

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
UNIDAD DE SERVICIOS ESCOLARES DE POSGRADO
ESPECIALIDAD EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA



IMPACTO DE LA FRAGMENTACION DEL DNA ESPERMATICO EN LA PAREJA
INFERTIL CON EL USO DE ANTIOXIDANTES

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA

PRESENTA :
HORACIO VEGA PEÑA

TUTOR : DR EFRAIN PÉREZ PEÑA
DIRECTOR GENERAL
ASESORES : DR FRANCISCO ROJAS ROMERO
JEFE DE ENSEÑANZA
DR FRANCISCO LIZARRAGA SALAS
DEPARTAMENTO DE ANDROLOGIA

ZAPOPAN , JALISCO

AGOSTO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
UNIDAD DE SERVICIOS ESCOLARES DE POSGRADO
ESPECIALIDAD EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA



IMPACTO DE LA FRAGMENTACION DEL DNA ESPERMATICO EN LA PAREJA
INFERTIL CON EL USO DE ANTIOXIDANTES

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA

PRESENTA :
HORACIO VEGA PEÑA

DR. EFRAÍN PEREZ PEÑA
Director General

DR. FRANCISCO ROJAS ROMERO
Jefe de Enseñanza

ZAPOPAN JASLISCO

AGOSTO DEL 2012

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción.....	4
2. Planteamiento del problema.....	6
3. Resumen.....	8
4. Antecedentes.....	9
5. Justificación.....	17
6. Pregunta de Investigación.....	18
7. Hipótesis.....	18
8. Objetivos.....	19
- Objetivo general	
- Objetivos específicos	
9. Material y Métodos.....	20
- Diseño del estudio	
- Universo de estudio	
- Tipo de muestreo y tamaño de la muestra	
- Criterios de selección	
- Variables y escalas de medición	
- Definición operacional de variables	
- Metodología: desarrollo del estudio	
- Flujograma	
10. Análisis estadístico.....	25
11. Resultados.....	26
12. Discusión.....	31
13. Conclusión.....	34
14. Consideraciones éticas.....	35
15. Bibliografía.....	37
16. Anexo.....	41

INTRODUCCION

Actualmente el estudio del varón en el estudio básico de la pareja infértil ha cobrado mucha importancia ya que se ha visto que hasta el 40-45% de las causas de infertilidad son por casusa de la alteración del factor masculino por lo que cada día se estudia mas al varón y no como antes cuando se le atribuía la mayor parte de la responsabilidad a la mujer que estaba sometida a un proceso de infertilidad

En un inicio solo con realizar un seminograma básico se daba por estudiado completamente al varón , con el tiempo ha cambiado esta actitud y se han modificado los criterio y parámetros de diagnostico de la espermatobioscopia , desde lo macroscópico hasta lo microscópico cambiando lo parámetro a través del tiempo.

Se ha estudiado más profundo la función espermática , la espermato genesis , posibles factores espermáticos que interfieren con la fertilidad , uno de ellos que actualmente se la dado mucha importancia es la integridad de DNA espermático.

El DNA espermático debe de encontrarse en condiciones adecuadas para que el espermatozoide sea capaz de realiza una buena fertilización, pero hay varias situaciones por las cuales el DNA espermático se ve alterado o dañado

Se han desarrollado técnicas para el estudio de la fragmentación de DNA espermático con la finalidad de conocer el porcentaje de material genético que

está dañado y así poder interpretar que tan alterada esta la función espermática y por lo tanto aplicar medidas para corregir este daño.

El estudio de la fragmentación del DNA no se encuentra considerado como básico al momento de estudiar al varón , se solicita como examen adicional en casos específicos.

Se ha postulado el papel de los antioxidantes como medida correctiva y preventiva para mejorar el DNA espermático pero aun se no se ha adoptado como tratamiento de base

El motivo de este trabajo que se realizo es conocer qué porcentaje de mejoría existe al indicar suplementos con antioxidantes a pacientes en los cuales su índice de fragmentación estaba alterado y observar si había mejoría y así ver si es adecuado indicar el tratamiento con antioxidantes de manera rutinaria al paciente para mejorar la calidad espermática y en un futuro poder valor si esta medida genera tasas de embarazo mejor , mejorando la calidad embrionaria.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En nuestro instituto la metodología que utilizamos para el estudio del varón es inicialmente se solicita un seminograma inicial para valorar su condición y calidad espermática.

En el caso en que alguno de los parámetros evaluados este alterado se procede a solicitar una valoración andrológica en la cual se determina la causa de la alteración y es tratada posteriormente se solicita un nuevo seminograma de control en los casos en que continúa con alteración de los patrones seminales se solicita un índice de fragmentación del DNA espermático.

Cuando encontramos alterado la fragmentación del DNA espermático iniciamos tratamiento con antioxidantes y la pareja comienza con su tratamiento de fertilidad

Surge la siguiente interrogante ¿cuál es el beneficio real en el uso de los antioxidantes en la fragmentación del DNA espermático? Y si es útil o conveniente indicar antioxidantes de manera profiláctica en los varones que no haya alteraciones espermáticas como medida para mejorar el índice de fragmentación de DNA .

Saber en que porcentaje de pacientes a pesar de las medidas terapéuticas y estar usando suplementos con antioxidantes no hay mejoría.

Las desventajas y dificultades en estos casos para iniciar tratamientos con antioxidantes es el costo ya que son medicamentos costosos.

Por lo que se hace este trabajo para conocer más afondo estadísticamente la utilidad de los antioxidantes y que conducta debemos de mejorar para lograr mejores resultados reproductivos.

