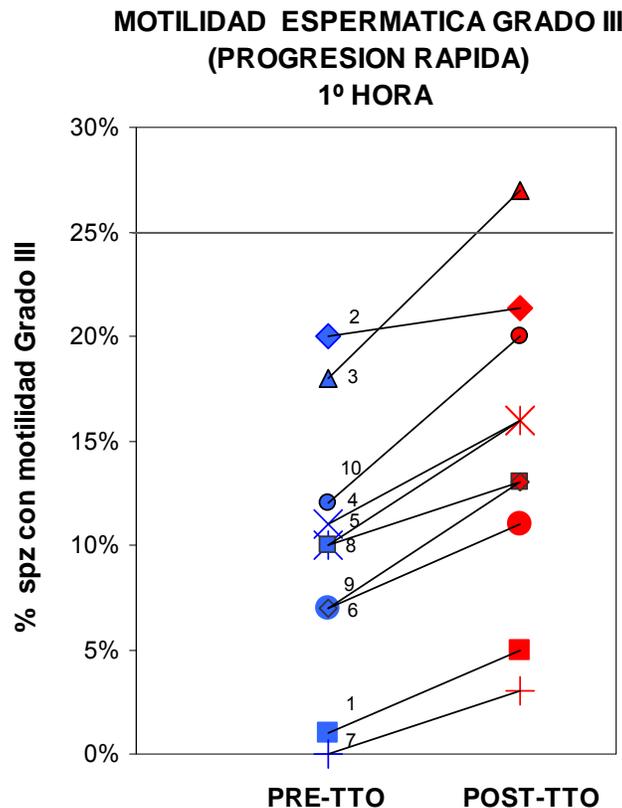


Figura 9. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado III a la primera hora, antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $\geq 25\%$ spz Grado III. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.001$).

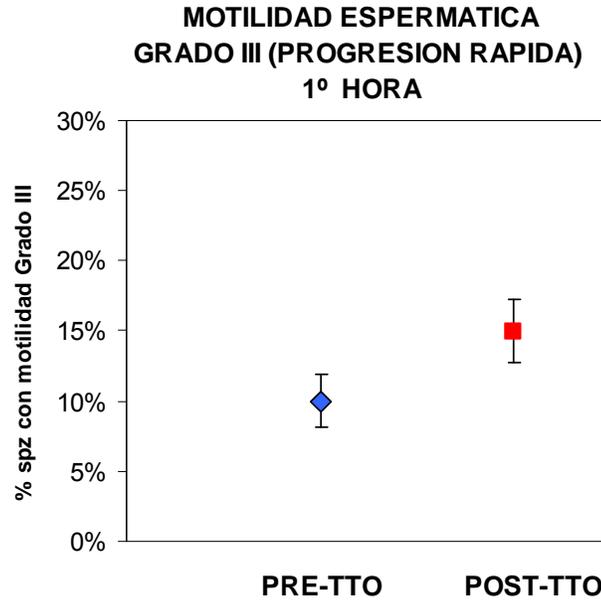


Figura 10. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado III a la primera hora, antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales muestra evidentes diferencias entre el pre tratamiento y el pos tratamiento.

2. MOTILIDAD DE GRADO III A LA TERCERA HORA

En la tercera hora, los resultados después del tratamiento muestran que los 10 sujetos presentan una tendencia al aumento de la motilidad en un 87 % (promedio de 8% a 11%), el cual muestra una diferencia estadística significativa ($p < 0.001$).

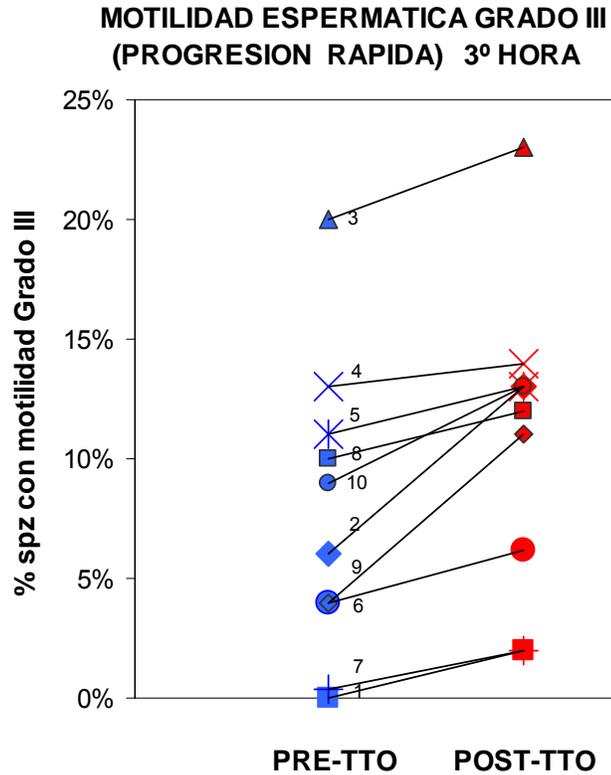


Figura 11. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado III a la tercera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.001$).

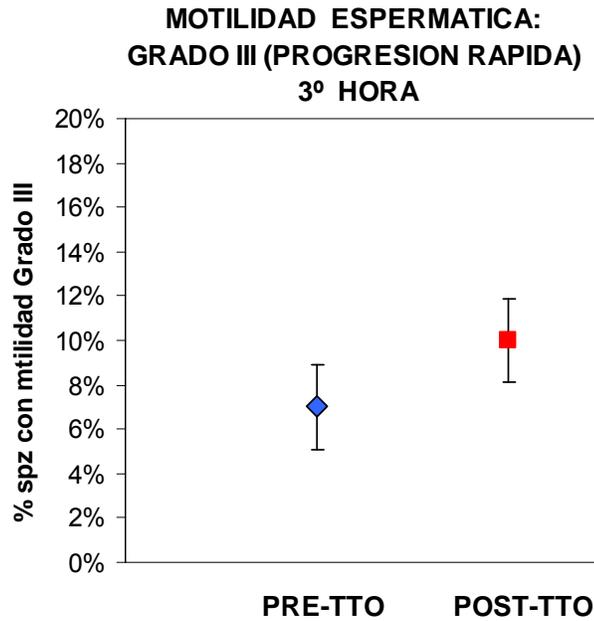


Figura 12. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado III a la tercera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales muestra diferencias entre el pre-tratamiento y el pos- tratamiento.

3. MOTILIDAD DE GRADO II A LA PRIMERA HORA

En el Grado II en la primera hora se observa una respuesta variable, los resultados muestran que de 10 sujetos estudiados, se observa que siete sujetos (1, 2, 4, 6, 7, 8 y 9) tienden a aumentar el porcentaje de espermatozoides motiles en un promedio de 9% después del tratamiento, en tanto que los otros tres sujetos (3, 5 y 10) disminuyen su valor inicial en un promedio de 7 %, estos últimos son los mismos que muestran un aumento mayor de espermatozoides motiles de Grado III después del tratamiento (p: NS).

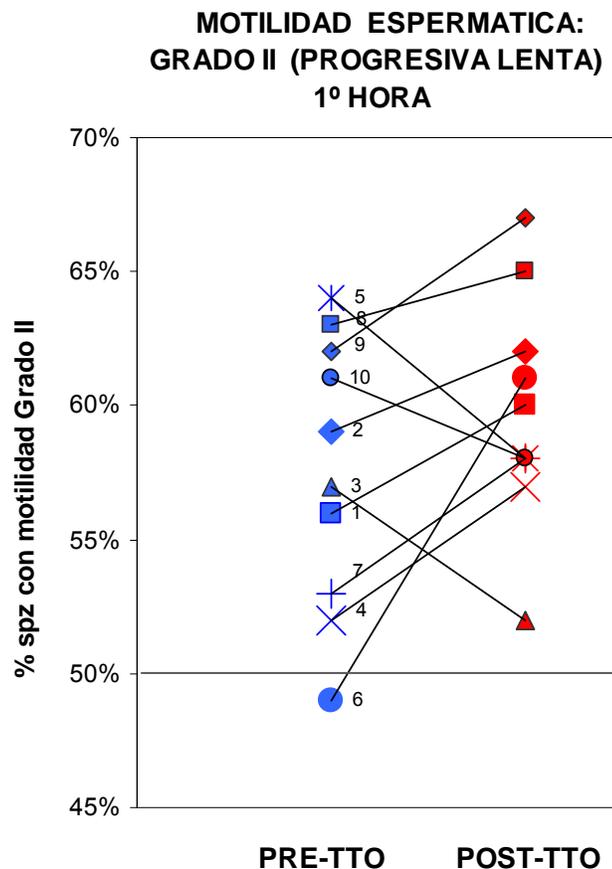


Figura 13. Porcentaje de espermatozoides con motilidad tipo Grado II a la primera hora, antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $\geq 50\%$ spz Grado III + II. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

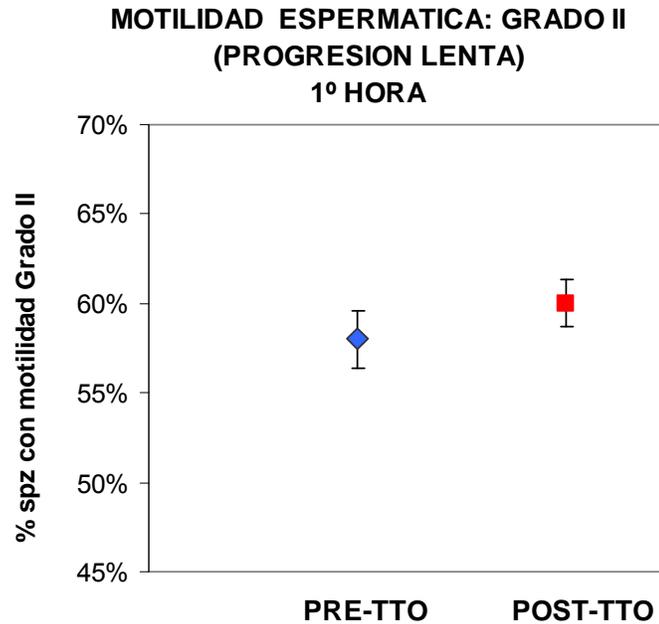


Figura 14. Porcentaje de espermatozoides con motilidad tipo Grado II a la primera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias entre ambos tiempos.

4. MOTILIDAD DE GRADO II A LA TERCERA HORA

En la tercera hora se observa una respuesta variable, con tendencia a elevarse, los resultados muestran que de 10 sujetos estudiados, después del tratamiento, dos sujetos (6 y 7) aumentan el porcentaje de espermatozoides motiles de Grado II notoriamente en un promedio de 85%, ambos pacientes embarazaron a sus parejas; cinco sujetos (3, 4, 5, 8 y 10) aumentan el porcentaje de espermatozoides motiles en un promedio de 9%, el sujeto 9 mantiene sus valores iniciales y los otros dos sujetos (1 y 2) disminuyen el valor inicial en un promedio de 6% (p: NS).

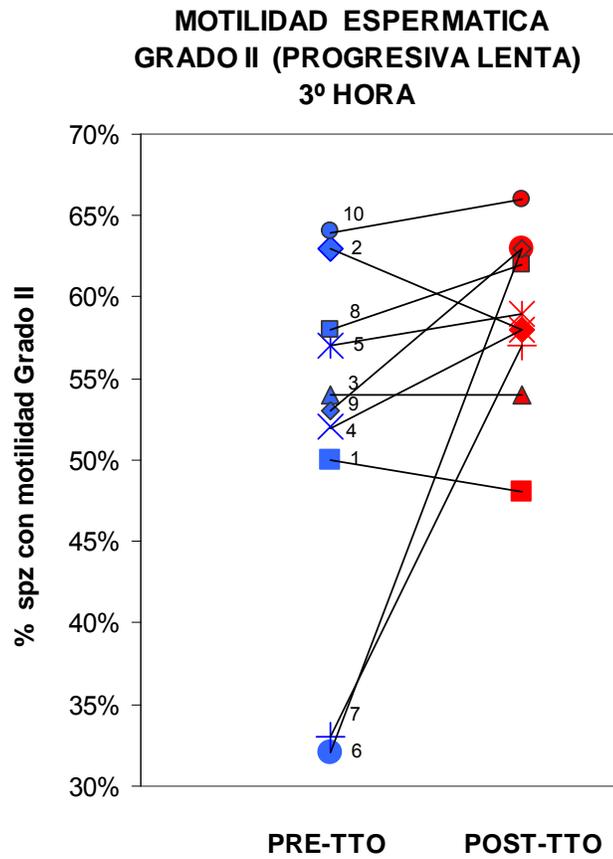


Figura 15. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado II a la tercera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

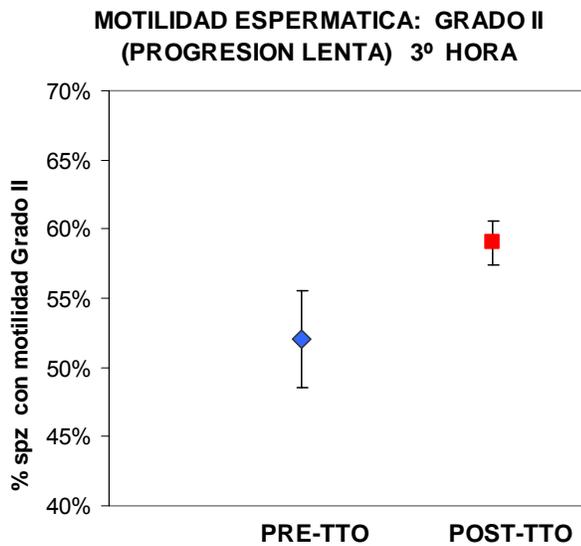


Figura 16. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado II a la tercera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio ± error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa evidentes diferencias entre ambos tiempos.

5. MOTILIDAD ESPERMÁTICA PROGRESIVA (GRADO III + GRADO II) A LA PRIMERA HORA

Los resultados muestran que a la primera hora existe un evidente aumento de la motilidad progresiva en nueve sujetos (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 y 10) en un promedio de 12,5% después del tratamiento, el sujeto 5 mantiene sus valores iniciales ($p < 0.01$).

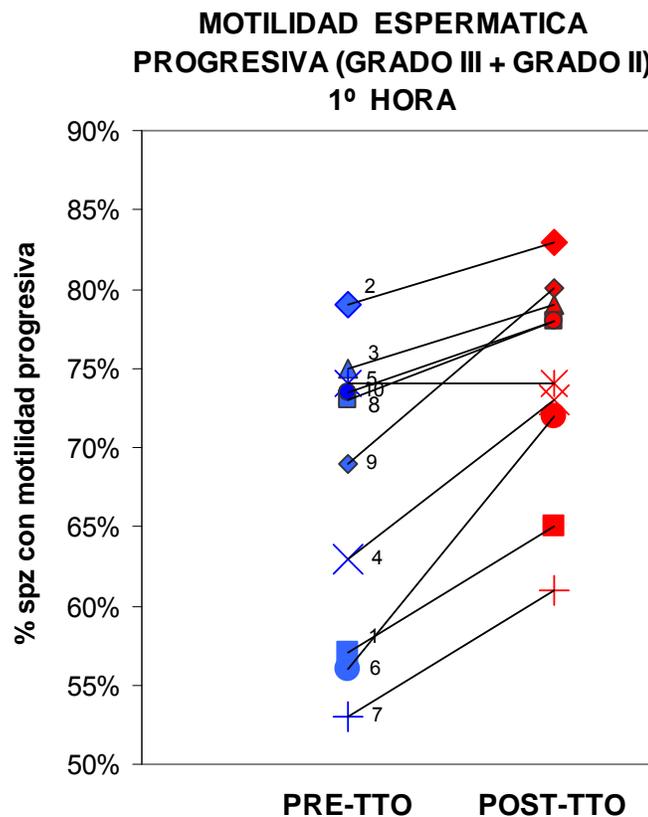


Figura 17. Porcentaje de espermatozoides con Motilidad Progresiva a la primera hora, antes y después del tratamiento. Valor de Referencia según la OMS: $\geq 50\%$ spz Grado III + II. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.01$).

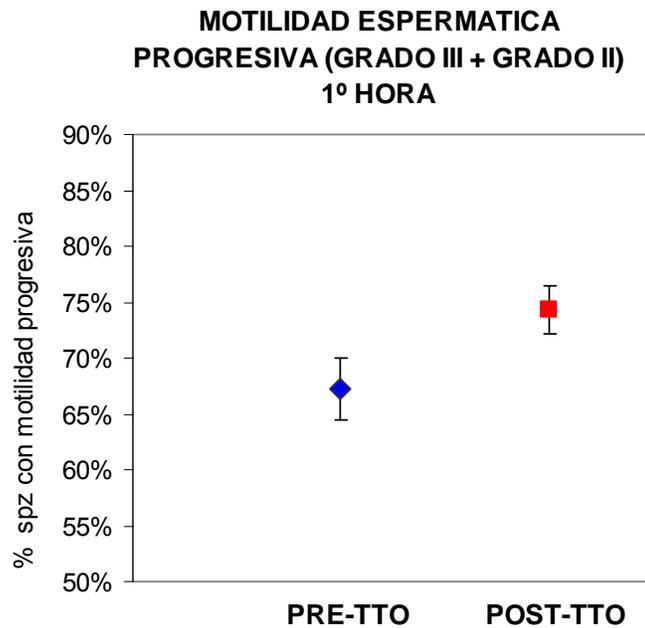


Figura 18. Porcentaje de espermatozoides con Motilidad Progresiva a la primera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa evidentes diferencias entre el pre-tratamiento y el post-tratamiento.

