

SUSTANCIAS REACTIVAS DEL OXÍGENO EN SEMEN

INTEGRANTES:

Borsini Ana

Casanova Melina

Elvira Tania

Ibarra Guadalupe

Maiztegui Pilar

Redigonda Maida

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS
Y FARMACÉUTICAS

· Aspectos Inmunológicos del Proceso
Reproductivo- 2020·

Grupo 2



Sustancias reactivas del oxígeno en semen

Entre parejas incapaces de concebir, la infertilidad es parcial o totalmente atribuible a un factor masculino en aproximadamente el 50% de los casos. En la evaluación de rutina, la etiología precisa del factor infertilidad del varón permanece indefinido en 30% a 50% de pacientes, que posteriormente se clasifican como con infertilidad masculina idiopática. Ésta se diagnostica en presencia de características del semen alterado sin una causa identificable y ausencia de infertilidad por factor femenino.

En casos de infertilidad masculina idiopática es frecuente encontrar en el semen elevadas concentraciones de especies reactivas del oxígeno (ERO).

Los niveles patológicos de ERO detectados en el semen de hombres infértiles generalmente se deben a un incremento en la producción y no a una reducción en la capacidad antioxidante del plasma seminal.

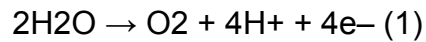
Uno de los efectos de las ERO es la alteración de la membrana celular mediante peroxidación lipídica (PL). Este proceso fisiopatológico tiene como resultado una cascada de profundos cambios degradativos que afectan la organización y función de la membrana del espermatozoide humano, producen rupturas del ADN y degradación proteica, que puede afectar el potencial del espermatozoide para fertilizar un óvulo y convertirse en un embrión sano. Una evaluación adecuada del potencial reproductivo masculino debe incluir una evaluación del estrés oxidativo de los espermatozoides.

En la capacitación espermática, las ERO también juegan un papel decisivo ya que se ha comprobado que bajo condiciones fisiológicas y de forma controlada, la producción de ERO es de vital importancia para la adquisición de la capacidad fecundante del espermatozoide

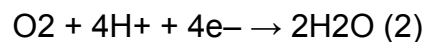
Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos

El oxígeno molecular (O₂) es uno de los gases más importantes de la Tierra. Constituye el 21% de la atmósfera, 89% del peso del agua del mar y al menos el 47% de la corteza terrestre.

El oxígeno atmosférico es producido por la oxidación del agua por el complejo de ruptura del agua del fotosistema I de las células fotosintéticas durante la fase luminosa de la fotosíntesis



En los organismos aerobios el oxígeno es el último aceptor de los electrones en la cadena respiratoria en donde se forma agua. La enzima citocromo c oxidasa, el complejo IV de transporte de electrones, reduce completamente el oxígeno a agua por la adición de cuatro protones y 4 electrones.



Este complejo reduce completamente al oxígeno y no libera especies parcialmente reducidas. Las reacciones 1 y 2 establecen un ciclo entre los organismos productores y consumidores de oxígeno. Acoplado al proceso de respiración o consumo de oxígeno, las células sintetizan la mayor parte del adenosín trifosfato (ATP) que se requiere para los diversos procesos celulares. A estos dos procesos acoplados se le conoce como fosforilación oxidativa.

El oxígeno no sólo se requiere en la respiración; hay muchas enzimas que también lo utilizan. Además el oxígeno juega un papel esencial en la química de los radicales libres.

Radicales libres

Un radical libre (RL) se define como cualquier especie química, ya sea atómica o molecular, capaz de existir independientemente, que contenga uno o más electrones desapareados, ya sea por ganancia o pérdida de un electrón de un no radical o por la ruptura homolítica de una molécula:

- $\text{X} \rightarrow \text{e}^- + \text{X}^{\cdot+}$ Radical formado por la pérdida de un electrón de un no radical.
- $\text{Y} + \text{e}^- \rightarrow \text{Y}^{\cdot-}$ Radical formado por la ganancia de un electrón de un no radical.
- $\text{A:B} \rightarrow \text{A} + \text{B}$. Radicales formados por la ruptura homolítica de una molécula.

La presencia de electrones desapareados modifica la reactividad química de un átomo o de una molécula, y suele ser más reactiva que su correspondiente no radical. Los RL existen como derivados de muchos elementos o moléculas químicas, y los más importantes desde el punto de vista biológico son los derivados del oxígeno y del nitrógeno principalmente.

Tabla 4. Especies reactivas de oxígeno.

Radicales	No-radicales
Superóxido ($O_2^{\cdot -}$)	Oxígeno singulete (1O_2) forma Δ
Hidroxilo (OH^{\cdot})	Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
Peroxilo (RO_2^{\cdot})	Ozono (O_3)
Alcoxilo (RO^{\cdot})	Anión peroxinitrito ($ONOO^-$)
Hidroperoxilo (HO_2^{\cdot})	Ácido hipocloroso ($HOCl$)
	Ácido hipobromoso ($HOBr$)

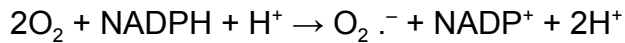
Toxicidad del oxígeno

Aunque el oxígeno es indispensable para la vida de los organismos aerobios, a altas concentraciones o bajo ciertas condiciones a la concentración normal llega a ser tóxico. La toxicidad del oxígeno se puede explicar por la formación de las especies reactivas de oxígeno (ERO). Estas especies son más reactivas que el oxígeno en su estado basal de triplete. Las principales especies son: (a) las que se producen por la ruptura o la excitación del oxígeno (oxígeno atómico, ozono y el oxígeno singulete) y (b) las parcialmente reducidas (anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo).

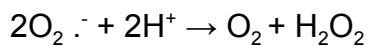
A continuación se muestran algunas de las reacciones de producción de esta ERO:

- $2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
- $HOCl + H_2O_2 \rightarrow HCl + H_2O + O_2$
- $OCl^- + H_2O_2 \rightarrow H_2O + Cl^- + O_2$

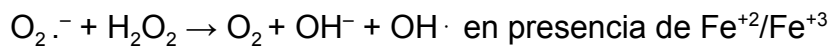
Anión superóxido: La formación del radical superóxido ocurre por la reducción univalente del oxígeno; es decir, cuando el oxígeno acepta un electrón. Esta especie es relativamente inestable y se encuentra en equilibrio con su ácido conjugado, el radical hidroperoxilo. El complejo enzimático NADPH oxidasa, localizado en la membrana citoplasmática, reduce parcialmente el oxígeno de la siguiente forma:



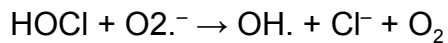
Peróxido de hidrógeno: El peróxido de hidrógeno es formado por la enzima superóxido dismutasa (SOD). Aunque no es un radical libre, tiene una gran lipofilidad que le permite atravesar las membranas celulares y reaccionar con el anión superóxido en presencia de metales de transición, para generar el radical hidroxilo. Por esta razón se le considera un oxidante importante en las células de los organismos aerobios.



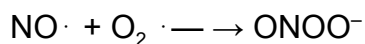
Radical hidroxilo: El radical hidroxilo es considerado una de las especies oxidantes más dañinas por su vida media corta y alta reactividad, y suele actuar en los sitios cercanos a donde se produce. La formación del radical hidroxilo puede lograrse fácilmente por la reacción de Haber-Weiss entre el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno catalizada por un metal de transición.



