

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA Y
TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN**

**ANTICONCEPTIVOS
MASCULINOS EN EL CONTROL
DE LA FERTILIDAD**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Laura Pinillas González

9 de Junio de 2022

ABEL GAYO LANA, Doctor en Biología por la Universidad de Oviedo y Director del Laboratorio de Embriología CLÍNICA ERGO BIOTECH,

CERTIFICA:

Que el trabajo presentado por Laura Pinillas González, titulado: ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS EN EL CONTROL DE LA FERTILIDAD realizado bajo su dirección, dentro del programa de Máster en “Biología y Tecnología de la Reproducción”, reúne a su juicio las condiciones necesarias para ser admitido como Trabajo Fin de Máster, y por ello autoriza la presentación del mismo.

Para que así conste donde convenga, firma la presente certificación en Gijón a 6 de junio de 2022

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, tras este año de dedicación al máster, me llena de ilusión poder agradecer a todas las personas que me han ayudado a que haya sido posible, en especial a mi tutor, el doctor Abel Gayo Lana, quien ha estado a mi lado siempre, apoyándome, enseñándome y prestando atención a cada detalle, sacando tiempo de donde no lo tiene, y lo mejor de todo es que siempre lo hace con una sonrisa. También agradecer al resto del equipo ERGO, por ser tan acogedores, por tratarme como una más del equipo y por las bromas y risas que nunca faltaban, gracias de corazón.

Gracias también a mis padres, a mi hermana, a mi abuelo y a Borja por aguantar mis agobios, por levantarme siempre que me bloqueo y por creer en mí, porque sin ellos tal vez no sería posible escribir hoy estas líneas.

ÍNDICE

1. ABREVIATURAS.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	4
2.1 ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS EXISTENTES.....	5
2.2 LÍMITES AL DESARROLLO DE ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS.....	7
2.3 LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA.....	8
2.4 ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR MASCULINO.....	9
2.5 ESPERMATOGÉNESIS.....	12
2.6 FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN MASCULINA.....	16
2.7 POSIBLES VÍAS DE ANTICONCEPCIÓN MASCULINA.....	18
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	21
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
5. RESULTADOS.....	23
5.1 ANTICONCEPTIVOS QUE INTERRUMPEN LA ESPERMATOGÉNESIS.....	23
5.1.1 ANÁLOGOS DE LA LONIDAMINA.....	23
5.1.2 BIOSÍNTESIS Y RECEPTORES DEL ÁCIDO RETINIICO.....	28
5.1.3 TABLA RESUMEN DE LOS ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS ESTUDIADOS QUE INTERRUMPEN LA ESPERMATOGÉNESIS.....	31
5.2 ANTICONCEPTIVOS QUE INTERVIENEN EN LA MOTILIDAD.....	32
5.2.1 CALCINEURINA.....	32
5.2.2 CANAL IÓNICO.....	34
5.2.3 TABLA RESUMEN DE LOS ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS ESTUDIADOS QUE INTERVIENEN EN LA MOTILIDAD.....	39
5.3 ANTICONCEPTIVOS QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE.....	40
5.3.1 CONTROL ADRENÉRGICO Y PURINÉRGICO.....	40
5.3.2 RECAPTACIÓN DE SEROTONINA-NOREPINEFRINA.....	43
5.3.3 RISUG.....	45
5.3.4 TABLA RESUMEN DE LOS ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS ESTUDIADOS QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE.....	48
6. DISCUSIÓN.....	49
7. CONCLUSIONES.....	59
8. BIBLIOGRAFÍA.....	60

1. ABREVIATURAS

Adjudina (1-(2,4-diclorobencil)-1H-indazol-3-carbo-hidrazida)

AKT1 - Serina/Treonina Quinasa 1

AME – Anhídrido maleico estireno

ARP3 – Proteína 3 relacionada con actina

ATRA – Ácido retinoico

CAMSAP2 – Miembro 2 de la familia de proteínas asociadas a la espectrina regulada por calmodulina

CATSPER – Canal Catiónico Espermatozoide Asociado

CDB-4022 – [4aRS,5SR,9bRS]-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-8-yodo-7-metil-5-[carbo-metoxifenil]-1H-indeno- [1,2-c]-piridina-clorhidrato

CsA – Ciclosporina A

CYP17 – Citocromo P450 17 α -hidroxilasa/17,20-liasa

DHEA – Dehidroepiandrosterona

DMSO – Dimetilsulfóxido

eEF1A1 – Factor de traducción de elongación eucariota 1

EPPIN – Inhibidor de la proteasa epididimaria

EPS8 – Sustrato 8 de la vía del receptor del factor de crecimiento epidérmico.

ES apical – Unión adherente atípica específica de testículo

FAK – Quinasa de adhesión focal

FK506 – Tacrolimus

GSK3 – Glucógeno sintasa quinasa 3

IRSN – Fármaco inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina

MARK4 – Quinasa 4 reguladora de la afinidad de los microtúbulos

mTORC1 – Diana de mamíferos del complejo de rapamicina 1

PBZ - Fenoxibenzamina

PI-3 quinasa – Fosfatidilinositol 3-quinasa

PSA – Antígeno prostático específico

RAR – Receptor retinoico

RARA – Receptor retinoico α

RARB - Receptor ácido retinoico β

RARG – Receptor ácido retinoico γ

RISUG – Inhibición reversible del esperma bajo guía

rpS6 – Proteína ribosomal S6

SEMG1 – Semenogelina 1

SVS2 – Proteína 2 secretada por vesículas seminales

VDAC2 – Proteína 2 del canal selectivo de aniones dependiente del voltaje

WIN-18446 – Bisdicloroacetildiamina

2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad las técnicas de anticoncepción están centradas mayoritariamente en mujeres y, por lo general, los hombres participan de forma muy minoritaria y pasiva en estos procesos. Existe un gran abanico de posibilidades en cuanto a anticonceptivos femeninos con tasas de embarazo bajas como la píldora anticonceptiva, el preservativo femenino, el diafragma, el anillo vaginal y el dispositivo intrauterino entre muchos otros. Todos ellos conllevan algún efecto adverso para la mujer y por ello se considera que hay un notable desequilibrio en cuanto a la responsabilidad de la planificación reproductiva entre hombres y mujeres.

Muchos estudios están enfocándose en desarrollar métodos anticonceptivos seguros y efectivos para el varón. Esto es, entre otras razones, por el aumento de la población y la alta tasa de embarazos no deseados. Se estima que en el siglo XX la población mundial se duplicó y, si la tendencia se mantiene, en 2050 se superarían los 9 mil millones de habitantes, ejerciendo una gran presión sobre los recursos limitados y un aumento de la contaminación (Aragón *et al.*, 2021). Por otro lado, en un estudio entre 2010 y 2014 se contempló que el porcentaje de embarazos no planeados es muy alto, en el caso de los países desarrollados el porcentaje se eleva hasta el 45% de donde solo el 59% de mujeres interrumpieron la gestación. Por otro lado, en los países en desarrollo hasta el 65% son embarazos no deseados y de ellos solo el 55% fueron abortados. Esto produce un gran impacto social, económico y psicológico (Noman *et al.*, 2020). Además, este tipo de embarazos tienen más probabilidades de que el niño tenga más riesgos como bajo peso al nacer, escasos recursos para un desarrollo saludable, abandonos, abusos, etc. (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

Para evitarlo, una de las mejores soluciones es la educación a través de la planificación familiar y anticoncepción y por ello se continúa investigando en este campo, tanto en el desarrollo de nuevos anticonceptivos femeninos como masculinos (Mok *et al.*, 2011). De hecho, muchas parejas, especialmente en países desarrollados, son conscientes de su estilo de vida y quieren limitar el tamaño de sus familias y ello depende en gran medida de la mejora de la anticoncepción (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

Por todo ello, son muchos los proyectos de investigación que analizan, por diversas vías, las posibles opciones de bloquear reversiblemente la fertilidad masculina. Sin

embargo, por el momento, no se ha conseguido nada claro a pesar de que se conoce el proceso de la espermatogénesis y los puntos críticos donde poder interrumpir la producción espermática, su motilidad y transporte en el tracto genital masculino.

2.1 ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS EXISTENTES

A pesar de que la responsabilidad del control de la fertilidad suele recaer en las mujeres, desde la antigüedad, los hombres también han pensado en el tema y se ha ido expandiendo la idea del coito interrumpido, que se basa en retirar el pene de la vagina antes de la eyaculación para evitar la entrada del esperma. Sin embargo, este método no es fiable ni seguro y está ligado socialmente a prácticas extramatrimoniales y a la prostitución, por lo que las parejas prefieren recurrir a un verdadero anticonceptivo (Aspilcueta-Gho, 2013).

Uno de los pocos métodos anticonceptivos diseñados para el hombre es la vasectomía, ya descubierta en 1830 y puesta en práctica en humanos en 1960. Actualmente es utilizado por 42-60 millones de hombres en todo el mundo y es una cifra que aumenta gradualmente (Finkelstein, 2020). Se trata de una cirugía donde se cortan los conductos deferentes que tenían como finalidad transportar los espermatozoides desde los testículos a la uretra. Es un procedimiento que no genera complicaciones, tiene una alta tasa de éxito, es más económico y sencillo que la esterilización femenina y es permanente, por lo que está diseñado para hombres que no desean tener más hijos (Parra *et al.*, 2019). A pesar de ello, que sea permanente no significa que el hombre no pueda tener descendencia en un futuro, existen procedimientos para recuperar la posibilidad de lograr el embarazo después de una vasectomía, siempre y cuando se tenga en cuenta la edad de ambos miembros de la pareja y el estado de cada uno de ellos, así como el porcentaje de éxito de lograr un embarazo evolutivo. Las posibles opciones son la de revertir la vasectomía mediante una nueva intervención quirúrgica, recuperar espermatozoides mediante una biopsia testicular o criopreservar espermatozoides antes de la intervención.

No obstante, las creencias, el entorno sociocultural, el nivel económico y la educación sexual pueden influir en la decisión de decantarse o no por la vasectomía. De hecho, el problema se agrava aún más en zonas subdesarrolladas y/o rurales debido a que en estos países el uso de métodos anticonceptivos es casi nulo y eso explica la gran tasa

de natalidad si la comparamos con países desarrollados. Los hombres de estas zonas reniegan de la vasectomía y esto es por falta de información, por el poco acceso de la sanidad y de médicos especializados pero, sobre todo, por influencias religiosas y sociales ya que creen que al practicar dicha técnica serían hombres castrados y perderían la masculinidad e incluso el desempeño sexual (Moreno *et al.*, 2005).

Sin embargo, a lo largo de la historia, el método anticonceptivo por excelencia en hombres ha sido el preservativo masculino, no solo porque previene el embarazo pero también porque sirve de protección ante enfermedades de transmisión sexual. Sin embargo, tiene una serie de desventajas, algunos hombres declaran que puede llegar a ser un inconveniente para llegar al pleno placer debido a que disminuye la sensibilidad, también indican que reduce la espontaneidad para la penetración, tiene un porcentaje de fracaso del 3-15% debido a roturas o uso inadecuado y, además, muchas veces no es aceptado como método de anticoncepción, sobre todo en parejas estables a largo plazo. En España se ha hecho un estudio en 2020 por parte de la Sociedad Española de Contracepción (SEC) (Figura 1) en mujeres de entre 15 y 49 años donde se recoge que el preservativo es el método anticonceptivo principal utilizado en mujeres de edad fértil (31,3%) seguido de la píldora (18,5%), el DIU de cobre (4,3%) y el DIU hormonal (4%). Cabe destacar que el 29,3% de mujeres no utiliza ningún anticonceptivo aun con riesgo de tener un embarazo no deseado (SEC, 2020).

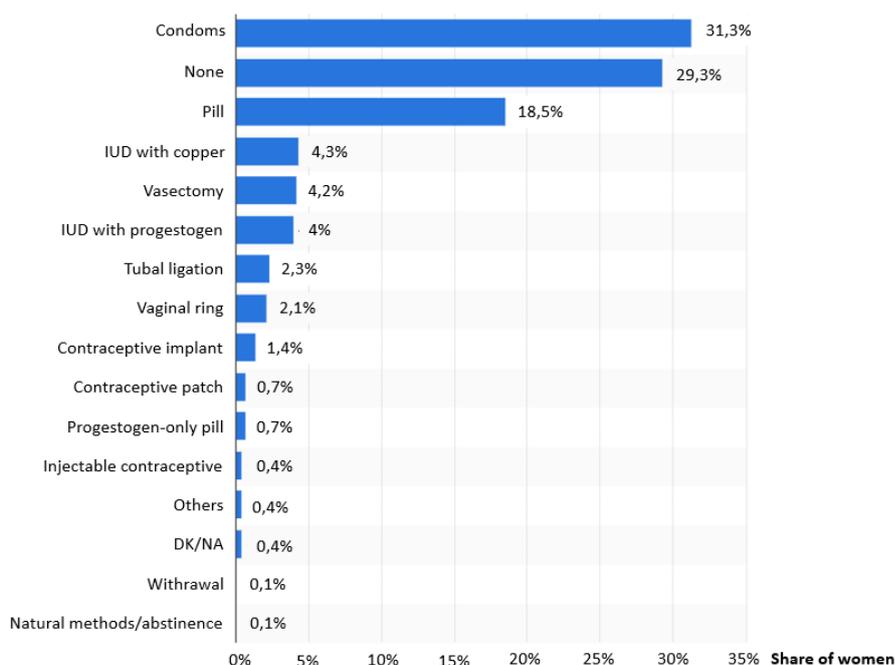


Figura 1: Orden de los principales métodos anticonceptivos utilizados por las mujeres españolas en 2020. (SEC, 2020).

Sin embargo, esto es muy diverso entre todos los países ya que el método más frecuente está condicionado por la situación económica, el contexto cultural, las farmacéuticas y las políticas públicas. Por ejemplo, en China existió una política, vigente hasta 2015, donde se impedía que la mujer tuviera más de un hijo, puesto que la población era demasiado grande y no había recursos suficientes para abastecerla. Para asegurar el cumplimiento de la norma, se implantaba obligatoriamente un dispositivo intrauterino después de su primer alumbramiento, por ello China es uno de los países donde más mujeres con DIU hay en el mundo (Wang *et al.*, 2002).

2.2 LÍMITES AL DESARROLLO DE ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS

Sin embargo, a pesar de que la anticoncepción masculina ha estado estancada varias décadas, actualmente el campo avanza a pasos agigantados ya que se han comenzado a abrir nuevas vías que no han sido estudiadas previamente, la tecnología progresa y mejora cada día y comienza a ser necesario a nivel social un nuevo método anticonceptivo ante la alta tasa de embarazos no deseados contabilizados (Vahdat *et al.*, 2021).

A parte de la dificultad de encontrar el método para controlar la fertilidad con menos impacto y con los mínimos efectos secundarios, también se debe tener en cuenta el compromiso, la responsabilidad y la posible dejadez del hombre. Muchas mujeres dudan en si elaborar un método anticonceptivo masculino es buena idea porque consideran que la responsabilidad sexual les concierne más a ellas ya que, después de todo, es la mujer quien sufre directamente el fracaso del anticonceptivo y los sucesivos procedimientos para interrumpir el embarazo no deseado, además de todos los efectos adversos que ello conlleva (Finkelstein, 2020), (Molina, 2022).

En 2002 se realizó una encuesta a 9342 hombres de entre 18 a 50 años en 9 países de 4 continentes (aproximadamente 1000 personas por país). El objetivo era conocer el pensamiento, la aceptabilidad de usar un método de anticoncepción y el compromiso de seguir el tratamiento en diferentes poblaciones y culturas. En general, se vio que en la mayoría de parejas, ambos miembros toman la decisión de elegir un método anticonceptivo u otro y, centrándose en los resultados acerca de la anticoncepción masculina, se vio que eran positivos en cuanto a la aceptación, es decir, un alto porcentaje consideraba que era una buena vía de investigación y un buen planteamiento, sin

embargo, las opiniones variaban mucho cuando se refería a la voluntad de usar este tipo de anticonceptivos y a la responsabilidad total de llevar a cabo eficazmente el tratamiento (Heinemann *et al.*, 2005).

Otro estudio en 2020 se basaba en el pensamiento de la población ante la idea de incorporar un anticonceptivo masculino. En primer lugar se preguntó sobre si la decisión de elegir el método de control de la fertilidad era de parte de un miembro de la pareja o de ambos y en un 90% de los casos eran los dos los que tomaban la determinación de usar uno u otro. De ese 90%, más de la mitad de los hombres se comprometerían a someterse a un tratamiento anticonceptivo. Además, solo el 2% de las mujeres encuestadas opinaron que no confiarían en su pareja si él fuera el encargado del uso de anticoncepción hormonal (Finkelstein, 2020).

Más recientemente, en 2021, se realizó otro estudio elaborado por la MIC que recoge que el 81% de hombres en el mundo están interesados en el uso de anticonceptivos masculinos y, además, una vez que se comercialicen se harán más habituales y entonces más hombres querrán usarlos. En el caso de Estados Unidos, el 80% de los hombres están de acuerdo con estas técnicas, sin embargo en Países Bajos solo el 54% muestra interés y en países de África como Burkina Faso y Uganda el 53 y 95% respectivamente. Por su parte, solo el 66% de las mujeres a nivel mundial confían en que su pareja realice adecuadamente el tratamiento y el porcentaje varía dependiendo de la localización y cultura. Por ejemplo, en Escocia y en países de Sudáfrica más del 90% confía en su pareja pero en otros puntos como en Hong Kong solo al 71% le parece buena idea (Vahdat *et al.*, 2021).

De hecho, la mayoría de seguidores del budismo y, especialmente los hombres musulmanes, no estaban dispuestos a considerar un nuevo método de anticoncepción masculina (Heinemann *et al.*, 2005).

2.3 LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Las farmacéuticas no han puesto mucho empeño en las investigaciones referentes a la anticoncepción masculina porque creen que a largo plazo no saldrían rentables ya que, aunque estas suposiciones no han sido comprobadas, consideran que no sería una vía aceptada por muchos varones. Dudan de invertir grandes cantidades de dinero en

investigación, conseguir un fármaco anticonceptivo y de correr el riesgo de que no sea comercializado debido a los posibles efectos secundarios, las oposiciones culturales o religiosas y la desconfianza por parte de la pareja femenina (Finkelstein, 2020), (Rubin, 2017). De hecho, el presidente de la SEC afirmó públicamente lo siguiente: “Quien queda embarazada pone más interés en evitarlo, por tanto era más fácil para la industria farmacéutica satisfacer la demanda de las mujeres que dejarlo en manos de los hombre”. (Molina, 2022). Por ello es más factible que quien invierte en la investigación de los anticonceptivos masculinos sean organizaciones sin ánimo de lucro y entidades públicas.

Otra razón por la que las farmacéuticas no quieren invertir en dicha investigación es porque los métodos anticonceptivos femeninos son muy efectivos y, para que los masculinos tengan una buena comercialización, al menos deben ser tan eficaces como los diseñados para las mujeres (Rubin, 2017).