6. MOTILIDAD ESPERMATICA PROGRESIVA (GRADO III + GRADO II) A LA TERCERA HORA

En la tercera hora los resultados muestran que en dos sujetos (6 y 7) hay un evidente aumento de la motilidad en un promedio de 86,5 % después del tratamiento, siete sujetos (2, 3, 4, 5, 8, 9 y 10) aumentan en un promedio de 12% y el sujeto 1 mantiene su valor inicial ($p < 0.05$).

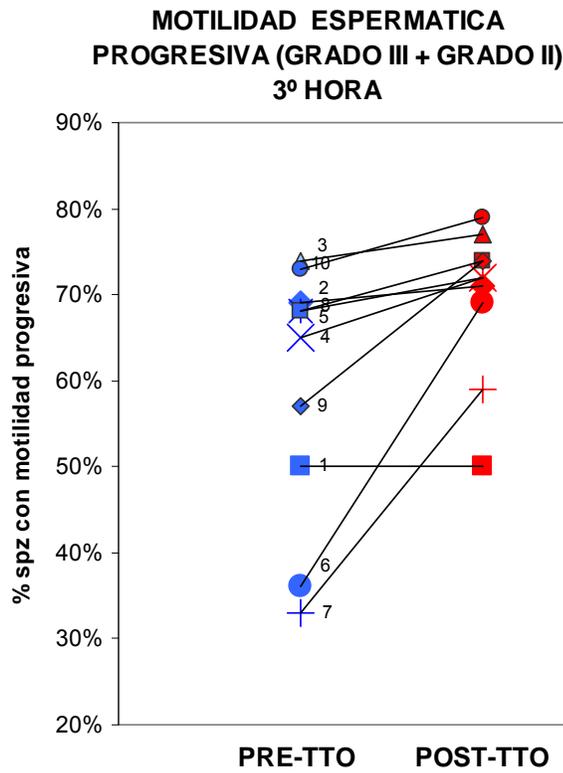


Figura 19. Porcentaje de espermatozoides con Motilidad Progresiva a la tercera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.05$).

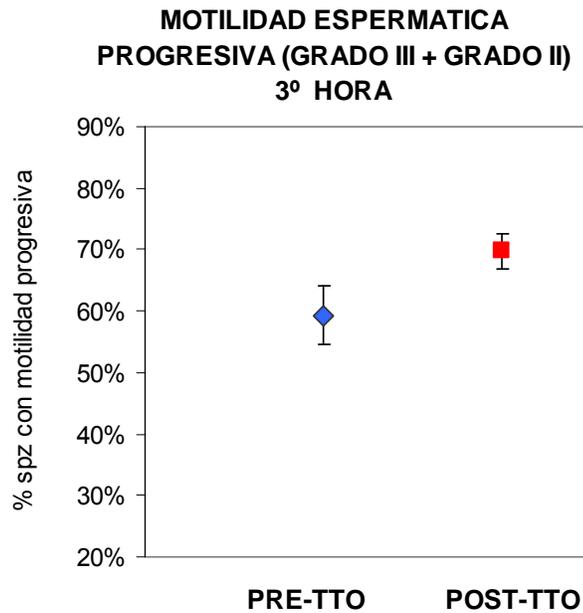


Figura 20. Porcentaje de espermatozoides con Motilidad Progresiva a la tercera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales de la motilidad progresiva a la tercera hora muestra diferencias evidentes.

7. MOTILIDAD DE GRADO I A LA PRIMERA HORA

La motilidad Grado I a la primera hora muestra respuestas con tendencia a la disminución, los resultados muestran que de 10 sujetos estudiados, ocho sujetos (1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 y 10) tienden a disminuir el porcentaje de espermatozoides con motilidad “in situ” después del tratamiento en un promedio de 30%, en tanto que los otros dos sujetos (5 y 6) mantienen sus valores iniciales ($p < 0.01$).

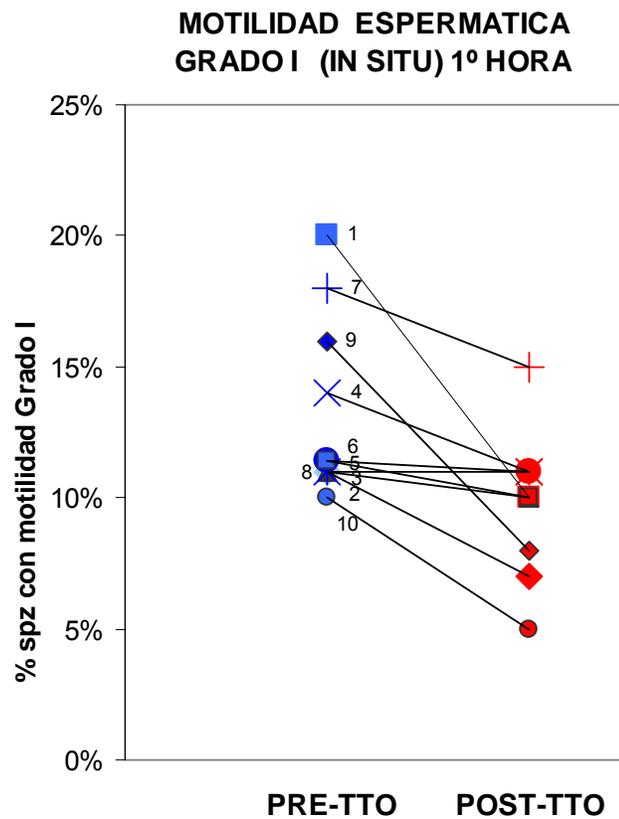


Figura 21. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado I a la primera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.01$).

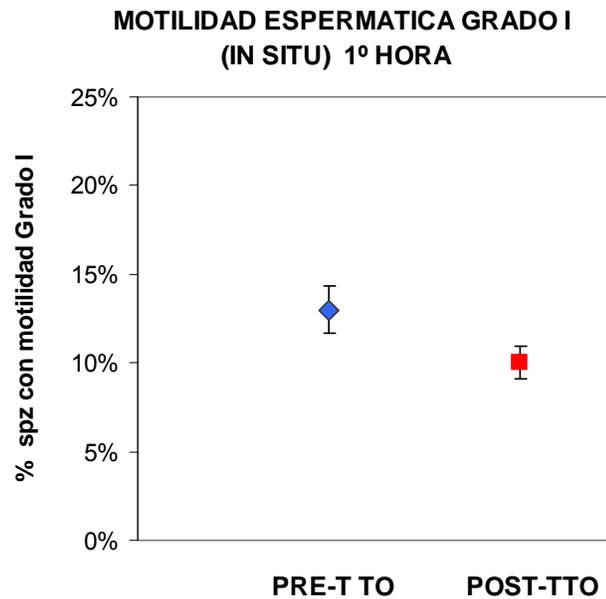


Figura 22. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado I a la primera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales demuestra evidentes diferencias entre ambos grupos.

8. MOTILIDAD DE GRADO I A LA TERCERA HORA

Los resultados a la tercera hora muestran que de 10 sujetos estudiados, ocho sujetos (1, 2, 4, 5, 6, 7, 9 y 10) tienden a disminuir el porcentaje de espermatozoides con motilidad “in situ” después del tratamiento en un promedio de 37%, este porcentaje incluye los dos sujetos (6 y 7) que embarazaron a sus parejas, el sujeto 8 mantiene el valor inicial, en tanto que el sujeto 3 aumenta ($p < 0.05$).

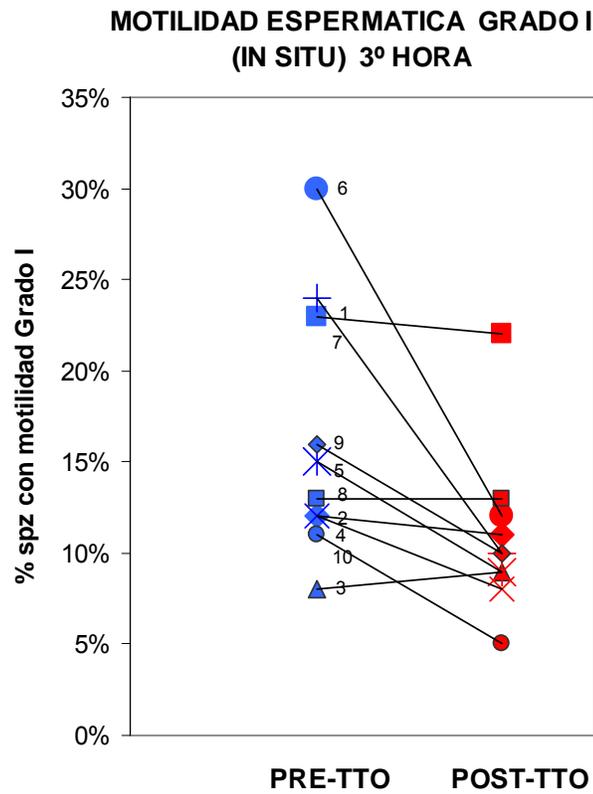


Figura 23. Porcentaje de espermatozoides con motilidad Grado I a la tercera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.05$).

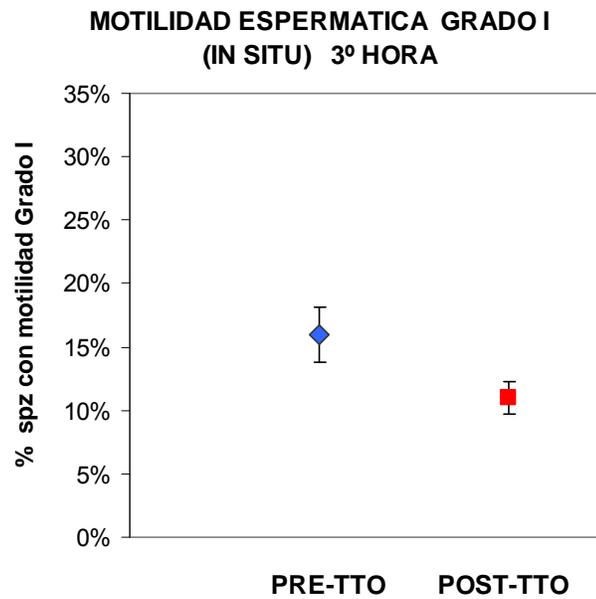


Figura 24. Motilidad Espermática Grado I a la tercera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales, de la motilidad espermática de Grado I a la tercera hora, muestra evidentes diferencias entre ambos grupos.

9. MOTILIDAD DE GRADO 0 A LA PRIMERA HORA

Los valores de motilidad Grado 0 en la primera hora, muestran que de 10 sujetos estudiados, seis sujetos (3, 4, 6, 7, 8 y 9) tienden a disminuir el porcentaje de espermatozoides inmóviles después del tratamiento, en un promedio de 25,5%, dos sujetos (5 y 10) mantienen los valores iniciales, en tanto que los otros dos sujetos (1 y 2) aumentan este porcentaje en un promedio de 9% (p: NS).

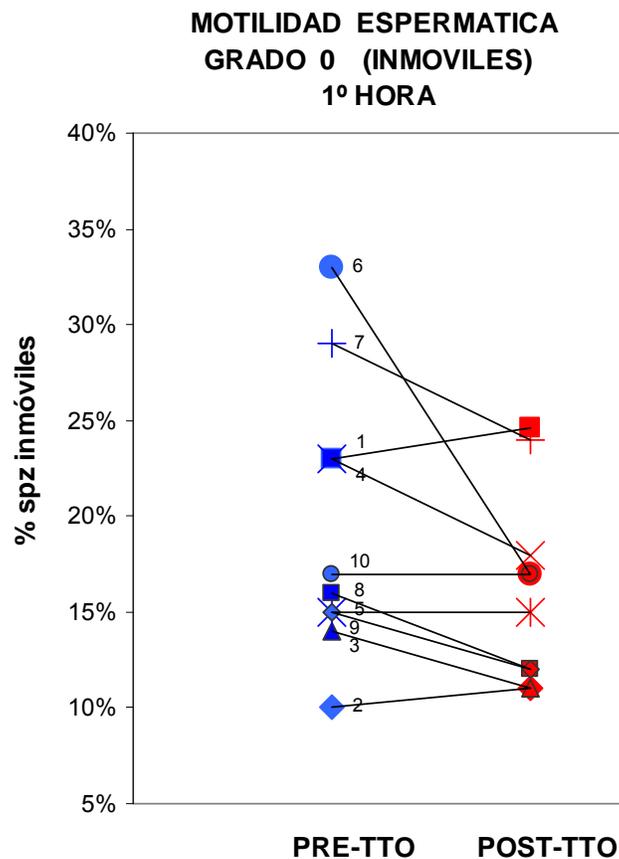


Figura 25. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado 0 a la primera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

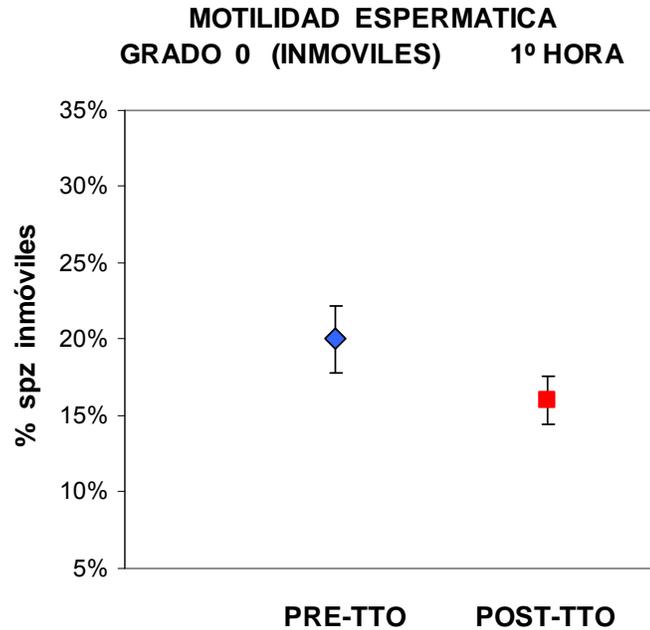


Figura 26. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado 0 a la primera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales demuestra evidentes diferencias entre ambos tiempos.

10. MOTILIDAD DE GRADO 0 A LA TERCERA HORA

La motilidad Grado 0 a la tercera hora muestra que de 10 sujetos estudiados, siete (2, 3, 4, 6, 7, 8 y 9) tienden a disminuir el porcentaje de espermatozoides inmóviles después del tratamiento en un promedio de 27%, el sujeto 10 mantiene el porcentaje de espermatozoides inmóviles, en tanto que dos sujetos (1 y 5) aumentan este porcentaje en un promedio de 8%. ($p < 0.05$).

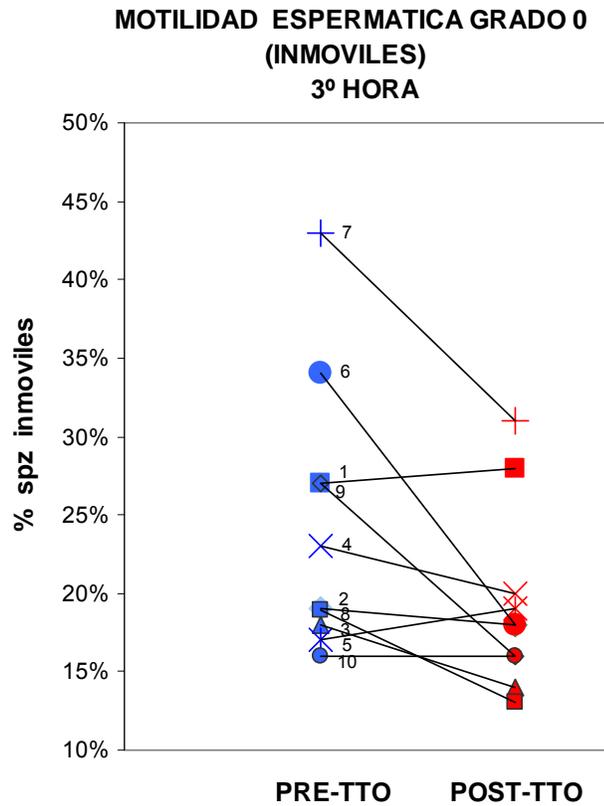


Figura 27. Porcentaje de espermatozoides con motilidad Grado 0 a la tercera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.05$).

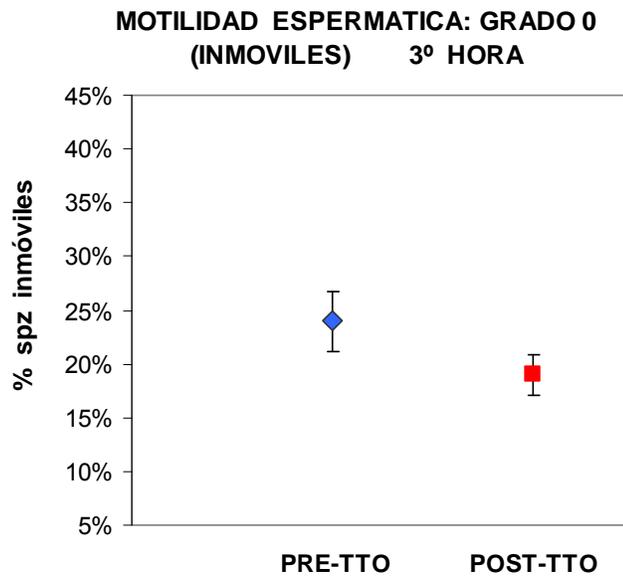


Figura 28. Porcentaje de espermatozoides con motilidad de tipo Grado 0 a la tercera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales, de la motilidad espermática de Grado 0, demuestra evidentes diferencias entre ambos grupos.

