

La movilidad espermática y su relación con la fertilidad: presente y futuro

J. Alsina Álvarez¹

RESUMEN

Se revisan brevemente las posibilidades actuales para el estudio de la movilidad espermática y sus implicaciones en la fertilidad, mediante la aplicación de sistemas computarizados para la determinación de diversos parámetros cinéticos espermáticos.

PALABRAS CLAVE: movilidad espermática - sistemas CASA - semen - seminograma

Med Mil (Esp) 1996;52 (2): 167-171

INTRODUCCIÓN

El interés que en la actualidad despiertan los factores masculinos en el campo de la infertilidad, ha puesto de manifiesto que la metodología diagnóstica tradicional aplicada al eyaculado ya no es suficiente. Los datos que el seminograma habitual (cuenta, movilidad, y morfología) ofrece para el diagnóstico de infertilidad son a menudo, aunque necesarios, insuficientes por sí mismos y dicho diagnóstico raramente puede establecerse con seguridad (1,2). Entre otras razones, esto probablemente se debe a que la microscopía óptica proporciona tan solo una medida relativamente pobre y superficial de la movilidad y morfología del espermatozoide. Por otra parte, la movilidad y la morfología normales son solamente algunos de los criterios que debe cumplir el espermatozoide antes de poder fertilizar el oocito.

El análisis básico del eyaculado suministra al clínico, entre otros datos, una estimación porcentual de los espermatozoides móviles e inmóviles, así como de los distintos grados de movilidad. Esta es una característica funcional de los espermatozoides extremadamente importante y constituye uno de los pilares básicos del seminograma. De hecho, el número de espermatozoides, por sí mismo, tiene relativamente poco valor diagnóstico, ya que son los espermatozoides con movilidad progresiva los que tienen importancia biológica. Aunque el papel de la movilidad espermática para alcanzar el oocito y fertilizarlo no ha sido aún aclarado totalmente, sin embargo hoy se estima que el control de la movilidad, su restricción o estimulación, es prácticamente tanto como el control de la fertilidad.

En un eyaculado existen distintas subpoblaciones de espermatozoides con diferentes tipos de movilidad y formas de desplazamiento. Cualquier observador experimentado coincidirá en señalar que espermatozoides con rangos de movilidad similares, no necesariamente poseen la misma calidad de movimiento, y

que, de alguna manera, ésta delimita una diferencia entre eyaculados y entre posibilidades de fertilidad. Por lo tanto, la medida objetiva de la movilidad espermática debe referirse, no sólo a la presencia o ausencia de movilidad y su cuantificación, sino, y aún más importante, a la naturaleza del movimiento.

LA COLA DEL ESPERMATOZOIDE

El espermatozoide humano es una célula libre y móvil, gracias a su cola. Ésta, de unos 60 micras de longitud, aunque contiene en su parte central un axonema contráctil compuesto por microtúbulos (nueve pares periféricos y un par central) como todos los flagelos, es sin embargo mucho más compleja que éstos. Presenta unos elementos adicionales citoesqueléticos entre los que cabe destacar unas fibras densas externas y una vaina fibrosa, que caracterizan al flagelo del espermatozoide, aunque sus funciones aún se desconocen.

Además en la porción proximal de la cola se encuentran unas mitocondrias que, al estar dispuestas helicoidalmente, envuelven a ésta. Dichas mitocondrias, cuyo número varía según las especies, presentan unas características que las diferencian de otras mitocondrias y que las adecuan a las necesidades del espermatozoide. Algunas de estas adaptaciones son la resistencia a condiciones hipotónicas, menor absorción del ion Ca, capacidad para emplear el lactato como sustrato oxidativo, etc. La forma de las mitocondrias se mantiene gracias a la rigidez de su pared, y simultáneamente su disposición helicoidal permite una cierta flexibilidad al espermatozoide.

ALTERACIONES DE LA MOVILIDAD

La disminución de la movilidad espermática se denomina astenozoospermia. Normalmente las causas más obvias y fáciles de corregir son las debidas a una incorrecta recogida y transporte, en su caso, de la muestra. Deben controlarse los recipientes empleados en la recogida para evitar aquéllos que pudieran afectar negativamente a la muestra; esto puede deberse, por ejemplo, a detergentes con los que se haya lavado el recipiente.

