

**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES Y DE LA  
FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EN HOMBRES OBESOS Y  
NO OBESOS EN EL PERIODO 2010-2012 EN BARRANQUILLA, COLOMBIA**

**PATRICIA FERNANDEZ VELEZ**

**BACTERIÓLOGA**

Director de Trabajo de Grado:

**Fernando Vásquez Rengifo MD, MsC, Ph. D.**

**UNIVERSIDAD DEL NORTE**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS**

**MENCIÓN EN SALUD SEXUAL Y REPRODUCTIVA**



**BARRANQUILLA, COLOMBIA, 2012**

**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES Y DE LA  
FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EN HOMBRES OBESOS Y  
NO OBESOS EN EL PERIODO 2010-2012 EN BARRANQUILLA, COLOMBIA**

Trabajo de grado, presentado como requisito para optar al título de:

**Magister en Ciencias Básicas Biomédicas.**

Director de Trabajo de Grado:

**Fernando Vásquez Rengifo MD, MsC, Ph. D.**

**UNIVERSIDAD DEL NORTE**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS**



**BARRANQUILLA, COLOMBIA, 2012**

Nota de aprobación

El trabajo de grado titulado: **“Evaluación de los parámetros seminales y de la fragmentación del ADN espermático en hombres obesos y no obesos en el periodo 2010-2012 en Barranquilla, Colombia”**, presentado por la estudiante PATRICIA FERNANDEZ VELEZ como requisito parcial para optar al título Magister en Ciencias Básicas Biomédicas, fue evaluado y calificado por los evaluadores como:

---

Jurado

---

Jurado

Barranquilla, \_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de 2012

## **DEDICATORIA**

La culminación de esta tesis es el comienzo de otra etapa de mi vida por esto y más, la dedico a Dios y a todas las personas que puede ayudar con los resultados obtenidos en esta investigación.

A mi esposo gracias por sus consejos y palabras de aliento que me dieron la fortaleza para seguir adelante y alcanzar las metas con la culminación de esta maestría. A mis padres por brindarme los recursos necesarios y estar a mi lado apoyándome siempre; y a mis hermanos por su apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A Dios que me dio la sabiduría para salir adelante con este proyecto y culminarlo de manera exitosa.
- A mis padres, Dorina Vélez Landázuri y Enrique Fernández Rada por el apoyo incondicional que me dieron a lo largo de la maestría.
- A mi esposo Arcesio Castro por su apoyo y comprensión
- Al Doctor Fernando Vásquez por su asesoría y dirección en el trabajo de investigación.
- A todas las directivas de la Universidad del Norte, por su apoyo y colaboración para la realización de esta investigación.
- Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Páginas</b>
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. MARCO TEÓRICO	13
2.1. Aspectos generales sobre obesidad	13
2.2. Infertilidad Masculina	15
2.3. Obesidad e Infertilidad masculina	19
2.3.1. Estudios que asocian la obesidad y la infertilidad masculina	19
2.3.2. Teorías sobre los posibles mecanismos de la alteración de la fertilidad en hombres obesos	22
2.4 Fragmentación del ADN espermático	25
2.4.1. ADN espermático	25
2.4.2. Daño del ADN espermático	26
2.4.3. Técnicas para medir el daño del ADN espermático	28
2.4.3.1. El ensayo de Cometa	28
2.4.3.2. Ensayo de TUNEL	29
2.4.3.3. Determinación de la estructura de la cromatina espermática	30
2.4.3.4. Prueba con naranja de acridina	30

3. OBJETIVOS	31
3.1. GENERAL	31
3.2. ESPECIFICOS	31
4. MATERIALES Y METODOS	32
4.1. Hipótesis	32
4.2. Tipo de estudio y población de referencia	32
4.3. Muestra	32
4.4. Fragmentación de ADN del espermatozoide	33
4.5. Espermograma	34
4.6. Análisis estadístico	34
5. RESULTADOS	35
5.1. Fragmentación de ADN del espermatozoide	35
5.2. Espermograma	37
6. DISCUSION	47
7. CONCLUSIONES	51
8. BIBLIOGRAFÍA	52
9. Anexos	60

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Páginas</b>
Tabla 1. Porcentaje de fragmentación de ADN de espermatozoides en los grupos de estudio	35
Tabla 2. Comparación entre el IMC y la fragmentación del ADN espermático	36
Tabla 3. Volumen y pH seminal en los grupos de estudio	37
Tabla 4. Movilidad espermática en sujetos obesos y no obesos	38
Tabla 5. Porcentaje de espermatozoides con movimiento rápido	39
Tabla 6. Porcentaje de espermatozoides con movimiento lento	39
Tabla 7. Porcentaje de espermatozoides con movimiento in situ	40
Tabla 8. Porcentaje de espermatozoides inmóviles	41
Tabla 9. Morfología de los espermatozoides en sujetos obesos y no obesos	43
Tabla 10. Porcentaje de espermatozoides con forma normal	44
Tabla 11. Porcentaje de espermatozoides con cabeza anormal	44
Tabla 12. Porcentaje de espermatozoides con alteraciones combinadas	45
Tabla 13. Parámetros seminales y fragmentación de los sujetos obesos y los no obesos. Barranquilla, 2010-2012	46

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	<b>Páginas</b>
Gráfica 1. Promedio de fragmentación de ADN espermático en sujetos obesos y no obesos	36
Gráfica 2. Promedio de espermatozoides con movilidad entre los grupos estudiados	39
Gráfica 3. Promedio de espermatozoides con movilidad lenta entre los grupos estudiados	40
Gráfica 4. Promedio de espermatozoides con movilidad in situ entre los grupos estudiados	41
Gráfica 5. Promedio de espermatozoides inmóviles en los grupos Estudiados	42
Gráfica 6. Promedio de espermatozoides con forma normal en los grupos estudiados	44
Gráfica 7. Promedio de espermatozoides con forma anormal en los grupos estudiados	45
Gráfica 8. Promedio de espermatozoides con alteraciones combinadas en los grupos estudiados	45

## RESUMEN

**Introducción:** Se ha demostrado ampliamente cómo la obesidad altera la capacidad reproductiva en mujeres pero en varones no existen suficientes estudios que describan esa relación. La mayoría de los estudios solo describen la influencia de ese estado mórbido sobre los parámetros seminales sin tener en cuenta la evaluación de la integridad del ADN espermático. **Objetivo:** evaluar los parámetros seminales y la fragmentación del ADN espermático en hombres obesos y no obesos de la ciudad de Barranquilla durante el periodo de 2010 a 2012. **Metodología:** Se tomó muestra seminal para espermograma y análisis de fragmentación de ADN espermático a partir de 20 sujetos con Índice de Masa Corporal (IMC) mayor o igual a 30 (casos) y 20 sujetos con IMC entre 18,5 y 25 (controles). Los datos se analizaron mediante el programa SPSS versión 17 para Windows. **Resultados:** Los sujetos obesos presentaron alta frecuencia de oligozoospermia (55%) y mayor porcentaje de espermatozoides lentos (44%), inmóviles (36%) y con cabeza anormal (58%). El porcentaje de fragmentación fue mayor en los casos ( $41.42 \pm 17.85$ ) que en los controles ( $21.25 \pm 14.28$ ) y se encontró diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los dos grupos. **Conclusión:** Los sujetos con IMC mayor o igual a 30 presentan alteraciones en los parámetros seminales y aumento del porcentaje de fragmentación del ADN espermático en comparación con sujetos con menor IMC.

## ABSTRACT

**Introduction:** It has been amply demonstrated how obesity alters the reproductive capacity in women but in men there are not enough studies that describe the relationship. Most studies only describe the influence of that morbid condition on sperm parameters without taking into account the evaluation of sperm DNA integrity. **Objective:** To evaluate sperm parameters and sperm DNA fragmentation in obese and nonobese men in the city of Barranquilla during the period 2010 to 2012. **Methodology:** We took semen samples for semen analysis and sperm DNA fragmentation from 20 subjects with body mass index (BMI) greater than or equal to 30 (cases) and 20 subjects with BMI between 18.5 and 25 (controls). Data was analyzed using SPSS version 17 for Windows. **Results:** Obese subjects had high frequency of oligozoospermia (55%) and higher percentage of slow sperm (44%), immobile (36%) and with an abnormal head (58%). The percentage of fragmentation was higher in cases ( $41.42 \pm 17.85$ ) than in controls ( $21.25 \pm 14.28$ ) and statistically significant difference ( $p \leq 0.05$ ) between the two groups was found. **Conclusions:** Subjects with a BMI greater than or equal to 30 have alterations in sperm parameters and an increase in the percentage of sperm DNA fragmentation compared to subjects with lower BMI.

## 1. INTRODUCCIÓN

La fertilidad está comprometida en pacientes obesos de ambos sexos y se ha demostrado que los hombres con un Índice de Masa Corporal (IMC) mayor a 30 tienen menor volumen seminal, menor número de espermatozoides y mayor proporción de espermatozoides morfológicamente anormales (1-5). Entre las causas descritas que explican hasta el momento la infertilidad en obesos se encuentran las alteraciones hormonales,(6) la hipertermia de los testículos causado por el exceso de grasa a nivel local (7,8) el exceso de radicales libres ocasionados por la sobrealimentación y otras más (9,10).

En el estudio del varón infértil, la historia clínica y el espermograma son los exámenes fundamentales. El espermograma es útil para informar la producción de espermatozoides, su movilidad y morfología, pero no permite evaluar otras disfunciones de la fertilidad como son las alteraciones de la membrana plasmática, el acrosoma y el DNA del espermatozoide (11). Por lo cual es complementario y necesario utilizar otras técnicas de evaluación que permitan calificar estas patologías (12). En tal sentido actualmente las investigaciones utilizan pruebas tales como la de naranja de acridina para evaluar el potencial de fertilidad del hombre (13). El exceso de radicales libres en los pacientes obesos deja presumir que muy probablemente el DNA del espermatozoide puede estar afectado en su compactación o fragmentación lo cual produciría menor probabilidad de embarazo o mayor frecuencia de pérdidas embrionarias (9).

Este estudio tuvo como objetivo evaluar si el porcentaje de fragmentación del ADN espermático en una muestra de hombres obesos es mayor al que se presenta en los hombres no obesos lo cual permita entender mejor la fisiopatología de la infertilidad en la obesidad masculina.

## **2. MARCO TEORICO.**

### **2.1. Aspectos generales sobre obesidad**

La obesidad es una condición patológica en la cual las reservas naturales de energía, almacenadas en el tejido adiposo de los humanos y otros mamíferos, se incrementan hasta el punto de comprometer la salud y la vida. Esta condición se manifiesta mediante el aumento del IMC por encima de  $30 \text{ kg/m}^2$ , según la Organización Mundial de la Salud (OMS), y forma parte del Síndrome Metabólico. Se ha descrito como factor de riesgo para enfermedades crónicas, tales como: enfermedades cardíacas, diabetes, hipertensión arterial, accidentes cerebro vasculares y algunas formas de cáncer (14). La evidencia sugiere que se trata de una enfermedad crónica, compleja y multifactorial, es decir, que compromete componentes de origen genético, ambiental, psicológico, entre otros (15).

Se han descrito evidencias que demuestran que la obesidad tiene una base genética. Hasta el momento 430 genes son utilizados como marcadores genéticos relacionados con obesidad (16,17). Se ha observado que la obesidad de los padres es uno de los factores de riesgo más importante para el desarrollo de la obesidad en la descendencia; aproximadamente el 5% de los casos de obesidad se debe a mutaciones en genes únicos y a varios síndromes mendelianos de baja incidencia a nivel poblacional (18). A pesar de esto, la mayor parte de la población obesa es el producto de la interacción entre determinados polimorfismos génicos y el medio ambiente. Entre los genes implicados en la etiología de la obesidad se encuentran aquellos que codifican péptidos de función señal de hambre y saciedad y algunos implicados en la diferenciación de los adipositos y el control del gasto energético(19)

El IMC es un método ampliamente utilizado para estimar la proporción de grasa corporal en el organismo. Se determina mediante la división del peso del sujeto (en kilogramos) por el cuadrado de la altura (en metros), por esta

razón se expresa como Kg/m<sup>2</sup> (20).

