

4. Diabetes mellitus y esterilidad: Mecanismos moleculares implicados

DIABETES MELLITUS AND STERILITY: MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED

Sara Arjona Hernández

Graduada en Farmacia por la Universidad de Sevilla.

RESUMEN

La influencia que ejerce la Diabetes Mellitus (DM) en la infertilidad o subfertilidad es un hecho más que establecido. Los mecanismos subyacentes a la relación entre ambas entidades están sujetos a una actualización permanente, ya que cada vez son más los hallazgos que ratifican el nexo entre las modificaciones producidas por la DM y el deterioro de la función reproductiva. Entre ellas figuran alteraciones metabólicas, como generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), productos finales de glicación avanzada (AGE), disminución de óxido nítrico (ON), agotamiento de los sistemas de defensa antioxidantes, y disregulación endocrina, que juegan un papel clave en el desarrollo de manifestaciones como disfunción eréctil o eyaculación retrógrada, así como en el proceso de espermatogénesis, afectando por ende la calidad y función espermáticas. En la mujer, la privación insulínica induce un estado de hipogonadismo que se manifiesta como amenorrea, complicaciones gestacionales, aborto espontáneo, menopausia prematura e incluso malformaciones congénitas en la descendencia. De hecho, aunque los pacientes diabéticos en general tienen menos hijos, este efecto es más pronunciado en las mujeres. Además, el aumento desorbitado en la incidencia de la DM a edades más tempranas supone que cada vez sean más los individuos en edad reproductiva afectados de diabetes, lo que se traduce en un incremento de la población subfértil e infértil a nivel mundial.

Palabras clave: Diabetes, infertilidad, subfertilidad, espermatogénesis, hipogonadismo, amenorrea.

ABSTRACT

The influence of Diabetes Mellitus (DM) on infertility or subfertility is more than established. The mechanisms underlying the relationship between the two entities are subject to permanent updating, as more and more findings confirm the link

between the modifications produced by DM and the deterioration of the reproductive function. These include metabolic disturbances, such as reactive oxygen species (ROS) generation, advanced glycation end products (AGEs), reduction of nitric oxide (ON), depletion of antioxidant defense systems, and endocrine deregulation, that play a key role in the development of manifestations such as erectile dysfunction or retrograde ejaculation, as well as in the process of spermatogenesis, thereby affecting sperm quality and function. In women, insulin deprivation induces a state of hypogonadism that manifests itself as amenorrhea, gestational complications, miscarriage, premature menopause and even congenital malformations in the offspring. In fact, although diabetic patients generally have fewer children, this effect is more pronounced in women. In addition, the skyrocketing incidence of DM at younger ages means that more individuals of reproductive age are affected by diabetes, resulting in an increase in the subfertile and infertile population worldwide.

Keywords: Diabetes, infertility, subfertility, spermatogenesis, hypogonadism, amenorrhea.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) constituye una de las mayores amenazas para la salud mundial moderna. Su incidencia está aumentando rápidamente. Así, en el año 2000, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó que 177 millones de personas padecían diabetes en todo el mundo, previendo que esta cifra aumentase a más de 300 millones en 2025 (OMS, 2002). Y es que la pandemia de DM ha crecido desorbitadamente, no solo en el mundo occidental, sino también en los países en desarrollo. Se estima que la enfermedad alcanzará proporciones epidémicas en las próximas décadas. Factores como la obesidad, el crecimiento de la población y el envejecimiento son en gran parte responsables.

La DM se describe como un trastorno metabólico resultante de una secreción defectuosa de insulina, resistencia a la misma, o ambas. Existen varios tipos de DM, siendo los más importantes la *diabetes mellitus tipo 1* (DM1) y la *diabetes mellitus tipo 2* (DM2). Los procesos responsables de ambas entidades son muy distintos: La DM1 resulta de una deficiencia absoluta de insulina causada por la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas, mientras que la DM2 se caracteriza por una secreción deficiente de insulina y una mayor resistencia a esta hormona. Además, la DM1 se asocia frecuentemente con otras enfermedades autoinmunes, como la enfermedad tiroidea autoinmune (15-30%), la enfermedad celíaca (4-9%) y la enfermedad de Addison (0,5%) (19).

La gran mayoría (>90%) de los pacientes con DM1 son diagnosticados antes de los 30 años. Este tipo de diabetes está aumentando un 3% anual en niños europeos, y cada vez son más los diagnósticos en la primera infancia. Durante las próximas décadas, esto dará como resultado un aumento del 50% en la prevalencia de esta entidad. Por otro lado, las dietas occidentales, el estilo de vida y la

obesidad en los jóvenes contribuyen en gran medida a la creciente incidencia de DM2 en la juventud. En Japón, ya hay cuatro veces más adolescentes con DM2 que con DM1 y, en EEUU, más de un tercio de los nuevos diagnósticos de DM se encuentran en adolescentes jóvenes. En consecuencia, la diabetes afectará a muchos más hombres antes y durante sus años reproductivos. De hecho, el efecto de la DM sobre la fertilidad masculina ha surgido como un problema alarmante, exacerbado aún más por el creciente número de niños y adolescentes con DM2, que presentan un tiempo de transición entre la prediabetes y la DM2 incluso más corto que el de los adultos.