D. VITALIDAD ESPERMÁTICA

1. ESPERMATOZOIDES VIVOS A LA PRIMERA HORA

La vitalidad espermática en la primera hora muestra que de 10 sujetos estudiados, cuatro sujetos (1, 6, 8 y 9) tienden a aumentar el porcentaje de espermatozoides vivos después del tratamiento en un promedio de 6%, dos sujetos (7 y 10) mantienen el porcentaje de espermatozoides vivos, en tanto que los otros cuatro sujetos (2, 3, 4 y 5) disminuyen el porcentaje de espermatozoides vivos en un promedio de 3%. (p: NS).

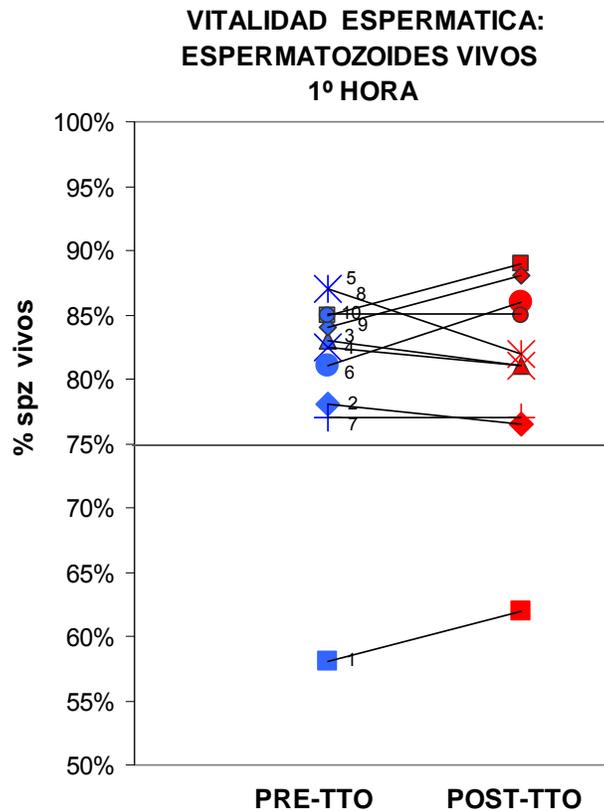


Figura 29. Porcentaje de Espermatozoides Vivos a la primera hora, antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $\geq 75\%$ spz vivos. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

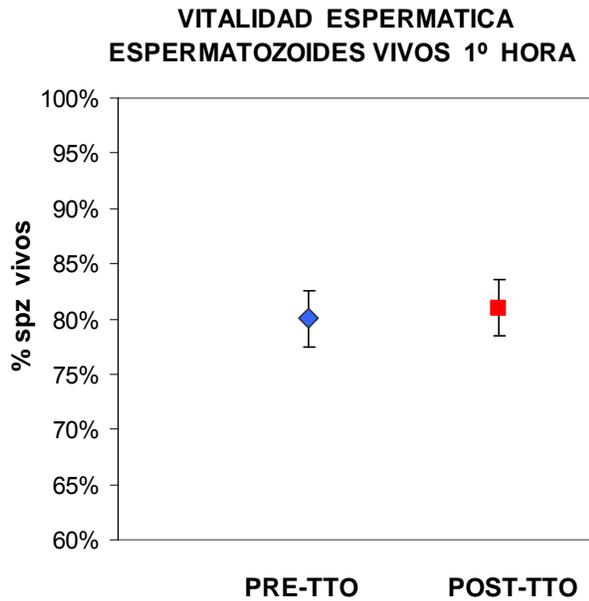


Figura 30. Porcentaje de Espermatozoides vivos a la primera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la primera hora la comparación de medias poblacionales no demuestra diferencias evidentes entre ambos tiempos.

2. ESPERMATOZOIDES VIVOS A LA TERCERA HORA

La vitalidad en la tercera muestra que de 10 sujetos estudiados, ocho (1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 y 10) tienden a aumentar el porcentaje de espermatozoides vivos después del tratamiento en un promedio de 7%, en tanto que los otros dos sujetos (5 y 6) disminuyen el porcentaje de espermatozoides vivos en un promedio de 2,5%. ($p < 0.01$).

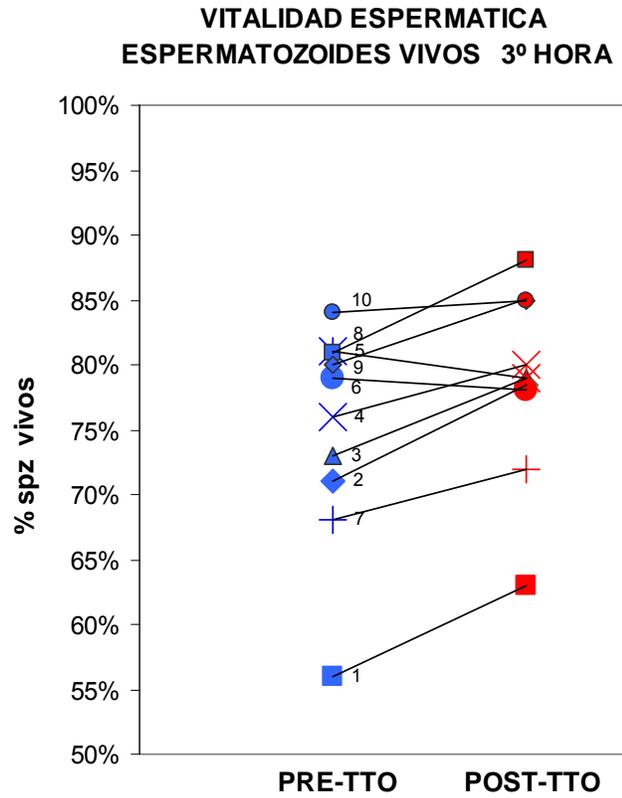


Figura 31. Porcentaje de Espermatozoides Vivos a la tercera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.01$).

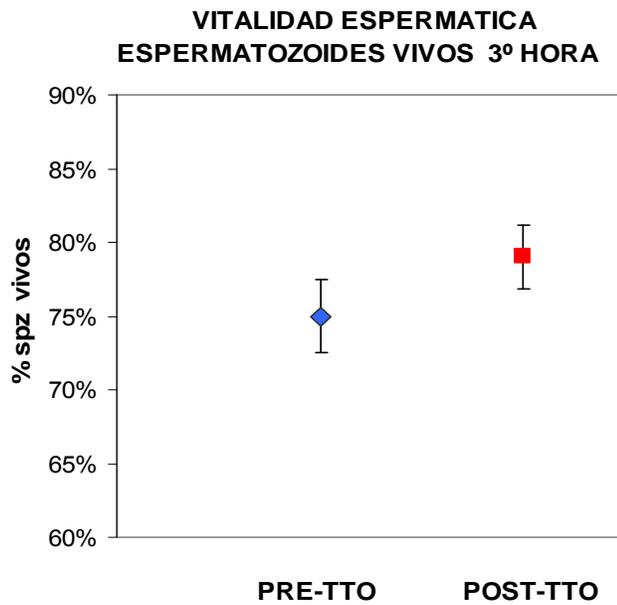


Figura 32. Porcentaje de Espermatozoides vivos a la tercera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la tercera hora la comparación de medias poblacionales demuestra diferencias evidentes entre ambos tiempos.

3. ESPERMATOZOIDES MUERTOS A LA PRIMERA HORA

Los resultados, en los diez sujetos estudiados, muestran que los espermatozoides muertos en la primera tienen la distribución contraria a los valores de espermatozoides vivos, donde cuatro sujetos (1, 6, 8 y 9) tienden a disminuir el porcentaje de espermatozoides muertos después del tratamiento en un promedio de 6%, dos sujetos (7 y 10) mantienen el porcentaje de espermatozoides muertos, en tanto que los otros cuatro sujetos (2, 3, 4 y 5) aumentan el porcentaje de espermatozoides muertos después del tratamiento en un promedio de 3%. (p: NS).

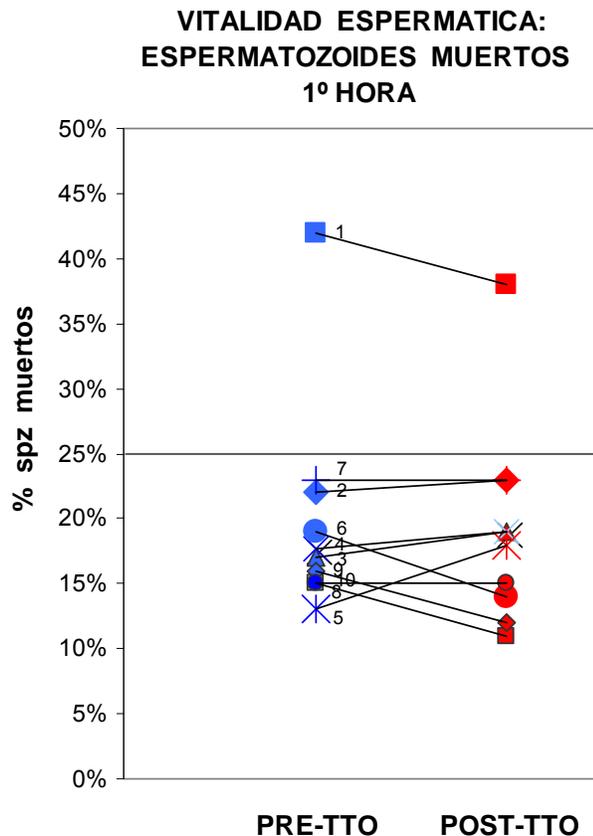


Figura 33. Porcentaje de Espermatozoides muertos a la primera hora, antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $\leq 25\%$ spz muertos. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

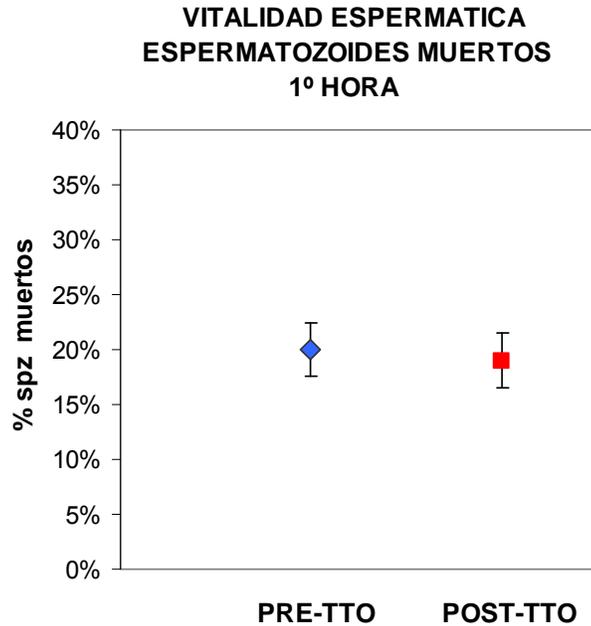


Figura 34. Porcentaje de Espermatozoides muertos a la primera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la primera hora la comparación de medias poblacionales no demuestra diferencias evidentes entre ambos tiempos.

4. ESPERMATOZOIDES MUERTOS A LA TERCERA HORA

A la tercera los resultados muestran que de 10 sujetos estudiados, ocho sujetos (1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 y 10) tienden a disminuir el porcentaje de espermatozoides muertos después del tratamiento en un promedio de 7%, en tanto que los otros dos sujetos (5 y 6) aumentan el porcentaje de espermatozoides muertos después del tratamiento en un promedio aproximado de 2,5% ($p < 0.01$).

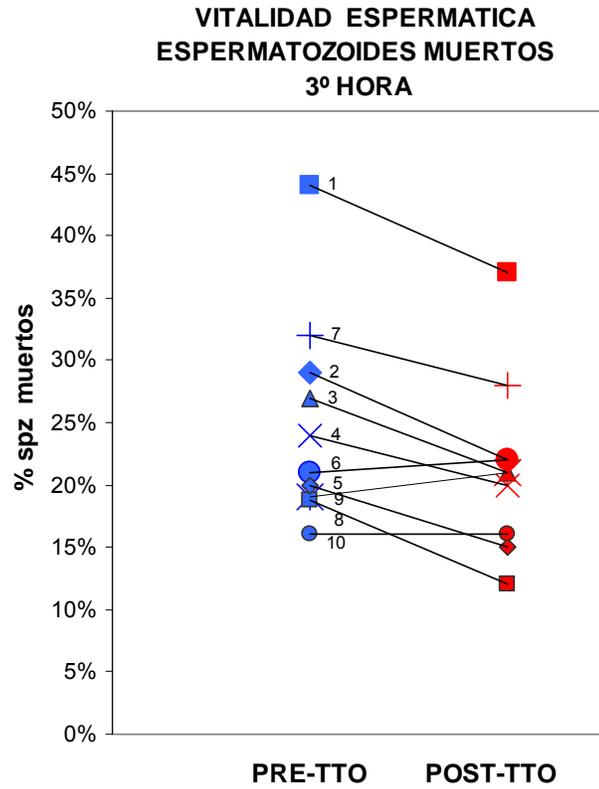


Figura 35. Porcentaje de Espermatozoides muertos a la tercera hora, antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.01$).

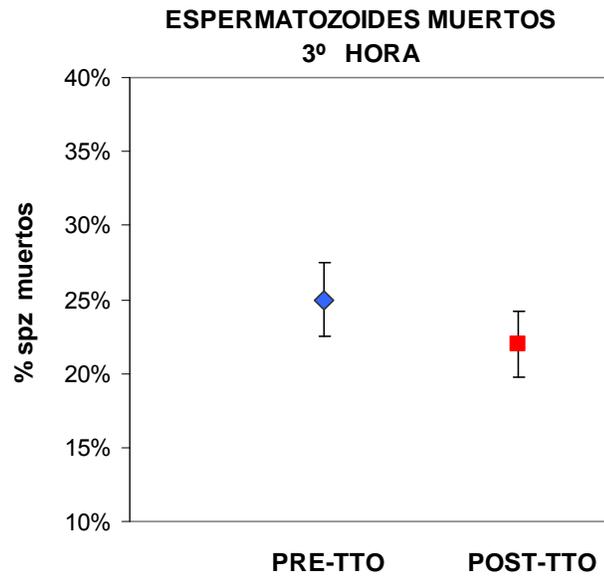


Figura 36. Porcentaje de Espermatozoides muertos a la tercera hora antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales a la tercera hora demuestra diferencias evidentes.

E. MORFOLOGIA ESPERMATICA

1. ESPERMATOZOIDES NORMALES:

Los resultados de la morfología espermática, en 10 sujetos estudiados, muestran que nueve de ellos (1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 y 10) tienden a aumentar el porcentaje de espermatozoides normales después del tratamiento en un promedio aproximado de 18% y el sujeto 6 disminuye el porcentaje de espermatozoides normales después del tratamiento en 2,5% ($p < 0.01$).

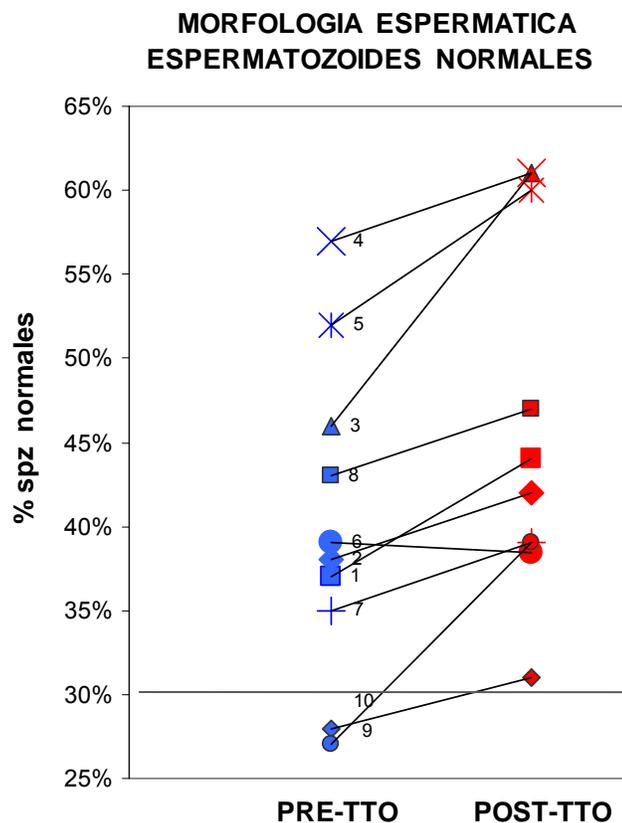


Figura 37. Porcentaje de Espermatozoides con morfología normal antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $\geq 30\%$ spz normales. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.01$).