También están relacionados con la astenozoospermia los períodos prolongados de abstinencia sexual. A menudo basta

¹ TCol. San. Med.
Especialista en Medicina Preventiva y Análisis Clínicos. Subdirección de Asistencia Sanitaria General. Dirección de Sanidad del ET. Madrid

Dirección para la correspondencia: Dirección de Sanidad del E. T.
Cuartel General del Ejército de Tierra. c/ Prim, 6. 28071 Madrid.

recoger una segunda muestra tres días después para que, aunque disminuya el número de espermatozoides, mejore la movilidad.

La fuente de energía para el movimiento del flagelo es el ATP, aunque no parece que la deficiente generación del ATP en el semen constituya una afectación frecuente o una causa común de movilidad defectuosa en pacientes astenozoospermicos. En algunos casos, la inmovilidad espermática se produce como consecuencia de un defecto estructural del flagelo, por ejemplo, la ausencia de brazos de dineína, anomalías de los microtúbulos del axonema, o ausencia de mitocondrias. No obstante, la causa de la mayoría de las astenozoospermias permanece aún poco clara, pudiendo ser consecuencia de alteraciones inespecíficas de la espermiogénesis.

EVALUACIÓN DE LA MOVILIDAD

La movilidad, en la mayoría de los laboratorios de Andrología, se evalúa de forma subjetiva, expresando en porcentajes, los siguientes grados o cruces:

- 0, inmóvil.
- 1, movimiento de cabeza o cola, sin desplazamiento.
- 2, movilidad progresiva lenta, inferior a 25 micras/seg.
- 3, movilidad progresiva rápida y rectilínea, igual o superior a 25 micras/seg.

Con frecuencia se informan conjuntamente los grados 2 y 3 de movilidad, es decir, la movilidad progresiva, dada la dificultad que representa la distinción entre ambos grados de movilidad, cuando no se dispone de sistemas de análisis objetivo. Cuando la movilidad progresiva o útil (grados 2 y 3) es inferior al 50% se considera astenozoospermia o, caso de considerarse únicamente la movilidad grado 3, cuando es inferior al 25%.

SISTEMAS "CASA" (COMPUTER-AIDED SPERM ANALYSIS)

ANTECEDENTES

La Andrología actual se plantea un importante reto tratando de perfeccionar la analítica que se efectúa normalmente en los laboratorios, a través de unos parámetros objetivos que permitan evitar las variaciones a las que está sometido el método microscópico manual para el estudio de la movilidad, y la imposibilidad de estudiar las características detalladas del tipo de movimiento, ya que la mera determinación del porcentaje de espermatozoides móviles no indica nada sobre la calidad del movimiento. De esta manera se podrán comparar los resultados obtenidos en diversos laboratorios, realizar estudios multicéntricos, etc.

En un principio, para estudiar la movilidad se emplearon métodos basados en la dispersión de la luz ultravioleta y el láser, pero naturalmente estos métodos no proporcionaban datos sobre los diferentes componentes del movimiento del espermatozoide. Se empleó un enfoque basado en la turbidimetría, en el que los espermatozoides nadan hacia arriba desde una suspensión concentrada en el fondo de una cubeta óptica hasta una capa superior de medio de incubación. La ascensión de los espermatozoides ocasiona un incremento progresivo en la turbidez del medio, que se puede medir como un aumento de la absorbancia.

Este es un método objetivo que proporciona una medida cuantitativa de la movilidad espermática, pero no datos sobre las características del movimiento del espermatozoide.

Se trató de resolver este desafío mediante el empleo de fotografías de exposición múltiple. Esta técnica se basaba en la realización de fotografías con un tiempo de exposición de 1 segundo, empleando un estroboscopio de seis ranuras que colocado entre la fuente de luz y la cámara, giraba a una velocidad de una vuelta por segundo. Así en el caso de un espermatozoide inmóvil solo se observa una imagen, mientras que un espermatozoide que se desplaza presenta seis imágenes, más o menos separadas entre sí de acuerdo con su velocidad de desplazamiento. Este sistema presentaba el inconveniente de su lentitud y laboriosidad al precisar el revelado de las fotografías y el estudio individualizado de las trayectorias.

