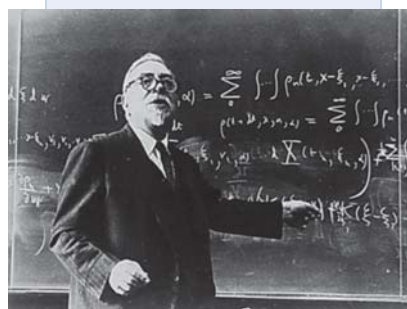


WEB ASSISTED BOOK (WAB)

La cibernética es la ciencia que se ocupa de los sistemas de control y comunicación entre los seres vivos y los sistemas electrónicos y mecánicos construidos por el hombre. Esta nueva ciencia se instituyó en 1942, durante un seminario sobre Estudios Avanzados realizado en Princeton, Nueva Jersey, Estados Unidos, y su nombre fue originalmente usado por Platón en el sentido del «arte de navegar» o el «arte de gobernar».

En 1948, el matemático norteamericano Norbert Wiener (1894-1964), uno de los principales fundadores de esta ciencia, propuso el nombre de cibernética, del griego *kibernetes*, que quiere decir piloto, timonel o gobernador.

En su libro titulado *Cybernetics or the Control and Communication in the Animal and the Machine*, describió una nueva manera de cómo el mundo debía funcionar, basada en la forma en la cual la información es transmitida y procesada.



Norbert Wiener (1894-1964).
Fundador de la cibernética.

Los avances logrados en el campo de la cibernética han sido extraordinarios y la gran cantidad de información disponible para los usuarios en el ciberespacio a través de Internet pareciera infinita; pero todavía sigue siendo el medio impreso una fuente ideal para consulta y búsqueda de información. Sin embargo, la parte gráfica suele ser escasa, usualmente en blanco y negro, y no puede incorporar videos.

Uno de los problemas de esta limitación es que en medicina, al no haber enfermedades sino enfermos, sólo después de ver múltiples pacientes y procedimientos quirúrgicos es que el médico logra dominar la especialidad. Pensando en esto, en el año 2005 se desarrolló la página Web www.fertilab.net, donde público en general y profesionales de la medicina y especialidades afines pueden encontrar información en el área de medicina reproductiva, con gran cantidad de figuras, fotos y videos en color relacionados con los temas tratados. Cuando decidimos editar el libro *Infertilidad. Fisiología, diagnóstico y tratamiento*, se desarrolló la idea de la tecnología WAB (Web Assisted Book), es decir, vincular el libro con la página Web de FERTILAB, www.fertilab.net.

De esta manera, y por primera vez en la historia de la medicina, la cibernética nos muestra una nueva dimensión, que permite al profesional médico leer un texto sobre un determinado procedimiento diagnóstico o terapéutico, acceder a la página Web mediante las instrucciones indicadas en el libro, para ampliar la documentación con imágenes y video.

Esperamos que esta nueva aplicación de la cibernética sirva de ejemplo y estímulo para que en adelante todos los libros incorporen la tecnología WAB, con lo cual se harán grandes avances en el campo de la docencia.

Dr. Juan Aller
Dr. Gustavo Pagés

INFERTILIDAD

FISIOLOGÍA, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Gustavo Pagés

Director Médico.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Docente.

Curso de Postgrado de Obstetricia y Ginecología, Maternidad Concepción Palacios,
Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Docente.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Juan Aller

Director Fundador.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Docente.

Curso de Postgrado de Obstetricia y Ginecología, Maternidad Concepción Palacios,
Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Docente.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

© Actualidades Médico Odontológicas Latinoamericana, C.A. (AMOLCA), Gustavo Pagés y Juan Aller, editores, 2006.
1^{era} Avenida Sur de Altamira. Edificio Rokaje. Planta 3. Urb. Altamira. Caracas, Venezuela.

Hecho el depósito de Ley
Depósito Legal lf502200661098
ISBN 980-6574-57-5

Edición: Gustavo Pagés y Juan Aller

Coordinación editorial: Carolina Martínez

Diseño y diagramación: Corporación ACF 1508, C.A.
e-mail: macmar@cantv.net

Revisión bibliográfica: Editemos Estrategias Editoriales

Ilustraciones: Daniel Urbáez

Reservados todos los derechos. No se permite reproducir, almacenar en sistemas de recuperación de la información ni transmitir alguna parte de esta publicación, cualquiera que sea el medio empleado —electrónico, mecánico, fotocopia, grabación, etc.—, sin el permiso previo de los titulares de los derechos de la propiedad intelectual.

Impreso en Colombia por Panamericana Formas e Impresos, S.A.



Venezuela

1^{era} Avenida Sur de Altamira. Edificio Rokaje. Planta 3. Urb. Altamira. Apartado postal 68772-1062A. Caracas, Venezuela.
Teléfonos (58212) 266.6176 - 266.8601. Fax (58212) 264.4608
e-mail: amolca@telcel.net.ve - Web: www.amolca.com.ve

Argentina

Azcuénaga 1277 - PB «D»
Buenos Aires
Teléfono (5411) 4821.2051 - 4826.9050
e-mail: amolca_ar@yahoo.com.ar

Colombia

Carrera N23-65. Sur Bogotá
Teléfono (571)372.9164
Cel. (311)230.1365
e-mail: amolca@etb.net.com

Perú

Av. Alfredo Benavides
264, piso 5, ofc. 502
Miraflores. Lima, Perú
Teléfono: (511) 243.3161

México

Arquitectura 49-101, Colonia Copilco
Universidad México - D.F. México
Teléfonos: 565.80882 - 533.95021
Fax 565.91998
e-mail: amolca@prodigy.net.mx
Web: www.amolca.net



DEDICATORIA

A mis padres, por su sabia y constante guía a lo largo de mi vida.

A mi esposa Paola y a mis hijos Andreína y Alejandro, mi principal fuente de inspiración.

Gustavo Pagés

A mis siete hijos, en especial a Bethania, que colaboró en varios capítulos, y a mis cuatro nietos.

A mi compañera de tantos años, América, por su apoyo, comprensión y compañía constante.

Juan Aller

AGRADECIMIENTOS

Nuestras inquietudes por nutrir la literatura médica nacional de libros de texto para la formación de especialistas en el área de medicina reproductiva se inician en 1977, cuando aparece la primera edición de *Obstetricia Moderna*, primer libro de texto venezolano de la especialidad, del cual se hace una segunda edición en 1982, seguido en 1984 de la primera edición de *Métodos Anticonceptivos*.

A finales de la década de los años 90, la editorial Mc-Graw Hill Interamericana nos invita a realizar nuevas ediciones de ambos libros, con el fin de distribuirlos en todos los países iberoamericanos. Así, se publica la segunda edición de *Métodos Anticonceptivos* en 1998 y la tercera edición de *Obstetricia Moderna* en 1999. Sin embargo, nos sentíamos en la obligación de escribir un libro sobre infertilidad, con base en nuestra práctica diaria, como fundadores y miembros de FERTILAB, la primera Unidad de Reproducción Humana de Venezuela y donde se realizaron las experiencias pioneras en microcirugía de infertilidad, banco de semen e inseminación artificial, y se logró el nacimiento en 1986 de la primera bebé mediante fertilización in vitro.

Con ese objetivo, solicitamos la colaboración de un excelente grupo de médicos, embriólogos y psicólogos, en su mayoría relacionados con FERTILAB, para que escribieran los capítulos que conforman el libro. Queremos destacar el trabajo realizado por el doctor José Carlos Rosales, quien fue el responsable de la elaboración de los capítulos sobre fisiología, que desarrolló con gran detalle y sirvieron de guía e inspiración para escribir los demás.

Aparte del grupo de colaboradores, trabajaron incesantemente para hacer posible esta publicación, Carolina Martínez, a quien le debemos la gran calidad artística del libro. Margarita Arias, quien realizó una encomiable labor en la corrección de los textos. Daniel Urbáez, excelente dibujante, quien con gran mística hizo los dibujos que ilustran y hacen más atractivo este libro. Ginett Alarcón, quien revisó minuciosamente y normalizó las referencias bibliográficas. José Cisneros, quien colaboró en la preparación de las figuras; y Luis Silva que participó en el desarrollo de la página Web asociada al libro. También el doctor Luis E. Pagés Rodríguez, autor del prólogo, y Rafael Cortés, presidente de la editorial AMOLCA, quien creyó en el proyecto de la obra e hizo posible su publicación siguiendo los mejores estándares de calidad.

Dr. Gustavo Pagés

Dr. Juan Aller

Bethania Aller

Coordinadora Docente.
FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Juan Carlos Álvarez

Director Médico.
CRIO Unidad de Reproducción Humana, Puerto La Cruz.
Profesor.
Cátedra de Gineco-Obstetricia Universidad de Oriente, núcleo Anzoátegui.

Sonia Borrás

Servicio de Psicología.
FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

María Isabel Camejo

Departamento de Biología de Organismos.
Universidad Simón Bolívar, Caracas.

Norma Cerviño

Médico Adjunto.
Servicio de Gineco-Obstetricia Clínica El Ávila, Caracas.

Henry Fajardo

Embriólogo.
FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Lisbeth García

Embriólogo.
LABOFERCLA. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Jenny Garmendia Pomares

Directora de Inmunología de la Reproducción.
FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Roberto Jiménez

Médico Adjunto.
FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.



Radharani Jiménez

Médico Residente.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Kahiry Ledezma

Médico Adjunto.

Servicio de Gineco-Obstetricia Clínica Piedra Azul, Caracas.

Asesor Médico.

Laboratorios ORGANON, Venezuela.

Pedro Madrid

Médico Adjunto.

Servicio de Gineco-Obstetricia Clínica CEMO, Caracas.

Alfredo Martell

Director de Fertilidad.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Gustavo Mendoza

Director de Investigaciones.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Aramilena Prado

Departamento de Biología de Organismos.

Universidad Simón Bolívar, Caracas.

Arturo Ríos

Médico Adjunto.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

José Carlos Rosales

Director de Laboratorio.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Ricardo Soto-Rosa Loges

Director de Andrología.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

Pedro Vicentelli

Servicio de Anestesia.

FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas.

PRÓLOGO

La obra *Infertilidad. Fisiología, diagnóstico y tratamiento* constituye un estudio bastante completo de todos los factores que pueden intervenir en el problema de la pareja infértil, desde la formación de los gametos y embriones hasta las diferentes causas y tratamientos de la infertilidad. En la literatura médica en idioma castellano, hasta la fecha no se había editado un libro que analizara estos aspectos de manera clara y amena, sin menoscabar la rigurosidad científica, complementados por una extensa y reciente bibliografía que enriquece su calidad, y una profusa información gráfica distribuida en cada uno de los capítulos, para facilitar la comprensión de cada tema. Además, por primera vez se introduce en la literatura médica, la novedad de combinar el medio impreso con el electrónico al remitir al lector a Internet, a la página Web ***www.fertilab.net*** asociada al libro, donde puede complementar los procedimientos diagnósticos y terapéuticos descritos en el libro, con imágenes y videos.

Aparte de evaluar los diferentes conceptos universales de la infertilidad —especialidad apasionante que durante los últimos 30 años ha vivido un avance vertiginoso—, se señala la experiencia de FERTILAB, la primera Unidad de Reproducción Humana creada en Venezuela en la que se lograron los primeros éxitos, tanto en técnicas de reproducción asistida de baja y alta complejidad como en los diferentes procedimientos quirúrgicos. Por esta razón, se puede decir que es la unidad pionera del estudio y tratamiento de la pareja infértil en nuestro país; como lo demuestra el haber logrado en 1986 el nacimiento del primer bebé mediante la fertilización in vitro.