Por otra parte es obvio que la biología reproductiva y sistémica de cada sexo es diferente, siendo difícil la comparación en la eficiencia de los tratamientos anticonceptivos, siendo necesarios mayor número de ensayos científicos para comprender en qué puntos se puede interrumpir de manera específica el proceso que nos interesa y no de manera sistémica (Vahdat *et al.*, 2021).

Los efectos secundarios de los anticonceptivos masculinos también pueden ser una causa para que los varones se nieguen a someterse a ellos y, por consiguiente, la comercialización disminuirá. Los pacientes enfermos están dispuestos a atravesar tratamientos que producen efectos secundarios como la quimioterapia en el cáncer, sin embargo, en este caso el hombre está sano y por tanto no va a aceptar que el tratamiento desencadene nuevos problemas o ponga en entredicho aspectos reproductivos como la libido, u otros aspectos psicofísicos que puedan verse alterados (Rubin, 2017).

2.4 ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR MASCULINO

El aparato reproductor masculino está constituido por los testículos, las vías espermáticas, las glándulas auxiliares y los genitales externos que son el pene y el escroto.

Cada testículo está dividiendo al testículo en 200-300 lobulillos (Figura 2) y cada lobulillo testicular tiene varios túbulos seminíferos contorneados de trayecto tortuoso que

llegan a medir más de medio metro de longitud. Están rodeados por una membrana basal y varias capas de células contráctiles, las células mioideas, y en la pared en contacto con la luz del tubo se distinguen dos grupos celulares. Por un lado se encuentran las células espermatogénicas que dan lugar a las distintas estirpes celulares: espermatogonias, espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios, espermátidas y espermatozoides. Por otra parte se disponen las células de Sertoli que tienen diversas funciones como formar la barrera hematotesticular para mantener unas condiciones metabólicas e inmunitarias adecuadas, fagocitar restos celulares procedentes de la espermatogénesis, mantener dicho proceso mediante nutrición, regular la actividad hormonal, etc (García-Porrero, 2005).

Entre los túbulos seminíferos hay tejido conjuntivo intersticial rico en vasos sanguíneos y es donde se encuentran las células de Leydig, que constituyen la parte endocrina del testículo ya que sintetizan las hormonas sexuales masculinas, principalmente testosterona. Los túbulos seminíferos comienzan a fusionarse cerca del mediastino hasta formar una compleja red testicular llamada rete-testis. Finalmente, del extremo superior de la rete-testis parten los conductillos eferentes del testículo que atraviesan la túnica albugínea y desembocan en el epidídimo.

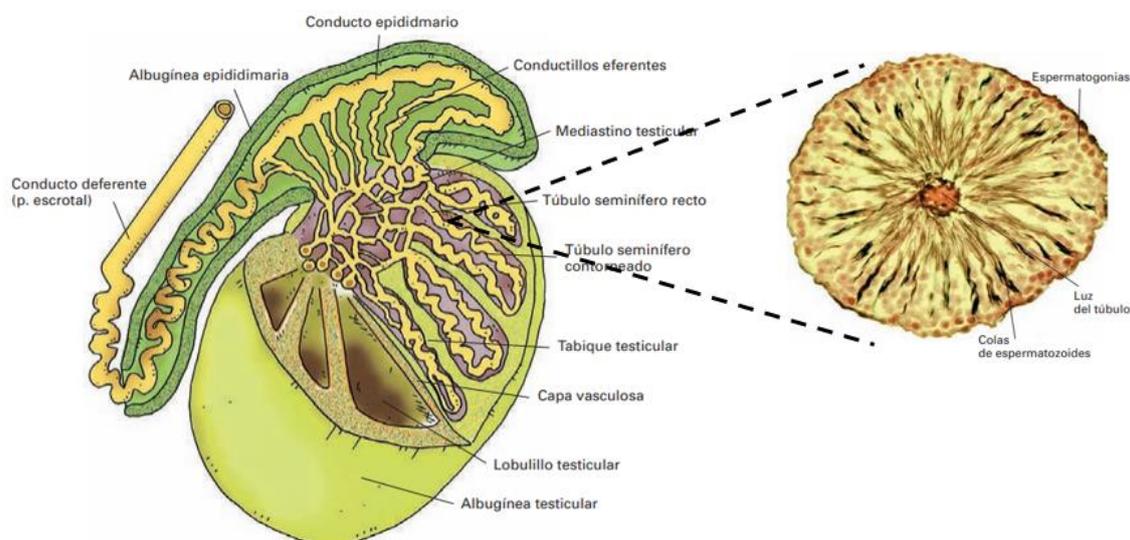


Figura 2: Corte del epidídimo y del testículo con sus partes, ampliando en detalle un corte transversal de un túbulo seminífero (García-Porrero, 2005).

Las vías espermáticas comprenden el epidídimo, el conducto deferente, el conducto eyaculador y la uretra (García-Porrero, 2005).

El epidídimo es un órgano de unos 4 cm de longitud que se encuentra anclada a la superficie superior y posterior-lateral de cada testículo. En él se inicia la vía espermática y sirve de reservorio y lugar de maduración de los espermatozoides durante meses. Se puede dividir en una parte anterior más gruesa denominada cabeza que se trata de la parte inicial, donde confluyen los conductillos eferentes y donde comienza la maduración espermática, una parte media llamada cuerpo que coincide con la parte más contorneada y en donde los espermatozoides son almacenados para pasar las etapas finales de su maduración y un extremo alargado o cola que se continúa con el conducto deferente y es donde se encuentran retenidos los espermatozoides ya maduros (García-Porrero, 2005).

Cada conducto deferente comienza a partir de la cola del epidídimo y asciende dentro del cordón espermático y finalmente cruza el uréter, pasa por el peritoneo y se une con el conducto de la vesícula seminal para formar el conducto eyaculador. Por todo ello, el conducto deferente tiene como función transportar los espermatozoides a la uretra durante la eyaculación por medio de contracciones peristálticas de la pared de músculo liso. La parte final del conducto se denomina ampolla deferencial, localizada por detrás de la vejiga, es la que desemboca en los conductos eyaculadores que conectan al conducto deferente con el conducto excretor de la vesícula seminal. Ambos conductos eyaculadores atraviesan la próstata hasta que desembocan en la uretra prostática, donde expulsan el semen inmediatamente antes de que sea expulsado al exterior desde la uretra.

Asociadas a las vías espermáticas se disponen glándulas que proporcionan un líquido seminal denominado plasma seminal que servirá de transporte para los espermatozoides durante la eyaculación, entre las que destacan las vesículas seminales, la próstata y las glándulas bulbouretrales. Producen la mayoría del volumen del semen, concretamente el 60% del volumen del líquido seminal y la sustancia que segregan es espesa, alcalina y contiene fructosa que suministra la energía necesaria para la motilidad de los espermatozoides, prostaglandinas que provocan contracciones en el aparato genital femenino para facilitar la fecundación, además de favorecer, al igual que la fructosa, el movimiento de los gametos masculinos, y diversas proteínas. Esta secreción es importante para el transporte de los espermatozoides pero también para las etapas finales de la maduración.

Por último destacar las glándulas bulbouretrales o glándulas de Cowper son dos glándulas de tamaño de un guisante que van disminuyendo con la edad. Su secreción alcalina la vierten mediante un conducto excretor y tiene como función la de proteger a los espermatozoides ya que neutralizan la acidez de la uretra y lubrican el extremo del pene y las paredes de la uretra para disminuir el número de espermatozoides que resultan dañados tras la eyaculación (García-Porrero, 2005).

2.5 ESPERMATOGÉNESIS

La espermatogénesis es el mecanismo dinámico y complejo regulado hormonalmente que consiste en la formación de los gametos masculinos en los túbulos seminíferos tras la pubertad (Carlson, 2014). Depende de muchos factores y tiene un papel fundamental en el estado reproductivo del hombre adulto, de hecho, aproximadamente el 80% de los casos de subfertilidad o esterilidad masculina se deben a disrupciones parciales o totales del proceso (Bassas, 2001).

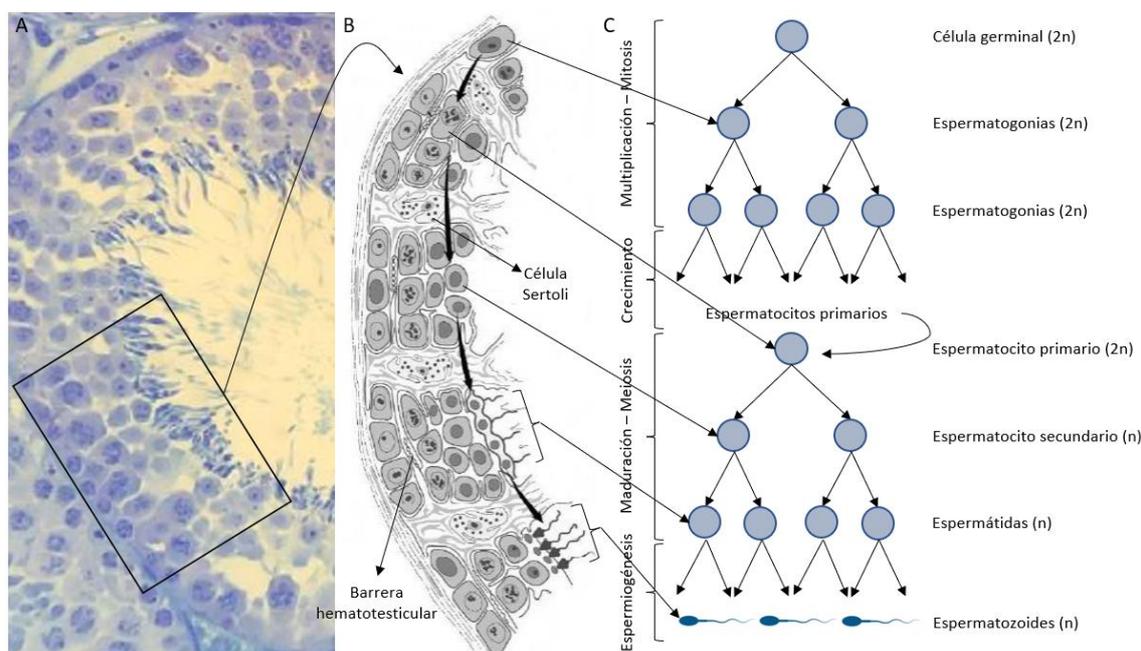


Figura 3: **A)** Túbulo seminífero humano visto al microscopio. Fotografía propia. **B)** Esquema de una porción del túbulo seminífero donde se observan espermatogonias, espermatozoides 1º, espermatozoides 2º, espermátidas y espermatozoides (Carlson, 2014). **C)** Proceso de la espermatogénesis. Esquema de elaboración propia.

En la base del epitelio del túbulo seminífero existen poblaciones de espermatogonias que son células diploides que provienen de las células germinativas primordiales. Hay dos tipos, por un lado las espermatogonias de tipo A, cuya función es la de mantener mediante mitosis un número adecuado de espermatogonias a lo largo de

la vida reproductora del hombre, en definitiva, se trata de células madre. El otro grupo son las espermatogonias de tipo B que se originan a partir de las del tipo A y esta regulación se lleva a cabo gracias a que la mayoría de ellas están conectadas mediante puentes citoplasmáticos intercelulares. En este caso, no permanece, en mitosis sino que avanzan a la meiosis gracias a la estimulación, entre otras sustancias, del ácido retinoico que es un derivado de la vitamina A (Carlson, 2014).

Además, todas las espermatogonias se encuentran ancladas al epitelio seminífero gracias a unas prolongaciones de las células de Sertoli, únicas células somáticas del epitelio seminífero. Estas células de Sertoli en la espermatogénesis son esenciales debido a que tienen diversas funciones como la de nutrir a las demás células, mantener las uniones celulares, segregar sustancias fundamentales como lactato, citoquinas y hormonas y favorecer el proceso de mitosis y de meiosis. A parte de ello, las células de Sertoli forman una barrera hematotesticular (señalada en Figura 3) que proporciona un entorno inmunoprotector para defender de cualquier daño a las células germinales (Ni, 2019).

La espermatogénesis se divide en cuatro etapas (Figura 3) y tiene una duración de 64 días. La primera de ellas consiste en la **multiplicación** mediante mitosis de las espermatogonias, sin embargo, a diferencia de lo que sucede en las mujeres, no todas las espermatogonias se desarrollan a la vez, de hecho, muchas de ellas se mantienen en el ciclo mitótico durante gran parte de la vida reproductora del hombre (Carlson, 2014).

Después de replicar el ADN, las espermatogonias entrarán en la etapa de **crecimiento** convirtiéndose en espermatocitos primarios ($2n$), atraviesan la barrera de las células de Sertoli y se dirigen al interior del túbulo seminífero, colocándose justo por debajo de la capa de espermatogonias. La fase de crecimiento dura unos 24 días y, durante este tiempo, las células espermáticas en desarrollo van produciendo moléculas, todavía inactivas, de ARNm que serán necesarias en fases próximas. Una de la síntesis más importante es la de las protaminas, que se inicia en la etapa de espermatocito primario pero no se traduce hasta que es espermátida, de hecho, si se traducen antes de llegar a esa etapa, se produciría una condensación prematura de los cromosomas desarrollando una esterilidad, por lo que este ARNm forma complejos con proteínas y así es inaccesible a la transcripción hasta que llegue el momento adecuado. Las protaminas son proteínas

pequeñas, ricas en arginina y cisteína que sustituyen a las histonas, ricas en lisina, y así permiten un alto grado de compactación de la cromatina en las etapas finales de la espermatogénesis (Carlson, 2014).

A continuación, se producirá la **maduración** por meiosis y se formarán células haploides denominadas espermatoцитos secundarios, de manera que por cada espermatoцитo primario, se formarán 2 espermatoцитos secundarios que permanecerán unidos mediante un puente citoplasmático. El proceso de maduración puede tardar varias semanas y es clave puesto que esas células que son ya diferentes inmunológicamente al resto de células somáticas en el caso de ruptura de la barrera hematotesticular, se producirá una esterilidad autoinmunitaria (Carlson, 2014).

Posteriormente, estos últimos entran de inmediato en un nuevo proceso de meiosis que durará unas 8 horas para formar espermátidas que son gametos haploides inmaduros (2 espermátidas por cada espermatoцитo secundario o lo que es lo mismo, 4 espermátidas por cada espermatogonia) (Carlson, 2014).

Por último, ocurre la diferenciación o **espermiogénesis** donde se forman los gametos haploides denominados espermatozoides (Figura 4). Durante esta etapa se llevan a cabo varios cambios; uno de ellos es la elevada condensación que sufre la cromatina gracias a la sustitución de histonas por protaminas y esto va asociado a una reducción progresiva del tamaño del núcleo. También ocurren modificaciones a nivel citoplasmático, como la profunda reorganización o la condensación del aparato de Golgi en la zona apical del núcleo para formar el acrosoma, fundamental en la fecundación. El tercer cambio consiste en la síntesis de un flagelo, quien dará movimiento al espermatozoide, a partir de la región centriolar. Por otro lado, las mitocondrias se disponen en espiral en la parte proximal del flagelo, en la llamada pieza intermedia y, además, durante este proceso hay una elevada expresión génica que continuará modificando al gameto. Cuando el proceso de espermiogénesis va a llegando a su fin, el citoplasma sobrante, llamado cuerpo residual, se separa del núcleo y es eliminado y fagocitado por las células de Sertoli, (Carlson, 2014).

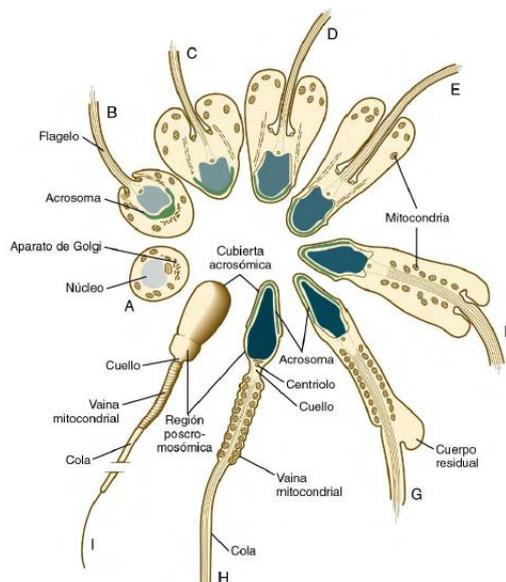


Figura 4: Principales etapas de la espermiogénesis comenzando en A (espermatida) y terminando con I (espermatozoide maduro). (Carlson, 2014)

Tras la espermiogénesis, el espermatozoide ya es una célula haploide especializada, adaptada al movimiento y preparada genéticamente para fecundar al óvulo. Está formada por una cabeza más larga (4 a 5 μm) que ancha (2 a 3 μm) que contiene un núcleo y el acrosoma con todas las enzimas necesarias en la fecundación. Después de la cabeza se encuentra la pieza intermedia donde están los centriolos, la parte proximal del flagelo y las mitocondrias y, a continuación, el flagelo de unos 50 μm de longitud (Figura 5) (Carlson, 2014).

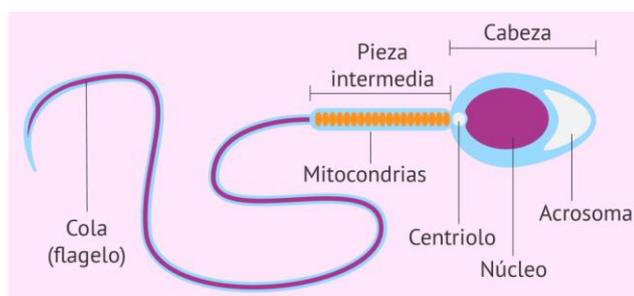


Figura 5: Partes de un espermatozoide (Espejo et al., 2019)

Después de la eyaculación, los espermatozoides, que hasta ese momento se encontraban a un pH ácido, se exponen al pH básico del tracto genital femenino y sufren cambios bioquímicos y electrofisiológicos que son fundamentales para la hiperactivación de la motilidad espermática y para aumentar el potencial de fertilización, dicho proceso se conoce como capacitación espermática (Cavarocchi et al., 2022).

2.6 FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN MASCULINA

El desarrollo sexual, la regulación de la espermatogénesis y, por tanto, la función reproductiva masculina dependen de complejas interacciones hormonales de retroalimentación mediadas por el eje hipotálamo-hipófisis-testículo (Aragón *et al.*, 2021).

El hipotálamo es un órgano nervioso y endocrino que, entre otras muchas funciones, se encarga de secretar de manera pulsátil y endógena la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), hormona fundamental en la reproducción (Aragón *et al.*, 2021). La GnRH es un decapeptido que está constituido por 10 aminoácidos (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly·NH₂) que se pliegan en forma de arco (Millar, 2005) (Figura 6).