Hoy la existencia de ordenadores, de coste relativamente bajo y de gran capacidad de proceso de información, abre unas posibilidades en el examen de semen, que hasta hace pocos años eran casi inimaginables. Así hay disponibles en el mercado varios sistemas automáticos computerizados que han proporcionado un instrumento nuevo capaz de identificar y seguir espermatozoides y posteriormente calcular sus parámetros cinéticos. Estos sistemas, conocidos genéricamente como sistemas CASA (computer-aided sperm analysis), que combinan la videomicrografía con la captura de imágenes digitales y su procesamiento por ordenador, han revolucionado la capacidad para examinar la cinética del espermatozoide.

MECANISMO DE FUNCIONAMIENTO

Los sistemas existentes (Hamilton Thorn, Cell Soft, Sperm Photolux, etc), tienen todos ellos fundamentos similares. La configuración del sistema está integrada por: microscopio, video, ordenador y monitor. Una vez que, a través del microscopio, el video adquiere una serie de imágenes sucesivas durante espacios de tiempo constantes, éstas son transmitidas al ordenador, donde se digitalizan y se analizan, pudiendo visualizarse por el monitor las diferentes imágenes (figura 1).

Para estudiar adecuadamente la movilidad de una población de espermatozoides es necesario poder medir de forma precisa las características del movimiento de los espermatozoides indi-

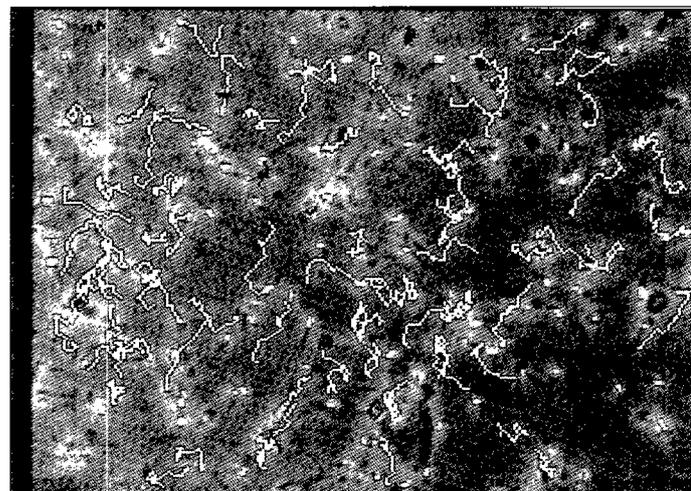


Figura 1. Visualización en el monitor de un campo en el que se observan diferentes trayectorias marcadas.

viduales. Ya que hay que trabajar con una cantidad estadísticamente significativa de espermatozoides la medición ha de ser rápida, y por tanto sencilla. El método más simple para analizar la movilidad espermática es establecer la posición de la cabeza en cada momento y reconstruir su trayectoria.

Las imágenes digitalizadas se procesan mediante una serie de algoritmos de substracción, que primero eliminan los objetos estáticos (detritus, espermatozoides inmóviles, células germinales y leucocitos) y a continuación examinan los objetos móviles a fin de comprobar que presentan las características de una típica cabeza de espermatozoide. A continuación se computan, en la población móvil, la luminosidad y el tamaño medio de la cabeza y se comparan con los objetos estáticos al objeto de distinguir los espermatozoides inmóviles de los detritus. De esta manera se pueden determinar el número de espermatozoides y la movilidad, así como las características cinéticas de las células móviles. Para disminuir en lo posible los errores los programas más modernos tratan de buscar la cola en las estructuras que, por sus dimensiones y luminosidad, podrían ser cabezas de espermatozoides (5).

Sin embargo, la deducción del patrón de movimiento a partir del desplazamiento de la cabeza no proporciona una descripción tan precisa como el análisis del patrón de batida flagelar. Ahora bien, desde el punto de vista técnico, es mucho más difícil el estudio del movimiento del flagelo y, por otro lado, aún no se ha alcanzado un acuerdo sobre cuales son los parámetros flagelares que proporcionan una información más valiosa.

La calidad de las medidas depende de la optimización de los sistemas utilizados, considerando factores como la iluminación del sistema, el aumento del sistema óptico, la temperatura de la cámara, el número de campos analizados, el número de imágenes y la velocidad de adquisición de las mismas. Los sistemas CASA normalmente toman 20-30 imágenes de video con una cadencia de 25-30 imágenes por segundo (el formato europeo PAL recoge las imágenes a 25 Hz, mientras que el formato estadounidense NTSC funciona a 30 Hz). En general, cuanto más rápida sea la cadencia más exacta será la información suministrada, estimándose que a partir de 20 imágenes por segundo los valores suministrados por el instrumento son fiables.