El radical hidroxilo también se puede formar a partir del ácido hipocloroso:

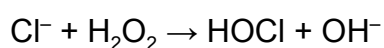


Anión peroxinitrito (ONOO⁻): Este anión puede formarse por la combinación del radical óxido nítrico (NO·) y O₂·⁻:



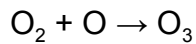
El ONOO⁻ es un potente oxidante que induce nitración de tirosina, lipoperoxidación y citotoxicidad.

Ácido hipocloroso: Las peroxidasas son un grupo de enzimas que remueven el peróxido de hidrógeno para oxidar a otro sustrato. Una peroxidasa, en este caso, la mieloperoxidasa (MPO), presente en altas concentraciones en los gránulos de los neutrófilos, cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno a ácido hipocloroso de acuerdo a la siguiente reacción:



La reacción de ácido hipocloroso y peróxido de hidrógeno puede producir oxígeno singlete.

Ozono: El ozono (O₃) es un gas triatómico de color azul pálido y constituye una capa protectora de la radiación solar en la atmósfera superior. El ozono es producido por la fotodisociación de la molécula de oxígeno lo que genera dos átomos de oxígeno monoatómicos, los cuales posteriormente reaccionan con el dióxígeno.



Hidroperoxilo: Este radical es formado cuando se lleva a cabo la dismutación espontánea del superóxido, y esto ocurre sólo cuando uno de los dos superóxidos se protona.

Peroxilo, alcoxilo: Estos radicales se forman durante la ruptura de los peróxidos orgánicos y durante la reacción de radicales con átomos de carbono con oxígeno (RO₂ .)

Estrés oxidativo

Por diversas causas puede perderse el balance entre condiciones oxidantes y defensas antioxidantes. Esto puede deberse a un aumento en la producción de ERO o bien, a una disminución en los sistemas antioxidantes o de reparación, o a una combinación de estos factores. A tal condición se le denomina *estrés oxidativo*. En esta situación se presentan daños de las macromoléculas por la ruptura o modificación de su estructura, trayendo como consecuencia una alteración en la función o incluso, la muerte de la célula.

Importancia del estrés oxidativo en los espermatozoides

El estrés oxidativo en espermatozoides, puede ser definido como el daño que sufren los espermatozoides después de que son eyaculados; cuya presencia es debido a la generación de grandes cantidades de especies reactivas al oxígeno (ERO) que se forman cuando el espermatozoide está en desventaja para regular su metabolismo de forma natural. Las ERO causan:

- daño en la membrana del espermatozoide,

- disminución de la motilidad,
- alteraciones de sus estructuras vitales como componentes citoplasmáticos, principalmente al material genético (ADN) y por lo tanto, incapacidad para llevar a cabo la fecundación del ovocito de manera normal.

Esto provoca un pobre desarrollo embrionario y baja fertilidad. Sin embargo, pequeñas cantidades de ERO son necesarias para mantener la función normal de los espermatozoides sin rebasar el sistema antioxidante del propio espermatozoide

Efecto de las ERO sobre la movilidad espermática

La patología que subyace detrás de la capacidad de los radicales libres para reducir la motilidad del espermatozoide fue informada por Jones et al., (1979), él menciona que las ERO inducen peroxidación de la membrana de espermatozoide, disminuyendo la flexibilidad y por lo tanto el movimiento de la cola. La membrana del espermatozoide es vulnerable a este tipo de daño, ya que contiene grandes cantidades de ácidos grasos insaturados. Las ERO dañan directamente a las mitocondrias, disminuyendo la energía disponible e impiden la movilidad del espermatozoide. Por cualquier mecanismo, el estrés oxidativo afecta la motilidad del espermatozoide.

El vínculo entre las ERO y su efecto sobre la movilidad espermática es debido a una cascada de eventos que resultan en una disminución en la fosforilación de las proteínas del axonema y por consecuencia la inmovilización de espermatozoide, ambos procesos están asociados con la reducción en la fluidez de membrana.

Otra hipótesis es que el H₂O₂ puede difundirse a través de las membranas en las células e inhibir la actividad de algunas enzimas tales como la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD). Esta enzima controla la velocidad de flujo de la glucosa a través de la vía hexosa monofosfato, que a su vez, controla la disponibilidad intracelular de fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH). Esto a su vez es utilizado como una fuente de electrones por los espermatozoides para la generación de la ERO por un sistema de enzima conocida como la NADPH oxidasa. La inhibición de la G6PD conduce a una disminución en la disponibilidad de NADPH y una acumulación concomitante de glutatión oxidado y glutatión reducido. Esto puede reducir las defensas antioxidantes de los espermatozoides y aumentar la peroxidación de los fosfolípidos de la membrana.

Efectos de las ERO sobre las macromoléculas biológicas

En los organismos aerobios, la producción de ERO está controlada por los mecanismos antioxidantes de defensa. Sin embargo, este equilibrio se pierde cuando hay una excesiva producción de ERO o una deficiencia de los mecanismos antioxidantes lo que conlleva a daños a las moléculas. Muchas de estas moléculas deben ser reparadas (tal como el ADN) o incluso reemplazadas (tal como muchos tipos de proteínas oxidadas).

Efectos sobre los ácidos nucleicos

Las ERO dañan al ácido desoxirribonucleico (ADN) al reaccionar con las bases nitrogenadas y con la desoxirribosa. El daño oxidativo al ADN es de extrema importancia, debido a que las bases nitrogenadas dañadas pueden generar mutaciones que a su vez pueden resultar en carcinogénesis, apoptosis, necrosis y enfermedades hereditarias. Se han detectado más de 20 tipos de modificaciones estructurales de las bases y se ha observado que en presencia de las ERO se fragmenta el ADN y aparecen fragmentos internucleosomales, formados por la ruptura de ADN entre los nucleosomas, ocasionando problemas en la compactación y enrollamiento del ADN dentro de la cromatina y con ello, alteraciones en las propiedades funcionales de la misma cromatina, la cual juega un papel importante en la regulación de la transcripción génica. Existen mecanismos de reparación del ADN que se activan en el momento en que éste sufre modificaciones oxidativas. Cuando las ERO alcanzan el núcleo o se generan dentro de este por reacción de Fenton, estos mecanismos de reparación funcionan de manera eficiente, ya que continuamente revisan que exista una adecuada secuencia de bases en la molécula de ADN y en caso de existir alguna mutación (ya sea ruptura, entrecruzamiento o eliminación de bases) reparan el daño causado.

Fragmentación del ADN espermático

La fragmentación del ADN consiste en interrupciones en las cadenas simples o dobles. La transferencia de la molécula de ADN íntegra e intacta desde el

espermatozoide al óvulo es esencial para conseguir una fecundación con ciertas perspectivas de éxito. Una ruptura podría llevar a alteraciones en la fertilización, en el desarrollo embrionario y fetal e incluso puede afectar la salud de la descendencia. Aproximadamente el 25% de hombres infértiles tienen elevado porcentaje de fragmentación del ADN. Este daño es multifactorial y puede producirse en cualquier etapa del proceso espermatogénico.