Esperando lograr obtener resultados contundentes que nos permitan modificar conductas para una abordaje de estudio del factor masculino mas profundo y completo buscando la manera que se establezca un protocolo de estudio completo que los costos extras de estudios adicionales no genere gastos económicos tan altos para que el paciente no tenga una limitación de este tipo.

IMPACTO EN LA FRAGMENTACIÓN DEL DNA ESPERMÁTICO DE LA PAREJA INFÉRIL CON EL USO DE ANTIOXIDANTES

Introducción. La fragmentación de DNA espermático es una herramienta útil en el estudio del varón infértil. El uso de tratamiento antioxidantes mejora el índice de fragmentación DNA incrementando la probabilidad de fecundación. Sin embargo, no contamos con estudio que avale lo anterior en nuestra población de pacientes.

Objetivo. Evaluar el impacto en la fragmentación del DNA espermático de la pareja infértil con el uso de antioxidantes.

Material y métodos. Ensayo Clínico.. Fueron pacientes referidos al departamento de Biología en la Reproducción Humana en el periodo del 2011 al 2012 con diagnóstico de infertilidad. Se les realizó seminograma y se ingresaron al estudio solo aquellos pacientes que tuvieran un resultado de índice de fragmentación bajo o muy bajo se le invito a participar en el estudio. A través de una hoja estructurada se recopilaron los siguientes puntos: ficha de identificación, antecedentes de que influyeran el infertilidad de la pareja y estudio de seminograma. La intervención consistió en la administración de antioxidantes durante dos meses. Variable Dependiente fue cualquier cambio obtenido en el índice de fragmentación de DNA. Análisis estadísticos constó de análisis descriptivo y analítico. Todos los análisis fueron realizados usando el programa de análisis estadístico SPSS versión 15.0.

Resultados. Se estudiaron 10 pacientes con una media de edad 35 ± 5 años. El 78% tenía una infertilidad tipo 1. El índice de fragmentación DNA se modifico, con un valor a la basal de $31\pm 5\%$ versus $21\pm 10\%$ posterior al tratamiento con antioxidantes obteniendo una significancia estadística del 0.004. En la motilidad y los niveles de concentración se observaron tendencias al incremento pero no resultaron significativas.

Conclusión. La administración de antioxidantes durante dos meses de tratamiento modifica el índice de fragmentación de DNA en la pareja infértil.

ANTECEDENTES

En el 50% de la pareja infértiles se encuentra alteraciones espermáticas como factor causal de infertilidad.

El varicocele a través del tiempo se ha asociado como causa de infertilidad del factor masculino observándose alteraciones en los patrones del seminograma. Es la causa mas común de esterilidad en este grupo , con una incidencia en la población general que va del 4.4% al 22.6% , en hombres con infertilidad primaria en 21-41% , y en un 75%-81% en varones con infertilidad secundaria (1).

Evidencia actual indica que se debe ofrecer tratamiento correctivo del varicocele de lesiones palpables y con una o más alteraciones del patrón seminal.

La varicocelectomía microquirúrgica es una técnica que ha demostrado ser superior a las técnicas convencionales mejorando los resultados del seminograma después de la cirugía.

Varios estudios han demostrado que el varicocele se asocia con un alto índice de fragmentación del DNA espermático el cual un índice alto se ha encontrado como indicador de mal pronóstico para embarazo espontaneo y por reproducción asistida (2)

La integridad del DNA espermático es esencial para la transmisión de la información genética durante la fertilización y esta es considerada como indicador de la espermátogenesis y de potencial fértil del varón.

Aproximadamente el 10 % de los espermatozoides de hombres fértiles contienen niveles alterados de la fragmentación del DNA y el 20-25% en hombres subfértiles.

El varicocele causa daño progresivo en la calidad del DNA espermático por lo que la integridad espermática es esencial para la fertilización in vivo e in vitro. (3)

El daño del DNA puede ser inducido por diferentes mecanismos : el empaquetamiento anormal del DNA durante la espermatogenesis , la apoptosis abortiva , y la presencia o acción sobre el DNA de las especies reactivas de oxígeno (ROS) hay otras causas generales que causan daño como la presencia de infecciones , aumento de la temperatura testicular , varicocele , edad avanzada. (4,5)

Todas las células aeróbicas vivientes normalmente están expuestas a ROS pero si los niveles de ROS aumentan entonces comienza el estrés oxidativo (OS) , el exceso de ROS causa daño celular , el OS cual ha demostrado ser causa de infertilidad , Varias formas de daño de DNA espermático son causados por ROS como el entrecruzamiento de cromatina , delaciones e inducen apoptosis. (6)

Dado que la transmisión de la molécula de ADN íntegra e intacta desde el espermatozoide al ovocito es esencial para la consecución y desarrollo del embarazo(7), su rotura podría conllevar alteraciones en la fertilización y desarrollo embrionario. Por ello, en los últimos años también se atribuye como causa probable de infertilidad el daño del ADN espermático, y de ahí el interés en desarrollar técnicas encaminadas a medir la fragmentación del ADN espermático, e incluirlas en el estudio del factor masculino(8)

Las técnicas que existen para estudiar la fragmentación del ADN espermático se pueden dividir en dos grupos. (9) En primer lugar se encuentran aquellas que miden la susceptibilidad diferencial del ADN para ser desnaturalizado por diversos tratamientos. En este grupo se encuentran las siguientes: (10)

- SCSA o Sperm Chromatin Structure Assay (11)
- DBD-FISH o DNA Breakage Detection- Fluorescence In Situ Hybridization
- SCD o Sperm Chromatin Dispersion
- Ensayo cometa

El segundo grupo se incluyen aquellas que marcan las roturas en la cadena de ADN, porque incorporan moléculas marcadas con fluorocromos en los extremos de rotura:

- TUNEL o Terminal dUTP Nick-End Labeling (12)
- ISNT o In Situ Nick Translation

Se ha hecho varios estudios en los cuales se demuestra que existe la relación de la integridad del DNA espermático y la fertilidad.

