

**Trabajo de Fin de Máster en  
Biología y Tecnología Aplicada a la Reproducción  
Humana Asistida**

**Relación entre el estrés oxidativo y la calidad espermática.**

Autor: Marta Riutort Sánchez

Tutor: Alberto Pacheco Castro

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN .....   | 4  |
| A. Fisiología de los espermatozoides .....  | 4  |
| B. Calidad espermática y su relación con la fertilidad.....   | 5  |
| C. Estrés oxidativo: origen, mecanismos involucrados .....  | 6  |
| D. Factores inductores de ROS .....   | 9  |
| E. Factores protectores frente a ROS .....  | 16 |
| a. Antioxidantes .....  | 17 |
| - Enzimas antioxidantes .....   | 17 |
| - Antioxidantes no enzimáticos.....   | 18 |
| - Antioxidantes comerciales .....   | 19 |
| b. Cambios en el estilo de vida .....   | 21 |
| F. Técnicas para analizar el estrés oxidativo .....   | 21 |
| 2. OBJETIVOS .....  | 23 |
| 3. MÉTODOS .....  | 23 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....   | 24 |
| A. Efectos del estrés oxidativo sobre la calidad espermática.....   | 24 |
| - A nivel de membrana plasmática (peroxidación lipídica) .....  | 25 |
| - A nivel de citoplasma (alteración de proteínas y disfunción mitocondrial).....                                  | 26 |
| - A nivel de molécula de ADN (fragmentación de ADN).....  | 26 |
| - A nivel celular (apoptosis) .....   | 26 |
| B. Efectos del estrés oxidativo sobre los resultados reproductivos .....  | 27 |
| a. En gestación natural .....   | 29 |
| b. En Inseminación Artificial (IA).....   | 30 |
| c. En tratamientos Fecundación in Vitro (FIV) / Microinyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI)..... | 30 |
| 5. CONCLUSIONES .....   | 32 |
| 6. AGRADECIMIENTOS .....  | 33 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA .....   | 33 |

## **Resumen**

El estrés oxidativo consiste en un aumento de los niveles de radicales libres y en una disminución de la capacidad antioxidante del organismo, lo que podría tener efectos negativos sobre la fertilidad masculina. Pese a que los compuestos involucrados en el estrés oxidativo se encuentran de forma natural y tienen múltiples funciones bajo niveles controlados, algunas patologías, hábitos de vida o factores ambientales favorecen el incremento de estos radicales libres y potencian una situación de estrés oxidativo que puede tener efectos negativos sobre la calidad espermática alterando la concentración, movilidad, vitalidad, morfología y funcionamiento de los espermatozoides mediante diferentes procesos. La pérdida de calidad espermática está relacionada con la infertilidad masculina, por tanto, los efectos negativos del estrés oxidativo podrían asociarse a menores tasas de implantación, gestación y nacimiento, así como al aumento del riesgo de pérdida gestacional. Conocer el origen y los efectos negativos del estrés oxidativo sobre la fertilidad masculina podría ayudar a mejorar los resultados reproductivos, ya sea de forma natural o mediante tratamientos de reproducción asistida.

## **Abstract**

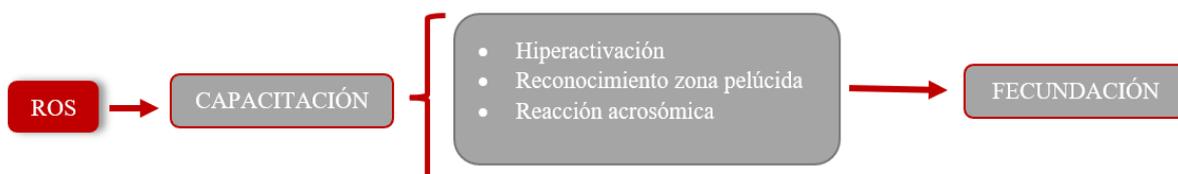
Oxidative stress consists of an increase in the levels of free radicals and the decrease of the antioxidant capacity, which could have negative effects on male fertility. Even though the species involved in oxidative stress are found naturally in the organism and that they have multiple functions under controlled levels, some pathologies, lifestyle habits or environmental factors increase free radicals and enhance oxidative stress that can have negative effects on sperm quality altering the concentration, mobility, vitality, morphology, and sperm's function through different processes. Loss of sperm quality is related to male infertility, therefore, the negative effects of oxidative stress are associated with lower implantation, gestation, and birth rates, as well as an increased risk of pregnancy loss. Knowing the origin and the negative effects of oxidative stress on male fertility could improve reproductive results, either naturally gestation or though assisted reproductive techniques.

# 1. INTRODUCCIÓN

## A. Fisiología de los espermatozoides

Los espermatozoides se liberan de los testículos con el ADN enrollado, con su transcripción inactiva y se someten a diferentes cambios mientras maduran en el epidídimo. Todos estos cambios son modulados por señales procedentes del entorno del espermatozoide o bien pueden ocurrir de forma espontánea, de hecho, existen compuestos que actúan como mensajeros influyendo en la función espermática durante estos cambios (1). Estas células son especialmente vulnerables ya que tienen menor capacidad de autorreparación debido a que no poseen enzimas esenciales en su citoplasma (2). Además, su membrana citoplasmática es rica en lípidos muy susceptibles a procesos de oxidación, lo que puede causar alteraciones espermáticas (3).

Los espermatozoides no tienen capacidad para fecundar hasta que ha transcurrido cierto tiempo en el ambiente adecuado con el fin de producir su capacitación, lo cual es necesario para que el espermatozoide adquiera la capacidad de fecundar (1). La capacitación espermática consiste en un conjunto de cambios en la estructura y en el comportamiento del espermatozoide cuando se expone a determinadas sustancias que se encuentran de forma natural en el tracto reproductor femenino. Este proceso es esencial para que la fecundación tenga lugar e incluye fenómenos como la adquisición de la hipermovilidad, el reconocimiento de la zona pelúcida y la reacción acrosómica. Pese a que actualmente se desconoce el mecanismo exacto por el que sucede, se sabe que es una reacción tipo oxidación-reducción y que está mediado por especies reactivas de oxígeno (ROS) (4) (*Figura 1*). Así mismo, los espermatozoides que se liberan de los testículos no tienen movilidad progresiva, pero adquieren esta habilidad a lo largo del epidídimo. Además de lo anteriormente nombrado, durante la maduración espermática tienen lugar otros cambios como la condensación nuclear y modificaciones en la expresión y distribución de moléculas en la superficie del espermatozoide (1).



*Figura 1:* Capacitación espermática dependiente de ROS y procesos implicados. Fuente: propia

## **B. Calidad espermática y su relación con la fertilidad**

La infertilidad se define como el fallo de una pareja para conseguir un embarazo clínico tras un año de relaciones sexuales regulares y sin protección. Afecta a más de un 15% de las parejas a nivel global, ya sean parejas con factor masculino, femenino o ambos (5). La infertilidad está reconocida como una enfermedad y se estima que entre 50-80 millones de personas alrededor del mundo están afectadas, yendo esta cifra en aumento. Durante mucho tiempo se ha tenido muy en cuenta cómo el factor femenino afecta a la fertilidad, sin embargo, las disfunciones pueden afectar también a los espermatozoides (6), de forma que un factor masculino puede estar presente en un 30-50% de los casos de infertilidad (3). Muchas de las parejas con problemas de fertilidad se someten a tratamientos de reproducción asistida, dichas técnicas son un conjunto de tratamientos para la infertilidad que permiten lograr una gestación mediante técnicas altamente exitosas que además no presentan riesgos para salud como la inseminación artificial (IA), la fecundación in vitro (FIV) o la microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). El número de parejas que precisan estos tratamientos está en aumento (7).

La fertilidad está relacionada con la calidad del embrión y ésta se basa en diferentes parámetros relacionados con la morfología, el desarrollo, el metabolismo o factores genéticos. Muchos de estos parámetros que afectan a la calidad del embrión están influenciados por factores paternos y cabe destacar que la mayoría de las parejas con factor masculino presentan una calidad espermática reducida. Identificar los factores de origen paterno que pueden afectar a la calidad del embrión es de suma importancia para tratar la infertilidad, así como para abordar de la mejor manera posible los diferentes tratamientos. Debido a que existen multitud de factores que afectan a la calidad espermática y por consiguiente a la calidad embrionaria, mejorar la comprensión de dichos factores podría optimizar y mejorar el éxito de los tratamientos de reproducción asistida (7).

El factor masculino puede tener una causa conocida (congénita, endocrina, inmunológica, oncológica, infecciosa, factores ambientales etc.) o bien ser de origen idiopático (7) (*Figura 2*). Factores ambientales, fisiológicos, genéticos o el estilo de vida influyen en la función espermática pudiendo afectar de forma negativa a la fertilidad (3). Existen indicadores que pueden explicar algunos casos de infertilidad masculina que se relacionan con una calidad espermática pobre o con el desarrollo embrionario. Así mismo, existen patologías como

varicocele o bien factores como la dieta, la obesidad, la edad paterna o la presencia de ciertos contaminantes que pueden causar una reducción de la calidad espermática (6).

| FACTOR MASCULINO       |                   |
|------------------------|-------------------|
| Origen conocido        | Origen idiopático |
| - Congénito            |                   |
| - Endocrino            |                   |
| - Inmunológico         |                   |
| - Oncológico           |                   |
| - Infeccioso           |                   |
| - Factores ambientales |                   |

Figura 2: Posibles causas del factor masculino. Fuente: propia.

