



# Estudio preliminar del comportamiento ácido-base en subpoblaciones espermáticas con estudio gasométrico

Gómez-Arzapalo VE, Herrera-Ávalos I, García de la Paz M, Uribe-Uribe MI, Villacorta-Argaez A



## ■ RESUMEN

**Introducción:** Siempre y cuando la saturación de O<sub>2</sub>, se lleve a cabo en un ambiente apropiado, la gasometría seminal en fresco de varones fértiles presenta una hiper-saturación de O<sub>2</sub>, superior a los gases en sangre arterial, con un pH oscilante entre 7.2 y 7.6. En los casos con problemas de fertilidad, están disminuidas la saturación y concentración de O<sub>2</sub> en el plasma seminal y sobre todo muestran inversión de la saturación base en exceso (SBE).

**Objetivo:** Determinar el comportamiento del pH y los gases en poblaciones espermáticas en parejas con infertilidad.

**Material y métodos (Diseño):** Se estudiaron parejas con infertilidad primaria o secundaria, para analizar posibles causas durante la etapa reproductiva. Se procesaron 24 muestras seminales de varones cuyas edades oscilaron de 27 a 45 años, realizándose los estudios de las muestras seminales en el analizador de gases ABL 330 Radiometer 1990.

**Resultados:** Se realizó gasometría, en ambiente hiperbárico para medir la concentración y la saturación de O<sub>2</sub> en las muestras de plasma seminal y se comparó con la de fluidos hemáticos, tanto arterial como venoso. Observamos que las tendencias en los resultados de las muestras seminales normales, con fertilidad comprobada,

## ■ ABSTRACT

**Introduction:** Provided that O<sub>2</sub> saturation is carried out in an appropriate environment, wet mount seminal gasometry on fertile men presents an O<sub>2</sub> hypersaturation –higher than arterial blood gases– with a pH that fluctuates between 7.2 and 7.6. Saturation, O<sub>2</sub> concentration in seminal plasma and especially excess base saturation (EBS) inversion are all lower in men presenting with fertility problems.

**Objective:** To determine pH and gas behaviour in spermatoc populations in couples presenting with infertility.

**Materials and Methods (Design):** The possible causes of infertility were analyzed in couples presenting with primary and secondary infertility during their reproductive stage. Twenty-four semen samples from 27- to 45-year old men were processed. Semen sample studies were carried out using the ABL 330 Radiometer 1990 Gas Analyzer.

**Results:** In the gasometry, both O<sub>2</sub> concentration and saturation in the semen plasma samples were carried out in a hyperbaric environment. Oxygen concentration and saturation were compared with those in arterial and venous hematic fluids and the results tended to show the concentration and saturation in normal semen samples with confirmed fertility to be higher than those in the hematic fluids. On the other hand, O<sub>2</sub> concentration and saturation in semen samples with subfertility were lower. In the base elements, especially EBS, with a correlation coefficient between EBS and morphologically abnormal cells of - 0.489, these negative figures show an obvious increase in teratogenesis.

eran superiores a las de los fluidos hemáticos (**tabla 1** y **figura 1**). En contraparte, en las muestras seminales con subfertilidad, la concentración y saturación de O<sub>2</sub> fueron menores. En cuanto a los elementos de las bases, especialmente la correlación entre la SBE y las células morfológicamente anormales, resultó de -0.48988302, cifra negativa que condicionan incremento en la teratogénesis.

**Conclusiones:** Tanto la concentración como la saturación de O<sub>2</sub> en plasma seminal son superiores a la concentración arterial. El pH seminal oscila entre 7.2 a 7.6, y existe hipoxia, aun con valores de 100 mm de Hg en PO<sub>2</sub> o menores. Asimismo, se muestran las modificaciones en SBE. Datos que repercuten en la morfología, como la dinámica celular.

**Palabras clave:** subpoblaciones espermáticas, maduración y capacitación espermática.

**Conclusions:** Oxygen concentration as well as saturation figures are higher in semen plasma than in arterial concentration. Semen pH fluctuates from 7.2 to 7.6. Hypoxia values were 100 mm of Hg in PO<sub>2</sub> or lower. EBS modifications, which have morphological repercussions affecting cell dynamics, are shown.

**Key Words:** Spermatic subpopulations, Spermatic maturity and capacitation.



## ■ INTRODUCCIÓN

Hasta la séptima semana de desarrollo, el género masculino del feto aún no se ha manifestado. Antes de este momento el principal indicador morfológico del sexo del embrión es la presencia o ausencia del cromosoma sexual (o cuerpo de Barr), además de ser el resultado de la activación de uno de los cromosomas X. En estadio indiferenciado del desarrollo gonadal, los gametos migran hacia los primordios gonadales del saco vitelino. El gen *Sry*, también conocido como factor determinante de testículos (FDT), es hoy en día, la secuencia de ADN más frecuente en la expresión de la diferenciación sexual y se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma Y. La ausencia de los productos de este gen en la gónada, acaba por generar la diferenciación al desarrollarse el ovario.