Se ha establecido un punto de corte el cual al ser rebasado el pronóstico sería desfavorable.

Demostraron que un índice de fragmentación del DNA superior al 30-40% es incompatible con la fertilidad in vivo, independientemente de la concentración, motilidad y morfología espermática.

Evenson et al. (13), usando esta técnica establecieron cuatro categorías para el potencial fertilizante del espermatozoide según el índice de fragmentación:

- Excelente si es < 15%
- Alto del 15-24%
- Bajo del 25-30%
- Muy bajo si es > 30%.

Se ha correlacionado los valores de fragmentación con los resultados de las TRA para intentar establecer un punto de corte a partir del cual se pueda predecir el resultado de las mismas.

Lograrlo supondría aumentar notablemente las tasas de éxito, reducir el número de ciclos innecesarios y conseguir finalmente una eficiencia mayor de la técnica de reproducción asistida empleada lo que redundaría no sólo en mayores tasas de embarazo sino también en menor costo socio-económico

La evidencia en la literatura demuestra que el daño del DNA en los espermatozoides afecta el resultado de la fertilidad de tal forma que, un semen que presente una frecuencia alta de espermatozoides con DNA fragmentado tendría mayor dificultad para producir un embarazo, que un semen con bajo nivel de fragmentación.(14)

El varicocele es una causa de daño al DNA espermático por lo que se debe de corregir quirúrgicamente con la finalidad de eliminar el flujo retrogrado del abdomen hacia el plexo pampiniforme preservando las arterias espermáticas internas conducto deferente , cordón espermático y ductos linfáticos.

La varicocelectomía es el tratamiento aceptado asociado con infertilidad , se un utilizado distintas técnicas de abordaje como ligadura abierta , escleroterapia , microcirugía y por vía laparoscopia cada una de estas técnicas tiene sus propias ventajas y desventajas.

La técnica utilizada en la varicocelectomía abierta es la ligadura de 2 o 3 venas espermáticas dilatadas , sin presencia de magnificación óptica , de esta manera los conductos linfáticos no se visualizan. Con visualización microscópica (con aumentos de 8 x 25) el cordón espermático es mejor disecado con la idea de preservar la arteria espermática y todos los ductos linfáticos.

Lo importante es evitar la complicaciones postoperatorias que se producen como , recurrencia , hidrocele y daño a la arteria testicular la cual representaría efectos deletéreos en la calidad seminal.

La microcirugía permite la identificación clara de las estructuras anatómicas que no deben de ser lesionadas para no tener resultado negativos con el beneficio adicional de reparar in situ daños inadvertidos a la arteria espermática.

Se han hecho varios estudios comparando las 2 técnicas más comunes de varicocelectomía (la ligadura abierta sin y con magnificación) demostrando los mejores resultados la técnica quirúrgica con tasa del 0% de formación de hidrocele

postoperatorio , solo 2% de recurrencia y mejores cuentas espermáticas en comparación a la técnica sin microcirugía.

La técnica microquirúrgica subinguinal de varicocelectomía ha demostrado ofrecer mejores resultados que la técnica sin aumentos en comparación con los patrones seminales , reduciendo las tasas de complicaciones. (15)

Pasqualotto et al demostraron que la varicocelectomía detiene y regresa la disfunción testicular , mejora la espermatogénesis que por consecuencia mejora el potencial de fertilización espermática , mejora la tasa de embarazo incluso cuando se realiza reproducción asistida (ICSI), sugiriendo que la varicocelectomía se debe de realizar antes de un ciclo de reproducción asistida(16)

En pacientes en los que la varicocelectomía no es una opción o no acepta el tratamiento quirúrgico , El uso de antioxidantes se ha comprobado que mejora la calidad de las muestras espermáticas.

Los antioxidantes mas relacionados con la función espermática e impacto directo con la fragmentación de DNA son los siguientes :

El **ácido ascórbico** (vitamina C) es un antioxidante hidrosoluble de alta potencia. En el plasma seminal, las concentraciones de este antioxidante son 10 veces más altas que en suero. las concentraciones de ácido ascórbico en el plasma seminal están también relacionadas positivamente con el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales, y ha sido sugerido que el ácido ascórbico es una vitamina protectora a nivel de epidídimo

El **alfa tocoferol** (vitamina E) es una vitamina liposoluble y actúa principalmente dentro de la membrana celular.

El **ácido fólico** La deficiencia de folatos ha demostrado incrementar la fragmentación de las cadenas de ADN así como también la hipometilación del mismo (17,18).

La **deficiencia de Zinc** ha sido asociada con un aumento en el daño del ADN en espermatozoides. La terapia con zinc parece mejorar la calidad espermática a través de posibles mecanismos, disminuyendo la concentración de anticuerpos antiespermatozoides en el semen y también la fragmentación del ADN (19).