Cuando un hombre está expuesto a diferentes factores exógenos como por ejemplo el consumo de tabaco, alcohol o una dieta desequilibrada, se observa un incremento de estrés oxidativo, el cual se relaciona con un desequilibrio de moléculas con capacidad oxidante en las células y una sobreproducción ROS, que alteran el equilibrio antioxidante, lo que resulta patológico y afecta de forma negativa tanto a la calidad seminal como a la fertilidad (6). Por tanto, el estrés oxidativo del cual se hablará en el siguiente apartado está involucrado en la fisiopatología de la infertilidad masculina (2).

### C. Estrés oxidativo: origen, mecanismos involucrados

Con frecuencia, el hombre infértil presenta un análisis de semen anormal cuyo origen es difícil de explicar ya que puede ser multifactorial. Una de las causas principales de la infertilidad masculina es el estrés oxidativo. Numerosas publicaciones han descrito la presencia de concentraciones elevadas de ROS en el 30-80% de los hombres infértiles (8). Estas especies reactivas son producto de procesos de oxidación-reducción que tienen lugar en las mitocondrias para la obtención de energía (3). En condiciones fisiológicas normales el espermatozoide produce pequeñas cantidades de ROS que son necesarias para diferentes procesos como la capacitación, la reacción acrosómica y la unión ovocito-espermatozoide. Sin embargo, un exceso de ROS puede dañar los espermatozoides normales induciendo procesos perjudiciales como la peroxidación lipídica y la fragmentación en el ADN. Pese a que generalmente existe un equilibrio entre la producción de ROS y los antioxidantes del sistema reproductor masculino, que tienen un efecto protector frente a estas especies, en ocasiones un exceso de ROS sobrepasa la capacidad antioxidante provocando un estado de estrés oxidativo (8).

El estrés oxidativo se relaciona por tanto con un desequilibrio de moléculas con capacidad oxidante en las células. Las ROS se refiere a moléculas derivadas del oxígeno altamente reactivas debido a sus electrones desapareados o radicales libres. Este grupo incluye especies como el radical superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical hidroxilo ( $OH^-$ ), el radical peroxilo ( $ROO^-$ ) e incluso especies reactivas de nitrógeno como el óxido nítrico (NO) o el peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) (6) además de productos de reacción con otras moléculas (1) (Figura 3). Estos compuestos inestables de vida corta tienden a oxidar, a captar electrones de otras moléculas. Así mismo, no todas las ROS tienen la misma capacidad oxidante, existen especies más reactivas que otras, por ejemplo, el radical hidroxilo es de las especies más reactivas y destructivas, capaz de provocar daño en el ADN, especialmente en el semen (9).

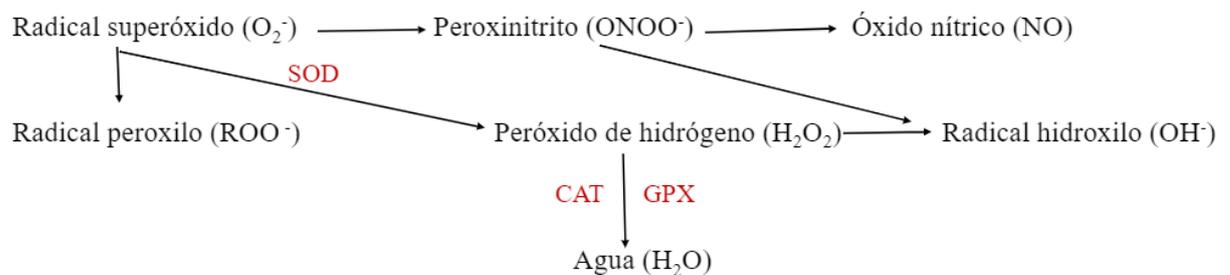


Figura 3: Principales ROS y enzimas implicadas en el estrés oxidativo. Fuente: propia.

Las ROS pueden producirse de forma endógena en las mitocondrias durante el metabolismo, cuando ocurren fallos a lo largo de la cadena de transporte de electrones (10), también pueden ser producidas por leucocitos (1), por la presencia de espermatozoides anormales o inmaduros (3), como consecuencia de otras patologías o por factores externos (11). Cuando estas especies se acumulan, el funcionamiento general de la célula queda comprometido (10).

Los espermatozoides están expuestos al estrés oxidativo durante la espermatogénesis, durante su almacenamiento y durante su paso por el tracto reproductivo hasta la eyaculación (3). Es importante que los niveles de ROS se mantengan regulados para asegurar que las funciones en las que están involucradas sucedan de forma correcta (2), ya que estos niveles tienen un impacto en diferentes cascadas de señalización que regulan procesos sensibles a reacciones de reducción-oxidación. Estos procesos precisan de la interacción de estas especies en algún punto. Estos compuestos tienen un papel como segundo mensajero en

diferentes procesos como la maduración y capacitación espermática pero también están implicados en procesos de proliferación y apoptosis celular (9).

En el aparato reproductor masculino, las ROS son intermediarios implicados en numerosos procesos ya que son necesarios ciertos niveles de este tipo de compuestos para la maduración, hiperactivación y capacitación espermática además de para la correcta reacción acrosómica, la unión a la zona pelúcida y la fusión entre ovocito-espermatozoide (8). En concreto, determinados niveles de ROS son esenciales para la modificación de proteínas del flagelo y para la condensación de la cromatina durante la espermatogénesis, además de regular la concentración intracelular de calcio y la actividad enzimática necesaria para la capacitación e hiperactivación, condiciones necesarias para mejorar la movilidad espermática debido a que únicamente los espermatozoides capacitados pueden sufrir la hiperactivación y podrán llevar a cabo la reacción acrosómica necesaria para la fecundación (3). Como ejemplo de importancia de estas especies, el óxido nítrico y peróxido de hidrógeno son necesarios para que procesos como la capacitación espermática y la reacción acrosómica se realicen correctamente (6) (*Figura 4*).

| Función de ROS                |
|-------------------------------|
| Maduración                    |
| Capacitación                  |
| Hiperactivación               |
| Reacción acrosómica           |
| Unión zona pelúcida           |
| Fusión ovocito-espermatozoide |
| Condensación cromatina        |

*Figura 4:* Implicación de ROS en las funciones espermáticas bajo niveles fisiológicos óptimos.

Fuente: propia.

Sin embargo, cuando la producción de ROS es elevada (9) y se neutraliza la capacidad de los antioxidantes presentes en el plasma seminal, sucede un estado de estrés oxidativo (2) que puede dar lugar a procesos altamente perjudiciales para la calidad seminal como la peroxidación lipídica y la fragmentación del ADN tanto en el núcleo como en las mitocondrias (9). Esto puede suceder porque las ROS son muy reactivas cuando se hayan cerca de aminoácidos, lípidos o ácidos nucleicos (8), de manera que pueden dañar la membrana, exponiendo al ADN y promoviendo así la apoptosis celular (10).

Debido a que el estrés oxidativo afecta de manera negativa a la función (6) y calidad (9) espermática, actualmente muchas investigaciones se centran en conocer las fuentes y el mecanismo de acción de las ROS a fin de mejorar tanto la fertilidad en sí como los posibles tratamientos y aumentar las esperanzas reproductivas de los pacientes (6), ya que los efectos negativos en la calidad del semen afectan a la fertilidad masculina en general (9), disminuyendo las tasas de fecundación, implantación y aumentando el riesgo de aborto (2).

#### **D. Factores inductores de ROS**

Algunos factores endógenos o exógenos pueden provocar estrés oxidativo en el organismo y dañar las células espermáticas hasta tal punto que éstas pierden calidad (2), lo que puede tener un efecto nocivo para la fertilidad. Estos factores pueden estar provocados por anomalías en el espermatozoide (8), por un exceso de leucocitos (3), fallos durante la espermatogénesis, ciertas patologías o hábitos de vida entre otros (7) (Figura 5).

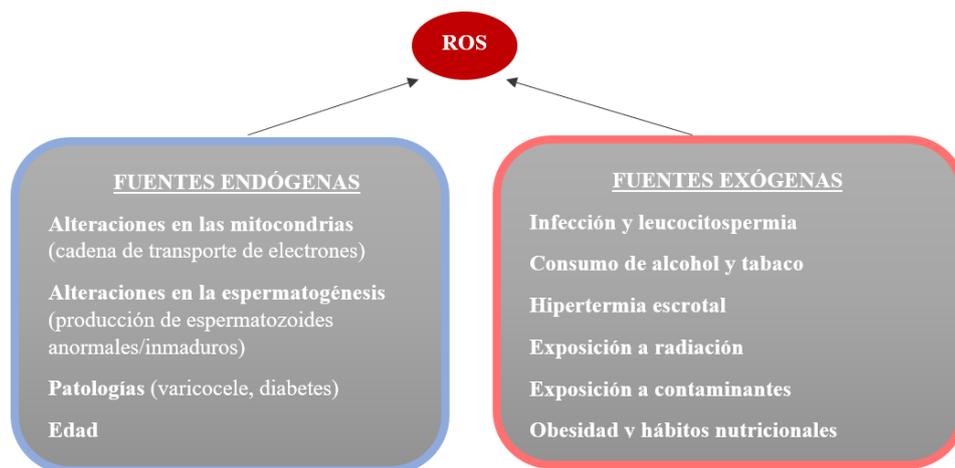


Figura 5: Factores inductores de ROS. Fuente: propia.

#### **- Fuentes endógenas de ROS:**

Durante la espermatogénesis, la producción de ROS es muy alta debido al elevado consumo de oxígeno que se precisa para la producción de espermatozoides. De manera, que una de las principales fuentes endógenas de ROS deriva de la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias (12). Por tanto, estos radicales libres endógenos pueden generarse como subproducto del metabolismo celular o por actividad enzimática (6), así como por la presencia de espermatozoides inmaduros o alterados presentes en el eyaculado (3).