Tanto la DM1 como la DM2 se caracterizan por un estado de hiperglucemia que induce la producción de alteraciones vasculares y endoteliales. Además, existe una alteración severa en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, que causa complicaciones sistémicas y comorbilidades como dislipidemia, hiperinsulinemia, hipoglucemias, insuficiencia renal o hipertensión (4). Debido al creciente número de personas que desarrollan DM a una edad temprana, se espera que estas experimenten más años de carga de enfermedad y una mayor probabilidad de desarrollar complicaciones graves, que reducirán la calidad y esperanza de vida.

La infertilidad afecta aproximadamente al 10% de la población mundial. La OMS clasifica la infertilidad en la población joven como la quinta discapacidad global más grave (12). Resulta concluyente destacar que el aumento en la incidencia de la DM se ha asociado con tasas de natalidad y fertilidad deficientes. Se sabe que trastornos sexuales, como la disfunción eréctil o la eyaculación retrógrada, ocurren en personas diabéticas y generalmente terminan en una reducción del apetito sexual, que a menudo se atribuye al letargo y un cierto grado de cansancio asociado al estado hiperglucémico. El deterioro de la salud reproductiva de los diabéticos masculinos aparentemente puede atenuarse en un paciente "bien controlado". Sin embargo, en la DM2 los síntomas clínicos frecuentemente se detectan solo en una fase avanzada de la enfermedad, lo que permite la progresión de cambios funcionales en células y tejidos que pueden no revertirse incluso con la terapia correcta.

Si bien los mecanismos específicos a través de los cuales la DM afecta la salud reproductiva masculina no están del todo dilucidados, esta patología ejerce un impacto significativo en la función reproductiva masculina a múltiples niveles (como resultado de sus efectos sobre el control endocrino de la espermatogénesis, la espermatogénesis *per se* o al afectar la erección del pene y la eyaculación). Así pues, la subfertilidad e infertilidad masculinas pueden extenderse más a medida que aumenten las tasas de DM (5).

Además, las vías de la insulina/*factor de crecimiento similar a la insulina* (IGF) y el metabolismo de la glucosa actúan como mediadores de la función ovárica y la fertilidad femenina. Fisiológicamente, la insulina se une a sus receptores a nivel ovárico para mediar en la esteroidogénesis y actuar como una gonadotropina. Por tanto, la desregulación de esta vía conduce a alteraciones en la pubertad, la ovulación y la fertilidad femenina, encontrándose menores tasas de nacidos vivos en mujeres diabéticas.

OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objeto la realización de una revisión sistemática de los mecanismos moleculares implicados en la subfertilidad e infertilidad que tienen lugar en el paciente diabético.

METODOLOGÍA

Esta revisión bibliográfica ha sido realizada a partir de artículos de revista, revisiones y meta-análisis relacionados con la diabetes y su implicación en la subfertilidad e infertilidad, fundamentalmente masculinas. La búsqueda bibliográfica se ha realizado en distintas bases de datos. Si bien PubMed ha constituido la base de datos principal. La búsqueda fue realizada entre los meses de mayo y junio de 2022, siguiendo los criterios de búsqueda detallados a continuación:

- Tipo de artículo: "Libros y documentos", "meta-análisis", "revisiones" y "revisiones sistemáticas"
- Fecha de publicación: Últimos 10 años (aunque a veces se han seleccionado publicaciones correspondientes a fechas anteriores por considerarlas relevantes en la realización del trabajo)

Entre las palabras clave empleadas en la búsqueda figuran: "Mecanismos moleculares", "Diabetes", "Infertilidad", "Parámetros espermáticos", "Estrés oxidativo".

DESARROLLO

ESPERMATOGÉNESIS

La espermatogénesis es un evento complejo que depende del transporte de glucosa y otros metabolitos desde la sangre a las células germinales. No obstante, la conexión sangre-células germinales se ve obstaculizada por la presencia de uniones que controlan el paso de sustancias entre estos compartimentos físicamente adyacentes, pero metabólicamente separados. Estas uniones conforman la *barrera hematotesticular* (BTB, por sus siglas en inglés) o barrera de células de Sertoli, y, como ocurre con otras barreras tisulares sanguíneas del organismo, el intercambio de sustancias entre los dos entornos distintos que genera (intersticial y luminal) está sometido a un estricto control.

La BTB es una de las barreras tisulares más estrechas que divide el epitelio seminífero en compartimentos basales y apicales, donde tienen lugar las diferentes etapas del desarrollo de las células germinales. La BTB constituye, por tanto, una barrera física entre el espacio intersticial y la luz de los túbulos seminíferos, formada por células de Sertoli y las estrechas conexiones entre estas células. Fuera de la BTB se encuentra el compartimento basal, donde se produce la renovación de las espermatogonias, y dentro de la BTB se encuentra el compartimento adluminal, donde tienen lugar la meiosis, la espermiogénesis (maduración de las espermátidas en espermatozoides maduros) y la espermiación (liberación de espermatozoides maduros). Los vasos sanguíneos y las células de Leydig, que producen testosterona, se encuentran en el espacio intersticial.

