

«Migración del espermatozoide y en el tracto genital de mujeres normales»

William Onatra H.*; Rodrigo Guerrero**; Lilian Núñez***

RESUMEN OBJETIVO: Estudiar el comportamiento del espermatozoide «Y» en espermograma normal, moco cervical y endometrio de mujeres en edad reproductiva.

MATERIAL Y METODOS: Se estudiaron 36 mujeres con ligadura de trompas provenientes de un centro de Salud de la ciudad de Cali. Con control de temperatura se orientó la prueba post-coito y se determinó la concentración de espermatozoide «Y» en moco cervical y endometrio por técnica de Fluorescencia con quinacrina. Como prueba de significancia se utilizó el coeficiente de correlación.

RESULTADOS: El promedio de espermatozoides «Y» en espermograma normal fue de 43%, en moco cervical 34.48% y en endometrio de 34.6%. No hubo diferencias significativas a lo largo del ciclo menstrual.

CONCLUSION: El espermatozoide «Y» en este estudio disminuye su concentración en moco y endometrio sin encontrarse diferencias significativas a lo largo del ciclo, dato que confirma los hallazgos de otros autores pero contradictorio para otros.

SUMMARY OBJECTIVE: Study the behavior of the «Y» spermatozoa in the normal spermogram, cervical mucus and endometrium in fertile women.

MATERIAL AND METHODS: 36 women who indevament tubal ligation at Cali were studied. With curve temperature, postcoital test was performed and the concentration of «Y» sperm in cervical mucos and endometrium by quinacrine fluorecence was done. Correlation tes as significance test was performed.

RESULTS: The average of «Y» sperm at the normal spermograam was 43%, in cervical mucus 34.48% and endometrium 34.5% there were no statistical significant differences along the mestrual cycle.

CONCLUSION: The «Y» sperm in this study diminishes the concentration in cervical mucus and endometrium without significant differences along the mestrual cycle this confirms the auctor findings but is controversial with other auctors.

Introducción

Estudios hechos por Casperson y cols. en 1968; habían reportado que al teñir los cromosomas en mitosis con derivados fluorescentes de la acridina, la porción distal del cromosoma «Y» humano fluorescía brillantemente (1-3).

Inicialmente se utilizó la Mostaza de Quinacrina; posteriormente se ensayó el dihidrocloruro de quinacrina con resultados similares (4), encontrándose que la fluorescencia no sólo se efectuaba en células de división sino en interfase (5). Recientemente se han propuesto dos nuevas técnicas como la hibridización in situ con un marcador radioactivo y con las técnicas de biología molecular, usando el 150-Y DNA (6-7).

Utilizando una sustancia derivada de la Mostaza de Quinacrina, Salamanca (8) hizo estudios cromosómicos con

la Clormetacrina en cultivo de células en interfase y metafase, siendo útil esta sustancia dentro de los estudios de fluorescencia. Otra utilidad de estas técnicas ha sido en los estudios de Genética Humana, pudiéndose determinar alteraciones estructurales de tipo trans-locación, trisomías, diagnóstico de sexo «in utero» y visualización del espermatozoide «Y» (9-16). Genéticamente se han descrito unas 200 alteraciones recesivas ligadas al cromosoma X. (Hemofilia, Síndrome Lesch-Nyhan, Hun-ter, Enfermedad de Fabry y Síndrome de Feminización Testicular) (17) donde esta tecnología en diagnóstico prenatal es útil.

Los estudios hechos por Barlow (18) en espermogramas humanos, encuentra 44.4% de (F body) de espermatozoide «Y» y Ericson (19). Utilizando suero de albúmina bovina logra aislar fracciones ricas en espermatozoides «Y» en un 48.5%; el promedio de la literatura reporta entre un 38-50%.

Los intentos para aislar el espermatozoide «Y» ha sido de interés de muchos investigadores, utilizándose diferentes métodos como la gravedad (20), centrifugación (21), gradiente de densidad por centrifugación de Percoll (22), pH (23), electroforésis (24), fraccionamiento en columna de Sefadex (25), cistometría de flujo (26) y técnicas inmunológicas (antígeno H-Y) (27).

* Profesor Asistente. Departamento de Obstetricia y Ginecología. Universidad Nacional de Colombia. Unidad de Endocrinología Ginecológica. Instituto Materno Infantil, Bogotá-Colombia.

** Profesor Titular. Departamento de Medicina Preventiva. Universidad del Valle. Hospital Universitario del Valle. Cali- Colombia.