Cabe destacar que la actividad mitocondrial es esencial para la movilidad y la capacitación espermática a fin de obtener ATP, por lo que las ROS son subproductos de dicha actividad (6) y es crucial que funcione sin alteraciones debido a que hay muchas mitocondrias en la pieza media del espermatozoide encargadas de obtener energía, por lo que una disfunción en estos orgánulos también puede generar un exceso de ROS e influir de forma negativa en la integridad mitocondrial de las células espermáticas, es decir, las propias ROS que derivan de la cadena de transporte de electrones alteran el funcionamiento mitocondrial y como resultado, se produce un exceso de ROS que, a su vez, potencia el efecto negativo del estrés oxidativo (2).

Por otra parte, los errores durante la espermatogénesis (8), la presencia de espermatozoides inmaduros (2) o anomalías en estas células (ya sea el desarrollo incompleto del acrosoma, alteraciones en el citoesqueleto o en la unión cabeza-cola) también pueden dar lugar a un incremento de ROS y a espermatozoides anormales que favorecen el estrés oxidativo (5). Esto se debe a que durante la espermatogénesis se produce la liberación de células espermáticas con el citoplasma retenido, es decir, espermatozoides inmaduros y no funcionales que retienen en su interior glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) que permite la producción intracelular de NADPH que, mediante una enzima que regenera el NADPH en NADP, convierte el oxígeno en superóxido, el cual se convertirá en un tipo de ROS, el peróxido de hidrógeno (6).

Pese a que los desequilibrios de ROS tienen efectos disruptivos, se sabe que niveles bajos de ROS son necesarios para la correcta función espermática pero no su ausencia completa, es decir, es importante el correcto equilibrio de ROS (6). Cabe destacar que a pesar de las alteraciones a nivel mitocondrial o en la espermatogénesis, existen otros factores como la edad o ciertas patologías que son fuente endógena de ROS (8):

### **Varicocele**

El varicocele es una de las causas más comunes y por suerte corregible de la infertilidad masculina, llegando a afectar a un 15% de la población general y hasta un 44% de los casos de hombres infértiles. Consiste en una dilatación de los vasos sanguíneos que forman parte del cordón espermático o del escroto. Esta dilatación tiende a provocar un aumento de la presión arterial y, por consiguiente, un aumento de la temperatura de los testículos (6). Esta patología va asociada a un aumento de ROS y una reducción de la capacidad antioxidante como consecuencia del estrés oxidativo que se genera (8).

Existen diferentes grados de varicocele según sus características (6). Tanto el exceso de ROS como el aumento de temperatura en los testículos puede producir daños en el ADN espermático. La fragmentación del material genético de estas células y la descondensación de la cromatina se observa con un aumento de 2-3°C en la temperatura escrotal (5). Se cree que este exceso de calor podría aumentar el riesgo de fuga de electrones de la cadena transportadora (13) lo que se traduce en un aumento de estrés oxidativo y apoptosis, por ello los hombres con varicocele presentan mayores niveles de fragmentación de ADN (5) además de aumentar la peroxidación lipídica de las células espermáticas (13). Así mismo, los pacientes con esta patología son más propensos a tener alteraciones en las células de Sertoli, que tienen una función protectora durante la espermatogénesis y son más susceptibles a retener parte del citoplasma, lo que favorece la producción de espermatozoides alterados y, por consiguiente, aumenta la generación de ROS (10).

Cabe destacar que la varicocelectomía, un procedimiento quirúrgico y rutinario para corregir esta patología, consigue reducir las ROS, el daño en el ADN espermático (6) así como mejorar la capacidad antioxidante, lo que mejora la fertilidad y las tasas de gestación natural o mediante reproducción asistida (5).

### **Diabetes**

Esta patología está relacionada con un aumento de ROS, así mismo se asocia a una peor concentración, una disminución de la movilidad, morfología y viabilidad espermática además de un aumento en la fragmentación de ADN. De hecho, algunos estudios consideran que el tratamiento para la diabetes mejora las alteraciones reproductivas que ésta provoca (10).

### **Edad**

La edad paterna está relacionada de forma negativa con los parámetros seminales, niveles hormonales, integridad del ADN espermático y la función testicular en general, lo que favorece la infertilidad (12). A medida que las personas envejecen, también lo hacen las células del cuerpo y el aumento de las ROS como consecuencia del envejecimiento implica un aumento en la fragmentación del ADN, daño en la estructura celular y, por consiguiente, la alteración de su funcionamiento (10). Además, aumenta

la tasa de aneuploidías (7) y suceden con más frecuencia fallos en la apoptosis y en el empaquetamiento de la cromatina espermática (5), disminuye el porcentaje de espermatozoides normales en el eyaculado y en general disminuye la concentración de éstos (12). Así mismo, se ha comprobado que con la edad disminuye la expresión de antioxidantes, sean enzimáticos o no, de forma que disminuye la capacidad protectora y tamponadora de los testículos, aumentando así el riesgo de daño por ROS (8).

#### **- Fuentes exógenas de ROS:**

El estilo de vida o la exposición a diferentes factores ambientales pueden favorecer un incremento del estrés oxidativo (5) y provocar anomalías en la espermatogénesis. Por ejemplo, la exposición a toxinas como las presentes en el tabaco, la radiación o ciertos contaminantes ambientales pueden provocar el incremento de ROS en el testículo, impactando de forma negativa tanto en la espermatogénesis en sí como en la correcta función espermática (8).

#### **Infecciones y leucocitospermia**

La inflamación de los tejidos, así como la infiltración de los leucocitos es un proceso normal que tiene lugar tras la activación del sistema inmune frente a una infección. Se ha comprobado que los leucocitos son una importante fuente de estrés oxidativo, de hecho, se ha descrito que un leucocito puede llegar a producir 1000 veces más ROS que un espermatozoide. El eyaculado contiene cierta cantidad de leucocitos, sin embargo, la presencia de un elevado número de estas células provocado por una infección (leucocitospermia) se asocia a un incremento de estrés oxidativo (6), a una disminución de la capacidad antioxidante (8) y a un impacto negativo en algunos parámetros seminales (6). De hecho, la inflamación bloquea la espermatogénesis e inhibe la maduración espermática, por ello afecta de forma negativa a la movilidad (2), además de empeorar la morfología y la concentración espermática (6), así mismo, puede derivar en daño en el ADN y disminuir la fertilidad (5).

#### **Consumo de alcohol y tabaco**

El consumo de alcohol y tabaco tienen efectos muy negativos sobre el organismo. Diferentes estudios en ratas demuestran que un consumo habitual de alcohol aumenta el estrés oxidativo ya que aumenta la producción de ROS y disminuye la capacidad

antioxidante (6), además de incrementar la fragmentación de ADN espermático y la apoptosis (5). También se ha demostrado que las tasas de fertilidad son más bajas en estudios con animales que ingirieron este tipo de sustancias. Diferentes estudios mostraron efectos similares a los anteriormente descritos además de describir efectos perjudiciales sobre las mitocondrias (6) ya que un consumo elevado provoca cambios en la estructura y en el funcionamiento de estos orgánulos, reduciendo la producción de energía y aumentando la producción de ROS (2). Por otra parte, la espermatogénesis puede deteriorarse progresivamente a medida que se incrementa el consumo de alcohol, por lo que la calidad seminal y el riesgo de aneuploidias en espermatozoides está relacionado con un consumo crónico de esta sustancia (8).

En cuanto al tabaco, se ha demostrado que las personas fumadoras están expuestas a multitud de compuestos químicos nocivos que tienen un efecto proinflamatorio que favorece el estrés oxidativo (9). Estos compuestos químicos aumentan la producción de ROS y reducen la capacidad antioxidante (6) afectando de forma negativa a la integridad del ADN espermático (5), lo que conduce a una mayor tasa de fragmentación del ADN además de alterar otros parámetros (6). Se ha comprobado que los hombres que fuman antes o durante los intentos de concebir tienen una fertilidad disminuida. El tabaco afecta a la concentración espermática, la movilidad, la morfología, el volumen del eyaculado y la tasa de fecundación, lo cual probablemente se deba a una disfunción en la actividad mitocondrial. Numerosos estudios demuestran el aumento de aneuploidías en espermatozoides como consecuencia del estrés oxidativo provocado por el consumo de dicha sustancia (8).

### **Hipertermia escrotal**

La hipertermia escrotal puede tener lugar con la realización de ciertos ejercicios, permanecer sentado largos periodos de tiempo, la utilización de ropa interior muy apretada, o, por ejemplo, cuando se trabaja con un ordenador portátil sobre las piernas y tiene un impacto negativo sobre la espermatogénesis (13).

El ejercicio tiene numerosos beneficios para la salud, sin embargo, un ejercicio intenso o la realización rutinaria de ejercicios que favorezcan el incremento de calor testicular pueden llegar a ser perjudiciales para la fertilidad ya que el aumento de la temperatura escrotal provoca un aumento del estrés oxidativo y una reducción de la movilidad

espermática (6). Este hecho se debe a que el calor excesivo altera la espermatogénesis favoreciendo la formación de espermatozoides inmaduros y aumentando la fragmentación del ADN espermático (9). Por tanto, ciertos hábitos pueden tener un impacto negativo sobre la calidad espermática provocado por la hipertermia escrotal (6).