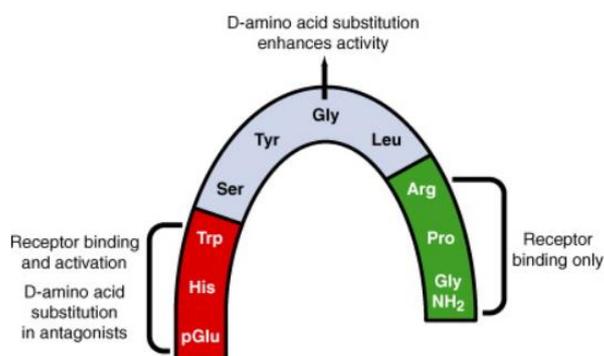


Figura 6: Conformación de la hormona GnRH (Millar, 2005)

Se sintetiza en el hipotálamo, a través de unas neuronas denominadas transductores neuroendocrinos, capaces de convertir una señal nerviosa en una endocrina mediante procesamiento enzimático y, posteriormente se empaqueta en gránulos de almacenamiento que se transportan por los axones hasta la zona externa de la eminencia media (Millar, 2005). Posteriormente, la hormona se va secretando en pulsos coordinados desde las terminaciones nerviosas hacia la circulación portal hipofisaria cada 90 a 120 minutos (Aragón *et al.*, 2021).

La hipófisis es una glándula localizada debajo del hipotálamo y dividida en dos partes: neurohipófisis y adenohipófisis, siendo esta última la que se ve involucrada en la función reproductiva. La adenohipófisis está constituida por muchos grupos celulares y uno de ellos son los gonadotropos que contienen el receptor específico de unión para GnRH (Figura 6) (Millar, 2005). La unión de la hormona con el receptor activa a una

proteína G que a su vez activará a una fosfolipasa y se produce un aumento de inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG) (Gardner *et al.*, 2010).

Las gonadotropinas son dos, la hormona folículoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), (Millar, 2005) ambas de suma importancia en la maduración sexual y la función reproductiva fisiológica en mamíferos. La GnRH es la única hormona hipotalámica capaz de producir la liberación de dos hormonas diferentes en la adenohipófisis y para explicarlo se ha comprobado que pulsos bajos de GnRH (en un intervalo máximo de 120 minutos por pulso) estimulan la secreción de FSH y, por el contrario, si el pulso es más alto se libera LH (máximo 30 minutos por pulso) (Stamatiades, 2018).

FSH y LH son heterodímeros de glicoproteínas constituidos por dos subunidades, una subunidad α común de 95 aminoácidos y una diferente, la subunidad β , que aporta especificidad a cada gonadotropina, siendo que la cadena específica para FSH es de 121 aminoácidos y la correspondiente a LH es de 110 aminoácidos (Stamatiades, 2018).

La LH induce en las células de Leydig un aumento de testosterona y la FSH actuando sobre las células de Sertoli desencadena el inicio y mantenimiento de la espermatogénesis, sin embargo estos procesos deben estar regulados (Figura 7) y cuando hay un nivel demasiado alto de testosterona y FSH, las células de Sertoli se saturan y se produce una molécula denominada inhibina. La inhibina es un homodímero que inhibe de forma específica la secreción de FSH en la adenohipófisis mediante retroalimentación negativa. Con ello, los niveles de FSH disminuirán pero los de LH se mantendrán intactos. Es por ello por lo que la testosterona en altos niveles actúa también con una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo inhibiendo la secreción de GnRH y sobre la adenohipófisis bloqueando la secreción de LH. Además, la proteína ligadora de andrógenos (ABP) es una proteína liberada por las células de Sertoli en respuesta a FSH y tiene como función unir grandes cantidades de testosterona dentro del testículo y, de este modo, la concentración de testosterona intratesticular es hasta 100 veces superior a la concentración de testosterona en sangre, fundamental para que se produzca de manera adecuada la espermatogénesis. Por tanto, la ABP tiene como función mantener estables los niveles de testosterona y de FSH en una retroalimentación positiva y así mantener constante la espermatogénesis (Arce *et al.*, 2006).

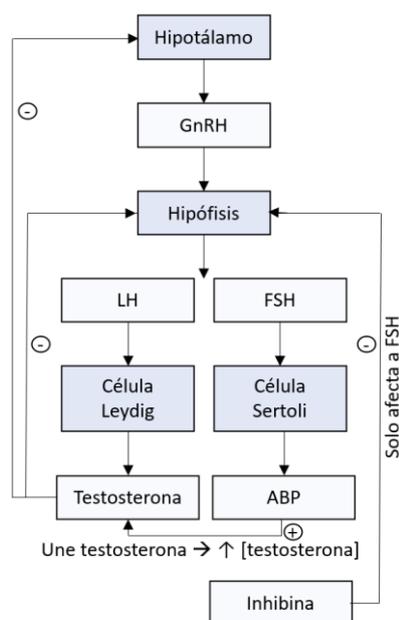


Figura 7: Fisiología del eje hipotálamo-hipófisis-testículo. Esquema de elaboración propia.

2.7 POSIBLES VÍAS DE ANTICONCEPCIÓN MASCULINA

Un anticonceptivo masculino óptimo debe cumplir varios requisitos, entre los que obviamente destacan: ser 100% eficaz, que no conlleve ningún efecto secundario, ni riesgos para la salud, ni intervenga en la virilidad, la libido y la potencial sexual. Por otro lado, el anticonceptivo debe ser 100% reversible en el momento deseado (Aspilcueta-Gho, 2013). Por otra parte debería ser aceptado por su pareja de buen grado, que a ser posible no necesite la dispensación de receta médica siempre, y que el costo del tratamiento sea asequible y que no interfiera en la espontaneidad del coito, como ocurre con el preservativo.

El enfoque más investigado y que parece factible en el caso de los anticonceptivos masculinos es el hormonal, consiste en inhibir la espermatogénesis mediante la interrupción del eje hipotálamo-hipófisis-testículo y así eliminar la producción de GnRH, reduciendo los niveles de andrógenos para que no se lleve a cabo la espermatogénesis (Mok *et al.*, 2011). Sin embargo, los anticonceptivos hormonales producen graves efectos secundarios y poca eficacia, es por ello se consideran poco prácticos y su uso no ha llegado a ser extendido (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

Por su parte, la anticoncepción no hormonal antes de los años 1980 era totalmente empírica basada en extractos de plantas, sin embargo el interés en desarrollar este tipo de anticonceptivos era alto y por tanto se desarrollaron numerosos estudios que tenían como objetivo identificar y estudiar proteínas espermáticas que intervienen en puntos concretos en la producción de los gametos masculinos y convertirse así en la base del desarrollo de tales anticonceptivos (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

El objetivo principal consiste en actuar sobre proteínas que afectan a los espermatozoides tanto en su producción como en su función y con ello lograr los mínimos efectos adversos, reuniéndose así muchos candidatos posibles para la futura anticoncepción masculina no hormonal (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) (Noman *et al.*, 2020).

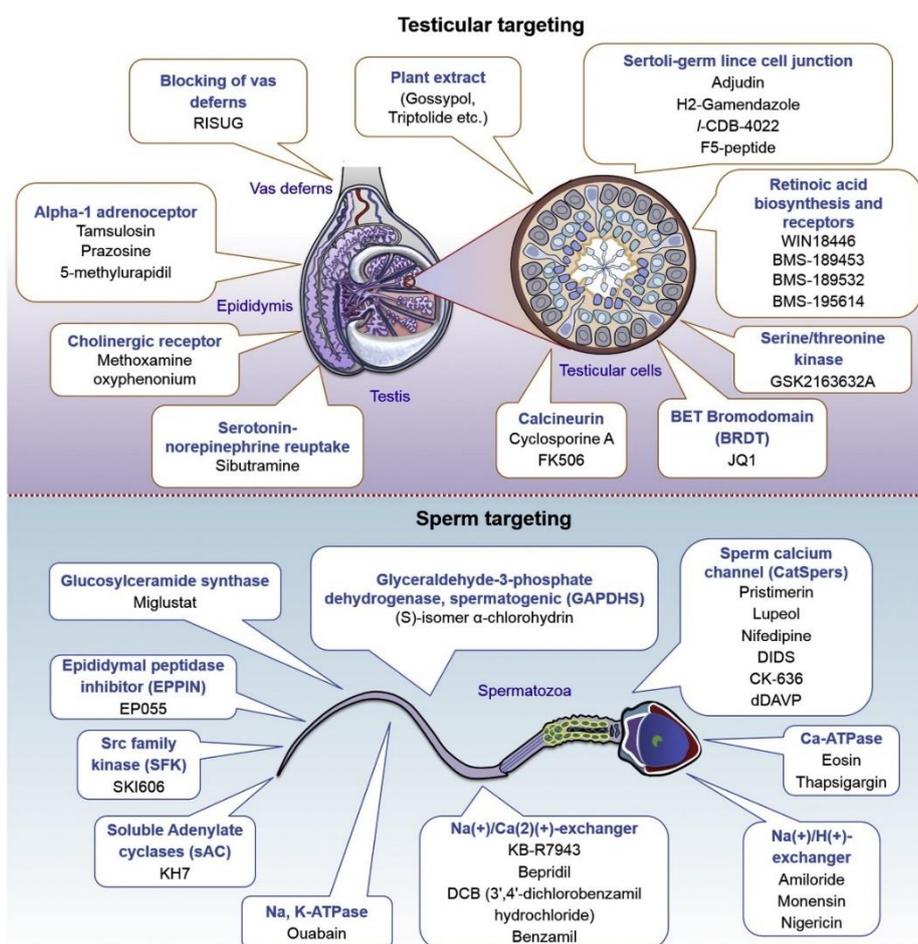


Figura 8: Posibles candidatos anticonceptivos no hormonales en investigación (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

Actualmente se investigan vías reversibles a nivel de cuatro procesos críticos. El primero nivel para conseguir la esterilidad temporal es interrumpir la producción de

espermatozoides maduros a partir de las células germinales, es decir, pausar la espermatogénesis. Otra opción es la de intervenir en la motilidad del espermatozoide y la tercera posibilidad es evitar el transporte de los espermatozoides fuera del tracto reproductivo. Por último, pero más complejo ya que interviene en escena el gameto femenino, es decir, el óvulo, también se llevan a cabo estudios para diseñar un anticonceptivo que impida la fertilización, es decir, que la unión específica entre el óvulo con el espermatozoide no se lleve a cabo a través de alteraciones en sus receptores y ligandos situados en la cabeza del espermatozoide (en el acrosoma o membrana plasmática) y en las envolturas del óvulo (zona pelúcida o membrana ovocitaria) (Vahdat *et al.*, 2021).

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En base a estos conocimientos sobre la espermatogénesis masculina, su motilidad y transporte de los espermatozoides, así como los procesos de fertilización, nos hemos propuesto, a modo de hipótesis, que los anticonceptivos masculinos podrían controlar no solo la fertilidad masculina, con lo que ello conlleva sobre las altas tasas de embarazos no deseados a nivel mundial, sino también describir las últimas investigaciones sobre la eficacia, los menores efectos adversos y la total reversibilidad de estos mecanismos fisiológicos de tanto interés no solo para los subsidiarios de estos procesos si no para la industria farmacéutica tan ávida de encontrar la solución a la anticoncepción masculina.

El presente trabajo tiene como objetivos principales los siguientes puntos:

- Describir las posibles vías en la anticoncepción masculina en tres aspectos relevantes como son: la espermatogénesis, la motilidad y el transporte de los espermatozoides en el tracto genital masculino.
- Detallar los posibles efectos adversos, su reversibilidad y su especificidad, como prueba de eficacia de algunos y no todos de los tratamientos llevados a cabo en la anticoncepción masculina.
- Enumerar los anticonceptivos hormonales masculinos y en investigación en modelos murinos y posibles líneas de futuro que se están llevando a cabo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Al tratarse de un trabajo bibliográfico, los materiales con los que se ha trabajado son artículos ya publicados encontrados en páginas webs que constituyen grandes bases de datos como son:

- Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>)
- Google Scholar (<https://scholar.google.es/>)
- MEDLINE/Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)
- IMR Press (<https://www.imrpress.com/>)

La mayoría de los artículos seleccionados se basan en estudios con ratones o monos y en menor proporción en humanos, cuyos estudios aún permanecen en fase experimental. La búsqueda de estos artículos se realizó mediante las siguientes palabras clave: “anticoncepción masculina”, “vías anticonceptivas”, “male contraceptives”, “non-hormonal contraceptives”, “anticoncepción masculina no hormonal”, “possible routes of contraception”.

Se encontraron 27 artículos que cumplían los criterios, de los cuales se seleccionaron 23 artículos finales, a partir de los que se extraerán las conclusiones una vez analizados los datos.

Los artículos restantes se excluyen del estudio debido a que los anticonceptivos de los que tratan no cumplen casi ningún requisito para llegar a comercializarse y su investigación no está lo suficientemente avanzada para extraer conclusiones relevantes.

5. RESULTADOS

Tras el análisis de los artículos, se han estructurado los resultados de los efectos de los anticonceptivos masculinos a tres niveles: efectos sobre la espermatogénesis propiamente dicha, sobre la motilidad espermática y sobre su transporte. De forma sucinta y ante el bajo número de publicaciones existentes, analizamos los resultados de los anticonceptivos que afectan al último paso de la unión del espermatozoide con el óvulo, la fecundación propiamente dicha.

5.1 ANTICONCEPTIVOS QUE INTERRUMPEN LA ESPERMATOGÉNESIS

5.1.1 ANÁLOGOS DE LA LONIDAMINA

Durante la espermatogénesis, las células germinales y sus orgánulos se transportan a través del epitelio seminífero con el fin de que todas las espermátidas totalmente desarrolladas se alineen cerca de la luz del túbulo para completar su maduración en el proceso de espermiación y, finalmente, puedan liberarse. Este transporte se lleva a cabo gracias a los microtúbulos y a los filamentos de actina dispuestos en el epitelio seminífero (Mao *et al.*, 2019).

La lonidamina es un antiespermatogénico eficaz ya que induce la exfoliación de las células germinales del epitelio seminífero y también provoca la vacuolización del retículo endoplasmático de las células de Sertoli. A pesar de que bloquea la producción de los espermatozoides de manera eficaz, las investigaciones se centran en sintetizar un análogo de la lonidamina para mejorar el tratamiento ya que este compuesto tiene dos inconvenientes, por un lado que el margen entre la dosis de eficacia y de toxicidad es muy estrecho y por otro lado los efectos adversos que produce como el dolor muscular y testicular, vómitos y alteración de los niveles de enzimas hepáticas que puede provocar daños en el hígado (Mok *et al.*, 2011).

5.1.1.1 ADJUDINA

Adjudina actúa en la ES apical que es una ultraestructura de adhesión basada en filamentos de actina intercalados entre el retículo plasmático y las membranas plasmáticas de las células de Sertoli y la espermátida en proceso de elongación (unión

célula-célula). Esta adhesión se basa en una unión de anclaje híbrido ya que reúne las características fisicoquímicas de la unión adherente, la unión estrecha, la unión del desmosoma y la unión GAP. Esta zona se encarga de anclar a las espermatídas en desarrollo a las células de Sertoli durante la maduración de los espermatozoides, sustituyendo así a los desmosomas y a las uniones comunicantes debido a que proporciona una unión mucho más resistente y fuerte. Adjudina tiene la capacidad de interrumpir la unión que otorga la ES apical, lo que implica que las espermatídas ya desarrolladas lleven a cabo el proceso de espermiación antes de haber madurado completamente y entonces se produce una pérdida de células germinales en el epitelio seminífero que se traduce en una infertilidad debido a la pérdida de espermatozoides maduros funcionales en el semen (Figura 9) (Mok *et al.*, 2011).

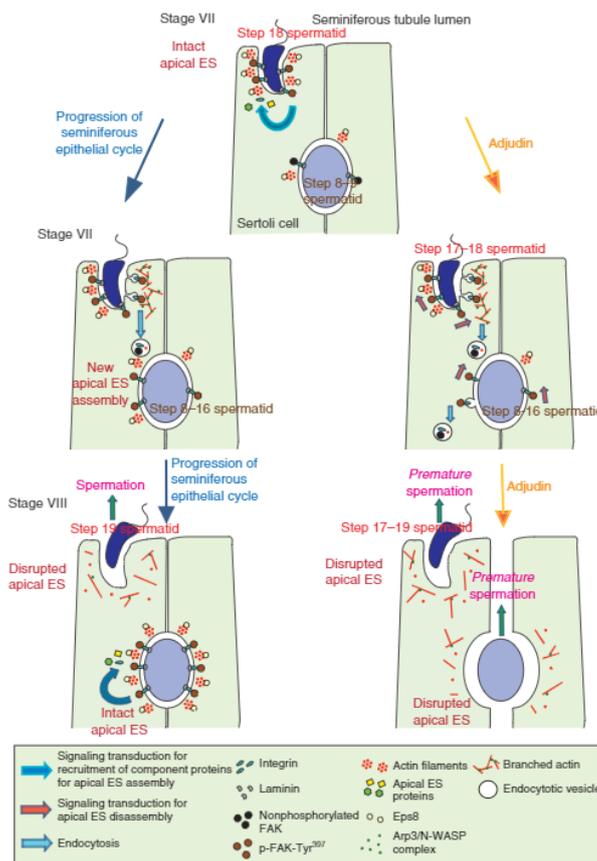


Figura 9: Comparación entre el ciclo fisiológico del epitelio seminífero y el cambio producido con la presencia de Adjudina, las espermatídas salen a la luz del túbulo seminífero antes de tiempo, al no encontrarse totalmente maduras, se pierden (Mok *et al.*, 2011).

Adjudina también induce la expresión de varias proteínas integrales de membrana en la SE apical, como la integrina $\beta 1$ y la N-cadherina con el fin de alterar la adhesión

celular en el epitelio seminífero. Una de las vías de señalización más modificadas por el compuesto es la constituyente por integrina/FAK/PI-3 quinasa/p130Cas/MAP quinasa que es encargada de regular a la ES apical. Con esta vía alterada, se da explicación a la pérdida de unión entre las espermátidas en proceso de elongación y las células de Sertoli. Además, dado que la integrina $\beta 1$ está presente en todos los epitelios y endotelios del organismo, se realizaron estudios para comprobar la aparición de fallos sistémicos debido al efecto de Adjudina. Sin embargo, se demostró que la integrina $\beta 1$ está restringida a adhesiones entre célula-matriz en todos los tejidos del organismo, excepto en el caso de la ES apical, donde la integrina $\beta 1$ forma parte de una unión de anclaje basada en actina célula-célula.

Por otro lado, Adjudina interviene al nivel de dos proteínas reguladoras de actina, EPS8 y ARP3. Ambas restringidas a la ES apical y encargadas de inducir cambios morfológicos reestructurando a dicha zona para el correcto desarrollo de las espermátidas en la espermiogénesis. Por su parte, EPS8 mantiene la integridad de la ES apical para estabilizar la organización de filamentos de actina en el epitelio seminífero durante el ciclo epitelial fisiológico de la espermatogénesis. Por tanto, en presencia de Adjudina, se produce una desorganización de la actina y por ello una inducción a la espermiación en espermátidas que aún están en el proceso de elongación, es decir, son inmaduras. Por otro lado, ARP3 junto con otras moléculas regulan las ramificaciones de actina. De manera fisiológica, cuando las espermátidas tienen un buen desarrollo y entran en la fase de espermiación, se promueve la ramificación de actina para desestabilizar la unión proporcionada por la ES apical. Sin embargo, ante Adjudina se interrumpe la ramificación de actina y se produce así una espermiación prematura en todas las espermátidas en proceso de elongación.