### Interpretación del IMC para el diagnóstico de obesidad

Índice de masa corporal (Kg/m <sup>2</sup> )	Interpretación
18,5-24,9	peso normal
25-29,9	sobrepeso
30-34,9	obesidad de clase I
35-39,9	obesidad de clase II
40 ó más	obesidad de clase III

Fuente: Comité experto de la Organización Mundial de la Salud, 1996.

A nivel asistencial, los médicos toman en cuenta la raza, la etnia, la masa magra (muscular), edad, sexo y otros factores que pueden afectar la interpretación del índice de masa corporal. El IMC sobreestima la grasa corporal en personas muy musculosas y la grasa corporal puede ser subestimada en personas que han perdido masa corporal (ancianos) (21). Además del índice de IMC se utilizan otros métodos para evaluar el grado de obesidad y la cantidad de grasa corporal, con grandes diferencias en el costo, aplicabilidad y exactitud, tales como el índice de peso para la talla o peso relativo, medición de pliegues cutáneos, medición de circunferencias corporales, impedanciometría bioeléctrica, ultrasonido, tomografía axial computada, etc. (22)

Según el origen de la obesidad, ésta se clasifica en los siguientes tipos (23):

1. Obesidad exógena: debida a una alimentación excesiva.
2. Obesidad endógena: causada por alteraciones metabólicas. Un

ejemplo claro de obesidad endógena es la obesidad endocrina causada por la disfunción de alguna glándula endocrina, por ejemplo la tiroides.

La obesidad representa uno de los problemas médicos más comunes, está asociado con un alto riesgo de problemas en la salud y aumenta la probabilidad de aparición de enfermedades silenciosas como hipertensión, diabetes y dislipidemia. Alrededor de 250 millones de personas, aproximadamente el 7% de la población mundial, son obesas, y dos o tres veces más presentan sobrepeso (19). La OMS calificó la obesidad como el principal problema de salud pública. En la literatura norteamericana, el 50% de los adultos son obesos, 25% de las mujeres son obesas y 25% tiene sobrepeso. En América latina según estudios de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) existe elevada prevalencia de sobrepeso entre 15% y 25%, en Brasil, Chile, Costa rica, Colombia y Uruguay (24).

## **2.2. Infertilidad Masculina.**

Aproximadamente el 15% de todas las parejas que intentan tener hijos están afectadas de infertilidad. El factor masculino influye en un 30% y una combinación de factores, tanto masculinos como femeninos, en un 20%. Es decir, que en el 50% de todas las parejas infértiles el factor masculino es el responsable de la falla reproductiva (25).

La Espermatogénesis es un modelo de diferenciación celular que parte de las células germinales hasta formar los espermatozoides. Las células germinales aparecen en una fase temprana del desarrollo embrionario, aproximadamente al final de la tercera semana de gestación. Los tipos celulares en los que se transforma la célula germinal primordial (célula madre de la espermatogénesis) hasta llegar a formar el esperpermatozoide son comunes en todos los vertebrados. La célula germinal se divide para originar una del mismo tipo y una espermatogonia primaria. Esta última tras varias divisiones mitóticas da

origen a las espermatogonias secundarias que entran a meiosis para dar lugar a los espermatocitos. Después de la primera división meiótica estos se transforman en espermatocitos secundarios que se convertirán en espermátidas al terminar la meiosis. Luego estas espermátidas sufren varias transformaciones morfológicas (espermiogénesis) para dar lugar a los espermatozoides. Entre los cambios que se dan en la espermiogénesis están: la formación del acrosoma que contiene las enzimas necesarias para penetrar la zona pelúcida durante la fecundación, disminuye el tamaño nuclear, se elimina el exceso de citoplasma, el centrosoma se mueve hacia la cara opuesta del núcleo y a partir de uno de los centriolos se forma el axonema flagelar en cuya parte proximal estarán las mitocondrias. El proceso de espermatogénesis se desarrolla en los túbulos seminíferos que se encuentran en los testículos y luego de formados los espermatozoides viajan hacia el epidídimo donde tienen el proceso de maduración espermática, caracterizada por un aumento de la condensación de la cromatina, cambios en la membrana plasmática y adquisición de la movilidad. (26).

El semen es un fluido orgánico producido solamente por los machos en todas las especies de mamíferos; contiene nutrientes imprescindibles para la supervivencia y vitalidad de los espermatozoides. El semen sale al exterior con la eyaculación y su función es estrictamente reproductora. Este contiene millones de espermatozoides que portan el mensaje genético que se transmite a la descendencia en caso que ocurra la fecundación del ovulo femenino (27). Existen dos fuentes de líquido seminal: una contenida en las vesículas seminales y otra parte producida por la próstata (28). Durante la fase de excitación en una relación sexual, el líquido de la vesícula y la próstata se concentra en la uretra prostática. Cuando tiene lugar la eyaculación, el semen es proyectado hacia el exterior a través de la uretra. Según la OMS se considera un semen "normal" aquel que tiene más de 2 mililitros de volumen; más de 20 millones de espermatozoides por mililitro, con movilidad lineal

progresiva de 25% y movilidad total igual o superior al 50% con 30% o más de espermatozoides de forma normal. Una calidad inferior no significa que sea imposible la fecundación, pero si representa una disminución de las probabilidades de que esta ocurra (29).

La fertilidad masculina depende de múltiples factores como el balance endocrino entre hipotálamo-hipófisis, testículo y la permeabilidad de las vías excretoras (30). Entre las causas de infertilidad de pareja, la infertilidad masculina representa un 33%. Al realizar la historia clínica a un hombre con sospecha de infertilidad se consideran como factores de riesgo reproductivo haber padecido infecciones de transmisión sexual, epididimitis, orquitis, criptorquidia, varicocele, traumas testiculares y otros antecedentes como tratamiento con radioterapia o quimioterapia, la exposición a sustancias tóxicas como herbicidas, alcohol, pesticidas y sustancias alucinógenas. Además se debe indagar sobre la duración de la infertilidad, la existencia o no de embarazos previos, métodos anticonceptivos utilizados en el pasado, frecuencia de las relaciones sexuales, la función eréctil frecuente y su eyaculación. La exploración física comprende la búsqueda de datos de virilización, el examen de la región genital y la determinación del IMC (31).

Siempre que se sospeche de infertilidad masculina es indispensable hacer un espermograma (11). Si este presenta alteraciones el siguiente paso es examinar al paciente y realizar la respectiva consulta médica andrológica.

**Valores de referencia establecidos por la OMS para el análisis seminal  
año 2005 (29)**

<b>Variable</b>	<b>Medida</b>
<b>Volumen</b>	Más de 2 mL
<b>Ph</b>	7,2-7,8
<b>Concentración de espermatozoides</b>	Más de 20 millones por mL
<b>Número total de espermatozoides</b>	Más de 40 millones en una eyaculación
<b>Motilidad de espermatozoides</b>	50% o más con movilidad lineal progresiva y/o 25% con movilidad lineal rápida dentro de los 60 minutos siguientes a la recolección.
<b>Morfología de los espermatozoides</b>	Más del 14% con forma normal usando criterios estrictos
<b>Vitalidad</b>	75% o más vivos
<b>Células blancas hemáticas</b>	Menos de $1 \times 10^6$ /mL

Si después del análisis seminal se sospecha de hipogonadismo, la evaluación de los niveles de hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y de testosterona sérica total pueden ayudar a discernir si las causas son primarias o secundarias. La determinación de niveles altos de FSH indica alteraciones importantes en el desarrollo de la espermatogénesis. La presencia de niveles elevados de LH acompañados de niveles bajos de testosterona se relaciona con hipogonadismo primario. Mientras que bajos niveles de ambas hormonas sugieren un hipogonadismo secundario. Se recomienda la medición de los niveles de prolactina si se sospecha de un hipogonadismo secundario y así descartar hiperprolactinemia como la causa subyacente (32).

En pacientes con volumen seminal inferior a 2 mL, se recomienda un urianálisis post-eyaculatorio y una ultrasonografía transrectal para descartar la presencia de eyaculación retrograda y obstrucción del ducto eyaculador, respectivamente. También es pertinente aplicar ultrasonografía escrotal si se sospecha de anomalías a nivel de escroto y testículos como el caso de hidroceles y tumores (11). Existen pruebas de semen especializadas, como la vitalidad de los espermatozoides, cultivo de espermatozoides y el análisis de la función y bioquímica espermática, que pueden ser consideradas si se sospecha de infertilidad en el varón (27). Otro método utilizado para diagnosticar una posible infertilidad masculina es el estudio de la fragmentación del ADN del espermatozoide, el test hiposmótico que consiste en evaluar la integridad y buen funcionamiento de la membrana plasmática de los espermatozoides lo cual constituye un parámetro indicador de la capacidad fecundante de los mismos (33).

### **2.3. Obesidad e Infertilidad masculina**

#### **2.3.1. Estudios que asocian la obesidad y la infertilidad masculina**

Chavarro *et al.* (2010) realizaron un estudio en 483 varones de parejas diagnosticadas como infértiles, encontraron que el IMC estuvo relacionado positivamente con los niveles de estradiol y guardaba relación inversa con los niveles de testosterona. También hubo una fuerte relación inversa entre el IMC y los niveles de inhibina B. El volumen de eyaculación era menor en pacientes con alto IMC. Los hombres con IMC mayor de 35 Kg/m<sup>2</sup> tuvieron conteos más bajos de espermatozoides que hombres con peso normal. La cantidad de espermatozoides con daño de ADN fue mayor en hombres obesos. Se pudo observar mayor diferencia en los niveles de hormonas reproductivas en sujetos con alto IMC y solo niveles de obesidad mórbida influyen negativamente en el potencial reproductivo (32).

Pauli *et al.* (2008) realizaron un estudio en 87 varones adultos con IMC entre 16,1 y 47 Kg/m<sup>2</sup> y encontraron que el IMC estuvo correlacionado negativamente con los niveles de testosterona y de inhibina B. Esta población presentó niveles bajos de inhibina B y una función gonadal reducida debido a que presentaban un relativo hipogonadismo hipogonadotrófico (33).

Un estudio realizado por Hammoud *et al.* sugiere que la incidencia de oligozoospermia y la presencia de bajos conteos de espermatozoides con movilidad progresiva se relacionan con elevado IMC en varios grupos de varones (normales, con sobrepeso y obesos) (34).

Shayeb *et al.* demostraron que los hombres con un mayor IMC producen menor volumen seminal y tienen mayor proporción de espermatozoides anormales. Por esta razón sugieren que los hombres que intentan tener hijo deberían, primero, alcanzar su peso ideal (35).

Hofny *et al.* (2009) estudiaron 82 varones obesos y fértiles, y 80 varones obesos infértiles oligozoospermicos con IMC mayor de 30. Los pacientes obesos oligozoospermicos presentaron un incremento de la FSH, la LH y el nivel de leptina en comparación con los hombres fértiles. El índice de masa corporal presentó correlación positiva con morfología anormal de los espermatozoides, el nivel sérico de LH y de leptina y correlación negativa con la concentración y la movilidad de espermatozoides tanto en los obesos fértiles como en los infértiles. La leptina sérica demostró correlación positiva con la edad de los pacientes, la morfología anormal de los espermatozoides y los niveles séricos de FSH y LH. Parece ser que la leptina sérica influye en la relación entre obesidad e infertilidad masculina (36).