PARÁMETROS CINÉTICOS

Los espermatozoides describen unas trayectorias susceptibles de ser descritas mediante su amplitud (el desplazamiento lateral de la cabeza), la frecuencia (número de veces que la cabeza espermática cruza la trayectoria) y la velocidad. Esta última puede ser definida de acuerdo con la distancia total que recorre la cabeza, la distancia en línea recta entre el principio y el fin de la trayectoria y la linealidad.

Según esto los principales parámetros cinéticos que definen las características de la movilidad espermática son los siguientes:

- Velocidad Curvilínea (VCL); se obtiene sumando las distancias recorridas por la cabeza en cada imagen digitalizada y dividiéndola por el tiempo de adquisición. Se expresa en micras/seg. Viene a ser la proyección bidimensional del trayecto tridimensional del espermatozoide (figura 2).

- Velocidad Progresiva (VSL); velocidad de progresión en línea recta desde el inicio hasta el punto final de la trayectoria. Se expresa en micras/seg. En caso de espermatozoides con

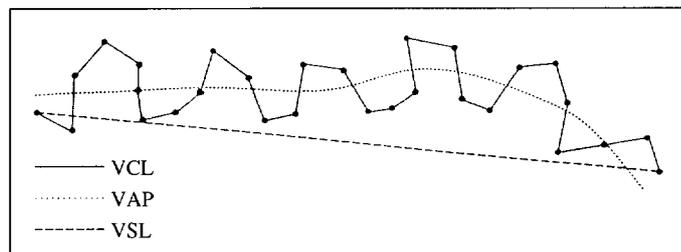


Figura 2. Trayectoria de un espermatozoide en la que se representan la Velocidad Curvilínea (VCL); la Velocidad Progresiva (VSL); y la Velocidad de Trayecto Medio (VAP).

movimiento circular puede ser muy baja aunque la VCL sea alta. Así como la velocidad curvilínea lógicamente se mide tanto mejor cuanto más alta sea la cadencia de muestreo, la velocidad progresiva, con sólo dos imágenes (principio y final de trayecto) queda fielmente reflejada (figura 3).

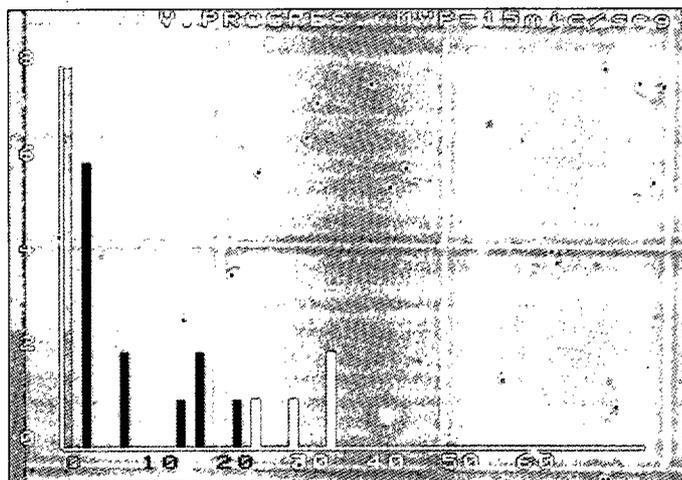


Figura 3. Representación de la Velocidad Progresiva y su media en el monitor.

- Índice de Linealidad (IL); razón entre la VSL y la VCL. Se expresa en porcentaje e indica el grado en que el movimiento espermático se aproxima a la línea recta.

- Velocidad de Trayecto Medio (VAP); es la velocidad a lo largo de la trayectoria del espermatozoide calculada mediante un algoritmo de 5 puntos. Se expresa en micras/seg.

- Desplazamiento Lateral de la Cabeza (LHD); amplitud de las oscilaciones de la cabeza del espermatozoide con respecto al eje de progresión. Se mide en micras. El LHD, así como la BCF, parece ser relativamente independiente de los demás parámetros, por lo que puede aportar al seminograma clásico información de un tipo totalmente diferente a la que hasta ahora se disponía (figura 4).