Por último, se demostró que después de 5 semanas con una dosis de 50 mg/kg de p.v. por semana las ratas se volvían infértiles ya que microtúbulos, filamentos de actina y la ES apical se vieron afectados e interrumpidos. Alrededor de 3 meses después de suprimir el tratamiento, la espermatogénesis se recuperó al 100%, volviéndose a organizar todo el citoesqueleto. El tratamiento no alteraba ni interrumpía al eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Mok *et al.*, 2011), sin embargo, existían dudas acerca de su uso ya que si se alarga en el tiempo se genera una toxicidad subcrónica en las ratas. En el caso de rebajar la dosis de 50 mg a 10 mg/kg p.v. se ve que no se altera notablemente la

espermatogénesis por lo que no es una solución (Mao *et al.*, 2019). Otro inconveniente de Adjudina es que su margen entre la eficacia y la toxicidad es muy estrecho y algunas ratas macho desarrollaron inflamación hepática y atrofia muscular a largo plazo (Mok *et al.*, 2011).

Una alternativa para aumentar la eficacia de Adjudina y a su vez rebajar la toxicidad es combinarlo con dos modificadores de la barrera hematotesticular, la rpS6 y el péptido F5. Por un lado, rpS6 es una proteína de señalización aguas debajo de mTORC1, la cual participa en la permeabilidad de la barrera hematotesticular. F5 por su parte se encarga de potenciar la liberación de espermátidas en la espermiación y también de inducir la permeabilidad de la barrera hematotesticular. Haciendo la membrana más permeable se logra potenciar la dosis efectiva de Adjudina y con ello se ven notables cambios (Figura 10) como el adelgazamiento del epitelio seminífero debido a la pérdida de células germinales y a la formación de espermátidas multinucleadas no viables (Mao *et al.*, 2019).

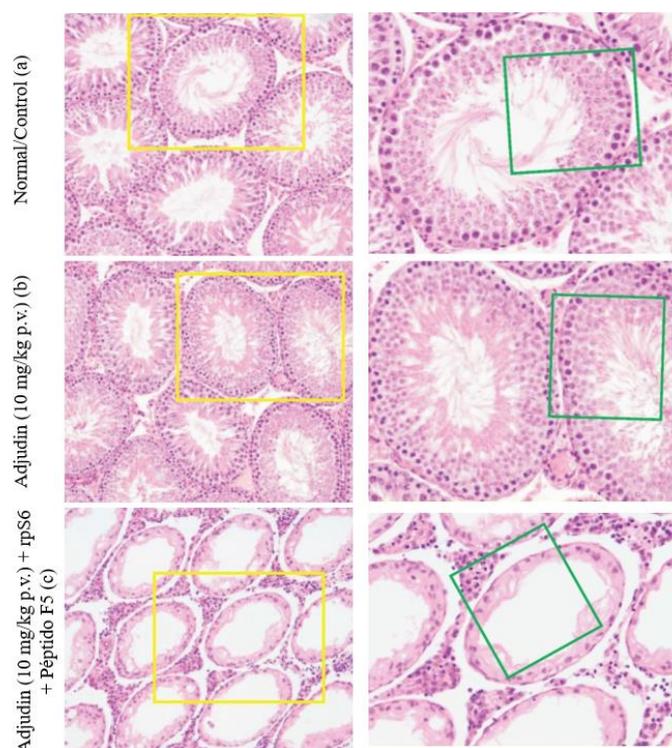


Figura 10: Comparación del túbulo seminífero normal (a), tratado con Adjudina en dosis bajas (b) y sumándose a Adjudina el péptido F5 y rpS6 (c), en los 3 casos los testículos de la rata están completamente sanos. En la imagen b no se detectan cambios importantes con respecto a la imagen a debido a que la dosis de Adjudina es baja. Sin embargo, en la imagen c, a pesar de que la dosis de Adjudina es igual de baja, se observa un notable adelgazamiento del epitelio seminífero y una reducción del diámetro de los túbulos debido a la exfoliación de las células germinales. Por tanto, combinándose con rpS6 y el Péptido F5, Adjudina aumenta su eficacia incluso en dosis bajas. Imagen modificada de (Mao *et al.*, 2019).

Además de alterar la permeabilidad, estos dos modificadores de la barrera hematotesticular también tienen influencia en el citoesqueleto. En presencia de Adjudina en dosis bajas, rpS6 y el Péptido F5 se observó una desorganización total de los microtúbulos y una expresión muy disminuida de la proteína CAMSAP2, fundamental en el funcionamiento del citoesqueleto ya que se une al extremo de crecimiento de los microtúbulos estabilizándolos y determinando su longitud. También desregulan a otra proteína, MARK4, que se expresa en las células de Sertoli y en las germinales y es la encargada de fosforilar a proteínas asociadas a los microtúbulos para inducir la estabilidad del citoesqueleto. Cuando esta quinasa es alterada por el tratamiento, se produce un desprendimiento de las proteínas asociadas a los microtúbulos y por consiguiente una desorganización total (Mao *et al.*, 2019).

5.1.1.2 GAMENDAZOL

Otro de los análogos de lonidamina fue Gamendazol que, al igual que Adjudina, induce la pérdida de células germinales en el túbulo seminífero. En este caso, el compuesto inhibe de manera selectiva funciones de eEF1A1 como la síntesis de proteínas durante la transcripción y la regulación de actina. Por lo tanto, su inhibición conduce a la desorganización de filamentos de actina alterando así la ES apical.

Por otro lado, Gamendazol reduce temporalmente las funciones de la proteína de choque térmico HSP90 y esto conduce a la degradación de la proteína AKT1 que participa en el mantenimiento de la adhesión entre las células de Sertoli y las espermatidas. Por ello, en presencia del compuesto se produce una desestabilización de la adhesión de las células germinales y por ende su pérdida.

En ratas, una única dosis de Gamendazol de 3 mg/kg de p.v. indujo una infertilidad del 67% y si se dobla la dosis, se alcanzaría una infertilidad del 100%. Un mes después, todas las ratas tratadas con la dosis más baja recuperaron la fertilidad, sin embargo, en el caso de la dosis duplicada solo se alcanzó el 57%. Además, no se observaron efectos secundarios notables ni hubo pérdida de peso y tampoco se vio interrumpido el eje hipotálamo-hipófisis-gónada en dosis bajas, sin embargo, en dosis de 200 mg/kg p.v. aumentaba la probabilidad de aparición de tumores, necrosis, inflamación, hemorragias y

mortalidad. La gran diferencia con respecto a Adjudina es que Gamendazol es más tóxico debido a la presencia del grupo trifluoro en el anillo indazol (Mok *et al.*, 2011).

5.1.1.3 CDB-4022

CDB-4022 es una indenopiridina cuyo lugar de acción es la unión adherente entre las células de Sertoli y las células germinales donde se produce una alteración en el complejo de adhesión nectina-3/afadina, fundamental en el correcto funcionamiento de la ES apical (Mok *et al.*, 2011). Debido a ello se produjo el desprendimiento de la mayoría de células germinales del epitelio seminífero (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

Una dosis CDB-4022 de 2,5 mg/kg p.v. indujo en un 100% la infertilidad en ratas y siete dosis diarias de 12,5 mg/ p.v. también alcanzó una infertilidad completa en monos. En el caso de las ratas no pudieron recuperar la fertilidad, sin embargo, los monos después de 16 semanas sí (Mok *et al.*, 2011). Sin embargo, en ratas adultas se informó de una serie de efectos secundarios graves como una vacuolización exagerada, hinchazón mitocondrial, rotura celular y posterior pérdida del citoplasma (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

Posteriormente, se estudió el enantiómero de CDB-4022 que también producía infertilidad en roedores y monos. En este caso, se producía una caída de los niveles de testosterona sérica en ratas adultas, lo cual afectaba directamente a la función de las células de Leydig y de manera indirecta a las células de Sertoli. Por otro lado, este enantiómero activa la vía ERK-MAPK que reduce la expresión de algunos factores necesarios para la unión adherente entre las células germinales y las células de Sertoli. Aún no se sabe con seguridad si el enantiómero es seguro, el nivel de toxicidad y si es o no reversible (Arifuzzaman *et al.*, 2019).

5.1.2 BIOSÍNTESIS Y RECEPTORES DEL ÁCIDO RETINOICO

La señalización retinoide es fundamental en varios puntos de la espermatogénesis como la diferenciación de espermatogonias, la meiosis de los espermatoцитos y el proceso de espermiación.

El metabolismo de la vitamina A dietética comprende la conversión de retinol en retinal y finalmente en ATRA y, si fallase algún enzima asociado, el proceso se interrumpiría no llegando al metabolito de interés y, por tanto, se detendría la producción

de gametos. El hecho de que se detenga la espermatogénesis es debido a que ATRA, metabolito del metabolismo del retinol, desempeña un papel fundamental en el inicio de la elongación de las espermátidas y la espermiación (Noman *et al.*, 2020).

5.1.2.1 WIN18446

La interrupción del metabolismo del retinol y por ende de la espermatogénesis se demostró en 1960 mediante la administración de un inhibidor de la síntesis de ácido retinoico, WIN18446 (Arifuzzaman *et al.*, 2019), en 60 hombres durante 1 año. En todos los varones se produjo una oligospermia severa, es decir, se suprimió la producción de espermatozoides ya que los testículos son altamente sensibles a la interrupción del metabolismo del retinol (Noman *et al.*, 2020). El mecanismo de acción de WIN18446 que conlleva a la interrupción de la espermatogénesis consiste en la inhibición de la ALDH1A2, un enzima involucrada en la biosíntesis del ácido retinoico testicular. Por ello, en el caso de que se bloquee esta enzima de manera continuada, se produciría una azoospermia masculina reversible (Arifuzzaman *et al.*, 2019). El enzima ALDH1A2, al igual que ALDH1A1, también participan en el metabolismo del alcohol y por tanto, las personas que se habían sometido al tratamiento desarrollaban los efectos secundarios como vómitos, náuseas o sudoración cuando ingerían alcohol, ya que no eran capaces de digerirlo (Noman *et al.*, 2020).

Actualmente se han identificado y están en proceso de investigación dos moléculas pequeñas y reversibles que no intervienen en el metabolismo del alcohol pero que sí interrumpen el del retinol (Noman *et al.*, 2020).

Además, se observa la gran importancia de RARA en la espermatogénesis ya que mutaciones en el gen que codifica para esta proteína, *Rara*, provocan que los ratones macho tengan problemas de fertilidad, mientras que las hembras no se ven afectadas. La acción de RARA consiste en la regulación del complejo sinaptonemal de proteínas que se forman durante la meiosis entre los cromosomas homólogos y por ello este proceso se retrasa. En el caso de los machos, los túbulos seminíferos se ven severamente alterados alrededor de los 4 meses, se encuentran muy pocas células germinales y los epidídimos contienen muy pocas espermátidas en buen estado, de hecho muchas de ellas entran en estado de apoptosis, y en consecuencia se desarrollan fallos en la espermiación (Noman *et al.*, 2020).

5.1.2.2 BMS-189453

Para inhibir la espermatogénesis se optó por un antagonista RAR que se une a los tres receptores (RARA, RARB y RARG) denominado BMS-189453 que, administrado por vía oral, interrumpe la espermatogénesis mediante el fallo en la alineación de las espermatidas, errores en la liberación de espermatozoides, pérdidas de células germinales en la luz y anomalías semejantes a las que presentaban los ratones mutantes *Rara* $-/-$. Las dosis administradas fueron 5 mg/kg p.v. durante 7 días, notándose todos los efectos deseados pero, si aumentamos la dosis a 2,5 mg/kg p.v. durante 16 días, el efecto de esterilidad se prolonga más en el tiempo. Además, en cualquier caso, con BMS-189453 este efecto es completamente reversible y no se encuentran cambios en los niveles de testosterona por lo que la sexualidad no se ve afectada y tampoco se detectan notables efectos secundarios (Noman *et al.*, 2020)..

5.1.2.3 BMS-189532 Y BMS-189614

Después del descubrimiento de BMS-189453 entraron en estudio otros dos antagonistas selectivos de RAR, BMS-189532 y BMS-189614 con la intención de suprimir los efectos sobre las funciones de RARB y RARG. Aunque *in vitro* ambas moléculas eran potentes, *in vivo* perdían su capacidad ya que la espermatogénesis se mantenía de manera fisiológica y el peso de los testículos no variaba cuando el tratamiento era por vía oral. Estas diferencias se explican por la alta unión de los antagonistas a proteínas plasmáticas y por la baja permeabilidad por lo que el efecto en ratones mejoró cuando la administración del fármaco era por vía intravenosa (Noman *et al.*, 2020)..

5.1.3 TABLA RESUMEN DE LOS ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS ESTUDIADOS QUE INTERRUMPEN LA ESPERMATOGÉNESIS

Tabla 1: Tabla resumen donde se comparan las características de los anticonceptivos que interrumpen la espermatogénesis

	Adjudin	Gamendazol	CDB-4022	WIN18446	BMS-189453
Actúa a nivel	ES apical	ES apical	ES apical	Inhibidor de síntesis de ácido retinoico	Receptores del ácido retinoico (RARA, RARB, RARG)
Cómo actúa	-Interrumpe la unión ES apical-Sertoli -Altera proteínas asociadas a la ES apical (integrina β 1, EPS8 y ARP3)	-Inhibe selectivamente funciones de eEF1A1 (síntesis proteínas, regulación actina) -Reduce función HSP90 provoca degradación AKT1	-Alteración del complejo de adhesión nectina-3/afadina	-Bloqueo del metabolismo del retinol mediante inhibición de ALDH1A2	-Errores de alineación de espermátidas -Fallo en liberación de spz -Pérdida células germinales
Consecuencia	-Induce espermiación prematura de espermátidas inmaduras -Desorganización de actina	-Desorganización de actina alterando a ES apical -Desestabilización de unión de células germinales	-Desprendimiento de la mayoría de células germinales del epitelio seminífero	Defectos en diferenciación de espermatogonias, en la meiosis de espermátocitos y en la espermiación	Detención de espermatogénesis
Resultado	Pérdida spz maduros funcionales en el semen	Pérdida de spz maduros funcionales en el semen	Pérdida de spz maduros funcionales en el semen	Oligozoospermia severa	Infertilidad
Dosis	100% infertilidad en 5 semanas (50mg/ kg p.v. rata)	67% infertilidad 1 dosis 3mg/kg p.v. rata 100% infertilidad 1 dosis 6mg/kg p.v. rata	100% infertilidad 1 dosis 2.5mg/kg p.v. rata 100% infertilidad 7 dosis 12.5mg/ kg p.v. mono	Tratamiento de 1 año	Infertilidad 5mg/ kg p.v. 7 días Infertilidad + prolongada 2.5mg/kg p.v. 16 días
Reversibilidad	100% tras 3 meses de suspender el tratamiento	100% dosis 3mg/p.v. 57% dosis 6mg/p.v.	No reversible en ratas 100% tras 16 semanas en monos	100% reversible	100% reversible
Interrupción eje hormonal	NO	NO	NO	NO	NO
Efectos secundarios	A corto plazo ninguno	No hubo ni efectos secundarios ni pérdida de peso	Graves en rata: Rotura celular, vacuolización exagerada, hinchazón mitocondrial	Vómitos, náuseas y sudoración con bebida alcohólica	No presenta efectos secundarios notables
Efectos a largo plazo	Toxicidad subcrónica (inflamación hepática y atrofia muscular)	En dosis altas prolongadas en el tiempo: tumores, inflamación, hemorragia	A corto plazo son ya graves	Efectos en el metabolismo del alcohol cuando se ingiere	No se han visto efectos secundarios a largo plazo
Alternativa mejorada	Combinarlo con 2 modificadores de BTB: rps6 y péptido F5	-	Enantiómero de CDB-4022	Moléculas reversibles que intervengan en el metabolismo del retinol pero no en el del alcohol	2 antagonistas selectivos de RAR para suprimir efectos sobre RARB y RARG
Resultado de alternativa	Hacer a BTB más permeable y desorganizar más los microtúbulos	-	Caída [testosterona sérica] alteraba cél Leydig y activa vía ERK-MAPK	Conseguir el mismo resultado pero sin afectar al metabolismo alcohólico	La alternativa funcionaba <i>in vitro</i> pero <i>in vivo</i> no

5.2 ANTICONCEPTIVOS QUE INTERVIENEN EN LA MOTILIDAD

5.2.1 CALCINEURINA

El enzima calcineurina o serina-treonina proteína fosfatasa 2B es una fosfatasa dependiente de calcio que está constituida por una subunidad catalítica y una reguladora y tiene la función de regular el estado de fosforilación de proteínas fosfatasa implicadas en numerosos procesos celulares (Kang *et al.*, 2021), siendo esencial un alto nivel de calcio para que sea funcional (Dey *et al.*, 2020). En los mamíferos se han identificado 3 isoformas de la subunidad catalítica de la calcineurina denominadas PPP3CA, PPP3CB y PPP3CC y 2 isoformas de la subunidad reguladora, PPP3R1 y PPP3R2. De ellas, PPP3CC y PPP3R2 son las que se expresan en los testículos y en los espermatozoides (Kang *et al.*, 2021) y las localizadas en las mitocondrias tienen como función principal la de regular mediante desfosforilación la flexibilidad de la pieza intermedia del espermatozoide (Miyata *et al.*, 2021).

En el caso de humanos, la astenozoospermia es una causa común de infertilidad masculina y consiste en una mala calidad seminal, una motilidad progresiva de menos del 32%. Al comparar los espermatozoides de un eyaculado normal con el de un hombre con problemas de astenozoospermia, la PPP3CC es significativamente menor en el semen de peor calidad, lo que indica que esta isoforma de la calcineurina está relacionada con la astenozoospermia cuando su nivel es más bajo de lo normal. Sin embargo, PPP3R2 no está relacionada. Por otro lado, ratones mutantes que no tienen una de las dos isoformas son infértiles y los espermatozoides no se mueven adecuadamente debido a que la pieza intermedia pierde la flexibilidad (Kang *et al.*, 2021).