En un estudio realizado con 520 hombres daneses (Kort *et al.*) se demostró una relación significativamente negativa entre altos índices de masa corporal y

el número de espermatozoides móviles con apariencia normal. Además, hombres con un  $IMC > 25$  tuvieron niveles bajos de células espermáticas móviles normales con cromatina intacta por cada eyaculación (37). En otro estudio, buscaban la relación entre el IMC y los parámetros seminales en una cohorte de 1558 soldados jóvenes (edad promedio: 19 años) y reportaron una asociación significativa entre la cantidad de espermatozoides y el IMC. Tanto jóvenes con sobrepeso como con desnutrición presentaron concentraciones más bajas de espermatozoides que aquellos con IMC normal (entre 20 y 25). El IMC no estuvo asociado con el volumen seminal, la motilidad de los espermatozoides y la morfología de los mismos. Contrario a esto, un alto IMC estuvo relacionado con altos niveles séricos de estradiol y disminución de los niveles de testosterona, SGBH e inhibina B. La FSH estuvo más alta en hombres delgados (6).

Hammoud *et al.*, mediante el análisis retrospectivo de 390 sujetos, demostraron que el alto IMC estaba asociado con baja concentración de espermatozoides y de la motilidad de los mismos (34). Vásquez *et al.* aplicaron un estudio de casos y controles en el que participaron 41 sujetos obesos y 82 con IMC normal y hallaron diferencias significativas en los parámetros seminales con una marcada reducción de estos en el grupo con obesidad (38).

Aggerholm *et al.*, recientemente, combinaron los resultados de 2139 sujetos de estudios anteriores y encontraron que los niveles séricos de inhibina y testosterona estaban entre un 25 y 32% más bajos en hombres obesos, pero en este mismo estudio no se encontró relación estadísticamente significativa entre el IMC y los parámetros seminales (39). Posterior a este trabajo, apareció el de Fejes *et al.*, en el cual trabajaron solo con hombres oligozoospermicos y reportaron una disminución de la proporción testosterona-estradiol en hombres con sobrepeso comparados con hombres delgados, acompañado tardíamente con una reducción severa en la concentración de espermatozoides en el grupo que presentaba sobrepeso (40).

Sallmén *et al.* reportaron que tanto la obesidad como el sobrepeso en hombres estaba asociado con incremento en el tiempo para concebir y la infertilidad (se definió como alteración en el tiempo de concepción el hecho de haber tenido relaciones sexuales sin protección durante 12 meses sin resultado) (41). Nguyen *et al.*, quienes hicieron algo similar, incluyeron esta vez niños y madres, reportaron una asociación similar a la descrita por Sallmén *et al.*, después de ajustar algunas variables como la frecuencia de las relaciones sexuales, el IMC de la mujer, la edad y el hábito de fumar de los miembros de la pareja (42). En un estudio realizado por Ramlau-Hansen *et al.* se demostró que la obesidad tanto en mujeres como en hombres estaba asociada con un incremento en el tiempo para concebir (43). Además, Pauli *et al.*, estudiaron 87 hombres, y encontraron que aquellos que tenían descendencia tuvieron un promedio de IMC más bajo que otros hombres sin hijos. Este mismo estudio demostró que el IMC masculino estaba relacionado negativamente con los niveles séricos de testosterona, FSH e inhibina B, en cambio, esta guardaba relación positiva con los niveles de estradiol. Igual que en estudios presentados anteriormente, no hubo correlación entre el IMC y los parámetros espermáticos (33).

### ***2.3.2. Teorías sobre los posibles mecanismos de la alteración de la fertilidad en hombres obesos***

Algunas explicaciones que han surgido para explicar la asociación entre obesidad e infertilidad son: la teoría de la integridad de la cromatina, la teoría del estrés oxidativo, la teoría del desbalance hormonal, la teoría del incremento de la temperatura escrotal y la teoría de la disfunción sexual (37). A continuación se reseñan los aspectos fundamentales de cada una de ellas, así como sus soportes experimentales.

**La teoría de la integridad de la cromatina en los espermatozoides:** Propone que los hombres con sobrepeso u obesidad tienen una alta proporción de

espermatozoides con ADN fragmentado. La integridad del ADN en los gametos masculinos es importante en la contribución genética paterna y en la consecución de una descendencia normal. Se ha observado que en parejas que acuden a especialistas para conseguir un embarazo, la medida de la integridad de la cromatina, es decir, la susceptibilidad que posee el ADN para desnaturalizarse, que puede medirse a nivel de laboratorio, ha demostrado ser el mejor predictor de la inhabilidad de las parejas para concebir. En hombres obesos se ha reportado una alta susceptibilidad del ADN espermático hacia la desnaturalización (37).

La fragmentación del ADN consiste en interrupciones, tanto en las cadenas de ADN simples como en las dobles, que ocurren con frecuencia en las muestras de semen de pacientes infértiles. Si el material genético que transportan los espermatozoides presenta fragmentación en su DNA espermático, esto comprometerá su integridad y podría dificultar, en función de la gravedad de la lesión, la unión con el material genético del óvulo (44).

**La teoría del estrés oxidativo:** Incremento de especies reactivas en oxígeno. Algunos estudios han demostrado que la obesidad está asociada, comúnmente, con el incremento del estrés oxidativo y con la peroxidación de lípidos (10,45). Además del daño oxidativo al ADN, el estrés oxidativo genera la peroxidación de los lípidos a nivel de la membrana de los espermatozoides y afecta negativamente la movilidad de los mismos (9,46)

**La teoría del desbalance hormonal:** Existen estudios que reportan niveles alterados de las hormonas sexuales en hombres con sobrepeso y obesidad. Los niveles séricos de testosterona, SHBG e inhibina B disminuyen con la obesidad, mientras que los de estradiol tienden al aumento. Esto resulta en la caída de la proporción testosterona-estradiol en hombres con sobrepeso/obesidad. A pesar de la disminución de los niveles de SHGB, se ha encontrado una correlación negativa entre la testosterona libre y alto IMC (47).

En muchos estudios se ha encontrado disminución de los niveles de testosterona total, testosterona libre y SHGB, en contraposición a niveles bajos o normales de FSH y hormona luteinizante en el suero de sujetos obesos (39,48).

Niveles normales de gonadotrofinas en presencia de baja testosterona libre sérica derivan de una supresión del eje hipotalámico-hipófisis. Se ha observado un incremento en la incidencia de hipogonadismo-hipogonadotrófico aislado en hombres remitidos por tratamiento contra la obesidad. La aromatización de andrógenos en el tejido adiposo periférico causa el incremento en los niveles de estrógenos en hombres obesos. Esto puede explicar la supresión del eje hipotalámico-hipófisis (49,50).

**La teoría del incremento de la temperatura escrotal:** Se ha propuesto que la grasa de los muslos y en la parte supra púbica puede causar una elevada temperatura a nivel escrotal, resultando en la disminución de la calidad espermática y de la fertilidad (8). En 1981 se acuñó el término lipomatosis escrotal para identificar la grasa escrotal distribuida anormalmente, al mismo tiempo se observó que la lipectomía escrotal causó un mejoramiento de la calidad seminal. La teoría tiene como base el incremento en la aromatización local de andrógenos a estrógenos en la proximidad del depósito anormal de grasa en la región escrotal que causa la supresión de la espermatogénesis (51).

## **2.4. Fragmentación del ADN espermático**

### **2.4.1. ADN espermático**

En la mayoría de los mamíferos, la espermatogénesis lleva a la producción de espermatozoides altamente homogéneos. Durante ese proceso y el tránsito por el epididimo, las histonas nucleares de los espermatozoides son reemplazadas por protaminas, pequeñas proteínas ricas en arginina y cisteína (52).

En ratones, más del 95% de las proteínas del núcleo espermático está conformado por protaminas. Esta composición le permite al núcleo maduro alcanzar un volumen 40 veces menor al núcleo de una célula somática normal. Así el súper empaquetamiento del ADN espermático primario se debe a los complejos ADN-protamina. En humanos, el núcleo espermático contiene menos protaminas que en ratones (aproximadamente un 85%). Además la cromatina espermática está menos compactada y contiene algunas roturas en la molécula de ADN (53).

Para alcanzar tan singular estado de condensación el ADN espermático debe organizarse de manera sustancialmente diferente al de las células somáticas (52). La unidad de empaquetamiento de la cromatina espermática recibe el nombre de toroide, figura geométrica construida con espirales, circunscrita en una esfera, semejante a una dona o una manzana, que contiene de 50 a 60 kb de ADN. Los toroides representan los dominios-bucle de ADN altamente condensado por protaminas y unidos a la matriz nuclear; los grupos tioles (-SH) de los residuos de cisteína se oxidan para formar puentes disulfuro que proveen estabilidad al ADN espermático (54). Cada cromosoma representa una guirnalda de toroides y los 23 cromosomas están agrupados por los centrómeros en un cromocentro dentro del núcleo con las terminaciones de los telómeros unidas a dímeros expuestos a la periferia nuclear (55). Esta

naturaleza altamente organizada de la cromatina espermática protege la integridad genética durante el transporte del genoma paterno durante la fecundación. A diferencia de otras especies, en humanos, el empaquetamiento de la cromatina espermática varía entre individuos, dicha variabilidad se atribuye a su componente proteínico. El espermatozoide de gatos, jabalíes y carneros contienen protamina P1 mientras que el del ratón y el humano contiene protamina P2 que carece de residuos de cisteína y se ha probado que el número de enlaces disulfuro que permiten la unión de las protaminas y la estabilidad del empaquetamiento de la cromatina es menor en el espermatozoide humano comparado con aquellos espermatozoides que contienen protamina P1 (56). Además cualquier anomalía en el nivel de protamina lleva al daño del ADN espermático y puede inhibir la fertilización (54).

#### **2.4.2. Daño del ADN espermático**

La fragmentación del ADN se produce tanto a nivel de la cadena simple como de la doble hebra (57,58). Existen diferentes mecanismos que pueden dañar el ADN espermático. Las especies reactivas en oxígeno y la apoptosis son los agentes etiológicos más importantes en la rotura de la integridad del ADN. La apoptosis es un mecanismo de control de sobreproducción de gametos y previene la proliferación clonal de células germinales con ADN dañado. Por ejemplo, algunos defectos en la remodelación del citoplasma durante la espermatogénesis puede llevar a la apoptosis abortiva (59).

La generación de especies reactivas en oxígeno (Reactive Oxygen Species, ROS) ocurre de manera fisiológica como producto del metabolismo celular, como es el caso de la respiración mitocondrial que constituye la mayor fuente de producción de anión superóxido. Altos niveles de ROS son nocivos para la calidad y función espermática. Entre el 25-40% de sujetos infértiles presentan aumento de las ROS y estrés oxidativo a nivel seminal. Se ha demostrado que

los espermatozoides presentan alta susceptibilidad a daños causados por las ROS debido al aumento en la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en plasma y baja concentración de enzimas de barrido (scavenger), la mayoría de las cuales se pierde durante la espermatogénesis, a nivel del citoplasma (60). Las ROS afectan tanto el ADN nuclear como el mitocondrial induciendo fragmentación, recombinación aberrante o defecto en el empaquetamiento de la cromatina. Un aumento en las ROS altera la estructura terciaria y la expresión de proteínas, receptores y proteínas transportadoras a nivel de la membrana celular desencadenando un desbalance iónico. La disminución en la cantidad de radicales libres a nivel seminal está asociada al aumento en la habilidad del espermatozoide para unirse a la zona pelúcida, capa externa que rodea al ovocito (61).