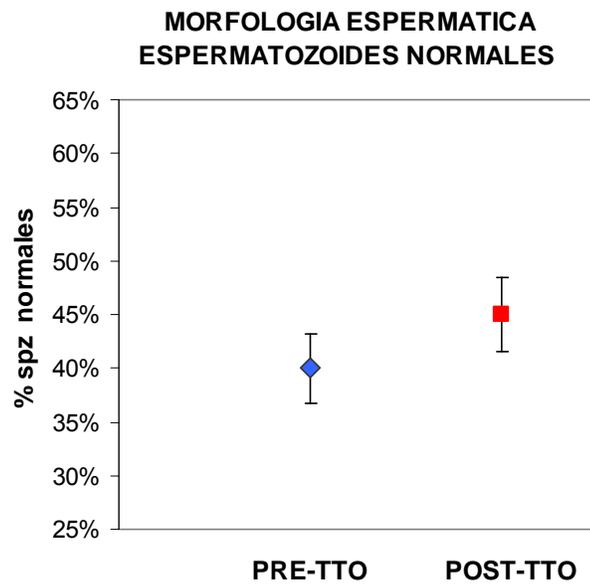


Figura 38. Porcentaje de Espermatozoides con morfología normal antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias acentuadas entre ambos tiempos.

2. ESPERMATOZOIDES ANORMALES:

El porcentaje de espermatozoides anormales en 10 sujetos estudiados, muestra que en nueve de ellos (1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 y 10) tienden a disminuir después del tratamiento en un promedio de 12%, y el sujeto 6 aumenta el porcentaje de espermatozoides anormales en 1,6% después del tratamiento ($p < 0.01$).

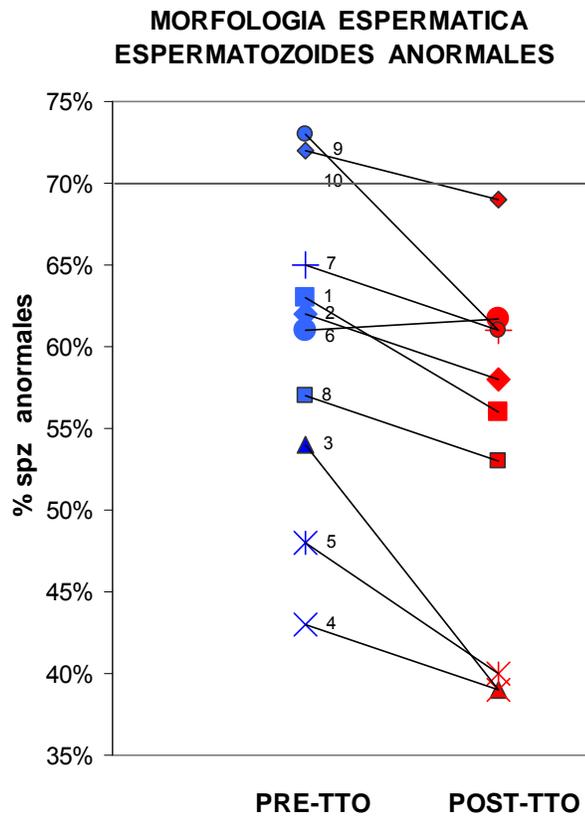


Figura 39. Porcentaje de Espermatozoides Anormales antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: $\leq 70\%$. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.01$).

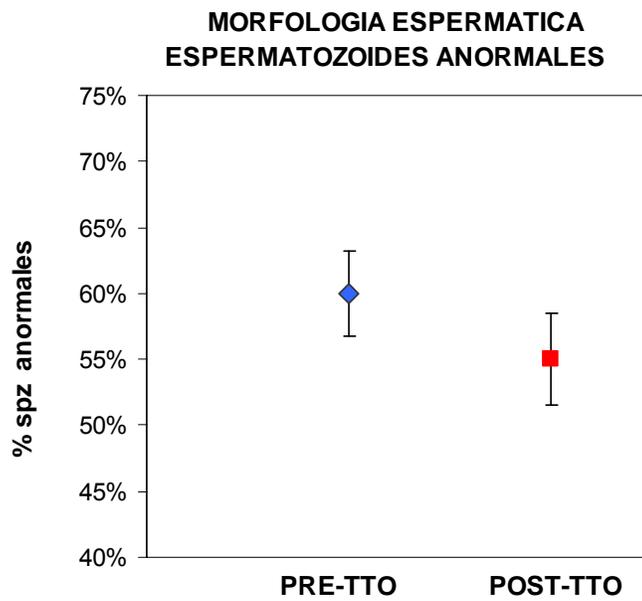


Figura 40. Porcentaje de Espermatozoides Anormales antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias entre ambos grupos.

a. ESPERMATOZOIDES CON DEFECTOS DE CABEZA

Los resultados muestran que los defectos de cabeza tienen respuestas muy variables en 10 sujetos estudiados, cinco sujetos del grupo (3, 5, 7, 8 y 10) muestran una disminución después del tratamiento en un porcentaje de 16%, por el contrario cuatro sujetos (1, 2, 4 y 9) muestran un aumento del número de espermatozoides con defectos de cabeza en un porcentaje de 16%, finalmente el sujeto 6 mantiene el valor inicial (p: NS).

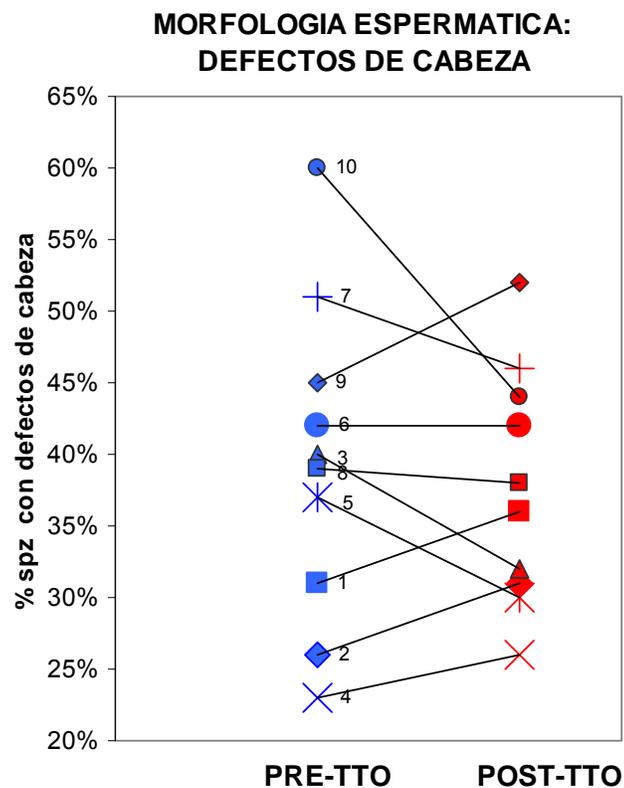


Figura 41. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cabeza antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

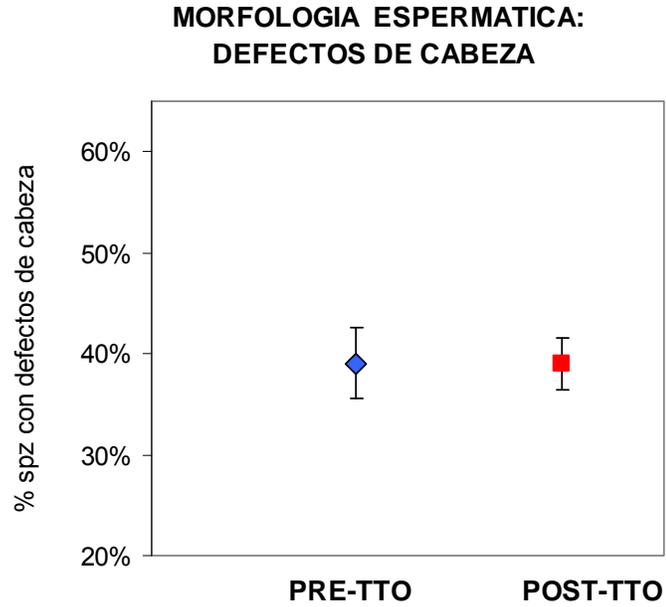


Figura 42. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cabeza antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

La comparación de medias poblacionales no demuestra diferencias entre los valores de pre tratamiento y el pos tratamiento.

b. ESPERMATOZOIDES CON DEFECTOS DE CUELLO

Los resultados de los espermatozoides con defectos de cuello muestran que de 10 sujetos estudiados, siete (1, 2, 3, 4, 6, 8 y 9) muestran una evidente disminución después del tratamiento en un promedio de 25% y tres sujetos (5, 7 y 10) muestran un aumento en sus valores (p: NS).

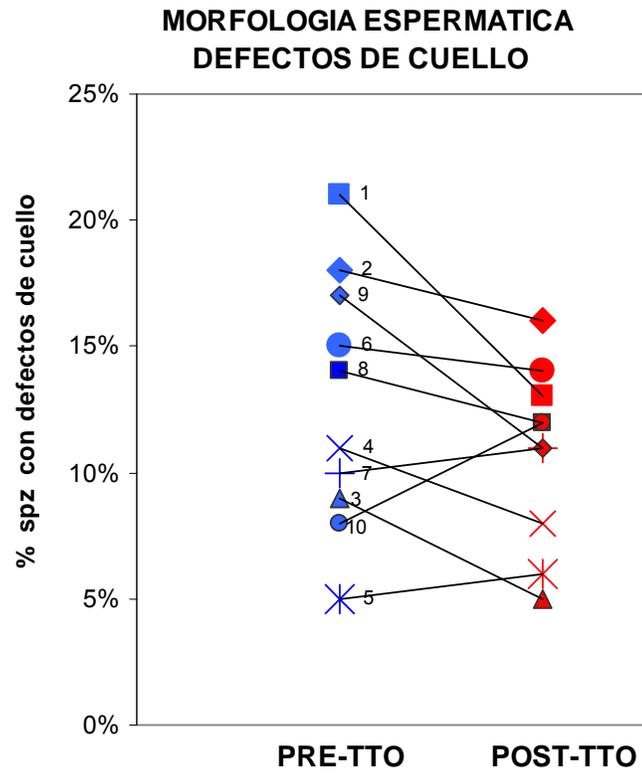


Figura 43. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cuello antes y después del tratamiento. Sin valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

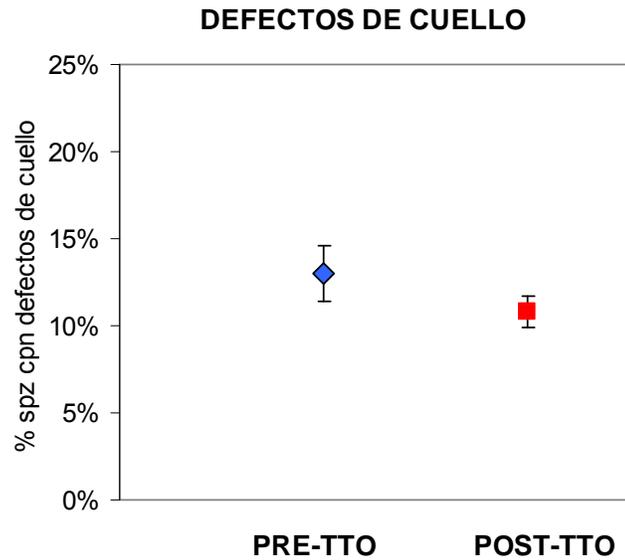


Figura 44. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cuello antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias evidentes entre ambos grupos.

c. ESPERMATOZOIDES CON DEFECTOS DE COLA

La morfología espermática en cuanto a defectos de cola muestra una tendencia general a la disminución de sus valores después del tratamiento, siete sujetos (1, 2, 3, 4, 5, 8, y 9) muestran un evidente descenso de sus valores iniciales en un promedio de 40%, dos sujetos (7 y 10) mantienen sus valores iniciales y el sujeto 6 muestran una elevación de sus valores después del tratamiento ($p < 0.05$).

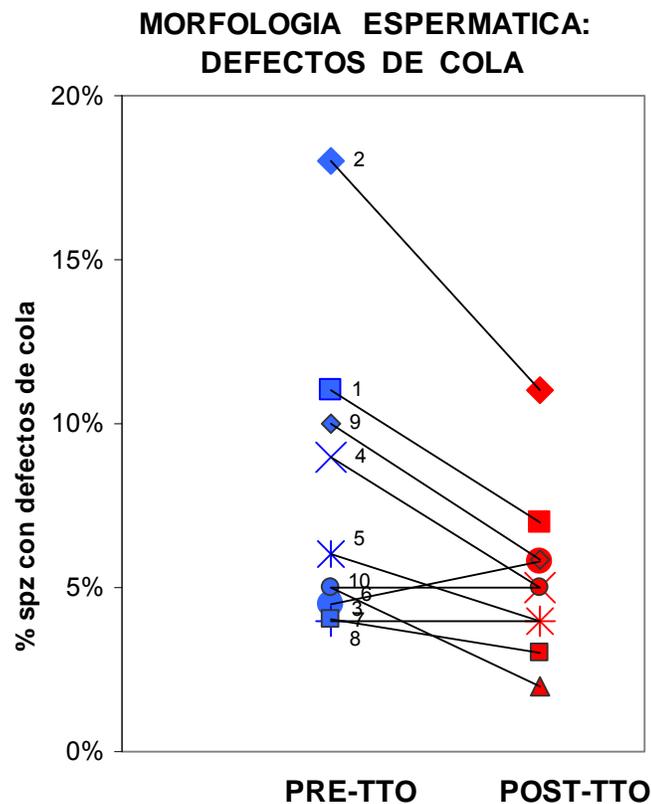


Figura 45. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cola antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.05$).

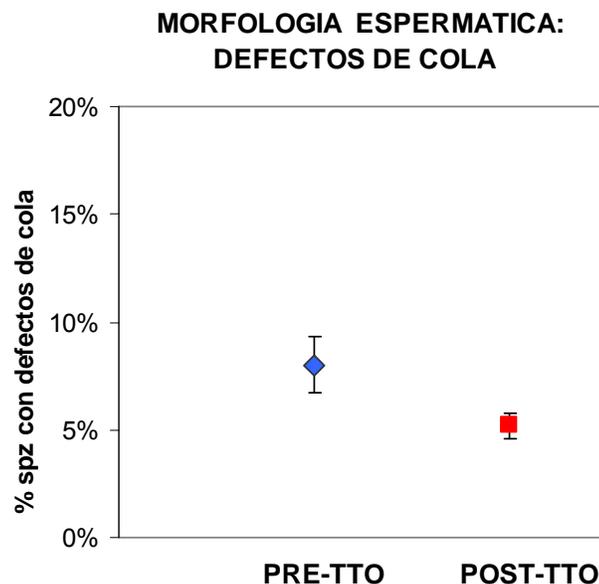


Figura 46. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cola antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias evidentes entre ambos tiempos.

1) ESPERMATOZOIDEOS CON COLA ENROLLADA:

En los defectos de cola enrollada se muestra una tendencia general a la disminución de sus valores después del tratamiento, siete sujetos (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 9) muestran un evidente descenso de sus valores iniciales en un promedio de 116%, dos sujetos (7 y 8) mantienen sus valores iniciales y el sujeto 10 muestra una elevación después del tratamiento ($p < 0.05$).

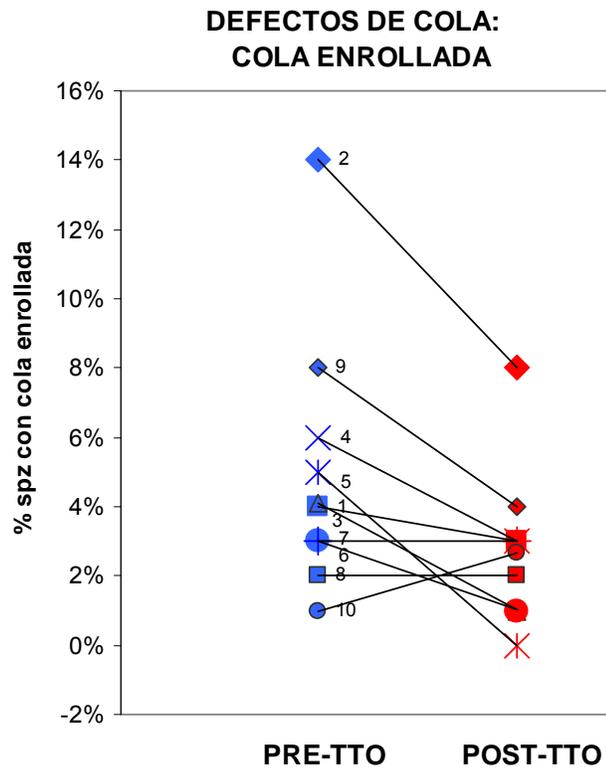


Figura 47. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cola enrollada antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.05$).