5.2.1.1 FK506

Inhibidores de la calcineurina, como CsA o FK506 provocan fallos en la motilidad de los espermatozoides de ratones y humanos (Kang *et al.*, 2021) y, particularmente FK506 tiene la capacidad de impedir que el espermatozoide penetre en la zona pelúcida del óvulo durante la fertilización (Dey *et al.*, 2020). Cuando se administra uno de estos dos inhibidores en ratas o ratones por inyección subcutánea, la motilidad se ve afectada durante 2 semanas pero la espermatogénesis no porque el tiempo de exposición al fármaco

es menor que el periodo de maduración de los espermatozoides. El tratamiento es reversible, al cabo de 1 a 2 semanas la motilidad se recupera completamente (Kang *et al.*, 2021). El inconveniente del tratamiento es que aunque PPP3CC y PPP3R2 se expresen en mayor medida en los testículos, también se expresan en otros tejidos del organismo (Arifuzzaman *et al.*, 2019), y además, existe mucha similitud entre las secuencias de la calcineurina espermática y somática, habiendo hasta un 85% de identidad de aminoácidos entre PPP3R1 y PPP3R2 y un 82% entre PPP3CA y PPP3CC. Ante esta inespecificidad es difícil desarrollar moléculas que inhiban específicamente solo a PPP3CC y PPP3R2 (Miyata *et al.*, 2021).

5.2.1.2 GSK3

Por otro lado, GSK3 es un sustrato de la calcineurina y tiene funciones clave en la maduración y motilidad de los espermatozoides, tanto en el epidídimo como ya dentro del aparato reproductor femenino. La correcta relación entre GSK3 y calcineurina es muy importante para los espermatozoides en los mecanismos subyacentes a la maduración en el epidídimo, la capacitación y la hiperactivación durante la fertilización. En el caso de que esta concordancia falle, el espermatozoide no va a poder fertilizar al óvulo ya que el espermatozoide no podría llevar a cabo los procesos antes mencionados adecuadamente (Dey *et al.*, 2020).

En ratones mutantes de calcineurina, los niveles de GSK3 son más altos que en ratones normales y esto es debido al aumento de la fosforilación por la falta de calcineurina. Además, cuando se administra el inhibidor FK506, el nivel de fosforilación de GSK3 disminuye y el nivel de calcineurina aumenta, produciéndose una desregulación que conlleva a deterioros en la maduración y motilidad del espermatozoide (Dey *et al.*, 2020).

5.2.1.3 SPATA33

Otra proteína que interactúa con la calcineurina específica de espermatozoides es SPATA33 a través de PxIXIT, una secuencia conservada que se encuentra en las proteínas de unión a la calcineurina. Ratones mutantes de esta proteína presentan reducida motilidad debido a la rigidez de la pieza intermedia y, además, desaparece la calcineurina de las mitocondrias del testículo y es por ello por lo que se demuestra la relación entre

PPP3CC y PPP3R2 y las mitocondrias mediante SPATA33. Una proteína localizada en las mitocondrias que sirve de sustrato para la calcineurina es la VDAC2 ya que se han encontrado sitios de fosforilación. Estos mecanismos regulan la interacción mitocondrial y, si se llega a romper la relación entre las mitocondrias y la fibra densa externa, se produce una rigidez de la pieza intermedia que provoca una motilidad reducida del espermatozoide, lo que llevaría a una infertilidad masculina y es por ello por lo que es otra opción de investigación en anticoncepción masculina (Miyata et al., 2021).

5.2.2 CANAL IÓNICO

5.2.2.1 *Na/K ATPasa Y ANÁLOGOS DE LA OUABAÍNA*

La Na/K ATPasa consiste en un sistema transportador activo de Na^+ y K^+ de la membrana plasmática celular y tiene como función utilizar la energía de la hidrólisis de ATP para intercambiar Na^+ intracelular por K^+ extracelular y así, entre otras funciones, mantener estable el potencial de membrana y pH celular.

Está formado por dos subunidades, α y β . Por un lado, la subunidad α es una proteína transmembrana que contiene los sitios de unión para ATP, Na^+ , K^+ y el inhibidor cardiotónico ouabaína. Por otro, la subunidad β es otra proteína transmembrana más pequeña fundamental en el plegamiento, la estabilidad y el direccionamiento de la subunidad α en la membrana plasmática. En mamíferos se han identificado varios genes que codifican para diferentes péptidos α y β , siendo $\alpha 4$ la específica de las células germinales masculinas del testículo y expresándose en el flagelo de los espermatozoides a partir de la etapa posmeiótica. Se diferencia de las demás isoformas por tener una afinidad mayor por el Na^+ y por la ouabaína y menor por el K^+ y, además, es menos sensible al voltaje.

La sensibilidad elevada por la ouabaína se ha convertido en una herramienta para inhibir selectivamente al transportador, obteniendo como resultado defectos en la motilidad progresiva, en las velocidades de trayectoria en línea recta, curvilínea y promedio, en el desplazamiento lateral de la cabeza, en la frecuencia de cruce de latidos y en la linealidad tanto en espermatozoides de ratones como en humanos. Posteriormente, se demostró que pacientes diagnosticados de astenozoospermia grave tenían un nivel endógeno de ouabaína más elevado que hombres fértiles sanos.

Además, ratones macho mutantes del transportador presentan testículos normales y producen un número normal de espermatozoides, sin embargo, son infértiles debido a defectos en morfología, motilidad e hiperactivación. Por el contrario, ratones hembra mutantes son completamente fértiles, lo que confirma la importancia y especificidad del transportador en la fertilidad masculina.

Sin embargo, no se puede utilizar la ouabaína para inhibir al transportador debido a su alto efecto tóxico en el corazón y por ello se debe recurrir a análogos de la molécula para desarrollar anticonceptivos masculinos seguros. Dichos análogos se encuentran aún en estudio, sin embargo, se ha demostrado que el azúcar que posee la ouabaína no es relevante en la unión con el transportador y que una posición determinada de la molécula, concretamente la posición C17, es la que aporta una alta selectividad.

Por ello, se ha logrado sintetizar algún análogo de la molécula, destacando el (1R,3 S,5 S,8 R,9 S,10 R,11 R,13 R,14 S,17 S)-17-(1-Bencil-1H-1,2,3-triazol-4-il)-10-(hidroximetil)-13-metiltetradecahidro-5H-ciclopenta[a]fenantreno-1,3,5,11,14(2H)-pentaol. Este cardenólido, además de disminuir la capacidad del espermatozoide para nadar y llegar al óvulo, produce la reducción de la motilidad hiperactivada en un 70%, lo cual impide que el espermatozoide penetre en la zona pelúcida del óvulo, tanto *in vitro* como *in vivo*. Estas funciones las desempeña gracias a que tiene la capacidad de despolarizar el potencial de la membrana espermática, causa acidificación del citoplasma de los espermatozoides y se incrementa el Ca^{2+} y Na^+ intracelular, lo que provoca una disminución del gradiente de Na^+ a través de la membrana plasmática y por tanto una pérdida de la fuerza impulsora de H y Ca^{2+} . Todo ello es esencial para la motilidad y capacitación de los espermatozoides y, al descontrolarse, la motilidad se reduce drásticamente. Por otro lado, la reversibilidad del análogo de la ouabaína es completa pero lenta y es debido a la baja tasa de disociación del enzima, lo cual es una ventaja ya que en la anticoncepción masculina se busca un compuesto con efecto prolongado. Además, el compuesto no ha producido ningún efecto tóxico en ratas por lo que se debe continuar estudiando ya que podría tener un uso seguro en humanos (Syeda *et al.*, 2018).

5.2.2.2 CANAL IÓNICO *CatSper* Y HC-056456

Cuando ingresan en el tracto genital femenino, los espermatozoides se vuelven móviles siguiendo una dirección constante. Hasta ese momento, la dineína del flagelo

independiente de Ca^{2+} y el ATP mantienen de manera adecuada la motilidad de la cola, produciendo un movimiento de amplitud simétrica, rápida y sinusoidal, sin embargo, en cuanto el pH se torna alcalino en la zona superior del tracto reproductivo femenino, como la mucosa cervical, el espermatozoide se hiperactiva gracias a la activación de CatSper y la posterior entrada de Ca^{2+} , desarrollando un movimiento con amplitud asimétrica, lento y en forma de látigo ya que la entrada del elemento ayuda al aumento de la flexión flagelar (Qi et al., 2007). Dicha entrada de Ca^{2+} , además de producirse por el cambio de pH, es también inducida por cAMP y, además, las oscilaciones constantes del elemento químico dependen de la concentración de progesterona ya que está implicada en la activación del propio canal (Cavarocchi et al., 2022).

Los genes relacionados con el canal son CatSper1, CatSper2, CatSper3 y CatSper4, siendo que de los dos primeros son los más estudiados. Estos 4 genes son fundamentales en la motilidad del espermatozoide ya que un ratón mutante para cualquiera de los genes es infértil y sus espermatozoides pierden la capacidad de hiperactivación y, por tanto, su motilidad progresiva (Qi et al., 2007).

Además, gracias a la motilidad hiperactivada, los espermatozoides tienen la capacidad de desprenderse del epitelio del oviducto para que progresen hacia el ovocito. Por ello, los espermatozoides de ratones mutantes para cualquiera de los 4 genes del canal no se desprenden del epitelio y se eliminan gradualmente del oviducto, desarrollando en el animal una astenozoospermia (Cavarocchi et al., 2022).

Si inhibimos el canal CatSper mediante una molécula denominada HC-056456, la motilidad total y progresiva disminuye, demostrando una vez más la importancia del canal iónico en la motilidad espermática (Lissabet et al., 2020).

Este canal forma un heterotetrámero con un sitio de unión central al que tiene alta afinidad el inhibidor HC-056456 y, al unirse de manera 100% reversible, se dificulta la influencia de los cationes Ca^{2+} necesarios para la motilidad espermática (Lissabet et al., 2020).

5.2.2.3 *EPPIN*

Una opción para llegar a un anticonceptivo eficaz es la inmunización del hombre mediante proteínas específicas de la superficie del espermatozoide. Uno de los candidatos

asociados a este proceso es *EPPIN* (Michael et al., 2016), un gen dependiente de andrógenos que se expresa ampliamente en los testículos y epidídimo, aunque también se extiende por el conducto deferente, la vesícula seminal y la glándula suprarrenal (Sánchez et al., 2020). Su proteína, EPPIN, está formada por dos dominios inhibidores de proteasas, uno de ellos es el WFDC situado en la región N-terminal y el otro, Kunitz, en la región C-terminal (Silva *et al.*, 2021).

EPPIN es específica del aparato reproductor masculino, se encuentra en la superficie de los espermatozoides maduros (Michael et al., 2016), concretamente en la cabeza y en el flagelo. Además, en el caso de ratas y ratones se mostró que la localización de EPPIN en los espermatozoides de estas especies varía según su maduración en el epidídimo, aunque existen algunas zonas donde la proteína siempre está presente, independientemente del estado de maduración (Silva *et al.*, 2021).

La proteína tiene dos funciones muy importantes. La primera es proteger a los espermatozoides de ataques bacterianos y proteolíticos por parte del PSA durante el tránsito en el aparato reproductor femenino. La segunda se trata de que, al unirse a SEMG1 en la superficie del espermatozoide, se produce una disminución repentina del pH interno y una caída de los niveles de calcio para inhibir la motilidad y así prevenir la hiperactivación y capacitación antes de tiempo (Michael et al., 2016). Por otro lado, en el caso de ratones, EPPIN es un sitio de acoplamiento para SVS2, un ortólogo de SEMG1, lo que indica que la función de la proteína se conserva entre ratones y humanos ya que tienen una similitud estructural del 80% (Silva *et al.*, 2021).

Ambos dominios intervienen en la unión de la proteína con EP055, un ligando de SEMG1 de bajo peso molecular que desencadena el bloqueo de la motilidad y capacitación del espermatozoide de primates y humanos después de la eyaculación. Además, en el caso de humanos, el dominio Kunitz es el responsable de la unión de EPPIN con SEMG1 y de la adecuada motilidad del esperma humano. Por su parte, la región N-terminal aún no se sabe con certeza si está o no involucrada en estos eventos (Silva *et al.*, 2021).

Por otro lado, en ratones se sintetizaron anticuerpos específicos para ambos dominios, Q20E específico para la región N-terminal y S21C y F21C específico para el dominio Kunitz. Aunque uno de los anticuerpos del dominio C-terminal, concretamente

el F21C, no produce cambios, S21C desencadena graves daños en la motilidad progresiva e hiperactivada del ratón mediante la acidificación del medio intracelular y la posterior disminución de los niveles de Ca^{2+} intracelulares. En cuanto a la progresión, el espermatozoide tiene defectos en la velocidad en línea recta, en la velocidad de trayectoria promedio y en la rectitud y respecto a la motilidad hiperactivada, presenta anomalías en la velocidad curvilínea, en la amplitud del movimiento lateral de la cabeza y en la linealidad. Q20E presenta efectos indirectos ya que interrumpe la estabilidad y el plegamiento del dominio Kunitz, afectando indirectamente a la motilidad del espermatozoide (Silva *et al.*, 2021).

Por tanto, ambos anticuerpos combinados provocan el bloqueo de los dominios Kunitz y WFDC de EPPIN desarrollando así daños en la motilidad espermática y por tanto provocando una reducción de la fertilidad de manera reversible, siendo entonces un gran candidato para la futura anticoncepción masculina (Silva *et al.*, 2021).

Sin embargo, debido a los efectos adversos que genera, se han desarrollado varios análogos orgánicos anti-EPPIN para reducir la toxicidad pero manteniendo la función de unirse al espermatozoide e inhibir su motilidad. Se sintetizaron los compuestos B4, B41, B42 y B4_R1, siendo este último el que mejores resultados aporta. Sin embargo, francamente aún no se sabe nada con claridad (Michael *et al.*, 2016).

5.2.3 TABLA RESUMEN DE LOS ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS ESTUDIADOS QUE INTERVIENEN EN LA MOTILIDAD

Tabla 2: Tabla resumen donde se comparan las características de los anticonceptivos que intervienen en la motilidad

	FK506	GSK3	SPATA33	Ouabaina	HC-056456	Anticuerpos anti-EPPIN
Actúa a nivel	Subunidad catalítica de la calcineurina PPP3CC y PPP3R2	Calcineurina. Epidídimo y aparato reproductor femenino	Subunidad catalítica de la calcineurina PPP3CC y PPP3R2 a través de PxlXIT	Transportador Na/K ATPasa	Canal iónico CatSper	Cabeza y flagelo del spz
Cómo actúa	-Provoca fallos en la motilidad del spz -Impide que el spz penetre en la zona pelúcida	-Desregulación y discordancia con la calcineurina	Descontrolar relación entre las mitocondrias y la fibra densa externa	-Alta sensibilidad a la ouabaina – inhibe al transportador Na/K ATPasa	-Se une al centro del heterotetrámero dificultando la influencia de Ca ²⁺	-S21C (anticuerpo para Kunitz): Acidificación y disminución de Ca ²⁺ intracelular -Q20E (anticuerpo para WFDC): interrumpe estabilidad y plegamiento de Kunitz
Consecuencia	-El spz no llega a encontrarse con el ovocito -Si llega no tiene la capacidad de penetrarlo	Fallos en la motilidad, capacitación e hiperactivación	-Rigidez de la pieza intermedia del spz -Desaparece la calcineurina en las mitocondrias	-Defectos en la motilidad progresiva, velocidad de trayectoria en línea recta y curvilínea, movimientos de la cabeza	-Suprime la motilidad espermática y la hiperactivación -No se desprenden del epitelio del oviducto y se eliminan gradualmente sin poder llegar al óvulo	Daños en motilidad progresiva e hiperactivada
Resultado	No hay fertilización, por tanto hay infertilidad	No hay fertilización, por tanto hay infertilidad	Motilidad reducida que conlleva a infertilidad	Testículos normales con N° de spz normal pero infertilidad debido a defectos en morfología, motilidad e hiperactivación	Se produce infertilidad	Reducción de fertilidad
Dosis	1 Inyección subcutánea – Efecto 2 semanas	No se ha llevado a cabo	No se ha llevado a cabo	5, 10, 20 mg/kg p.v. rata 3 días menos eficaz 5 mg/kg p.v. rata 3, 6, 9, 12 días más eficaz	Cultivo de spz con 15µM – 20µM de HC-056456	Muy pequeñas
Reversibilidad	100% tras 1-2 semanas	No se ha estudiado	No se ha estudiado	100% y prolongada en el tiempo (lenta)	100% reversible	100% reversible
Interrupción eje hormonal	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Efectos secundarios	PPP3CC y PPP3R2 se expresan por todo el organismo – efecto sistémico	Se incuban spz junto con GSK3 y no se ven efectos en FIV posterior	No se ha estudiado	Efectos cardiovasculares	En el cultivo de spz no se ha visto ningún efecto adverso	Alta toxicidad
Efectos a largo plazo	No se ha estudiado efecto en el animal, solo a nivel de spz	No se ha estudiado efecto en el animal, solo a nivel de spz	No se ha estudiado	Efectos cardiovasculares	No se ha estudiado	Alta toxicidad
Alternativa mejorada	Las subunidades específicas para testículo son parecidas a las demás y, ante la inespecificidad, es difícil desarrollar una molécula específica	-	-	Análogos atendiendo a la posición C17 de la molécula (aporta la selectividad por el transportador)	-	Análogos orgánicos anti-EPPIN: B4, B41, B42 y B4_R1
Resultado de alternativa				Disminuye motilidad y reduce la motilidad hiperactivada en un 70%. Spz no penetra en la zona pelúcida		Aún no están claros

5.3 ANTICONCEPTIVOS QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE

5.3.1 CONTROL ADRENÉRGICO Y PURINÉRGICO

Las contracciones del músculo liso desde el lugar de almacenamiento de los espermatozoides hasta la uretra están mediadas por la activación de los canales iónicos dependientes del ligando del purinoceptor P2X1 y los adenoceptores α -1 (Mathiew *et al.*, 2020).

5.3.1.1 ADENOCEPTOR α -1

Por un lado, los adrenoceptores α -1 son el objetivo de la norepinefrina y epinefrina, las catecolaminas endógenas. Entre las diversas funciones atribuidas, centrándose en reproducción los adrenoceptores α -1 se expresan ampliamente en el tracto reproductor masculino siendo fundamentales para la adecuada fertilidad masculina (Pacini *et al.*, 2018).

Las contracciones del músculo liso en la parte caudal del epidídimo (porción más inervada) se producen al inicio de la eyaculación y son desencadenadas por impulsos simpáticos donde también participa la norepinefrina liberada a través de la activación del adrenoceptor α -1 (Pacini *et al.*, 2018). Los adrenoceptores de tipo α_{1A} destacan sobre los de tipo α_{1B} α_{1D} ya que son los que más participan en mediar la respuesta contráctil de los órganos sexuales accesorios (Chen *et al.*, 2009). Además, están involucrados en el transporte de espermatozoides desde el epidídimo caudal hasta el conducto deferente y por ello ratones mutantes para este adrenoceptor presentan un mayor contenido de espermatozoides en el epidídimo y una disminución en los conductos deferentes (Pacini *et al.*, 2018). Estos ratones también presentan disfunción contráctil de los conductos deferentes, lo que conlleva a un deterioro en la eyaculación y, por tanto, la tasa de fertilidad disminuye (Chen *et al.*, 2009).

Los antagonistas de estos adrenoceptores reducen notablemente la producción de espermatozoides tanto en ratas como en humanos debido a que previenen la contractilidad del músculo (Pacini *et al.*, 2018) y por tanto producen una disfunción de la eyaculación, un bajo volumen de la eyaculación y, además, están asociados con la hiperplasia prostática benigna (Chen *et al.*, 2009).