En el libro se analizan los diferentes aspectos de la fisiología de la reproducción humana como son la espermatogénesis, la ovogénesis, la implantación y el desarrollo del embrión. Seguidamente, se estudia el aspecto epidemiológico e histórico de la infertilidad, para luego continuar con la discusión de los distintos factores que pueden ocasionar infertilidad, tales como el cervicovaginal, el uterino, el ovárico, la endometriosis, el tuboperitoneal, el factor masculino y uno reciente de gran importancia como es el inmunológico. Asimismo, se evalúan los aspectos terapéuticos, desde la inducción de la ovulación, hasta la fertilización in vitro, sin dejar de describir las diferentes opciones quirúrgicas, las técnicas anestésicas usadas en reproducción asistida y los aspectos psicológicos de la pareja infértil.

Esta obra ha contado con la invaluable colaboración de destacados especialistas en cada materia y es de gran utilidad no sólo para ginecólogos sino también para todos aquellos médicos generales o especialistas en el campo de la infertilidad, que deseen ampliar sus conocimientos sobre el tema. Después de su lectura, se podrá afirmar que el concepto de esterilidad ha perdido vigencia y establecer que cualquier pareja puede lograr un embarazo, incluso si no produce óvulos o espermatozoides.

Para finalizar, quiero manifestar mi agradecimiento y mi orgullo al doctor Gustavo Pagés, mi hijo, y al doctor Juan Aller, fundador de FERTILAB, por haberme invitado a que escribiera este prólogo.

Dr. Luis E. Pagés Rodríguez
Médico gineco-obstetra
Enero de 2006

	Pág.
Capítulo 1. Espermatogénesis	15
Capítulo 2. Oogénesis y foliculogénesis	35
Capítulo 3. Fecundación y desarrollo del embrión preimplantación	59
Capítulo 4. Implantación embrionaria	89
Capítulo 5. Endocrinología de la reproducción	109
Capítulo 6. Historia y epidemiología	143
Capítulo 7. Estudio de la pareja infértil	167
Capítulo 8. Factor cervicovaginal	203
Capítulo 9. Factor uterino	227
Capítulo 10. Factor ovárico	261
Capítulo 11. Factor tuboperitoneal	293
Capítulo 12. Factor masculino	313
Capítulo 13. Factor inmunológico	337
Capítulo 14. Ultrasonidos	359
Capítulo 15. Pérdida fetal recurrente	377
Capítulo 16. Tuboplastias	397
Capítulo 17. Inducción de la ovulación	429
Capítulo 18. Endometriosis	451
Capítulo 19. Inseminación artificial	481
Capítulo 20. Fertilización in vitro	497
Capítulo 21. Donación de óvulos	525
Capítulo 22. Anestesia	539
Capítulo 23. Aspectos psicológicos	547
Índice	571

ESPERMATOGÉNESIS

	Pág.
ASPECTOS GENERALES	17
ORGANIZACIÓN TESTICULAR	17
FASES DE LA ESPERMATOGÉNESIS	20
De proliferación o espermatogonial	20
De meiosis o espermatocitaria	21
De diferenciación o espermiogénesis	21
ESTADIOS DEL CICLO	22
MADURACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE	23
CONTROL HORMONAL	24
Eje hipotálamo-hipófisis-testículo	24
Testosterona	25
Hormona foliculoestimulante (FSH)	27
Estradiol	27
FACTORES LOCALES	27
BASES GENÉTICAS DE LAS ALTERACIONES EN LA ESPERMATOGÉNESIS	28
RESUMEN	29
REFERENCIAS	29



ASPECTOS GENERALES

Hace más de 40 años, Heller y Clermont describieron el proceso biológico de transformación de las células germinales en espermatozoides en el hombre, denominado espermatogénesis, y señalaron que este período tiene una duración de 74 ± 5 días (Heller and Clermont, 1963; Clermont, 1963). Posteriormente, investigaciones realizadas por diferentes grupos han permitido lograr una detallada descripción histológica de cada una de las fases de la división celular durante la espermatogénesis.

La fase inicial de la espermatogénesis se caracteriza por la mitosis de las espermatogonias. Luego, durante la meiosis, ocurre la recombinación de la información genética y la generación de numerosos espermatozoides con un genoma haploide. La expresión específica de una variedad de genes resulta, finalmente, en la construcción de la célula espermática, la cual no sólo transporta la información genética haploide, sino que es capaz de entregarla cuando penetra en el óvulo (Baarendas and Grootegoed, 1999). El proceso de espermatogénesis, luego de la pubertad, se lleva a cabo en los túbulos seminíferos de los testículos. Este proceso es controlado por el eje hipotálamo-hipófisis-testículo, y también por factores locales de forma paracrina. Luego los espermatozoides son almacenados en el epidídimo, donde continúa el proceso de maduración y esperan el momento de ser expulsados al exterior durante el orgasmo.

En la actualidad, con el advenimiento de las técnicas de reproducción asistida (TRA), los investigadores han orientado sus esfuerzos a determinar las condiciones óptimas para el aislamiento de las células germinales y su cultivo *in vitro*, así como a comprender la función de ciertos genes en la espermatogénesis, utilizando para este fin modelos animales como ratones transgénicos. Por otra parte, en los últimos años se ha tratado de entender el papel de la apoptosis, que es la muerte celular programada, en la regulación del número de células germinales y la remoción de células aberrantes (Lin et al., 1997).

En este capítulo, se hará una revisión del proceso de espermatogénesis comenzando con la descripción del testículo; se analizará la histología del túbulo seminífero conformado por las células de Sertoli y las células germinales en diferentes estadios de diferenciación, en su vía hacia la formación del espermatozoide. El espacio intersticial, entre los túbulos seminíferos, donde se localizan las células de Leydig, que producen testosterona. Luego se describirán las etapas de la espermatogénesis, los estadios del ciclo, la onda esper-

mática y el control hormonal durante todo el proceso. Finalmente, se presentarán los hallazgos más recientes sobre el control genético de la espermatogénesis y su posible relación con la infertilidad masculina.

ORGANIZACIÓN TESTICULAR

Durante la vida intrauterina, se observa un desplazamiento de las gónadas que será especialmente importante en el caso del testículo. En la semana 8 de gestación, las gónadas están ubicadas en la parte alta de la cavidad abdominal primitiva. En el octavo mes de vida intrauterina, en los fetos de sexo masculino el testículo cruza por el canal inguinal para alojarse en la bolsa escrotal, mientras que en los de sexo femenino, el ovario desciende sólo hasta la pelvis. Cuando el bebé nace con los testículos no descendidos se denomina criptorquidia y antes de la pubertad deben haber descendido espontáneamente o por tratamiento, de lo contrario, puede haber infertilidad y más posibilidades de cáncer testicular.

Los testículos están contenidos en el escroto, que es un saco ubicado en la región perineal que además aloja los epidídimos y la porción inicial de los conductos deferentes con sus vasos y nervios correspondientes. La piel del escroto es más pigmentada y se cubre de pelos después de la pubertad. En el tejido subcutáneo se encuentran unas fibras musculares lisas, que al contraerse determinan las arrugas características de la piel escrotal (fig. 1-1).

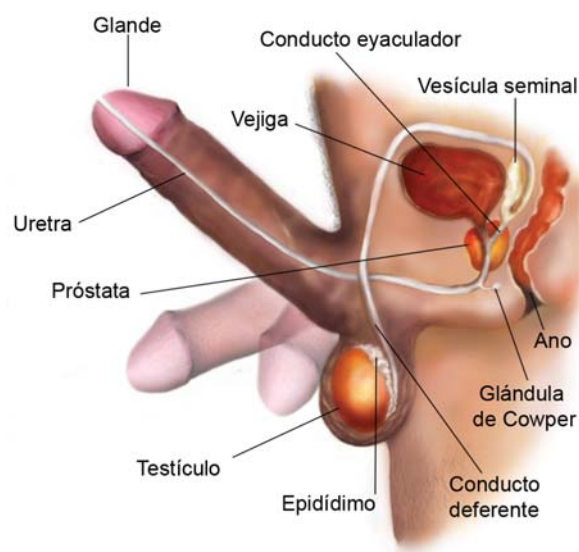


Figura 1-1.
Anatomía de los genitales masculinos.

Los testículos son dos cuerpos ovoideos localizados a la izquierda y la derecha, suspendidos por los cordones espermáticos. Tienen una superficie lisa, de color blanco azulado, a veces rojo cuando están repletos de sangre. Miden en promedio 4,5 cm de longitud y 3 cm de espesor, tienen una consistencia dura y algo elástica, debido a la capa fibrosa que los rodea y son los responsables de la producción de los espermatozoides y de las hormonas sexuales. Todos los conductos del testículo convergen en una estructura llamada el *rete testis*, que consiste en una red de tubos que llevan los espermatozoides al epidídimo a través de los conductos eferentes (fig. 1-2).

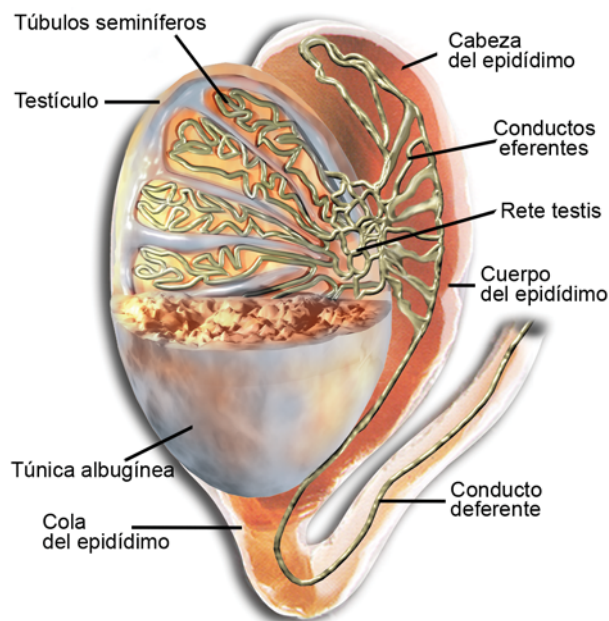


Figura 1-2.
Relación testículo-epidídimo.

El epidídimo es un órgano que está cabalgando sobre cada uno de los testículos y funciona como cámara de maduración y depósito de espermatozoides. Está formado por unos 5 m de conductos, densamente enrollados sobre sí mismos, que forman una masa de más o menos 4 cm de largo en forma de letra C, que encaja en el borde posterior del testículo.

Del epidídimo salen los conductos deferentes que llegan a la zona de las vesículas seminales donde se convierten en el conducto eyaculador que vierte el líquido seminal en la uretra para su eventual salida al exterior. Generalmente, el testículo izquierdo es más pequeño y está más descendido que el derecho. El tamaño desmesurado de los testículos la mayoría de las veces es ocasionado por un hidrocele, producto de la acumulación de líquido en la capa externa.

El testículo puede ser ascendido por la contracción del músculo cremáster, o descendido por la relajación del mismo. Este músculo estriado actúa como el termostato de los testículos porque responde a los cambios de temperatura; cuando hace frío se contrae para acercarlos al calor del cuerpo, y cuando hace calor se relaja para alejarlos.

Todo esto para mantener una temperatura alrededor de los 35° C, que es la ideal para la producción espermática. Por esta razón es que los testículos son órganos externos, porque si estuvieran dentro, la temperatura corporal ocasionaría una detención de la producción espermática (fig. 1-3). El testículo produce alrededor de 1.000 espermatozoides por segundo, unos 100 millones diarios. El varicocele, que son las várices del testículo, puede producir infertilidad porque aumenta la temperatura de la zona al haber mayor cantidad de sangre (Biyani and Janetschek, 2004).