## **Radiación**

Muchos de los efectos negativos que tienen lugar con la exposición a ciertos tipos de radiación está relacionada con la hipertermia escrotal, lo que puede alterar el correcto funcionamiento de la membrana celular, la actividad enzimática y el transporte iónico de los espermatozoides, además de provocar un incremento de ROS (13). La radiación puede dividirse en ionizante y no ionizante. La no ionizante es la más utilizada en nuestro día a día, encontramos en esta categoría los teléfonos móviles, microondas, wi-fi, radares... Diferentes estudios han demostrado que este tipo de radiación provoca un aumento de las ROS y una disminución en la capacidad antioxidante (6). Así mismo, se ha asociado el wi-fi y el uso de ordenadores portátiles con un aumento de la fragmentación en el ADN espermático (5) y una disminución en la motilidad, morfología y recuento del espermatozoides (6). Aunque hay menos estudios realizados sobre este tema y es necesario corroborarlos, parece que los móviles pueden afectar a la espermatogénesis y provocar cambios en el tejido testicular mientras que la radiación producida por el wi-fi podría afectar a la calidad seminal, teniendo algún efecto negativo sobre la movilidad y el recuento espermático, sin embargo, los estudios realizados en humanos o en modelos animales son muy escasos, por lo que no hay una evidencia clara de sus posibles efectos (8). Por tanto, pese a que la radiación no ionizante no cause alteraciones del ADN directamente, sí que tiene de forma indirecta un efecto en la fertilidad al promover el aumento de ROS (6).

Por otra parte, la radiación ionizante (como los rayos-X) es bastante más peligrosa ya que la exposición de las células a este tipo de radiación genera niveles muy elevados de ROS, disminuye la defensa antioxidante e induce su envejecimiento celular además de provocar roturas en el ADN (6). Esta alteración en la protección frente a ROS podría afectar a la peroxidación lipídica, la fragmentación del ADN y la movilidad espermática (8). Así mismo, los espermatozoides son especialmente vulnerables frente a este tipo de radiación debido a su baja defensa antioxidante (6). Cabe destacar que, en la población

general, la exposición a este tipo de radiación es de forma puntual y transitoria por lo que sus posibles efectos no deberían ser preocupantes (8).

### **Contaminación**

Algunos contaminantes del aire, agua, suelo o presentes en la alimentación pueden alterar el correcto funcionamiento del organismo y afectan de forma negativa a la reproducción (10). Existe una asociación entre la contaminación atmosférica y la calidad seminal. Los principales mecanismos por los que causan daño en la salud son el estrés oxidativo y la inflamación (8). De hecho, la exposición a diferentes contaminantes ambientales como el humo procedente de los coches puede reducir la calidad espermática y afectar de forma negativa a la fertilidad masculina ya que ciertos contaminantes afectan a los lípidos de membrana celular, generan daños en el ADN e incluso pueden modificar patrones de expresión de proteínas implicadas en la espermatogénesis (6) así como un aumento del porcentaje de espermatozoides inmaduros presentes en el eyaculado (8). Sin embargo, pese a que la exposición a ciertos compuestos ambientales se correlaciona con un aumento de ROS y con la disminución de la capacidad antioxidante, se requieren más estudios para respaldar esta conclusión (6), ya que diversas investigaciones solo muestran diferencias significativas en los parámetros de calidad seminal entre pacientes con una exposición crónica a este tipo de contaminantes (8).

### **Obesidad y hábitos nutricionales**

Algunas enfermedades crónicas de alta prevalencia en nuestra sociedad como la obesidad aumentan la producción de ROS. Esta patología está asociada a una inflamación crónica y a una temperatura escrotal más alta de lo conveniente para la espermatogénesis, aumentando así el estrés oxidativo (2), por lo que se relaciona con una disminución en el recuento espermático, concentración, movilidad, vitalidad y morfología normal (10), un aumento en la fragmentación de ADN espermático (5) además de una disminución de los niveles de testosterona y una inflamación sistémica que aumenta aún más el estrés oxidativo en el organismo (10).

Por otra parte, los hábitos nutricionales son claves para que el organismo funcione correctamente, ya sea el déficit o el exceso de ciertos compuestos (8). Se ha observado que una dieta rica en productos cárnicos procesados, productos de soja, café, alcohol o

rica en dulces y grasas está inversamente relacionada con la calidad espermática (10). Por ejemplo, el consumo elevado de cafeína está asociado a una disminución de los parámetros seminales, pudiendo afectar de forma negativa a la fertilidad (8).

### **E. Factores protectores frente a ROS**

El semen humano contiene moléculas antioxidantes en el plasma seminal (9) y en el propio espermatozoide, aunque debido a su escaso citoplasma, el plasma seminal contiene la mayoría de estas moléculas (8). Los antioxidantes tienen la capacidad de proteger a los espermatozoides del estrés oxidativo (9), siendo capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas (8) así como de eliminar las ROS y potenciar un equilibrio en el organismo (2). Pese a que las reacciones de oxidación son necesarias para el correcto funcionamiento celular, es necesario evitar el posible daño espermático por exceso de ROS, por ello estos antioxidantes, tengan un origen fisiológico o exógeno, protegen a dichas células (8) y ejercen su función mediante mecanismos enzimáticos y no enzimáticos (9) (Figura 6).



Figura 6: Factores protectores frente a ROS. Fuente: propia.

Cabe destacar, que los antioxidantes exógenos que provienen de la dieta pueden obtenerse a partir de fruta, verdura o frutos secos, sin embargo, también existen en forma de suplementos orales que podrían aumentar la capacidad antioxidante total (8).

Por otra parte, existen cambios del estilo de vida como consumir una dieta equilibrada, realizar ejercicio moderado, evitar la hipertermia escrotal, dejar hábitos tóxicos como consumir alcohol o fumar que tienen un efecto protector frente al estrés oxidativo ya que minimizan la producción de ROS (9).

## **a. Antioxidantes**

### **– Enzimas antioxidantes**

Debido a la pérdida de gran parte del citoplasma y la ausencia de procesos de transcripción, el espermatozoide está desprovisto o tiene bajos niveles de enzimas antioxidantes en el citosol. A fin de evitar el desequilibrio de ROS y el estrés oxidativo, el bajo contenido de antioxidantes intracitoplasmático debe compensarse con la capacidad antioxidante del plasma seminal, de hecho, se cree que éste tiene 10 veces mayor capacidad antioxidante que la sangre (6). Por tanto, los espermatozoides son prácticamente dependientes de los antioxidantes presentes en el plasma seminal durante la espermatogénesis y a lo largo del tracto reproductor masculino (13). Éste contiene enzimas antioxidantes como catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX) (8), glutatión-s-transferasa (GST) e incluso vitamina C. Teniendo en cuenta el equilibrio entre especies prooxidantes y antioxidantes, se sugiere que un desequilibrio, ya sea por un incremento de ROS o un descenso de antioxidantes, podría proporcionar más información acerca de la relación entre el estrés oxidativo y la infertilidad masculina (6).

Los antioxidantes enzimáticos no actúan directamente sobre las ROS, sino que regulan la expresión de enzimas que sí lo hacen. Estas enzimas catalizan diferentes reacciones, pero tienen en común que eliminan o capturan ROS (8). La enzima SOD se localiza a nivel intracelular y en el líquido seminal, posee especial protección frente a la peroxidación lipídica (10) y tiene la capacidad de proteger al espermatozoide de los daños provocados por un exceso del radical superóxido. Así mismo también se ha visto que está implicada en la cascada de reacciones de la hiperactivación y capacitación espermática. La CAT se produce en la mayoría de los tejidos del tracto genital masculino y tiene un efecto protector frente al peróxido de hidrógeno (8), por ejemplo, esta función se muestra durante la espermatogénesis, cuando durante la reducción del citoplasma se producen muchos peroxisomas ricos en peróxido de hidrógeno (11). La GST es una gran familia de enzimas que participa de la inactivación de metabolitos que tienden a producir ROS. La GPX se produce en los espermatozoides y en el epidídimo, regula los niveles de peróxido de hidrógeno

(8), ayudando a preservar la función mitocondrial y proteger el ADN (11). Además, esta enzima participa como marcador de la maduración espermática y está relacionada en el mantenimiento óptimo de la movilidad espermática tras tratamientos de criopreservación (10).

– **Antioxidantes no enzimáticos**

El plasma seminal también contiene antioxidantes no enzimáticos cuyo origen es endógeno o bien deben ser ingeridos en la dieta. Son moléculas que asisten a enzimas (10) que tienen una acción antioxidante (8). Estos compuestos protegen del estrés oxidativo y actúan eliminando las ROS a fin de mantener la correcta homeostasis (9). Algunos de los antioxidantes que se encuentran de forma natural en el semen son la vitamina E, vitamina C, coenzima Q10 y la L-carnitina (8).

Por ejemplo, la coenzima Q10 tiene un papel protector de la peroxidación lipídica y la L-carnitina protege las membranas citoplasmáticas, tiene efectos antiapoptóticos y está relacionada con la movilidad, morfología y recuento espermático (10). Además, la vitamina C y E se obtienen de la dieta. Por una parte, la vitamina C es el principal antioxidante del plasma seminal y se ha visto que puede mejorar la concentración, morfología y la vitalidad espermática (8), así mismo, protege al ADN espermático del ataque de ROS y está relacionada de forma positiva con las tasas de fecundación en pacientes en tratamientos de reproducción. Por otra parte, la vitamina E previene la peroxidación lipídica (10). De igual forma, se ha observado que algunos ácidos grasos omega 3, ingeridos en la dieta, tienen importantes propiedades antioxidantes. En uno de los estudios que se realizó se observó que el grupo de pacientes que ingería omega 3 en su dieta incrementó la concentración y la movilidad espermática, así como aumentó el número de espermatozoides con una morfología normal, además de mejorar la capacidad antioxidante en general (8) (*Figura 7*).

| ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS |  |
|------------------------------|--|
| Coenzima Q10                 | Protección frente a peroxidación lipídica  |
| L-Carnitina                  | Propiedades antiapoptóticas<br>Mejora movilidad, morfología y recuento espermático |
| Vitamina C                   | Protección ADN<br>Mejora concentración, morfología y vitalidad espermática         |
| Vitamina E                   | Protección frente a peroxidación lipídica  |
| Omega 3                      | Mejora concentración, movilidad y morfología espermática                           |

*Figura 7:* Algunos de los antioxidantes no enzimáticos con capacidad protectora frente a ROS. Fuente: propia.