Altos niveles de ERO alteran la movilidad y la morfología espermática, provocan fragmentación del ADN que puede acelerar el proceso de apoptosis de las células germinales, disminuyendo la concentración espermática con el consecuente deterioro de la calidad seminal.

La fragmentación del ADN espermático inducida por el radical OH resulta en la formación de 8-OH-guanina y 8-OH-2' deoxiguanosina en un primer estadio seguido de fragmentación del ADN de cadena doble. Mientras que el daño del ADN en el primer estadio podría ser reparado por el ovocito, la fecundación del ovocito por un espermatozoide con fragmentación del ADN de cadena doble es prácticamente irreversible e incompatible con el desarrollo normal del embarazo. La magnitud del daño inducido por radicales libres durante el tránsito espermático por el epidídimo depende de los niveles de radicales libres producidos por espermatozoides inmaduros, la presencia de células epiteliales o de leucocitos activados en el epidídimo y de los niveles de enzimas antioxidantes presentes en la luz del epidídimo.

Los espermatozoides más vulnerables son los que poseen menor grado de entrecruzamiento de puentes disulfuro en la cromatina. La fragmentación del ADN en los espermatozoides eyaculados es más elevada que en los espermatozoides testiculares o epididimarios. El epidídimo posee un mecanismo selectivo que elimina los espermatozoides genéticamente defectuosos

Efectos sobre los lípidos

El efecto principal de las ERO sobre los lípidos es la lipoperoxidación, que se produce al contacto con los lípidos de las membranas con un agente oxidante, como

cualquiera de las ERO. En esta reacción el radical libre formado oxida una cadena insaturada de lípido, dando la formación de un lípido hidroperoxidado y un radical alquilo. El alquilo reacciona con una molécula de oxígeno y regenera la especie inicial, constituyendo una reacción que se repite. Esta lipoperoxidación trae como consecuencia alteraciones en la estructura de la membrana, afectando su fluidez y provocando daño en su integridad. La peroxidación de los lípidos genera especies citotóxicas, que pueden funcionar como agentes electrofílicos capaces de interactuar con otros componentes celulares, principalmente proteínas y ADN.

Efectos sobre las proteínas

Uno de los aspectos más críticos del estrés oxidativo es el daño causado a las proteínas, debido a que puede causar la pérdida de la actividad catalítica de enzimas, daños en la integridad de proteínas estructurales o interrumpir la regulación de las vías metabólicas. Los sistemas de reparación de las proteínas sólo se limitan a los residuos de metionina, por lo que las proteínas oxidadas deben ser hidrolizadas para evitar su difusión en la red metabólica o su interacción con otras proteínas. Los efectos de las ERO sobre las proteínas son: la oxidación de residuos de los aminoácidos, el rompimiento de los enlaces peptídicos y la agregación entre proteínas.

Efecto de las ERO en la capacitación espermática

La capacitación espermática se puede definir como el conjunto de modificaciones a nivel molecular que ocurren en el espermatozoide, después de la maduración en el epidídimo, y que le confieren la capacidad de fertilizar al ovocito. Es un evento asincrónico. En humanos solamente el 10% de los espermatozoides están capacitados a un tiempo dado. Este proceso se asocia a:

- modificaciones en la composición y fluidez de la membrana plasmática;
- cambios en las concentraciones iónicas intracelulares;
- incremento en la fosforilación proteica;
- generación de niveles bajos y controlados de ERO.

La producción de anión O_2^- por los espermatozoides es un evento temprano en el proceso de capacitación. Las ERO regulan la actividad de enzimas implicadas en la síntesis de AMP cíclico y en la fosforilación de proteínas en residuos serina y treonina asociada con el eflujo de colesterol. Estos hallazgos manifiestan que numerosos cambios a nivel de la membrana plasmática junto con la activación de varias vías de señalización intracelular son necesarios para que el espermatozoide adquiera la capacidad de responder a los estímulos inductores de la exocitosis acrosomal.

Mecanismos antioxidantes de defensa a nivel celular y extracelular

Un antioxidante es cualquier sustancia que a bajas concentraciones, comparado con el sustrato oxidable, retarda o previene significativamente la oxidación de ese sustrato. Los antioxidantes se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Agentes que catalíticamente remueven los RL y a otras especies reactivas. Ejemplos: enzimas SOD, catalasa, peroxidasas y antioxidantes específicos para el grupo tiol.
- Proteínas que abaten la disponibilidad de los prooxidantes tal como los iones de hierro o cobre, y el grupo hemo. Ejemplos: ferritina, transferrina, haptoglobinas, hemopexina y metalotioneína. Esta clasificación incluye proteínas que oxidan el ion ferroso, como la ceruloplasmina. La ferritina es una proteína intracelular que almacena hierro. La transferrina transporta hierro en los fluidos extracelulares.
- Proteínas que protegen biomoléculas contra el daño (incluyendo estrés oxidativo) por otros mecanismos. Ejemplo: proteínas de choque térmico localizadas en retículo endoplásmico, periplasma y citoplasma. Tienen como función la estabilización y cobertura de la estructura proteica parcialmente plegada.
- Agentes de bajo peso molecular que atrapan ERO y ERN (Especies reactivas de nitrógeno). Ejemplos: glutatión, α -tocoferol, bilirrubina y ácido úrico. Algunos agentes antioxidantes de bajo peso molecular que provienen de la dieta, especialmente la vitamina C y el α -tocoferol, están íntimamente relacionados con la nutrición y la defensa antioxidante

Evaluación de ERO

El daño oxidativo se puede medir de forma directa o indirecta.

- ❖ Métodos directos: se ha tratado de medir la concentración de agentes oxidantes en el organismo, pero es dificultoso debido a que tienen una vida media muy corta. Las técnicas de quimioluminiscencia aplicadas en la detección de ERO han incorporado la peroxidasa del rábano para aumentar la eficiencia de la reacción. Estos ensayos utilizan un luminómetro a 37°C, se exponen los espermatozoides a una solución de luminol en dimetil sulfoxido y se monitorea la señal quimioluminiscente. La medición de ERO es sencilla pero requiere de luminómetros muy sensibles capaces de medir señales quimioluminiscentes de metabolitos oxígeno reactivos⁽²²⁾.
- ❖ Métodos indirectos: Evalúan las ERO midiendo los productos terminales de su acción oxidante sobre las proteínas, los lípidos y el ADN. Para cuantificar los compuestos que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (ATB) se aplica un método espectrofotométrico que mide la generación de MDA como mayor producto del desdoblamiento de los hidroperóxidos estimulado con hierro y ascorbato en presencia de ATB. El hierro induce una rápida ruptura de los peróxidos preexistentes en el plasmalema, por lo que la medida de la peroxidación es un indicador del grado de EO experimentado por una población de espermatozoides. Este método tiene poca sensibilidad y la conversión a MDA no es total⁽²²⁾.

El MOST estima la resistencia de los espermatozoides a la lipoperoxidación. Este ensayo funcional mide los cambios en la movilidad espermática luego de incubar los espermatozoides móviles, obtenidos post swim-up, a temperatura de 40°C. El MOST permite además predecir fallas de la fertilización de origen espermático sobre ovocitos humanos y se aplica en prácticas de reproducción asistida. El valor de corte del ensayo MOST se estableció en 0,40 porque presenta índices máximos de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos de la prueba. Los niveles bajos de MOST (< 0,40) reflejan un aumento de la PL que altera la capacidad fertilizante del varón.