Los leucocitos activados también generan un aumento en las ROS y, con esto, un daño en la integridad del ADN espermático. Esto sucede cuando existe inflamación a nivel tisular así como en sujetos fumadores quienes muestran cambios inflamatorios en los testículos y producción incrementada de radicales libres por la activación de los leucocitos. Estas células generan cientos de veces más ROS que los leucocitos inactivos. La formación de 8-hidroxi-2-desoxiguanosina es un biomarcador clave para daño oxidativo de ADN (59)

El estrés oxidativo afecta la integridad de la cromatina espermática causando rotura del ADN, modificaciones de bases y deleciones. Por otro lado, en obesos, los adipocitos producen una variedad de moléculas activas biológicamente conocidas como adipocitoquinas o adipoquinas como el TNF- $\alpha$ , la resistina y la leptina. La excesiva producción de estas adipoquinas participa en la patogénesis del síndrome metabólico y otros cuadros clínicos asociados con obesidad. Además se ha demostrado que, en sujetos no diabéticos, la acumulación de grasa está íntimamente relacionada con el aumento de marcadores de estrés oxidativo; algunos estudios muestran alta concordancia entre el aumento del Índice de Masa Corporal (IMC) y la aparición de ROS a

nivel sistémico. Estas causan alteraciones a nivel celular específicamente en el ADN y las células espermáticas no son la excepción. Por esta razón se esperaría que los hombres obesos presentaran cierto grado de fragmentación de ADN espermático debido a la influencia de las ROS (62,63).

### ***2.4.3. Técnicas para medir el daño del ADN espermático***

Hasta el momento se han ideado algunas técnicas para el estudio de los defectos en el ADN del espermatozoide humano. La tinción con azul de anilina, azul de toluidina y cromomicina es usada para identificar los defectos en el empaquetamiento de la cromatina espermática. La integridad del ADN espermático puede evaluarse por el test de TUNEL (Terminal desoxi nucleotidil Uridin trifosfato, dUPT , deoxynucleotidil tranferase Nick-End Labelling assay), el ensayo COMETA, tinción con naranja de acridina o mediante el ensayo de estructura de cromatina espermática (SCSA). Las aneuploidías son detectadas mediante fluorescencia de hibridización (FISH) y las microdeleciones del cromosoma Y en espermatozoides se pueden detectar mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (54).

#### ***2.4.3.1. El ensayo de Cometa***

Esta técnica es muy sensible para la detección de daño del ADN. Se mide la respuesta la células individuales de tal manera que se puede determinar la heterogeneidad entre una población celular, lo cual no es posible mediante otras técnicas. Este ensayo se fundamenta en la diferencia de migración entre el ADN fragmentado y el ADN no fragmentado dentro de un campo electroforético. El primero, por ser más pequeño migrará más rápido que el segundo. La técnica se puede realizar en un pH neutro o alcalino dependiendo

del tipo daño en el ADN que se desee investigar; para el caso de estudio de infertilidad, es conveniente trabajar a pH neutro (54)

Entre las desventajas de este ensayo está la sobreestimación del daño en el ADN debido a la presencia de ARN residual el cual crea una especie de fondo o background durante el análisis o, por lo contrario, puede ser subestimado por la presencia de proteínas que influyen en el movimiento de los fragmentos durante la electroforesis. Sin embargo, para el desarrollo de este se requieren pocas células, se pueden recolectar datos a nivel de células individuales además de la alta sensibilidad y simplicidad (64)

#### **2.4.3.2. Ensayo de TUNEL**

En esta técnica se incorpora una desoxiuridina biotinilada (dUTP) al 3'OH de la cisura presente en la molécula de ADN hasta crear una señal que se incrementa proporcionalmente con el número de cisuras. El fundamento envuelve la marcación de la terminal 3' del fragmento de ADN con dUTP mediante una desoxinucleotidil transferasa terminal. Los nucleótidos marcados e incorporados pueden detectarse mediante citometría de flujo o microscopía de fluorescencia (65). Mediante la detección enzimática, una estreptavidina peroxidasa marcada con peroxidasa de rábano picante se une a los nucleótidos biotinilados, los cuales son detectados usando peróxido de Hidrógeno (sustrato de la peroxidasa) y el cromógeno estable, diaminobencidina que produce una tinción marrón (66)

Mediante este ensayo no se puede cuantificar el grado de daño del ADN dentro de una célula, solo revela el número de células que presentan daño dentro de la población celular. Debido a que la técnica involucra observación al microscopio de células teñidas (daño de ADN) y no teñidas (sin daño de ADN), algunos restos de la tinción pueden disminuir la eficacia. Además, solo un

número limitado de células pueden ser teñidas debido al empaquetamiento característico del ADN espermático (54)

#### **2.4.3.3. Determinación de la estructura de la cromatina espermática**

Es una técnica en la cual la extensión de la desnaturalización del ADN seguido por tratamiento con calor o ácido se determina mediante medición del cambio de metacromático de fluorescencia verde (naranja de acridina intercalada dentro de la doble hebra de ADN) a roja (naranja de acridina intercalada dentro de la hebra simple de ADN). Esta técnica muestra el índice de fragmentación del ADN de manera simple y rápida (66).

#### **2.4.3.4. Prueba con naranja de acridina**

Este es un método microscópico simplificado del método anterior que no requiere citometría de flujo y depende de la interpretación visual de la fluorescencia de los espermatozoides y escombros que caen dentro de un amplio rango de colores bajo el examen microscópico. Las muestras con espermatozoides pretratados (solución de ácido cítrico pH 2.0) y teñidas con naranja de acridina se lavan y se cubren con un cubreobjetos para análisis. Los espermatozoides con dsDNA (ADN de doble cadena) aparecen con fluorescencia verde mientras que los que poseen ssDNA (ADN monocatenario) presentan fluorescencia roja bajo el microscopio de fluorescencia (67).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. GENERAL**

Evaluar los parámetros seminales y la fragmentación del ADN espermático en hombres obesos y no obesos en la ciudad de Barranquilla durante el periodo de 2010 a 2012.

#### **3.2. ESPECIFICOS**

- 3.2.1. Determinar el volumen seminal, el recuento, movilidad y morfología espermática tanto en sujetos obesos como en no obesos.
- 3.2.2. Comparar los parámetros seminales entre los dos grupos de estudio.
- 3.2.3. Determinar el porcentaje de fragmentación del ADN espermático, mediante el test de acridina, en el grupo de Obesos conformados por hombres con IMC mayor o igual a 30 (obesos).
- 3.2.4. Determinar el porcentaje de fragmentación del ADN espermático, mediante el test de acridina al grupo no Obeso conformado por hombres con IMC entre 18,5 y 25.
- 3.2.5. Comparar el porcentaje de fragmentación del ADN espermático y los parámetros seminales entre los sujetos obesos y no obesos

## **4. MATERIALES Y METODOS.**

### **4.1. Hipótesis**

Ho: Los varones con índice de masa corporal superior o igual a 30 (obesos) no presentarán un porcentaje de fragmentación del ADN espermático mayor al grupo no obeso

H1: Los varones con índice de masa corporal superior o igual a 30 (obesos) presentarán un porcentaje de fragmentación del ADN espermático mayor al grupo no obeso.

### **4.2. Tipo de estudio y población de referencia**

Este es un estudio descriptivo, transversal, prospectivo que tomó como población de referencia los varones obesos y no obesos residentes en la población de Barranquilla-Colombia.

### **4.3. Muestra**

La muestra estuvo integrada por 20 varones obesos y el grupo control por 20 jóvenes entre 18 y 50 años de edad que voluntariamente participaron en el estudio en el periodo septiembre del 2010 a marzo del 2012.

Criterios de Inclusión en el grupo de Obesidad:

1. Ser varones con índice de masa corporal igual o mayor de 30.
2. Tener entre 18 a 50 años de edad
3. Ser voluntarios y firmar el consentimiento informado de participación en el estudio.

Criterios de Inclusión en los controles:

- 4.2.1. Ser varones con índice de masa corporal entre 18,5 y 25.
- 4.2.2. Tener entre 18 a 50 años de edad
- 4.2.3. Ser voluntarios y firmar el consentimiento informado de participación en el estudio.

Los pacientes tuvieron libertad para retirarse del estudio en el momento que lo desearan. Este proyecto contó con la aprobación del comité de Ética médica de la División Salud de la Universidad del Norte.

#### **4.4. Fragmentación de ADN del espermatozoide**

Para el estudio de la fragmentación de ADN del espermatozoide se utilizó el test de Naranja de Acridina (67). Para esto, se utilizó Ácido Cítrico 0.1M, Fosfato de Sodio Heptahidrato 0.3M y solución stock Naranja de Acridina al 0.1%.

Procedimiento: se lavó un mililitro de semen con cinco mililitros de solución de PBS-DULBECCO y se centrifugó por 5 minutos a 1500 rpm. El pellet se resuspendió después del lavado con 0.5 mililitros de PBS-DULBECCO y se ajustó el conteo final a 10 millones de espermatozoides por mililitro. Se hicieron extensiones en lámina y se dejaron secar al aire por 20 minutos.

Las láminas se fijaron en solución de Carnoy's (3 partes de metanol por 1 parte de ácido acético glacial) por dos horas. Luego se removieron del fijador y se dejaron secar al aire antes de colorearlas con naranja de acridina.

El naranja de acridina se calienta a 56°C por 5 min. Se cubren las laminas con el colorante por 5 minutos y se lavan con agua desionizada. Antes que la lámina se seque se coloca una laminilla de 20x40 y se observa con el microscopio de fluorescencia. La observación no puede sobrepasar los 40 segundos en inmersión de 100x.

Cuando la cabeza del espermatozoide aparecía con fluorescencia verde indicaba la presencia de doble cadena de ADN intacta. En cambio, cuando la cabeza aparecía con fluorescencia amarillenta o rojiza indicaba la ruptura de las cadenas de ADN. Se manejó como parámetro normal la presencia de más de 70% de espermatozoides con ADN intacto.

#### **4.5. Espermograma**

A todos los participantes se les solicitará una muestra seminal con tres días de abstinencia, la cual será procesada de acuerdo a los criterios y normas de la Organización Mundial de la Salud (29). Se evaluarán los siguientes parámetros: volumen de semen (en mililitros), concentración de espermatozoides (en millones por mililitro) y recuento total de espermatozoides, grados de movilidad (porcentaje), morfología normal y alteraciones de morfología (porcentaje).

#### **4.6. Análisis estadístico**

Se aplicó el estadístico t de Student para probar las diferencias significativas entre las medias de los porcentajes de fragmentación de ADN espermático entre los dos grupos estudiados. Para esto, se probaron dos supuestos: la distribución normal de los datos mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov y la igualdad de varianzas mediante la prueba de Fisher. Luego, se determinó la fuerza de correlación entre el IMC y el porcentaje de fragmentación en la totalidad de la muestra con la prueba de correlación de Pearson.

Todo este análisis se realizó mediante el software estadístico SPSS versión 17 para Windows, en español (Chicago, USA. 2008). El nivel de confianza fue de 95%.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Fragmentación de ADN del espermatozoide

**Tabla 1. Porcentaje de fragmentación de ADN en los grupos de estudio**

SUJETOS	CONTROLES	OBESOS
1	27%	12%
2	51%	70%
3	22%	41%
4	19%	34%
5	41%	57%
6	12%	61%
7	20%	23%
8	15%	51%
9	21%	41%
10	59%	55%
11	17%	39%
12	10%	100%
13	32%	76%
14	8%	45%
15	10%	13%
16	10%	32%
17	12%	39%
18	9%	22%
19	17%	49%
20	13%	27%
Promedio $\pm$ Desviación estándar	21.25 $\pm$ 14.28	41.42 $\pm$ 17.85

Entre el grupo de obesos, 15 (75%) estuvieron por encima del valor normal de 30%, mientras que entre los controles solo 4 (20%) pasaron dicho límite. Se destaca el caso de un sujeto obeso con un porcentaje de fragmentación de 100%.