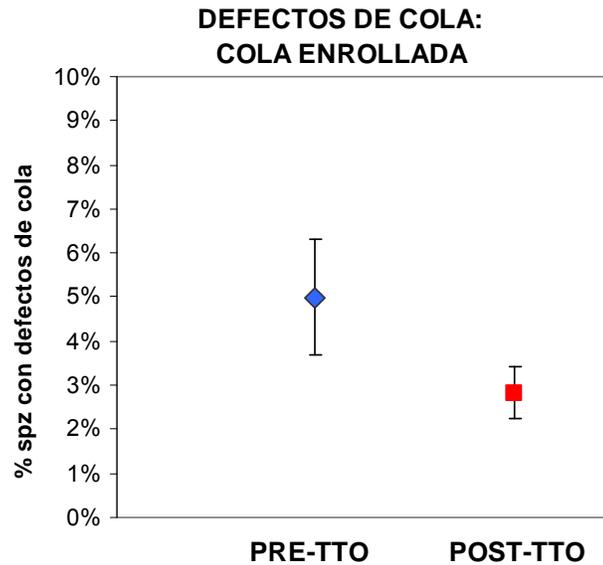


Figura 48. Porcentaje de Espermatozoides con defectos de cola enrollada antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias evidentes entre ambos tiempos.

2) ESPERMATOZOIDES SIN COLA:

En los espermatozoides sin cola se muestra una tendencia a la disminución de sus valores después del tratamiento, cinco sujetos (1, 2, 4, 7, y 10) muestran un evidente descenso de sus valores iniciales en un promedio de 73%, tres sujetos (3, 8 y 9) mantienen sus valores iniciales y dos (5 y 6) muestran una elevación después del tratamiento (p: NS).

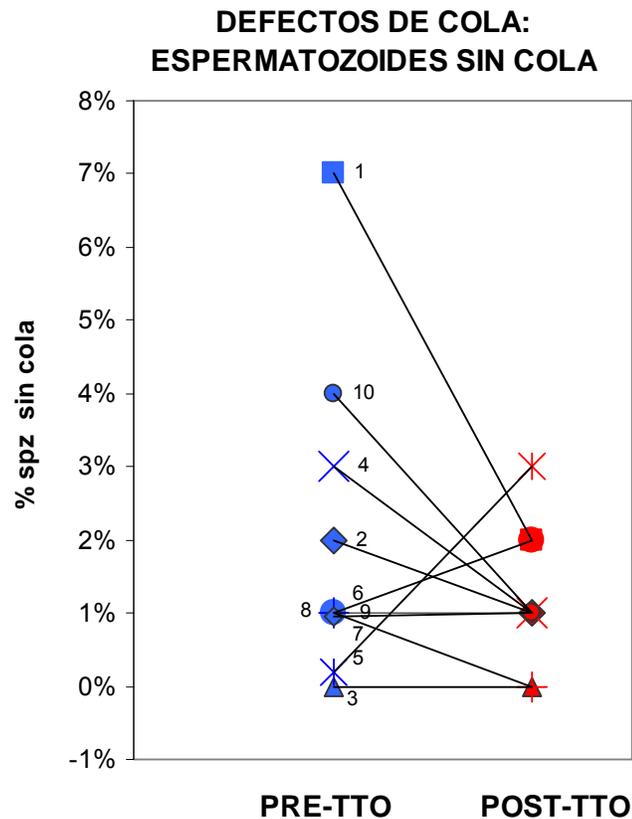


Figura 49. Porcentaje de Espermatozoides sin cola antes y después del tratamiento. Sin Valor de Referencia. Los iconos y números representan a los pacientes. (p: NS).

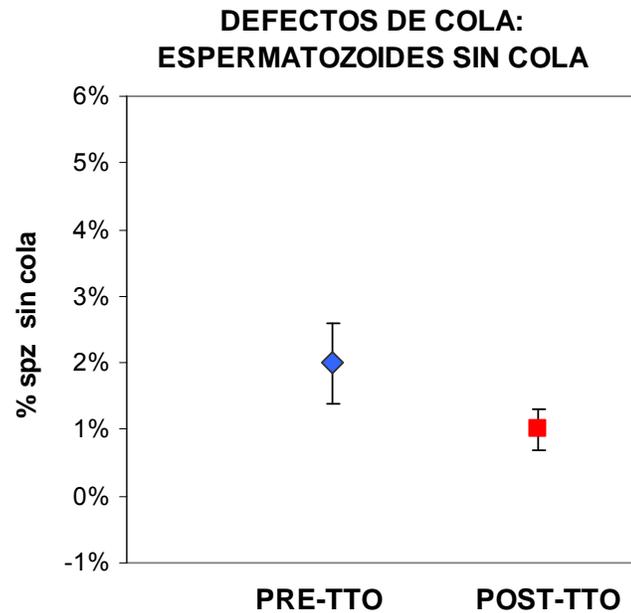


Figura 50. Porcentaje de Espermatozoides sin cola antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias evidentes entre ambos tiempos.

F. CELULAS GERMINALES

La presencia de células Germinales en los 10 sujetos estudiados muestra una tendencia general a disminuir, después del tratamiento, nueve sujetos (1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10) muestran una disminución evidente en un promedio de 39%, en tanto que el sujeto 3 mantiene el valor inicial ($p < 0.01$).

TABLA 1. PRESENCIA DE CELULAS GERMINALES O INMADURAS

PACIENTE	ESPERMATOGONIA (%)		ESPERMATOCITO 1º (%)		ESPERMATOCITO 2º (%)		ESPERMATIDES (%)	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
Lib-LmV001	1	0	1	0	1	1	2	1
Lib-LmV002	1	1	3	3	4	3	10	7
Lib-LmV003	0	0	1	0	0	1	2	2
Lib-LmV004	0	0	0	1	0	0	5	3
Lib-LmV005	0	0	0	0	1	0	1	1
Lib-LmV006	0	0	2	0	0	1	2	2
Lib-LmV007	0	0	2	0	0	2	2	1
Lib-LmV008	0	0	0	0	2	1	1	1
Lib-LmV009	0	0	3	0	1	2	2	1
Lib-LmV010	0	0	1	0	3	1	2	1

Valores de los parámetros seminales de los pacientes antes y después del tratamiento

CELULAS GERMINALES

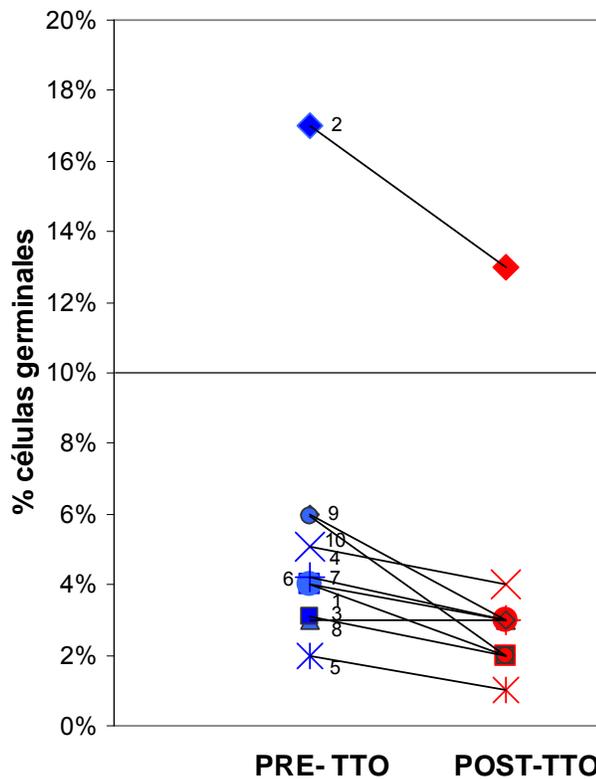


Figura 51. Porcentaje de Células Germinales o Inmaduras en el eyaculado antes y después del tratamiento. Valor de Referencia establecido por la OMS: Hasta 10%. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.01$).

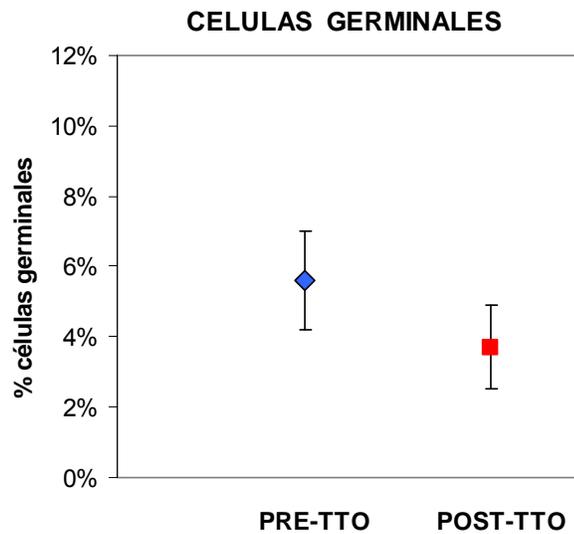


Figura 52. Porcentaje de Células Germinales o Inmaduras antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias entre el pre-tratamiento y el post-tratamiento.

G. CONCENTRACION DE TESTOSTERONA

Los valores de Testosterona en los sujetos estudiados muestran una tendencia general a la disminución, de 10 pacientes estudiados, ocho de ellos (2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 y 10) muestran disminución, el sujeto 1 muestra un discreto aumento y el sujeto 4 muestra un aumento importante en relación a sus valores iniciales ($p < 0.05$).

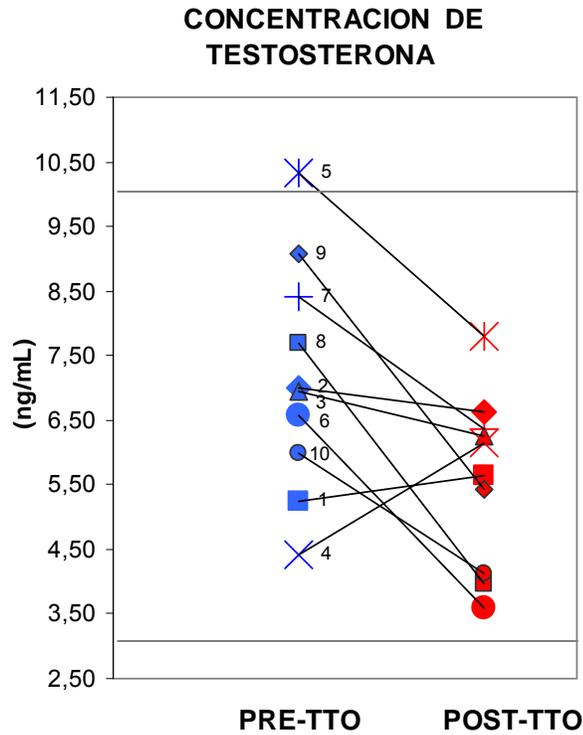


Figura 53. Concentración de Testosterona antes y después del tratamiento. Valor de Referencia: 3 – 10 ng/mL. Los iconos y números representan a los pacientes. ($p < 0.05$).

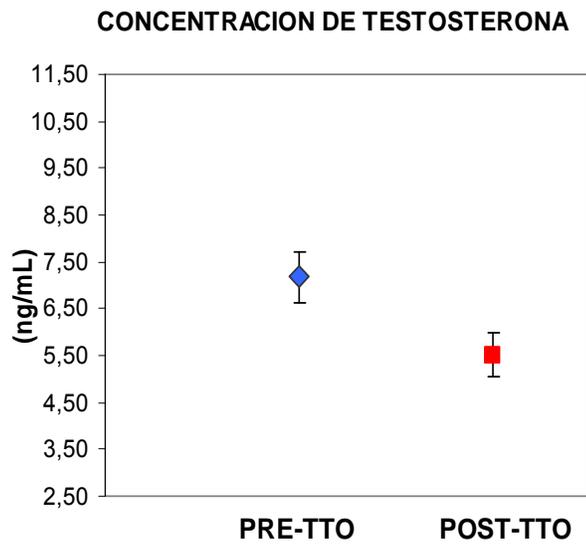


Figura 54. Concentración de Testosterona antes y después del tratamiento, expresado en promedio \pm error estándar.

En la comparación de medias poblacionales se observa diferencias evidentes entre ambos grupos.

Tabla 2. RESULTADOS DEL ESTUDIO OBTENIDOS EN EL CONJUNTO DE SUJETOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON *Lepidium meyenii* (Maca)

Variable	Pre-Tratamiento*	Post-Tratamiento*	Valor p
Volumen (mL)	2.3 ± 1.65	2.5 ± 1.15	NS
Recuento Espermático (por mL)**	7.88 ± 0.49	7.96 ± 0.45	NS
Recuento Espermático Total (por eyaculado)**	8.11 ± 0.60	8.32 ± 0.44	NS
Motilidad Espermática Grado III 1° Hora (%)	10 ± 0.06	15 ± 0.07	< 0.001
Motilidad Espermática Grado III 3° Hora (%)	8 ± 0.06	11 ± 0.06	< 0.001
Motilidad Espermática Grado II 1° Hora (%)	58 ± 0.04	60 ± 0.04	NS
Motilidad Espermática Grado II 3° Hora (%)	52 ± 0.11	59 ± 0.05	NS
Motilidad Espermática Grado III + II 1° Hora (%)	67.2 ± 0.09	74.3 ± 0.07	< 0.01
Motilidad Espermática Grado III + II 3° Hora (%)	59.3 ± 0.15	69.7 ± 0.09	< 0.05
Vitalidad: Espermatozoides vivos 1° Hora (%)	80 ± 0.08	81 ± 0.08	NS
Vitalidad: Espermatozoides vivos 3° Hora (%)	75 ± 0.08	79 ± 0.07	< 0.01
Morfología: Espermatozoides Normales (%)	40 ± 0.10	45 ± 0.11	< 0.01
Células Germinales o Inmaduras (%)	5.6 ± 0.045	3.7 ± 0.037	< 0.01
Concentración de Testosterona (ng/mL)	7.17 ± 1.78	5.51 ± 1.45	< 0.05

n = 10

* **Expresado en Media ± Desviación Estándar**

**Expresados en logaritmos

Tabla 3. RESULTADOS DEL ESTUDIO OBTENIDOS EN EL CONJUNTO DE SUJETOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON *Lepidium meyenii* (Maca)

Variable	Pre-Tratamiento*	Post-Tratamiento*	Valor p .0
Volumen (mL)	2.3 ± 0.52	2.5 ± 0.36	NS
Recuento Espermático (por mL)**	7.88 ± 0.15	7.96 ± 0.14	NS
Recuento Espermático Total (por eyaculado)**	8.11 ± 0.19	8.32 ± 0.14	NS
Motilidad Espermática Grado III 1° Hora (%)	10 ± 0.019	15 ± 0.022	< 0.001
Motilidad Espermática Grado III 3° Hora (%)	8 ± 0.019	11 ± 0.019	< 0.001
Motilidad Espermática Grado II 1° Hora (%)	58 ± 0.016	60 ± 0.013	NS
Motilidad Espermática Grado II 3° Hora (%)	52 ± 0.035	59 ± 0.016	NS
Motilidad Espermática Grado III + II 1° Hora (%)	67.2 ± 0.028	74.3 ± 0.022	< 0.01
Motilidad Espermática Grado III + II 3° Hora (%)	59.3 ± 0.047	69.7 ± 0.028	< 0.05
Vitalidad: Espermatozoides vivos 1° Hora (%)	80 ± 0.025	81 ± 0.025	NS
Vitalidad: Espermatozoides vivos 3° Hora (%)	75 ± 0.025	79 ± 0.022	< 0.01
Morfología: Espermatozoides Normales (%)	40 ± 0.032	45 ± 0.035	< 0.01
Células Germinales o Inmaduras (%)	5.6 ± 0.014	3.7 ± 0.012	< 0.01
Concentración de Testosterona (ng/mL)	7.17 ± 0.56	5.51 ± 0.46	< 0.05

n = 10

* **Expresado en Media ± Error Estándar**

**Expresados en logaritmos

X. DISCUSIÓN-

Los casos de infertilidad son de elevado interés público; aproximadamente un 40% de los casos se debe a fallas en el sexo masculino (OMS, 1992; Zini et al 1993). Las terapias empleadas en el tratamiento de la infertilidad masculina suelen ser costosas e ineficaces y generalmente conducen a técnicas de reproducción asistida, cuyas tasas de gestación son bajas (Matorras, 2002; Nuñez et al, 2001). Actualmente el uso de terapias alternativas ha aumentado considerablemente en países desarrollados (Corns, 2003; Rousseauxy Schachter, 2003).

Desde épocas antiguas se han utilizado plantas medicinales para tratar diversos aspectos de la esfera sexual y la fertilidad; una de ellas es *Lepidium meyenii* (Maca) planta altoandina que desde tiempos ancestrales fue utilizada para mejorar la fertilidad en hombres y animales (Obregón, 1998). En su composición se encuentra alcaloides, esteroides, glucosinolatos e isotiocianatos, que probablemente sean responsables de las acciones moduladoras a nivel hormonal (Gonzales et al., 2003; Piacente et al., 2002; Valentova and Ulrichova, 2003).

El volumen seminal es un factor importante involucrado en la fertilidad; este está constituido principalmente por los líquidos que aportan las vesículas seminales. Estos contienen fructuosa, aminoácidos, ácido cítrico, fósforo y potasio. También participa el líquido prostático que contiene ácido cítrico, fosfatos ácidos, calcio, zinc, potasio y enzimas. El líquido que aporta el epidídimo está compuesto por L-carnitina y alfa-glucosidasa e intervienen en pequeña proporción los fluidos que secretan las glándulas uretrales y bulbo uretrales. (Gartner, 1997). El volumen seminal esta determinado tanto por factores de tipo endógeno, entre los que resalta la dependencia androgénica como por factores de tipo exógeno tales como factores psicológicos y edad (Teppa y Palacios, 2004; Henkel et al, 2001; Levitas et al., 2007). Un estudio realizado por Gonzales et al. (2001) muestra que existe un aumento del volumen seminal en sujetos que recibieron tratamiento con Maca. En cambio en el presente estudio se pudo evidenciar que el volumen de

eyaculado después del tratamiento con la Maca, durante tres meses, produce mas bien un efecto modulador hacia el rango normal. Como se puede ver en la figura 3, los sujetos que tenían un volumen de eyaculado por debajo o cerca al valor mínimo normal aumentan después del tratamiento, en cambio, los sujetos que presentan el volumen de eyaculado por encima o cerca al valor máximo normal disminuyen después del tratamiento hacia niveles promedio. Esto sugiere que la Maca podría estar actuando sobre un blanco directo, es decir, sobre las glándulas secretoras: vesículas seminales, próstata ó epidídimo.