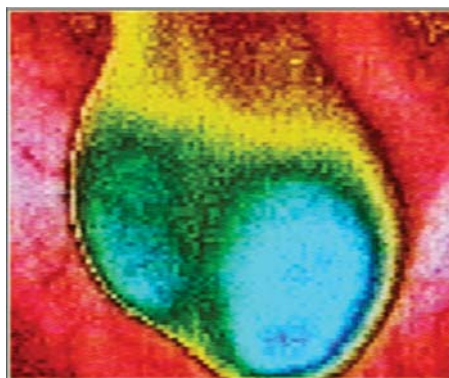


Figura 1-3.
Termografía de los testículos.

En el interior de los testículos están los túbulos seminíferos que ocupan lobulillos y tienen de 150 a 250 μ de diámetro (fig. 1-4). Están delimitados por una pared formada, de dentro hacia afuera, por la membrana basal, fibroblastos y células peritubulares mioides. Cada testículo tiene aproximadamente 200 lobulillos y cada lobulillo posee de 1 a 4 túbulos de 70 cm de largo, sumamente retorcidos y plegados, que desembocan finalmente en el *rete testis*.

Los túbulos seminíferos están rodeados por tejido intersticial que los separa y les sirve de sostén, y donde se encuentran ubicadas las células de Leydig (Franz von Leydig, 1821-1908, anatomista alemán) (fig. 1-5), encargadas de producir testosterona que, en conjunto con la hormona foliculoestimulante (FSH), intervienen en el proceso de espermatogénesis que ocurre dentro del túbulo seminífero.

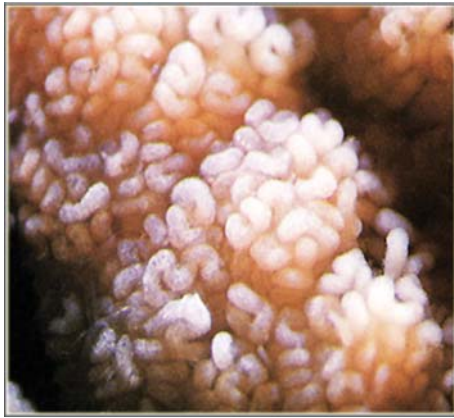


Figura 1-4.
Túbulo seminífero.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

El epitelio del túbulo está constituido por dos tipos de células: germinales y somáticas o de Sertoli (Enrico Sertoli, 1842-1910, histólogo italiano) (fig. 1-5). Las células germinales se encuentran en todo el espesor del epitelio del túbulo en diferentes estadios de desarrollo (espermatocono, espermátide, etc.) y son las que van a formar el espermatozoide. Las células somáticas o de Sertoli están localizadas en la parte más externa del túbulo seminífero y realizan una función de «enfermeras» porque se unen entre sí y se encargan del cuidado y nutrición de las células germinales, razón por la cual también se denominan células nodrizas.

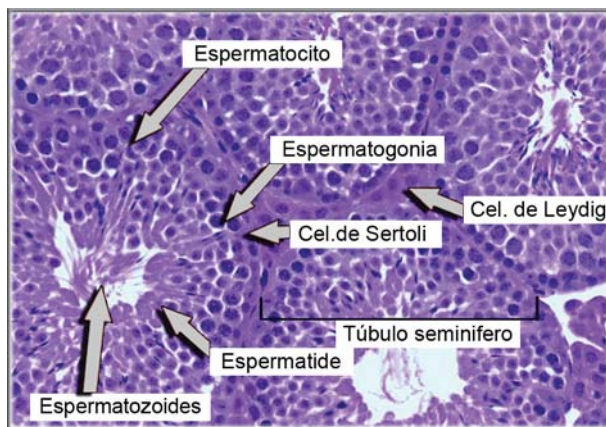


Figura 1-5.
Estructura histológica del testículo.

Las células de Sertoli son indispensables en la espermatogénesis y durante el desarrollo embrionario del testículo. Cumplen una función primordial al retener a las células germinales primordiales, llamadas gonocitos, que, en ese momento, inician un período de mitosis. Al llegar la pubertad, cesa la mitosis de las

células de Sertoli, se establecen las uniones estrechas Sertoli-Sertoli y comienza la espermatogénesis.

Las células de Sertoli se asocian mediante uniones estrechas y se distribuyen en forma de arco, justo por encima de las espermatogonias. De este modo, el epitelio del túbulo germinal queda dividido en dos compartimientos:

- Compartimiento basal, que contiene las espermatogonias y algunos espermatoconos preleptoténicos.
- Compartimiento yuxtaluminal o adluminal, que contiene las fases más avanzadas de diferenciación de las células germinales, en su evolución hacia la formación del espermatozoide adulto (Gilula et al., 1976).

Los túbulo seminíferos no tienen irrigación sanguínea, por ello, toda la nutrición es controlada por el transporte de moléculas desde el intersticio hacia la membrana basal del túbulo. Las uniones estrechas que se establecen entre las células de Sertoli, forman una barrera para la libre difusión de sustancias presentes en la sangre, que se denomina barrera hemato-testicular y que aísla la mayoría de las células germinales del sistema inmune (Dym and Fawcett, 1970). Este punto es muy importante dado que, luego de la meiosis, las células resultantes tienen 23 cromosomas y un ADN que les es particular, diferente al del organismo y capaz de desarrollar una respuesta inmune.

Por ese motivo, las etapas más avanzadas de la espermatogénesis se llevan a cabo en el compartimiento yuxtaluminal, el cual es considerado un ambiente inmunoprivilegiado, lo cual es muy importante si se toma en cuenta que los espermatozoides tienen 23 cromosomas y un DNA diferente. Esta barrera también asegura que la mayoría de las sustancias que alcanzan las células germinales, lo hagan a través del citoplasma de las células de Sertoli, con lo que se puede prevenir la entrada de moléculas potencialmente perjudiciales para el proceso de espermatogénesis (Setchell, 1980; Cheng and Mruk, 2002).

Las células germinales, procedentes de una misma línea celular, se mantienen unidas entre sí después de cada división mediante puentes intercelulares, constituyéndose las llamadas unidades clonales sincitiales (Dym and Fawcett, 1971). Estos puentes permanecen abiertos durante la espermiogénesis para permitir la comunicación entre las células y la sincronización durante su desarrollo, y desaparecen al finalizar la diferenciación del espermatozoide (Alastalo et al., 1998; Siu and Cheng, 2004).

Aún no se comprende cabalmente la relación que se establece entre las células de Sertoli y las células germinales. Algunos datos recientes sugieren que las segundas podrían ser las que controlan la función de las células de Sertoli, cuyas secreciones están influenciadas por el tipo de célula germinal presente en el epitelio seminífero (Jegou, 1993; Sharpe et al., 1994).

Otra evidencia que indica el control que ejercen las células germinales sobre las de Sertoli, se ha observado mediante el estudio de trasplantes heterólogos, donde al transplantar células germinales de espermatozoides de rata en testículo de ratón, se mantiene el tiempo especie-específico de duración total de la espermatogénesis típico de la rata (50 días) y no del ratón (35 días), lo cual sugiere que las células germinales gobiernan el proceso de espermatogénesis, mientras que la función de las células de Sertoli sería

atender sus requerimientos (Brinster and Avarbock 1994; Clouthier et al., 1996; Franca et al., 1998).

FASES DE LA ESPERMATOGÉNESIS

La espermatogénesis se caracteriza por la producción continua de espermatogonias mediante mitosis, para luego reducir el número de cromosomas a la mitad mediante meiosis. Finalmente, ocurre la diferenciación a células flageladas especializadas. La espermatogénesis se lleva a cabo en los túbulos seminíferos (fig. 1-6), a partir de las células germinales que comienzan su transformación en la base con mitosis y terminan en la luz del túbulo con meiosis, lugar donde el espermatozoide es expulsado con la cola primero y la cabeza después en el proceso llamado espermiación. Todos este proceso ocurre en tres fases que se describen a continuación (Hess, 1999).

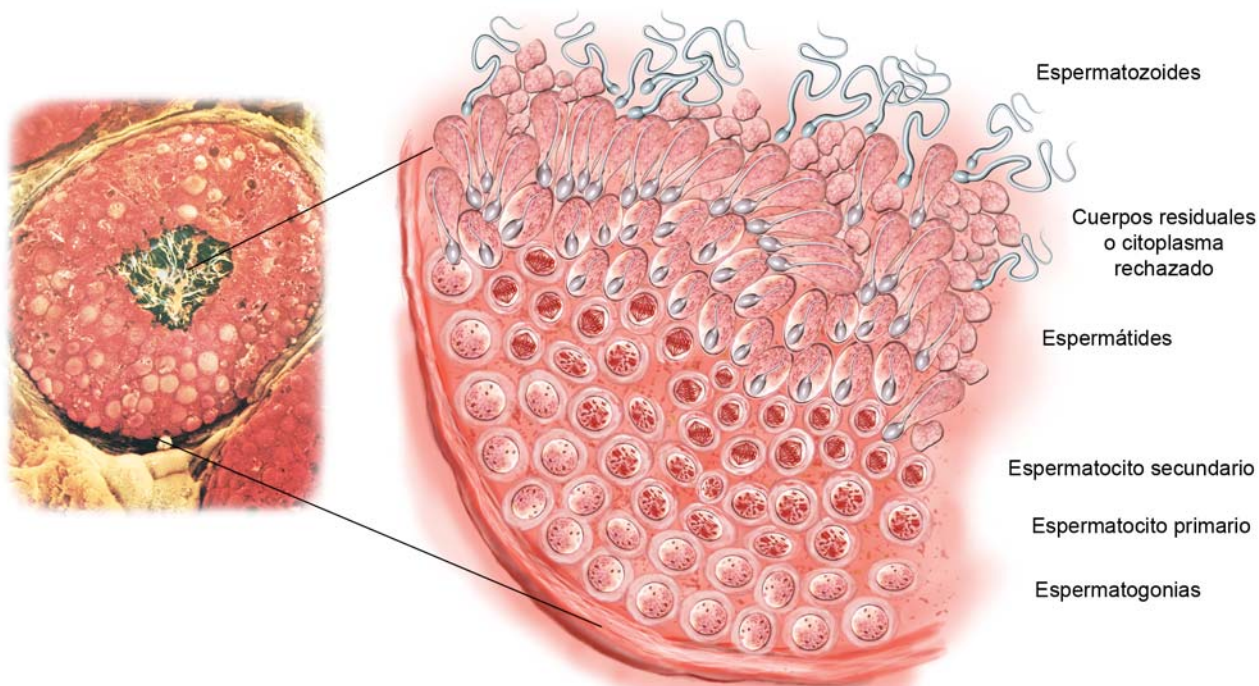


Figura 1-6.
Espermatogénesis.

De proliferación o espermatogonial

La célula germinal más inmadura se denomina espermatogonia y se encuentra en la base del túbulo seminífero. Esta célula prolifera mediante mitosis, por lo que se mantiene constante el número de cromosomas. Se han descrito dos tipos de espermatogonias: la tipo A, de citoplasma homogéneo claro y núcleo es-

férico, con muy pocos gránulos de cromatina, y la tipo B, también de citoplasma claro y núcleo esférico, pero con grumos de cromatina de tamaño variable.