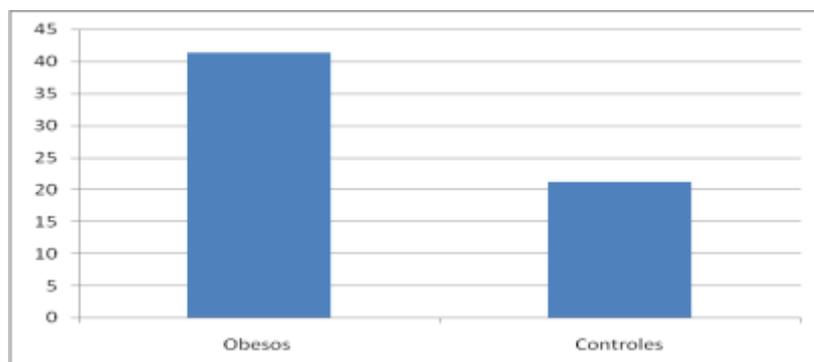
Los datos vienen de una distribución normal ( $p=0.998$ , obesos) ( $p=0.245$ , controles) según la prueba de Kolmogorov Smirnov. Las varianzas de los datos son relativamente iguales entre los dos grupos según la prueba de Fisher ( $p=0.282$ ). Se encontró diferencia estadística significativa en los porcentajes de fragmentación de ADN entre los dos grupos ( $p=0.000$ ,  $p<0.05$ ) y correlación estadísticamente significativa entre el IMC y el porcentaje de fragmentación de ADN espermático (índice= 0.601).

**Tabla 2. Comparación entre el IMC y la fragmentación del ADN espermático**

		IMC	Fragmentación
IMC	Correlación de Pearson	1	,601(**)
	Sig. (bilateral)		,000
	N	39	39
Fragmentación	Correlación de Pearson	,601(**)	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	N	39	39

*Se puede observar que el índice de correlación de Pearson (0.601) indica relación estadísticamente significativa*

**Gráfica 1. Promedio de fragmentación de ADN espermático en sujetos obesos y no obesos**



*Los sujetos obesos presentaron un promedio de fragmentación mayor que los controles*

## 5.2. Espermograma

**Tabla 3. Volumen y pH seminal en sujetos obesos y no obesos**

SUJETOS	CONTROLES		OBESOS	
	VOL	PH	VOL	PH
1	3.5ml	8.5	2.2ml	8.3
2	1.9ml	8.1	1.0ml	8.5
3	2.2ml	8.3	3.5ml	8.5
4	3.8ml	7.9	2.0ml	8.1
5	1.8ml	8.5	4.5ml	8.1
6	3.0ml	8.5	2.0ml	8.3
7	3.5ml	8.3	4.0ml	8.3
8	2.2ml	8.1	0.9ml	8.7
9	4.5ml	7.4	3.2ml	8.1
10	4.0ml	8.1	2.5ml	8.5
11	2.0ml	8.1	3.7ml	8.5
12	3.5ml	8.1	2.5ml	8.1
13	4.5ml	8.3	4.0ml	8.1
14	3.5ml	8.5	2.0ml	8.1
15	4.0ml	8.5	2.5ml	8.1
16	1.6ml	8.1	2.0ml	8.5
17	3.0ml	8.1	4.0ml	8.1
18	3.0ml	8.2	4.0ml	8.1
19	3.5ml	8.1	4.5ml	8.1
20	4.3ml	8.3	4.3ml	8.1
Promedio ± Desviación estándar	3.2 ± 0.93	8.2 ± 0.26	3.0 ± 1.14	8.3 ± 0.20

No se encontró diferencia significativa con respecto al volumen y pH seminal entre los dos grupos ( $p \geq 0.05$ ). 16 sujetos controles (80%) presentaron un volumen seminal mayor de 2 ml mientras que, entre los obesos, 14 (70%) superaron ese límite.

Tabla 4. Movilidad espermática en sujetos obesos y no obesos

SUJETOS	CONTROLES				OBESOS			
	MOV.RAPIDO	MOV.LENTO	IN SITU	INMOVILES	MOV.RAPIDO	MOV.LENTO	IN SITU	INMOVILES
1	16%	63%	2%	19%	36%	38%	13%	12%
2	2%	48%	8%	42%	1%	45%	20%	34%
3	69%	16%	0%	15%	33%	47%	2%	18%
4	14%	69%	8%	9%	4%	61%	5%	25%
5	0%	54%	6%	40%	13%	60%	7%	20%
6	7%	63%	1%	29%	0%	51%	2%	47%
7	61%	15%	0%	24%	35%	46%	3%	16%
8	32%	37%	11%	20%	0%	46%	19%	35%
9	55%	30%	5%	10%	0%	18%	2%	80%
10	0%	41%	6%	53%	0%	65%	3%	31%
11	45%	34%	8%	13%	15%	61%	2%	22%
12	68%	17%	0%	15%	0%	0%	0%	100%
13	30%	40%	0%	30%	2%	50%	2%	46%
14	65%	20%	2%	13%	7%	37%	3%	53%
15	70%	20%	0%	10%	61%	21%	1%	17%
16	72%	10%	0%	18%	20%	28%	10%	41%
17	60%	10%	10%	20%	0%	62%	0%	38%
18	67%	20%	3%	10%	15%	54%	4%	27%
19	42%	30%	8%	20%	26%	53%	2%	19%
20	49%	33%	0%	18%	5%	45%	20%	30%
Promedio ± Desviación estándar	44% ± 0.26	34% ± 0.18	4% ± 0.04	21% ± 0.120	14 % ± 0.17	44% ± 0.17	6% ± 0.07	36% ± 0.22

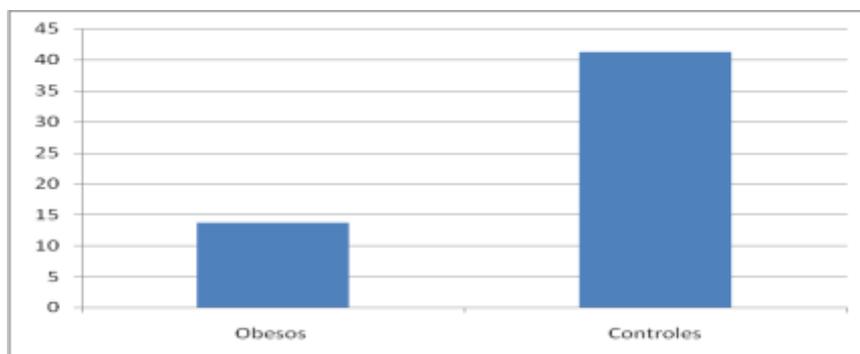
Entre los sujetos controles, 14 (70%) presentaron más del 25% de espermatozoides con movilidad rápida mientras que entre los sujetos obesos solo 5 (25%) presentaron alto porcentaje de movilidad espermática.

Entre los sujetos obesos, 3 (15%) presentaron un porcentaje de inmovilidad espermática mayor de 50% y se destaca uno de los sujetos con 100% de inmovilidad, mientras que entre los sujetos controles solo uno presentó alto porcentaje de inmovilidad espermática.

**Tabla 5. Movilidad espermática rápida en sujetos obesos y no obesos**

	Estado	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Movimiento Rápido	Obesos	20	13,65	16,850	3,768
	Controles	20	41,20	26,357	5,894

**Gráfica 2. Promedio de espermatozoides con movilidad entre los grupos obesos y no obesos**

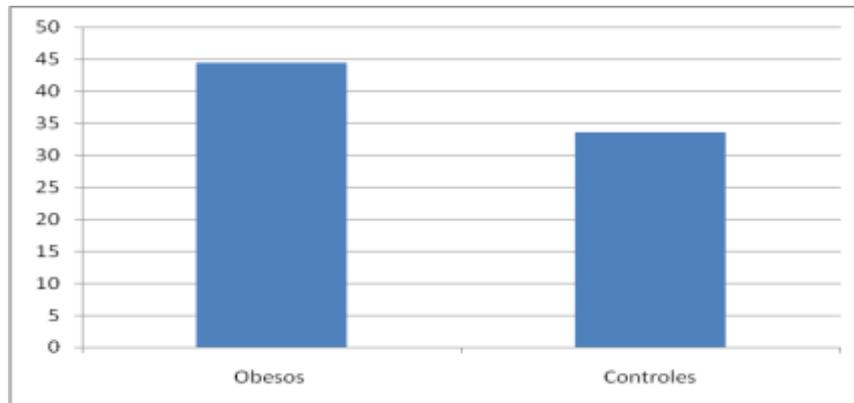


Se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de espermatozoides con movimiento rápido entre los dos grupos ( $p \leq 0.05$ ). Los controles presentaron mayor porcentaje que los sujetos obesos.

**Tabla 6. Movilidad espermática lenta en sujetos obesos y no obesos**

	Estado	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Movimiento Lento	Obesos	20	44,40	16,800	3,757
	Controles	20	33,50	18,266	4,084

**Gráfica 3. Promedio de espermatozoides con movilidad lenta entre los grupos obesos y no obesos**

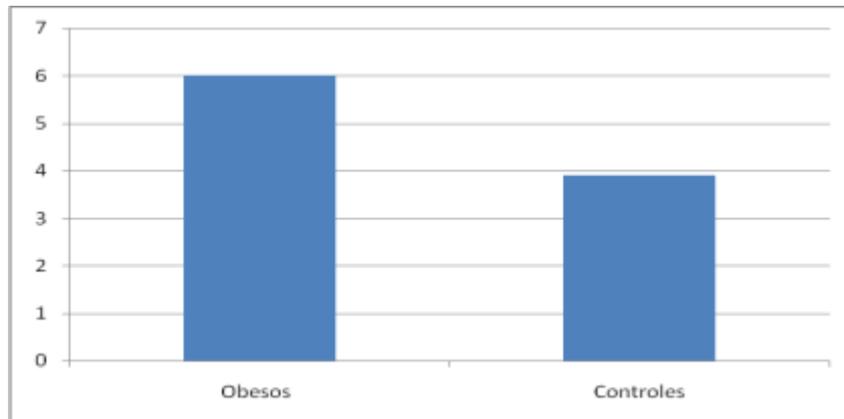


Se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de espermatozoides con movimiento lento entre los dos grupos ( $p \leq 0.05$ ). Los sujetos obesos presentaron mayor porcentaje que los controles.

**Tabla 7. Movilidad espermática in situ en sujetos obesos y no obesos**

Estado	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
IN SITU Obesos	20	6,00	6,696	1,497
Controles	20	3,90	3,892	,870

**Gráfica 4. Promedio de espermatozoides con movilidad in situ entre los grupos obesos y no obesos**

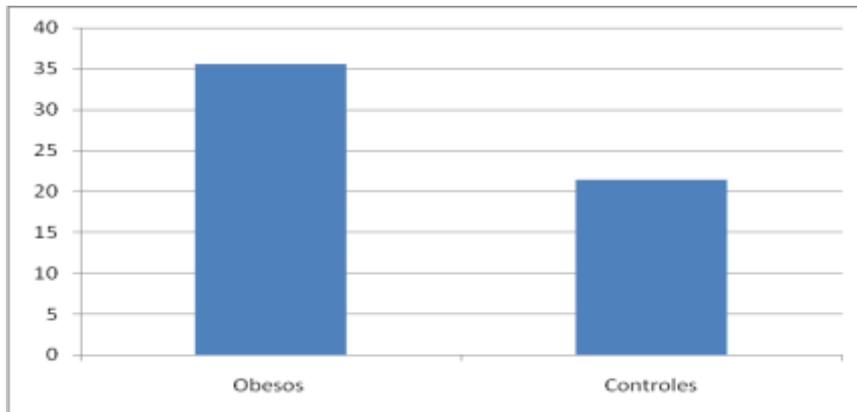


Se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de espermatozoides con movimiento in situ entre los dos grupos ( $p \leq 0.05$ ). Los sujetos obesos presentaron mayor porcentaje que los controles.