Por su parte se sabe que la concentración espermática o número de espermatozoides, por volumen definido, depende de la espermatogénesis cuyas fases son altamente influidas por la testosterona la misma que define la proliferación y maduración de las células espermáticas (Geneser, 2000). Según un estudio sobre parámetros seminales se pudo evidenciar que existe un incremento importante en el número de espermatozoides con la edad (Levitas et al., 2007); los estudios realizados en sujetos con tratamiento de Maca (Gonzales et al., 2001) muestran un aumento del números de espermatozoides por mililitro pero presentados como no significativos por el autor. En el presente estudio después del tratamiento con *Lepidium meyenii* (Maca) no se observan variaciones significativas en la concentración espermática por mililitro, a excepción de un sujeto que aumento en un 318% después del tratamiento. En cuanto a la concentración espermática por eyaculado Gonzales et al. (2001) muestran un incremento importante después del tratamiento con Maca, en cambio, en el presente estudio no se halló variaciones en el conjunto de sujetos, pero llama la atención que dos de ellos mostraron un incremento promedio del 572%.

La motilidad espermática está referida al porcentaje de espermatozoides móviles, a cualquier velocidad, donde se considera la progresión lineal como la más frecuente, la cual debe ser mayor al 50%. La motilidad espermática es un indicador crítico de la calidad seminal y la fertilidad (Bartoov et al., 1993; Agarwal et al., 2003).

Los espermatozoides son metabólicamente activos debido a que poseen las enzimas necesarias para llevar a cabo las reacciones bioquímicas de la glucólisis. Bajo condiciones de anaerobiosis desintegran la glucosa, fructosa o manosa para convertirlas en ácido láctico. Esta actividad glucolítica o fructolítica permite que sobrevivan en condiciones de anaerobiosis; en presencia de oxígeno utilizan sustratos como el lactato y piruvato que son capaces de convertir gran cantidad de Adenosin-Trifostato (ATP) por la cadena respiratoria. La mayor parte del ATP se utiliza para los procesos de motilidad que consumen energía; parte de ella se utiliza para mantener la integridad de su membrana (Fernández et al, 2003). Según un estudio en cobayos, se observó que cuando los espermatozoides son incubados en medio químico definido con lactato y piruvato, y está suplementado con glucosa, las células adquieren mayor motilidad; esto indica que la glucosa activa la motilidad del espermatozoide aún en condiciones de respiración espermática disminuida (Mújica et al, 1991).

Gonzales et al. (2001) muestran un incremento importante en el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (Grado III + Grado II). En este estudio se exploró la posibilidad de que el extracto total de *Lepidium meyenii* (Maca) pueda modificar este parámetro en sujetos afectados con infertilidad. Los resultados obtenidos muestran un aumento significativo en la motilidad progresiva, de forma más evidente en la motilidad de Grado III (motilidad progresiva rápida) en donde todos los sujetos mostraron un incremento tanto a la primera hora como a la tercera hora. En la motilidad de Grado II (motilidad progresiva lenta) se observó una respuesta diferenciada en los sujetos: al parecer, los sujetos que tienen menor porcentaje de espermatozoides móviles son los que más responden al tratamiento con Maca en la primera hora pero sobre todo en la tercera hora (Figuras 13 y 15). Se debe hacer notar, que los dos pacientes que tenían el porcentaje de espermatozoides móviles más bajo, son los que mejor respondieron al tratamiento con Maca para la variable motilidad. En la motilidad de Grado I (motilidad in situ) y en la motilidad Grado 0 (inmovilidad), se aprecia el efecto contrario; esto es

debido a que la mejoría en los Grados III y II restan el porcentaje de los grados I y 0.

Estos resultados son congruentes con lo reportado por Gonzales et al. (2001) que muestran un incremento importante en el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (Grado III + Grado II). Estos resultados obtenidos permite sugerir un efecto directo de *Lepidium meyenii* sobre el proceso de motilidad, aunque tal hecho debería ser estudiado con experimentos en cultivo de espermatozoides. Esta actividad podría estar relacionada tanto con la restitución de la síntesis de proteínas como con la mayor disponibilidad del recurso energético (ATP).

En otro orden también se exploró la vitalidad espermática; ésta evalúa la integridad de la membrana del espermatozoide. Los resultados considerados normales de la vitalidad o viabilidad espermática deben ser mayores al 75% (OMS, 2001).

Piomboni et al. (2008) demostraron que el tratamiento con antioxidantes naturales, en sujetos astenoteratozoospermicos (motilidad espermática progresiva < 50% y espermatozoides con morfología normal < 30%) y con leucocitospermia (presencia de leucocitos > 1 000 000/mL), disminuye significativamente el daño en la membrana plasmática del espermatozoide, por lo que hay una considerable reducción de la necrosis celular.

En el presente estudio se observó que existe un aumento significativo de la vitalidad espermática en la tercera hora después del tratamiento con Maca. Esto también sugiere que la Maca podría proporcionar mayor disponibilidad de ATP, lo que no solamente mejora la motilidad espermática, sino también, ayuda a mantener intacta la estructura celular del espermatozoide.

La morfología espermática ha sido correlacionada con la capacidad del espermatozoide para unirse a la zona pelúcida y sobrellevar la reacción acrosomal (Menkveld et al, 1991; Menkveld et al, 1996; Franken et al, 1997; Menkveld et al, 2003). Las alteraciones en la morfología normal de los espermatozoides indican un daño de la espermatogénesis.

Todos los hombres tienen un porcentaje de espermatozoides con formas anormales en el eyaculado. La mayoría de los especialistas en reproducción coinciden en que estos espermatozoides anormales no fertilizarán el óvulo pero que su presencia no aumenta el riesgo de defectos congénitos. Sin embargo, la presencia de un elevado porcentaje de espermatozoides anormales puede reducir significativamente la cantidad de espermatozoides con potencial fertilizante (Ombelet et al, 1995).

En el presente estudio se pudo evidenciar que después del tratamiento con Maca los pacientes aumentan la cantidad de espermatozoides con forma normal. Tal fenómeno es más evidente en aquellos sujetos que tenían menor cantidad de espermatozoides anormales antes del tratamiento. Lo anterior sugiere que existe una influencia en la maduración espermática. La mejoría en la morfología espermática con el tratamiento es sobre todo en la disminución de la cantidad de defectos de cola, lo cual, podría estar asociado con la mejoría en la motilidad y la disponibilidad energética.

La presencia de células espermatogénicas inmaduras: espermatogonias, espermatocitos y espermátides en el eyaculado suele indicar trastornos en la espermatogénesis.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que después del tratamiento con Maca se produce una disminución significativa en la cantidad de células espermatogénicas inmaduras presentes en el eyaculado del 90% de los sujetos tratados. Esto sugiere que la Maca podría estar actuando a nivel de las células de

Sertoli, que son células encargadas de brindar sostén estructural y nutricional a las células germinales en desarrollo. Tal hecho permitiría inhibir la liberación de las células espermatogénicas inmaduras o estimular la maduración de dichas células. Lo anterior es consistente con la mejoría en la morfología normal del espermatozoide encontrado en este estudio. Otra posibilidad es que la Maca induzca que las células inmaduras desaparezcan en el camino mediante apoptosis.

La función reproductora en el varón está íntimamente asociada al correcto funcionamiento del sistema neuroendócrino y de las gónadas. Estos presentan dos funciones bien diferenciadas: la espermatogénesis y la esteroidogénesis (Guyton y Hall, 1997).

En este estudio se exploró, además, la posibilidad de observar un efecto modulador del *Lepidium meyenii* (Maca) sobre la síntesis o secreción hormonal masculina. En este orden, Gonzales et al. (2001), encontraron que el tratamiento con Maca no aumenta la concentración de Testosterona sérica, sino por el contrario, existe una disminución. En el presente estudio se observó que después del tratamiento hay una disminución en la concentración de Testosterona en los pacientes que recibieron el producto, a excepción de dos pacientes que tenían el valor más bajo en la concentración basal de esta hormona, lo que sugiere más bien que la Maca podría tener un efecto modulador, normalizando los valores de este parámetro. Por su parte los estudios realizados por Gasco et al. (2007) y Gonzales et al. (2008), en animales experimentales, demostraron que la Maca inhibe el crecimiento de la próstata en la Hiperplasia Prostática, lo cual podría correlacionarse con los resultados obtenidos sobre la concentración de Testosterona. La disminución de la concentración de Testosterona sérica también indica que la Maca no actúa por vía androgénica sobre los espermatozoides, sino que podría estar actuando directamente sobre las células blanco, lo cual tiene una connotación muy importante ya que el *Lepidium meyenii* (Maca) mejoraría varios parámetros seminales sin afectar los niveles de testosterona a diferencia de

muchos otros fármacos que por lo mismo están asociados a efectos colaterales, entre los que se encuentra la estimulación de la hiperplasia prostática.

Según los trabajos de Ho et al. (1992), un aumento importante de la testosterona, aumenta también el estradiol por aromatización y si el individuo es obeso, las posibilidades de acumular estradiol son mayores, por tanto, la posibilidad de hacer cáncer prostático también es mayor, por tener mayores niveles de testosterona y estrógenos. Además se conoce que la próstata, al igual que el testículo produce inhibina, que es una glicoproteína, la cual inhibe la producción de gonadotrofinas (Phadke et al, 1987). Al parecer *Lepidium meyenii* podría tener un efecto protector indirecto, lo cual debe demostrarse en futuros estudios sobre la función prostática incluyendo los medios imagenológicos. El hecho de que los valores de Antígeno Prostático Específico (PSA) (datos no mostrados) no se modifiquen, y que las concentraciones séricas de las hormonas: Hormona Folículo Estimulante (FSH), Estradiol, Hormona Estimulante del Tiroides (TSH), Dehidroepiandrosterona (DHEA) (datos no mostrados) no muestren variaciones significativas después del tratamiento, ratifica la idea de que el efecto de la Maca no es a través de los cambios hormonales

Todo lo anterior muestra que la Maca es efectivamente un producto natural que tiene efectos que favorecen los parámetros seminales asociados a la fertilidad. El estudio logró demostrar un incremento evidente de la motilidad en los dos sujetos que lograron embarazar a su pareja, lo que sugiere que en los casos en los que se observa trastornos ligados con la motilidad (astenospermia) el *Lepidium meyenii* se perfila como un importante agente para la terapia.

X. CONCLUSIONES.-

- A. La disminución de las células germinales y la mejoría en la morfología espermática, después del tratamiento con *Lepidium meyenii* (Maca), muestran que la Maca tiene un efecto favorable sobre la espermatogénesis.
- B. Otro parámetro en el que se observa un efecto evidente del *Lepidium meyenii* es en la calidad espermática, demostrando un efecto favorable sobre la motilidad y vitalidad espermáticas en los sujetos que recibieron el producto.
- C. Los resultados muestran que no existe una respuesta hormonal directa en los sujetos que recibieron el producto, pero se pudo evidenciar un efecto modulador en la concentración de testosterona.
- D. El efecto más importante del *Lepidium meyenii* (Maca) es sobre la motilidad espermática que se pudo evidenciar en dos sujetos que presentaban motilidad espermática disminuida, en los cuales se observó un aumento drástico del porcentaje de espermatozoides motiles después del tratamiento, cuyo efecto coincidió con el hecho de que tales sujetos embarazaron a sus parejas, este efecto favorable del *Lepidium meyenii* sobre la fertilidad constituye un porcentaje del 20% dentro del grupo de estudio; sin embargo el efecto fue del 100% en los sujetos afectados por trastornos de motilidad espermática.
- E. Estos resultados permiten aceptar la Hipótesis, ya que se ha alcanzado resultados favorables para la motilidad, vitalidad y morfología espermáticas. Entonces se observa el efecto de *Lepidium meyenii* en varias fases y etapas de la preparación de la célula germinal masculina, por lo que se coincide con otros autores en la necesidad de continuar con estudios moleculares de mayor especificidad, que permitan explicar sus probables mecanismos de acción.

XI. RECOMENDACIONES.-

Los resultados obtenidos son hallazgos importantes que obligan a continuar el estudio con un mayor número de pacientes, para reforzar la consistencia de los resultados, también se recomienda evaluar otras variables como los marcadores bioquímicos de las glándulas secretoras: vesícula seminal, próstata y epidídimo. El estudio del efecto directo sobre los espermatozoides en sistemas de cultivo celular es un aspecto que también queda por ser estudiado.

XIII. BIBLIOGRAFIA.-

AGARWAL, A.; SHARMA, R.K. and NELSON, D.R. **New semen quality scores developed by principal component analysis of semen characteristics.** Journal Andrology, 2003, 24: 343 – 352.

ANDOLZ, Pablo; BIELSA M. Angeles. **Semen Humano: Manual y Atlas,** 1ed, Madrid: GARSÍ S.A., 1995. 172 p

BALICK, Michael y LEE, Roberta. **Maca: from traditional food crop to energy and libido stimulant.** Alternative Therapies, Mar/Apr 2002, 8 (2): 96 -98

BARTOOV, B.; ELTES, F.; PANSKY, M.; LEDERMAN, H.; CASPI, E. and SOFFER, Y. **Estimating fertility potential via semen analysis data.** Human Reproduction, 1993; 6: 65 – 70.

BASSAS, Lluís. **Espermatogénesis e Infertilidad.** Revista Iberoamericana de Fertilidad. Vol. 18 N°4 Julio-Agosto2001, 11-17

BUSTOS, E; MASTROROCCO, D, GUADARRAMA, A. **Parámetros reproductivos e hipoxia de altura en el varón.** Arch Biol Med Exper, 1979; 12(4): 501

CARLSEN, F; GIWEREMAN, A; KEIDING, N; SKAKKEBACK, NE. **Evidence for the decreasing quality of semen during the past 50 years,** British Medical Journal, 305: 12, 1992

CICERO, A.F.; BANDIERI, E. and ARLETTI, R. ***Lepidium meyenii* walp improves sexual behaviour in male rats independently from its action**

on spontaneous locomotor activity. Journal of Ethnopharmacology. 2001; 75 (2 -3): 225 -229.

CIKUTOVIC, M.; CIKUTOVIC, P., **Plantas Altoandinas y su Efecto Sobre la Fertilidad: ¿Mito o realidad?**, Cienc trab. 2005, Abr-Jun; 7(16):41-48.

CINGOLANI, Horacio; HOUSSAY, Alberto y col. **Fisiología Humana de Houssay.** 7ed, Buenos Aires: El Ateneo, 2000. 1125 p

CORNS, CM. **Herbal remedies and clinical biochemistry.** Ann Clin Biochem. 2003; 40:489– 507.

DEPPING, R; HAGELE, S; WAGNER, KF; WIESNER, RJ; CAMENISCH, G; WENGER, RH et al. **A dominant-negative isoform of hipoxia-inducible factor-1 alpha specificall expressed in human testis.** Biol Reprod, 2004, 71(1): 331-9

DINI, A.; MIGLIUOLO, G.; RASTRELLI, L. et al. **Chemical composition of *Lepidium meyenii*.** Food. Chem. 1994; 49: 347-349.

ERKKILA, K; SUOMALAINEN, L; WIKSTROM, M; PARVINEN, M and DUNKEL, L. **Chemical anoxia delays germ cells apoptosis in the human testis.** Biol Reprod, 2003, 69(2): 617-26.

FERNANDEZ, RF; GUTIERREZ, G; GOMEZ, N y HERNANDEZ, P. **Motilidad y sobrevivencia espermática in vitro con la utilización de pirofosfato de tiamina en semen de caprino.** Rev. Salud Anim. Vol. 25 No. 1 (2003): 34-38

FRANKEN, D.R.; BASTIAAN, H.S.; KIDSON, A.; WRANZ, P. and HABENICHT, U.F. **Zona pellucida mediated acrosome reaction and sperm morphology.** *Andrologia*, 1997; 29 (6): 311 – 317.

GARCIA-HJARLES, MA. **Sperm count and seminal biochemistry of high altitude in habitants and patients with chronic altitude sickness.** *Arch Biol Med Exp*, 1989; 22(1): 61-7

GARTNER, Leslie; HIATT, James. **Histología: Texto y Atlas.** 3ed. México DF: Mc Graw Hill, 1997. 506 p

GASCO, M; VILLEGAS, L.; YUCRA, S; RUBIO, J. and GONZALES, G.F. **Dose – response effect of Red Maca (*Lepidium meyenii*) on benign prostatic hyperplasia induced by testosterone enanthate.** *Phytomedicine* 14 (2007) 460 – 464

GENESER, Finn. **Histología: sobre bases moleculares.** Editorial Panamericana, 2000. 761 p

GONZALES, G.F.; RUIZ, A.; GONZALES, C.; VILLEGAS, L. and CORDOVA, A. **Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) roots on spermatogenesis of male rats,** *Asian Journal of Andrology*, 2001, 3 : 231-233.