La **L-carnitina** es una molécula de suma importancia que mejora el metabolismo a nivel mitocondrial, la L-carnitina se encuentran en altas concentraciones en el epidídimo, donde actúan como antioxidantes, protegiendo a los espermatozoides

La **coenzima Q10** es un antioxidante potente liposoluble que existe en la mitocondria encargado de la bioenergía mitocondrial que la presencia de esta en el semen y espermatozoides tiene una función importante en la resistencia a la oxidación

En los casos en que se recomienda realizar un estudio de índice de fragmentación del DNA es cuando nos encontramos ante las siguientes situaciones :

- Infertilidad idiopática
- Fallas repetidas en técnicas de reproducción asistida
- Mala calidad embrionaria
- Aborto recurrente
- Varicocele
- Varones con edad mayor a 45 años
- Episodio febril en los últimos 3 meses
- Infección con ureoplasma o clamidiaT

En resumen el estudio del índice de fragmentación es una medición útil adicional en la evaluación del seminograma que se va alterada por distintos factores y que últimamente se la otorgado un valor útil y terapéutico el uso de antioxidantes adicional a tratamiento de la causa desencadenante de estrés oxidativo.

JUSTIFICACIÓN

La fragmentación de DNA espermático es una herramienta más, en el estudio del varón infértil que en los últimos años se ha demostrado la utilidad que tiene para pronóstico de fertilidad masculina

Actualmente es un estudio que no se realiza de rutina solo bajo ciertas indicaciones, y se le ha otorgado mucha importancia al papel de los radicales libres producidos por patologías especialmente por el varicocele como unos de los mecanismos de q mas causa daño el DNA espermático.

Se han realizado pocos estudios en los cuales se busque que porcentaje de mejoría se logra en el DNA espermático con el tratamiento andrológico, con la conducta de agregar el uso de antioxidantes durante un periodo de 2 meses.

La fragmentación de DNA espermático actualmente se ha relacionado con el pronostico reproductivo pero en la práctica no se ha observado que tenga un valor absoluto para predecir el pronostico reproductivo cuando lo demás factores no están alterados.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el impacto en la fragmentación del DNA espermático de la pareja infértil con el uso de antioxidantes?

HIPOTESIS

El uso del tratamiento aislado con antioxidantes mejora el índice de fragmentación de DNA espermático en la pareja infértil.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el impacto en la fragmentación del DNA espermático de la pareja infértil con el uso de antioxidantes.

Objetivos Específicos

1. Valorar los resultados del índice de fragmentación antes del uso de antioxidantes.
2. Valorar los resultados del índice de fragmentación posteriores al uso de antioxidantes.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del Estudio. Ensayo Clínico.

Definición del Universo. Pareja infértil referidos al departamento de Biología de la Reproducción Humana en el periodo de 2011 al 2012.

Tamaño de la muestra: Se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Incluyéndose las parejas infértiles que haya acudido al departamento de Biología de la Reproducción Humana que cumplieran con los siguientes criterios:

Criterios de Selección

Inclusión

1. Pacientes que tuvieron alteraciones en la espermatobioscopia.
2. Cualquier edad.

Exclusión

1. Pacientes que no aceptaron participar en el estudio.

Eliminación

0. Pacientes que no cuenten con tomas del Índice de fragmentación de ADN.
1. Pacientes que no acudieron a valoración del IFDNA posterior al tratamiento

Variables

Dependiente

Índice de fragmentación de DNA. Se clasifica en base a las siguientes categorías:

- Excelente si es $< 15\%$
- Alto del 15-24%

- Bajo del 25-30%
- Muy bajo si es > 30%.

Los pacientes que se incluyeron en el estudio fueron aquellos donde el valor de índice de fragmentación del DNA igual o superior al 25% debido a que estos valores son incompatibles con la fertilidad in vivo, independientemente de la concentración, motilidad y morfología espermática.

Se consideró que había mejoría en el índice de fragmentación de DNA en aquellos individuos que tuvieron cualquier cambio posterior al tratamiento comparado con su evaluación inicial.

Intervinientes.

Edad. En años cumplidos. Evaluándose tanto la edad del varón como de la mujer.

Tipo de infertilidad. Se clasificó como tipo 1 ó 2.

Factores femeninos asociados a la infertilidad. Se clasificó con la ausencia o presencia de algún factor que influyeran en la infertilidad de la pareja por parte de la mujer

Factores masculinos asociados a la infertilidad. Se clasificó con la ausencia o presencia de algún factor que influyeran en la infertilidad de la pareja por parte del varón.

Seminogramas. A través de este se evaluó la motilidad, los niveles de concentración y la fragmentación del DNA.

Independiente.

Esquema de tratamiento antioxidante. Fue a base de Vitamina C, Vitamina E, Proflavanolol, Q enzima 10 (Q-10).

Operacionalización de variables

Variable	Naturaleza	Nivel del medición	Interrelación	Indicadores
Índice de fragmentación DNA	Cualitativa	Nominal	Dependiente	Con Mejora o sin mejora
Edad	Cuantitativa	Continua	Interviniente	Años
Tipo de Infertilidad	Cualitativa	Nominal	Interviniente	Tipo 1 o 2
Factor femenino	Cualitativa	Nominal	Interviniente	Si o no
Factor Masculino	Cualitativa	Nominal	Interviniente	Si o no
Seminogramas	Cuantitativa	Continua	Interviniente	Valores de motilidad, concentración y fragmentación pre y post tratamiento
Tratamiento	Cualitativa	Nominal	Independiente	Antioxidantes, quirurgico y antibiotico

Desarrollo del Estudio

Durante el periodo establecido se identificaron a pacientes que acudieron a atención médica al servicio de Biología de la Reproducción Humana que tuvieran como motivo de consulta infertilidad. Se les realizó seminograma y posteriormente se evaluaron los resultados de la totalidad de pacientes; aquellos que tuvieran un resultado de índice de fragmentación bajo o muy bajo se le invito a participar en el estudio.