En algunas especies, incluyendo al hombre, se presentan dos clases de espermatogonias tipo A: las oscu-



ras, que tienen el núcleo oscuro en el cual se aprecia una vacuola nuclear, y las claras, cuyo núcleo es más claro. Las espermatogonias tipo A dan origen a otras células del mismo tipo mediante mitosis; algunas de ellas permanecen como células madre y otras se diferencian en espermatogonias tipo B (Fawcett, 1986). Las espermatogonias tipo B no se dividen por mitosis sino que comienzan el proceso de meiosis para iniciar la transformación en espermatozoides (Clermont, 1972). Éstas atraviesan las uniones estrechas entre dos células de Sertoli y se convierten en espermatoцитos primarios o preleptoteno, que es el primer tipo celular de la fase meiótica.

De meiosis o espermatocitaria

El espermatoцитo primario sufre una primera división meiótica originando dos espermatoцитos secundarios, que luego de la segunda división meiótica se transformarán en dos espermátides. Como se señaló con anterioridad, la espermatogonia tipo B se transforma en espermatoцитo primario o preleptoteno, que es una célula pequeña similar a la espermatogonia. En este estadio de diferenciación celular ocurre la síntesis de ADN que será particular para cada espermatozoides.

Los espermatoцитos preleptoteno ingresan en la profase meiótica, que durará aproximadamente 3 semanas, pasando por las etapas de leptoteno, zigoteno, paquiteno, que es la fase durante la cual se produce el intercambio génico entre los cromosomas homólogos heredados del padre y de la madre o «crossing over»; y diploteno, donde las células se hacen cada vez más grandes al acumular más citoplasma.

El espermatoцитo de mayor tamaño es el espermatoцитo primario en etapa de diploteno. Al final de la profase I, desaparece la membrana nuclear y la célula transcurre rápidamente por la metafase I, anafase I y telofase I. Cuando el espermatoцитo primario se divide en dos células pequeñas llamadas espermatoцитos secundarios, culmina la primera división meiótica (fig. 1-6) (De Kretser, 2000). Los espermatoцитos secundarios son células que se dividen rápidamente, sin síntesis previa de ADN, mediante la meiosis II y originan células haploides ($1N = 23$ cromosomas) muy pequeñas llamadas espermátides redondas.

De diferenciación o espermiogénesis

Es una fase de la espermatogénesis en la que no hay división celular sino diferenciación de las espermátides redondas en espermatozoides. Esta etapa provoca cambios importantes en la morfología de la célula, que le dan la forma ideal para atravesar las estructuras que rodean al óvulo. La duración de la espermiogénesis en el hombre es de aproximadamente 24 días (Oko and Clermont, 1999).

La espermátide redonda, ya con 23 cromosomas, debe experimentar modificaciones importantes para pasar de ser una célula redonda a una célula flagelada. Una de estas modificaciones es la reducción del tamaño del núcleo, que se logra por la extrema condensación de la cromatina nuclear.

Existen dos etapas en la reorganización de la cromatina de la espermátide: en la primera, se produce una remodelación de la cromatina desde su forma nucleosomal normal hacia la forma filamentosa; en la segunda, los filamentos se engrosan y se agregan unos con otros para formar masas compactas, que se unen entre sí y forman una cromatina totalmente homogénea y compacta. Para que esta compactación se lleve a cabo, se requiere sustituir las histonas H1t, que son nucleoproteínas asociadas a la conformación estructural de la cromatina, por proteínas transicionales TP1 y TP2, que serán sustituidas al final de la espermiogénesis por protaminas (Kleene and Flynn, 1987; Kleene et al., 1988; Oko et al., 1996).

Simultáneamente, el aparato de Golgi produce un lisosoma modificado que rodea parcialmente al núcleo y constituye el acrosoma, el cual contiene las enzimas hidrolíticas necesarias para que el espermatozoides atraviese las estructuras que rodean al óvulo.

El acrosoma se produce por la coalescencia de pequeños gránulos ricos en glicoproteínas que, al fusionarse, forman una vesícula acrosómica que se adhiere a la membrana nuclear. Esta vesícula crece a medida que el aparato de Golgi continúa la entrega de glicoproteínas, hasta que adquiere la forma de un capuchón y cubre aproximadamente la mitad anterior del núcleo (fig. 1-7) (Oko and Clermont, 1998).

Finalmente, la célula desarrolla una cola larga, que en su porción proximal se rodea de numerosas mitocondrias. Para ello, los dos centríolos que se encuentran cercanos a la membrana celular, migran hacia el núcleo y se fijan a él durante las fases iniciales de la espermiogénesis; entonces, uno de los centríolos comienza la formación del axonema, que constituye el componente axial.

La cola del espermatozoides es más compleja que un cilio o un flagelo pues, además del axonema central compuesto de microtúbulos, posee elementos adicionales que provienen del citoesqueleto del espermatozoides, como son las fibras densas externas y la capa fibrosa, cuya función aún no es bien conocida (Oko and Clermont, 1990).

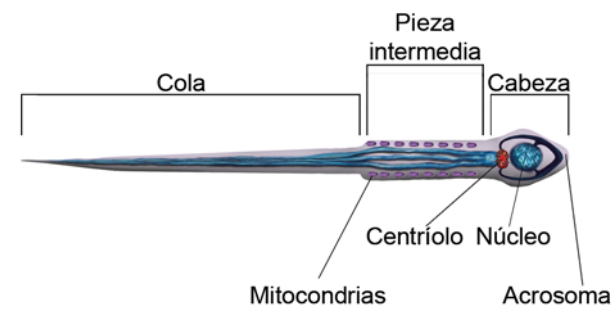


Figura 1-7.
Espermatozoide adulto.

Durante los estadios iniciales de la espermiogénesis, las mitocondrias se encuentran en la periferia de la célula y luego migran hacia la cola, para situarse ordenadamente a lo largo de las fibras densas externas entre el cuello y el *annulus*, que es una estructura anular situada en la unión de la pieza media y la pieza principal de la cola. Posteriormente, las mitocondrias se condensan y se disponen formando un espiral en la pieza media (Otani et al., 1988).

La remodelación final de la célula, para lograr la forma elongada del espermatozoide, se consigue por la fagocitosis del exceso de citoplasma llevada a cabo por las células de Sertoli. Finalmente ocurre la liberación de los espermatozoides a la luz del túbulo, en el fenómeno conocido como espermiación (fig. 1-8). El excedente citoplásmico queda atrapado en el espesor del epitelio y se conoce como cuerpos residuales (fig. 1-6).



Figura 1-8.
Espermiación.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

ESTADIOS DEL CICLO

Al realizar cortes transversales en varias porciones del túbulo seminífero, se observa que las células germinales no se reúnen al azar, sino que establecen patrones de asociaciones celulares que se repiten idénticamente. Estos patrones se han clasificado de forma arbitraria y se denominan estadios, por tanto, un estadio es la descripción de las células en distintas etapas de diferenciación, que coinciden en un corte transversal tubular en un momento determinado (Hess, 1990; Leblond and Clermont, 1952).

No todos los tipos posibles de células germinales en desarrollo están presentes simultáneamente en un corte transversal, sólo algunos son visibles en asociaciones que se repiten porque las espermatogonias ingresan en la meiosis en forma secuencial y no al mismo tiempo.

Los estadios ocupan un segmento del túbulo seminífero, debido a que el inicio de la espermatogénesis es sincronizado. Además, los segmentos tubulares transcurrirán por distintos estadios que aparecen de forma secuencial y ordenada, por lo que se les ha asignado una numeración arbitraria y, así, al estadio I le seguirá el estadio II después de un tiempo determinado, y así sucesivamente, hasta completar todos los patrones posibles de asociación celular característicos de la especie. El número de estos patrones o estadios varía de una especie a otra; por ejemplo, en el cobayo se describen doce patrones y en la rata, catorce.

Existe además una coordinación espacial de los estadios, que aparecen en una secuencia numérica ordenada en toda la longitud del túbulo seminífero. Esta ordenación secuencial constituye la onda del epitelio seminífero y está intercalada, ocasionalmente, con segmentos en los que la secuencia numérica de los estadios se revierte, denominados modulaciones (Perey et al., 1961).

Al analizar de forma longitudinal las células dispuestas en el espesor del epitelio del túbulo, se pueden ver, en perfecto orden de diferenciación, todos los tipos celulares por los que transcurre una célula germinal; este análisis longitudinal sólo es posible de forma imaginaria, al integrar espacialmente los distintos estadios que se obtienen en un corte transversal tubular.

Las células germinales en realidad no se desplazan longitudinalmente en el espesor del epitelio, pero la forma ordenada secuencial, como las espermatogonias inician la meiosis en sentido longitudinal, hace



que las asociaciones celulares se encuentren ordenadas en ese eje. Esta coordinación de eventos mantiene una producción constante de espermatozoides, a pesar de que la espermatogénesis se completa después de varias semanas.

En contraste con el orden regular de los patrones celulares del epitelio seminífero de los roedores, el testículo humano pareciera a primera vista presentar una distribución al azar de los tipos celulares.

Al principio, se pensó que en el hombre el desarrollo de las células germinales era caótico y no sincrónico. Sin embargo, en la actualidad, se sabe que en los humanos existen seis estadios, bien definidos, que ocupan pequeñas áreas cuneiformes del epitelio tubular, a modo de mosaico y que, en un corte transversal, se pueden observar tres o más estadios del ciclo (Clermont, 1963; Clermont 1966).

La situación se complica todavía más por el hecho de que las células ubicadas en los bordes de estas áreas se pueden mezclar para dar asociaciones celulares atípicas o heterogéneas.

MADURACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE

El espermatozoide que sale del testículo no es capaz de fertilizar al óvulo porque necesita pasar por un proceso de maduración donde adquiere movilidad y capacidad fecundante. Este proceso se lleva a cabo en el epidídimo, el cual está ubicado sobre la cara posterior del testículo y representa la parte contorneada proximal del sistema de los conductos excretores (Fawcett, 1986).

Como el espermatozoide carece prácticamente de capacidad de biosíntesis (Hammerstedt, 1981), las enzimas y proteínas requeridas para su maduración deben ser aportadas por el epitelio del epidídimo, donde permanece aproximadamente de 8 a 17 días (Amann et al., 1993). Este órgano, además de actuar en la maduración del espermatozoide, también lo hace como reservorio porque en su cola aloja los espermatozoides maduros que serán expulsados durante la eyaculación.

Aun después de eyaculado, el espermatozoide no es capaz de penetrar en el óvulo porque requiere completar su maduración durante su tránsito por los genitales internos femeninos (fig. 1-9).