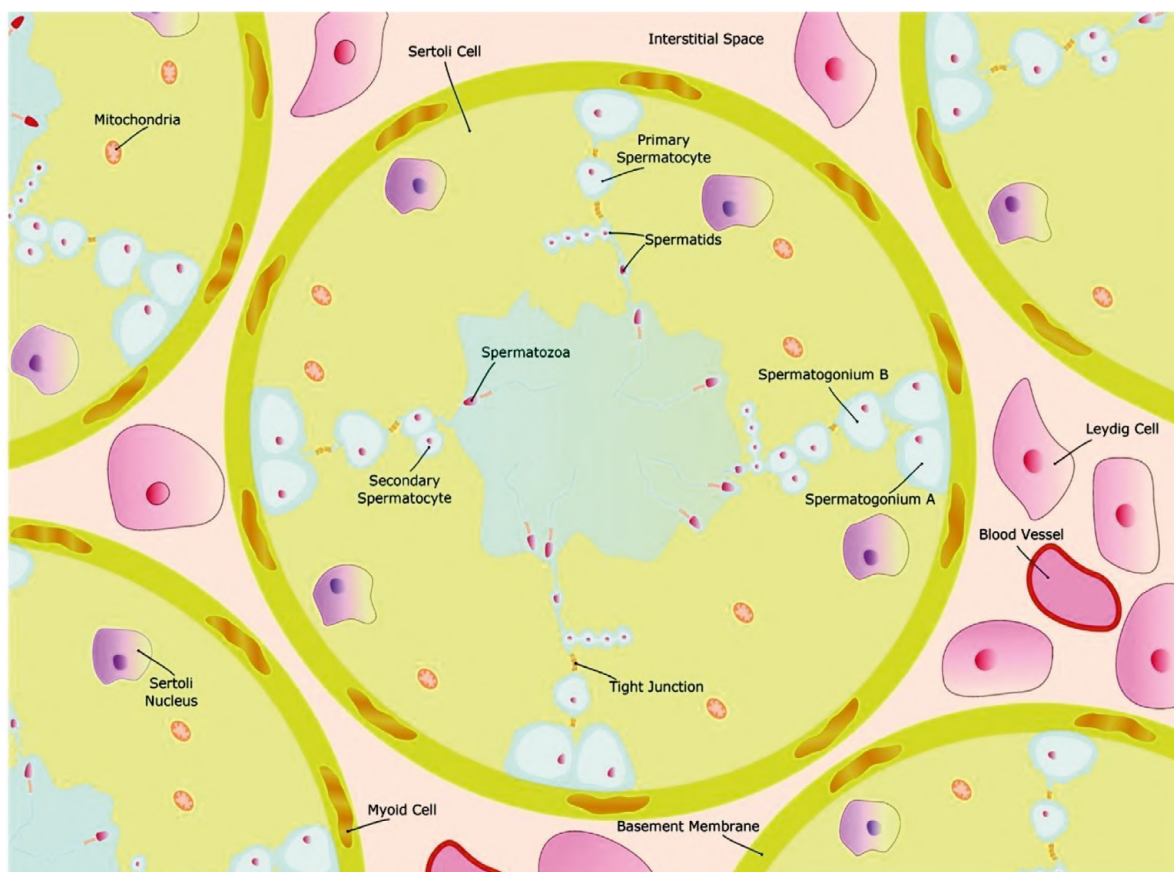


Figura 1. Esquema del tubo seminífero y la BTB. (Alves MG, Martins AD, Cavaco JE et al. Diabetes, insulin-mediated glucose metabolism and Sertoli/blood-testis barrier function. *Tissue Barriers* [artículo de revista]. 2013).

Adyacentes a la membrana basal hay varias capas de células miofibroblásticas modificadas, denominadas células peritubulares. Así pues, la integridad de la BTB es esencial para crear un ambiente óptimo para el correcto desarrollo de un espermatozoide completamente eficiente.

Las alteraciones de la BTB pueden ser de diversa etiología (histológica y/o bioquímica), y ser consecuencia de condiciones patológicas que pueden afectar a su función de transporte y permeabilidad. Además, la fluidez de la membrana y las cargas superficiales celulares son las responsables de regular el transporte a través de la barrera. De este modo, cualquier entidad clínica que altere el normal funcionamiento de este sistema puede comprometer el proceso de espermatogénesis y, por ende, la fertilidad masculina (5).

METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN TESTÍCULOS Y ESPERMATOZOIDES

Las células testiculares más relevantes en todos los procesos implicados en la espermatogénesis son las células de Sertoli. Estas células presentan un amplio espectro de funciones en el evento espermatogénico. Además de ser responsables del transporte de agua desde el espacio intersticial a la luz, también controlan el pH y la composición iónica del líquido seminífero. Asimismo, se las conoce como "células nodriza" porque brindan soporte físico y nutricional a las células germinales en desarrollo, lo que resulta fundamental para una espermatogénesis normal (4). Las células de Sertoli son responsables de la producción de lactato a partir de glucosa

extracelular que luego se exporta para ser metabolizado, junto con el piruvato, por los espermatozoides paquítenos y las espermátides redondas. Durante este proceso, la glucosa ha de penetrar en la BTB a través de un mecanismo de difusión facilitada mediada por transportadores de glucosa (GLUT), que depende de la distribución de GLUT en la membrana plasmática y de los niveles totales de GLUT. Se ha descrito que, en las células de Sertoli, el transportador de glucosa 1 (GLUT1) y el transportador de glucosa 3 (GLUT3) establecen sinergia en el mantenimiento de la captación de glucosa para garantizar la producción de lactato a una elevada tasa. Estos mecanismos que permiten la incorporación de glucosa son de extrema relevancia, ya que el líquido tubular tiene un bajo nivel de este azúcar y las células de Sertoli, que son las responsables del mantenimiento de la homeostasis de este líquido, necesitan glucosa y otros intermediarios metabólicos para producir los sustratos metabólicos requeridos para el desarrollo de células germinales (5). Asimismo, estas células tienen la capacidad de modular su flujo glucolítico sin cambiar el consumo de glucosa extracelular para mantener la producción de lactato a tasas elevadas (9).

Además, este proceso se encuentra bajo regulación hormonal, especialmente por la acción de las hormonas sexuales y la *hormona foliculoestimulante* (FSH). Los receptores hormonales están ubicados en las células de Sertoli, siendo muy sensibles a los niveles de glucosa extracelular. Por lo tanto, la cooperación metabólica entre las células testiculares y el paso selectivo de sustratos metabólicos a través de la BTB se ejerce por varios mecanismos distintos

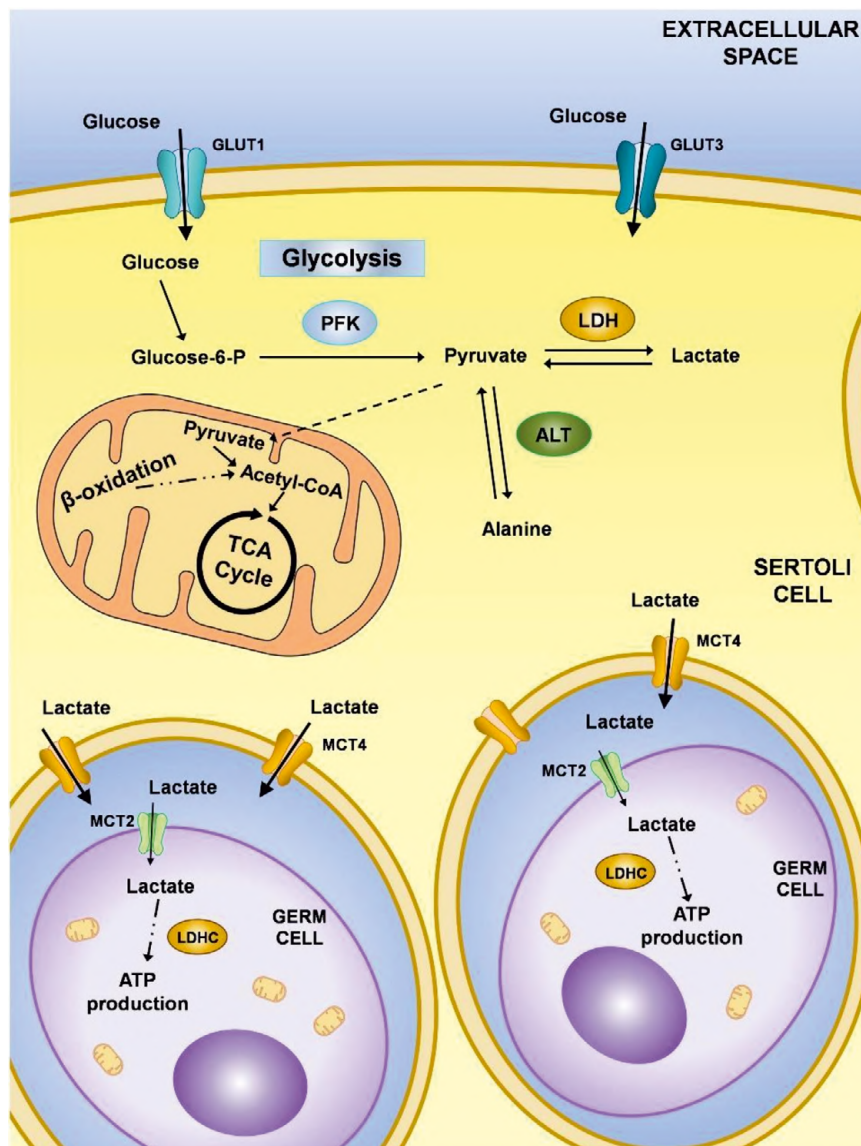


Figura 2. Cooperación metabólica entre Sertoli y las células germinales (Alves MG, Martins AD, Rato L et al. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochim Biophys Acta* [artículo de revista]. 2013).

y especializados. Su conocimiento y comprensión puede ser de ayuda en la identificación y diseño de enfoques terapéuticos frente a la subfertilidad o la infertilidad causada por diversas condiciones patológicas, ya que la espermatogénesis constituye la base de la fertilidad masculina (4).