*Sry* actúa como gen desencadenante del desarrollo testicular opuesto al gen *Dax-1*, el cual está ligado al cromosoma X. Si *Dax-1* no se contrarresta con *Sry*, *Dax-1* actúa como inhibidor de la formación testicular.<sup>1</sup>

Los espermios son desplazados por peristaltismo de los túbulos seminíferos llegando al epidídimo, donde permanecen de nueve a 17 días para su maduración.

Los túbulos rectos y la rete-testis, poseen un epitelio con células de Sertoli, sin existir aún la línea germinal. Los conductos deferentes poseen un epitelio de células altas y chicas, llamado pseudoestratificado.

Los espermatozoides en el semen eyaculado, están distribuidos en subpoblaciones espermáticas que difieren

en sus propiedades bioquímicas y en su capacidad fertilizante. Los espermatozoides tienen que experimentar un proceso de desarrollo o maduración en el epitelio de los túbulos seminíferos y el epidídimo para poder fertilizar el ovocito tanto *in vitro* como *in vivo*.

La maduración espermática reúne una serie de cambios bioquímicos que ocurren durante el proceso de espermiogénesis en el epitelio de los túbulos seminíferos y en su migración desde éstos al epidídimo.<sup>2</sup> Dichos cambios incluyen el remodelado de las membranas del espermatozoide,<sup>3</sup> que conducen a la adquisición de la motilidad espermática,<sup>4,5</sup> así como a la capacidad de los espermatozoides de desarrollar la reacción acrosómica inducida por la zona pelúcida.<sup>6-10</sup> La maduración espermática también requiere de un importante remodelado nuclear durante el proceso de la espermiogénesis, que resulta de una extensa protaminación y condensación de la cromatina. El empaquetamiento de la cromatina requiere de la actividad de nucleasas endógenas que cortan y ligan la cromatina para facilitar así su protaminación y condensación.

El empaquetamiento de la cromatina requiere entonces de la actividad de nucleasas endógenas que cortan y ligan la cromatina para facilitar así su protaminación y condensación. Se cree que estas roturas producen una disminución del estrés torsional para facilitar el empaquetamiento de la cromatina durante el desplazamiento de las histonas por las protaminas 1992, 1993a y 1993b.<sup>11</sup>

Una vez que los espermatozoides llegan a la cola del epidídimo, ya han experimentado cambios estructurales necesarios para poder fertilizar al ovocito y producir un embarazo a término. Sin embargo, el espermatozoide todavía tiene que experimentar cambios funcionales adicionales fuera del testículo para poder fertilizar el ovocito. Estos cambios se conocen como la capacitación espermática. Siempre que su saturación se lleve en un ambiente apropiado de  $O_2$ , la gasometría seminal en fresco de varones fértiles, presenta una hipersaturación de  $O_2$ , superior a la de los gases en sangre arterial y con un pH que oscila entre 7.2 y 7.6 (OMS),<sup>12</sup> no así en los casos problema de fertilidad, en los que están disminuidas la saturación y concentración de  $O_2$  del plasma seminal. Adicionalmente, se presenta una inversión de la SBE, lo que conduce a alteraciones morfológicas en presencia de densidades espermáticas de  $20^6$  o mayores.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras seminales fueron obtenidas en el laboratorio de muestras especiales del Hospital de Ginecología y Perinatología Río de la Loza; las gasometrías fueron comparadas con las respectivas arteriales y venosas (**tabla 1**, sobre testigos).

El semen se obtuvo por masturbación, habiendo cumplido con un mínimo de dos días de abstinencia. Colectadas las muestras, fueron procesadas para el estudio. Se les practicó: gasometría seminal, morfología y dinámica celular, así como los requerimientos básicos para una posible capacitación espermática.<sup>13,14</sup> Se empleó la tinción de Schorr y Diff Quik Stein, Dade Behring®, que sucintamente consiste en: obtenida la muestra, se espera 1 h hasta obtener completa la licuefacción, acto seguido se procede a realizar el extendido laminar aguardando 24 horas a intemperie ambiental ( $36^\circ\text{C}$ ), tiempo requerido para iniciar el proceso de tinción. Los tiempos de tinción son de 18 segundos por colorante suspendido en agua en sus tres etapas. Finalizado los términos y una vez obtenido el secado a intemperie de la lámina, se procede a la lectura morfológica y al análisis de la movilidad celular.