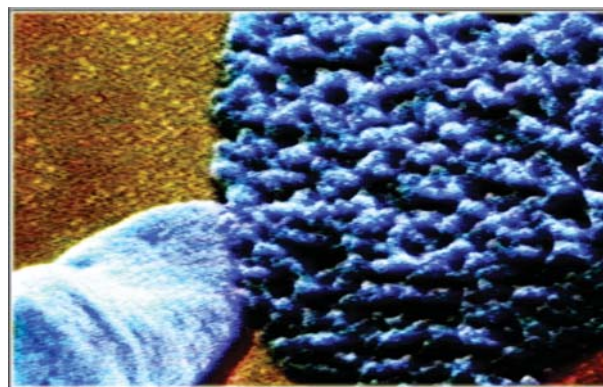
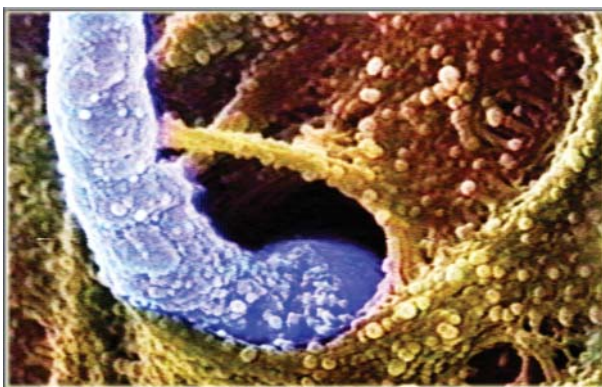
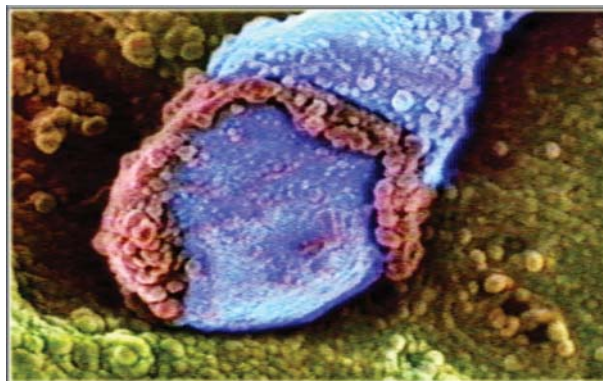
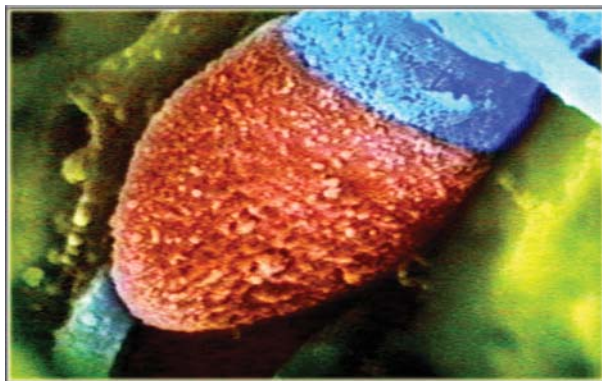


Figura 1-9.
Secuencia de capacitación, fertilización y entrega de la carga cromosómica.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

Este proceso de maduración final se llama capacitación y gran parte de las investigaciones que llevaron al éxito en la fertilización in vitro, fue lograr que esta capacitación fuera posible en el laboratorio (Chang, 1984).

CONTROL HORMONAL

Eje hipotálamo-hipófisis-testículo

La producción de espermatozoides y testosterona depende de la estimulación del testículo por las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH). Ambas son secretadas de forma pulsátil por la adenohipófisis, en respuesta a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que a su vez es secretada de forma pulsátil por el hipotálamo (fig. 1-10) (Fawcett, 1986).

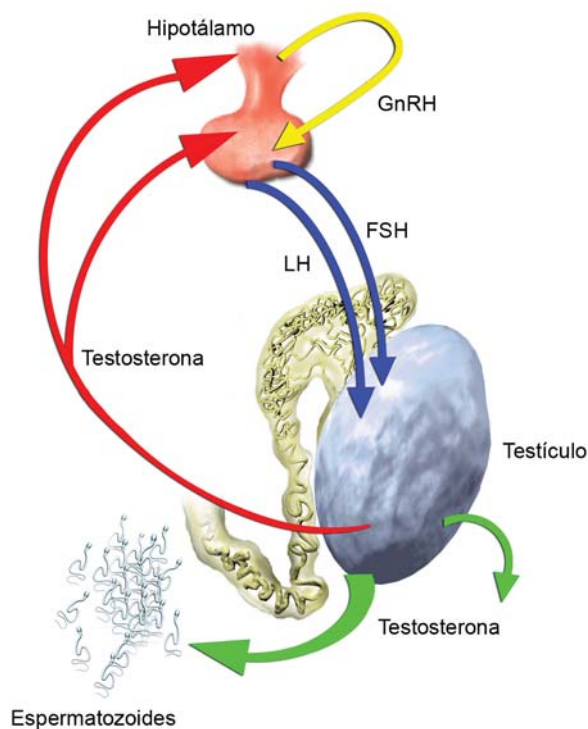


Figura 1-10.
Eje hipotálamo-hipófisis-testículo.

La testosterona es sintetizada por las células de Leydig en respuesta a la LH; estas células tienen receptores para LH pero no para FSH. Por otra parte, las células de Sertoli tienen receptores para FSH y testosterona pero no para LH (De Kretser et al., 1971; Marina, 2003). Así, la LH actúa sobre la célula de Leydig, la cual produce testosterona y la FSH actúa sobre las células de Sertoli, las cuales producen

inhibina, que ejerce un efecto inhibitorio de la secreción de FSH. Hasta el momento, no se han encontrado receptores para las gonadotropinas en las células germinales (Weinbauer and Wessels, 1999).

La testosterona se puede transformar en estradiol por acción de la enzima aromatasa esta aromatización se produce en varios tejidos, entre ellos las células de Sertoli y la adenohipófisis. Además, por acción de la enzima 5 α -reductasa, la testosterona puede ser transformada en dihidrotestosterona (DHT), un tipo de andrógeno que no puede ser aromatizado, es decir, no puede ser convertido en estradiol. La testosterona, en forma de DHT, ejerce una acción supresora sobre el hipotálamo (retroalimentación negativa), sobre la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH y, en menor grado, sobre la FSH. También tiene una acción supresora sobre la adenohipófisis, luego de haber sido transformada en estradiol.

Además, existe un mecanismo de retroalimentación adicional para la FSH, a través de glicoproteínas como la inhibina y la activina, que establecen una comunicación entre el testículo y el cerebro. La inhibina es producida en las células de Sertoli y ejerce un efecto inhibitorio en la secreción de FSH.

La activina se sintetiza en varios tejidos, incluso en la hipófisis, donde estimula la liberación de FSH (Corrigan et al., 1991). Sin embargo, no se sabe a ciencia cierta cuál es su importancia en la espermatogénesis porque la activina está involucrada en otros procesos como la eritropoyesis, regulación de neurotransmisores y en algunas funciones placentarias (Burger, 2001). La follistatina pertenece a una familia de polipéptidos diferente y su función es antagonizar el efecto de la activina (Ueno et al., 1987; Mather et al., 1997).

Otros factores que modulan la secreción de GnRH son los péptidos opioides, la serotonina, la dopamina, el sistema alfa adrenérgico, el estrés metabólico y el estrés físico o emocional severo, los cuales pueden generar neuromoduladores que modifiquen la frecuencia y magnitud de los pulsos de GnRH y, por tanto, de LH y FSH (McGrady, 1984).

Mucho se ha discutido sobre el papel de la FSH y la testosterona en las diferentes fases de la espermatogénesis. Ambas son necesarias para el inicio de la espermatogénesis, en la pubertad, y la testosterona, para su mantenimiento en el adulto. Sin embargo, no se conoce aún el papel de la FSH en el mantenimiento de la espermatogénesis en el adulto, aunque hay indicios que señalan que interviene en la prevención de la apoptosis



de las células germinales. A continuación, se presentan en forma detallada evidencias que indican las posibles funciones de la testosterona, FSH, estradiol y otros factores locales en el proceso de espermatogénesis.

Testosterona

La testosterona es un andrógeno esteroide derivado de la molécula del ciclopentanoperhidrofenantreno, que tiene 19 átomos de carbono, un doble enlace entre C4 y C5, un átomo de oxígeno en C3 y un radical hidroxilo (OH) en C17, fórmula $C_{19}H_{28}O_2$ (fig. 1-11). Esta estructura es necesaria para el mantenimiento de la actividad androgénica. La testosterona puede ser aromatizada en varios tejidos para formar estradiol, que es una hormona cuyo papel en el hombre aún no ha sido aclarado pero que cuando se produce en exceso puede provocar feminización.

La testosterona y los andrógenos atraviesan fácilmente la membrana celular y se unen a receptores intracelulares específicos para ejercer su acción.

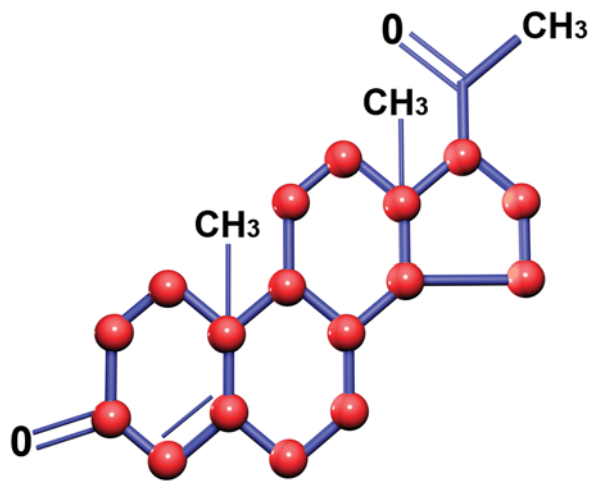


Figura 1-11.
Estructura molecular de la testosterona.

La testosterona produce los siguientes efectos sobre los órganos sexuales primarios:

- Promueve el crecimiento del escroto, pene y glándulas secretoras sexuales.
- Aumenta el peso y crecimiento testicular.
- Estimula la espermatogénesis en los túbulos seminíferos.

- Estimula la maduración del espermatozoide.
- Completa las características del semen y estimula la constitución definitiva, en su paso por el epidídimo y los conductos deferentes.
- Aumenta la libido.

Además produce los siguientes efectos sobre las características sexuales secundarias:

- Proliferación de las glándulas sebáceas, lo cual favorece la aparición de acné.
- Engrosamiento de la piel.
- Hipertrofia de la laringe y producción de una voz grave permanente.
- Distribución del vello masculino en pubis, tronco, extremidades y barba.
- Tiene una relación determinada genéticamente con la aparición de calvicie en el hombre.
- Cierre de las placas epifisarias y del cartílago de conjunción.
- Comportamiento más agresivo y mayor vigor físico y muscular en el hombre que en la mujer.

Las acciones anabólicas son también evidentes en otros órganos y sistemas como hígado, riñón, corazón, médula ósea, etc.

Los andrógenos y la testosterona producen efectos anabólicos y de tipo mineralcorticoide como:

- Incremento de la masa muscular por una acción anabólica.
- Aumento del ritmo de crecimiento de los huesos largos en la pubertad y aumento de estatura.
- Aumento del peso corporal.
- Aumento de la síntesis de proteínas.
- Incremento de la retención de nitrógeno y balance de nitrógeno positivo.
- Retención de sodio, cloro y agua: acción mineralcorticoide.

- Retención de fósforo y potasio.

Otras acciones son:

- Por retroalimentación negativa inhibe la secreción de las gonadotropinas hipofisarias.
- La concentración de hemoglobina es habitualmente de 1 a 2 g/dl superior en el hombre adulto que en la mujer por el efecto eritropoyético de los andrógenos.
- Tiene efectos antineoplásicos en el carcinoma de mama avanzado y metastásico inoperable donde la radioterapia no está indicada.

El proceso de meiosis durante la espermatogénesis es dependiente de la testosterona y su importancia se ha demostrado en ensayos con roedores hipofisectomizados, en los cuales se observa que la administración de altas dosis de testosterona puede mantener la espermatogénesis en ausencia de FSH (Marina, 2003; Sun et al., 1990). La concentración de testosterona en el líquido intersticial testicular y en el túbulo seminífero es hasta 100 veces mayor que la presente en sangre periférica (Morse et al., 1973).