#### – Antioxidantes comerciales

Los suplementos nutricionales están formados por la combinación de diferentes antioxidantes en distintas concentraciones y pueden emplearse para mejorar la calidad seminal (8) ya que podrían contrarrestar los efectos de las ROS y servir como tratamiento para reducir el estrés oxidativo (14).

Se ha propuesto el uso de antioxidantes exógenos para mantener el correcto equilibrio entre moléculas prooxidantes y antioxidantes (6). En primer lugar, se conoce que las enzimas SOD, CAT y GPX trabajan de forma sinérgica para reducir la presencia de ROS y pese a que conocemos su implicación en el estrés oxidativo, hoy en día no se han realizado estudios clínicos sobre su administración en pacientes con problemas de fertilidad por lo que se desconoce cómo podría afectar su consumo (10). Por otra parte, algunos antioxidantes no enzimáticos como la coenzima Q10, la vitamina E o C ya han sido probados durante décadas en otras patologías, por lo que su consumo sí se considera seguro. Varios estudios señalan que su suplementación puede mejorar el recuento, la morfología y la movilidad espermática además de mejorar la peroxidación lipídica y reducir la fragmentación de ADN (6). Algunos estudios han observado que la administración de coenzima Q10 mejora la movilidad y la concentración espermática, así como que la L-carnitina tiene un papel importante en el metabolismo y la maduración de los espermatozoides. Hay investigaciones que también sugieren que estos suplementos mejoran los parámetros seminales como la movilidad y la concentración espermática. La vitamina E tiene un efecto protector de la peroxidación lipídica, protege a los espermatozoides de una disminución en su movilidad y protege de la fragmentación de ADN, mejorando

así los parámetros de movilidad espermática y disminuyendo la peroxidación. Además, el zinc es un mineral capaz de mejorar la concentración espermática, la movilidad progresiva y la capacidad fecundante de los espermatozoides (8). Sin embargo, no todos los antioxidantes actúan de la misma manera ni son igual de importantes, por eso se ha demostrado que tratamientos con una combinación de antioxidantes pueden tener efectos beneficiosos durante los tratamientos de reproducción asistida (13), es decir, la administración combinada de algunos antioxidantes puede reportar incluso mejores resultados (8).

Es importante destacar que los beneficios de la suplementación con antioxidantes no están claros (5) y presentan limitaciones (12). Existe cierta controversia con su administración, ya que hay estudios en los que no se observa una mejoría en la calidad espermática (8), incluso existen estudios con resultados negativos que defienden el efecto tóxico de éstos en caso de abuso (9). Es posible que esto se deba a la heterogeneidad de estudios, al hecho de que algunos ensayos emplean suplementos combinados y otros no, a la diversidad de los propios pacientes, o bien que las dosis y el tiempo de administración difieren entre sí, por lo que son necesarios más estudios a fin de definir el tipo de paciente que podría beneficiarse de este tratamiento, de la dosis y del tiempo de administración óptimos (8).

Por tanto, pese a que múltiples antioxidantes han demostrado tener un efecto positivo sobre la calidad espermática y muchos de ellos mejoran su capacidad antioxidante cuando actúan combinados (10), la revisión sistemática *Cochrane* en 2019 concluyó que, aunque existe relación entre la suplementación con algunos antioxidantes y un incremento en las tasas de gestación en hombres con factor masculino, se precisan más estudios (15). Conocer las dosis exactas de cada antioxidante para cada paciente, podría mejorar los parámetros seminales de forma personalizada, ya que el uso excesivo de antioxidantes puede tener efectos negativos que afecten a la integridad nuclear, haciendo incluso que el ADN sea más vulnerable al daño oxidativo. Algunos antioxidantes además dependen de la sinergia de otros, lo que podría explicar porque algunos estudios muestran efectos positivos mientras otros no. La suplementación con antioxidantes sin la correcta supervisión puede tener efectos no deseados ya que,

en ocasiones, las dosis superan el límite superior óptimo de cierto nutriente. Debido a que el uso excesivo de estos suplementos puede tener efectos nocivos en la función espermática o se desconocen las dosis o combinaciones correctas, a largo plazo una alternativa inocua podría ser llevar una dieta sana y equilibrada, a fin de aprovecharse de los efectos sinérgicos de los diferentes antioxidantes presentes en los alimentos. Así mismo, se precisan más estudios a fin de determinar qué alimentación sería la más adecuada para mejorar la fertilidad (10).

#### **b. Cambios en el estilo de vida**

Los cambios en el estilo de vida podrían tener un efecto protector frente al estrés oxidativo ya que los antioxidantes y otros componentes de la dieta podrían tener un papel modulador de la espermatogénesis además de tener la capacidad de reducir los niveles de ROS restaurando el equilibrio (10).

Por una parte, se ha comprobado que la pérdida de peso en pacientes con sobrepeso u obesidad, así como una dieta sana en pacientes con peso normal mejora la fragmentación del ADN espermático. Los tratamientos para la diabetes (5), así como la varicocelectomía (9), mejoran las alteraciones reproductivas asociadas a dichas patologías (5) ya que disminuye los niveles de ROS, mejora de forma indirecta los niveles de antioxidantes en el plasma seminal (9) y mejora en general los parámetros seminales (11).

Por otra parte, un periodo corto de abstinencia de la eyaculación reduce el tiempo que los espermatozoides permanecen en las vías seminales expuestos a ROS, por lo que además de reducir la fragmentación de ADN, aumenta su movilidad, mejorando así la calidad espermática y la integridad de su genoma (9). Pese a que los beneficios en la concepción natural no están claros, esto podría tener su importancia en los tratamientos de reproducción asistida, relacionándose con tasas de embarazo más altas (5).

#### **F. Técnicas para analizar el estrés oxidativo**

La fertilidad masculina se sigue evaluando principalmente mediante seminogramas, pero éstos no predicen la fertilidad o el éxito en un posible tratamiento de reproducción asistida. La concentración, movilidad y morfología espermática (5) puede no determinar la causa de la infertilidad, por ello son necesarios otros marcadores para entender el mecanismo molecular implicado en la infertilidad. Uno de estos marcadores es el estrés oxidativo ya

que juega un papel crucial en la patología de la infertilidad masculina, además se conoce que el estrés oxidativo está involucrado en la mayoría de los casos cuya causa de infertilidad es conocida (3).

Medir el estrés oxidativo es esencial para poder gestionar y tratar la infertilidad de forma más concreta y eficiente (9), sin embargo, debido a que las ROS son inestables, medir sus niveles puede resultar todo un reto (10). Existen métodos directos que permiten cuantificar los niveles de ROS y existen métodos indirectos que permiten medir los efectos adversos de ROS (9).

En cuanto a los métodos indirectos, se puede medir el malonilaldehído (MDA), uno de los subproductos principales de la peroxidación lipídica ya que, al ser un indicador de dicho proceso, tiene una correlación positiva con la producción de ROS (9), sin embargo, pese a ser un método simple, a día de hoy sigue siendo caro (3). De igual forma, el 8-OH-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) es un producto del daño oxidativo del ADN y está relacionado con la fragmentación de manera que se usa como un biomarcador del daño en el ADN espermático inducido por ROS (9), este producto aporta la mayor evidencia de que la fragmentación en el ADN espermático debida al estrés oxidativo está involucrada en la infertilidad, sin embargo, este producto puede provocar la oxidación del ADN por sí mismo y alterar los resultados del test (3). Así mismo, la capacidad antioxidante total (TAC) se emplea para medir la cantidad total de antioxidantes presentes en el plasma seminal, de manera que niveles bajos de TAC en una muestra seminal están relacionados con la infertilidad masculina (9), pese a ser un test rápido, no mide de forma específica los antioxidantes y requiere material de coste elevado (3). El parámetro ROS-TAC usa niveles estandarizados de antioxidantes y ROS en una muestra de semen de manera que permite que se comparen muestras con el marcaje estandarizado, de forma que niveles bajos de ROS-TAC (9) implicarían elevados niveles de estrés oxidativo (3), lo que supondría un riesgo para la fertilidad (9). Pese a que este método es muy útil porque permite identificar pacientes con un posible diagnóstico de infertilidad masculina (3), es un método de elevado coste (9) (*Figura 8*).

| Marcador del estrés oxidativo          |                                    |
|--|------------------------------------|
| Métodos directos                       | Métodos indirectos                 |
| Quimioluminiscencia                    | Malonilaldehído (MDA)              |
| Nitroazul de tetrazolio                | 8-OH-2'-deoxiguanosina (8-OHdG)    |
| Potencial de oxidación-reducción (ORP) | Capacidad antioxidante total (TAC) |
|  | ROS-TAC                            |

Figura 8: Técnicas para analizar el estrés oxidativo. Fuente: propia.

Por otra parte, en cuanto a los métodos directos, la quimioluminiscencia permite cuantificar los niveles de ROS mediante la adición de un compuesto químico capaz de emitir luz en una muestra de semen sin lavar (9), de forma que permite medir los niveles de ROS intracelulares y extracelulares, aunque no diferencia entre los tipos de ROS (3). Así mismo, el nitroazul de tetrazolio es un compuesto químico que permite evaluar los niveles de ROS y además determinar su fuente: si deriva de células espermáticas inmaduras o bien su origen es la leucocitospermia (9). El potencial de oxidación-reducción (ORP) es otro tipo de método directo que permite medir el equilibrio redox, por lo que mide la transferencia de electrones desde los antioxidantes hasta las ROS. Es un método rápido y sencillo, con elevada sensibilidad y especificidad capaz de medir los antioxidantes y las ROS de una muestra de semen. El análisis de ORP puede realizarse mediante el sistema MiOXSYS (3) capaz de medir el estrés oxidativo evaluando el equilibrio entre ROS y los antioxidantes en una muestra (9) ya sea en fresco o congelada (3), de forma que permite identificar una calidad seminal normal/anormal. Este novedoso método es fácil de usar y económico, por lo que su utilización ha ido en aumento estos últimos años (9). Además, pese a que no existe un método perfecto para evaluar el estrés oxidativo y todos los métodos presentan sus pros y contras, el análisis ORP es un prometedor marcador que proporciona una evaluación del estado redox global (3).