Dado su limitada utilidad clínica del análisis de semen convencional y las consecuencias patológicas y la ubicuidad del estrés oxidativo entre la población masculina subfétil, proponemos la incorporación del potencial de oxido reducción (ORP) como un biomarcador clínico útil para la infertilidad masculina por estrés oxidativo en hombres con análisis de semen anormal y infertilidad masculina. El ORP se puede utilizar para medir los niveles de reductores (antioxidantes) y oxidantes en una variedad de fluidos biológicos y podría convertirse en un componente adjunto del análisis de semen debido a su robusta asociación con la función deficiente de los espermatozoides. Un número de ensayos disponibles para medir el estrés oxidativo, incluida la quimioluminiscencia para ERO, la capacidad antioxidante total para antioxidantes y el ensayo de malondialdehído para post-hoc. daño por peroxidación lipídica. Aunque útil, estas pruebas son difíciles de incorporar al uso rutinario porque son costosos, complejos y sensibles al tiempo, y también pueden requerir instrumentación compleja y una amplia formación técnica. Además, los resultados del ensayo no se correlacionan entre sí y proporcionan solo un marcador único de estrés oxidativo: niveles de oxidante, niveles de antioxidante o daño post-hoc. Hasta la fecha, la medición de ERO en el semen no es frecuentemente utilizada ya que, dependiendo del método para la evaluación de ERO, puede ser propenso a variabilidad intra e interlaboratorio, tiempo de respuesta elevado y costes elevados. El advenimiento de nuevas tecnologías que rápidamente detectan el estrés oxidativo seminal a través de la evaluación de potencial de oxidación-reducción (ORP) de manera reproducible utilizando un analizador de mesa puede permitir un diagnóstico preciso y rentable de MOSI. El sistema oxidativo de la infertilidad masculina (MiOXSYS) es un ensayo desarrollado recientemente para la evaluación de ORP. La prueba de ORP es novedosa en el área de infertilidad y se basa en una medida galvanostática de electrones. MiOXSYS ha sido desarrollado para una fácil y rápida medición del ORP en el semen. Varios estudios han validado la reproducibilidad y confiabilidad del MiOXSYS en la medición de los niveles de ORP en muestras de semen de pacientes evaluados por infertilidad masculina.

Más importante aún, los niveles de ORP ha demostrado tener una correlación negativa significativa con concentración de espermatozoides, motilidad de los espermatozoides, morfología normal y recuento de motilidad total. Los niveles de ORP también son significativamente correlacionado positivamente con la

fragmentación del ADN del esperma, aunque los niveles normales de fragmentación de ADN espermático no excluyen la presencia de estrés oxidativo.

Alteraciones seminales asociadas a ERO

Oligozoospermia y criptorquidia

La oligozoospermia se caracteriza por una baja concentración de espermatozoides en el semen, se considera moderada cuando es menor a 15 millones de espermatozoides/ml de semen y severa cuando es menor a 5 millones de espermatozoides/ml. La oligozoospermia idiopática es diagnosticada por exclusión de otras patologías o alteraciones, tales como varicocele, criptorquidia, obstrucción parcial de la vía seminal, presencia de anticuerpos antiespermáticos (AAE). Existen hallazgos clínicos y de laboratorio que se asocian a oligozoospermia, los cuales incluyen: edad, patología inflamatoria y autoinmune, disfunciones hormonales, ingesta de alcohol, factores genéticos y ambientales. Varios autores demostraron que los espermatozoides de pacientes con oligozoospermia idiopática o con antecedentes de criptorquidia, producen niveles elevados de ERO con incremento significativo en la extensión del daño en el ADN.

La **criptorquidia** es una patología congénita que afecta el 4 a 5% de niños recién nacidos. La exposición del testículo a la temperatura corporal altera el proceso espermatogénico, y además representa un factor de riesgo de cáncer testicular⁽³⁵⁾.

Varicocele

El varicocele es una dilatación anómala de las venas del plexo pampiniforme, las cuales desempeñan una función importante en el mantenimiento de la temperatura testicular mediante un mecanismo de intercambio contracorriente con la arteria espermática, manteniendo la temperatura gonadal aproximadamente en 35°C. El éstasis venoso y la acumulación de desechos tóxicos que produce esta lesión vascular alteran la función testicular. Varios investigadores reportaron que el varicocele está asociado con elevados niveles de ERO producidos por el espermatozoide y disminución de la capacidad antioxidante del plasma seminal.

Otros autores con la finalidad de verificar si la determinación de ERO en semen tiene un valor predictivo sobre la probabilidad de desarrollar atrofia testicular y alteraciones espermáticas, estudiaron en pacientes con varicocele la asociación entre altos niveles de ERO, el grado de varicocele y el volumen testicular. Observaron asociación directa entre los niveles de ERO y el grado de varicocele pero no encontraron asociación con el grado de atrofia testicular.

Por otra parte estudios de la calidad y la funcionalidad espermática en hombres con varicocele, mostraron menor porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva, mayor porcentaje de gametas masculinas muertas, aumento de alteraciones en la morfología espermática y disminución del porcentaje de espermatozoides con membrana funcional. El varicocele altera parámetros seminales relacionados con la funcionalidad espermática deteriorando la capacidad reproductiva masculina.

Por lo que la determinación del estrés oxidativo o presencia de ERO en espermatozoides de eyaculados, podría ser una herramienta diagnóstica a considerar en la identificación de la etiología de la infertilidad del macho reproductor.

En este trabajo, se hace una pequeña revisión del estrés oxidativo en espermatozoides, efecto de las ERO en la motilidad espermática y ADN, y algunas técnicas para diagnosticar la presencia de ERO en espermatozoides.

La espermatogénesis es un proceso sumamente activo, capaz de generar aproximadamente 1.000 espermatozoides por segundo. Las altas tasas de división celular inherente a este proceso implican correspondientemente altas tasas de consumo de oxígeno mitocondrial por el epitelio germinal. Sin embargo, la pobre vascularización de los testículos provoca que la concentración de oxígeno en este tejido sea baja y que la competencia para este elemento vital dentro de los testículos se intensifique. Además, durante la espermatogénesis y la esteroidogénesis, las células de Leydig son vulnerables al estrés oxidativo, debido a la pérdida del potencial de membrana mitocondrial (Shiraishi and Naito, 2005). Por lo que la baja concentración de oxígeno que caracteriza a este tejido, podría ser un componente importante del mecanismo por el cual el testículo se protege de los daños que causan los radicales libres

RELACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL ESPERMA CON LOS NIVELES DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EN MUESTRAS DE SEMEN

Los niveles de especies reactivas de oxígeno se compararon en muestras de semen de hombres presuntamente subfértiles y de voluntarios normales, y se correlacionaron con otros parámetros del semen.

La formación de especies reactivas de oxígeno se midió en muestras de semen que no tenían glóbulos blancos mediante un ensayo de quimioluminiscencia con un luminómetro.

Se evaluó la relación de las especies de oxígeno reactivo seminal con varios parámetros del espermatozoide. Se analizaron un total de 84 muestras de 69 hombres sospechosos de subfertilidad y 15 voluntarios normales para determinar la producción de especies reactivas de oxígeno.