*** Licenciada Unidad de Microbiología y Bacteriología, Hospital Universitario del Valle. Cali-Colombia.

Los datos obtenidos «in vitro» por Rohde (28) y cols. de una mayor concentración de espermatozoides «Y» en moco cervical hacia la mitad del ciclo menstrual, y los hallazgos de Guerrero (29), de demostrar un mayor número de varones (62%) en inseminación artificial contra un 44% en inseminación natural alrededor de la ovulación, hacen pensar que el espermatozoide «Y» debe sufrir una selección en el tracto genital femenino. Ha sido interés de los autores conocer la concentración del espermatozoide «Y» en vagina, cérvix y endometrio, durante el ciclo menstrual.

Material y métodos

Se estudiaron 36 pacientes de un centro de salud adscrito a la Secretaría de Salud del Valle en Cali, a quienes se les había practicado ligadura de trompas y cuyas edades oscilaban entre 20 y 40 años. Se les solicitó control de temperatura basal durante el mes y se les indicó que la prueba postcoito (PPC) se les realizara dentro de los cinco días anteriores o posteriores al alza térmica (día 9-16). La toma de las muestras se hizo 2 ó 3 horas después del coito, el moco cervical se tomó con un escobillón húmedo estéril para evitar el sangrado y la muestra de endometrio con una cánula plástica diseñada para tal efecto. Por el fracaso en la tinción de los espermatozoides muertos en vagina no se tomaron más muestras.

Técnica de tinción: 1) La muestra de semen o moco cervical se tomó con una pinza para moco y se extendió en una lámina de vidrio. 2) Se fijaba el material con alcohol isopropílico más éter etílico en proporción 1:1; de esta se mezclaba con ácido acético en proporción 1 a 1 por 10 minutos. 3) Para la fluorescencia se utilizó la Mostaza de Quinacrina (casa sigma) en solución al 5% por 15 minutos. 4) Para el lavado se utilizó un Buffer Fosfato pH 5.5 por 3 minutos y Buffer Fosfato pH 7.0 por otros 3 minutos, manteniéndose la preparación con este último Buffer. 5) La preparación se miró en un microscopio de fluorescencia marca Carlzelse Jena, lámpara HBO-200, filtro BG-12.

Para las pruebas estadísticas se utilizó el coeficiente de correlación.

Resultados

Se estudiaron 52 muestras de las cuales se seleccionaron 28 en moco cervical y 8 en endometrio. Se determinó la concentración de espermatozoides «Y» en 6 casos de semen total. La tabla 1 muestra los resultados obtenidos entre el recuento de espermatozoides y proporción del espermatozoide «Y». El coeficiente de correlación fue de 0.33 no diferente del 0.

Tabla 1
ESPERMOGRAMA Y RECuento DE ESPERMATOZOIDE «Y»

Caso	No. Espermatozoides por c.c. 3	«X»	«Y»	Total	% «Y»
002	75.000.000	119	81	200	40.5
003	64.000.000	88	62	150	41.3
004	128.000.000	175	125	300	41.6
005	60.000.000	106	94	200	47.0
006	71.000.000	108	92	200	46.0
007	140.000.000	117	83	200	41.5
Total	538.000.000	713	537	1.250	42.9
		57%	43%	100%	

Coefficiente de correlación = .0353

Los hallazgos observados en moco cervical sobre un total de 6.252 espermatozoides analizados en 28 pacientes, proporción de espermatozoides «Y» fue de 35.48% y en 8 casos de muestras endometriales en 700 espermatozoides analizados la proporción fue de 34.6% (Tabla 2). No encontrándose diferencias significativas entre las dos muestras de espermatozoides «Y» a nivel cervical y endometrial.