## 2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es analizar como el estrés oxidativo afecta de forma negativa a la calidad espermática y si ello está implicado en los resultados reproductivos.

## 3. MÉTODOS

Se realizaron varias búsquedas bibliográficas empleando principalmente bases de datos como *Web of Science* y *Pubmed*. Las palabras que se introdujeron fueron siempre en inglés y se acotó la búsqueda a los artículos más recientes, desde el año 2018 hasta el 2021. De forma

excepcional, se incluyeron dos artículos del año 2017 y 2004. Se emplearon palabras en inglés como “estrés oxidativo”, “calidad espermática”, “especies reactivas de oxígeno”, “espermatozoide”, “antioxidante”, “fertilidad” o “infertilidad masculina” que aparecieran en el resumen de las publicaciones. Además, se incluyó una publicación de andrología clínica de ASEBIR del año 2017 y una revisión de *Cochrane* del año 2019. Se empleó la base de datos *Pubmed* con las palabras “estrés oxidativo” e “infertilidad masculina” en el título y se acotó la búsqueda a los artículos publicados en los últimos cinco años y aparecieron 17. Se realizó una nueva búsqueda en la misma base de datos acotando los resultados a los últimos cinco años empleando las palabras “ROS” y “esperma humano” en el título en la que aparecieron 39 resultados. Se realizó una búsqueda con las palabras “calidad espermática” y “antioxidantes” en el título de las publicaciones en la base de datos *Pubmed* y aparecieron 72 artículos.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

##### **A. Efectos del estrés oxidativo sobre la calidad espermática**

El estrés oxidativo tiene un impacto negativo en la espermatogénesis y en la funcionalidad de los espermatozoides. Las ROS tienen un efecto tóxico sobre la concentración, la movilidad y la morfología espermática además de favorecer el daño espermático y la apoptosis celular (8). La organización intracelular de los espermatozoides los hace especialmente vulnerables frente al estrés oxidativo (6). El espermatozoide no presenta mecanismos de autorreparación mitocondrial (11), ni una maquinaria de reparación del ADN, ni enzimas antioxidantes capaces de contrarrestar un ataque de ROS, además al final de la espermatogénesis, los espermatozoides compactan mucho su citoplasma de manera que el ADN queda más desprotegido. Por tanto, la exposición de los espermatozoides a diferentes fuentes de ROS y su incapacidad para eliminar dichas especies hace que los espermatozoides sean muy susceptibles al daño, especialmente en las membranas y núcleo, induciendo así la peroxidación lipídica, alteraciones en las proteínas o la fragmentación del ADN (6). Además, cuando hay un exceso de ROS y se pierde su equilibrio con todo el sistema antioxidante, aparece una situación de estrés oxidativo que tiene un efecto perjudicial en el esperma llegando incluso a provocar la apoptosis (9), por tanto, podría decirse que el estrés oxidativo reduce en general la calidad espermática (6). Así mismo, debido a la vulnerabilidad de estas células, las alteraciones a nivel espermático no solo afectarían de forma grave a la calidad de estas células, sino que comprometerían su correcto funcionamiento, pudiendo afectar a la fertilidad (3). En efecto, se ha observado que los

hombres con problemas de fertilidad presentan niveles más elevados de ROS y mayor apoptosis (14), de hecho, alrededor de un 30-80% de los casos de infertilidad masculina presentan niveles altos de ROS (9), por lo que el estrés oxidativo podría estar implicado en la infertilidad idiopática (11). El estrés oxidativo no solo resulta en un exceso de estas especies sino también en una disminución de la capacidad antioxidante del plasma seminal (9). Elevados niveles de ROS pueden afectar de forma negativa a la función espermática (3) y reducir la calidad de éste mediante alteraciones en las proteínas (6), la peroxidación lipídica o la fragmentación en el ADN además de favorecer la apoptosis celular (9) (*Figura 9*).



*Figura 9:* Efectos del estrés oxidativo sobre la calidad espermática. Fuente: propia.

#### **- A nivel de membrana plasmática (peroxidación lipídica)**

La peroxidación lipídica se refiere a la degradación oxidativa de los lípidos en el que las ROS oxidan los ácidos grasos de la membrana celular provocando una reacción en cadena que termina afectando de forma negativa a la integridad de la célula (6), ya que, tras un primer ataque por ROS, el ácido graso que ha sido atacado se queda en forma de radical al tener un déficit electrónico, de manera que este radical lipídico puede provocar una reacción en cadena oxidando a otro ácido graso cercano (9). La membrana plasmática de los espermatozoides es especialmente susceptible al daño oxidativo debido a su composición lipídica rica en ácidos grasos poliinsaturados (2) muy reactivos frente a ROS. Al producirse la peroxidación se altera la fluidez y permeabilidad de la célula, lo que se traduce en una pérdida de la movilidad espermática (6). Así mismo, al alterarse la integridad de la membrana, se modifica la permeabilidad de iones, pudiendo inactivar diferentes enzimas y receptores de membrana (13). Este hecho se suma a que los subproductos de la peroxidación lipídica se unen y alteran proteínas mitocondriales implicadas en la cadena de transporte de electrones, provocando una disminución de la producción de ATP y de la movilidad espermática (9), empeorando así el estrés oxidativo (13).

### **- A nivel de citoplasma (alteración de proteínas y disfunción mitocondrial)**

Los procesos relacionados con el desarrollo, maduración y actividad espermática tienen un requerimiento energético elevado dependiente del correcto funcionamiento y morfología mitocondrial. Debido a que la síntesis de ATP de las mitocondrias está relacionada con la generación de ROS, el funcionamiento de este orgánulo debe estar muy regulado. De hecho, se ha comprobado que los pacientes con una reducción de la movilidad espermática tienen una disfunción mitocondrial. Las ROS dañan el ADN o alteran el funcionamiento de proteínas mitocondriales (11), se producen alteraciones en la cadena de transporte de electrones (14), se reduce la eficiencia de la producción de ATP (6) y los niveles generales de ROS aumentan (14).

Por otra parte, muchas de las proteínas implicadas en la movilidad espermática son vulnerables al estrés oxidativo, las ROS pueden provocar cambios estructurales en proteínas que se localizan en el flagelo o bien dichas ROS participan en la cascada de reacciones involucradas en el movimiento (13).

### **- A nivel de molécula de ADN (fragmentación de ADN)**

Al producirse la peroxidación lipídica, se compromete la integridad de la célula y el material genético es más vulnerable frente al ataque de ROS (14), estas especies pueden afectar a la integridad del ADN del espermatozoide. El estrés oxidativo favorece la falta de protección y aumenta la posibilidad de daño en el material genético (2), esto sumado a la carencia de enzimas que permiten la reparación completa del ADN, en caso de rotura de éste, no puede repararse por completo por lo que aparecen espermatozoides fragmentados en el eyaculado (6), es decir, la fragmentación del ADN espermático es consecuencia del daño que hacen las ROS (2) y está relacionado con la producción de espermatozoides no funcionales (7) y con parámetros seminales anormales (11).

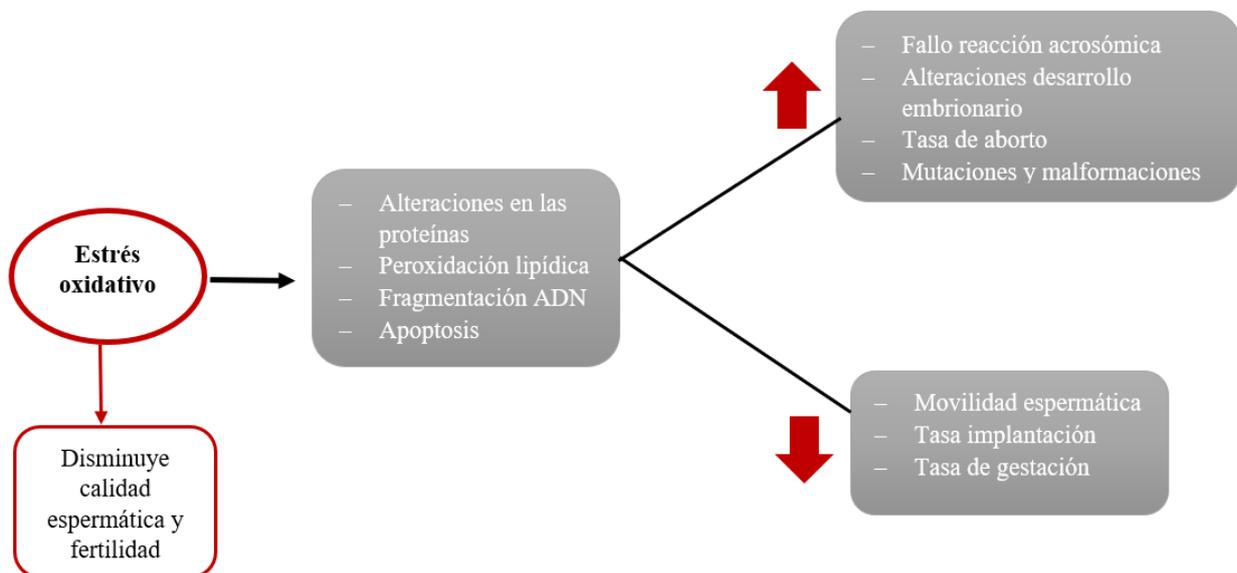
### **- A nivel celular (apoptosis)**

La apoptosis es la muerte celular programada (9) y es muy importante su correcta regulación ya que así solo aquellas células germinales genética y funcionalmente intactas se convierten en espermatozoides. Los factores que inducen la apoptosis están vinculados a la función mitocondrial y al daño en el ADN (11). Durante la espermatogénesis, la apoptosis se encarga de que ninguna célula germinal defectuosa se

diferencie en espermatozoide. Si este proceso falla, se puede producir una acumulación de espermatozoides defectuosos que expresan marcadores apoptóticos (5). Así mismo, este proceso puede ser activado por la fragmentación de ADN espermático (9), por membranas mitocondriales dañadas, niveles muy elevados de ROS (14) o cuando el daño celular es tan grave que no puede ser reparado, en tales casos, se activan rutas de apoptosis (11). Cuando la función de la célula espermática se ve alterada por ROS (10) se pueden activar rutas metabólicas que repercuten de forma negativa en la maduración de los espermatozoides y promueven su apoptosis (5).

