

Relación entre los parámetros seminales y la fragmentación del ADN espermático

Mónica Dorado Silva^a, Beatriz Migueles^a, Mercedes González^a, María Hebles^b, Laura Aguilera^a, Pascual Sánchez^b, Fernando Sánchez^b, Amelia Rodríguez^b, José Antonio Lara^b, Miguel Meyer^b y Natalio Cruz^b

^aFundación Guadalquivir de Investigación Médica. Sevilla. España.

^bClínica Ginemed. Sevilla., España.

RESUMEN

Objetivo: El objetivo de nuestro estudio es evaluar la fragmentación del ADN de los pacientes que consultan por esterilidad en nuestras clínicas y de donantes voluntarios, y observar si hay correspondencia con las diferentes alteraciones seminales.

Método: Se ha analizado la fragmentación de 212 muestras seminales de pacientes que iban a ser sometidos a ciclos de fecundación in vitro, comparando las distintas alteraciones de concentración, movilidad y morfología de forma individual y sus combinaciones.

Resultados: Los pacientes que presentaban una única alteración, tanto los que mostraban la concentración como la movilidad disminuida tenían el ADN fragmentado en más del 50% de los casos. En los casos en los que mostraban alterada sólo la morfología sólo el 11% presentaba fragmentación.

Discusión: Los datos presentados en este estudio prueban una clara relación entre la calidad seminal y la fragmentación del ADN espermático con relación a la concentración y movilidad. En cambio no encontramos una relación muy alta entre el daño del ADN y la morfología espermática.

Conclusión: Consideramos que es importante realizar esta prueba complementaria a todos los pacientes con algún parámetro alterado para así saber qué protocolo seguiremos si se somete a un ciclo de reproducción, aumentando de esta forma las expectativas de embarazo.

Palabras clave: Fragmentación de ADN espermático. Calidad seminal. SCD (*sperm chromatin dispersion*). Esterilidad masculina.

ABSTRACT

Association between seminal parameters and sperm DNA fragmentation

Objective: The objective of our study was to evaluate the DNA fragmentation in patients who consult for infertility and voluntary donors, and see if there is any correspondence between the various seminal parameters and DNA damage.

Method: We analyzed the DNA fragmentation of 212 seminal samples from patients who were subjected to in vitro fertilization cycles, comparing the various alterations concentration, motility and morphology of individual and their combinations.

Results: More than 50% of patients who had a single alteration as concentration and motility showed fragmented DNA. In cases showing only altered morphology only 11% showed fragmentation.

Discussion: The data presented in this study prove a clear link between the seminal quality and sperm DNA fragmentation in relation to the concentration and mobility. On the other hand we did not find a relationship between high DNA damage and sperm morphology.

Conclusion: We consider important to make this additional test to all patients with any parameters altered to select the best protocol in a reproductive cycle.

Key words: Sperm DNA fragmentation. Seminal parameters. SCD (*sperm chromatin dispersion*). Male infertility.

INTRODUCCIÓN

Una de las causas más comunes de esterilidad en cualquier pareja con fallos reproductivos es la pobre calidad seminal¹. Sin entrar en el debate de su prevalencia resulta obvio que en el estudio básico del varón se

Correspondencia: Dra. M. Dorado Silva
Farmacéutico Murillo Herrera, 3.
41010 Sevilla. España.
Correo electrónico: mdorado@ginemed.es

debe solicitar un seminograma, en el que se analizarán parámetros como concentración, movilidad y morfología, principalmente. Con los avances en técnicas de reproducción asistida se hace necesario profundizar más en el estudio seminal, porque queda patente que el seminograma básico no es suficiente para evaluar con precisión la calidad del espermatozoide.

Con la introducción de la ICSI (inyección espermática intracelular) se observó una tendencia a minimizar la importancia de los parámetros seminales basándose en unos resultados aparentemente independientes de la calidad del semen empleado. “Cualquier semen puede ser válido para ICSI si hay al menos unos pocos espermatozoides en él” se decía. Sin embargo, el paso del tiempo ha devuelto protagonismo al estudio del varón, el llamado “factor masculino”. Ya con el incremento de experiencia en ICSI, se hizo evidente que hay paciente cuyos espermatozoides muestran fallos repetidos para formar embriones viables, independientemente de que sean capaces de fecundar al óvulo².