Se ha observado que esta elevada concentración intratesticular puede no ser indispensable para mantener la espermatogénesis, porque la reducción experimental de hasta 60% de la concentración fisiológica de esta hormona en el líquido tubular no afecta cuantitativamente la espermatogénesis en ratas adultas (Cunningham and Huckins, 1979). Sin embargo, se ha determinado que para su mantenimiento se requieren niveles al menos 10 veces superiores a los presentes en sangre periférica (Cunningham and Huckins, 1979).

La administración exógena de testosterona en bajas dosis actúa como anticonceptivo porque inhibe la secreción de LH y provoca bajos niveles intratesticulares de esta hormona, que son incapaces de mantener la espermatogénesis. Debido a que se conoce un solo tipo de receptor de andrógenos, presente en todos los tejidos andrógeno-dependientes, es difícil entender por qué el testículo requiere concentraciones tan altas de testosterona, mientras que en otros tejidos, con el mismo tipo de receptor de andrógenos, funcionan con niveles mucho más bajos de la hormona (Quigley, 1998). Una posible explicación radica en que la mayor parte de la hormona se encuentra unida a la proteína fijadora de andrógenos (ABP) y no está disponible para unirse al receptor de testosterona.

La ABP es producida por las células de Sertoli en respuesta al estímulo de la FSH, y es secretada hacia el intersticio y hacia el líquido tubular (Danzo and Eller, 1985). Esta proteína puede regular la acción de la testosterona, al modular la concentración de la hormona libre capaz de interactuar con su receptor (Joseph et al., 1997). Además, se ha demostrado la presencia de endocitosis de la proteína ABP en células germinales de rata, mono y hombre cuyo significado es aún desconocido (Gerard, 1995).

El mecanismo de acción de la testosterona en la regulación de la espermatogénesis aún no se ha determinado. Se piensa que el estímulo de la testosterona en la gametogénesis debe ser indirecto, puesto que sólo se une a las células somáticas testiculares y no se conocen mediadores locales de su acción, ni receptores en las células germinales (Bremner et al., 1994; Van Roijen et al., 1995). Sin embargo, podría actuar en el testículo, a través de su conversión a dihidrotestosterona (DHT) por la enzima 5 α -reductasa, debido a que en dosis comparables, la DHT es tan efectiva como la testosterona en estimular la espermatogénesis (Singh et al., 1995).

Por otra parte, se ha observado que las células germinales requieren de la presencia de testosterona porque la ausencia de ella conduce tempranamente a la depleción de células germinales en estadios particulares de diferenciación, en especial los espermatocitos en paquiteno y las espermátides en estadios 7 y 8. La falta de testosterona altera la adhesión de las espermátides a las células de Sertoli, probablemente por alteración del citoesqueleto de la célula somática, que inhibe la maduración subsiguiente de la célula germinal y, quizás, esto explique la muerte de estos tipos de células germinales.

También se ha observado un incremento en la apoptosis de células germinales durante la supresión experimental de testosterona, por lo que se considera que esta hormona desempeña un papel importante en la supervivencia de las células germinales. Éstas pueden expresar un receptor de membrana denominado Fas, que al unirse a su ligando, FasL, expresado en la célula de Sertoli, puede iniciar el proceso de apoptosis.

La expresión del sistema Fas-FasL se favorece cuando el testículo es expuesto a xenobióticos, que son sustancias artificiales provenientes del exterior, presentes en el organismo (Lee et al., 1999). La testosterona quizás ejerce su efecto protector celular a través de la regulación de la expresión de proteínas relacionadas con la apoptosis.



Hormona foliculoestimulante (FSH)

La FSH es una glicoproteína con una estructura similar a la de la LH, TSH y HCG. Tiene dos polipéptidos que se denominan subunidad alfa y beta. La alfa es común para la LH, FSH, TSH y HCG y contiene 92 aminoácidos. La beta tiene 118 aminoácidos que le confieren la actividad biológica específica y es la responsable de interactuar con el receptor de FSH. Tanto en el hombre como en la mujer, la FSH estimula la maduración de las células germinales.

El receptor de FSH se encuentra en las células de Sertoli y en las espermatogonias (Marina, 2003). Esta hormona es de gran importancia en el inicio de la espermatogénesis en la pubertad, pero su relevancia en el mantenimiento de la espermatogénesis en el adulto es controversial. Un estudio, en el cual se administró suero anti-GnRH a ratas adultas y se obtuvieron niveles no detectables de FSH, reveló que la espermatogénesis no estaba afectada cuando el animal recibía suplemento de testosterona (Awoniyi et al., 1989).

Además, ratones que no sintetizan FSH porque el gen de la subunidad beta de la FSH ha sido suprimido, mantienen la espermatogénesis y son fértiles, aunque presentan testículos pequeños (Kumar et al., 1997). Por esto, algunos autores apoyan la idea de que la FSH no es necesaria para el mantenimiento de la espermatogénesis en ratas adultas, cuando las concentraciones de testosterona dentro del testículo se mantienen en niveles elevados, como los observados en condiciones normales; sin embargo, la FSH puede ejercer un papel significativo en la espermatogénesis cuando las concentraciones de testosterona dentro del testículo disminuyen.

Estudios en primates sugieren que tanto la FSH como la testosterona pueden estimular el desarrollo inicial de las espermatogonias, pero sólo la testosterona es capaz de completar la espermatogénesis. Finalmente, existen evidencias experimentales que demuestran que la FSH suprime la apoptosis de las células germinales en ratas hipofisectomizadas, lo cual indica que esta hormona promueve la supervivencia celular (McLachlan et al., 1995).

Estradiol

Es la hormona femenina, aunque también las células de Sertoli sintetizan estradiol testicular a partir de la aromatización de la testosterona producida por las células de Leydig. Como las otras hormonas sexuales, es derivada del colesterol y proviene de la androstenodiona, la cual es convertida en testosterona que a

su vez se puede aromatizar hacia estradiol; o la androstenodiona se puede aromatizar a estrona, la cual se convierte en estradiol (fig. 1-12).

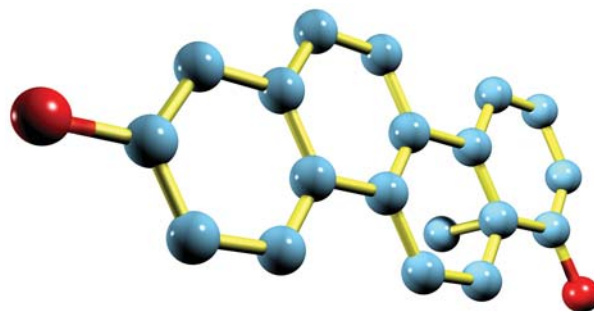


Figura 1-12.
Estructura molecular del estradiol.

A su vez, el estradiol sale al espacio intersticial y contribuye con la regulación de la función de las células de Leydig, por tanto, al menos en roedores, el estradiol parece actuar como regulador local de la espermatogénesis (Jegou and Sharpe, 1993; Lubahn et al., 1993). La testosterona podría ejercer su acción sobre la espermatogénesis a través de sus derivados la DHT y el estradiol. Bajo esta concepción local, los estrógenos se podrían considerar también hormonas masculinas (O'Donnell et al., 2001).

FACTORES LOCALES

Además de las hormonas esteroideas, se han descrito factores producidos de forma local en el testículo, que tienen un papel en la regulación de la espermatogénesis. Entre éstos se encuentran algunas citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), que podría ser importante en la comunicación entre las células de Sertoli y las células germinales (Weinbauer and Wessels, 1999), y el factor inhibidor de leucemia (LIF), que pudiera estar implicado en la regulación autocrina de las células de Sertoli (Hara et al., 1998). Además, distintos factores de crecimiento han sido encontrados en las células de Sertoli y en las células germinales, sin que se haya establecido aún su función precisa (Haneji et al., 1991; Weinbauer and Wessels, 1999).

El sistema c-kit/SCF es un modelo de factor local, que es mediador del estímulo endocrino de las gonadotropinas. El factor de célula madre (SCF) es producido por las células de Sertoli en respuesta a la estimulación por FSH (Loveland et al., 1997; Rossi et al., 1993) y es el ligando del c-kit, un receptor tirosina-qui-

nasa presente en las células germinales, específicamente en las espermatogonias (Yoshinaga et al., 1991).

La interacción c-kit/SCF es indispensable para la espermatogénesis en ratones, como se demuestra con animales mutantes que no expresan c-kit o SCF y son estériles porque sus testículos carecen de células germinales (Munsie et al., 1997). El sistema c-kit está presente en el testículo humano, aunque no se ha señalado su alteración como etiología en infertilidad masculina (Sandlow et al., 1997).

BASES GENÉTICAS DE LAS ALTERACIONES EN LA ESPERMATOGÉNESIS

En los casos de infertilidad de origen testicular, es difícil determinar la causa. Aunque la historia clínica aporta una información importante y la biopsia permite clasificar a los pacientes en oligo o azoospermicos, los datos no suelen ser suficientes para determinar la causa del problema. En la actualidad se sabe que, además de la región SRY del brazo corto del cromosoma Y, donde se localizan los genes para determinar la presencia de testículo, otras regiones presentes en los cromosomas sexuales y autosómicos son fundamentales para que ocurra el proceso de espermatogénesis en forma adecuada.

Estudios recientes han revelado la presencia de deleciones y microdeleciones en la porción proximal del brazo largo del cromosoma Y (Yq11) en pacientes azoospermicos, lo que ha sugerido que genes localizados en esa región están relacionados con el control de la espermatogénesis y son los llamados factores de azoospermia (AZF) (Vogt, 2005; Tiepolo and Zuffardi, 1976). La prevalencia general de estas microdeleciones en varones infértiles es de aproximadamente 8%, pero puede ser mucho mayor en grupos específicos de pacientes, como los que presentan azoospermia idiopática o el síndrome de sólo células de Sertoli, que es cuando no hay células germinales en ningún túbulo (Foresta et al., 2001); por esta razón, la pesquisa mediante PCR de estas deleciones es recomendable en pacientes con azoospermia u oligozoospermia severa.

Hasta ahora se han descrito tres regiones del cromosoma Y susceptibles de estar afectadas en pacientes azoospermicos, las cuales han sido denominadas AZFa, AZFb y AZFc (Vogt et al., 1996). Una cuarta región denominada AZFd, localizada entre AZFb y AZFc, aún no ha sido confirmada (Kent-First et al., 1999). Una microdelección, en alguna de estas regiones, puede involucrar varios genes. Aquéllos que se expresan en el

tejido testicular son probablemente responsables de los distintos fenotipos hallados en estos pacientes (Foresta et al., 2001). Por ejemplo, las microdeleciones de la región AZFb, donde se localiza un gen denominado RBMY, que sólo se expresa en las células germinales del testículo, están relacionadas con infertilidad en humanos; además, este gen es homólogo al gen RBM del ratón, cuya delección causa esterilidad (Elliott et al., 1997).

Existe otro grupo de genes con alta prevalencia de deleciones en pacientes infértiles, los cuales presentan una estructura similar al gen RBM, y se denominan DAZ (Saxena et al., 1996). Esta familia de genes presenta tres o cuatro copias en la región AZFc, se encuentra sólo en simios y humanos (Gromoll et al., 1999) y únicamente se expresa en las células germinales masculinas (Menke et al., 1997; Habermann et al., 1998). El gen RBM codifica para una proteína que posee afinidad con el ARN, cuya función en la espermatogénesis es desconocida (Foresta et al., 2001).

Finalmente, la región AZFa presenta varios genes posiblemente relacionados con la espermatogénesis; sin embargo, el más importante parece ser el gen DBY (Foresta et al., 2000), que es el que con mayor frecuencia se halla involucrado en las deleciones con significado clínico y, aunque se expresa en varios tejidos, en el testículo produce un transcripto específico.