- Frecuencia de Batido (BCF); número de veces por unidad de tiempo que la trayectoria curvilínea cruza el trayecto medio. Deriva de la verdadera frecuencia de batido y de la frecuencia de rotación de la cabeza.

Ahora bien, para poder definir los límites de normalidad de los parámetros cinéticos espermáticos en relación con resultados de fertilidad, es necesario tener en cuenta que el patrón de movimiento del espermatozoide es diferente en cada situación, así cuando los espermatozoides nadan libremente en un medio

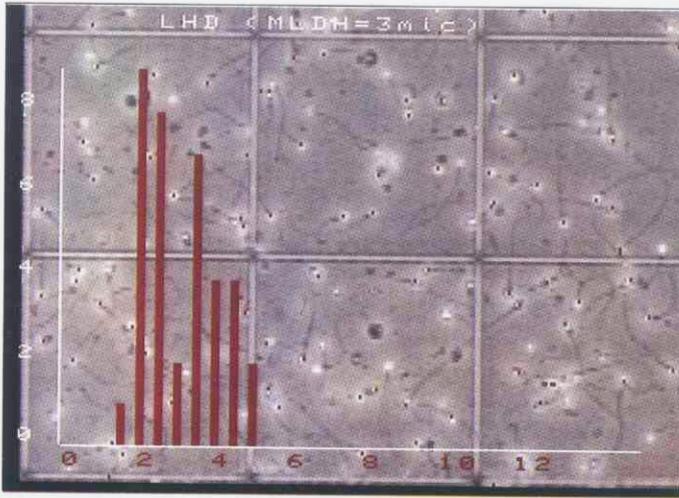


Figura 4. Visualización del Desplazamiento Lateral de la Cabeza y su media.

fluido, la manera más eficaz de maximizar la velocidad de natación es mostrar una alta frecuencia y baja amplitud de batidas del flagelo. Este tipo de movilidad es el que muestran probablemente los espermatozoides en su ascenso por el tracto genital femenino (tabla 1). Sin embargo, cuando alcanzan el lugar de

Tabla 1. Valores que corresponden a una movilidad normal en el semen en fresco, y empleando como autoanalizador el Hamilton Thorn

Espermatozoides rápidos (VSL > 30 µm/sg.)	> 30%
Espermatozoides moderados (VSL = 10-30 µm/sg.) ...	> 20%
Movilidad (espermatozoides con VSL > 10 µm/sg.) ...	> 50%
Velocidad Curvilínea media)	>35 µm/sg.
Velocidad Progresiva media.....	>30 µm/sg.
Media del Índice de Linealidad.....	> 80%
Media del LHD.....	2-4 µm

fertilización, ya en estado de capacitación, el espermatozoide no necesita esa velocidad de progresión y aumenta la amplitud de la onda flagelar como forma de generación de fuerzas de penetración en el ovocito, con lo que baja la movilidad progresiva y se incrementa el LHD. A este último parámetro se le atribuye una importancia particular por reflejar la potencia de batido del flagelo y por tanto la fuerza propulsora del gameto (1).

Diversos estudios han evidenciado que ciertos patrones de movilidad pueden estar relacionados con la fertilidad (4,5). En ellos se demuestra que un bajo valor medio de desplazamiento lateral de la cabeza, linealidad y velocidad progresiva están relacionados con fallos de fertilización "in vitro". Por otra parte, mientras que la media de velocidad del total de espermatozoides móviles puede correlacionarse positivamente con la fertilidad, la media de velocidad rectilínea de los espermatozoides, cuando es demasiado alta, puede ser negativamente correlacionada con la fertilidad.

En estudios realizados con semen de donante (1,6), caso en el cual es posible estudiar el eyaculado que produce o no la fecundación, se ha observado que los criterios convencionales de calidad del semen son poco útiles para discriminar entre

semen fértil y no fértil. Los parámetros cinéticos del espermatozoide fueron mucho más adecuados ya que permitieron anticipar el éxito de la fecundación del 72% de los eyaculados, siendo el LHD la variable más útil.