Tabla 2
CONCENTRACION DE ESPERMATOZOIDES «Y» EN MOCO CERVICAL

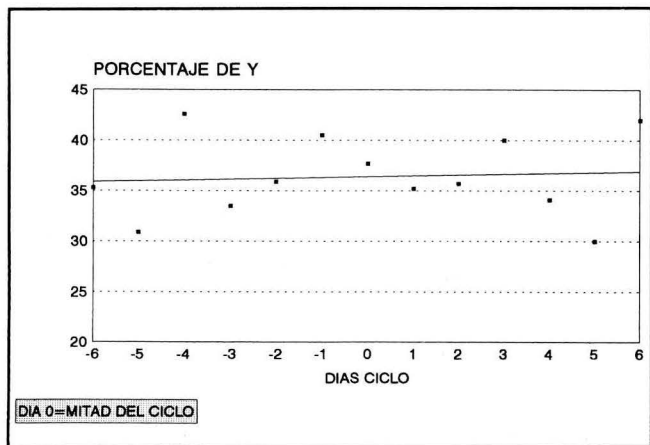
Caso	«X»	«Y»	Total
001	153	67	220
002	365	235	600
003	378	222	600
004	123	77	200
005	30	20	50
006	14	6	20
007	191	109	300
008	153	52	205
009	194	106	300
010	108	52	160
011	165	135	300
012	79	30	109
013	82	48	130
014	60	40	100
015	275	125	400
016	261	179	440
017	156	44	200
018	113	67	180
019	31	19	50
020	26	14	40
021	51	29	80
022	134	66	200
023	132	78	210
024	135	65	200
025	109	41	150
026	202	106	308
027	189	111	300
028	125	75	200
Total	4.034	2.218	6.252
%	64.52	34.48	100
ESPERMATOZOIDE «Y» EN ENDOMETRIO			
001	109	41	150
002	261	139	400
003	216	84	300
007	192	138	330
011	124	76	200
013	97	33	130
016	105	75	180
022	7	3	10
Total	1.111	586	1.700
%	65.4	34.6	100

La proporción de espermatozoide «Y» en moco cervical se pudo establecer en doce muestras; no hubo diferencia estadísticamente significativa a lo largo del ciclo a pesar de

que en la gráfica existe una ligera tendencia de aumento en la fase luteal con un coeficiente de correlación: $r^2 = 0.01$ con un límite de confianza (IC) del 95% entre 0.49 y 0.6 (Tabla 3).

Tabla 3

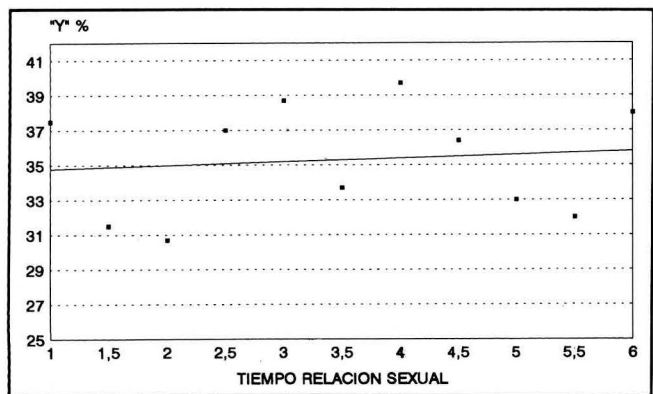
CONCENTRACION DE ESPERMATOZOIDE «Y» DURANTE EL CICLO MENSTRUAL



En la tabla 4 se muestra la proporción de espermatozoide «Y» según el tiempo de relación sexual en 10 muestras después de 2:30, 4:30 y 6 horas; la proporción de espermatozoide «Y» no muestra diferencias estadísticas a lo largo del tiempo. El coeficiente de correlación $r^2 = 0.02$ con un CI del 95% entre 0.51 y 0.68 (Tabla 4).

Tabla 4

RECUESTO ESPERMATOZOIDE «Y» Y TIEMPO DE RELACION SEXUAL



Discusión

Epidemiológicamente el obtener un hijo varón en la descendencia ha sido interés a lo largo de la historia del hombre. Los datos se remontan a las diferentes dinastías como la Eskimo o Maori, en Nueva Zelanda, durante el período Tokugawa en el Japón, (1600-1868 A de C) donde el infanticidio selectivo de niñas se efectuaba con el fin de tener un mayor número de soldados para el combate (30). Históricamente es conocido los efectos cuando el rey no podía engendrar un varón. Datos de la literatura Erickson, estudiando una población de 5 millones, no encuentra relación de cambio de sexo con la edad (31), mientras que James en Inglaterra, utilizando el análisis de regresión múltiple,

concluye que sí hay una disminución del sexo masculino con la edad, al aumentar la paridad y edad materna (32). Se sabe también el mayor número de varones después de la primera y segunda guerra mundial (33). La proporción de espermatozoides «Y» en los espermogramas examinados (34) y moco cervical, están de acuerdo con los reportados en la literatura como lo muestra la tabla 5.