La fertilización involucra la interacción directa del espermatozoide y el óvulo, la fusión de las membranas celulares y la unión de los genomas. La complejidad de este proceso y el desarrollo posterior del embrión dependen, en parte, de la integridad del ADN espermático. Parece que el daño del ADN, es decir, el anormal empaquetamiento o la deficiencia de protaminas en él, resulta clave para el desarrollo embrionario y es un factor limitante en la tasa de embarazo³. Un mal empaquetamiento de ADN espermático parece correlacionarse con un efecto paterno tardío, provocando fallos de implantación o pérdidas tempranas de embarazos^{4,5}.

Por otro lado, una característica del semen de varones infértiles, principalmente con oligoastenozoospermia, es la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno (ROS, del inglés: *reactive oxygen species*)⁶. Una consecuencia de esas especies es el daño que se produce en la membrana plasmática del espermatozoide, que conlleva un descenso en el porcentaje de embarazos, tanto in vivo como in vitro⁷⁻⁹. Las ROS no sólo dañan los lípidos de las membranas plasmáticas de los espermatozoides sino también a otras estructuras, particularmente el ADN¹⁰⁻¹³. Aunque no está demostrado que el daño en el ADN del espermatozoide se relacione con un fallo de fertilización, no se puede descartar la transmisión de esa alteración al embrión⁶.

El ácido ascórbico protege al ADN espermático del daño provocado por el estrés oxidativo exógeno. Según los estudios de Gyun et al, hay una correlación entre los valores de este ácido en el plasma seminal y el porcentaje de ADN desnaturalizado en el espermatozoide (DFI, del inglés: *DNA fragmentation index*), los pacientes con un DFI alterado presentan un défi-

cit. Estos pacientes con bajos valores de ácido ascórbico también presentan los parámetros seminales convencionales alterados¹⁴.

El objetivo de nuestro estudio es evaluar la fragmentación del ADN de los pacientes que consultan por esterilidad y de los donantes voluntarios, y tratar de evidenciar alguna relación con los diferentes patrones de alteraciones seminales.

MÉTODO

El estudio se ha llevado a cabo analizando 212 muestras seminales de pacientes que iban a ser sometidos a ciclos de reproducción asistida 2 meses antes de la iniciación. Las muestras normozoospermicas se obtuvieron de donantes voluntarios. En todos los casos se guardó una abstinencia de 3 a 5 días, las muestras se obtuvieron por masturbación en recipiente estéril y analizadas en menos de 1 h desde su obtención.

Las muestras se dejaron 20 min que licuaran a 30 °C, a continuación se realizó el análisis de la concentración ($\times 10^6/\text{ml}$) y movilidad (en %) en una cámara Makler con un volumen de 5 μl .

La morfología se estudió sobre una extensión de 5 μl de semen fresco teñido con diff quik. Las formas normales se consideran las que tienen un acrosoma bien definido que ocupa del 40-70% de la cabeza, no tienen defectos de cuello, pieza intermedia o cola y las medidas de la cabeza son 5-6 μm de largo y entre 2,5-3,5 μm de diámetro.

Preparación de las muestras seminales

El análisis de la fragmentación se llevó a cabo en muestras sin capacitar por el SCD (*sperm chromatin dispersion*) (halosperm) según el manual.

Determinación de fragmentación

La tinción se realizó con diff quik y el conteo se llevó a cabo en un microscopio óptico con objetivo de 100 $\times$ bajo aceite de inmersión. En cada muestra se contabilizó un total de 500 espermatozoides, separados en:

- Espermatozoides con halo grande: espermatozoides cuyo grosor del halo es igual o mayor a la longitud del diámetro menor del core.
- Espermatozoides con halo mediano: el grosor del halo está comprendido entre mayor que un tercio del diámetro menor del core y menor que el diámetro menor del core.
- Espermatozoides con halo pequeño: el grosor del halo es igual o menor que un tercio del diámetro me-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/916157>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/916157>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)