Todo ello es de interés ya que entonces la modulación de las contracciones del músculo liso del epidídimo caudal mediante estos antagonistas puede ser un buen enfoque en la anticoncepción masculina no hormonal (Pacini *et al.*, 2018).

La prazosina es un fármaco simpaticolítico antagonista de los adrenoceptores α -1 que se une a segmentos del conducto del epidídimo caudal con alta afinidad, compitiendo con la norepinefrina y afectando a la contractilidad del epidídimo caudal (Pacini *et al.*, 2018).

Por su parte, la tamsulosina, con el mismo efecto que la prazosina, tiene una efectividad mayor ya que en un estudio de 48 voluntarios disminuyó el volumen del eyaculado en un 90% de los hombres, no se produjo eyaculación en el 35% de ellos (eyaculación seca debido a la falta de emisión seminal (White *et al.*, 2013)) y cuando se analizó el semen se observó una reducción en los niveles de fructosa. Estos efectos se observaron después de 3 a 5 días de comenzar el tratamiento y, en el momento de suspender la administración del fármaco, se revierte completamente el efecto producido. Además, este medicamento no afecta a los niveles hormonales fisiológicos del hombre y tampoco interviene en la presión arterial (Chen *et al.*, 2009).

Ensayos con prazosina y tamsulosina mostraron efectos secundarios como molestias eyaculatorias, mareos e hipotensión ortostática (Khourdaji *et al.*, 2018) y a largo plazo pueden provocar condiciones más graves como cáncer, hipertensión o formación de coágulos sanguíneos. En el caso de la tamsulosina destaca la disfunción eyaculatoria en hombres jóvenes y la hiperplasia prostática benigna en ancianos (Chen *et al.*, 2009).

Otros antagonistas de los adrenoceptores α -1 son RS 100329, 5-metilurapidil y BMY 7378 siendo el primero el más afín al epidídimo, después de la tamsulosina, y por ello provocando una mayor competencia contra la norepinefrina y afectando más a la contractilidad del músculo. El segundo más con más afinidad es la prazosina seguida por 5-metilurapidil y BMY 7378, todos con la misma función (Pacini *et al.*, 2018).

Otro antagonista es la PBZ que produce la inhibición de la eyaculación espermática en ensayos en humanos mediante el descontrol de las contracciones rítmicas fisiológicas de los músculos del epidídimo, concretamente los músculos longitudinales ya que tiene más especificidad por ellos que por los músculos circulares (Khourdaji *et al.*, 2018).

5.3.1.2 PURINOCEPTOR P2X1

El purinoceptor P2X1 pertenece a la familia de purinoceptores para ATP, expresado en músculo liso funciona como canal iónico dependiente de ligando con una permeabilidad al calcio relativamente alta. Su función es facilitar la contracción del músculo liso y se asocia en esta función con los adrenoceptores α -1 (Mathiew *et al.*, 2020).

A diferencia de los adrenoceptores, en el caso de purinoceptor P2X1 aún no se han identificado antagonistas claros. Uno de los antagonistas candidatos es la 2-fenil-5,6,7,8-tetrahydroquinoxalina que, modificando grupos radicales en posiciones orto, meta y para del resto fenilo se obtuvieron 33 análogos para determinar el más eficaz y adecuado. El compuesto con mayor capacidad inhibitoria fue 2-hidroxi, 4-fluoro y, si se combinaba con prazosina el efecto se multiplicaba, obteniendo una inhibición de la contractilidad del músculo liso de un 84% (Mathiew *et al.*, 2020).

En el caso de modificación genética, los ratones mutantes de adrenoceptores α -1 presentan infertilidad en un 50% mientras que los mutantes para el purinoceptor P2X1 en un 86% (White *et al.*, 2013). Cuando los ratones son mutantes de ambos se produce un 100% de infertilidad sin afectar ni al comportamiento, ni a la actividad sexual, ni a la calidad de los espermatozoides, ya que se extrajeron gametos de la cola de los epidídimos de ratones macho doble mutante y no tenían ningún daño, de hecho se implantaron en hembras y se produjo descendencia normal y viable (Mathiew *et al.*, 2020).

Además, en ratones mutantes de adrenoceptores α -1 y purinoceptor P2X1 había una falta de eyaculación, es decir, no eyaculan ni espermatozoides ni ninguna secreción de los órganos sexuales accesorios ya que cuando los ratones macho mutantes se apareaban con hembras, no se encontraba ningún tapón de coágulo propio de los roedores después de la cópula para ocluir la abertura vaginal (White *et al.*, 2013).

La posibilidad de inhibir el transporte de espermatozoides con el bloqueo de la contractilidad del músculo liso dirigido por antagonistas de adenoceptores α -1 y purinoceptor P2X1 tiene ventajas e inconvenientes. Una de las ventajas es que el fármaco nunca atraviesa la barrera hematotesticular ya que la cola del epidídimo y el conducto deferente se encuentran en el lado abdominal de la barrera. Sin embargo, hay un grave inconveniente y es que estos dos receptores se distribuyen en otros tejidos de músculo

liso incluidos los vasos sanguíneos y partes del sistema nervioso central y periférico. Además, actúan en conjunto para diversas funciones como la de controlar el diámetro de las arterias de resistencia y, por tanto regular la presión arterial. Se deben realizar más estudios para saber hasta qué punto podrían verse afectados el resto de aparatos y sistemas del organismo (White et al., 2013).

5.3.2 RECAPTACIÓN DE SEROTONINA-NOREPINEFRINA

5.3.2.1 ESTATINAS

La sibutramina es una estatina de la clase IRSN muy comercializada en el mundo que se desarrolló inicialmente como antidepresivo y, con el tiempo se utiliza para tratar la obesidad. Sin embargo, este fármaco también interviene en el aparato reproductor masculino (e Silva et al., 2020), ya que su ingesta produce una actividad contractiliar de los músculos de los órganos reproductores que reciben inervación simpática: el epidídimo, la vesícula seminal y la próstata ventral, lo que conlleva a una pérdida de su peso. También tiene otros efectos como una reducción en el tamaño testicular, lo cual es alarmante porque el tamaño de los testículos es muy conservador (Borges et al., 2020), así como en el número de espermatozoides, del tiempo de tránsito en el epidídimo y un patrón de eyaculación alterado, probablemente producido por los bajos niveles intracelulares de Ca^{2+} que provoca el propio fármaco (e Silva et al., 2020). Además, el fármaco afecta a todo el epidídimo porque todas sus partes responden a la inervación simpática pero, en especial, siendo la zona caudal la más crítica debido a que es donde se encuentran los espermatozoides ya maduros almacenados, es la zona más susceptible a los efectos de la norepinefrina (Borges et al., 2020).

Todo ello es debido a la disminución de niveles de testosterona porque la función de la sibutramina es inhibir la actividad de HMG-CoA reductasa, enzima clave en la biosíntesis del colesterol y también precursora de la testosterona. Los niveles de las gonadotropinas no se ven alterados por lo que este fármaco actúa directamente sobre las células de Leydig y, al provocar una caída tan brusca de la testosterona, ni siquiera la retroalimentación negativa del eje hipotálamo-hipófisis-testículo consigue compensarlo (e Silva et al., 2020).

La administración de sibutramina en ratones en una dosis de 10mg/kg p.v. durante 30 días no tiene efectos sobre los niveles de testosterona puesto que el tiempo mínimo necesario para abarcar la espermatogénesis y la maduración de los espermatozoides en el epidídimo es de 70 días. Si el tratamiento en la misma dosis alcanza los 70 días, las ratas experimentan una caída en los niveles de andrógenos (e Silva et al., 2020). De hecho, al ser los roedores animales nocturnos, se comprobó que la exposición del fármaco en la fase oscura del ciclo, es decir, la fase de actividad, aumenta aún más los efectos de sibutramina, tanto si son periodos de exposición largos o cortos (Borges et al., 2020).

En el caso de administrar rosuvastatina, otra estatina, el inicio de la pubertad se retrasa y, por tanto, también lo hace el desarrollo del epidídimo, adoptando una morfología alterada. Los testículos también presentan alteraciones en su forma, la calidad del semen baja y los niveles de testosterona se reducen. En dosis de 10 mg/p.v. de rosuvastatina durante la pubertad, los niveles de testosterona disminuyen notablemente, sin embargo, con una dosis más baja, de 3 mg/kg p.v. los niveles se mantuvieron constantes (e Silva et al., 2020).

Cuando la sibutramina se combina con la rosuvastatina se producen efectos histológicos en el testículo (Figura 11) y también una hiperplasia de células claras en la cola proximal del epidídimo que puede alterar el pH luminal. Las células de Sertoli eliminan el exceso de citoplasma en los espermatozoides antes de la maduración, sin embargo, a veces no es suficiente y las células clara son las responsables de eliminar el exceso citoplasmático residual a nivel de la cola proximal del epidídimo. El exceso de gotitas citoplasmáticas se debe a la aceleración del tiempo de tránsito de los espermatozoides a través del epidídimo, donde ambos tipos celulares no tienen el suficiente tiempo para eliminarlas. Estas gotitas están asociadas con una función espermática deficiente ya que limita la movilidad del espermatozoide y su unión a la zona pelúcida en el momento de la fertilización y altera la estabilidad del ADN por estrés oxidativo. De hecho, en humanos, el exceso de estas gotitas citoplasmáticas se asoció con infertilidad en fumadores, en hombres con varicocele y en varones con una capacidad reducida de la fertilidad (e Silva et al., 2020).

Por todo ello y sumando todos los efectos que, de manera individualizada, provocan la sibutramina y la rosuvastatina, en conjunto ambas estatinas provocan un descenso muy notable de la fertilidad (e Silva et al., 2020).

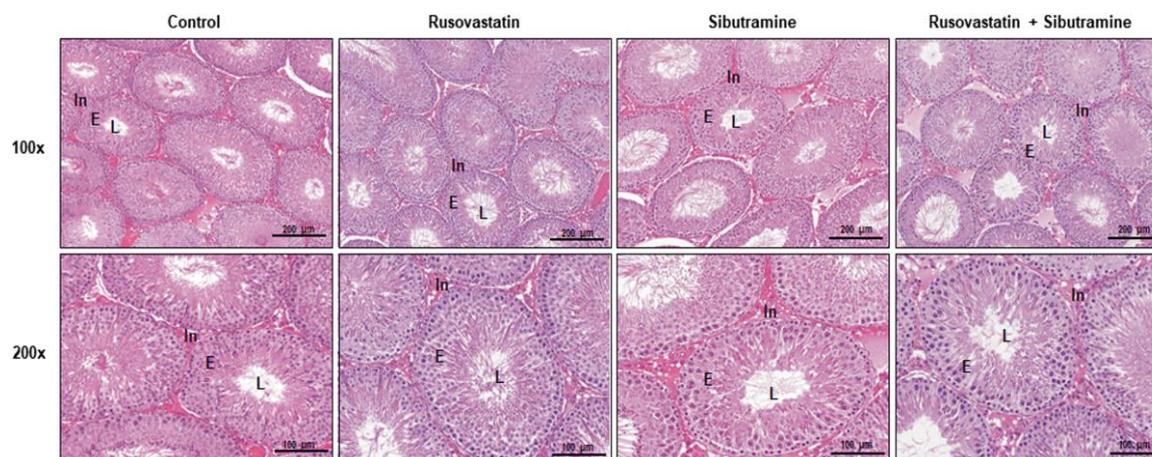


Figura 11: Análisis histopatológico de secciones transversales testiculares dependiendo del tratamiento con diferentes estatinas. En comparación con el grupo control, donde las capas de células germinales son concéntricas y organizadas en el epitelio seminífero, cuando son tratadas con estatinas se ven células acidófilas y multinucleadas, vacuolas en el epitelio, degeneración de células de Sertoli y de células germinales y restos celulares en la luz del túbulo seminífero (e Silva et al., 2020).

Otras estatinas pertenecientes a IRSN y utilizadas frecuentemente, como la venlafaxina, la duloxetina o el tramadol, se categorizaron como disruptores endocrinos porque alteran a CYP17, enzima que cataliza una reacción implicada en la síntesis de testosterona que consiste en el paso de 17-Hidroxipregnenolona a DHEA (e Silva et al., 2020).

Por ello, las estatinas de la clase IRSN generan preocupación sobre un posible deterioro de la fertilidad masculina, sin embargo, también dan pistas sobre posibles candidatos para la anticoncepción masculina futura, por lo que se debe continuar investigando (e Silva et al., 2020).

5.3.3 RISUG

RISUG es un copolímero introducido en 1980 y se ha demostrado su eficacia y seguridad en varias especies de animales y humanos durante ensayos clínicos de Fase I, Fase II y Fase III. Aún no ha sido comercializado debido a las estrictas medidas regulatorias ya debe ser analizado exhaustivamente para cerciorarse de que no produce daños a ningún nivel en el varón, además de comprobar la eficacia del mismo (Khilwani et al., 2020).

Está formado por DMSO que es un disolvente fuertemente alcalino e higroscópico que ayuda a la penetración del anticonceptivo en los pliegues de la pared interna de los conductos deferentes (Figura 12) y, además, promueve el anclaje y retención de RISUG a ese nivel. El pH tan alto provocado por DMSO es neutralizado porque una parte del AME se convierte en ácido maleico (Khilwani *et al.*, 2020). El anticonceptivo está diseñado para ser reversible por lo que no es adherente al tejido y ni esclerosante (Sharma *et al.*, 2019).

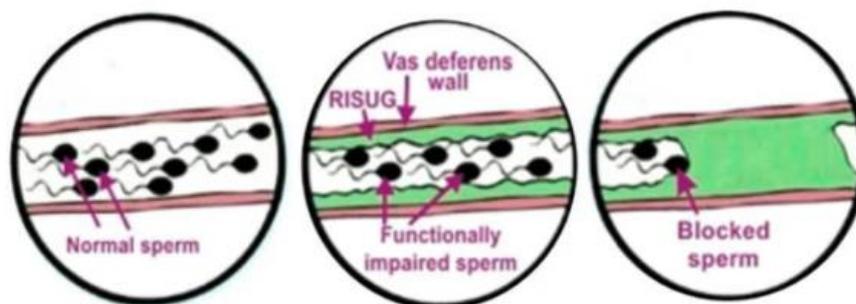


Figura 12: Efecto de RISUG en el conducto deferente, recubriéndolo y bloqueando el paso de los espermatozoides (Khilwani *et al.*, 2020)

Los daños en los espermatozoides producidos por RISUG son similares a los desencadenados en el estrés oxidativo; daños celulares como defectos morfológicos, fragmentación del ADN, peroxidación lipídica, disminución de la reacción acrosómica, reducción de la capacidad fusogénica y alteración de la fertilización (Khilwani *et al.*, 2020).

En ratas se observa que, RISUG, después de inyectarlo, se retiene en los conductos deferentes y cambia la morfología de la mucosa, no dejando pasar a los espermatozoides por el conducto. Después de eliminarse el fármaco, la estructura de la mucosa se recuperó en 2 semanas. Posteriormente se desarrollaron estudios en primates. Por un lado, en el mono Rhesus se observó que el anticonceptivo tenía la capacidad de obstruir el conducto deferente produciendo una azoospermia pero también inhibir la capacidad fertilizante de los espermatozoides gracias a la disminución del pH. Debido a ello, los espermatozoides presentaban alteraciones como daños en la membrana plasmática, anomalías en mitocondrias y otros componentes estructurales. En el caso del mono Langur, también se observaron anomalías físicas en el semen y en la estructura de los espermatozoides como enrollamiento excesivo de la cola, rotura de la envoltura del acrosoma, daños en las mitocondrias, pérdida de columnas segmentadas, axonema en la pieza media, daños en la

membrana plasmática externa a nivel de la cola y aberraciones numéricas en el centriolo. Con todos estos daños, los espermatozoides no eran viables y por tanto se producía una infertilidad instantánea .

Como efectos adversos en primates no se observó ninguno a corto plazo ya que la espermatogénesis continuaba funcional y las analíticas hematológicas e inmunológicas estaban bien. Sin embargo, con el tiempo se producía una degeneración focal del epitelio seminífero en la zona central del testículo y después de 540 días los valores hormonales comenzaban a desregularse (Khilwani *et al.*, 2020).

En humanos, con una dosis de 60-140 mg de AME, RISUG era efectivo ya que se mostraba una azoospermia 4 semanas después de la inyección durante los siguientes 20-389 días. El 82,7% de los individuos desarrollaron azoospermia antes de los 2 meses tras la inyección y el resto en un periodo entre 3 a 6 meses después de la administración del fármaco y no tenían efectos secundarios ni complicaciones clínicas en el sistema urogenital ni en otras partes del cuerpo (Khilwani *et al.*, 2020) y las analíticas hematológicas y de orina estaban bien. Si que la mayoría de hombres notaron después de la inyección un dolor y agrandamiento escrotal leve, debido al edema difuso del tejido escrotal que duró un mes aproximadamente sin tratarlo con medicación. Otros hombres desarrollaron nódulos indoloros alrededor del sitio de inyección que desaparecieron al poco tiempo y que son frecuentes en cualquier intervención de conductos (Sharma *et al.*, 2019). Actualmente, el fármaco se encuentra en Fase III para administrarse en un volumen mayor de voluntarios y confirmar que no produce efectos secundarios (Khilwani *et al.*, 2020).

