

## **COMUNICACIÓN CORTA**

Universidad de Valparaíso, Chile

# **EVALUACIÓN DE LA POSIBLE INCIDENCIA DE LA VARICOCELECTOMÍA SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO ASOCIADO CON VARICOCELE**

*Dra. Cynthia Acevedo, Dra. María E. Hidalgo, Dr. Andrés Venegas y Dr. Eduardo Lissi*

## **RESUMEN**

En este trabajo se compararon sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de espermios, actividad de catalasa seminal y sanguínea, luminiscencia urinaria, en pacientes infértiles antes y después de someterse a varicocelectomía. Se encontró una disminución en los niveles de lipoperoxidación espermática (expresado como nanomoles de malonildialdehído), de los pacientes en estado posoperatorio en relación con los mismos pacientes antes de la operación. Asimismo se aprecia disminución en la luminiscencia urinaria y en la actividad de catalasa tanto seminal como sanguínea en el mismo grupo de pacientes. Los resultados permiten concluir que la corrección quirúrgica mejora el estrés oxidativo sistémico, evaluado a través de la actividad enzimática y la luminiscencia urinaria, que ha sido propuesta como índice del estrés oxidativo sistémico. Los espermiogramas muestran un aumento en el número y la motilidad de los espermios. También el estrés oxidativo local disminuye, lo que se demuestra con el ensayo de TBARS.

*Descriptores DeCS:* ESTRES OXIDATIVO; ESPECIES DE OXIGENO REACTIVO; VARICOCELE/ enzimología; VARICOCELE/ cirugía; CATALASA; SEMEN; ESPERMATOZOIDES; INFERTILIDAD MASCULINA/ enzimología.

El estrés oxidativo es un desbalance entre la producción y la remoción de especies reactivas del oxígeno (ERO), que conduce a un aumento en la concentración de especies y en consecuencia a un aumento en el daño celular. Diversos estudios han demostrado una asociación entre estrés oxidativo y la función espermática.<sup>1-3</sup> Las especies reactivas del oxígeno en semen completo son generadas por el espermatozoide y los leucocitos fagocíticos.<sup>3,4</sup> Aunque las ERO desempeñan un papel importante tanto en la capacitación espermática como en

la fusión,<sup>5</sup> deben ser controladas para evitar efectos deletéreos.<sup>6</sup> Para esta finalidad, el plasma seminal posee mecanismos de defensa enzimáticos y no enzimáticos. La infertilidad puede resultar de un incremento en la producción de ERO o un decrecimiento de las defensas.<sup>7,8</sup> Existen estudios de la utilidad del uso de antioxidantes en hombres sujetos a condiciones de estrés oxidativo.<sup>9,10</sup>

Se ha establecido la relación entre varicocele e infertilidad. La mayoría de los

hombres con varicocele tienen un espermiograma anormal que en general mejora después de la reparación.<sup>11</sup> La exposición al humo del cigarrillo, que constituye una fuente de radicales libres, contribuye al deterioro del espermiograma en varicocele. También la producción de ERO es normalmente alta en varicocele y mejora después de la varicocelectomía.<sup>6</sup>

## MÉTODOS

### Pacientes

Edades comprendidas entre 29 y 40 años. Diagnosticados infértiles con varicocele, por el especialista médico urólogo. Después de la intervención quirúrgica se realizan nuevamente ensayos y se deja transcurrir un tiempo de al menos 2 meses.

### Obtención de las muestras y análisis

Las muestras de semen fueron obtenidas de los pacientes por masturbación y recogidas en recipientes estériles después de 3 d de abstinencia sexual. Se realiza un espermiograma convencional dentro de la primera hora de colecta. El semen fue centrifugado a 1 000 rpm durante 6 min para obtener el *pellet* de espermios y el

sobrenadante, este último se centrifugó a 3 000 rpm por 10 min para obtener plasma seminal.

### Plasma sanguíneo

Muestras de sangre venosa fueron obtenidas por punción. La sangre se centrifugó a 2 500 rpm durante 10 min y el plasma fue guardado congelado hasta el análisis. Los eritrocitos se hemolizaron en proporción 1:4 con solución hipotónica, el hemolizado se congeló hasta el análisis.

### Orina

Las muestras urinarias fueron tomadas de la primera emisión de la mañana, se guardaron congeladas hasta su análisis. Después de descongelarlas, fueron centrifugadas a 3 500 rpm durante 10 min y diluidas (1:4) en *buffer* fosfato a pH 6,2. La luminiscencia espontánea se leyó en un contador de centelleo en el modo fuera de coincidencia.

## RESULTADOS

La tabla muestra los resultados obtenidos al comparar las características de semen, sangre y orina de los pacientes antes y después de la varicocelectomía.