GONZALES, G.F.; CORDOVA, A.; GONZALES, C.; CHUNG, A.; VEGA, K. and VILLENA, A. ***Lepidium meyenii* (Maca) improved semen parameters in adult men,** *Asian Journal of Andrology* 2001; p 301-303

GONZALES, G.F.; CORDOVA, A.; VEGA, K.; CHUNG, A.; VILLENA, A.; GOÑEZ, C. and CASTILLO, S. **Effect of *Lepidium meyenii* (MACA) on**

sexual desire and absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men, Lima, Peru. *Andrologia* , 2002; 34 , p 367- 372

GONZALES, G.F.; GASCO, M.; MALHEIROS, A. and GONZALES CASTAÑEDA, C. **Antagonistic effect of *Lepidium meyenii* (red maca) on prostatic hyperplasia in adult mice**. Lima, Peru. *Andrologia*, 2008; 40: 179 - 185

GORDON, AS; TORNETTA, J; D'ANGELO, AS and CHERIPPER, HA. **Effects of low atmospheric pressure on the activity of the thyroid, reproductive system and anterior lobe of the pituitary in the rats**. *Endocrinology*, 1943; 33: 366.

GUERRA, F.; TAPIA, R. et al. **Infección por *Chlamydia trachomatis* en varones y su asociación con las alteraciones ginecológicas de su compañera sexual**. *Revista de Investigación Clínica*, 2005; 57 (3): 406-414

GUYTON, A y HALL, J. **Tratado de Fisiología Médica**. 9 ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 1997. p. 1013-1017.

HAFEZ, E.S.E. **Reproducción e Inseminación Artificial en Animales**. 5 ed. México DF: Interamericana, 1986.

HENKEL, R.; MAASS, G.; SCHUPPE, H.C.; JUNG, A.; SCHUBERT, J. and SCHILL, W.B. **Molecular aspects of declining sperm motility in older men**. *Fertility and Sterility*, 2005, 84 (5) :140 – 1437.

HO, SM; YU, M; LEAV, I; VICCIONE, T. **“The conjoint action of androgens and oestrogens in the induction of proliferative lesions in**

the prostate". In Li jj Noandi SA eds. Hormonal Carcinogenesis. New York: *Springer-Verlag* 1992; 18-25.

LAVIN, Norman. **Endocrinología y Metabolismo**. 3ed, Madrid: Marban Libros, 2003. 883 p

LEVITAS, E.; LUNENFELD, E. WEISZ, N.; FRIGER, M. and POTASHNIK, G. **Relationship between age and semen parameters in men with normal sperm concentration: analysis of 6022 semen samples**. *Andrology*, 2007; 39 : 45 – 50.

LI, G., AMMERMANN, U. and QUIROS, C.F. **Glucosinolate contents of maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products**. *Economic Botany*, 2001; 55(2):255-262.

LOPEZ, M ; SOSA, M.; et al. **Variabilidad del DNA mitocondrial (clados y dosis genómica) y calidad seminal humana**. *MAPFRE MEDICINA*, 2003; vol. 14, N° 4 p 79 – 284

MARIN, M.; BRAVO. **Histología de la Maca, *Lepidium meyenii* Walpers (Brassicaceae)**. *Rev. peru. biol.* 2003. 10 (1): 101 – 108

MARKLUND, S; MARKLUND, G. **Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase**. *Eur J Biochem* 1974, 47 (Suppl 3): 469-74

MATORRAS, R. **El tratamiento del varón estéril a la luz de la medicina basada en la evidencia**. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*, Vol. 19 - nº 1 - Enero-Febrero 2002, p 69 -76.

MENKVELD, R.; FRANKEN, D.R.; KRUGER, T.F.; OCHNINGER, S. and HODGEN, G.D. **Sperm selection capacity of the human zona pellucida**. *Mol Reprod. Dev.* 1991; 30 (4): 346 – 352.

MENKVELD, R.; RHEMREV, J.P.; FRANKEN, D.R.; VERMEDEIN, J.P. and KRUGER, T.F. **Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis: relation with acrosin activity, morphology (strict criteria), and fertilization in vitro**. *Fétil Steril*, 1996; 65 (3): 637 644.

MENKVELD, R.; EL-GAREM, Y.; SCHILL, W.B. and HENKEL, R. **Relationship between human sperm morphology and acrosomal function**. *J. Assist Reprod Genet.* 2003; 20 (10): 432 – 438.

McGRADY, AV. **Effects of psychological stress on male reproduction: a review**. *Arch Androl*, 1984; 13: 1-7.

MOORE, CR and PRICE, D. **A study at high and low altitude of reproduction, grow, sexual maturity and organ weights**. *J Exp Zool*, 1948, 108: 171.

MUHAMMAD I, ZHAO J, DUNBAR DC, KHAN IA. **Constituents of *Lepidium meyenii* 'maca'**. *Phytochemistry*. 2002 Jan;59(1):105-10

MUJICA, A.; RODRIGUEZ, M.R.; NACIFF, J.; NERI, L. y TASH, J.S. **Glucose regulation of Guineapig sperm motility**. *J. Reprod. Fert.* (1991): 92: 75-87.

NUÑEZ, R; GARCIA, A; CORTÉS, S; SARRIAS, O y CABALLERO, P. **Factores que influyen en los fallos de fecundación in vitro**. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*. 2001; 18 (5):130-6.

OBREGON. **Maca planta medicinal y nutritiva del Perú.** 1998, Instituto de Fitoterapia Americano. Lima, Perú

OMBELET, W; MENKVELD, R; KRUGER, TF and STEENO, S. **Sperm morphology assessment: historical review in relation to fertility.** Hum Reprod Update 1995;1:543-55.

OMS. **A double-blind trial of clomiphene citrate for the treatment of idiopathic male infertility.** Int J Androl 1992; 15 :299-307.

OMS. **Manual de Laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical,** 4ed, Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A., 2001. 150 p

PADRON, Rubén; FERNANDEZ, Gloria M; GALLARDO, Marlene. **Interpretación del Análisis Seminal.** Revista Cubana de Endocrinología. 1998; Vol 9 N° 1. p 81-90

PALLADINO, M.A.; POWELL, J.D.; KORAH, N. and HERMO, L. **Expression and localization of hypoxia-inducible factor-1 subunits in the adult rat epididymis.** Biol Reprod, 2004, 70(4): 1121-30.

PHADKE, M; VANAGE, G; SHETH, A. **Circulating levels of inhibin, prolactin, TSH, LH and FSH in benign prostatic hypertrophy before and after tumor resection.** *Prostate* 1987; 10: 115.

PIACENTE, S; CARBONE, V; PLAZA, A; ZAMPELLI, A; PIZZA, C. **Investigation of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii* Walp.).** J Agric Food Chem. 2002. Sep 25; 50 (20): 5621 – 5.

PIOMBONI, P.; GAMBERA, L.; SERAFINI, F.; CAMPANELLA, G.; MORGANTE, G. and DE LEO, V. **Sperm quality improvement after natural anti-oxidant treatment of asthenoteratospermic men with leukocytospermia.** Asian Journal of Andrology, 2008; 10 (2): 201- 206.

POIROT, C. y CHERRUAU, B. **Infertilidad masculina: Aspectos clínicos e investigaciones biológicas.** Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 2005; 39 (2): 225-41

QUILL, T; REN, D; CLAPHAM, D and GARBERS, D. **A voltage-gated ion channel expressed specifically in spermatozoa.** Developmental Biology. 2001. October ,vol. 98 (22) 12527–12531

QUISBERT, Miguel. **Potencial tóxico agudo de Maca (*Lepidium meyenii*) post suministro oral de dosis elevadas, en ratones albinos Bal/c Mus musculus.** Universidad Católica Boliviana San Pablo, 2007. 104p

REMOHI, José et al, **Reproducción Humana**, Madrid: M Graw Hill-Interamericana, 1996. 578p

REN, D; NAVARRO, B; PEREZ, G; JACKSON, A; HSU, S; SHI, Q; TILLY, J and CLAPHAM, D. **A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility.** Nature, 2001; 413, 603-609

ROSAS, Rafaela. **Infertilidad masculina: Causas, diagnóstico y tratamiento**, Revista OFFARM, Vol 26 núm 7 julio-agosto 2007, p 70 -75

ROUSSEAU, CG; SCHACHTER, H. **Regulatory issues concerning the safety, efficacy and quality of herbal remedies.** Birth Defects Res Part B. Dev Reprod Toxicol. 2003;68:505–10.

SALAMON, S. **Inseminación Artificial de Ovejas y Cabras.** *Acribia.* España, 1990.

SALISBURY, G.W.; VAN DEMARK, N.L. y LODGE, J.R. **Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Bóvidos.** 2 ed. *Acribia.* España, 1978

SANCHEZ, M.; CÉSAR, M. et al. **Varicocele: fisiopatología y actualización diagnóstica desde el laboratorio.** *Revista Iberoamericana de Fertilidad.* Vol. 22, N° 4 Julio-Agosto 2005, p 260 – 267

SAXENA, DK. **Effects of hypoxia by intermitent altitude exposure on semen characteristics and testicular morphology of male rhesus monkey.** *Int J Biometeorol.* 1995, 38: 137-40.

SCIBONA, M; MESCHINI, P; CAPPARELLI, S; ROSSI, P; MENCHINI, F. **L-arginine and male infertility.** *Minerva Urol Nefrol.* 1994, Dec; 46 (4): 251 – 253.

SELLES, E; MARTINEZ, JC; MARCOS, J; MUÑOS, M Y GADEA, J. **¿Existe una relación entre el riesgo ocupacional y la calidad seminal?. Conductores profesionales y agricultores.** *Revista Iberoamericana de Fertilidad,* Vol. 23- n° 3 - Mayo-Junio 2006, p 185 -188

SIMON, Marina. **Avances en el conocimiento de la espermatogénesis. Implicaciones clínicas.** *Revista Iberoamericana de Fertilidad,* Vol. 20- n° 4 - Julio-Agosto 2003, p 213 – 225

STEVENS, Alan y LOWE, James Steven. **Texto y Atlas de Histología.** 2ed. Mexico DF: Mc Graw Hill, 2000. 458 p

SUAREZ, SUSAN and DAI, XIAOBING. **Intracellular Calcium Reaches Different Levels of Elevation in Hyperactivated and Acrosome-Reacted Hamster Sperm.** *Molecular Reproduction and Development*, 1995; 42: 325 – 333.

SUAREZ, Susan. **Hiperactivated motility in sperm.** *Journal of Andrology*, 1996; Vol 17, Issue 4, 331-335.

TEPPA, Alejandro y PALACIOS, Anselmo. **Evaluación actual de la infertilidad masculina.** *Invest. clín* vol.45 no.4 Maracaibo Dec. 2004

VALENTOVA, K. and ULRICHOVA, J. ***Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*—prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases.** *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2003; 147: 119–30.

WEYAND, I; GODDE, M; FRINGS, S; WEINER, J; MÜLLER, F; ALTENHOFEN, W; HATT, H and KAUPP, B. **Cloning and functional expression of a cyclic-nucleotide-gated channel from mammalian sperm.** *Nature*, 1994. 368, 859-863

WIESNER, B; WEINER, J; MIDDENDORFF, R; HAGEN, V; KAUPP, B and WEYAND, I. **Cyclic Nucleotide-gated Channels on the Flagellum Control Ca^{2+} Entry into Sperm.** *Cell Biol.*, Volume 142, Number 2, July 27, 1998 473-484

ZHENG, B.H.; HE, K.; KIM, C.H. et al. **Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats.** *Urology*. 2000; (55): 598 – 602

ZINI, A.; DeLAMIRANDE, E. and GAGNON, C. **Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase and catalase – like activities in seminal plasma and spermatozoa.** Journal Andrology 1993; 16: 183 – 188.

ANEXOS

ANEXO 1: HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

Estimado Señor:

Uno de los problemas mas frecuentes en épocas actuales es la disminución del vigor físico y la calidad espermática, así como la pérdida de concentración para el adecuado desempeño laboral y cambios conductuales frecuentes. Esta situación que afecta cada día a mas personas está relacionada, entre otras cosas, con la condiciones de estrés y fatiga que afectan a gran parte de la población.

Ante esto, la Universidad Mayor de San Andrés a través del Instituto Boliviano de Biología de la Altura (IBBA) y el Hospital de Clínicas Universitario, con auspicio de la Empresa NATURALCOS han decidido unir sus esfuerzos para encontrar solución a estos problemas mediante la generación de nuevos productos de origen natural que puedan neutralizar tales efectos y mejorar la calidad de vida de quienes padecen tales desarreglos. Para tal efecto se ha dispuesto la ejecución de un protocolo de investigación en el que se administre el tubérculo andino denominado Maca (*Lepidium meyenii*) en forma de polvo (producto molido) a personas entre 25 y 50 años de edad con parámetros seminales alterados. Para observar los efectos se medirán los cambios de la conducta (depresión ansiedad), el contenido seminal, diversos parámetros clínicos así como las hormonas sexuales, la glucosa, hemoglobina, hematocrito y otros parámetros de laboratorio, antes y después de recibir Maca durante 3 meses.

El producto estudiado, la Maca es un tubérculo propio de nuestra biodiversidad y ha sido utilizado para estos propósitos desde los tiahuanacotas y los estudios realizados muestran que es, además de un adecuado nutriente, un producto totalmente inocuo, lo que le otorga amplia seguridad para su consumo. La Maca ha sido estudiada en múltiples formas y se ha demostrado que es totalmente inocua y no genera reacciones adversas o efectos no deseados. Sin embargo, queda claro que en caso de que algún participante sintiera alguna molestia que pueda asociarse al consumo del producto estos pueden si lo desean salirse inmediatamente del grupo de investigación sin que esto signifique ninguna reacción negativa.

Para poder evaluar estos beneficios, será necesario conformar un grupo de varones que autoricen tomarles una muestra de sangre (5 a 7 mililitros) en ayunas por punción venosa, y estén de acuerdo en recolectar una muestra de semen con 3 a 5 días de abstinencia sexual; los mismos que serán obtenidos antes y después del tratamiento con la Maca.

Al final del estudio se medirán los efectos observados en cada individuo en comparación con la situación observada al inicio del estudio.

En base a todo lo anteriormente mencionado, usted ha sido invitado a participar en el estudio “Evaluación de la actividad biológica del *Lepidium meyenii* (maca) sobre la Espermatogénesis y la Calidad Espermática en un grupo de varones entre 25 – 50

años”. Sin embargo usted no tiene ninguna obligación en aceptar su incorporación ya que ésta es enteramente voluntaria. En caso de que acepte, será necesario que usted siga todas las instrucciones que le dará su médico.

Todos los participantes recibirán el producto de forma gratuita, los exámenes de laboratorio (Hematocrito, Hemoglobina, Glicemia, Espermatograma, Hormonas y PSA) no tendrán ningún costo. Estos resultados les serán entregados al final del estudio como material de los participantes para su propio expediente. Cualquier molestia será atendida por los investigadores del estudio, con el cuidado necesario para asegurar su completo bienestar.

Toda la información que se genere como producto de su participación será enteramente confidencial, para lo cual los registros no consignarán su nombre, sino un código. Sólo están autorizados a acceder a la información sobre la marcha del estudio los investigadores, los auspiciadores o las autoridades nacionales de salud; sin que esto incluya la ruptura de la confidencialidad.

Si Ud. tiene preguntas sobre este estudio no dude en realizarlas al personal del grupo de investigadores: al Dr. Grover Vélez (Cel. 71553062), a la Dra. Magali Solares (Cel. 71521551) ó a la Egr. Beatriz Quelca (72079818). Cualquier incomodidad que surja durante el estudio y que pueda afectar su participación, será inmediatamente transmitida por Ud. a uno de los investigadores anteriormente mencionados o dirigirse al IBBA para entrevistarse con la Dra. Magali Solares o con el Dr. Grover Vélez en el Servicio de Urología del Hospital de Clínicas, Miraflores. La Paz, Bolivia.

Dra. Magali Solares

Lugar y Fecha:.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído cuidadosamente la información provista en la sección anterior y he tenido la oportunidad de hacer las preguntas necesarias que me aclaren a conformidad sobre el estudio propuesto. Estoy consiente de que puedo negarme a participar en el estudio y de que en caso de que decida abandonar el estudio puedo hacerlo libremente sin que esto signifique ninguna actitud negativa por parte del grupo de investigadores.

De manera libre manifiesto mi acuerdo para participar en este estudio, para lo cual firmo al pie del original y copias que me serán entregadas. Al firmar este consentimiento informado, autorizo a que los datos e información generada pueda ser accesible a los auspiciadores y autoridades en salud así como al Comité de Bioética ni que se rompa la confidencialidad.

.....
Firma y Nombre del Participante
C.I.

Codigo:

.....
Firma y Nombre del Médico
Responsable
C.I.

Grado Académico :

.....
Firma y Nombre del Médico
Co-Responsable del Estudio
C.I.