Tabla 5

% DE ESPERMATOZOIDES «Y» EN TINCION CON QUINACRINA

Espermograma		Moco cervical		
Autores	Año	%«Y»	Autor	% «Y»
Barlow y Vosa	1970	44.4	Sherman (35)	39.1
Pearson y col.	1970	46.9	Evans (37)	38.0
Diasio y Glass	1971	42.6	Diassio (23)	42.6
Summer y col.	1971	41.7	Summer (36)	41.6
Pawlowitzki	1972	43.9	Rose (38)	46.0
Erickson	1973	48.5		
Kaiser y col.	1974	46.2		
Rhode y col.	1973	33.2		
Steen y col.	1975	38.8		
Schwinger y col.	1976	42.8		
Schilling	1975	50.0		
Broer y col.	1977	47.6		
Presente estudio		43.0		34.5

El comportamiento del espermatozoide «Y» a lo largo del tracto genital femenino muestra según Kaiser y cols. una selección a nivel de moco para luego estabilizarse a nivel de endometrio. Los porcentajes del presente estudio son menores pero con la misma proporción que la encontrada por los alemanes (34) (Tabla 6).

Tabla 6

% DE ESPERMATOZOIDE «Y» EN EL TRACTO FEMENINO

Autores	Eyaculado	Moco	Endometrio
Kaiser	47.6	52.5	51.2
Presente estudio	43.0	34.48	34.6

Estos hallazgos hicieron pensar a los investigadores inicialmente que se trataba de un error en la técnica, dado que según los estudios de Shettles (39), Guerrero (29) y Harlap (40) mostraban un número mayor de nacimientos masculino alrededor de la ovulación. La proporción igual de espermatozoides «Y» a lo largo del ciclo estaba de acuerdo con los estudios de Cohen (41) y Kuhr (42) donde no encontraron diferencia de sexo durante o posterior al pico ovulatorio. El comportamiento del espermatozoide «Y» en moco cervical y los encontrados en el presente estudio, fueron confirmados por France (43) con 64% embarazos femeninos y 68% masculinos y los estudios de Simcock (44) que de un total de 73 embarazos obtiene 33% masculinos y 57% femeninos. Tabla 7.

En resumen, podemos afirmar que la selección de sexo sufre alguna modificación en el tracto genital femenino; no es a nivel de moco cervical ni endometrio, sino posiblemente a nivel ovular, donde se selecciona el sexo como experimen-

talmente se intenta confirmar en animales inferiores. Hay evidencia clínica y experimental de mayor proporción de sexo femenino con los inductores de ovulación (17) y masculinos en inseminación artificial (29). Este tema continuará siendo debatido no sólo desde el punto de vista científico sino social y moral.

Tabla 7
% DE SEXO SEGUN PERIODO DE OVULACION

Autor D. Estadis	Ref	Tipo de estudio	n pico M/F	Ovulación lejos M/F	
Shettles	39	Moco/pH	41	85/15	15/85 NS
Guerrero	29	Inseminación	443	62/56	61/68 p<0.001
Harlap	40	Ciclo regul.	330	49	53 NS
Cohen	41	Temp-moco	85	M=F	M=F NS
Kuhr	42	Retrospect.	98	M=F	M=F p>0.05
France	43	moco/LH	185	36/64	32/68 p=0.06
Simcock	44	Retrospect.	73	33/57	48/44 p<0.07