La glucosa procedente del líquido intersticial entra en las células de Sertoli a través de los transportadores de glucosa, principalmente GLUT1 y GLUT3, convirtiéndose en glucosa-6-fosfato, que a su vez se transforma en piruvato por la fosfofructoquinasa (PFK1). El piruvato puede ser:

- Transportado a la matriz mitocondrial para formar acetil-CoA
- Convertido en lactato por la lactato deshidrogenasa (LDH)
- Transformado en alanina por la alanina aminotransferasa (ALT)

Resulta imperativo que el lactato producto de la glucólisis en las células de Sertoli esté disponible para las células germinales en desarrollo, por lo que este se exporta al líquido

intratubular a través de *transportadores de monocarboxilato de membrana* (MCT) activos, fundamentalmente MCT4. De este modo las células germinales captan el lactato para la producción de ATP.

La cooperación metabólica que se establece entre las células de Sertoli y las células germinales en desarrollo depende en gran medida del funcionamiento de los transportadores GLUT y MCT. En varias condiciones patológicas, particularmente en enfermedades relacionadas con el metabolismo, juegan un papel crucial en el desarrollo de los efectos nocivos.

Existen diferentes proteínas de membrana que pueden transportar hexosas: De forma activa (transportadores de glucosa dependientes de sodio [SGLT]) o pasivamente (transportadores de glucosa [GLUT], mencionados anteriormente) a través de la bicapa lipídica. Las proteínas de la familia SGLT son transportadores activos de azúcares, particularmente de glucosa. Los GLUTs, son 13 proteínas de una familia que facilita el transporte de azúcares y muestra una peculiar distribución en diferentes tejidos, así como una particular afinidad por los sustratos. Los

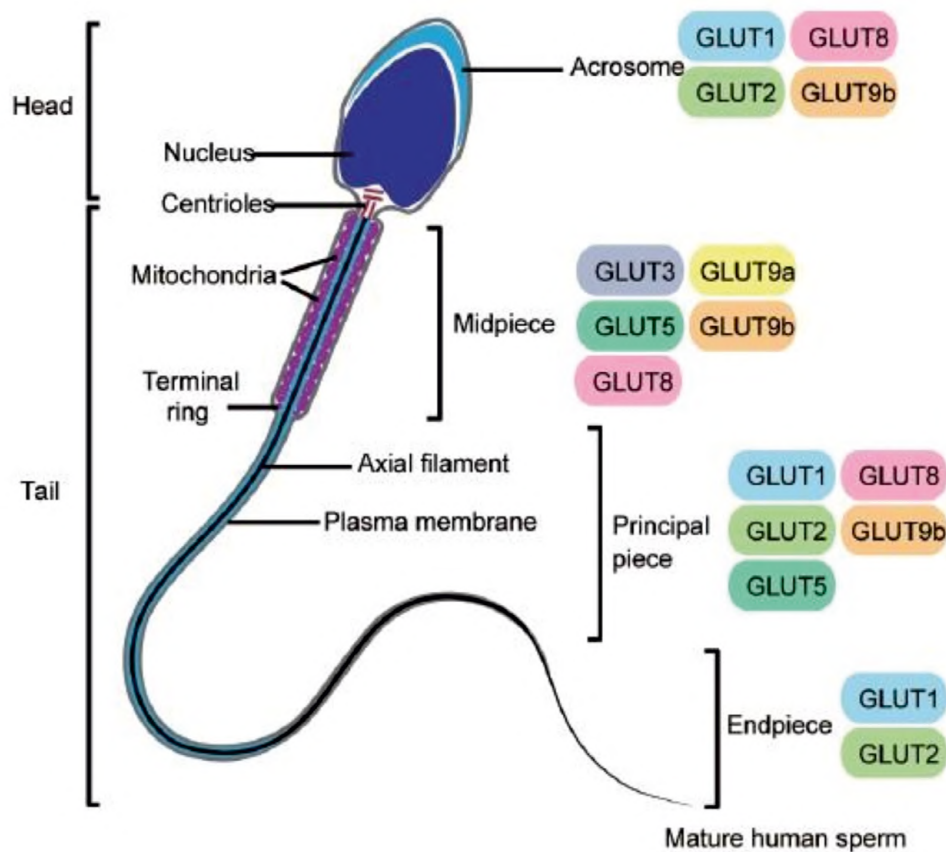


Figura 3. Localización de varias isoformas transportadoras de glucosa en las distintas partes del espermatozoide. (Ding GL, Liu Y, Liu ME et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian J Androl* [artículo de revista] 2013).