**Tabla 8. Espermatozoides inmóviles en sujetos obesos y no obesos**

Estado	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
INMOVILES Obesos	20	35,55	22,049	4,930
INMOVILES Controles	20	21,40	11,940	2,670

**Gráfica 5. Promedio de espermatozoides inmóviles en los grupos obesos y no obesos**



Se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de espermatozoides inmóviles entre los dos grupos ( $p \leq 0.05$ ). Los sujetos obesos presentaron mayor porcentaje que los controles.

**Tabla 9. Morfología de los espermatozoides en los grupos obesos y no obesos**

SUJETOS	CONTROLES			OBESOS		
	FORMAS NORMALES	CABEZA ANORMAL	ALTERACIONES COMBINADAS	FORMAS NORMALES	CABEZA ANORMAL	ALTERACIONES COMBINADAS
1	7%	68%	25%	5%	68%	27%
2	5%	47%	48%	3%	46%	51%
3	10%	40%	50%	7%	68%	25%
4	13%	38%	49%	4%	41%	50%
5	10%	45%	45%	8%	46%	46%
6	8%	35%	57%	3%	19%	76%
7	16%	40%	44%	4%	44%	52%
8	11%	48%	41%	6%	72%	22%
9	12%	55%	33%	3%	80%	27%
10	2%	52%	46%	2%	47%	51%
11	13%	41%	46%	4%	81%	15%
12	15%	35%	50%	3%	64%	33%
13	13%	45%	42%	2%	69%	39%
14	15%	37%	48%	5%	71%	24%
15	9%	41%	50%	8%	62%	30%
16	14%	40%	46%	5%	45%	50%
17	10%	40%	50%	4%	64%	32%
18	14%	44%	56%	5%	58%	37%
19	11%	45%	44%	12%	71%	17%
20	9%	43%	48%	8%	44%	48%
Promedio ± Desviación estándar	11% ± 0.35	44% ± 0.076	46% ± 0.071	5% ± 0.25	58% ± 0.16	38% ± 0.15

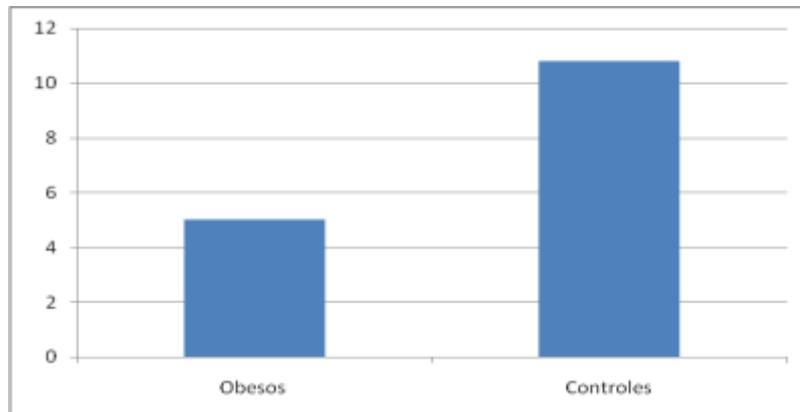
Entre los sujetos obesos, 19 (95%) presentaron un porcentaje de espermatozoides con forma normal menor de 10% mientras que entre los controles, 14 (70%) presentaron un porcentaje mayor de 10% de espermatozoides con forma normal.

Entre los sujetos obesos, 12 (60%) presentaron un porcentaje de espermatozoides con cabeza anormal mayor de 50% mientras que entre los controles solo 3 (15%) superaron ese límite.

**Tabla 10. Espermatozoides con forma normal en obesos y no obesos**

	Estado	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
FORMA NORMAL	Obesos	20	5,05	2,502	,559
	Controles	20	10,85	3,558	,796

**Gráfica 6. Promedio de espermatozoides con forma normal en los grupos estudiados**

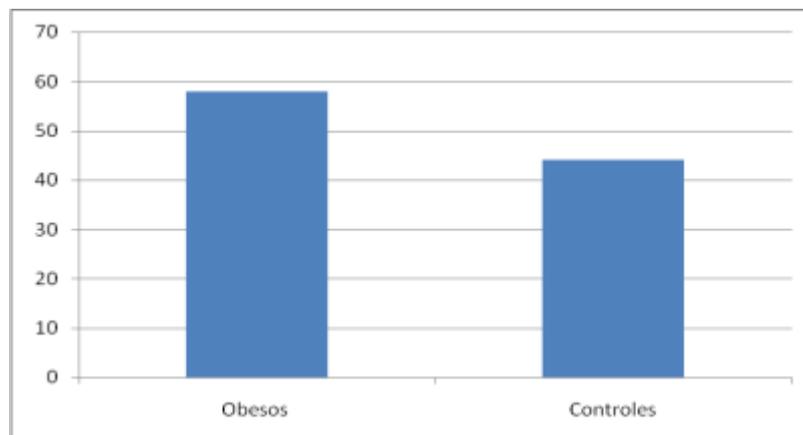


Se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de espermatozoides con forma normal entre los dos grupos ( $p \leq 0.05$ ). Los controles presentaron mayor porcentaje que los sujetos obesos.

**Tabla 11. Espermatozoides con forma anormal en sujetos obesos y no obesos**

	Estado	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
CABEZA ANORMAL	Obesos	20	58,00	15,788	3,530
	Controles	20	43,95	7,674	1,716

**Gráfica 7. Promedio de espermatozoides con forma anormal en los grupos obesos y no obesos**

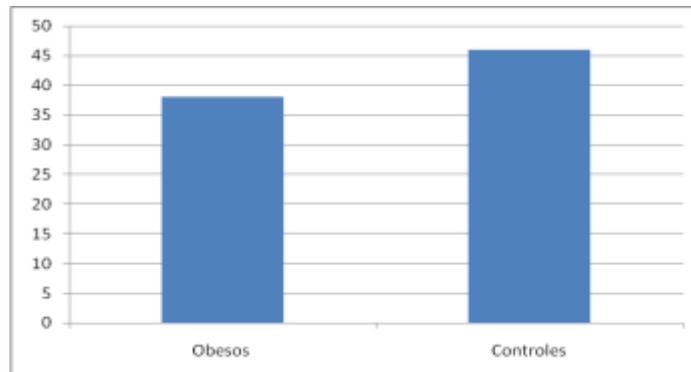


Se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de espermatozoides con cabeza anormal entre los dos grupos ( $p \leq 0.05$ ). Los sujetos obesos presentaron mayor porcentaje que los controles.

**Tabla 12. Espermatozoides con alteraciones combinadas en obesos y no obesos**

	Estado	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Alteración Combinada	Obesos	20	37,60	15,195	3,398
	Controles	20	45,90	7,130	1,594

**Gráfica 8. Promedio de espermatozoides con alteraciones combinadas en los grupos obesos y no obesos**



Se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de espermatozoides con alteraciones combinadas entre los dos grupos ( $p \leq 0.05$ ). Los controles presentaron mayor porcentaje que los sujetos obesos.

**Tabla 13. Parámetros seminales y fragmentación del ADN de los sujetos obesos y los no obesos. Barranquilla, 2011-2012**

Parámetros seminales	Obesos (n=20)	No obesos (n=20)
	Media $\pm$ Desviación Estándar	
Volumen seminal	3.0 $\pm$ 1.14	3.2 $\pm$ 0.93
pH	8.3 $\pm$ 0.20	8.2 $\pm$ 0.26
Concentración espermática/mL	35.730.000 $\pm$ 47.888.055	105.109.091 $\pm$ 53.566.839
%espermatozoide inmóviles	36% $\pm$ 0.22	21% $\pm$ 0.120
%espermatozoide lentos	44% $\pm$ 0.17	34% $\pm$ 0.18
%espermatozoide rápidos	14 % $\pm$ 0.17	44% $\pm$ 0.26

Morfología formas normales	5% ± 0.25	11% ± 0.35
Morfología cabeza anormal	58% ± 0.16	44% ± 0.076
Morfología alteraciones combinadas	38% ± 0.15	46% ± 0.071
Fragmentación de ADN	41.42 ± 17.85	21.25 ± 14.28

## 6. DISCUSION

Aproximadamente el 20% de las parejas en edad reproductiva se ven afectadas por la infertilidad y el factor masculino está involucrado en la mitad de los casos. A pesar de los datos que brinda el espermograma para evaluar la calidad espermática, parece ser que un 15% de los varones infértiles se encuentran entre los parámetros normales lo que lleva a sospechar la presencia de defectos a nivel del ADN de los espermatozoides; este dato ha cobrado importancia debido que no solo está involucrado en la fertilidad sino también en la transmisión de defectos genéticos a la descendencia y en la efectividad de las técnicas de reproducción asistida (13, 68,69).

En estudios anteriores ya se había descrito el daño que podía causar la obesidad en la capacidad reproductiva tanto de hombres como de mujeres (70, 42). Altos depósitos de grasa en la región suprapúbica pueden ocasionar alteración en la producción de espermatozoides y en la integridad genética de los mismos, fenómeno que se puede revertir con la lipectomía escrotal (71). En

este estudio se ratifica la influencia de la obesidad sobre la concentración, movilidad y morfología de los espermatozoides así como sobre la integridad del ADN espermático.

En este proyecto se determinaron los parámetros seminales y el porcentaje de fragmentación de ADN espermático en dos grupos de sujetos: obesos y no obesos tomando como criterio de clasificación el IMC. El pH y el volumen seminal estaban entre los valores normales y no se encontró diferencia significativa entre sujetos obesos y controles, lo cual indicaría que no existe influencia de la obesidad sobre dichas variables. Con respecto al volumen seminal, el resultado concuerda con lo encontrado por La Vignera *et al.* y Jensen *et al.* pero es discordante con lo encontrado por Chavarro *et al.* y Vásquez *et al.* quienes encontraron una relación inversamente proporcional entre el IMC y el volumen seminal explicada por la baja concentración de testosterona como consecuencia de la aromatización de la testosterona hasta estrógeno en el tejido adiposo (6, 32, 38, 72). Generalmente, los estudios relacionados con el tema no reportan el pH seminal. Sin embargo, Vásquez *et al.* reportaron valores similares a los encontrados en este estudio (38).

Se observó mayor prevalencia de oligozoospermia (baja concentración de espermatozoides) en el grupo de obesos (n=11, 55%) en comparación con los controles (n=2, 10%), lo cual concuerda con los estudios de Jensen *et al.*, Koloszar *et al.*, Vásquez *et al.*, Kort *et al.*, Abdullah *et al.*, Hofny *et al.* y Hammoud *et al.* (2008) (2, 6, 73, 36, 37, 38, 74). Sin embargo, en otros estudios como los realizados por Aggerholm *et al.* y La Vignera *et al.* no se observó diferencia significativa en la cantidad y concentración de espermatozoides entre sujetos obesos y sujetos con IMC normal (39, 72).

Con respecto a los datos de movilidad, se observó que los promedios de espermatozoides inmóviles y con movimiento lento fueron mayores en el grupo de obesos (36% y 21%) que en el de los no obesos (44% y 34%). Al comparar

esos datos en los dos grupos se obtuvo diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ). Estos datos son similares a lo reportado por Chavarro *et al.*, Abdullah *et al.*, Hammoud *et al.* y Hofny *et al.*, sin embargo, son discordantes con los resultados de Jensen *et al.* que no muestran asociación con el aumento del IMC (2, 6, 32, 36, 74). La alta frecuencia de espermatozoides con movilidad reducida y el alto índice de fragmentación de ADN espermático encontrado en los sujetos obesos en este estudio concuerdan con lo reportado por Sallmén *et al.* y demuestran una vez más la influencia directa o indirecta de la obesidad sobre los cambios biológicos de la célula espermática (41).