5.3.4 TABLA RESUMEN DE LOS ANTICONCEPTIVOS MASCULINOS ESTUDIADOS QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE

Tabla 3: Tabla resumen donde se comparan las características de los anticonceptivos que intervienen en el transporte

	Antagonistas de Adenoceptor α -1	Antagonistas de Purinoceptor P2X1	Sibutramina	Rosuvastatina	RISUG
Actúa a nivel	Músculo liso en la parte caudal del epidídimo	Músculo liso	Células de Leydig	Niveles de testosterona	Conducto deferente
Cómo actúa	-Previenen la contractilidad del músculo liso -Tamsulosina > Prazosina > RS-100329 > 5-metilurapidil > BMY-7378 (de + a – afinidad): Se unen a segmentos del epidídimo (parte caudal) compitiendo con la norepinefrina -PBZ: Descontrola el ritmo fisiológico de las contracciones en el músculo longitudinal	-Permeabilidad al Ca^{2+} relativamente alta -No se sabe aún un antagonista claro.	-Caída en los niveles de andrógenos -Disminución de niveles de Ca^{2+} -Efectos más notables cuando se administra en la fase de actividad	-Inicio de la pubertad se retrasa -Morfología y desarrollo del epidídimo alterado	-Al inyectarlo se retiene en los conductos deferentes, cambia la morfología de la mucosa y no deja pasar a los espermatozoides por el conducto. -Disminuye el pH
Consecuencia	-Disfunción de la eyaculación -Bajo volumen de eyaculación	-Si se combina con Prazosina (Adenoceptor α -1), el efecto se multiplica: inhibición contractilidad músculo liso del 84%	-Pérdida de peso de órganos sexuales -Reducción tamaño testicular -Nº spz, tiempo de tránsito en epidídimo, eyaculación alterada	-Calidad del semen baja -Niveles de testosterona bajos	-Daños en la membrana de los spz, anomalías mitocondriales, enrollamiento de la cola excesivo, rotura membrana de acrosoma, axonema en pieza intermedia, aberraciones numéricas en el centriolo
Resultado	No se produce eyaculación, es infértil	Infertilidad provocada Purinoceptor 86% Infertilidad provocada Adenoceptor 50% Infertilidad provocada combinación 100%	Cuando se combinan: -Efectos histológicos en el testículo e hiperplasia de células clara en la cola del epidídimo (alteración del pH luminal) -Exceso de gotitas citoplasmáticas debido a la aceleración de la maduración en el epidídimo – limita movilidad del spz, impide unión a ZP, altera estabilidad del ADN		Los espermatozoides no eran viables y, además, se quedaban atascados en el conducto deferente por lo que se produce infertilidad instantánea
Dosis	Tratamiento con Tamsulosina – efectos después de 3-5 días	No se ha fijado ninguna dosis	10mg/kg p.v. durante 30 días NO tiene efecto porque el tiempo mínimo para abarcar la espermatogénesis son 70 días	-10 mg/kg p.v. en pubertad - ↓ [testosterona] -3 mg/kg p.v. niveles de testosterona cte	En humanos 60-140 mg – azoospermia 4 semanas después
Reversibilidad	100% reversible	100% reversible	100% reversible	100% reversible	100% reversible (no es adherente ni esclerosante). Se recupera 2 semanas después de dejarlo
Interrupción eje hormonal	NO	NO	SI. Inhibe la actividad de HMG-CoA reductasa (precursora de testosterona) → ↓ [testosterona]	SI. ↓ [testosterona]	NO
Efectos secundarios	Molestias eyaculatorias, mareos, hipotensión ortostática	Efectos en la vascularización y sistema nervioso	Taquicardias, palpitaciones, aumento de presión arterial, náuseas, sofocos, ansiedad...	Dolor, sensibilidad y debilidad muscular	Ninguno a corto plazo (después de la inyección pequeño dolor o edema difuso del tejido escrotal, nada importante)
Efectos a largo plazo	Cáncer, hipertensión, formación de coágulos sanguíneos	Efectos en la vascularización y sistema nervioso más graves	Los anteriores con mayor gravedad	Los anteriores con mayor gravedad	-Degeneración focal del epitelio seminífero en la zona central del testículo -Después de 540 días los valores hormonales se desregulaban
Alternativa mejorada	Se distribuyen en otros tejidos constituidos por músculo liso (vasos sanguíneos, SNC, SNP) y regulan la presión arterial.				
Resultado de alternativa	No se ha descubierto ningún antagonista análogo que no esté asociado con dichos efectos				Actualmente el fármaco se encuentra en Fase III

6. DISCUSIÓN

Los métodos anticonceptivos usados hasta nuestros días involucran de forma masiva a la mujer y su uso es casi exclusivamente para evitar el embarazo no deseado. Sin embargo métodos como la píldora anticonceptiva son usados en reproducción asistida para normalizar las reglas irregulares, controlar la estimulación ovárica inducida, etc.

Todas estas facetas anticonceptivas no han calado dentro de la población masculina, ni para evitar los embarazos no deseados, ni probablemente para controlar en algunos momentos de su desarrollo o evolución de enfermedades o patologías, la producción de sus gametos. Es por ello que la participación del varón es cada día más demandada por la sociedad y por tanto cada vez más la industria farmacéutica destina cantidades ingentes de dinero a la búsqueda de la resolución de la anticoncepción o regulación, temporal o definitiva, de la producción espermática.

Ante la alta tasa de embarazos no deseados, la idea de crear un anticonceptivo masculino es el futuro para controlar la excesiva población humana en el planeta. Los anticonceptivos femeninos se han desarrollado desde la antigüedad pero, aunque son muy efectivos y populares, los efectos secundarios son diversos, además de que el hombre también debería participar y responsabilizarse de la anticoncepción (Aragón *et al.*, 2021) (Mok *et al.*, 2011).

Actualmente la anticoncepción masculina se encuentra en investigación, considerando ya algunas vías como prometedoras teniendo en cuenta diferentes parámetros como la reversibilidad, la toxicidad, la eficacia, la seguridad y la fiabilidad (Aspilcueta-Gho, 2013).

La reversibilidad es un parámetro muy importante ya que la mayoría de hombres que recurren a técnicas anticonceptivas buscan la posibilidad de concebir hijos de manera natural en un futuro y, por ello, se pretende sintetizar un anticonceptivo que bloquee de alguna manera la fertilidad pero, que después de suspender el tratamiento, todo vuelva a un estado reproductivo fisiológico (Mathiew *et al.*, 2020). Además de ello, también es importante la seguridad y la toxicidad para que el hombre no experimente ningún efecto secundario grave que conlleve a problemas de salud ni a corto ni a largo plazo (Aspilcueta-Gho, 2013). Como último punto, la eficacia y fiabilidad debe ser total ya que

el hombre produce millones de espermatozoides en el día y ninguno de ellos puede tener la capacidad de fertilizar (Mok *et al.*, 2011).

Las posibles vías de anticoncepción masculina actúan a diferentes niveles ya que algunas intervienen en el proceso de formación de los espermatozoides, otras en la motilidad espermática, como tercera posibilidad en el transporte y, por último, a nivel de la fertilización. Cada vía tiene ventajas e inconvenientes y aunque se reconocen grandes avances científicos en estudio y desarrollo de los anticonceptivos en estas vías, la industria farmacéutica aún no ha puesto en el mercado el anticonceptivo eficaz (Vahdat *et al.*, 2021).

Las moléculas que detienen la espermatogénesis atraviesan la barrera hematotesticular y ninguna de ellas interrumpe el eje hipotálamo-hipófisis-testículo (Mok *et al.*, 2011) lo cual es una gran ventaja ya que los niveles hormonales no se ven influidos y por tanto el deseo sexual se mantiene intacto. Los analizados en este estudio son Adjudina, Gamendazol, CDB-4022, WIN-18446 y BMS-189453. Las tres primeras son análogos de la Lonidamina, destacando con creces Adjudina. Es una molécula que actúa a nivel de la ES apical interrumpiendo la unión de dicha ultraestructura con las células de Sertoli, desorganizando los filamentos de actina mediante alteraciones en proteínas asociadas a la ES apical y provocando así una pérdida de espermatozoides maduros funcionales en el semen. Este anticonceptivo es muy eficaz, produciendo una completa infertilidad en tan solo 5 semanas y, además, es 100% reversible 3 meses después de suprimir el tratamiento. Sin embargo, a pesar de que no actúa en el eje hipotálamo-hipófisis-testículo, produce varios efectos secundarios a corto y largo plazo (Mok *et al.*, 2011). Para disminuir la toxicidad de Adjudina, se combina con rps6 y el péptido F5, dos modificadores de la barrera hematotesticular que ayudan permeabilizar la barrera para aumentar el efecto del anticonceptivo en dosis más bajas y, además, ayudan a la desorganización de los microtúbulos (Mao *et al.*, 2019).

Por su parte, a pesar de que actúan al mismo nivel y que el modo de actuación es similar, Gamendazol es más tóxico que Adjudina debido a la presencia de un grupo trifluoro en el anillo indazol. Además, a largo plazo provoca efectos más graves, como la aparición de tumores, inflamaciones, hemorragias e incluso la muerte, mientras que Adjudina induce efectos menos marcados como inflamación hepática y atrofia muscular.

Por último, Gamendazol es menos eficaz a la misma dosis y por todo ello, por el momento Adjudina destaca positivamente ante Gamendazol (Mok *et al.*, 2011). Este compuesto produce efectos demasiado graves como para que, aunque con mejoras, se convierta en un anticonceptivo masculino.

El tercer análogo de la Lonidamina mencionado, CDB-4022, es el menos seguro y más tóxico ya que los efectos a corto plazo son muy graves en ratas y, a pesar de que los monos después de 16 semanas recuperaron la fertilidad, las ratas nunca pudieron revertir el efecto (Arifuzzaman *et al.*, 2019) (Mok *et al.*, 2011). Este análogo tiene altas posibilidades de llegar a desencadenar la muerte en humanos tras ver los graves efectos que produce en otros mamíferos, por lo que, casi con total seguridad, no se harán más ensayos debido a la alta toxicidad.

Por su parte, WIN-18446 y BMS-189453 también actúan deteniendo la espermatogénesis pero, en este caso, a nivel de la síntesis del ácido retinoico con diferentes métodos de actuación. WIN-18446 la bloquea mediante la inhibición del enzima ALDH1A2 y BMS-189453 provoca errores de alineación de espermátidas, fallos en la liberación de espermatozoides y por ello una pérdida de células germinales disponibles. Esta opción se debe tomar en consideración, es decir, parece de las mejores posibilidades, ya que ninguna de las moléculas produce notables efectos secundarios, son 100% reversibles, con dosis bajas se llega a la infertilidad y, con dosis un poco más elevadas y seguras la esterilidad se prolonga mucho en el tiempo.

Por todo ello, respecto a las posibles vías anticonceptivas que detienen a la espermatogénesis, la mejor opción es la de bloquear la síntesis del ácido retinoico con BMS-189453 ya que es la que conlleva menos riesgos para la salud, además de ser completamente reversible y eficaz. Sin embargo, Adjudina se debe tener en consideración ya que es 100% eficaz y reversible, no tiene efectos secundarios a corto plazo y se debe continuar investigando si la combinación con los modificadores de la barrera hematotesticular reduce los riesgos de toxicidad subcrónica a largo plazo.

Respecto a los anticonceptivos que intervienen en la motilidad, los estudiados son FK506, GSK3, SPATA33, Ouabaína, HC-056456 y EPPIN. Los tres primeros actúan sobre la subunidad catalítica de la calcineurina específica de testículo, PPP3CC y PPP3R2. Ambas isoformas son dependientes de calcio (Kang *et al.*, 2021) y las

localizadas en las mitocondrias tienen la función de regular la flexibilidad de la pieza intermedia del espermatozoide mediante desfosforilación (Miyata *et al.*, 2021). Para inhibir esta subunidad, interviene FK506 que provoca fallos en la motilidad del espermatozoide e impide que pueda penetrar en la zona pelúcida en el momento de la fertilización (Kang *et al.*, 2021). La reversibilidad del inhibidor es total y tiene el inconveniente de que PPP3CC y PPP3R2 se expresan en diferentes tejidos del organismo, poniendo en riesgo el bloqueo de estas isoformas en zonas que pongan en riesgo la salud (Arifuzzaman *et al.*, 2019). La idea de imponer una rigidez en la pieza intermedia es muy interesante, sin embargo, se debería tener en cuenta que son millones de espermatozoides a los que hay que dañar para que la eficacia sea total y, además, la extensión de las dos isoformas de la calcineurina por diferentes tejidos suma un inconveniente grave con difícil solución.

Otro inhibidor disponible de la calcineurina es GSK3 que desregula a la fosfatasa provocando fallos en la motilidad, capacitación e hiperactivación del espermatozoide. Es eficaz pero la reversibilidad y efectos secundarios no se han estudiado en profundidad, solo se demostró que después de tratar los espermatozoides con GSK3, la FIV fue bien (Dey *et al.*, 2020). Como último inhibidor se ha estudiado SPATA33 que descontrola la relación entre las mitocondrias y la fibra densa externa, produciendo rigidez de la pieza intermedia y suprimiendo la calcineurina de estos orgánulos. No se ha estudiado en profundidad pero sí que se considera una molécula prometedora ya que se demuestra que los espermatozoides pierden la motilidad y esto conlleva a la infertilidad masculina (Miyata *et al.*, 2021). A pesar de que ambas posibilidades van bien encaminadas, se deben investigar mucho más ya que no se sabe mucho acerca de la reversibilidad, los efectos adversos y el porcentaje de efectividad.

En cuanto a Ouabaína y HC-056456, intervienen en los canales iónicos necesarios para la correcta motilidad del espermatozoide. En el caso de la Ouabaína, se produce un bloqueo del transportador Na/K ATPasa y se producen defectos en la morfología, motilidad e hiperactivación del espermatozoide. La reversibilidad es completa pero además es lenta y esto es una gran ventaja porque así la infertilidad se prolonga más en el tiempo. El inconveniente de este inhibidor es el problema cardiovascular que genera y, para reducir la toxicidad, se sintetizaron varios análogos destacando uno de ellos por disminuir la motilidad y la motilidad hiperactivada en un 70%, además de impedir que

penetre en la zona pelúcida (Syeda *et al.*, 2018). La Ouabaína como anticonceptivo parece una buena opción, solo se contempla como inconveniente el efecto cardiovascular negativo que podría evitarse con un buen análogo, aún en investigación.

HC-056456 es un inhibidor del canal iónico CatSper, necesario para inducir la motilidad con un aumento de calcio intracelular cuando el pH se vuelve alcalino en la zona superior del tracto reproductivo femenino (Qi *et al.*, 2007). CatSper forma un heterotetrámero y en el centro de la estructura hay un sitio de alta afinidad por el inhibidor HC-056456 y, al unirse, se dificulta la influencia de los cationes de calcio (Lissabet *et al.*, 2020), produciendo defectos en la motilidad total y progresiva, además de que los espermatozoides no se desprenden del epitelio del oviducto y por ello nunca pueden llegar al ovocito, degradándose anclados al tejido (Cavarocchi *et al.*, 2022). La unión es completamente reversible y por el momento no se han visto efectos secundarios pero se debe continuar investigando a mayor profundidad (Lissabet *et al.*, 2020). La opción de intervenir al nivel de canal iónico parece muy acertada ya que es muy específica y brinda efectos muy positivos como baja toxicidad, alta eficacia y reversibilidad.

El último posible anticonceptivo para intervenir en la motilidad espermática analizado en el estudio consiste en un anticuerpo anti-EPPIN. EPPIN es una proteína específica del aparato reproductor masculino, localizándose en la cabeza y flagelo de espermatozoides maduros (Michael *et al.*, 2016). Los dominios que la conforman son Kunitz y WFDC y los anticuerpos sintetizados para inhibir su función son S21C y Q20E respectivamente. El primero de ellos es el más prometedor ya que eleva el pH y disminuye el calcio intracelular, dañando así la motilidad progresiva e hiperactivada. Q20E también es importante cuando se combina con S21C ya que interrumpe la estabilidad y plegamiento de Kunitz favoreciendo la acción del propio anticuerpo del dominio. Ambos producen infertilidad y son totalmente reversibles (Silva *et al.*, 2021), sin embargo producen alta toxicidad por lo que se encuentran en investigación análogos como B4, B41, B42 y B4_R1, destacando el último, sin embargo, todavía no hay nada claro (Michael *et al.*, 2016). En el caso de que uno de los análogos logre los mismos resultados que el anticuerpo anti-EPPIN y evite los graves efectos secundarios, se presentaría, probablemente, como uno de los mejores anticonceptivos masculinos por todas las cualidades antes mencionadas.

La idea de modificar la motilidad para que el espermatozoide no pueda desplazarse hasta el ovocito es muy interesante ya que la técnica actúa solo a nivel del espermatozoide, en algunos casos en el aparato reproductor masculino y en otros, como HC-056456, ya en el femenino. Esto podría llevar a pensar que funciona como un anticonceptivo femenino ya que actúa en la mujer, sin embargo, a pesar de que actúe en el cuerpo femenino, actúa específicamente sobre el gameto masculino y por ello es por lo que se considera una idea de anticonceptivo masculino. A pesar de que el bloqueo de la motilidad espermática es una opción muy atractiva, aún no se ha llegado a un compuesto que no tenga efectos adversos severos y algunos aún no se han analizado profundamente. Además, en la mayoría, la diana del anticonceptivo se expresa en otros tejidos del organismo y las consecuencias del tratamiento serían aún más graves. A pesar de ello, el que destaca es el anticuerpo anti-EPPIN, ya hay análogos en curso para reducir la toxicidad, es totalmente reversible y muy eficaz

Otros anticonceptivos se han desarrollado con el fin de inhibir el transporte de espermatozoides para impedir que lleguen al ovocito. Las diferentes posibilidades estudiadas en el trabajo son los antagonistas de receptores adrenérgicos α -1 y purinérgicos P2X1, las estatinas y RISUG.

Los receptores adrenérgicos α -1 y purinérgicos P2X1 regulan la contractilidad del músculo liso que favorece el transporte de los espermatozoides desde el epidídimo caudal hasta el conducto deferente para, posteriormente, salir al exterior (Mathiew *et al.*, 2020). Si un antagonista de los receptores bloquea la contractilidad, se produce una disfunción de la eyaculación y, además, un inexistente o muy bajo volumen de semen. Los antagonistas de los receptores adrenérgicos α -1 son principalmente la tamsulosina y la prazosina que tienen la función de unirse a segmentos de la parte caudal del epidídimo compitiendo con la norepinefrina. Este tratamiento es completamente reversible, tiene una eficacia del 50% (Pacini *et al.*, 2018), (Chen *et al.*, 2009) pero conlleva a graves efectos secundarios tanto a corto plazo (molestias eyaculatorias, mareos e hipotensión ortostática) (Khourdaji *et al.*, 2018) como a largo (cáncer, hipertensión y formación de coágulos sanguíneos) (Chen *et al.*, 2009). Los antagonistas de los receptores purinérgicos P2X1 están menos estudiados, se han sintetizado algunos pero todavía no se ha fijado ninguno de manera segura (Mathiew *et al.*, 2020). Son también reversibles y más eficaces, llegando a una tasa del 86% pero los efectos secundarios siguen siendo importantes, en

este caso a nivel del aparato circulatorio y del sistema nervioso (White *et al.*, 2013). En el caso de combinar ambos receptores, la infertilidad provocada es del 100%, que es la eficacia que se espera en la búsqueda del anticonceptivo masculino (Mathiew *et al.*, 2020). Para reducir los efectos secundarios de ambos antagonistas se busca un análogo pero en este caso es complicado, ya que estos receptores se distribuyen en otros tejidos constituidos por músculo liso y, además, tienen la función de regular la presión arterial (White *et al.*, 2013). Los antagonistas de los receptores adrenérgicos presentan una muy alta toxicidad y esto podría conllevar a un bajo interés por parte de los investigadores, además, ni siquiera se ha descubierto un compuesto que funcione como antagonista de los receptores purinérgicos por lo que estas vías no tendrán mucho éxito.

Por su parte, las estatinas también intervienen en la contractilidad del músculo liso de los órganos reproductores masculinos. Las analizadas en el estudio con la sibutramina y la rosuvastatina. La primera de ellas actúa a nivel de las células de Leydig produciendo una caída en los niveles de testosterona y de calcio debido al bloqueo del enzima HMG-CoA reductasa (e Silva *et al.*, 2020). Se produce así una preocupante reducción del tamaño testicular (Borges *et al.*, 2020) y una disminución del número de espermatozoides y del tiempo de tránsito en el epidídimo, por lo que la eyaculación es alterada. A pesar de que la administración de la estatina es completamente reversible, los efectos secundarios son graves, destacando los problemas cardiovasculares (e Silva *et al.*, 2020). El hecho de disminuir los niveles de andrógenos producirán una reducción de la libido y el deseo sexual del hombre, por tanto no es buen anticonceptivo ya que la idea no es quitar las ganas de mantener relaciones sexuales, sino que el hombre mantenga su deseo sexual intacto pero nunca tenga descendencia.