TABLA. Características de los pacientes antes y después de la varicocelectomía

	Precirugía	Poscirugía
Edad (años)	34,3 ± 3,3	34,3 ± 3,3
Volumen seminal (mL)	5,2 ± 1,5	4,18 ± 1,3
Concentración espermática (x 10 <sup>6</sup> / mL)	32,4 ± 7,3	40,8 ± 2,6
Motilidad (%)	48 ± 3,2	65,4 ± 12,4
TBARS (nmoles MDA / 20 x 10 <sup>6</sup> espermios)	0,6123 ± 0,3	0
Luminiscencia urinaria/creatinina (cpm / mg%)	6503 ± 509	2640,5 ± 171
Catalasa seminal (U/mL)	2,47 e-2 ± 1,3e-3	2,72e3 ± 1,6e-5
Catalasa en eritrocitos (U/mg Hb)	40,84 ± 0,434	1,128 ± 0,034

(\*) Los datos corresponden al promedio ± desviación estándar.

## **DISCUSIÓN**

Las diferencias observadas en porcentaje de motilidad están de acuerdo con los antecedentes reportados de la influencia del varicocele en el estrés oxidativo, producto de un aumento de especies radicalarias que conducirían a la lipoperoxidación de la membrana del espermatozoide, que ocasiona una disminución en la motilidad. La reparación quirúrgica del varicocele eliminaría la causa del desbalance.

Aunque la lipoperoxidación medida en el espermio a través del TBRAS no alcanza valores muy altos previo a la cirugía, después de esta, no fue detectada en ningún paciente.

La luminiscencia urinaria ha sido asociada con la excreción de metabolitos oxi-

dados y ha sido propuesta como un índice de estrés oxidativo sistémico.<sup>12,13</sup> Los resultados concuerdan con la recuperación del balance oxidativo ya que se observa una disminución de estos valores poscirugía.

La actividad enzimática de catalasa está relacionada también con su papel activo como enzima antioxidante por su acción sobre el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En este trabajo se demuestra que tanto la actividad de catalasa seminal como sanguínea disminuyen. Se ha demostrado que en otras patologías donde existe estrés oxidativo, la administración de antioxidantes disminuye la actividad de la enzima.

La corrección quirúrgica mejora el estrés oxidativo tanto seminal como sistémico.

## **SUMMARY**

In this paper, TBARS of spermatozoa, the activity of seminal and blood catalase and the urinary luminiscence were compared in infertile patients before and after undergoing varicocelectomy. It was found a decrease in the levels of spermatic lipoperoxidation (expressed as nanomols of MDA) of the patients in postoperative stage compared with the same patients before the operation. It was also observed a reduction in the urinary luminiscence and in the seminal and blood catalase activity in the same group of patients. The results allowed to conclude that the surgical correction improves the systemic oxidative stress evaluated through the enzymatic activity and the urinary luminiscence that has been proposed as an index of systemic oxidative stress. The spermograms showed an increase in the number and motility of the spermatozoa. The local oxidative stress decreases, too, which is proved by the TBARS assay.

*Subject headings:* OXIDATIVE STRESS; REACTIVE OXYGEN SPECIES; VARICOCELE/enzimology; VARICOCELE/surgery; CATALASE; SEMEN; SPERMATOZOEA; INFERTILITY, MALE/enzimology.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Aitken J. A free radical theory of male infertility. *J Reprod Fertil Rev* 1994;6:19-24.
2. Agarwal A, Ikemoto Y, Loughlin K. Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens. *J Urol* 1994;152:107-10.
3. Zini A, DeLamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase and catalase - like activities in seminal plasma and spermatozoa. *Int J Androl* 1993;16:183-8.
4. Weese D, Peaster M, Kyle K, Leach G, Zimmern P. Stimulated reactive oxygen species generation in the spermatozoa of infertile men. *J Urol* 1993;149:64-7.
5. Aitken J, Fisher H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioassays* 1994;16:259-67.
6. Aitken J, Clarkson J. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of

- reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fert* 1987;81:459-65.
7. Thiele J, Freisleben H, Fuchs J, Ochsendorf F. Ascorbic acid and urate in human seminal plasma: determination and interrelationships with chemiluminescence in washed semen. *Hum Reprod* 1995;10:110-5.
  8. Lewis S, Boyle P, McKinney K, Young I, Thompson W. Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. *Fertil Steril* 1995;64:868-70.
  9. Lenzi A, Picardo M, Gandini L, Lombardo F, Terminali O, Passi S, *et al.* Placebo controlled, double blind, cross over trial of glutathione therapy in male infertility. *Hum Reprod* vol 9. 1994;2044.
  10. Kessopoulou E, Powers H, Sharman K, Pearson M, Rusell J, Cooke I, *et al.* A double blind randomized placebo cross over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril* 1995;64:825-31.
  11. Chia S, Xu B, Ong C, Tsakok F, Lee S. Effect of cadmiun and cigarette smoking on human semen quality. *Int J Fertil* 1994;39:292-8.
  12. Fraga C, Motchnik P, Shigenaga M, Helbock H, Jacob R, Ames B. Ascorbic acid protects against endogenous oxidative damage in human sperm. *Med Sci* 1991;88:11003-6.
  13. Lissi E, Salim-Hanna M, Videla L. Is spontaneous urinary visible chemiluminescence a reflection of in vivo oxidative stress ? *Free Rad Biol Med* 1992;12:317-22.

Recibido: 3 de abril del 2000. Aprobado: 27 de junio del 2000.

Dra. *Cynthia Acevedo*. Centro de Investigaciones Biomédicas. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Avenida 146 No. 3102 esquina a 31, reparto Cubanacán, municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. CP 11600.