El porcentaje de espermatozoides con forma normal fue menor entre los sujetos obesos. Al comparar este dato en los dos grupos se obtuvo diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ). Esto concuerda con lo reportado por Chavarro *et al.*, Abdullah *et al.*, Hammoud *et al.*, Hofny *et al.* y Jensen *et al.* (2, 6, 32, 36, 74).

Por otro lado, al analizar la integridad del ADN espermático, se encontró diferencia estadística significativa entre los porcentajes de fragmentación de los dos grupos ( $p < 0.05$ ) presentando los mayores valores el grupo obeso ( $IMC \geq 30$ ). Este resultado es compatible con lo encontrado por Kort *et al.*, inicialmente y reafirmado por Chavarro *et al.* y Fariello *et al.* quienes observaron que el número de espermatozoides con daño de ADN era mayor en hombres obesos en comparación con sujetos no obesos y con sobrepeso (32, 37, 75).

Estudios de correlación han demostrado la influencia que ejerce la estructura de la cromatina espermática sobre los resultados de los procedimientos de inseminación intrauterina (70). Los hombres con un IMC mayor que  $30 \text{ kg/m}^2$  presentan reducción en la fertilidad y aumento en la probabilidad de pérdida del embarazo (73). La mayoría de los varones de parejas infértiles con alto IMC

presentan un bajo número de células espermáticas con motilidad normal. Deficiencias en la integridad del ADN espermático pueden explicar dicho fenómeno según estudios que han demostrado una relación positiva entre el IMC y el Índice de fragmentación de ADN. Gopalkrishnan *et al.* y Bungum *et al.*, encontraron que a medida que aumenta el IMC por encima de 25 kg/m<sup>2</sup> de la misma manera aumenta el índice de fragmentación del ADN espermático (76, 77).

En este estudio de casos y controles, se pudo observar que los hombres que presentan un IMC mayor que 30 kg/m<sup>2</sup> muestran alteraciones en algunos parámetros seminales así como un mayor porcentaje de fragmentación de ADN espermático en comparación con hombres no obesos, confirmando una vez más la asociación entre la obesidad y la disminución de la capacidad reproductiva en varones.

Se demuestra una vez más que la obesidad es un factor de riesgo de infertilidad en el varón debido a que no solo influye sobre las variables del espermograma sino también sobre un parámetro tan importante como lo es la integridad del ADN del espermatozoide. Por esta razón, en la búsqueda de causas de infertilidad en sujetos obesos a nivel clínico, se debería adicionar el estudio de la fragmentación del ADN espermático al espermograma convencional. Además, estudios que evalúen los cambios en la fragmentación del ADN espermático que se producen por la pérdida de peso serían útiles para el tratamiento de fertilidad en el paciente obeso.

## **7. CONCLUSIONES**

- Los sujetos obesos presentan un mayor porcentaje de fragmentación del ADN espermático en comparación de los sujetos con Índice de masa corporal normal
- El aumento en el IMC afecta la concentración espermática.
- El recuento, movilidad y morfología del espermatozoide se ven más afectadas en sujetos con obesidad comparados con los no obesos.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Taylor RW, Keil D, Gold EJ, Williams SM, Goulding A. Body mass index, waist girth and waist-to-hip ratio as indexes of total and regional adiposity in women: evaluation using receiver operating characteristic curves. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998; 67: 44-9.
2. Hammoud AO, Gibson M, Peterson CM, Meikle AW, Carrell DT. Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. *Fertil Steril.* 2008; 90(4):897-904.
3. Pasquali R, Patton L, Gambineri A. Obesity and infertility. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2007; 14(6):482-7.
4. Hammoud AO. Gibson M, Paterson CM, Hamilton BK, Carrell DT. Obesity and Male Reproductive Potential. *J Androl.* 2006; 27 (5): 619-26.
5. Loret de Mola JR. Obesity and its relationship to infertility in men and women. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2009; 36(2):333-46.
6. Jensen TK, Andersson AM, Jørgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH, *et al.* Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril.* 2004; 82(4): 863-70.
7. Durá LB. *Obesidad e infertilidad masculina.* Madrid. 2010 [Consultado 8 de Julio de 2011]. Disponible en: <http://www.reproduccionasistida.org/reproduccion-asistida/esterilidad/embarazada/obesidad-infertilidad/>
8. Koskelo R, Zaproudina N, Vuorikari K. High scrotal temperatures and chairs in the pathophysiology of poor semen quality. *Pathophysiology.* 2005; 11: 221–4.
9. Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, Kasai H, Tanaka T. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril.* 1997; 68: 519–24.
10. Davi G, Falco A. Oxidant stress, inflammation and atherogenesis. *Lupus.* 2005; 14: 760–4.
11. Vásquez F, Vásquez D. Espermograma y su utilidad clínica. *Salud uninorte.* 2007; 23 (2): 220-30.

12. Cruz I, Colmenares M, Berrueta-Carrillo L, Gómez-Pérez R, Montes H, Berrueta L, *et al.* Evaluación de la calidad del espermatozoide humano: comparación entre la integridad del and espermático y variables del semen. *Invest Clin.* 2010; 51(1):87-99.
13. Morales R, Lledó B, Ortiz José A, Rodríguez-Arnedo D, Fabregat A, Bernabeu R. Fragmentación del ADN espermático y su implicación en la fertilidad. *Revista iberoamericana de fertilidad.* 2007; 24(5):305-13.
14. Woods SC, Seeley RJ. Understanding the physiology of obesity: review of recent developments in obesity research. *International Journal of Obesity.* 2002; 26(4): 8–10.
15. Tomasello B, Malfa G, Galvano F, Renis M. DNA damage in normal-weight obese syndrome measured by Comet assay. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism.* 2011; 4(2): 99-104.
16. Snyder EE, Walts B, Perusse L, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Rankinen T *et al.* The human obesity gene map: the 2003 update. *Obes Res* 2004; 12: 369-439.
17. Comuzzie AG, Allison DB. The search for human obesity genes. *Science* 1998; 280: 1374-7.
18. Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med* 1997; 337: 869-73.
19. Gil A, García C, Campos M. Genética de la obesidad humana. *Ntr clin med.* 2007; 1 (3): 163-73.
20. De onis M, Habicht JP. Anthropometric reference data for international use: recommendations from a world health organization Expert committee. *Am J Clin Nutr.* 1996; 64: 650-8.
21. Berdasco A. Evaluación del estado nutricional del adulto mediante la antropometría. *Revista Cubana Aliment Nutr.* 2002; 16(2): 146-52.
22. Moreno M. Diagnostico de obesidad y sus métodos de evaluación. *Boletín de la escuela de medicina.* 1997; 26, (1), 1997.
23. Leibel RL, Berry EM, Hirsch J. Metabolic and hemodynamic responses to endogenous and exogenous catecholamines in formerly obese subjects. *Am J Physiol.* 1991; 260: 785-91.

24. Braguinsky J. Prevalencia de obesidad en América Latina. ANALES Sis San Navarra. 2002; 25(1): 109-115.
25. Templeton A, Fraser C, Thompson B. Infertility epidemiology and referral practice. Hum Reprod 1991; 6: 1391-4.
26. Baccetti B, Afcelius BA. The biology of the sperm cell. Basel New York: S. Karguer, 1976.
27. Tapia R, Rojas J. Semiología del análisis de semen. Colegio Mexicano de Urología. 2003; 18: 48-52.
28. Frick J, Aulizky W. Physiology of the prostate. Infection 1991; 19 (3):115-8.
29. World Health organization (1992). Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen – Cervical Mucus Interaction, 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
30. Coppens L. Diagnosis and treatment of obstructive seminal vesicle pathology. Acta Urol Belg. 1997; 65:11-9.
31. Jose-Miller AB, Boyden JW, Frey KA. Infertility. American Family Physician. 2007; 75 (6): 849-56.
32. Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD, Hauser R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. Fertil Steril. 2010; 93 (7): 2222-31.
33. Pauli EM, Legro RS, Demers LM, Kunselman AR, Dodson WC, Lee PA. Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men. *Fertil Steril* 2008; 90: 346–51.
34. Hammoud AO, Wilde N, Gibson M, Parks A, Carrell DT, Meikle AW. Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertil Steril*. 2008; 90(6):2222-5.

35. Shayeb G, Bhattacharya S. Male obesity and reproductive potential. *The British Journal of Diabetes & Vascular disease*. 2009; 9 (1): 7-12.
36. Hofny ER, Ali ME, Abdel-Hafez HZ, El-Dien Kamal E, Mohamed EE, Abd El-Azeem HG, *et al*. Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *Fertil Steril*. 2009.
37. Kort H, Massey J, Elsner C, Mitchell-Leef D, Shapiro D, Witt M, *et al*. Impact of Body Mass Index Values on Sperm Quantity and Quality. *J Androl*. 2006; 27: 450-2.
38. Vásquez F., Ortega C., Pérez T., Sierra M., Stambulie E., Vergara J. Impact of obesity on seminal Parameter. *International Proceeding 9th International Congress of Andrology*, 2009; 239-42.
39. Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, Ramlau-Hansen CH, Bonde JP. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertil Steril*. 2008; 90: 619–26.
40. Fejes I, Koloszar S, Zavaczki Z, Daru J, Szollosi J, Pal A. Effect of body weight on testosterone/estradiol ratio in oligozoospermic patients. *Arch Androl*. 2006; 52: 97–102.
41. Sallmén M, Sandler DP, Hoppin JA, Blair A, Baird DD. **Reduced fertility among overweight and obese men.** *Epidemiology*. 2006; 17(5): 520-3
42. Nguyen RHN, Wicox AJ, Skjaerven R, Baird DD. Men's body mass index and infertility. *Human Reproduction*. 2007; 22 (9): 2488–93.
43. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Nohr EA, Bonde JP, Sorensen TIA, Olsen J. Subfecundity in overweight and obese couples. *Hum Reprod*. 2007; 22: 1634–7.
44. Cruz I, Colmenares M, Barraeta-Carrillo L, Gomez-Perez R, Montes H, Barraeta L, *et al*. Evaluación de la calidad del espermatozoide humano: comparación entre la integridad del ADN espermático y variables del semen. *Invest Clin*. 2010; 51(1): 87-99.
45. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohanty P, Garg R. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation*. 2005; 111: 1448–54.

46. Kasturi SS, Tannir J, Brannigan RE. The metabolic syndrome and male infertility. *J Androl.* 2008; 29(3):251-9.
47. Zumoff B, Strain GW, Miller LK *et al.* Plasma free and non-sexhormone-binding-globulin-bound testosterone are decreased in obese men in proportion to their degree of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 71: 929–31.
48. Stewart T, Baker G. The inverse relationship between obesity and testicular function. *O&G Magazine.* 2008; 10 (4): 34-6.
49. Hofstra J, Loves S, van Wageningen B, Ruinemans-Koerts J, Janssen I, De Boer H. High prevalence of hypogonadotropic hypogonadism in men referred for obesity treatment. *Neth J Med.* 2008; 66: 103–109.
50. Jokela M, Kivimäki M, Elovainio M, Viikari J, Raitakari OT, Keltikangas-Järvinen L. Body Mass Index in Adolescence and Number of Children in Adulthood. *Epidemiology.* 2007; 18 (5): 599-606.
51. El-Sibai O, Fouad M. Feminizing hormone in scrotal lipomatosis. *Assisted Reproductive Technology Andrology.* 1997; 9: 29–35.
52. Ward WS, Coffey DS. DNA packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cells. *Biol Reprod* 1991; 44 : 569-74.
53. Kramer JA, Krawetz SA. Nuclear matrix interactions within sperm genome. *J Biol Chem* 1996; 271: 11619-22.
54. Frazer L. Structural damage to nuclear DNA in mammalian spermatozoa: its evaluation technique and relationship with male infertility. *Pol J Vet Sci* 2005; 7 : 311-21.
55. Saleh R, Aggarwal A. Oxidative stress and male infertility: From research bench to clinical practice. *J Androl* 2002; 23: 737-52.
56. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidant, antioxidants and the degenerative disease and ageing. *Proc Natt Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-22.