La comparación de los niveles de especies reactivas de oxígeno en las muestras de pacientes y donantes con glóbulos blancos negativos mostró un valor ($p < 0,005$) en el grupo de pacientes.

De manera similar, los niveles en las muestras de pacientes y donantes con movilidad espermática normal fueron significativamente más bajos ($p < 0,005$) que los de las muestras que mostraban una motilidad deficiente.

Los niveles de especies de oxígeno reactivo seminal de pacientes con leucocitos negativos con morfología anormal fueron significativamente más altos ($p < 0,005$) que los de los pacientes con leucocitos negativos con morfología normal.

Los resultados muestran que los niveles de especies de oxígeno reactivo seminal en hombres con sospecha de subfértiles son significativamente más altos que en hombres normales, y que la presencia de especies reactivas de oxígeno en exceso en el semen se correlaciona positivamente con una baja concentración de espermatozoides, mala motilidad y mala morfología.

En conclusión, la evaluación de los niveles de especies reactivas de oxígeno en casos de infertilidad masculina idiopática podría servir como un marcador importante de disfunción espermática.

El mayor nivel de especies reactivas de oxígeno producidas por espermatozoides dañados o deficientes se asoció con una pérdida de motilidad y una disminución de la capacidad de fusión de espermatozoides y ovocitos.

Se propuso que la peroxidación lipídica de la membrana del espermatozoide y la alta toxicidad de los peróxidos de ácidos grasos generados eran responsables de la disminución de las funciones del espermatozoide observadas después de la exposición a especies reactivas de oxígeno.

Varios investigadores han demostrado que los niveles de especies reactivas de oxígeno son significativamente más altos en pacientes con infertilidad masculina idiopática y es bien sabido que los glóbulos blancos activados en el semen producen cantidades excesivas de especies reactivas de oxígeno.

Los estudios anteriores no proporcionaron una prueba definitiva para vincular los espermatozoides con la generación de especies reactivas de oxígeno, ya que las muestras de semen no se analizaron para detectar la presencia de glóbulos blancos.

Se comparó los niveles de especies reactivas de oxígeno en muestras de semen negativas para glóbulos blancos de hombres con sospecha de subfértiles y muestras de semen de donantes normales.

Se estudió la correlación entre la formación de especies reactivas de oxígeno y la concentración de espermatozoides, la velocidad, la motilidad, la morfología, la prueba de hinchazón hipoosmótica y los resultados de la prueba de penetración del moco bovino-cervical.

Resultados

Un total de 84 muestras (69 pacientes y 15 donantes) fue probado para la generación de especies reactivas de oxígeno (media y pico)

Entre 69 pacientes, 51 muestras fueron negativas y 18 fueron positivas para glóbulos blancos (mayor de 1×10^6 / ml.).

Entre los donantes, 13 muestras fueron negativas y 2 positivas para glóbulos blancos.

De 51 muestras de pacientes con leucocitos negativos: 21 (41%) mostraron niveles de especies reactivas de oxígeno superiores a 10 mv. por segundo por 109 espermatozoides

en comparación con solo 2 de las muestras de donantes con glóbulos blancos negativos.

Los resultados muestran que 27 de 69 pacientes (39%) (positivos y negativos para glóbulos blancos) evaluados en este estudio generaron especies reactivas de oxígeno de más de 10 mv. por segundo por 109 espermatozoides.

Comparación de los niveles de especies reactivas de oxígeno entre muestras de pacientes y donantes.

Los niveles de especies reactivas de oxígeno fueron significativamente más altos en las muestras de pacientes (promedio de especies reactivas de oxígeno $p < 0,01$, tabla 1) que en las de donantes. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en los valores de las especies reactivas de oxígeno en las muestras negativas de glóbulos blancos de pacientes y donantes, y en las muestras positivas de glóbulos blancos de ambos grupos.

TABLE 1. Comparison of reactive oxygen species values in infertile patients and normal donors

Reactive Oxygen Species Level (mv./sec./10 ⁹ sperm)	Pts. (69)	Donors (15)	All Subjects*		All White Blood Cell Neg.	
			White Blood Cell Neg. (64)	White Blood Cell Pos. (20)	Pts. (51)	Donors (13)
Mean	17.68 ± 4.74	5.51 ± 3.29	15.55 ± 3.79	8.76 ± 4.22	17.37 ± 5.90	6.09 ± 3.79
Probability		0.0075		Not significant		0.0054
Peak	23.44 ± 0.07	7.56 ± 3.50	21.66 ± 5.59	10.42 ± 4.46	19.99 ± 6.50	8.28 ± 4.02
Probability		Not significant		Not significant		Not significant

Values are mean ± standard error.

* Includes patients and donors.

Especies reactivas de oxígeno y motilidad espermática.

Un total de 37 muestras con motilidad espermática normal de pacientes y donantes mostraron una formación de especies reactivas de oxígeno significativamente menor (media $2,83 \pm 1,07$, pico $4,02 \pm 1,18$, fig.1) que 44 muestras con motilidad espermática anormal (media $12,31 \pm 3,06$, pico $14,04 \pm 3,48$).

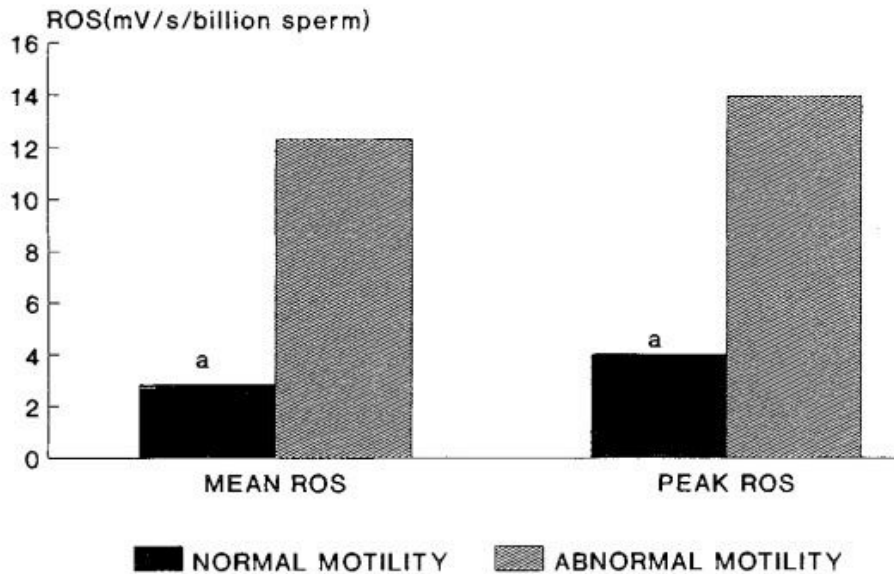


FIG. 1. Comparison of reactive oxygen species (*ROS*) levels between all subjects with normal and abnormal motility. *a*, $p < 0.01$ compared to reactive oxygen species levels in subjects with abnormal motility.