## **B. Efectos del estrés oxidativo sobre los resultados reproductivos**

Los efectos negativos en las células como consecuencia del estrés oxidativo derivan en una reducción de la movilidad, fallos en la reacción acrosómica, disminución de las tasas de implantación, alteraciones en el desarrollo embrionario, incremento del riesgo de mutaciones genéticas, malformaciones congénitas y aumento del riesgo de aborto (3), por lo que un aumento del estrés oxidativo podría no solo reducir la calidad espermática, sino disminuir también la probabilidad de conseguir una gestación, sea espontánea o mediante tratamientos de reproducción asistida (6) (*Figura 10*).



*Figura 10:* Efectos del estrés oxidativo sobre los resultados reproductivos. Fuente: propia.

La contribución del factor masculino a la infertilidad en las tasas de éxito de los diferentes tratamientos de reproducción asistida ha sido fuente de debate en la última década (6). Muchos estudios señalan que el estrés oxidativo está relacionado con el descenso de la

fertilidad, pudiendo afectar tanto a la gestación natural como a los tratamientos de reproducción asistida con menores tasas de fecundación, detención del desarrollo embrionario, fallo de implantación, aumento del riesgo de aborto recurrente y menores tasas de nacimiento (9).

Se conocen algunos efectos del estrés oxidativo en la efectividad de dichos tratamientos (6). Por ejemplo, alteraciones seminales como la presencia de espermatozoides inmaduros, ya sea a nivel de su estructura, nivel de compactación o integridad (7), o bien espermatozoides que degeneran durante la espermatogénesis, son fenómenos propios de pacientes con elevado estrés oxidativo (2) y esto puede provocar fallos en la fecundación, pérdida gestacional y problemas en el desarrollo embrionario (3). Además, las alteraciones de las mitocondrias podría reducir la fertilidad ya que estos orgánulos aportan la energía necesaria para la movilidad de los espermatozoides (14). Así mismo, la peroxidación lipídica compromete la estructura, dinámica y fluidez de la membrana (2), alterando la movilidad y reduciendo la capacidad del espermatozoide para la interacción con el ovocito, comprometiendo así su habilidad para fecundar (13). Por otra parte, pese a que muestras seminales normales pueden presentar cierto grado de fragmentación de ADN, pacientes con problemas de infertilidad tienen niveles muy elevados (7). Cabe destacar en este último caso que la integridad del ADN espermático es crucial para la fertilidad y el desarrollo de una descendencia sana (5). La fragmentación de ADN espermático tiene efectos perjudiciales en el desarrollo embrionario y en los resultados de embarazo. Los espermatozoides con ADN fragmentado están relacionados de forma negativa con las tasas de implantación (9), ya que presentan una disminución de la capacidad para fecundar (8). De hecho, algunos estudios de tratamientos de reproducción asistida relacionan la fragmentación de ADN espermático con una disminución de las tasas de embarazo y un aumento del riesgo de aborto (9). Así mismo, hay una correlación entre la tasa de aneuploidías y elevados niveles de fragmentación del ADN, lo que resulta en un aumento de anomalías genéticas. Además, hay una correlación entre elevados niveles de ROS y el aumento de la apoptosis espermática ya que el estrés oxidativo causa alteraciones en el sistema implicado en la apoptosis, de manera que pueden persistir espermatozoides con anomalías que en otras circunstancias hubieran sido marcados para ser eliminados (8) (*Figura 11*).

| <b><u>Estrés oxidativo</u></b>   |   |
|--|---|
| <b>Alteraciones mitocondriales</b>   | – Reducción de la movilidad   |
| <b>Peroxidación lipídica</b>   | – Reducción de la capacidad para fecundar   |
| <b>Fragmentación ADN</b>   | ↓ <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tasa de implantación</li> <li>○ Tasa de embarazo</li> </ul> ↑ <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Riesgo de aborto</li> <li>○ Tasa de aneuploidías</li> </ul> |
| <b>Apoptosis (presencia de espermatozoides inmaduros y con alteraciones)</b> | ↑ <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Fallo de fecundación</li> <li>○ Tasa de aborto</li> <li>○ Problemas del desarrollo embrionario</li> </ul>  |

Figura 11: Efectos del estrés oxidativo según como alteran los diferentes parámetros reproductivos.

Fuente: propia.

### a. En gestación natural

El estrés oxidativo aparece en muchos pacientes que presentan problemas reproductivos y puede ser causa de diferentes alteraciones que desembocan en la fragmentación del ADN, modificaciones en las proteínas y lípidos, alteraciones en la concentración, movilidad o morfología espermática. Debido a que la calidad de los espermatozoides se ha asociado a un mayor éxito a la hora de conseguir una gestación, se sabe que los efectos negativos del estrés oxidativo están relacionados con una menor probabilidad de conseguir una gestación natural (6). Por ejemplo, niveles elevados de fragmentación de ADN se han relacionado con menores probabilidades de conseguir una gestación natural (5) e incluso la imposibilidad de lograrlo, ya que el daño en el ADN se relaciona con menores tasas de implantación e incluso mayor riesgo de pérdida gestacional (16) (Figura 12).

| <b>ESTRÉS OXIDATIVO</b>  |  |   |
|--|--|---|
| <b>Gestación natural</b>   | <b>IA</b>  | <b>ICSI / FIV</b>   |
| ↓ <ul style="list-style-type: none"> <li>– Tasa de gestación</li> <li>– Tasa de implantación</li> </ul> ↑ <ul style="list-style-type: none"> <li>– Riesgo pérdida gestacional</li> </ul> | ↓ <ul style="list-style-type: none"> <li>– Probabilidad de fecundación</li> <li>– Tasa de gestación</li> </ul> | ↓ <ul style="list-style-type: none"> <li>– Tasa de nacimiento</li> <li>– Tasa de fecundación</li> <li>– Calidad embrionaria</li> <li>– Tasa de gestación</li> </ul> ↑ <ul style="list-style-type: none"> <li>– Riesgo de pérdida gestacional</li> </ul> |

Figura 12: Efectos del estrés oxidativo en la gestación natural y en los tratamientos de reproducción

asistida. Fuente: propia.

## **b. En Inseminación Artificial (IA)**

El estrés oxidativo y el daño en el ADN espermático tienen efectos negativos sobre las tasas de embarazo tras un tratamiento de IA (6). Por una parte, se ha observado que un elevado porcentaje de espermatozoides con morfología anormal presentes en el eyaculado está asociado con peores resultados tras un tratamiento de IA (16), por otra parte, se ha demostrado que otro de los efectos del exceso de ROS, la fragmentación de ADN espermático, está relacionada con una menor probabilidad de fecundación en este tipo de tratamientos (7). De hecho, diferentes estudios afirman que, si el ADN de los espermatozoides está alterado, puede disminuir hasta un 21% las tasas de embarazo. Además, un metaanálisis realizado por investigadores belgas concluyó que niveles bajos de fragmentación aumentan hasta 3 veces la posibilidad de lograr un embarazo tras IA (6), por lo que la relación entre el ADN dañado y la disminución en las tasas de gestación en IA es notoria (10) (*Figura 12*).

## **c. En tratamientos Fecundación in Vitro (FIV) / Microinyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI)**

Ciertos estudios demuestran que, pese al impacto perjudicial sobre la calidad y el correcto funcionamiento de los espermatozoides debido al estrés oxidativo, éste no tiene un efecto negativo sobre las tasas de FIV o ICSI mientras que otros estudios defienden un impacto negativo de las ROS sobre los resultados reproductivos, incluyendo una correlación entre el estrés oxidativo y peores tasas de fecundación tras FIV (8).

Por una parte, uno de los efectos del estrés oxidativo es la fragmentación del ADN espermático, el cual se ha relacionado con menores tasas de nacimiento (5), un aumento del riesgo de aborto (6), menores tasas de fecundación (3), una calidad embrionaria reducida, menor desarrollo del blastocito y una reducción en las tasas de gestación mediante el uso de FIC/ICSI (7). De hecho, más de un 5% de los intentos de FIV resultan en fallo a pesar de los parámetros normales espermáticos. La mitad de dichos casos no se debían a un factor femenino, por lo que una posible explicación podría ser la presencia de elevados niveles de fragmentación de ADN debido al estrés oxidativo, ya que se conoce que el daño del material genético está estrechamente relacionado con peores resultados en FIV, por lo que en estos casos,

el estrés oxidativo podría ser el origen del fallo de dichos tratamientos (10). Por otra parte, los datos con ICSI son menos claros, algunos estudios afirman que el daño en el ADN espermático fruto del estrés oxidativo influye en los resultados reproductivos afectando a las tasas de embarazo mientras otros estudios consideran lo opuesto. Esta inconsistencia de resultados puede deberse a una heterogeneidad entre los diferentes laboratorios y poblaciones, por lo que serían necesarios más estudios (6) (*Figura 12*).