57. Matsuda Y, Tobar I. Chromosomal analysis in mouse eggs fertilized in vitro with sperm exposed to ultraviolet light (UV) and methyl and ethyl methanesulfonate (MMS and EMS). *Mutat Res* 1988; 198: 131–44.
58. Genesca A, Caballin MR, Miro R, Benet J, Germa JR, Egozcue J. Repair of human sperm chromosome aberrations in the hamster egg. *Hum Genet* 1992; 89: 181–6.
59. Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, Bizzaro D, Bianchi PG, Bianchi U. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa. *Rev Reprod* 1999; 4: 31–7.
60. Zalensky AO, Allen MJ, Kobayashi A, Zalenskaya IA, Balhorn R, Bradbury EM. Well-defined genome architecture in the human sperm nucleus. *Chromosoma* 1995; 103: 577–90.
61. Soloveva L, Svetlova M, Bodinski D, Zalensky AO. Nature of telomere dimers and chromosome looping in human spermatozoa. *Chromosome Res* 2004; 12: 817–23.
62. Hotamisligil, GS, Shargill, NS, Spiegelman, BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993. 259: 87-91.
63. Uysal, KT, Wiesbrock, SM, Marino, MW, Hotamisligil, GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function. *Nature*. 1997. **389**:610-614.
64. Olive PL, Durand RE, Banath JP, Johnson PJ. Analysis of DNA damage in individual cells. *Methods Cell Biol* 2001; 64 : 235-49.
65. Lopes S, Sun JG, Jurisicova A, Meriano J, Casper RF. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor quality semen samples and correlates with failed fertilization in a cytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998; 69 : 528-32.

66. Drazynkiewics Z, Traganos F, Sharpless T, Melamed MR. Lymphocyte stimulation: a rapid multiparameter analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73 : 2881-4.
67. Hoshi K, Katayose H, Yanagida K, Kimura Y, Sato A. The relationship between acridine orange fluorescence of sperm nuclei and the fertilizing ability of human sperm. *Fertil Steril* 1996; 66: 634-9.
68. Smith R, Kaune H, Pardi D, Madariaga M, Morales I, Ríos R, et al. Aumento del daño en el ADN y estrés oxidativo en espermatozoides de pacientes con oligozoospermia idiopática y antecedentes de criptoquidismo. *Rev Méd Chile* 2007; 135: 279-86.
69. Cortés-Gutiérrez EI, Dávila-Rodríguez MI, López-Fernández C, Fernández JL, Gosálvez J. Evaluación del daño en el DNA espermático. *Actas Urol Esp* 2007; 31: 120-31.
70. Wass P, Waldenstrom U, Rossner S, Hellberg D. An android body fat distribution in females impairs the pregnancy rate of in-vitro fertilization-embryo transfer. *Hum Reprod.* 1997; 12: 2057-60.
71. Shafik A, Olfat S. Lipectomy in the treatment of scrotal lipomatosis. *Br J Urol.* 1981; 53: 55-61.
72. La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, Calogero AE. Negative effect of increased body weight on sperm conventional and nonconventional flow cytometric sperm parameters. *J Androl.* 2012; 33(1):53-8.
73. Koloszar S, Daru J, Kereszturi A, Zavaczki Z, Szollosi J, Pal A. Effect of female body weight on efficiency of donor AI. *Arch Androl* 2002; 48: 323-7.
74. Abdullah A and Bakry. Obesity and Infertility in Egyptian Men. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences.* 2008; 3(2): 135-9.
75. Fariello RM, Pariz JR, Spaine DM, Cedenho AP, Bertolla RP, Fraietta R. Association between obesity and alteration of sperm DNA integrity and mitochondrial activity. *BJU International* 2012. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10813.x

- 76.** Gopalkrishnan K, Padwal V, Meherji PK, Gokral JS, Shah R, Juneja HS. Poor quality of sperm as it affects repeated early pregnancy loss. Arch Androl. 2000; 45: 111-17.
- 77.** Bungum M, Humaidan P, Spano M, Jepson K, Bungum L, Giwercman A. The predictive value of sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters for the outcome of intrauterine insemination, IVF and ICSI. Hum Reprod. 2004; 19: 1401-8.

**9. Anexos**

**9.1. Consentimiento Informado**

**Proyecto de investigación:  
EVALUACIÓN DE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EN  
HOMBRES OBESOS Y NO OBESOS EN EL PERIODO 2010-2011 EN  
BARRANQUILLA, COLOMBIA**

Se me ha explicado con claridad y he comprendido los objetivos, procedimientos y lo que implica mi participación en este proyecto. Entiendo que la participación es voluntaria y que estoy en la libertad de retirar mi consentimiento en cualquier momento sin que esto signifique perjuicio alguno. Me han dado copia de este formulario.

Yo,.....(nombre y apellidos), doy mi consentimiento para participar en este proyecto.

Firma .....

Dirección:.....Teléfono:.....  
.....

Fecha:.....

Confirmando que he explicado toda la información fundamental referente al proyecto.  
(Representante del proyecto)

Nombre:.....

Firma:.....

Cargo:.....

**Testigo 1**

Nombre:.....

Relación con el sujeto de investigación:.....

Firma:.....

**Testigo 2**

Nombre:.....

Relación con el sujeto de investigación:.....

Firma:.....

**Anexo 2.**  
**Historia Clínica**

**Proyecto de investigación:**  
**“EVALUACIÓN DE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EN**  
**HOMBRES OBESOS Y NO OBESOS EN EL PERIODO 2010-2011 EN**  
**BARRANQUILLA, COLOMBIA”.**

Nº: \_\_\_\_\_

**1. IDENTIFICACIÓN PERSONAL**

1.1. Nombres y apellidos:

\_\_\_\_\_

1.2. N° de Cédula de Ciudadanía o de Extranjería: \_\_\_\_\_

1.3. Edad (años cumplidos): \_\_\_\_\_

1.4. Fecha de nacimiento: Día \_\_\_\_\_ Mes \_\_\_\_\_ Año \_\_\_\_\_

1.5. Dirección de residencia: \_\_\_\_\_

1.6. N° de Teléfono: Fijo \_\_\_\_\_  
Celular \_\_\_\_\_

1.7. Correo electrónico: \_\_\_\_\_

**2. ANTECEDENTES PERSONALES**

**De las siguientes patologías indique cuáles ha padecido:**

<b>Patología</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>Tiempo de padecimiento</b>
Obesidad			
Hipertensión arterial			
Diabetes mellitus			
Enfermedad cardiaca			
Dislipidemias			
Enfermedad cerebrovascular			

### 3. ANTECEDENTES FAMILIARES

De las siguientes patologías indique cuáles ha padecido alguno de sus familiares.

Patología	Si	No	Parentesco
Obesidad			
Hipertensión arterial			
Diabetes mellitus			
Enfermedad cardiaca			
Dislipidemias			
Enfermedad cerebrovascular			

### 4. EXÁMEN FÍSICO

- 4.1. **Presión arterial:** \_\_\_\_\_ mmHg
- 4.2. **Frecuencia cardiaca:** \_\_\_\_\_ latidos/mín
- 4.3. **Talla:** \_\_\_\_\_ cm
- 4.4. **Peso:** \_\_\_\_\_ Kg
- 4.5. **Índice de masa corporal:** \_\_\_\_\_ peso corporal/talla<sup>2</sup> (m)
- 4.6. **Perímetro de cintura:** \_\_\_\_\_ cms
- 4.7. **Perímetro de cadera:** \_\_\_\_\_ cms
- 4.8. **Índice cintura/cadera:** \_\_\_\_\_ cms

### **Anexo 3. Desnaturalización del ADN en Espermatozoides**

#### **Reactivos:**

- Ácido Cítrico 0.1M (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) PM:192.12 pH:1.5  
Solución 0.1M = 19.212 gr/L
- Fosfato de Sodio Heptahidrato 0.3M (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O) PM: 268.08  
Solución 0.3M = 268.08 x 0.3 = 80.424 gr/L
- Solución Stock Naranja de Acridina  
1 gr de N.A en 1000 c.c. en agua destilada

#### **Técnica de Lavado:**

Un ml. de semen se lava una vez con cinco ml. de solución de PBS-DULBECCO y se centrifuga por 5 minutos a 1500 gravedades. El pellet se resuspende después del lavado y se ajusta el conteo final a 10 millones de espermatozoides por ml. Se hacen extensiones y se dejan secar al aire por 20 minutos.

Las láminas se fijan en solución de Carnoy's (3 partes de metanol por 1 parte de ácido acético glacial) por dos horas. Luego se remueven del fijador y se dejan secar al aire antes de colorearlas.

#### **Preparación Solución de Coloración:**

- |  |        |
|--|--------|
| 1. Solución stock de naranja de acridina | 10ml.  |
| 2. Ácido cítrico 0.1M                    | 40ml.  |
| 3. Fosfato de sodio 0.3M                 | 2.5ml. |

Concentración = 0.19mg/ml de N.A

pH final: 2.5

#### **Procedimiento:**

Las láminas se cubren con 2 a 3 ml. de colorante por 5 minutos a 56°C y luego se lavan con agua desionizada. Antes que la lámina se seque, se coloca una laminilla de 20x40. Leer en microscopio de fluorescencia usando filtro de excitación de 490 nm y filtro de barrera de 530 nm. La observación no puede sobrepasar de 40 segundos en inmersión de 100X.

#### **Interpretación:**

Cabezas con fluorescencia verde indica doble cadena de ADN intacta.

Cabezas con fluorescencia amarillenta a rojiza indica ruptura de las cadenas de ADN, quedando cadenas simples que conlleva a la fragmentación e inmadurez del núcleo espermático.

**Valor de Referencia:**

Más del 70% de espermatozoides con ADN intacto.

**DR FERNANDO  
VASQUEZ  
RENGIFO**

**CRA 49C No 80-125 Cons 310  
Tels: 3458214-3587801  
Barranquilla - Colombia**

Nombre:	Fecha:	Número:
Remite:	Teléfono:	Fecha de Nac.: C.C.
Hora de Obtención:	Días de Abstinencia.	Modo de Obtención:

## ESPERMOGRAMA

<b>EXAMEN FISICO</b>		<b>MORFOLOGIA</b>
Volumen:	ml	Formas Normales: %
PH:		Alteraciones en:
Aspecto:		Cabeza (Tamaño – Forma): %
Mucolisis:		Cuello y pieza intermedia: %
Viscosidad:		Flagelo: %
Color:		Gota Citoplasmática: %
Olor:		Alteraciones Combinadas: %
		Células Germinales: %
<b>RECUESTO</b>		<b>OTRAS CELULAS</b>
Espermatozoides:	ml	Leucocitos: x campo
Espermatozoides Totales:		Células Epiteliales: Escasas
Células Redondas:		Hematíes:
		Bacterias:
		Otras
<b>MOVILIDAD</b>		<b>ESTUDIO BIOQUIMICO</b>
Grado a (rápidos):	%	Fructosa: %
Grado b (lentos):	%	Acido Cítrico: %
Grado c (In situ):	%	<b>INTEGRIDAD DE MENBRANA</b>

Inmóviles:	%	Forma Inmóviles vivas:	%
<b><i>Concentración Grado 3 (Rápidos):</i></b>		Flagelo Intacto (Hos -):	%
<b><i>ml</i></b>			

Aglutinación:

Diagnostico Seminológico

Observaciones.