Las muestras de pacientes y donantes negativas a los glóbulos blancos con una motilidad de los espermatozoides superior al 50% (27) mostraron una formación de especies reactivas de oxígeno significativamente menor (media $5,20 \pm 2,99$, pico $8,27 \pm 4,82$) que 37 muestras negativas a los glóbulos blancos con menos del 50% de movilidad de los espermatozoides (media 8.27 ± 4.82 , pico 17.33 ± 4.08 , fig.2).

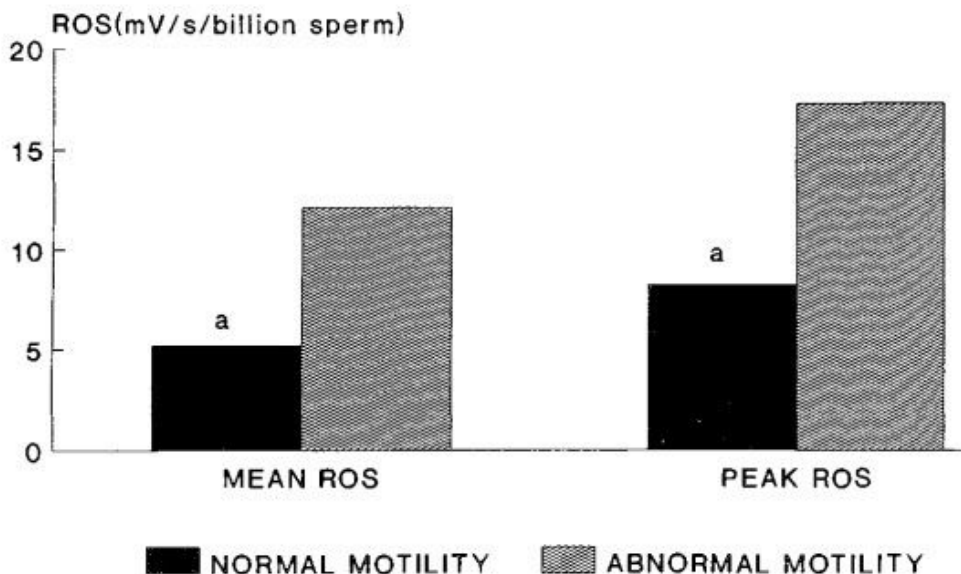


FIG. 2. Comparison of reactive oxygen species (*ROS*) levels between white blood cell-negative subjects with normal and abnormal motility. *a*, $p < 0.01$ compared to white blood cell-negative, abnormal motility population.

Especies reactivas de oxígeno y morfología de los espermatozoides.

La generación de especies reactivas de oxígeno (media y pico) en 27 muestras de semen negativas a glóbulos blancos con morfología anormal fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que en 20 muestras de semen negativas a glóbulos blancos con morfología normal (tabla 2).

TABLE 2. Reactive oxygen species values for white blood cell-negative semen specimens from infertile patients according to sperm morphology and motility

Reactive Oxygen Species Level (mv./sec./10 ⁹ sperm)	White Blood Cell Neg.			
	Morphology		Morphology and Motility	
	Normal (20)	Abnormal (27)	More Than 50% (10)	Less Than 50% (24)
Mean	6.08 ± 1.43	24.64 ± 7.99	7.24 ± 2.05	16.89 ± 3.38
Probability		0.0491		0.0490
Peak	4.80 ± 1.41	17.21 ± 5.45	9.21 ± 2.15	19.4 ± 4.15
Probability		0.0389		Not significant

Values are mean ± standard error.

Las muestras de pacientes con leucocitos negativos con morfología y motilidad anormales (24) tenían valores de especies reactivas de oxígeno significativamente más altos que las 10 muestras con morfología y motilidad normales ($p < 0,05$).

Especies reactivas de oxígeno, concentración y velocidad de los espermatozoides.

Generación de especies reactivas de oxígeno en muestras con concentración normal de espermatozoides (media de $9,33 \pm 1,99$ mv. Por segundo por 109 esperma) fue significativamente menor ($p = 0,0003$) que en las muestras con concentración anormal de esperma (media $128,32 \pm 45,74$ mv. por segundo por 109 espermatozoides).

No se observaron diferencias significativas en la formación de especies reactivas de oxígeno entre las muestras con velocidad normal (media $20,25 \pm 6,07$ mv por segundo por 109 espermatozoides) y aquellas con velocidad anormal (media de $23,89 \pm 10,01$ mv por segundo por 109 espermatozoides).

Especies reactivas de oxígeno, hinchazón hipoosmótica y resultados de la prueba de penetración de moco cervical bovino.

La generación de especies reactivas de oxígeno en muestras con resultados de la prueba de hinchazón hipoosmótica normal (más del 60% de hinchazón de la cola) (media de $6,10 \pm 2,02$ mv. Por segundo por 109 espermatozoides) no fue significativamente diferente de la del grupo con anomalías (menos del 50%) resultados de la prueba de hinchazón hipoosmótica (media de $14,38 \pm 6,52$ mv. por

segundo por 109 espermatozoides). De manera similar, la formación de especies reactivas de oxígeno en el semen de sujetos de prueba de penetración de moco cervical bovino normales (más de 30 mm.) (Media de $7,27 \pm 2,60$ mv. Por segundo por 109 espermatozoides) no fue significativamente diferente de la del grupo con anomalías (menos de 30 mm.)

Resultados de la prueba de penetración de moco cervical bovino (media $32,87 \pm 20,61$ mv. Por segundo por 109 espermatozoides). En pacientes y donantes con leucocitos negativos

Los niveles de especies reactivas de oxígeno de las muestras no mostraron correlación con los resultados de penetración de moco cervical hiposmótico y bovino.

DISCUSIÓN

Los datos indican que el 30% de los pacientes que asisten a nuestra clínica de infertilidad tienen formación seminal de especies reactivas de oxígeno.

Los resultados sugieren fuertemente que los espermatozoides y los glóbulos blancos actúan como fuentes duales de generación de especies reactivas de oxígeno en el semen.

Además, una fuerte correlación positiva observada en nuestro estudio con el exceso de formación de especies reactivas de oxígeno en el semen con una concentración, motilidad y morfología anormales de los espermatozoides está de acuerdo con observaciones anteriores.

Se ha demostrado que los espermatozoides pueden producir oxígeno reactivo especies.

La producción hiperactiva de especies reactivas de oxígeno puede ser directamente responsable de la pérdida de la función del esperma a través de la peroxidación de ácidos grasos insaturados o la desnaturalización de proteínas en la membrana plasmática de los espermatozoides.

Una posibilidad alternativa es que la generación excesiva de especies reactivas de oxígeno pueda ser una consecuencia (más que una causa) de un defecto primario en la diferenciación de la membrana plasmática espermática, de modo que los mecanismos de control que regulan esta actividad ya no sean efectivos.

La falta de detección de altos niveles de formación de especies reactivas de oxígeno en el semen de voluntarios normales es consistente con la hipótesis de que los

espermatozoides anormales son la fuente principal de producción de especies reactivas de oxígeno. Considerando que no se seleccionó la población de pacientes que se presentaron por infertilidad, es interesante la observación de que el 30% de los pacientes tienen una formación significativa de especies reactivas de oxígeno. Se necesitan más estudios para determinar qué subgrupos de hombres infértiles se ven especialmente afectados por las especies reactivas del oxígeno, para investigar el tipo de especies reactivas del oxígeno implicadas en las disfunciones de los espermatozoides y para evaluar el equilibrio de los sistemas de captación intracelular y extracelular en muestras de semen afectadas por el oxígeno reactivo. especies.