Aunque los inhibidores de la contracción del músculo liso producen efectos muy positivos ante la anticoncepción masculina, probablemente no sean atractivos para los hombres ya que en las relaciones sexuales no podrán eyacular y esto podría causar un rechazo frente al anticonceptivo.

La rosuvastatina también produce una disminución de la testosterona y altera la morfología y desarrollo del epidídimo. También es reversible y los efectos secundarios en este caso son menos graves, dolor, sensibilidad y debilidad muscular, aunque se deben tener en cuenta. En el caso de combinar ambas estatinas, se producen efectos histológicos

en el testículo y una hiperplasia en la cola del epidídimo que conduce a cambios en el pH. Además, como el tiempo de maduración en el epidídimo se acorta, los espermatozoides presentan un exceso de gotitas citoplasmáticas que limitan la motilidad y la penetración de la zona pelúcida. De todos modos, aunque la eficacia es alta y la reversibilidad es completa, la investigación debe continuar ya que los efectos adversos son considerables (e Silva *et al.*, 2020).

Por último, RISUG, anticonceptivo masculino ya en Fase III, actúa modificando la morfología de la mucosa para retener a los espermatozoides en el conducto deferente y, además, los deteriora haciéndolos inviables. El tratamiento es completamente reversible, recuperando la correcta fisiología del aparato reproductor masculino 2 semanas después de suspender el tratamiento (Khilwani *et al.*, 2020). Como efecto secundario a corto plazo puede que el paciente presente algún dolor o edema en la zona del pinchazo para la administración de la molécula, nada más (Sharma *et al.*, 2019). Sin embargo, el fármaco se mantiene en Fase III debido a que a largo plazo provoca una degeneración focal del epitelio seminífero en la zona central del testículo, además de un descontrol hormonal después de 540 días del inicio del tratamiento (Khilwani *et al.*, 2020). A pesar de ello, es el anticonceptivo masculino más avanzado y cumple con todos los requisitos establecidos, por lo tanto, actualmente es la mejor opción sin duda.

Los anticonceptivos ideados para prevenir la contractilidad del músculo liso y así evitar el transporte de los espermatozoides son prometedores ya que todas las opciones son totalmente reversibles y, si se combinan, por un lado las dos estatinas y por otro los receptores adrenérgicos y purinérgicos, la eficacia es del 100%. El inconveniente de estos compuestos es que generan efectos secundarios graves por lo que la investigación debe continuar en la dirección de sintetizar análogos que tengan la misma acción pero provoquen menos daños. Sin embargo, el anticonceptivo que interviene en el transporte que destaca por excelencia es RISUG. Es completamente reversible, asegura una total eficacia, se ha probado en humanos viéndose efectos secundarios mínimos y, por todo ello es el anticonceptivo más avanzado, encontrándose ya en Fase III.

La vía que interrumpe la fertilización del óvulo por el espermatozoide, es una opción muy prometedora en la anticoncepción pues no se verían alteradas ninguna de las vías anteriores (producción, almacenamiento, motilidad, transporte, eje hipotálamo-

hipófisis) y solo en el último instante, en la unión de ambos gametos, se produciría dicho bloqueo. Sin embargo, actualmente no se han logrado grandes avances. Sí que hay algunas moléculas mencionadas anteriormente, como FK506 (Dey *et al.*, 2020), el análogo de la Ouabaína (Syeda *et al.*, 2018) o la combinación de Sibutramina y Rosuvastatina (e Silva *et al.*, 2020) que impiden que el espermatozoide penetre en la zona pelúcida para fertilizar al ovocito, sin embargo, esos compuestos se centran en otros puntos y por lo tanto no destacan como anticonceptivos que impidan la fertilización.

Un anticonceptivo que inhibiese el reconocimiento o unión de la proteína espermática IZUMO1 con su receptor localizado en la zona pelúcida del ovocito, JUNO, podría ser un candidato a la anticoncepción. Una posibilidad es la de bloquear aminoácidos claves de IZUMO1, concretamente en W148, H157 y R160 que, además, están conservados entre el ratón y el humano, cuando estos aminoácidos están mutados o bloqueados, la interacción entre ambas moléculas no es adecuada y, por tanto, el espermatozoide no reconoce al ovocito (Jean *et al.*, 2019).

Se ha descrito que un anticuerpo monoclonal contra JUNO, denominado anti-hJUNO mAB inhibe la participación de la proteína en la fusión de gametos de ratones y de humanos. Estudios demostraron que el 100% de los ovocitos inseminados con espermatozoides que tenían IZUMO1 dañado no fertilizaban, de hecho, este fenómeno explica el 16% de parejas infértiles en el mundo (Jean *et al.*, 2019).

Estas ideas con respecto al bloqueo de la fertilización podrían ser un camino interesante en la búsqueda de un anticonceptivo masculino, teniendo en cuenta su reversibilidad, toxicidad, seguridad y eficacia.

Desde otro punto de vista, aunque no se han presentado resultados notables y concluyentes acerca de los tratamientos hormonales de afirmación de género, estos tienen objetivo de inducir cambios físicos para que la persona consiga que su identidad coincida con su cuerpo y así disminuir la disforia de género, es decir, reducir la angustia y el sufrimiento de las personas que desean cambiar su sexo para así sentirse bien con ellas mismas (Mancini *et al.*, 2021). El proceso es multidisciplinar ya que cada persona transgénero debe tener un diagnóstico correcto para tratar de manera adecuada a la persona sin olvidar su potencial vida sexual. En el diagnóstico deben intervenir

profesionales a diferentes niveles como especialistas en salud mental, endocrinos, cirujanos y urólogos y/o ginecólogos (Mayoral *et al.*, 2022).

La técnica a la que recurren la mayoría de personas transexuales es la cirugía genital de afirmación de género que conlleva a una pérdida permanente de la función reproductiva. Sin embargo, un tratamiento hormonal es completamente reversible y no compromete la fertilidad de la persona. Además, en Estados Unidos se han registrado, en tan solo 1 año, cientos de abortos por parte de la población transgénero ya que la mayoría no utiliza ningún anticonceptivo y otros tantos inician cualquier tratamiento hormonal obteniendo como resultado una suspensión parcial de la función reproductiva porque no consultan con un profesional. Por todo ello, cada persona transgénero debe tener un asesoramiento detallado y un tratamiento personal (Mancini *et al.*, 2021).

En un estudio actual, se calculó que el 90% de los transexuales conocían la píldora anticonceptiva, un 35% eran conocedores del DIU y solo un 10% sabían del implante subdérmico. Sin embargo, aunque habían oído hablar de la técnica, ninguna persona transgénero había recurrido a la hormonoterapia para el bloqueo puberal a pesar de que reconocen que si hubiesen tenido un asesoramiento real, hubieran aceptado. Esta técnica despierta especial interés ya que es reversible, preservando la fertilidad de la persona y manteniendo los órganos sexuales in situ y, además, ha logrado una reducción del sufrimiento psicológico ya que las personas sienten una mejora en su aceptación social y un resultado estético deseado (Mayoral *et al.*, 2022).

Hasta ahora, el tema de la reproducción y fertilidad de las personas transgénero no ha sido nada estudiado de manera clínica (solo el 0,9% de los artículos relacionados con la transexualidad trataban la reproducción y la fertilidad), sin embargo, cada vez más transexuales en edades tempranas buscan tratamientos médicos y quirúrgicos. Ante la demanda, los especialistas deben investigar sobre los métodos más adecuados teniendo en cuenta la preservación de la fertilidad, es decir, la reversibilidad de la técnica, así como su eficacia, toxicidad y seguridad (Liu *et al.*, 2019).

7. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados analizados sobre la búsqueda de los distintos métodos de anticoncepción masculina, hemos obtenido las siguientes conclusiones:

- Los anticonceptivos hormonales masculinos diseñados hasta ahora aún presentan efectos secundarios (toxicidad, irreversibilidad) lo que ha retrasado su comercialización por parte de la industria farmacéutica.
- Anticonceptivos que afectan a la motilidad o el transporte espermático constituyen las opciones más relevantes y prometedoras ya que son específicos para los gametos masculinos y no atraviesan la barrera hematotesticular.
- Teniendo en cuenta las conclusiones anteriores basados tanto en estudios en humanos como modelos murinos, los candidatos a anticonceptivos masculinos más prometedores son el RISUG, Adjudina, BMS-189453, y anticuerpos anti-EPPIN.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aragón, P. B., Solano, A. C., & Ng, L. Y. M. Y.** (2021). Anticoncepción masculina. *Revista Médica Sinergia*, 6(3), e653-e653.
- Arce, V. M., Catalina, P. F., Mallo, F.** (2006). *Endocrinología*. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico da Universidade da Santiago de Compostela.
- Arifuzzaman, S., Rahman, M. S., & Pang, M. G.** (2019). Research update and opportunity of non-hormonal male contraception: histone demethylase KDM5B-based targeting. *Pharmacological Research*, 141, 1-20.
- Aspilcueta-Gho, D.** (2013). Rol del varón en la anticoncepción, como usuario y como pareja. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 30, 480-486.
- Bassas, L.** (2001). Espermatogénesis e Infertilidad. *Revista Iberoamerica de Fertilidad*, 18, 11-17.
- Borges, C. S., Silva, P. V., Lozano, A. F. Q., Missassi, G., Silva, R. F., Anselmo-Franci, J. A., & Kempinas, W. G.** (2020). Impact of timing of the anorexigen sibutramine administration on reproductive end-points of male rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 127(6), 525-532.
- Carlson, B. M.** (2014). Embriología humana y biología del desarrollo. ELSEVIER
- Cavarocchi, E., Whitfield, M., Saez, F., & Touré, A.** (2022). Sperm Ion Transporters and Channels in Human Asthenozoospermia: Genetic Etiology, Lessons from Animal Models, and Clinical Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3926.
- Chen, Y., Li, H., Dong, Q., & Wang, K. J.** (2009). Blockade of $\alpha 1A$ -adrenoceptor: A novel possible strategy for male contraception. *Medical hypotheses*, 73(2), 140-141.
- Dey, S., Eisa, A., Kline, D., Wagner, F. F., Abeyirigunawardena, S., & Vijayaraghavan, S.** (2020). Roles of glycogen synthase kinase 3 alpha and calcineurin in regulating the ability of sperm to fertilize eggs. *The FASEB Journal*, 34(1), 1247-1269.
- e Silva, P. V., Borges, C. D. S., Rosa, J. D. L., Pacheco, T. L., Figueiredo, T. M., Leite, G. A. A., ... & Kempinas, W. D. G.** (2020). Effects of isolated or combined exposure to sibutramine and rosuvastatin on reproductive parameters of adult male rats. *Journal of Applied Toxicology*, 40(7), 947-964.
- Finkelstein, J. E.** (2020). Actualización y revisión de la anticoncepción masculina Update and review of male contraception. *Ginecológica y Reproductiva*, 27(1), 12.

García-Porrero, J. A., & Hurlé, J. M. (2005), *Anatomía humana*. Mc Graw Hill

Gardner, S., Stavrou, E., Rischitor, P. E., & Faccenda, E. (2010). Targeting mediators of Wnt signalling pathways by GnRH in gonadotropes. *Journal of molecular endocrinology*, 44, 195-201.

Heinemann, K., Saad, F., Wiesemes, M., White, S., & Heinemann, L. (2005). Attitudes toward male fertility control: results of a multinational survey on four continents. *Human Reproduction*, 20(2), 549-556.

Jean, C., Haghghirad, F., Zhu, Y., Chalbi, M., Ziyat, A., Rubinstein, E., ... & Barraud-Lange, V. (2019). JUNO, the receptor of sperm IZUMO1, is expressed by the human oocyte and is essential for human fertilisation. *Human Reproduction*, 34(1), 118-126.

Kang, H., Chen, C., Gao, F. X., Zeng, X. H., & Zhang, X. N. (2021). Expression of PPP3CC and not PPP3R2 is associated with asthenozoospermia. *Journal of Men's Health*, 17(4), 183-189.

Khilwani, B., Badar, A., Ansari, A. S., & Lohiya, N. K. (2020). RISUG® as a male contraceptive: journey from bench to bedside. *Basic and Clinical Andrology*, 30(1), 1-12.

Khourdaji, I., Zillioux, J., Eisenfrats, K., Foley, D., & Smith, R. (2018). The future of male contraception: a fertile ground. *Translational andrology and urology*, 7(Suppl 2), S220.

Lissabet, J. F. B., Belén, L. H., Lee-Estevez, M., Risopatrón, J., Valdebenito, I., Figueroa, E., & Farías, J. G. (2020). The CatSper channel is present and plays a key role in sperm motility of the Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 241, 110634.

Liu, W., Schulster, M. L., Alukal, J. P., & Najari, B. B. (2019). Fertility preservation in male to female transgender patients. *Urologic Clinics*, 46(4), 487-493.

Mancini, I., Alvisi, S., Gava, G., Seracchioli, R., & Meriggiola, M. C. (2021). Contraception across transgender. *International journal of impotence research*, 33(7), 710-719.

Mao, B. P., Li, L., Yan, M., Ge, R., Lian, Q., & Cheng, C. Y. (2019). Regulation of BTB Dynamics in Spermatogenesis—Insights From the Adjudin Model. *Toxicological Sciences*, 172(1), 75-88.

Mathiew, M., Dennis, B. M., Bennetts, F., Su, N. E., Nguyen, N., Botteon, A., ... & Ventura, S. (2020). Synthesis of 2-phenyl-5, 6, 7, 8-tetrahydroquinoxaline derivatives and screening for P2X1-purinoceptor antagonist activity in isolated preparations of rat

vas deferens, for translation into a male contraceptive. *Biology of reproduction*, 103(2), 323-332.

Mayoral, A., González V., Fuentes M., Calvo M., Calventus, M. L., Villasevil R., Pilar, L., Cristóbal, I. (2022). ¿Qué saben sobre anticoncepción los transexuales masculinos?. *33º Congreso Nacional Bilbao. Sociedad Española de Fertilidad*.

Michael, G. O., Silva, E. J., & Hamil, K. G. (2016). Non-hormonal male contraception: A review and development of an Eppin based contraceptive. *Pharmacology & therapeutics*, 157, 105-111.

Millar, R. P. (2005). GnRHs and GnRH receptors. *Animal reproduction science*, 88(1-2), 5-28.

Miyata, H., Oura, S., Morohoshi, A., Shimada, K., Mashiko, D., Oyama, Y., ... & Ikawa, M. (2021). SPATA33 localizes calcineurin to the mitochondria and regulates sperm motility in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(35).

Mok, K. W., Mruk, D. D., Lie, P. P., Lui, W. Y., & Cheng, C. Y. (2011). Adjudin, a potential male contraceptive, exerts its effects locally in the seminiferous epithelium of mammalian testes. *Reproduction (Cambridge, England)*, 141(5), 571.

Molina, V. (2022). Desequilibrio de género en la anticoncepción: ¿para cuándo la píldora masculina? Obtenido de: <https://www.epe.es/es/igualdad/20220202/desequilibrio-genero-anticoncepcion-pildora-masculina-13177226>

Moreno, J. G., & Sainos, L. M. S. (2005). Aceptación y rechazo de vasectomía en hombres del medio rural. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 43(3), 205-214.

Noman, M. A. A., Kyzer, J. L., Chung, S. S., Wolgemuth, D. J., & Georg, G. I. (2020). Retinoic acid receptor antagonists for male contraception: current status. *Biology of reproduction*, 103(2), 390-399.

Observatorio de salud sexual y reproductiva de la SEC (2020). *Encuesta de Anticoncepción en España 2020*. Obtenido de <http://sec.es/area-cientifica/observatorio/documentos-observatorio/>

Pacini, E. S., Castilho, A. C., Hebler-Barbosa, F., Pupo, A. S., & Kiguti, L. R. (2018). Contraction of rat cauda epididymis smooth muscle to $\alpha 1$ -adrenoceptor activation is mediated by $\alpha 1A$ -adrenoceptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 366(1), 21-28.

Parra, A. L. M., & Gómez, S. M. C. (2019). Factores que inciden en la aceptabilidad de la vasectomía. *Revista Colombiana de Enfermería*, 18(2), 3.

Qi, H., Moran, M. M., Navarro, B., Chong, J. A., Krapivinsky, G., Krapivinsky, L., ... & Clapham, D. E. (2007). All four CatSper ion channel proteins are required for male fertility and sperm cell hyperactivated motility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(4), 1219-1223.

Rubin, R. (2017). Work Progresses on Male Contraceptives, but Hurdles Remain. *JAMA*, *318*(13), 1208-1210.

Sánchez, J. D. D., Durán, D. G., Llamas, C. J. A., Cadena, G. M. F., Landeros, J. R. R., Martínez, I. C. R., ... & Castro, N. H. (2020). Nuevos métodos anticonceptivos masculinos. *Lux Médica*, *15*(45), 37-54.

Sharma, R. S., Mathur, A. K., Singh, R., Das, H. C., Singh, G. J., Toor, D. P. S., & Guha, S. K. (2019). Safety & efficacy of an intravasal, one-time injectable & non-hormonal male contraceptive (RISUG): A clinical experience. *The Indian journal of medical research*, *150*(1), 81.

Silva, A. A., Raimundo, T. R., Mariani, N. A., Kushima, H., Avellar, M. C. W., Buffone, M. G., ... & Silva, E. J. (2021). Dissecting EPPIN protease inhibitor domains in sperm motility and fertilizing ability: repercussions for male contraceptive development. *Molecular Human Reproduction*, *27*(12).

Stamatiades, G. A., & Kaiser, U. B. (2018). Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: signaling and gene expression. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *463*, 131-141.

Syeda, S. S., Sánchez, G., Hong, K. H., Hawkinson, J. E., Georg, G. I., & Blanco, G. (2018). Design, synthesis, and in vitro and in vivo evaluation of ouabain analogues as potent and selective Na, K-ATPase $\alpha 4$ isoform inhibitors for male contraception. *Journal of medicinal chemistry*, *61*(5), 1800-1820.

Vahdat, H., Nickels, L., Shane, K., & Carpenter, K. (2021). *Male Contraceptive Initiative*. Obtenido de <https://www.malecontraceptive.org/>

Wang, D., & Altmann, D. R. (2002). Socio-demographic determinants of intrauterine device use and failure in China. *Human Reproduction*, *17*(5), 1226-1232.

White, C. W., Choong, Y. T., Short, J. L., Exintaris, B., Malone, D. T., Allen, A. M., ... & Ventura, S. (2013). Male contraception via simultaneous knockout of $\alpha 1A$ -adrenoceptors and P2X1-purinoceptors in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(51), 20825-20830.