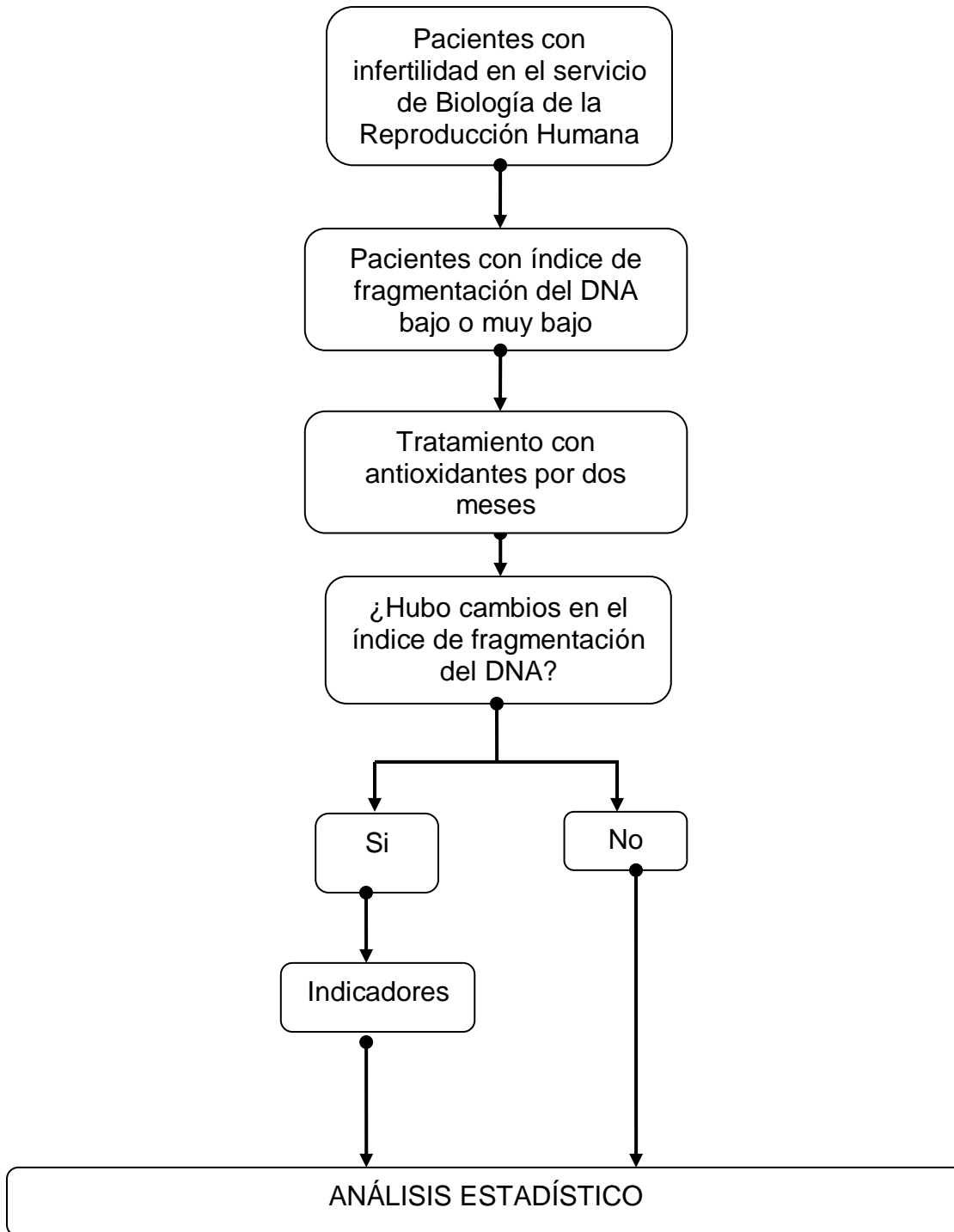
A través de una hoja de captura estructurada se recabaron: edad de ambos miembro de la pareja, el tipo de infertilidad, las causas relacionada a infertilidad por ambos miembros, el grado de alteración espermática en la tres líneas evaluadoras: morfología, concentración y movilidad.

La intervención consistió en que a la totalidad de los participantes se les indico el mismo esquema de administración de antioxidantes a base de Vitamina C, Vitamina E, Proflavanolol , Q enzima 10 (Q-10) durante dos meses. Sólo un paciente necesito terapéuticas complementarias (tratamiento quirúrgico de varicocele severo y antibiótico).

Se realizaron dos evaluación a la basal (sin tratamiento) y posterior a los dos meses de tratamiento con antioxidantes.

La variable dependiente fue el cambio en el índice de fragmentación del DNA. La información fue analizada con el paquete estadístico de SPSS versión 15.0.

FLUJOGRAMA



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Descriptivas

Los resultados fueron expresados de acuerdo al tipo de distribución de la población. Las variables cualitativas se expresaron en frecuencias y porcentajes; para las variables cuantitativas se expresó en medias y desviación estándar.

Analíticas.

Se empleó la prueba de Chi-cuadrada para identificar diferencia de proporciones y prueba t de Student para evaluar diferencia de medias.

El análisis estadístico fue realizado con el programa SPSS versión 15.0.

RESULTADOS

Se estudiaron 10 pacientes remitidos para servicio de biología de la reproducción humana debido a problemas de infertilidad que cumplieran los criterios de selección del estudio. La edad promedio que presentaron los varones fue de 35 ± 5 años y la edad promedio que presentaron la mujeres fue de 34 ± 5 años. Dentro de los tipos de infertilidad encontrados el 78% fue tipo 1 y 22% tipo 2. (tabla 1)

Tabla 1. Características de los pacientes incluidas en el estudio.