Para la gasometría se utilizó el analizador ABL 330 Radiometer 1990. Previa licuefacción del plasma seminal (una hora), se procedió a la lectura con la metodología habitual de una gasometría venosa o arterial. Se describen los valores de saturación de  $O_2$ , además de los bicarbonatos. Con el potenciómetro integrado se leyó el pH.

La cámara de Makler de uso convencional, fue usada para efectuar el estudio cuantitativo y la expresión dinámica de las células germinativas.

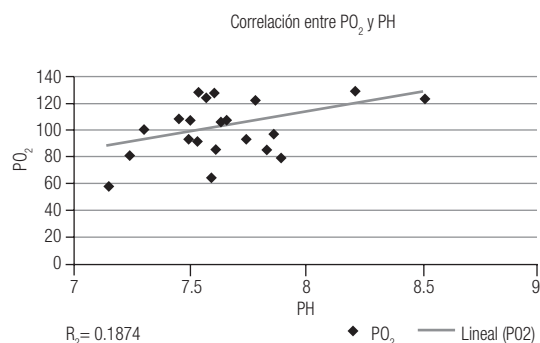
## RESULTADOS

Principiamos con la revisión de los resultados del pH, leídos con la tira de papel testigo, con la que se obtuvo la cifra de ocho, incompatible para fertilizar, según la OMS. Las muestras se leyeron con el potenciómetro incorporado al analizador de gases y las lecturas fueron, con factor de ajuste de 0.1, oscilantes entre 7.2 y 7.6, sin tener dependencia con la edad. Con la muestra en proceso, se efectuó la gasometría completa y en ambiente hiperbárico, tanto para la medir la concentración como la saturación de  $O_2$  en las muestras de plasma seminal. En la comparación del plasma seminal con fluidos hemáticos, tanto arterial como venoso, se observó que las tendencias en los resultados de las muestras seminales normales y con fertilidad comprobada, eran superiores a las de los fluidos hemáticos (**tabla 1** y **figura 1**). Por otra parte, en las muestras seminales con subfertilidad, la concentración y saturación de  $O_2$  fueron menores. En análisis de los elementos de las bases, especialmente SBE, su coeficiente de correlación con las células morfológicamente anormales obtuvo resultado de  $-0.489$ , cifras negativas con las que se muestra un evidente incremento en teratogénesis (**figura 2**).

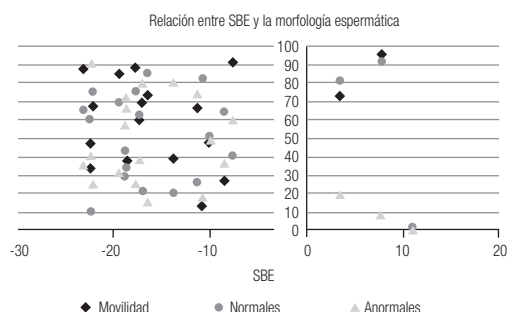
La correlación entre  $PO_2$  y pH se muestra en la **figura 1**, no es estadísticamente significativa comparada con el plasma seminal.

**Tabla 1.** Valores obtenidos en los testigos fértiles

Variable	Sangre arterial	Sangre venosa
pH	7.35 a 7.45	0.50 unidades menor
$PaCO_2$	35 a 45 mmHg	35-58 mmHg
$PaO_2$	127.80	



**Figura 1.** Correlación entre  $PO_2$  y pH (testigos fértiles)



**Figura 2.** Relación entre SBE y la morfología espermática

En los hallazgos encontrados en las 24 muestras estudiadas observamos una relación directa entre la concentración hiperbárica en plasma seminal (PS), con la morfología y movilidad de las células germinales (NS).

En la **figura 2** se muestra la relación entre SBE y la morfología espermática.

Asimismo, en la **figura 2**, se corrobora la relación gasométrica entre la inversión de SBE, y la presencia de alteraciones morfológicas de las células germinales masculinas, así como su dinámica.

## ■ COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Diversas publicaciones han descrito detalladamente la embriofisiología espermática en su génesis, así como la morfología estructural de los componentes de la célula germinal masculina; su dinámica y contenido. A la fecha no se han reportado variables significativas sobre las concentraciones electrolíticas<sup>15</sup> en pacientes subfértiles.

Cuando creíamos conocer en su contexto estructural y función de la población espermática, encontramos en lo cotidiano que los resultados en los procesos de fertilización, éstos no correspondían a las expectativas tanto en los programas de baja como de alta complejidad, por este motivo, nos indujo a buscar otros parámetros que fueran coadyuvantes y participativos en la vitalidad.<sup>16,17</sup>

Es así que, en nuestro estudio, agregamos los resultados del pH, obtenidos con el analizador de gases ABL 330 Radiometer 1990 y el proceso de determinación de las gasometrías seminales. Estos hallazgos nos han mostrado que, hasta el momento, la célula germinal masculina en su proceso de desarrollo hasta su curso de maduración epididimaria, está inmersa en un ambiente de sobresaturación de O<sub>2</sub>, así como de un equilibrio con las bases.

