



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

Asignatura:

Aspectos Inmunológicos del Proceso Reproductivo

Año: 2020

“Bioquímica del plasma seminal”

Alumnos:

Bassetto Aneley

Belluccini Luisina

Brun María Florencia

Garbuglia María Paula

Lamagni Ernesto

Marchetti Antonella

Mout Pablo Santiago

Sabas Sibila

Docente: Adriana Brufman

Bioquímica del plasma seminal

El plasma seminal se compone de las secreciones de las vesículas seminales, secreción prostática y secreción del epidídimo. Existen varios marcadores bioquímicos de la función de las glándulas accesorias.

Próstata	Epidídimo	Vesículas seminales.
<ul style="list-style-type: none">· Citrato· Zinc· γ- glutamiltranspeptidasa· Fosfatasa ácida.	<ul style="list-style-type: none">· α -1,4 glucosidasa neutra· L-carnitina.· Glicerilfosforilcolina	<ul style="list-style-type: none">· Fructosa· Prostaglandinas

La elección de los marcadores bioquímicos se basa, no en su papel o interés fisiológico, sino únicamente en que sea producido específicamente mediante una de las glándulas anexas o una zona muy determinada del tracto genital masculino.

Es posible localizar una afección del tracto genital en función de la disminución de un determinado marcador, teniendo en cuenta que:

- cada glándula posee su marcador específico.
- Si una glándula está afectada, hay disminución de la concentración de su marcador
- Esta disminución no es compensada porque no hay mecanismos de regulación homeostática.
- Si hay obstrucción a nivel del tracto, las secreciones de las glándulas situadas más arriba no se pueden evacuar y se observará una disminución del marcador correspondiente.

Capacidad secretoria de la próstata: la cantidad de zinc, ácido cítrico o fosfatasa ácida da una medida confiable de la secreción de la próstata y hay buena correlación entre estos marcadores.

Todos aumentan cuando se produce una exclusión del fluido de la vesícula seminal en el eyaculado, y disminuyen en la atrofia prostática por insuficiencia androgénica grave, prostatitis severa y obstrucción del canal prostático.

- Ácido cítrico: su producción es estimulada por la testosterona. Sus valores disminuyen en estados inflamatorios o neoplásicos de la próstata y aumentan ante una insuficiencia de las vesículas seminales sugiriendo que todo el semen es de origen prostático.
- Fosfatasa ácida.
- Zinc: presenta un rol en la estabilización de la membrana celular y la cromatina nuclear del espermatozoide. El zinc presenta propiedades antioxidantes que participan en la neutralización de especies reactivas del oxígeno, las cuales son una de las principales causas de disfunción espermática debido a las alteraciones que producen en la fluidez e integridad de la membrana

plasmática del espermatozoide, lo cual se traduce en alteraciones en la movilidad y morfología del espermatozoide, y a su papel en la fragmentación del ADN. El zinc también tiene propiedades antibacterianas.

Sus valores disminuyen en prostatitis y se elevan en la agenesia bilateral de conductos deferentes u obstrucción de los conductos eyaculadores, como así también en el hipogonadismo.

- Antígeno prostático específico: participa en la licuación del fluido seminal para permitir la movilidad espermática. En condiciones fisiológicas normales una pequeña cantidad filtra hacia la circulación sanguínea donde alcanza una concentración no mayor a los 4,0 ng/mL. Niveles elevados de PSA en suero se asocian a cáncer de próstata, hipertrofia prostática benigna o inflamación genitourinaria.

Capacidad secretoria de las vesículas seminales: la presencia de fructosa en el semen refleja la función secretoria de las vesículas seminales.

Capacidad secretoria del epidídimo: L-carnitina, glicerilfosforilcolina (GPC) y α -glicosidasa son los marcadores de secreción epididimaria usados clínicamente.

De la α -glicosidasa hay dos isoenzimas en el plasma seminal: la forma predominante es neutra y se origina en el epidídimo mientras que la forma menor, ácida, proviene de la próstata. La forma neutral es más específica y sensible de desórdenes del epidídimo que la L-carnitina o la GPC.