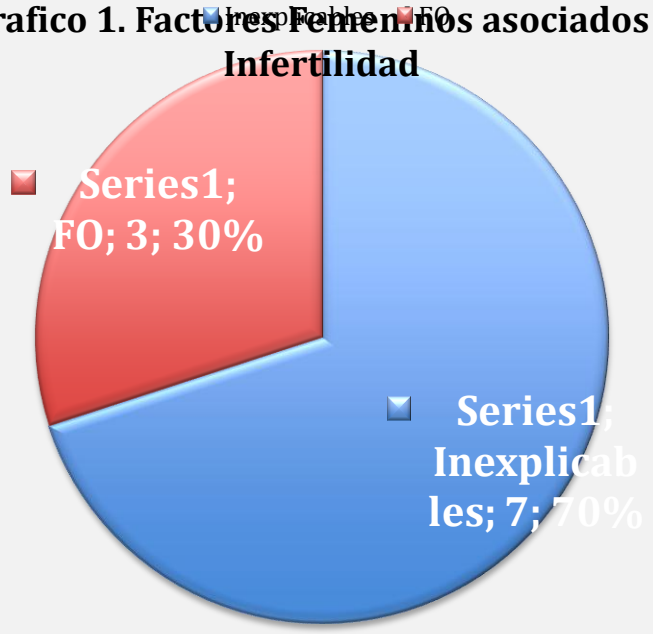
	Total
	n=10
Edad del varón (años), media \pm DE	35 ± 5
Edad de la mujer (años), media \pm DE	34 ± 3
Tipo de Infertilidad, , n (%)	
• Tipo 1	7 (78)
• Tipo 2	3 (22)

VARIABLES CUALITATIVAS FUERON EXPRESADAS EN FRECUENCIAS (%)

VARIABLES CUANTITATIVAS FUERON EXPRESADAS EN MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR (DE)

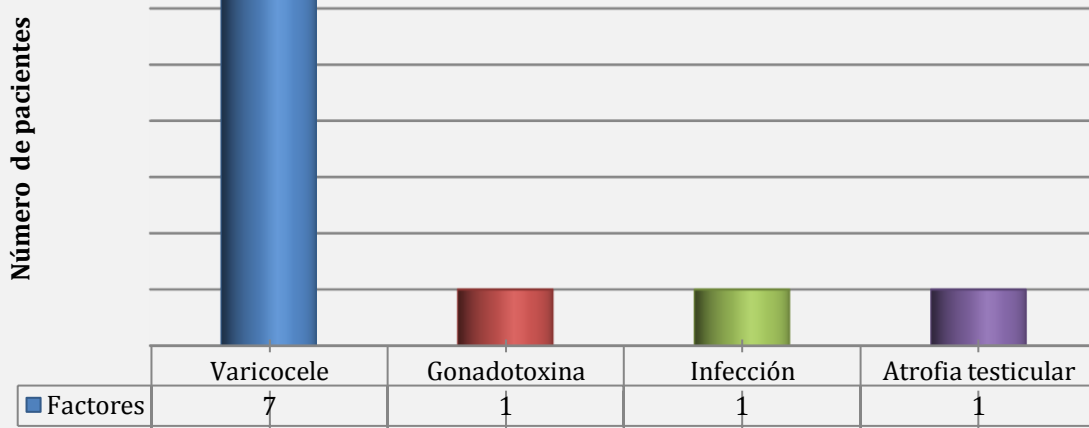
En el grafico 1, se muestran los factores asociados a infertilidad por parte de las mujeres. En ellas 70% fueron inexplicables y sólo 30% presentaron falta de ovulación.

Grafico 1. Factores Femeninos asociados a Infertilidad



En el grafico 2, se muestran los factores asociados a infertilidad por parte del varon. En ellos 70% tuvieron ya sea antecedente de varicocele, o en el momento de su atención padecía algún grado del mismo, la mayoría presento grado III, el resto se acompañó de gonadotoxina, cursaba con un proceso infeccioso o tuvo atrofia testicular.

Grafico 2. Factores Masculino asociados a Infertilidad



La totalidad de los pacientes recibieron tratamiento con antioxidantes. Teniendo una evaluación con base al seminograma antes y posterior al tratamiento con antioxidantes.

En la tabla 2, se observa los resultados del seminogramas a la basal. La motilidad obtuvo una media de $47\pm 23\%$, la morfología una media de $2\pm 2\%$, la concentración de 47 ± 41 , mill/ml y por último, un índice de fragmentación de DNA de $31\pm 5\%$.

Tabla 2. Resultado del seminograma a la basal.

	Total
	n=10
Motilidad, media \pm DE	47 ± 23
Morfología, media \pm DE	2 ± 2
Concentración, media \pm DE	45 ± 41
Fragmentación DNA, media \pm DE	31 ± 5

Variables cuantitativas fueron expresadas en medias y desviación estándar (DE)

En la tabla 3, se observa los resultados del seminogramas posterior a dos meses de tratamiento con antioxidantes.

La motilidad obtuvo una media de $49\pm 18\%$, la morfología una media de $2\pm 2\%$, la concentración de 49 ± 18 , mill/ml y por último, un índice de fragmentación de DNA de $21\pm 10\%$.

Tabla 3. Resultado del seminograma posterior al tratamiento.

	Total
	n=10
Motilidad, media \pm DE pos	49 \pm 18
Morfología, media \pm DE	2 \pm 2
Concentración, media \pm DE	c
Fragmentación DNA, media \pm DE	21 \pm 10

Variables cuantitativas fueron expresadas en medias y desviación estándar (DE)

En la tabla 4, se muestran las diferencias entre los resultados del seminogramas entre la medición a la basal y posterior al tratamiento con antioxidantes.