Finalmente, cabe destacar que algunos estudios consideran que la manipulación espermática durante tratamientos de FIV o ICSI favorece el incremento de ROS, provocando un impacto en los resultados. Estos estudios sugieren que pese a que el uso rutinario de pruebas de selección espermática en clínicas de andrología está bien justificado y que puede ayudar a mejorar los tratamientos, los resultados en diversos estudios en modelos animales confirman la relación negativa entre el estrés oxidativo y las tasas de fecundación de los tratamientos ICSI (10) (*Figura 13*).

| <b>Efectos del estrés oxidativo en ICSI/FIV</b>   |
|---|
| – Controversia en cuanto a los efectos del estrés oxidativo en tratamientos como ICSI o FIV: posible impacto negativo en la calidad y funcionalidad espermática pero no empeora los resultados de estos tratamientos, sin embargo, se demuestra una correlación entre los niveles elevados de ROS y una disminución en la tasa de fecundación en FIV (8). |
| – La fragmentación de ADN espermático como consecuencia del estrés oxidativo se asocia a un mayor riesgo de aborto y tasas de gestación más bajas, aunque existen metaanálisis que no observaron dicha asociación (5).  |
| – El estrés oxidativo tiene una influencia negativa en las tasas de gestación, aumenta el riesgo de aborto y empeora la calidad embrionaria, sin embargo, debido a la heterogeneidad en algunos estudios, algunos de éstos consideran que no hay evidencia suficiente de los efectos negativos del estrés oxidativo en técnicas como FIV/ICSI (6).        |
| – El estrés oxidativo tiene una correlación negativa con las tasas de fecundación, de implantación y con la calidad embrionaria, sin embargo, la fragmentación del ADN espermático no se relaciona con las tasas de gestación (3).  |
| – El estrés oxidativo se asocia a una peor calidad embrionaria, menor desarrollo del blastocisto, menores tasas de implantación y de gestación (7).   |
| – La fragmentación de ADN provocada por el estrés oxidativo está relacionada con peores resultados en tratamientos FIV. Así mismo, la manipulación espermática de los tratamientos FIV/ICSI podría favorecer el estrés oxidativo (10).  |

*Figura 13:* Efectos que tiene el estrés oxidativo en tratamientos ICSI/FIV. Fuente: propia.

## **5. CONCLUSIONES**

La infertilidad afecta a alrededor de un 15% de las parejas a nivel mundial (5) y se conoce que existen factores parentales que influyen en la espermatogénesis y en la calidad del espermatozoide, pudiendo alterar su capacidad para fecundar o las tasas de implantación (7). Las últimas investigaciones se han centrado en el papel que juega el estrés oxidativo como posible causa de infertilidad masculina ya que éste se asocia a la generación excesiva de radicales libres (como las ROS) y/o en la deficiencia de antioxidantes, pudiendo ser el estrés oxidativo un posible biomarcador de factor masculino (13), de esta forma, mediante diferentes técnicas, si se consigue medir de manera precisa los niveles de ROS y se conocen sus efectos sobre la fertilidad masculina, se podría tratar a los pacientes con infertilidad por factor masculino con mayor precisión y así mejorar los tratamientos (9).

Las ROS están presentes en el organismo y tienen la capacidad de actuar como mensajeros en la cascada de reacciones que afecta a la maduración espermática (10), por ello el equilibrio entre ROS y antioxidantes es indispensable para el correcto funcionamiento espermático (3). En determinadas concentraciones, las ROS ejercen una función primordial para el correcto funcionamiento celular (11). Sin embargo, elevados niveles de ROS pueden provocar estrés oxidativo (10) lo que puede resultar tóxico para las células (12), ya que puede alterar su correcto funcionamiento, su morfología (8) y disminuir la calidad espermática en general (12) al favorecer procesos negativos para los espermatozoides como la peroxidación lipídica, la fragmentación de ADN e incluso la apoptosis celular (2).

Pese a que las células germinales son especialmente vulnerables al ataque de ROS debido a la limitada capacidad antioxidante presente a nivel celular (13), existen importantes antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos que tienen un papel protector (11). Por otra parte, la suplementación oral con antioxidantes comerciales podría reducir el daño de ROS, sin embargo son necesarios más estudios para conocer las dosis, combinación de antioxidantes y duración óptima de su consumo (2) a fin de poder adaptar mejor el tratamiento sin correr riesgos para la salud. Por el momento, seguir una dieta sana y equilibrada podría ser una alternativa para consumir todos los antioxidantes que se necesitan en las medidas correctas sin la complicación de los posibles efectos negativos de los suplementos (10).

Los pacientes con niveles elevados de ROS suelen presentar un recuento espermático reducido, así como una reducción en la movilidad y vitalidad espermática (13). Todos los factores que

favorecen el estrés oxidativo alteran el funcionamiento celular (11), perjudicando así la fertilidad masculina (5).

El estrés oxidativo afecta a la calidad espermática provocando una disminución en la movilidad, la vitalidad (10), la concentración y alteraciones morfológicas en los espermatozoides (8) que podrían afectar de forma negativa a la fertilidad disminuyendo las tasas de implantación, provocando fallos en la reacción acrosómica, alteraciones en el desarrollo embrionario, aumentando el riesgo de mutaciones, fallos de fecundación e incluso abortos (3).

En conclusión, el estrés oxidativo podría estar implicado en la infertilidad idiopática (11) y pese a que las ROS están involucradas en numerosos procesos, éstos siempre suceden bajo niveles controlados y un exceso de estas especies podría afectar de forma negativa a la calidad espermática y comprometer tanto las tasas de fecundación como las tasas de gestación y nacimiento (10), ya sea de forma espontánea o mediante tratamientos de reproducción asistida (6). Por este motivo, gestionar mejor el estrés oxidativo (14) conociendo el origen de las ROS, los efectos negativos que tienen en la fertilidad masculina (2), midiendo con precisión el estrés oxidativo empleando la técnica más adecuada (9), además de realizar cambios en el estilo de vida (2), todo ello podría mejorar los resultados reproductivos (14). Así mismo, es importante destacar que se precisan más estudios sobre los efectos del estrés oxidativo en los resultados reproductivos debido a la heterogeneidad de estudios que existe actualmente (8).

## **6. AGRADECIMIENTOS**

Transmitir mi más sincero agradecimiento a la Universidad Europea de Madrid, al grupo IVIRMA y en especial, a mi tutor Alberto Pacheco por la formación y ayuda que me han procurado para facilitar la elaboración de este trabajo.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

1. Ford WCL. Regulation of sperm function by reactive oxygen species. Hum Reprod Update. 2004;10(5):387–99.
2. Barati E, Nikzad H, Karimian M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. Cell Mol Life Sci [Internet]. 2020;77(1):93–113. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03253-8>
3. Robert KA, Sharma R, Henkel R, Agarwal A. An update on the techniques used to

- measure oxidative stress in seminal plasma. *Andrologia*. 2021;53(2):1–18.
4. Aitken RJ. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Mol Reprod Dev*. 2017;84(10):1039–52.
  5. Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, Selvam MKP, Cho CL, Henkel R, et al. Role of Oxidative Stress in Male Infertility: An Updated Review. *J Hum Reprod Sci* [Internet]. 2019;12(1):4–18. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6472207/>
  6. Ribas-Maynou J, Yeste M. Oxidative stress in male infertility: Causes, effects in assisted reproductive techniques, and protective support of antioxidants [Internet]. Vol. 9, *Biology*. MDPI AG; 2020 [cited 2021 May 11]. p. 77. Available from: [www.mdpi.com/journal/biology](http://www.mdpi.com/journal/biology)
  7. S. Colaco and D. Sakkas. Paternal factors contributing to embryo quality. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35:1953–68.
  8. Anarte C, González C, Lafuente R, Martínez JC, Pacheco A. Contaminación ambiental y manejo del estrés oxidativo en el factor masculino. 2017;104.
  9. Takeshima T, Usui K, Mori K, Asai T, Yasuda K, Kuroda S, et al. Oxidative stress and male infertility [Internet]. Vol. 20, *Reproductive Medicine and Biology*. John Wiley and Sons Ltd; 2021 [cited 2021 May 17]. p. 41–52. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/rmb2.12353>
  10. Torres-Arce E, Vizmanos B, Babio N, Márquez-Sandoval F, Salas-Huetos A. Dietary antioxidants in the treatment of male infertility: Counteracting oxidative stress. *Biology (Basel)*. 2021;10(3):1–39.
  11. Ritchie C, Ko EY. Oxidative stress in the pathophysiology of male infertility. *Andrologia*. 2021;53(1).
  12. Nguyen-Powanda P, Robaire B. Oxidative stress and reproductive function in the aging male. *Biology (Basel)* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2021 Jun 26];9(9):1–15. Available from: [www.mdpi.com/journal/biology](http://www.mdpi.com/journal/biology)
  13. Nowicka-bauer K, Nixon B. Molecular changes induced by oxidative stress that impair human sperm motility [Internet]. Vol. 9, *Antioxidants*. MDPI AG; 2020 [cited 2021

Jun 21]. Available from: [/pmc/articles/PMC7070831/](#)

14. Almansa-Ordonez A, Bellido R, Vassena R, Barragan M, Zambelli F. Oxidative stress in reproduction: A mitochondrial perspective. *Biology (Basel)*. 2020;9(9):1–21.
15. Smits RM, Mackenzie-Proctor R, Yazdani A, Stankiewicz MT, Jordan V, Showell MG. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;2019(3).
16. Alahmar AT. Role of Oxidative Stress in Male Infertility: An Updated Review. *J Hum Reprod Sci [Internet]*. 2019 Jan 1 [cited 2021 Aug 17];12(1):4. Available from: [/pmc/articles/PMC6472207/](#)