La manifestación clínica o fenotipo asociado a estas microdeleciones es variable y, en general, no hay correlación entre la localización de la delección y el fenotipo clínico. Por ejemplo, las deleciones en la región AZFc se pueden asociar tanto con azoospermia como con oligozoospermia severa y en las biopsias testiculares se pueden diagnosticar patologías como la hipoespermatogénesis, que es la reducción en el número de células germinales presentes en el túbulo; arresto espermatogénico, que es cuando la espermatogénesis se detiene en un estadio específico, o síndrome de sólo células de Sertoli (Foresta et al., 2001; De Kretser et al., 1972).

Las deleciones de la región AZFa o AZFb provocan problemas más severos, debido a que causan azoospermia en la mayoría de los casos (Foresta et al., 2000). El arresto espermático, que es el bloqueo de la maduración, es más frecuente en los casos de delección de AZFb (Foresta et al., 2001). Además, deleciones muy extensas donde se involucran varias regiones, por ejemplo, pacientes con deleciones AZFa-c presentan las manifestaciones más severas, lo que hace improbable la obtención de espermatozoides en la biopsia de testi-



culo durante los tratamientos con inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) (Silber et al., 1998).

Se ha logrado el embarazo mediante ICSI con espermatozoides testiculares en pacientes azoospermicos que presentan deleciones del cromosoma Y, específicamente de la región AZFc (Mulhall et al., 1997; Page et al., 1999; Jiang et al., 1998; Kamischke et al., 1999); lo que demuestra que los espermatozoides de estos pacientes son capaces de fecundar mediante ICSI y lograr un desarrollo embrionario normal. Sin embargo, a todos los hijos varones se les transmitirá la deleción presente en el padre, por lo que se deberá suministrar consejo genético a todas las parejas con factor masculino severo, susceptibles a tratamiento por ICSI, antes del procedimiento.

En algunos pacientes oligozoospermicos con deleciones del cromosoma Y, se ha señalado fertilización y obtención de embriones mediante fertilización in vitro convencional (Rossato et al., 1998), e inclusive concepción espontánea, aunque estos casos son poco frecuentes (Stuppia et al., 1996; Edwards and Bishop, 1997). En conclusión, la determinación de la presencia de deleciones en el cromosoma Y del hombre con problemas de fertilidad puede prevenir el uso de tratamientos poco efectivos en estos casos. La identificación del papel que desempeñan los genes AZF en la espermatogénesis ha ampliado los conocimientos en esta área; sin embargo, se debe continuar en la búsqueda de nuevos genes que puedan estar regulando este proceso.

RESUMEN

El testículo está conformado por un sistema de túbulos rodeados por tejido intersticial donde se encuentran ubicadas las células de Leydig, las cuales son las encargadas de producir testosterona. El epitelio de los túbulos está constituido por dos tipos de células: las células germinales, que se encuentran en todo el espesor del epitelio en diferentes estadios de desarrollo, y las células somáticas, que se denominan células de Sertoli. El citoplasma de éstas rodea las células germinales y las cuida en su desarrollo por lo que también se las conoce como células nodrizas.

La primera fase de la espermatogénesis, denominada de proliferación o espermatogonial, se caracteriza por la perpetuación de las espermatogonias mediante mitosis. La segunda fase, llamada de meiosis o spermatocitaria, es donde se reduce el

número de cromosomas a la mitad mediante meiosis. La tercera fase, llamada de diferenciación o espermogénesis, es donde ocurre la diferenciación en células flageladas especializadas.

Al realizar cortes transversales en varias porciones del túbulo seminífero, se observa que las células germinales no se reúnen al azar, sino que establecen patrones de asociaciones celulares que se repiten y se han denominado estadios. En los humanos existen seis estadios bien definidos que ocupan pequeñas áreas cuneiformes del epitelio tubular, a modo de mosaico.

La producción de espermatozoides depende de la estimulación del testículo por las hormonas FSH y LH, secretadas en forma pulsátil por la adenohipófisis. La LH actúa sobre las células de Leydig, las cuales producen testosterona, y la FSH actúa sobre las células de Sertoli, las cuales producirán inhibina. Hasta el momento, no se han encontrado receptores para las gonadotropinas en las células germinales. Se han descrito que existen otros factores locales que influyen en la regulación de la espermatogénesis.

En pacientes con alteraciones espermáticas como azoospermia u oligospermia severa, se han encontrado deleciones y microdeleciones en la porción proximal del brazo largo del cromosoma Y, que se conocen como factores de azoospermia (AZF). Los espermatozoides de estos pacientes son capaces de fecundar mediante inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI); sin embargo, a todos los hijos varones se les transmitirá la deleción presente en el padre, por lo que se debe suministrar consejo genético a todas las parejas con factor masculino severo.

REFERENCIAS

- ALASTALO T, LONNSTROM M, LEPPA S, KAARNIRANTA K, PELTO-HUIKO M, SISTONEN L, PARVINEN M (1998). Stage-specific expression and cellular localization of the heat shock factor 2 isoforms in the rat seminiferous epithelium. *Exp Cell Res*; 240:16-27.
- AMANN R, HAMMERSTEDT R, VEERAMACHANENI D (1993). The epididymis and sperm maturation: a perspective. *Reprod Fertil Dev*; 5(4):361-381.
- AWONYI C, SANTULLI R, SPRANDO R, EWING L, ZIRKIN B (1989). Restoration of advanced spermatogenic cells in the experimentally regressed rat testis: quantitative relationship to testosterone concentration within the testis. *Endocrinology*; 124(3):1217-1223.

- BAARENDS W, GROOTEGOED J (1999). Molecular Biology of Gametogenesis. In: FAUSER BCJM (eds.). *Molecular Biology in Reproductive Medicine*. New York: The Parthenon Publishing Group.
- BIYANI C, JANETSCHKE G (2004). Varicocele. *Clin Evid*; 12:1287-1293.
- BREMNER W, MILLAR M, SHARPE R, SAUNDERS P (1994). Immunohistochemical localization of androgen receptors in the rat testis: evidence of stage-dependent expression and regulation by androgens. *Endocrinology*; 135:1227-1234.
- BRINSTER R, AVARBOCK M (1994). Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl Acad Sci*; 91:11303-11307.
- BURGER H (2001). Inhibina, activina y neoplasias. En: BARBIERI R, JAFFE R, YEN S (eds.). *Endocrinología de la Reproducción*. Buenos Aires: Editorial Panamericana.
- CHANG M (1984). The meaning of sperm capacitation. A historical perspective. *J Androl*; 5(2):45-50.
- CHENG C, MRUK D (2002). Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-germ cell interactions and male contraceptive development. *Physiol Rev*; 82(4):825-874.
- CLERMONT Y (1963). The cycle of the seminiferous epithelium in man. *Am J Anat*; 112:35-51.
- CLERMONT Y (1966). Renewal of spermatogonia in man. *Am J Anat*; 118:509-524.
- CLERMONT Y (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev*; 52:198-203.
- CLOUTHIER D, AVARBOCK M, MAIKA S, HAMMER R, BRINSTER R (1996). Rat spermatogenesis in mouse testis. *Nature*; 381:418-421.
- CORRIGAN A, BILEZIKJIAN L, CARROLL R, BALD L, SCHMELZER C, FENDLY B, MASON A, CHIN W, SCHWALL R, VALE W (1991). Evidence for an autocrine role of activin B within rat anterior pituitary cultures. *Endocrinology*; 128:1682-1684.
- CUNNINGHAM G, HUCKINS C (1979). Persistence of complete spermatogenesis in the presence of low intratesticular concentration of testosterone. *Endocrinology*; 105:177-186.
- DANZO B, ELLER B (1985). The ontogeny of biologically active androgen-binding protein in rat plasma, testis and epididymis. *Endocrinology*; 117:1380-1388.
- DE KRETZER D, BURGER H, FORTUNE D, HUDSON B, LONG A, PAULSEN C, TAFT H (1972). Hormonal, histological and chromosomal studies in adult males with testicular disorders. *J Clin Endocrinol Metab*; 35:392-401.
- DE KRETZER D, CATT K, PAULSEN C (1971). Studies on the in vitro testicular binding of iodinated luteinizing hormone in rats. *Endocrinology*; 88:332-337.
- DYM M, FAWCETT D (1970). The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium. *Biol Reprod*; 3:308-326.
- DYM M, FAWCETT D (1971). Further observations on the numbers of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. *Biol Reprod*; 4:195-215.
- EDWARDS R, BISHOP C (1997). On the origin and frequency of Y chromosome deletions responsible for severe male infertility. *Mol Hum Reprod*; 3:549-554.
- ELLIOTT D, MA K, KERR S, THAKRAR R, SPEED R, CHANDLEY A, COOKE H (1996). An RBM homologue maps to the mouse Y chromosome and is expressed in germ cells. *Hum Mol Genet*; 5:869-874.
- ELLIOTT D, MILLAR M, OGHENE K, ROSS A, KIESEWETTER F, PRYOR J, MCINTYRE M, HARGREAVE T, SAUNDERS P, VOGT P, CHANDLEY A, COOKE H (1997). Expression of RBM in the nuclei of human germ cells is dependent on a critical region of the Y chromosome long arm. *Proc Natl Acad Sci USA*; 94:3848-3853.
- FAWCETT D, BLOOM W (1986). *Tratado de Histología*. México: Editorial Interamericana, pp: 802-857.
- FORESTA C, FERLIN A, MORO E (2000). Deletion and expression analysis of AZFa genes on the human Y chromosome revealed a major role for DBY in male infertility. *Hum Mol Genet*; 9:1161-1169.
- FORESTA C, MORO E, FERLIN A (2001). Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocrine Reviews*; 22:226-239.
- FRANCA L, OGAWA T, AVARBOCK M, BRINSTER R, RUSSELL L (1998). Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol Reprod*; 59:1371-1377.
- GERARD A (1995). Endocytosis of androgen-binding protein (ABP) by spermatogenic cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 53:533-542.
- GILULA N, FAWCETT D, AOKI A (1976). The Sertoli cell occluding junctions and gap junctions in mature and developing mammalian testis. *Dev Biol*; 50:142-146.
- GROMOLL J, WEINBAUER G, SKALETSKY H, SCHLATT S, ROCCHIETTI-MARCH M, PAGE D, NIESCHLAG E (1999). The old world monkey DAZ (Deleted in AZoospermia) gene yields insights into the evolution of the DAZ gene cluster on the human Y chromosome. *Hum Mol Genet*; 8:2017-2024.
- HABERMANN B, MI H, EDELMANN A, BOHRING C, BACKERT I, KIESEWETTER F, AUMULLER G, VOGT P (1998). DAZ (Deleted in AZoospermia) genes encode proteins located in human late spermatids and in sperm tails. *Hum Reprod*; 13:363-369.
- HAMMERSTEDT R (1981). Monitoring the metabolic rate of germ cells and sperm. In: MCKERNS K (ed.). *Reproductive Processes and Contraception*. New York: Plenum Press.