En conclusión, los resultados muestran que los niveles de especies de oxígeno reactivo seminal en hombres con sospecha de subfértiles son significativamente más altos que los de hombres normales, y que la presencia de especies de oxígeno reactivo en exceso en el semen muestra una fuerte relación positiva con una mala concentración, motilidad y morfología de los espermatozoides.

La evaluación de los niveles de especies reactivas de oxígeno en casos de infertilidad masculina idiopática puede proporcionar información valiosa sobre el estado funcional de los espermatozoides

Formación de especies reactivas del Oxígeno en espermatozoides de pacientes infértiles. Iwasaki-1992.

El objetivo del trabajo fue determinar la incidencia de ERO formadas en el semen de pacientes que consultan por infertilidad.

Se estudió la incidencia de la formación de ERO en el semen completo y en los espermatozoides lavados y los valores obtenidos se correlacionaron con los parámetros del semen.

Se obtuvieron muestras de semen de pacientes que consultaron por infertilidad y sujetos fértiles como control; las mismas se obtuvieron por masturbación con 3 días de abstinencia sexual. La población de los pacientes control fue dividida en dos grupos basados en la presencia o ausencia de espermatozoides en semen.

Se midió la formación de ERO en el semen completo y en suspensión de esperma lavada con gradientes Percoll o por centrifugaciones repetidas. La formación de

ERO fueron medidas en un luminómetro LKB 1251 controlado por ordenador. La luminiscencia se registró después de la adición de Luminol al semen.

La formación de ERO fueron detectadas en el 40% del semen de espermatozoides de pacientes infértiles, mientras que no se encontró ninguna en los pacientes azoospermicos y 10% en pacientes controles. El nivel de formación de ERO se correlacionó inversamente con el volumen de semen, el porcentaje de espermatozoides móviles y linealidad de los espermatozoides tanto en el semen completo como en los espermatozoides lavados.

El lavado mediante centrifugación-resuspensión repetida aumentó de un 20 a 50 veces el oxígeno reactivo formado. Esto fue causado por la centrifugación en sí y por la eliminación de plasma seminal.

Se concluyó en base a los datos obtenidos que la formación de ERO por los espermatozoides puede ser una causa importante de infertilidad.

Especies reactivas del oxígeno en el semen de pacientes infértiles: niveles de actividad tipo superóxido dismutasa y catalasa en plasma seminal y espermatozoides

Debido a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, los espermatozoides humanos son especialmente sensibles al daño inducido por ERO.

Los espermatozoides dañados o defectuosos producen niveles más altos de ERO. Nosotros hemos demostrado recientemente que, en un paciente no seleccionado de la población que consulta por infertilidad, se detectaron ERO en cantidades significativas en 25% de las muestras de semen analizadas. Por otro lado, ninguna de las muestras de semen de pacientes azoospermicos o de donantes fértiles produjo ERO. La separación de elementos celulares del semen en un gradiente de Percoll discontinuo demostró que **el plasma seminal no produce ERO mientras que las células aisladas del 40-65% (espermatozoides en gran parte inmóviles y anormales, células redondas, leucocitos) y la interfase 65-95% (purificada morfológicamente de espermatozoides normales) fueron responsables de la mayoría de ERO producidas.**

Para contrarrestar los efectos de las ERO, los espermatozoides y el plasma seminal poseen sistemas para depurarlas y prevenir el daño celular interno, como por ejemplo los **sistemas superóxido dismutasa (SOD) y del glutatión peroxidasa/reductasa, y catalasa**. Proteínas como la **albúmina** y pequeñas moléculas como el **glutatión, piruvato, taurina e hipotaurina, vitaminas E y C** etc., también juegan un importante papel en la **protección de los tejidos frente al estrés oxidativo**.

La detección de ERO en el semen de los hombres infértiles puede reflejar un **desequilibrio entre producción de ERO por elementos celulares y su degradación**. El objetivo del presente estudio fue determinar si una disminución de la capacidad de captación de ERO en plasma seminal o en espermatozoides fue responsable de las ERO detectadas en muestras de semen de hombres infértiles.

Resultados

Producción de ERO por el semen y los espermatozoides

Dieciséis de las 65 muestras de semen analizadas (25%) de una población no seleccionada de pacientes que consultan por infertilidad, tenía niveles significativos de producción de ERO medida por luminiscencia. Los valores de estas 16 muestras oscilaron entre 10 a 227 mV s^{-1} por 10^9 espermatozoides con un media de \pm SEM de 78 \pm 18 mV s^{-1} por 10^9 espermatozoides (Fig.1). Los valores obtenidos con quimioluminiscencia con estas muestras después de un lavado de Percoll varió desde 0 hasta 637 mV s^{-1} por 10^9 espermatozoides con una media de \pm SEM (error estandar de la media) de 110 \pm 40 mV s^{-1} por 10^9 espermatozoides (Fig. 1). Dependiendo de la muestra analizada, la quimioluminiscencia detectada en espermatozoides lavados con Percoll fue mayor o menor que el medido en semen completo.

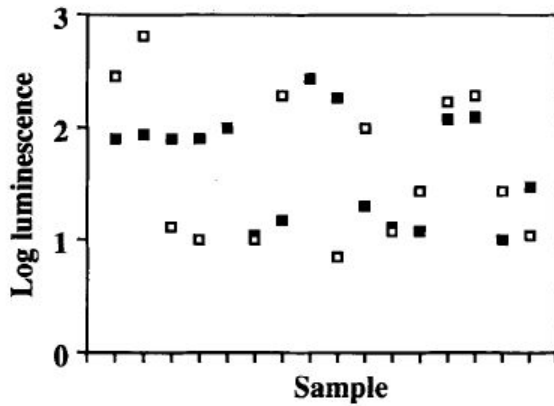


Figura 1. Niveles significativos de especies reactivas del oxígeno. Formación de niveles significativos de ERO en semen completo y espermatozoides lavados con Percoll de pacientes. Medidas con quimioluminiscencia fueron descritas en la sección de Materiales y Métodos, y son expresadas como el logaritmo de mV s^{-1} por 10^9 espermatozoides.

- en semen completo
- en espermatozoides lavados con Percoll.

Para dos muestras ningún valor es mostrado por espermatozoides lavados con Percoll porque no se detectó quimioluminiscencia.

Actividad tipo SOD en plasma seminal

La actividad tipo SOD de muestras de semen que produjeron o no produjeron ERO se midió en plasma seminal completo así como en plasma seminal dializado y un ultrafiltrado de plasma seminal, para evaluar la contribución de moléculas grandes y pequeñas a la actividad depuradora total. La actividad similar a la SOD en plasma seminal completo de muestras de semen productor y no productor de ERO no fueron significativamente diferentes ($75 \pm 14 \text{ U / ml}$ y $85 \pm 8 \text{ U / ml}$ respectivamente) (Tabla 1). Del mismo modo, no hubo diferencia entre la actividad tipo SOD de plasma seminal dializado (macromoléculas) o ultrafiltrado de plasma seminal (moléculas pequeñas) de muestras que produjeron ERO en comparación con los que no lo hicieron. La mayoría de la actividad tipo SOD es originada a partir de componentes macromoleculares de plasma seminal.