Por tanto los datos de que se dispone indican claramente que existe una relación entre las características de movilidad de los espermatozoides y su competencia funcional. Sin embargo, existe probablemente un rango óptimo de valores para los parámetros cinéticos, ya que, en márgenes demasiado bajos o demasiado altos, existe una correlación negativa con la fertilidad.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS SISTEMAS CASA

VENTAJAS

En primer lugar es importante destacar que se ha demostrado que el valor clínico de la información aportada por los sistemas CASA es, al menos, equivalente a la obtenida mediante los análisis clásicos (3,7), pero además permiten una más fácil estandarización, y por tanto un mejor control de calidad y la posibilidad de efectuar comparaciones entre diferentes laboratorios, siempre y cuando lógicamente también se estandaricen las condiciones en que se manejan estos instrumentos.

Asimismo son capaces de analizar en poco tiempo muchas células eliminando simultáneamente la subjetividad del personal de laboratorio (figura 5). La computerización permite medir parámetros cinéticos muy difícilmente cuantificables con técnicas manuales, y además, aunque todavía con bastante esfuerzo, puede efectuarse el estudio de subpoblaciones espermáticas dentro de una misma muestra, seleccionando las trayectorias de espermatozoides concretos (figura 6).

Es posible incluso que en el futuro, con la información que se va recogiendo sobre la relación entre la morfometría, la movilidad y la competencia funcional de los espermatozoides, sea factible el desarrollo de ecuaciones de regresión múltiple que puedan incorporarse a estos sistemas, proporcionando así, junto con los datos objetivos, un pronóstico sobre la probable fertilidad o no del paciente. Esto naturalmente requiere unas condiciones de análisis estrictamente definidas y controladas, lo que siempre es más fácil de conseguir con un sistema automático.

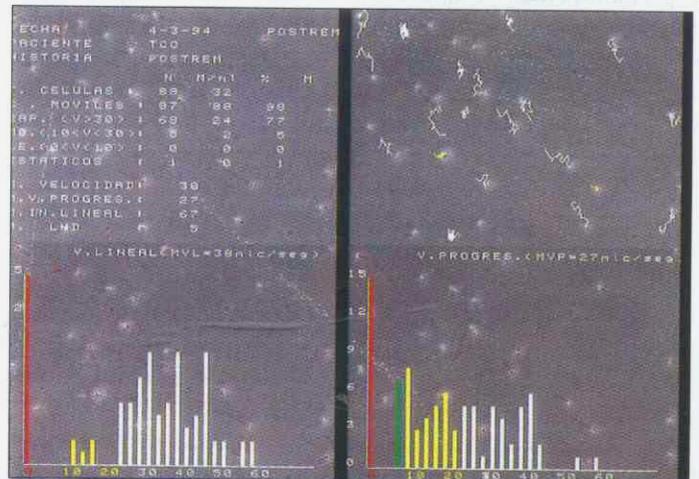


Figura 5. Información suministrada por un sistema CASA.

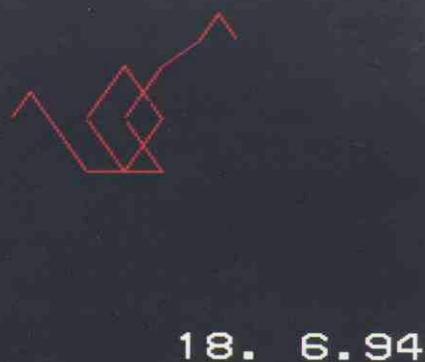


Figura 6. Trayectoria de un espermatozoide seleccionado para su estudio particular.

INCONVENIENTES

Es muy importante subrayar que, si bien proporcionan información a la que cada vez se atribuye más valor, aún son sistemas que requieren un personal especialmente cualificado y consciente de sus actuales limitaciones, pues de otra forma, por empleo inadecuado, incorrecta configuración del sistema, etc, pueden suministrar resultados que con facilidad inducen a error.

A fin de obtener los mejores resultados las muestras han de mantenerse dentro de un rango óptimo, que varía según los distintos sistemas, pero que viene a encontrarse entre 20 y 100 millones de espermatozoides por ml. Si hay demasiados pocos espermatozoides el estudio de las trayectorias es poco significativo ya que los detritus y partículas no espermáticas tienen un valor proporcionalmente mayor; así en la práctica, por debajo de 20 millones los resultados de los sistemas CASA tienden a ser mayores que la concentración real. Si por el contrario hay demasiados espermatozoides se presentan errores, tanto en el número como en el movimiento de las células debido al entrecruce de diferentes trayectorias. Hay una posible alteración de las estimaciones de movilidad cuando se incrementa el número de espermatozoides ya que se producen colisiones que desorientan al sistema y además hay una movilidad pasiva debida a los choques de los espermatozoides móviles con los inmóviles, con el desplazamiento consiguiente. Por tanto, es precisamente en los rangos anormales donde los sistemas CASA encuentran más dificultades para su correcto funcionamiento.