BIBLIOGRAFIA

- Casperson T., Farber S et al. Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp. Cell. Res.* 1968; 49: 219.
- Zech L., Johansson C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp. Cell. Res.* 1970; 60: 315.
- Casperson T., Zech L et al. Identification of Human Chromosomes by DNA binding Fluorescent Agents. *Chromosoma* 1970; 30: 215.
- Pearson PL., Borrow M., Vosa CG. Technique for indentifying «Y» chromosomes in Human interphase Nuclei. *Nature* 1970; 226: 78.
- George KL. Cytochemical Differentiation along Human Chromosomes.
- Summer AT., Robinson JA et al. Distinguishing between X, Y, and Y bearing human spermatozoa by fluorescence and DNA content. *Nature* 1971; 229: 231.
- McDonough PG. Sperm Separation a comment. *Fertil Steril* 1987; 47: 535.
- Salamanca F., Guzmán MU., Barbosa EM. Nueva Técnica de identificación cromosómica. *Rev. Fac. Med. UN* 1971; 37: 236.
- Casperson T., Zech L., Johansson C. Analysis of Human Metaphase Chromosome set by aid of DNA binding fluorescent agent. *Exp. Cell. Res.* 1970; 62: 490.
- Casperson T., Lindsten J., Zech L. Identification of the abnormal B. group chromosome in the «Cri du chat» syndrome by Q.M. fluorescente. *Exp. Cell. Res.* 1970; 61: 475.
- Pearson PL., Borrow M: Definitive Evidence for the short arm or the «Y» chromosome during meiosis in human male. *Nature* 1970; 226: 959.
- Casperson T., Zech L., Johansson C. Quinacrina mustard fluorescence chromosome 4,5 and X. *Exp. Cell. Res.* 1970; 61: 474.
- Oriordan ML., Robinson JH et al. *Nature* 1971; 230: 167.
- Borgaonkar SD., Hollander DH. Quinacrina fluorescence of the human «Y» chromosome. *Nature* 1971; 230: 52.
- Shettes LB. Use of the «Y» chromosome in prenatal sex determination, *Nature* 1971; 230: 52.
- Rook A. HSL., Gestner M., Hirschhorn K. Identification of «Y» and «X» chromosomes in Amniotic Fluid Cells. *Nature* 1971; 230: 53.
- Zarustskie PW., Muller CH et al. The clinical relevance of selection techniques. *Fertil Steril* 1989; 52: 891.
- Barlow P. The «Y» Chromosome in Human Spermatozoa. *Nature* 1970; 226: 961.
- Ericsson RJ., Langevin CN., Mishino M. Isolation of tractions rich in Humn «Y» sperm. *Nature* 1973; 246: 421.
- Quinlivan W., LG> Gullivan H. The ratios and separation of «X» and «Y» spermatozoa in human semen. *Fertil Steril* 1974; 25: 315.
- Rohde W., Porstman T et al. Gravitational pattern of the Y-bea-ring human sperm in density gradient centrifugation. *J. Reprod. Fertil* 1975; 42: 587.
- Kaneko S., Yamaguchi J et al. Separacion of Human X and Y-bearing sperm usin Percoll density gradient centrifugation. *Fertil Steril* 1983; 40: 661.
- Diasio BR., Glass HR. Effects of pH. m migration of X and Y sperm. *Fertil Steril* 1971; 22: 203.
- Shikal M. Electroforetic separation of X and Y chromosome learning sperm in Human semen.
- Steen O. Separation of X and Y isarning human spermatozoa with sepharadex gel-filtration method. *Andrology.* 1975; 7: 96.
- Otto FJ., Hacker U et al. Flow cytometry of human spermatozoa *Hist. Chem.* 1979; 61: 249.
- Benett D., Boyse EA. Sex ratio in progeny of mice inseminated with sperm treated with H-Y antiserum. *Nature* 1973; 246: 308.
- Rowde W., Porstman T., Dorner G. Migration of Y Bearing human spermatozoa in cervical mucus. *J. Herod. Fertil* 1973; 33: 167.
- Guerrero R. Association of the tyme of insemination with in the menstrual cycle with Human sex ratio at birth. *N. Engl. J. Med.* 1974; 291: 1056.
- Shettles LB. Sex selection. *Infertility* 1978; 1: 127.
- Erickson JD. The The secondary sex ratio in the United States 1969-1971: associaton with race, parenteral age, birth order paternal education and legitimacy. *Ann. Hum. Genet.* 1976; 40: 205.
- James WH., Rostron J. Parental age, parity and sex ratio in births in England and Wales, 1968-1977. *J. Biosoc. Sci.* 1985; 17: 47.
- MacMahom B., Pugh T. Sex ratio of white births in the United States during the second World War. *Am. J. Hum. Genet.* 1954; 6: 284.
- Broer KH., Kaiser R. Proporción de sexo en el semen eyaculado y en el tracto genital femenino. En *Reproducción Humana*, Kaiser R. Edit. Salvat. Barcelona 1986; 115.
- Scherman JK., Chart F. Stability of Y cromosome Fluorescence during freeze thawing and frozen storage of Human Spermatozoa *Fertil Steril* 1974; 26: 311.
- Summer HT., Robinson JA., Evans HJ. Dinstinguishing between XXY and YY bearing Human spermatozoa by fluorescence and DNA content.
- Evans JM., Douglas TA., Remtom JP. Am attempt to separate fractions rich in human «Y» perm. *Nature* 1975; 253: 352.
- Ross AR., Robinson JH., Evans HJ. Failure to confirm separation of X and Y bearing Human sperm using BSA gradients *Nature* 1975; 153: 354.
- Shettles LB. Factors influencing sex ratios. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 1970; 8: 643.
- Harlap S Gender of infants conceived on different days of the menstrual cycle. *New. Engl. J. Med.* 1979; 300: 1445.
- Cohen MR. Differentiation of sex as determined by ovulation timing. *Int. J. Fertil* 1967; 12: 32.
- Kuhr MD. Factors effecting sex ratio. *New. Engl. J. Med.* 1975; 192: 650.
- France JT., Graham FM et al. A prospective study of the preselection of the sex of offspring by timing intercourse relative to ovulation. *Fertil Steril* 1984; 41: 894.
- Simcock BW. Sons and daughters-a sex preselection study. *Med. J. Aust.* 1985; 142: 541.