Tabla 1. Actividad tipo SOD en plasma seminal completo y dializado, y en ultrafiltrado de plasma seminal.

Seminal plasma	No ROS		ROS	
	n	U ml ⁻¹	n	U ml ⁻¹
Whole	41	85 ± 8	16	75 ± 14
Dialyzed	10	47 ± 5	10	49 ± 9
Ultrafiltrate	10	8 ± 2	8	11 ± 2

Una unidad corresponde a la cantidad de muestra necesaria para disminuir en 50% la reducción de NBT(nitroblue tetrazolium) debido al anion superoxido generado por la combinación de xantina + xantina oxidasa. Los valores fueron media +/- SEM, con n= numero de muestras.

Actividad tipo catalasa en plasma seminal

La actividad tipo catalasa se midió en plasma como en plasma seminal dializado y un ultrafiltrado de plasma seminal. Hubo significativamente mayor actividad tipo catalasa en plasma seminal de muestras productoras de ERO comparado con el encontrado en plasma seminal de muestras que no producen ERO (78 +/- 9 U/ml y 57 +/- 4 U/ml, respectivamente; P50.01) (Tabla 2). La actividad tipo catalasa detectada en plasma seminal dializado y el ultrafiltrado de plasma seminal no difirió significativamente entre las muestras de semen que produjeron o no produjeron ERO. La actividad tipo catalasa del plasma seminal fue proporcionada por igual por componentes de alto peso molecular y bajo peso molecular.

Actividades de tipo SOD y catalasa en espermatozoides

La actividad de eliminación de ERO también se midió en espermatozoides (Tabla3). La actividad tipo SOD no fue significativamente diferente en los espermatozoides de las muestras de semen que produjeron o no produjeron ERO. (Tabla3). Sin embargo, como se observó con plasma seminal, la actividad tipo catalasa fue mucho mayor en las espermatozoides de muestras productoras de ERO en comparación con muestras no productoras de ERO. (4,6 +/- 0.9 y 1.5 +/- 0,2 U . 10⁸ espermatozoides, respectivamente; P 5 0.01)

Tabla 2. Actividad tipo catalasa en plasma seminal completo y dializado, y en ultrafiltrado de plasma seminal

Seminal plasma	No ROS		ROS	
	<i>n</i>	U ml ⁻¹	<i>n</i>	U ml ⁻¹
Whole	48	57 ± 4	16	78 ± 9*
Dialyzed	10	27 ± 6	10	38 ± 11
Ultrafiltrate	10	33 ± 4	10	37 ± 6

Una unidad corresponde a la cantidad de muestra necesaria para disminuir en 50% la cantidad de H₂O₂ presente en el medio luego de 1 hora de incubación. Los valores fueron medias +/- SEM, n= numero de muestras, *P<0,01 cuando se comparó con el correspondiente valor de las muestras no productoras de ERO

Tabla 3. Actividades tipo SOD y tipo catalasa de espermatozoides

Activity	No ROS		ROS	
	<i>n</i>	U per 10 ⁸ spermatozoa	<i>n</i>	U per 10 ⁸ spermatozoa
SOD-like	11	4.2 ± 0.6	15	4.6 ± 0.6
Catalase-like	10	1.5 ± 0.2	16	4.6 ± 0.9*

Las actividades tipo SOD y tipo catalasa fueron expresadas en unidades por 10⁸ espermatozoides. La definición de unidades se describió en la leyenda de la tabla 1 y 2. Los valores son medios +/- SEM, n = numero de muestras. *P<0,01 cuando es comparado con el correspondiente valor de muestras no productoras de ERO

Discusión

En el presente estudio, el 25% de los pacientes (16 de 65) tenían niveles detectables de ERO en su semen. Además, en 14 de estos 16 casos, las ERO también se midieron en espermatozoides lavados con Percoll, mostrando que **los espermatozoides son una fuente importante de ERO en semen.**

Se midieron las actividades tipo SOD y tipo catalasa ya que $\cdot O_2^-$ y H_2O_2 son producidas por los espermatozoides, y estas dos actividades representan la vía metabólica clave para la degradación de ERO.

No hubo diferencia en la actividad tipo SOD en plasma seminal (entero o fraccionado) **y espermatozoides** entre muestras de semen que produjeron o no ERO (Tablas 1 y 3). Sin embargo, la actividad tipo catalasa de plasma seminal y de espermatozoides fue mayor (en un 37% y 306%, respectivamente) en muestras productoras de ERO que en muestras que no produjeron ERO. Por tanto parece que el desequilibrio entre la producción y degradación de ERO que condujo a la detección de ERO fue más probablemente secundario a una mayor producción de ERO y no a disminución de la capacidad de barrido. Estudios han revelado que las enzimas captadoras de ERO pueden ser inducidas, la especificidad y el alcance de la inducción depende del tipo de célula y el tipo de estrés oxidativo. El aumento en la actividad tipo catalasa observada en las muestras de semen productor de ERO puede representar un mecanismo compensatorio donde se producen más H_2O_2 pequeños de bajo peso molecular y/o se activa la catalasa. El hecho de que los espermatozoides humanos son especialmente sensibles a H_2O_2 puede explicar por qué la actividad tipo catalasa, y no la actividad tipo SOD se incrementó.

El fraccionamiento del plasma seminal mostró que gran parte de la actividad tipo SOD estaba presente en la fracción de alto peso molecular (plasma seminal dializado, > 12 kD), sugiriendo que la mayor parte de su actividad derivó de la enzima SOD en sí, que se ha demostrado que está presente en plasma y probablemente también por la alta concentración de proteínas que se sabe que actúan como ERO carroñeros 'sacrificatorios' inespecíficos. La actividad tipo SOD medida en plasma seminal completo fue mayor que la suma de las actividades que se encuentran en el plasma seminal dializado y en el ultrafiltrado de plasma seminal. Es posible que una parte de la actividad tipo SOD se perdió durante la diálisis, por inactivación parcial de la enzima o pérdida de sustancias de bajo peso molecular necesarias para la actividad óptima de la enzima. Por otro lado, la actividad tipo catalasa apareció igualmente distribuida entre los componentes de alto y bajo peso molecular del plasma seminal. Este hallazgo es consistente con la capacidad previamente reportada de taurina e hipotaurina y piruvato para preservar la motilidad de los espermatozoides contra la toxicidad de las ERO.

En conclusión, los niveles detectables de ERO en el semen de pacientes infértiles son probablemente debidos a un aumento de la producción de ERO en lugar de una capacidad reducida para captar ERO.

Bibliografía:

- <https://www.medigraphic.com/pdfs/reproduccion/mr-2014/mr142c.pdf>
- https://www.researchgate.net/publication/320595103_Importancia_del_estres_oxidativo_en_los_espermatozoides
- <https://revista.asebir.com/analisis-del-estres-oxidativo-en-el-eyaculado-mediante-la-determinacion-del-anion-superoxido/>
- Cárdenas-Rodríguez N, Pedraza-Chaverri J (2006), *Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos*. Revistas UNAM
- http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?pid=S1688-423X2015000100002&script=sci_arttext&tlng=pt