GLUT también pueden transportar otras hexosas (fructosa, manitol), vitaminas y aminoazúcares como la glucosamina. El transporte pasivo de glucosa a través de la BTB mediada por GLUT es un evento importante en la espermatogénesis, tal y como se describe en el punto anterior. Además, los GLUT también existen en los espermatozoides maduros que, de hecho, requieren portadores para la captación de fuentes energéticas que son importantes para mantener la actividad celular básica, así como funciones específicas como la motilidad y la capacidad de fertilización (14).

En los espermatozoides maduros, GLUT1 y GLUT2 se encuentran en la región acrosomal y en las piezas principal y terminal de la cola, mientras que GLUT3 se halla en la pieza intermedia. GLUT5 se encuentra en la región subecuatorial y las zonas media y principal, al igual que GLUT8, que se halla además en la región acrosomal. GLUT8 se localiza a nivel endosomal y lisosomal, y solo se transloca a la membrana plasmática en respuesta a la insulina en los blastocistos. Por lo tanto, solo podría transportar hexosas a través de endosomas y lisosomas intracelularmente. Al igual que el lisosoma, el acrosoma de los espermatozoides contiene proteínas lisosomales y pH bajo. GLUT8 podría desempeñar un papel en la reacción del acrosoma cuando el espermatozoide se une al ovocito. De hecho, los espermatozoides de ratones GLUT8^{-/-} han mostrado ATP disminuido y motilidad reducida en comparación con el tipo salvaje. Sin embargo, estos espermatozoides mantienen su capacidad de fertilización. Recientemente se ha identificado que GLUT9 tiene un alto grado de homología con GLUT5 que transporta fructosa y glucosa. GLUT9 tiene dos isoformas: Una forma larga que

contiene 12 dominios transmembrana (GLUT9a) y una forma corta sin dos dominios transmembrana (GLUT9b). Tanto GLUT9a como GLUT9b se expresan en la pieza intermedia, mientras que GLUT9b también se encuentra en el acrosoma y la región principal. Las dos isoformas también son transportadores de urato de alta capacidad. El ácido úrico inhibe la generación de peroxinitrito (ONOO⁻) en el espermatozoide y puede interactuar con otras ROS, como los radicales hidroxilo. Debido a que las ROS generadas por los espermatozoides están involucradas en la capacitación, además de la función de proporcionar sustratos de energía, GLUT9 puede regular el estado redox y la capacitación (14).

Los transportadores GLUT proporcionan a los espermatozoides flexibilidad para adaptarse a cambios en el entorno, requisitos metabólicos, etc. Sin embargo, condiciones patológicas como la diabetes pueden causar disfunción en el transporte de nutrientes, provocando una disminución de la fertilidad.

Se ha examinado la expresión de GLUT8 y GLUT9 en el semen y testículos de ratones diabéticos modificados genéticamente, concluyendo que los ratones que carecían de la proteína GLUT9 presentaban motilidad espermática y tasas de fertilización reducidas. Los autores atribuyeron a la falta de insulina o la hiperglucemia la alteración del transportador GLUT9, estableciendo que la insulina y la glucosa son importantes en los procesos de maduración, capacitación y fertilización. Además, cuando estos mismos ratones fueron tratados con insulina, la motilidad y la

concentración de los espermatozoides aumentaron, lo que sugiere que la insulina mejora la calidad espermática (14).

Por otro lado, se ha comprobado que la ingestión de té blanco por parte de animales prediabéticos podría mejorar las alteraciones metabólicas inducidas por la diabetes en tejidos testiculares y epididimales, preservando la calidad del espermatozoide.

La prediabetes aumenta los niveles de GLUT3 y disminuye la actividad de la LDH en los testículos, lo que resulta en un menor contenido de lactato. La ingestión de té blanco conduce a una adaptación metabólica para restaurar el contenido de lactato testicular. Asimismo, se ha descrito una mejoría de la motilidad espermática y restauración de la viabilidad de los espermatozoides. Por tanto, el consumo de té blanco constituye una estrategia coste-eficiente para mejorar la disfunción reproductiva inducida por la prediabetes (13).

METFORMINA EN EL METABOLISMO DE LAS CÉLULAS DE SERTOLI

La metformina constituye el fármaco de elección para el tratamiento de pacientes con DM2. Se trata de una biguanida oral que sensibiliza a la insulina y actúa sobre la eyección hepática bloqueando la gluconeogénesis (33), aumenta la captación de glucosa en el músculo esquelético y reduce la absorción de glucosa en la mucosa intestinal. Aunque ya se utiliza en la mejora de la función reproductiva femenina, los efectos de la metformina en la reproducción masculina siguen siendo en gran parte desconocidos.

La metformina es un fármaco implicado en la homeostasis metabólica y se ha demostrado que el metabolismo de las células de Sertoli es esencial para la espermatogénesis. Se ha descrito que la exposición a una concentración mínima de este fármaco reduce significativamente los niveles de ARNm de los transportadores GLUT1 y GLUT3 en las células de Sertoli. Pese a esto, dichas células son capaces de mantener el consumo de glucosa al aumentar su actividad, lo que sugiere que este fármaco tiene la capacidad de aumentar la actividad funcional de los transportadores de glucosa.