En cuanto a los valores de motilidad, morfología y concentración no se obtuvieron resultados significativos pero si se observaron tendencia a incrementar tanto en la motilidad como la concentración mientras que la morfología tuvo el mismo comportamiento tanto a la basal como posterior al tratamiento.

El índice de fragmentación DNA se modifico, con un valor a la basal de 31 \pm 5% versus 21 \pm 10% posterior al tratamiento con antioxidantes obteniendo una significancia estadística del 0.004.

Tabla 4. Diferencias en el seminogramas a la basal versus posterior al tratamiento.

	Basal n=10	Posterior al tratamiento n=10	p
Motilidad, media \pm DE pos	47 \pm 23	49 \pm 18	0.29
Morfología, media \pm DE	2 \pm 2	2 \pm 2	0.17
Concentración, media \pm DE	45 \pm 41	53 \pm 41	0.15
Fragmentación DNA, media \pm DE	31 \pm 5	21 \pm 10	0.004

Variables cuantitativas fueron expresadas en medias y desviación estándar (DE); T-Student para diferencia de medias.

DISCUSIÓN

El propósito de este estudio evaluar el impacto en la fragmentación del DNA espermático de la pareja infértil con el uso de antioxidantes.

El índice de fragmentación DNA posterior al tratamiento con antioxidantes mejoro al tener a la basal una media de 31% y concluir con una media de 21%, dando significancia estadística.

Al contrastar nuestros resultados con otros estudios realizado en diversas poblaciones, encontramos que el uso de antioxidantes puede llegar a mejor diversos parámetros del esperma.

Greco y cols, (20) obtuvo mejoría en los niveles de fragmentación al tener en su valores iniciales 22.1% y posterior a la administración fue de 9%. Cabe señalar que a diferencia de nuestro estudio sus criterios de selección de pacientes fueron más flexibles a no ingresar solo pacientes con índice de fragmentación baja o muy baja. Otra diferencia con el presente estudio es que el auto evaluó el impacto en la fecundidad al producir en 48% logro de embarazo, nosotros no medimos ese impacto en nuestra población.(21)

Nuestro trabajo mostró una tendencia en mejorar la motilidad y los niveles de concentración en los pacientes sin embargo, no se logró obtener una significación estadística debido al número pequeño de paciente que se ingresaron.

En un trabajo de revisión de la literatura, Zini y cols, muestra los datos de diversos artículos donde que concuerdan en que el consumo de antioxidantes mejora la motilidad y la concentración, estos trabajos plantean diferentes periodos de tratamiento que van en un rango de un mes a 6 meses así como diversos esquemas de tratamiento. La ventaja de estos estudios comparado con el nuestro se basa en que ellos contaron con grupos de comparación. (21)

Greco y cols, obtuvo mejoría en los niveles de concentración (18.8 a la basal versus 27.5 pos-tratamiento) en cuanto la motilidad (40.2 a la basal versus 41.6 pos-tratamiento).(20) La debilidad de su trabajo radica en que no genero una correlación de los resultado de esta manera con conocemos la significancia estadística lo que hace pensar que al tener un tamaño de muestra de 64 individuos también obtuvo tendencia y no significancia.

Nosotros en la morfología no obtuvimos cambios a diferencia de Greco y cols, con cambios ligeros (10.5 a la basal versus 8.1 pos tratamiento) pero sigue referir la significancia.(20)

Limitaciones del Estudio

Las principales limitaciones de nuestro estudio es el pequeño tamaño de muestra y no tener un grupo de control para comprobar la mejora al tener el tratamiento versus aquellos que no lo tomaron por lo tanto, es necesario implementar un ensayo clínico con grupo control. Otra limitación es ver si la mejora finalizó en un

embarazo exitoso para la pareja. Por lo tanto existe la necesidad de proponer un estudio se evalúen otros desenlaces como el embarazo.

Fortalezas y Aportaciones del Estudio

Es una información valiosa debido a que no contamos en México con estudios que evalúen el tratamiento con antioxidantes y la propuesta de análisis para ver la significancia entre la basal y posterior al tratamiento apporto un relación más certera entre la evaluación pre y post.

CONCLUSIÓN

La administración de antioxidantes durante dos meses de tratamiento cambia las evaluaciones iniciales de los seminogramas de parejas infértiles. Existe una tendencia al incremento en la motilidad y los niveles de concentración. En cuanto al índice de fragmentación del DNA obtuvo un cambio significativo posterior a la administración del tratamiento; Esto nos permite establecer que el uso de antioxidantes mejoro la fragmentación de DNA lo que se traduciría en una mayor probabilidad de la fecundación in vivo.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Apegados a los lineamientos del reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en donde señala el artículo 17 que el presente trabajo de investigación se considera una investigación de riesgo mayor al mínimo por lo que de acuerdo al artículo 23, en el caso de este tipo de investigaciones, se solicito consentimiento informado.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Matthew A. Will, M.D.,^a Jason Swain, Ph.D., et al ,The great debate: varicocele treatment and impact on Fertility , *Fertility and Sterility* 95, 3, 1, 2011
- 2.- Armand Zini, M.D.,^a and Gert Dohle, M.D., Ph.D. , Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? , *Fertility and Sterility* 96, 6, 2011
- 3.- Camile Garcia Blumer, B.S., Roberta Maria Fariello, B.S et al , Sperm nuclear DNA fragmentation and mitochondrial activity in men with varicocele , *Fertility and Sterility* 90, 5, 2008
- 4.- Denny Sakkas, Ph.D.,^{a,b} and Juan G. Alvarez, M.D., Ph.D.^c , Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis , *Fertility and Sterility* 93, 4, 1, 2010
- 5.- de Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa:
a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod* 1995;10:15–21.
- 6.- Aitken RJ, Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and Y chromosome. *Reproduction* 2001;122:497–506.
- 7.-Carrell DT, Liu L. Altered protamine 2 expression is uncommon in donors of known fertility, but common among men with poor fertilizing capacity, and may reflect other abnormalities of spermiogenesis. *J Androl.* 2001;22:604-10.
- 8.- O'Brien J, Zini A. Sperm DNA integrity and male infertility: a review. *Urology* 2005;65:16–22.