- α -glicosidasa: sus niveles descienden en las obstrucciones bilaterales de las colas de los vasos deferentes.
- L-carnitina: presenta valores disminuidos en todos los trastornos epididimarios, como varicocele y en las obstrucciones de la cola de los vasos deferentes.
- glicerilfosforilcolina (GPC): marcador específico de la cabeza de los conductos deferentes. Sus niveles descienden en obstrucciones bilaterales de dicha zona.

Métodos de cuantificación.

Obtención del plasma seminal

Después de analizar el semen se toma una alícuota de la muestra que queda y se centrifuga durante 10 minutos a 1000 g. Posteriormente se decanta el plasma seminal del sobrenadante y se conserva congelado a -20° C hasta su procesamiento.

Pretratamiento del plasma seminal:

- Determinación de L-carnitina, hay dos posibilidades: realizar previamente la desproteínezación con ácido perclórico, seguida de una neutralización, o bien se realiza una desproteínezación por paso a través de membrana de filtración MiliporeTM, que elimina las proteínas del plasma seminal.
- Determinación de fructosa y citrato, se realiza una desproteínezación seguida de una neutralización.

- Determinación de zinc, fosfatasas ácidas, α -1,4 glucosidasas, se realiza directamente en el plasma seminal o después de una dilución en NaCl 0.15M.

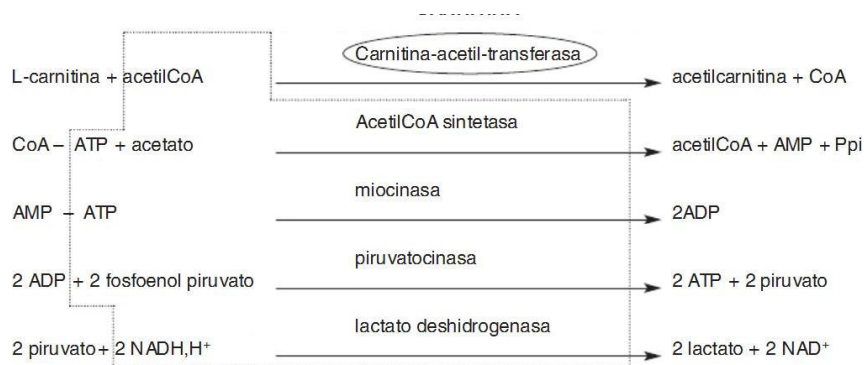
Técnicas UV a 340 nm

Permite la cuantificación de tres sustratos, carnitina, fructosa y citrato a través de una cascada de reacciones enzimáticas a 37 °C. La última reacción consiste en la formación o el consumo de NADH₂ o a NADPH₂, que se mide por la variación a punto final de la absorbancia por espectrofotometría UV a 340 nm. La detección se desarrolla en dos tiempos:

Se incuba en primer lugar el plasma seminal con el reactivo 1 que contiene el tampón de reacción, los sustratos anexos necesarios y las diferentes enzimas de la cascada, excepto la primera enzima.

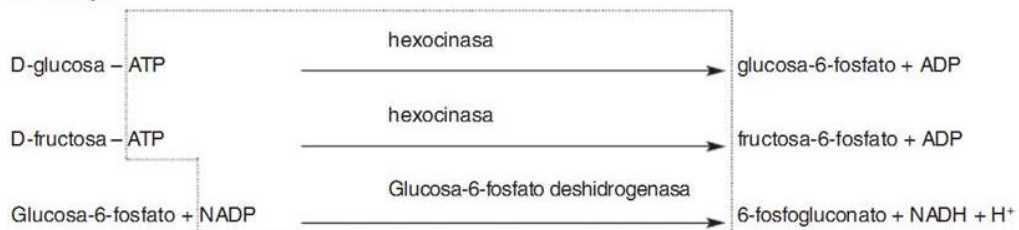
Luego se añade el reactivo 2, reactivo desencadenante, conteniendo la primera enzima que inicia la cascada de reacciones. Se efectúa la medida al final de la reacción, cuando se agota el sustrato inicial.