Grado Académico:

ANEXO 2.**TABLA 4. VOLUMEN DE EYACULADO Y CONCENTRACION ESPERMATICA**

	VOLUMEN (mL)		CONCENTRACION (Nª esper/mL)	
	PRE-Tx	POST-Tx	PRE-Tx	POST-Tx
Lib-LmV001	0,3	1,7	14 200 000	19 650 000
Lib-LmV002	1,5	2,0	55 900 000	234 000 000
Lib-LmV003	2,0	2,1	225 500 000	182 500 000
Lib-LmV004	0,9	1,5	422 400 000	380 550 000
Lib-LmV005	2,0	3,2	142 000 000	125 500 000
Lib-LmV006	2,2	1,8	22 550 000	23 050 000
Lib-LmV007	0,8	1,1	246 000 000	216 500 000
Lib-LmV008	4,5	4,2	33 000 000	48 600 000
Lib-LmV009	3,3	3,6	93 500 000	98 000 000
Lib-LmV010	5,4	4,2	39 025 000	39 975 000

Valores de los parámetros seminales de los pacientes antes y después del tratamiento

TABLA 5. MOTILIDAD ESPERMATICA

	Grado III (%)				Grado II (%)				Grado I (%)				Grado 0 (%)			
	PRE		POST		PRE		POST		PRE		POST		PRE		POST	
	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH
PACIENTE	1	0	5	2	56	50	60	48	20	23	10	22	23	27	25	28
Lib-LmV001	1	0	5	2	56	50	60	48	20	23	10	22	23	27	25	28
Lib-LmV002	20	6	21	13	59	63	62	58	11	12	7	11	10	19	11	18
Lib-LmV003	18	20	27	23	57	54	52	54	11	8	10	9	14	18	11	14
Lib-LmV004	11	13	16	14	52	52	57	58	14	12	11	8	23	23	18	20
Lib-LmV005	10	11	16	13	64	57	58	59	11	15	11	9	15	17	15	19
Lib-LmV006	7	4	11	6	49	32	61	63	11	30	11	12	33	34	17	18
Lib-LmV007	0	0	3	2	53	33	58	57	18	24	15	10	29	43	24	31
Lib-LmV008	10	10	13	12	63	58	65	62	11	13	10	13	16	19	12	13
Lib-LmV009	7	4	13	11	62	53	67	63	16	16	8	10	15	27	12	16
Lib-LmV010	12	9	20	13	61	64	58	66	10	11	5	5	17	16	17	16

Valores de los parámetros seminales de los pacientes antes y después del tratamiento

TABLA 6. VITALIDAD ESPERMATICA

PACIENTE	ESP. VIVOS (%) PRE-Tx		ESP. MUERTOS (%) PRE-Tx		ESP. VIVOS(%) POST-Tx		ESP. MUERTOS (%) POST-Tx	
	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH	1ºH	3ºH
Lib-LmV001	58	56	42	44	62	63	38	37
Lib-LmV002	78	71	22	29	77	78	23	22
Lib-LmV003	83	73	17	27	81	79	19	21
Lib-LmV004	83	76	17	24	81	80	19	20
Lib-LmV005	87	81	13	19	81	78	19	22
Lib-LmV006	81	79	19	21	86	78	14	22
Lib-LmV007	77	68	23	32	77	72	23	28
Lib-LmV008	85	81	15	19	89	88	11	12
Lib-LmV009	84	80	16	20	88	85	12	15
Lib-LmV010	85	84	15	16	85	85	15	15

Valores de los parámetros seminales de los pacientes antes y después del tratamiento

TABLA 7. MORFOLOGIA ESPERMATICA

PACIENTE	ESPERMIOS NORMALES (%)		ESPERMIOS ANORMALES (%)	
	PRE-Tx	POST-Tx	PRE-Tx	POST-Tx
Lib-LmV001	37	44	63	56
Lib-LmV002	38	42	62	58
Lib-LmV003	46	61	54	39
Lib-LmV004	57	61	43	39
Lib-LmV005	52	60	48	40
Lib-LmV006	39	38	61	62
Lib-LmV007	35	39	65	61
Lib-LmV008	43	47	57	53
Lib-LmV009	28	31	72	69
Lib-LmV010	27	39	73	61

Valores de los parámetros seminales de los pacientes antes y después del tratamiento

TABLA 8. CONCENTRACION DE TESTOSTERONA

TESTOSTERONA(ng/mL)		
PACIENTE	PRE	POST
Lib-LmV001	5,25	5,43
Lib-LmV002	6,99	6,64
Lib-LmV003	6,96	6,25
Lib-LmV004	4,43	6,16
Lib-LmV005	10,34	7,80
Lib-LmV006	6,58	3,03
Lib-LmV007	8,41	6,37
Lib-LmV008	7,69	3,97
Lib-LmV009	9,08	5,44
Lib-LmV010	5,98	4,03

Valores de La concentración de Testosterona de los pacientes antes y después del tratamiento

ANEXO 3. COMPOSICION DE *Lepidium meyenii* (Maca)

Tabla 9. Relación contenido calórico, proteínas y carbohidratos de la raíz de Maca, *Lepidium meyenii* y otras hortalizas.

	Calorías/100 g	Proteínas/100 g	Carbohidratos/100 g
Maca	104,0	3,9	21,9
Zanahoria	41,0	0,6	9,2
Rabano	14,0	0,8	2,9
Col	24,0	1,5	4,9
Nabo	16	0,6	3,6

Fuente: Instituto de Nutrición del Perú e Instituto Nacional de Desarrollo Agroindustrial del Perú

Tabla 10. Composición analítica de la raíz de Maca, *Lepidium meyenii*.

Componentes	Porcentaje
Agua	10,4 %
Proteínas	10,2 %
Lípidos	2,2 %
Carbohidratos hidrolizables	59 %
Fibra entera	8,5 %
Cenizas	4,9 %

Fuente: D. Dini, G. Migliuolo, L. Rastrelli, P. Saturnino, O. Schettino. 1994. "Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food Chemistry 49:347-49.", and Garró V. 1999. "Macro y microelementos de la maca". Mimeo, Lima. Perú

Tabla 11. Contenido de Vitaminas de la raíz de Maca, *Lepidium meyenii*

Vitaminas	Concentración (mg)
Tiamina B1	0,20
Riboflavina B2	0,35
C	10,0
E	87,0

Fuente: B1 y B2 desde Chacón G. 1997. "La importancia de *Lepidium peruvianum* (Maca), en la alimentación y salud del ser humano". Lima, Perú; C y E, desde Garró V.

Tabla 12. Contenido de Aminoácidos en raíz de Maca, *Lepidium meyenii*.

Aminoácidos	Concentración (mg)/Protéina(g)
Ácido Aspartico	91,7
Ácido Glutámico	156,5
Serina	50,4
Histidina (+)	21,9
Glicina	68,3
Treonina (+)	33,1
Alanina	63,1
Arginina (+)	99,4
Tirosina	30,6
Fenilalanina (+)	55,3
Valina (+)	79,3
Metionina (+)	28,0
Isoleucina (+)	47,4
Leucina (+)	91,0
Lisina (+)	54,3
Triptofano (+)	4,9
HO-Prolina	26,0
Prolina	0,5
Sarcosina	0,7

Fuente: D. Dini, G. Migliuolo, L. Rastrelli, P. Saturnino, O. Schettino. 1994. "Chemical Composition of *Lepidium meyenii*. Food Chemistry 49:347-49. (+) Aminoácidos esenciales.

Tabla 13. Esteroles en raíz de Maca, *Lepidium meyenii*

Esteroles	% en la mezcla de esteroles	Tiempo de retención (min.)
Sitosterol	45,50	19,5
Campesterol	27,3	25,0
Ergosterol	13,60	23,8
Brassicasterol	9,10	22,4
Ergostadienol	4,50	27,5

Fuente: Instituto de Fitoterapia Americana. Lima, Perú.

Tabla 14. Contenido de Ácidos Grasos en raíz de Maca, *Lepidium meyenii*

Ácido Graso	mg/g	Ácido Graso	Mg/g
11-Nonadecanoico	1,3	Linoleico	12,6
15-Eicocenoico	2,3	Mirístico	1,4
7-Pentadecenoico	0,5	Nervónico	0,4
9-Heptadecenoico	1,5	Nonadecanoico	0,4
Araquídico	1,6	Oleico	11,1
Behénico	2,0	Palmitico	23,8
Estearico	6,7	Palmitoleico	2,7
Heptadecanoico	1,8	Pentadecanoico	1,1
Láurico	0,8	Tridecanoico	0,1
Lignocérico	0,4	Tridecenoico	0,3
Ác. Grasos saturados	40,1	Ác. Grasos insaturados	52,7

Fuente: D. Dini, G. Migliuolo, L. Rastrelli, P. Saturnino, O. Schettino. 1994. Op. Cit.

Tabla 15. Constituyentes minerales de la raíz de Maca, *Lepidium meyenii*

Minerales	mg/100g
Fe	16,6
Mn	0,8
Cu	5,9
Zn	3,8
I	0,5
Na	18,7
K	2050,0
Ca	250,0

Fuente: D. Dini, G. Migliuolo, L. Rastrelli, P. Saturnino, O. Schettino. 1994. and Garró V. 1999.

ANEXO 4. PREPARACION DE REACTIVOS.-

1. COLORANTE VITAL: (EOSINA Y 0,5%)

- Eosina Y 500 mg
- Solución fisiológica (9 g/L NaCl) 100 mL

Pesar la Eosina Y, disolver en la solución fisiológica, filtrar y conservar en un frasco ámbar.

2. SOLUCION DE RECUENTO:

- Formol al 37% 1 mL
- Bicarbonato de Sodio 5 g
- Azul de metileno al 1% 0,5 mL
- Agua destilada csp 100 mL

Pesar y medir las cantidades mencionadas de Bicarbonato de Sodio y Azul de metileno, disolver con agua destilada y al final añadir el formol. Conservar en un frasco ámbar.

3. SOLUCION FIJADORA:

- Etanol 95% 50 mL
- Éter Etilico 50 mL

Preparar una solución v/v de alcohol/éter.

ANEXO 5. TINCION DE PAPANICOLAOU

1. Alcohol 80°
2. Alcohol 70°
3. Alcohol 50°
4. Agua destilada
5. Hematoxilina de Harris
6. Agua destilada
7. HCl 0,25% (acuoso)
8. Agua destilada
9. Alcohol 70°
10. Alcohol 80°
11. Alcohol amoniacal 0,25%
12. Alcohol 80°
13. Alcohol 80°
14. Orange G 6
15. Alcohol 80°
16. Alcohol 80°
17. Alcohol 80°
18. EA 50 (Eosina-azur 50)
19. Alcohol 80°
20. Alcohol 80°
21. Alcohol 80°
22. Alcohol absoluto
23. Alcohol absoluto
24. Xilol
25. Xilol
26. Montaje con Bálsamo de Canadá

ANEXO 6.



Foto 1. Batería para Tinción de Papanicolaou

Fuente: Elaboración propia

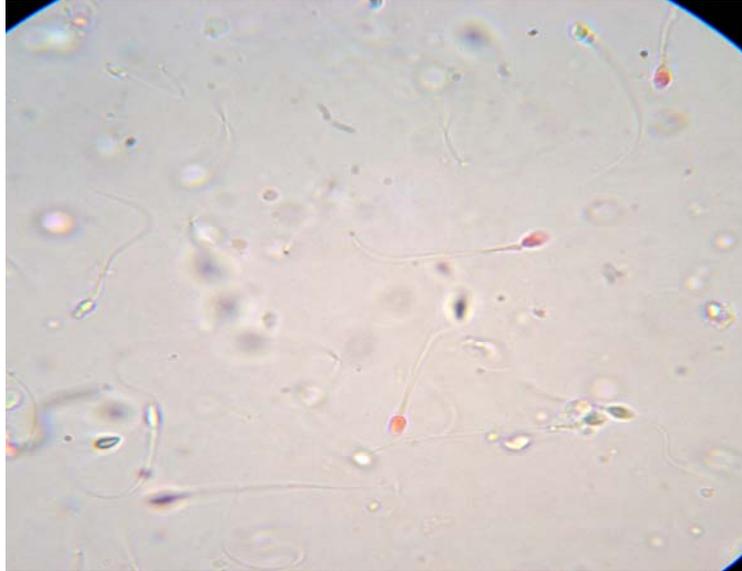


Foto 2. Vitalidad con Eosina Y.- Teñidos en rojo: espermatozoides muertos. No teñidos: espermatozoides vivos. 400x.

Fuente: Elaboración propia.

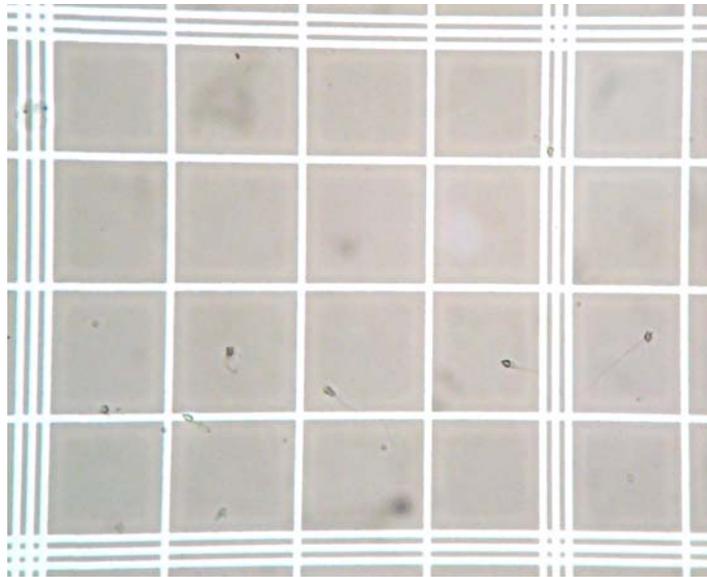


Foto 3. Recuento espermático. Retículo de la Cámara de Neubauer para el recuento espermático. 400x.

Fuente: Elaboración propia.



Foto 4. Motilidad Espermática. **a:** Espermatozoide con motilidad Grado III. **b:** Espermatozoide con motilidad Grado II **c:** Espermatozoide inmóvil.
Fuente: Elaboración propia.

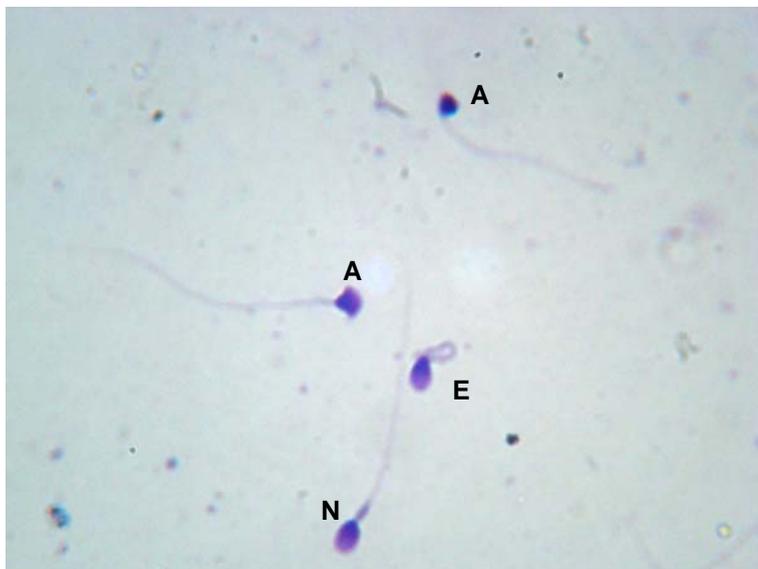


Foto 5. Morfología Espermática. **A:** Espermatozoides con cabeza amorfa. **E:** Espermatozoide con cola enrollada. **N:** Espermatozoide con morfología normal. 400x
Fuente: Elaboración propia

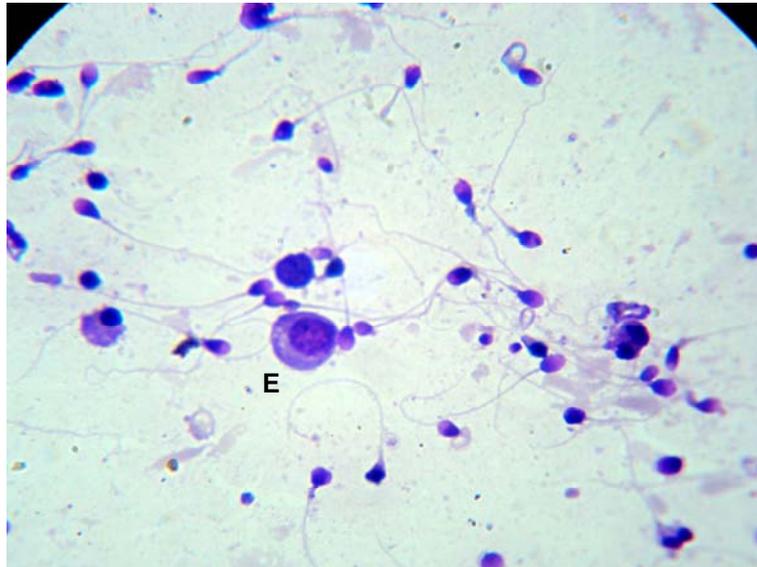


Foto 6. Células Germinales o Inmaduras. E: Espermatocito Primario. 400 x
Fuente: Elaboración propia



Foto 7. Células Germinales o Inmaduras. E: Espermatocito Secundario en división. 400x
Fuente: Elaboración propia