Tal y como se ha expuesto anteriormente, una vez que la glucosa ingresa a las células de Sertoli sigue la vía glucolítica. Es bien sabido que PFK1 es un punto de control limitante de la velocidad de la glucólisis. Se ha descrito una reducción de los niveles de proteína y ARNm de PFK1 en las células de Sertoli expuestas a metformina 5 y 50 μ M. Mientras que en las células de Sertoli expuestas a una concentración suprafarmacológica de este fármaco, se ha objetivado un aumento de los niveles de ARNm de PFK1 junto a un descenso del nivel de proteína. Estos hallazgos sugieren una posible inhibición de la vía glucolítica.

Sin embargo, no se han encontrado diferencias en los niveles de LDH entre las células tratadas con metformina y las no tratadas, mientras que la actividad de LDH aumenta de forma significativa en las células expuestas a todas las concentraciones de metformina. El incremento de la actividad de la enzima LDH se asocia a menudo con la estimulación del flujo glucolítico. Estos resultados ratifican la evidencia de que la metformina, nuevamente, estimula las activida-

des enzimáticas de las enzimas relacionadas con la glucólisis sin modificar su expresión proteica (5).

Además, las células de Sertoli también son responsables de generar cofactores esenciales y otros metabolitos como el acetato. Informes de investigaciones recientes muestran que tan solo unas horas de déficit insulínico pueden alterar el metabolismo de la glucosa en los espermatozoides y suprimir por completo la producción de acetato *in vitro* (33). Se ha observado que la producción de acetato no se ve afectada por el tratamiento con metformina, salvo cuando las células son expuestas a concentraciones mínimas de fármaco. Aunque son varios los estudios que han informado acerca de la relación entre el metabolismo del acetato y la glucosa, sosteniendo una posible conversión entre el metabolismo del acetato y la glucosa a través de acetil-CoA, se ha llegado a la conclusión de que concentraciones farmacológicas de metformina solo inducen cambios importantes en el metabolismo de la glucosa sin alterar la producción de acetato. No obstante, las células de Sertoli expuestas a dosis mínimas de metformina muestran una disminución del consumo de glucosa y una mayor producción de acetato sin efectos sobre la producción de lactato. Esto sugiere un papel para los sustratos endógenos y merece especial atención porque se ha descrito que las células de Sertoli poseen actividad de glucógeno y glucógeno fosforilasa.

Por otro lado, se ha demostrado un marcado efecto de la metformina en el estrés oxidativo. De hecho, células de Sertoli tratadas con metformina ven aumentada su producción de lactato, así como el flujo glucolítico general. La maquinaria celular de detección de glucosa y el metabolismo del lactato están estrechamente relacionados con la producción de especies reactivas de oxígeno.

El aumento en la producción de lactato inducida por la exposición a concentraciones más altas de metformina es seguida por la producción de alanina, lo que conduce al mantenimiento de la relación lactato/alanina. Esta relación es un índice del estado redox celular, ya que la conversión de piruvato o su conversión en alanina está acoplada a la reoxidación de NADH a NAD⁺. En consecuencia, la estimulación de la producción de alanina, al menos en células de Sertoli cultivadas en ratas, constituye un mecanismo por el cual la exposición a una concentración farmacológica de metformina (50 μ M) ejerce su actividad antioxidante. Curiosamente, incluso cuando las células se expusieron a metformina 5 μ M, se produjo una estimulación en la producción de alanina y, por lo tanto, la relación lactato/alanina disminuyó significativamente, lo que indica niveles de estado redox más bajos en las células de Sertoli. Esto proporciona evidencia adicional de que la estimulación de la producción de alanina puede ser un mecanismo por el cual la metformina actúa para ejercer su actividad antioxidante.

La euglucemia es muy difícil de mantener en pacientes diabéticos. La hiperinsulinemia/hipoglucemia y la hipoglucemia/hiperinsulinemia son eventos comunes a los que se enfrentan diariamente los pacientes diabéticos. Por tanto, la insulina puede jugar un papel muy importante en la disfunción sexual masculina en aquellos que padecen DM. El papel de la insulina en los procesos vitales

Tabla 1. Análisis de semen y perfiles hormonales y metabólicos antes y después de la terapia con metformina. (Morgante G, Tosti C, Orvieto R et al. *Metformin improves semen characteristics of oligo-terato-asthenozoospermic men with metabolic syndrome. Fertil Steril* [artículo de revista] 2011).