- L-Carnitina

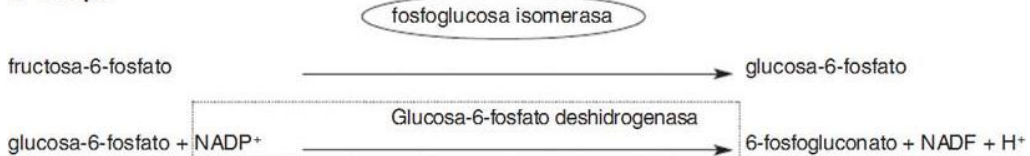


- Fructosa

1.º tiempo



2.º tiempo

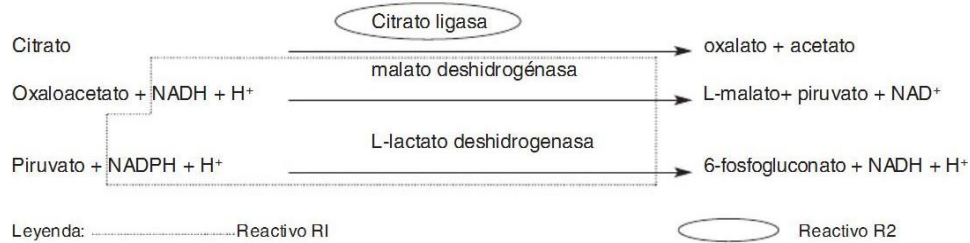


El esperma, aunque poca, contiene glucosa que debe ser eliminada por ser una interferencia. Así, el primer reactivo contiene la hexoquinasa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa que consume toda la glucosa presente en la muestra. La primera determinación realizada tiene en cuenta el NADH₂ formado a partir de esta glucosa.

Luego, la fosfoglucoisomerasa, contenida en el segundo reactivo, da lugar a la continuación de la determinación específica de la fructosa.

Por diferencia de las dos medidas de absorbancia, se consigue la cuantificación de la fructosa.

- Citrato



Técnicas colorimétricas

- *L-Carnitina*: se mide la formación de CoASH después de la acción de la carnitina acetil transferasa sobre el acetilCoA y sobre la L-carnitina de la muestra. El CoASH formado reacciona con el DTNB para formar el anión 5-tio-2-nitrobenzoato amarillo que absorbe a 405 nm.
- *Fructosa*: en condiciones de calor y acidez reacciona con el indol formando un complejo coloreado que absorbe a 470 nm.
- *Zinc*: forma con el 5-Br-PAPS un complejo coloreado el cual se mide a punto final a 560 nm.
- *Fosfatasa ácida*: un sustrato específico, el α -naftilfosfato, es hidrolizado a 37°C, acabando en la formación de un compuesto azóico coloreado. Es un método cinético colorimétrico: se mide el aumento medio de densidad óptica por minuto a 405 nm durante 3 minutos (método de Hillmann modificado).
- *α -1,4 Glucosidasa neutra*: la actividad enzimática es medida por hidrólisis a pH 6,8 y a 37°C del p-nitrofenilglucopiranosido en p-nitrofenol, que al añadirle carbonato sódico se transforma en un producto amarillo medible por su absorbancia a 405 nm. Para que la medida de esta isoenzima sea específica, se utilizan dos inhibidores: El dodecilsulfato de sodio, SDS, que inhibe la actividad de la isoenzima α -glucosidasa ácida prostática. La castanospermina, alcaloide que inhibe todas las actividades hidrolásicas del esperma y permite realizar un blanco de muestra. La actividad de la α -1,4-glucosidasa neutra es fácil de medir, rápida, sensible y específica.

Expresión de resultados

Los valores normales de los marcadores seminales varían de un laboratorio a otro, en función de las técnicas utilizadas. Cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores usuales. Tienen que ser establecidos a partir de esperma procedente de sujetos que ya hayan procreado. Los resultados se expresan en concentración o en cantidad por eyaculado.

Bibliografía:

- WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4ª Ed. (2001).
- WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 5ª Ed. (2010).
- Manual de laboratorio para el análisis del semen - M^a José López García, Aurora Urbano Felices, Marta Cárdenas Povedano - 2012 1^{ra} Ed.