- HANEJI T, KOIDE S, TAJIMA Y, NISHIMUNE Y (1991). Differential effects of epidermal growth factor on the differentiation of type A spermatogonia in adult mouse cryptorchid testes in vitro. *J Endocrinol*; 128(3):383-388.
- HARA, TAMURA K, DE MIGUEL M, MUKOUYAMA Y, KIM H, KOGO H, DONOVAN P, MIYAJIMA A (1998). Distinct roles of oncostatin M and leukemia inhibitory factor in the development of primordial germ cells and Sertoli cells in mice. *Dev Biol*; 201:144-153.
- HELLER C, CLERMONT Y (1963). Spermatogenesis in man: an estimate of its duration. *Science*; 140:184-186.
- HESS R (1998). Spermatogenesis, Overview. In: KNOBIL E, NEILL J (eds.). *Encyclopedia of Reproduction*. San Diego: Academic Press.
- HESS R (1990). Quantitative and qualitative characteristics of the stages and transitions in the cycle of the rat seminiferous epithelium: light microscopic observations of perfusion-fixed and plastic-embedded testes. *Biol Reprod*; 43:525-542.
- JEGOU B (1993). The Sertoli-germ cell communication network in mammals. *Int Rev Cytol*; 147:25-96.
- JEGOU B, SHARPE R (1993). Paracrine mechanisms in testicular control. In: DE KRETZER D (ed.). *The molecular biology of the male reproductive system*, New York: NY. Academic Press.
- JIANG M, LIEN Y, CHEN S, KO T, HO H, YANG Y (1999). Transmission of de novo mutations of the deleted in azoospermia genes from a severely oligozoospermic male to a son via intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*; 71:1029-1032.
- JOSEPH D, O'BRIEN D, SULLIVAN P, BECCHIS M, TSURUTA J, PETRUSZ P (1997). Overexpression of androgen-binding protein/sex hormone-binding globulin in male transgenic mice: tissue distribution and phenotypic disorders. *Biol Reprod*; 56:21-32.
- KAMISCHKE A, GROMOLL J, SIMONI M, BEHRE H, NIESCHLAG E (1999). Transmission of a Y chromosome deletion involving the deleted in azoospermia (DAZ) and chromodomain (CDY1) genes from father to son through intracytoplasmic sperm injection: case report. *Hum Reprod*; 14:2320-2322.
- KENT-FIRST M, MUALLEM A, SHULTZ J, PRYOR J, ROBERTS K, NOLTEN W, MEISNER L, CHANDLEY A, GOUCHY G, JORGENSEN L, HAVIGHURST T, GROSCHE J (1999). Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZF_d) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol Reprod Dev*; 53:27-41.
- KLEENE K, BORZORGZADEH A, FLYNN J, YELICK P, HECHT N (1988). Nucleotide sequence of a cDNA clone encoding mouse transition protein 1. *Biochim Biophys Acta*; 950:215-220.
- KLEENE K, FLYNN J (1987). Characterization of a cDNA clone encoding a basic protein, TP2, involved in chromatin condensation during spermiogenesis in the mouse. *J Biol Chem*; 262:17272-17277.
- KRETZER D (2000). Overview of spermatogenesis and ejaculation. In: KEEL B, MAY J, DE JONGE C (eds.). *Handbook of the Assisted Reproduction Laboratory*. Boca Raton FL: CRC Press.
- KUMAR T, WANG Y, LU N, MATZUK M (1997). Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. *Nature Genet*; 15:201-204.
- LEBLOND C, CLERMONT Y (1952). Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann N Y Acad Sci*; 55:548-573.
- LEE J, RICHBURG J, SHIPP E, MEISTRICH M, BOEKELHEIDE K (1999). The Fas system, a regulator of testicular germ cell apoptosis, is differentially up-regulated in Sertoli cell versus germ cell injury of the testis. *Endocrinology*; 140:852-858.
- LENNART N (1990). *The Miracle of Life*. New York: Batam Doubleday Dell Publishing Group Inc.
- LIN W, LAMB D, WHEELER T, LIPSHULTZ L, KIM E (1997). In situ end-labeling of human testicular tissue demonstrates increased apoptosis in conditions of abnormal spermatogenesis. *Fertil Steril*; 68:1065-1069.
- LOVELAND K, SCHLATT S (1997). Stem cell factor and c-kit in the mammalian testis: lessons originating from Mother Nature's gene knockouts. *J Endocrinol*; 153:337-344.
- LUBAHN D, MOYER J, GOLDING T, COUSE J, KORACH K, SMITHIES O (1993). Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci*; 90:11162-11166.
- MARINA S (2003). Endocrinología del testículo. *Revista Asebir*; 8(1):38-48.
- MATHER J, MOORE A, LI R (1997). Activins, inhibins and follistatins: further thoughts on a growing family of regulators. *Proc Soc Exp Biol Med*; 215:209-222.
- MCGRADY A (1984). Effects of psychological stress on male reproduction: a review. *Arch Androl*; 13:1-7.
- MCLACHLAN R, WREFORD N, DE KRETZER D, ROBERTSON D (1995). The effects of recombinant follicle-stimulating hormone on the restoration of spermatogenesis in the gonadotrophin-releasing hormone-immunized adult rat. *Endocrinology*; 136:4035-4043.
- MENKE D, MUTTER G, PAGE D (1997). Expression of DAZ, an azoospermia factor candidate, in human spermatogonia. *Am J Hum Genet*; 60:237-241.
- MORSE H, HORIKE N, ROWLEY M, HELLER C (1973). Testosterone concentrations in testes of normal men: effects of testosterone propionate administration. *J Clin Endocrinol Metab*; 37:882-886.

- MULHALL J, REIJO R, ALAGAPPAN R, BROWN L, PAGE D, CARSON R, OATES R (1997). Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*; 12:503-508.
- MUNSIE M, SCHLATT S, DE KRETZER D, LOVELAND K (1997). Expression of stem cell factor in the postnatal rat testis. *Mol Reprod Dev*; 47:19-25.
- O'DONNELL L, ROBERTSON K, JONES M, SIMPSON E (2001). Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev*; 22:289-318.
- OKO R, CLERMONT Y (1990). Mammalian Spermatozoa: structure and assembly of the tail. In: GAGNON C (ed.). *Controls of Sperm Motility: Biological and Clinical Aspects*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- OKO R, CLERMONT Y (1998). Spermiogenesis. In: KNOBIL E, NEILL J (eds.). *Encyclopedia of Reproduction*. San Diego: Academic Press.
- OKO R, JANDO V, WAGNER C, KISTLER W, HERMO L (1996). Chromatin reorganization in rat spermatids during the disappearance of testis-specific histone, H1t, and the appearance of transition proteins TP1 and TP2. *Biol Reprod*; 54:1141-1157.
- OTANI H, TANAKA O, KASAI K, YOSHIOKA T (1988). Development of mitochondrial helical sheath in the middle piece of the mouse spermatid tail: regular dispositions and synchronized changes. *Anat Rec*; 222:26-33.
- PAGE D, SILBER S, BROWN L (1999). Men with infertility caused by AZFc deletion can produce sons by intracytoplasmic sperm injection, but are likely to transmit the deletion and infertility. *Hum Reprod*; 14:1722-1726.
- PEREY B, CLERMONT Y, LEBLOND C (1961). The wave of the seminiferous epithelium in the rat. *Am J Anat*; 108:47-77.
- QUIGLEY C (1998). The androgen receptor. Physiology and Pathophysiology. In: NIESCHLAG E, BEHRE H (eds.). *Testosterone: action, deficiency substitution*. Berlin: Springer-Verlag.
- ROSSATO M, FERLIN A, GAROLLA A, PISTORELLO M, FORESTA C (1998). Case report: high fertilization rate in conventional in-vitro fertilization utilizing spermatozoa from an oligozoospermic subject presenting microdeletions of the Y chromosome long arm. *Mol Hum Reprod*; 4:473-476.
- ROSSI P, DOLCI S, ALBANESI C, GRIMALDI P, RICCA R, GEREMIA R (1993). Follicle-stimulating hormone induction of steel factor (SLF) mRNA in mouse Sertoli cells and stimulation of DNA synthesis in spermatogonia by soluble SLF. *Dev Biol*; 155:68-74.
- SANDLOW J, FENG H, SANDRA A (1997). Localization and expression of the c-kit receptor protein in human and rodent testis and sperm. *Urology*; 49:494-500.
- SAXENA R, BROWN L, HAWKINS T, ALAGAPPAN R, SKALETSKY H, REEVE M, REIJO R, ROZEN S, DINULOS M, DISTECHE C, PAGE D (1996). The DAZ gene cluster on the human Y chromosome arose from an autosomal gene that was transposed, repeatedly amplified and pruned. *Nat Genet*; 14:292-299.
- SETCHELL B (1980). The functional significance of the blood-testis barrier. *J Androl*; 1:3-5.
- SHARPE R, MCKINNELL C, McLAREN T, MILLAR M, WEST A, MAGUIRE S, GAUGHAN J, SYED V, JÉGOU B, KERR J and SAUNDERS P (1994). Interactions between androgens, Sertoli cells and germ cells in the control of spermatogenesis. In: VERHOEVEN G, HABENICHT U (eds.). *Molecular, Cellular Endocrinology of the Testis*. Heidelberg: Springer-Verlag.
- SILBER S, ALAGAPPAN R, BROWN L, PAGE D (1998). Y chromosome deletions in azoospermic and severely oligozoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction. *Hum Reprod*; 13:3332-3337.
- SINGH J, O'NEILL C, HANDELSMAN D (1995). Induction of spermatogenesis by androgens in gonadotropin-deficient (hpg) mice. *Endocrinology*; 136:5311-5321.
- SIU M, CHENG C (2004). Dynamic cross-talk between cells and the extracellular matrix in the testis. *Bioessays*; 26(9):978-992.
- STUPPIA L, CALABRESE G, FRANCHI P, MINGARELLI R, GATTA V, PALKA G, DALLAPICCOLA B (1996). Widening of a Y-chromosome interval-6 deletion transmitted from a father to his infertile son accounts for an oligozoospermia critical region distal to the RBM1 and DAZ genes. *Am J Hum Genet*; 59:1393-1395.
- SUN Y, WREFORD N, ROBERTSON D, DE KRETZER D (1990). Quantitative cytological studies of spermatogenesis in intact and hypophysectomized rats: identification of androgen-dependent stages. *Endocrinology*; 127:1215-1223.
- TIEPOLO L, ZUFFARDI O (1976). Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet*; 34:119-124.
- UENO N, LING N, YING S, ESCH F, SHIMASAKI S, GUILLEMIN R (1987). Isolation and partial characterization of follistatin: a single-chain Mr 35,000 monomeric protein that inhibits the release of follicle-stimulating hormone. *Proc Natl Acad Sci USA*; 84:8282-8288.
- VAN ROIJEN J, VAN ASSEN S, VAN DER KWAST T, DE ROOIJ D, BOERSMA J, VREEBURG J, WEBER R (1995). Androgen receptor immunoexpression in the testes of subfertile men. *J Androl*; 16:510-516.
- VOGT P (2005). AZF deletions and Y chromosomal haplogroups: history and update based on sequence. *Hum Reprod Update*; 11(4):319-336.



- VOGT P, EDELMANN A, KIRSCH S, HENEGARIU O, HIRSCHMANN P, KIESEWETTER F, KOHN F, SCHILL W, FARAH S, RAMOS C, HARTMANN M, HARTSCHUH W, MESCHEDE D, BEHRE H, CASTEL A, NIESCHLAG E, WEIDNER W, GRONE H, JUNG A, ENGEL W, HAIDL G (1996). Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*; 5:933-943.
- WEINBAUER G, WESSELS J (1999). 'Paracrine' control of spermatogenesis. *Andrologia*; 31:249-262.
- YOSHINAGA K, NISHIKAWA S, OGAWA M, HAYASHI S, KUNISADA T, FUJIMOTO T, NISHIKAWA S (1991). Role of c-kit in mouse spermatogenesis: identification of spermatogonia as a specific site of c-kit expression and function. *Development*; 113:689-699.