**Tabla 2.** Saturación base en exceso (SBE)

Coefficiente de correlación entre SBE y movilidad	0.120507171
Coefficiente de correlación entre SBE y normales	0.01946614
Coefficiente de correlación entre SBE y anormales	-0.48986802

La liberación del óxido nítrico se produce de manera pulsátil por el roce de la sangre sobre la capa endotelial del vaso; esta liberación aumenta conforme se eleva el gasto cardíaco.<sup>18</sup> lo que conlleva a un estado inestable dada su reacción con la oxihemoglobina y el superóxido; la consecuencia es la ostensible reducción en su vida media: 6 segundos.<sup>19</sup> Este mecanismo inestable, puede generar una etapa de hipoxia en el curso y proceso de desarrollo y maduración espermática.

Aunque la muestra es pequeña, los resultados obtenidos con base en las diferencias significativas y con la tendencia en los grupos descritos (ambiente hiperbárico y comportamiento ácido-base), hacen ver un patrón de comportamiento germinal significativo, lo que nos anima a seguir con este tema de investigación. Consideramos que este hallazgo, se debe considerar como una herramienta lineal en el estudio de la pareja con subfertilidad en la esfera masculina.

## BIBLIOGRAFÍA

- Carlson B. Embriología humana. Histología del desarrollo. 2a. ed. Madrid; Mosby-Elsevier; 2005.
- Amann RP, Hammerstedt RH, Veeramachaneni DN. The epididymis and sperm maturation: a perspective. *Reprod Fertil Dev* 1993;5:361-381.
- Jones R. Membrane remodeling during sperm maturation in the epididymis. *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 1989;11:285-337.
- Esponda P. Spermatozoon maturation in vertebrates with internal fertilization. *Microsc Electron Biol Cell* 1991;15:1-23.
- Hegde UC. Epididymal sperm maturation proteins. *Indian J Biochem Biophys* 1996;33:103-110.
- Alvarez JG and Storey BT. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 1995;42:334-346.
- Toshimori K. Maturation of mammalian spermatozoa: modifications of the acrosome and plasma membrane leading to fertilization. *Cell Tissue Res* 1998;293:177-187.
- Yeung CH, De Geyter C, De Geyter M et al. Production of reactive oxygen species by and hydrogen peroxide scavenging activity of spermatozoa in an IVF program. *J Assist Reprod Genet* 1996;13:495-500.
- Flechon JE. Sperm surface changes during the acrosome reaction as observed by freeze-fracture. *Am J Anat* 1985;174:239-248.
- Myles DG, Hyatt H, Primakoff P. Binding of both acrosome-intact and acrosome-reacted guinea pig sperm to the zone pellucid during in vitro fertilization. *Dev Biol* 1987;121:559-567.
- McPherson SMG and Longo FJ. Chromatin structure-function alterations during mammalian spermatogenesis: DNA nicking and repair in elongating spermatids. *Eur J Histochem* 1993b;37:109-128.
- WHO laboratory manual for examination of human semen and sperm-cervical mucus 4<sup>th</sup> edition interaction. Madrid; published on behalf of the World Health Organization by Medical Panamericana, 2001.

13. Reyes A, Rosado A, Gomez Arzapalo E. Requirement and conditions for capacitating of human spermatozoa. *Fertil Steril* 1973;27:203.
14. Alvarez JG. Differential Production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum Reprod* 2001;16:1922-30.
15. Bondani A, Gomez Arzapalo E, Aznar R, Giner J. Electrolyte composition of seminal fluid in normal and infertile. *Fertil Steril* 1973;24:150.
16. Slotter ED, Mrchetti F, Eskenazi B, Weldon RH, Nath J, Cabrerros D, An-Wyrobek AJ. Frequency of human sperm carrying structural aberrations of chromosome 1 increases with advancing age. *Fertil Steril* 2007; 87:1077- 86.
17. Kurtis KM, Savitz DA, Arbuckle TE. Effects of cigarette smoking, caffeine consumption, and alcohol intake on fecundability. *Am J Epidemiol* 1997;146(1):32-41.
18. Ferrer D, Fonseca C. Importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas. *Medisan* 1999;2(3):45-53.
19. Guyton A, MD. Tratado de fisiología médica. 9a. ed. México, D.F.; McGraw-Hill Interamericana; 1997.