Por otro lado, dado que los espermatozoides se identifican mediante el tamaño y luminosidad de la cabeza, no es difícil que otras partículas existentes en el eyaculado sean contabilizadas como gametos, aunque ya los programas más modernos incluyen la existencia o no de cola en su algoritmo de identificación.

Finalmente cabe destacar que, hoy por hoy, aún constituyen un aparataje de precio relativamente elevado, difícil de justificar en laboratorios no especializados en este campo.

CONCLUSIÓN

Se acepta generalmente que los criterios descriptivos de la calidad del semen e incluso los tests funcionales, constituyen solamente una guía para el estudio de las parejas con problemas de esterilidad y, cuando los resultados no entran en el rango de la normalidad, no implican necesariamente un diagnóstico de esterilidad. De la misma manera, unos datos de laboratorio normales no permiten asegurar la fertilidad.

De hecho y dado que la esterilidad masculina no constituye una patología concreta, sino un conjunto de afecciones muy dispares, es posible que nunca se llègue a disponer de un análisis o test funcional que indique con seguridad si un varón es fértil o no, teniendo además en cuenta que, en todo caso, es la pareja la unidad reproductora y siempre han de considerarse posibles cuadros clínicos, o subclínicos, femeninos que disminuyen el potencial reproductor de la pareja.

Aunque los parámetros cinéticos espermáticos están significativamente relacionados con aspectos clínicos de la fertilidad, aún no se ha demostrado de forma absoluta su importancia diagnóstica, quizás por insuficiencias en el diseño de los estudios, como pudiera ser patologías femeninas concurrentes, variabilidad inter-eyaculados, etc, sin olvidar las dificultades que aún presenta el estudio del semen con la actual tecnología de los sistemas CASA (8).

A pesar de esto no cabe duda de que la actual capacidad de medir y cuantificar las características del movimiento del espermatozoide mediante el empleo de ordenadores, representa uno de los mayores avances de la Andrología en los últimos años. De esta forma, gracias a los sistemas computerizados para el análisis de imágenes, instrumentos que, probablemente, en el futuro incrementen notablemente su importancia a medida que se vaya logrando la uniformización de sus condiciones de empleo, y continúen mejorando las tecnologías de ordenadores y videos, aumentarán nuestros conocimientos sobre la movilidad espermática, lo que a su vez sugerirá nuevos enfoques para el control de la movilidad, para estimularla en casos de infertilidad o para facilitar el control de la natalidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Barratt CLR, Tomlinson MJ, Cooke ID. Prognostic significance of computerized motility analysis for in vivo fertility. *Fertil Steril* 1993;60:520-525.
- 2 Davis RO, Katz DF. Standardization and comparability of CASA instruments. *J Androl* 1992;13:81.
- 3 Irvine DS, MacLeod IC, Templeton AA, et al. A prospective clinical study of the relationship between the computer-assisted assessment of human semen quality and the achievement of pregnancy in vivo. *Hum Reprod* 1994;9:2324-2334.
- 4 Irvine DS. Computer assisted semen analysis systems: sperm motility assessment. *Hum Reprod* 1995; 10 (Suppl. 1):53-58.
- 5 Krause W. Computer-assisted semen analysis systems: comparison with routine evaluation and prognostic value in male fertility and assisted reproduction. *Hum Reprod* 1995;10 (Suppl. 1):60-65.
- 6 MacLeod IC, Irvine DS, Masterton A, Taylor A, Templeton AA. Assessment of the conventional criteria of semen quality by computer assisted image analysis: evaluation of the Hamilton-Thorn motility analyser in the context of a service andrology laboratory. *Hum Reprod* 1994;9:310-319.
- 7 MacLeod IC, Irvine DS. The predictive value of computer-assisted semen analysis in the context of a donor insemination program. *Hum Reprod* 1995;10:580-586.
- 8 WHO Laboratory Manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Third edition. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.