- 9.- Cortés- Gutiérrez , Dávila-Rodríguez ,et al Evaluación del daño en el DNA espermático. *Actas Urol Esp.* 2007; 31: 120-131
- 10.- Agarwall, A. Allamaneni S, Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. *Fertil Steril*, 84, 850-3. 2005
- 11.- Fernández JL, Muriel L, et al, Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion (SCD) test. *Fertil Steril.* 2005; 84: 833-842.
- 12.- Enciso M, López-Fernández C, Fernández JL et al , A new method to analyze boar sperm DNA fragmentation underbright-field or fluorescence microscopy. *The riogenology.* 2006; 65: 308-316
- 13.- Evenson, D, Larson K , Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques. *J Androl*, 23, 25-43 2004
- 14.- Dalzell LH, McVicar CM, McClure N, Lutton D, Lewis SE. Effects of short and long incubations on DNA fragmentation of testicular sperm. *Fertil Steril* ;82:1443–5. 2004
- 15.- A.Zini^{1,3}, A.Blumenfeld et al ,Beneficial effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm DNA integrity , *Human Reproduction* .20, 4 1018–1021, 2005
- 16.- Fábio Firmbach Pasqualotto, M.D., Ph.D., Bernardo Passos Sobreiro, M.D , Induction of spermatogenesis in azoospermic men after varicocelectomy repair: an update , *Fertility and Sterility* 85, 3, 2006

17.- F. F. Pasqualotto, M. Salvador, D. et al , Seminal antioxidants level and the clinical diagnosis: is there a correlation with fertility? Fertil and steril 90, 1, 2008

18.- Aura Maria Gil-Villa, M.Sc.,a W_alter Cardona-Maya M.Sc et al , Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect? , Fertility and Sterility 92, 2, 2009

19.- Sergey I. Moskovtsev, M.D., Ph.D.,a Keith Jarvi, M.D et al , Testicular spermatozoa have statistically significantly lower DNA damage compared with ejaculated spermatozoa in patients with unsuccessful oral antioxidant treatment, Fertility and Sterility 93, 4,1, 2010

20. Greco E, Jacobelli M, Rienzi, L, Ubaldi F, Ferrero S, Tesarik J.Reduction of the Incidence of Sperm DNA Fragmentation by Oral Antioxidant Treatment. Journal of Andrology, 26, 3, 2005.

21.Zini A, San Gabriel M, Baazeem A. Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. Assist Reprod Genet (2009) 26:427–432.

ANEXOS

IMPACTO EN LA FRAGMENTACION DEL DNA ESPERMATICO DE LA PAREJA INFERTIL CON EL USO DE ANTIOXIDANTES

Fecha: día ___ mes ___ año ___

Nombre Varón:

Edad Varon:

Nombre Mujer:

Edad Mujer:

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

Varón	Mujer
<p>Tienes factores asociado infertilidad</p> <p>si ___ no ___</p> <p>¿Cuál?: _____</p> <p>Tipo de Infertilidad</p> <p>1 ___ 2 _____</p>	<p>Tienes factores asociado infertilidad</p> <p>si ___ no ___</p> <p>¿Cuál?: _____</p>

LABORATORIO

BASAL	POSTERIOR A TRATAMIENTO
MOTILIDAD _____	MOTILIDAD _____
MORFOLOGIA _____	MORFOLOGIA _____
CONCENTRACIÓN _____	CONCENTRACIÓN _____
FRAGMENTACIÓN DNA _____	FRAGMENTACIÓN DNA _____

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PROYECTO TITULADO
IMPACTO EN LA FRAGMENTACION DEL DNA ESPERMATICO DE LA PAREJA INFERTIL
CON EL USO DE ANTIOXIDANTES

- 1) Estoy informado del proyecto del estudio que se llevará a cabo en el Centro Médico, por el doctor del servicio de Andrología: Dr. Horacio Vega Peña
Esta información me fue proporcionada por _____
Fecha_____.
- 2) Autorizo a realizar los cuestionarios, procedimientos y estudios de gabinete convenientes al proyecto.
- 3) Autorizo a los investigadores a hacer uso de los resultados con fines científicos, siempre y cuando se guarde la confidencialidad de los mismos resultados.
- 4) Fui invitado a participar voluntariamente, aportando información y de mi persona en una ocasión.
- 5) Se me explico el procedimiento para la evaluación en base a mi diagnóstico.
- 6) En caso de que se obtenga información relevante para mi persona (SI) (NO) deseo se me informe exclusivamente a mí dichos resultados.

Por lo anterior doy mi consentimiento para participar en el estudio.

Nombre y Firma del trabajador

Teléfono

ACTIVIDAD	PERIODO 2011 A 2012								
	1ER SEMESTRE			2DO SEMESTRE			3ER SEMESTRE		
Elaboración del protocolo	■	■	■						
Desarrollo del estudio				■	■	■	■		
Recolección de los datos				■	■	■	■		
Análisis de los datos							■	■	■
Redacción de resultados							■	■	■
Entrega del documento final							■	■	■