Análisis	Antes	Después	Valor p
Perfil hormonal			
LH (mUI/ml)	2,5±1,3	3,3±1,2	<0.1
FSH (mUI/ml)	3,4±1,2	3,5±1,1	NS
E2 (pg/ml)	32±5	21±3	<.01
SHBG (nmol/ml)	55±5	35±3	<.001
Testosterona libre (pg/ml)	33±11	47±13	<.001
Testosterona total (ng/ml)	2,8±1,2	3,7±1,4	<.02
Perfil metabólico			
IMC (kg/cm ²)	28,0±3,5	27,3±3,1	NS
Circunferencia cintura (cm)	107±4	105,3±3	NS
Triglicéridos	175±12	173,2±13	NS
HOMA	2,8±1,2	1,6±0,7	<.0001
Parámetros del semen			
Concentración (10 ⁶ /ml)	16,2±3,4	20±4,2	<.001
Motilidad (%)	39±8	51±7	<.001
Morfología normal (%)	25±3	30±2	<.001

para la espermatogénesis normal indica claramente que los mecanismos moleculares por los cuales la DM afecta la función reproductiva masculina también pueden estar asociados con las fluctuaciones de la insulina y las concentraciones de glucosa (33). Así pues, la desregulación de la insulina resulta perjudicial para el sistema reproductivo masculino, ya que modula el metabolismo de las células de Sertoli. De hecho, uno de los principales efectos asociados con la desregulación de la insulina es la inhibición de la producción de lactato. Se ha comprobado que concentraciones terapéuticas de metformina (50 μ M) pueden contrarrestar este efecto indeseable. Además, las células de Sertoli solo pueden soportar un número limitado de células germinales, e incluso en condiciones fisiológicas, un número significativo de células germinales muere por apoptosis. Asimismo, se ha descrito que el lactato inhibe la apoptosis de las células germinales en los testículos humanos de forma dosis dependiente, por lo que la infusión de lactato intratesticular mejora la espermatogénesis in vivo. De esta forma, el tratamiento con metformina a concentraciones terapéuticas (50 μ M), puede mejorar el potencial reproductivo masculino de los hombres diabéticos, a través del aumento en la producción de lactato y por ende la inhibición de la apoptosis de las células germinales (5).

Se ha evaluado la motilidad espermática, así como los cambios morfológicos de los espermatozoides asociados con la diabetes en hombres diabéticos dependientes de metformina e insulina. Los resultados de diversos estudios muestran que existe un aumento en el volumen seminal de pacientes con tratamiento insulínico, en comparación con aquellos tratados con metformina. Otros hallazgos incluyen la mejora de la morfología de los espermatozoides, que es

similar en ambos grupos terapéuticos. Por otro lado, se ha descrito una mejora significativa en la motilidad de los espermatozoides en los pacientes tratados con metformina en comparación con los pacientes diabéticos insulino-dependientes. Por tanto, la metformina podría desempeñar un papel mejor que la insulina en la mejora de la motilidad de los espermatozoides en la población masculina diabética.

Sin embargo, se ha visto que la insulina no solo afecta al volumen de semen, sino que también modifica el recuento de espermatozoides, aumentando significativamente en los pacientes tratados con insulina en comparación con los pacientes tratados con metformina (33).

Otro estudio realizado en hombres oligo-terato-asteno-zoospermicos con síndrome metabólico concluye que el tratamiento con metformina también se asocia a una reducción estadísticamente significativa de la resistencia a la insulina y de los niveles de *globulina transportadora de hormonas sexuales* (SHBG), así como a un aumento en los niveles de testosterona, ya que es bien sabido que los hombres con sobrepeso y obesidad tienen múltiples variaciones endocrinas, tales como niveles bajos de testosterona total y libre, y niveles altos de *estradiol* (E2) y SHBG. Esta reducción de los niveles de testosterona observados en hombres con síndrome metabólico o diabetes pueden atribuirse al nivel aumentado de SHBG o a una mayor retroalimentación negativa sobre las gonadotropinas por el aumento de E2. La normalización en los niveles de andrógenos séricos conlleva una mejora en las características del semen, viéndose restablecidas la concentración, motilidad total y morfología espermáticas. Sin embargo,

existen discrepancias respecto al incremento en los niveles de testosterona inducido por metformina, ya que algunos autores sostienen que este fármaco hipoglucemiante no afecta significativamente los niveles séricos de esta hormona (33).

Muchas plantas, frutas y bayas contienen altas concentraciones de ácido elágico. Este compuesto es conocido por sus numerosos beneficios, entre los que se hallan potencial antidiabético, antioxidante y antiinflamatorio, debido a sus características polifenólicas. Se ha visto que también mejora la estructura histopatológica de los testículos en ratas diabéticas. No obstante, se ha descrito que el ácido elágico carece de actividad antihiper glucémica en contraste con su nanoformulación, la cual mejora su biodisponibilidad y muestra una actividad hipoglucémica significativa comparable a la metformina. Del mismo modo, es la nanoformulación del ácido elágico la que presenta actividad antioxidante, a través de un aumento de los antioxidantes totales y disminución de la peroxidación lipídica.

El peso testicular y los cambios histopatológicos testiculares son los marcadores más sensibles de daño reproductivo masculino. Se ha descrito que tanto el ácido elágico, su nanoformulación y su combinación con metformina disminuyen el daño testicular inducido por la diabetes al reducir la pérdida de peso testicular y aumentar la relación testículo-peso corporal. La terapia de combinación tiene una actividad superior, por lo que ambos han de combinarse con metformina. Asimismo, ambos promueven la espermatogénesis.

Por tanto, se recomienda la administración de la nanoformulación de ácido elágico, tanto único, como combinado con metformina, en la protección de las complicaciones diabéticas reproductivas masculinas (30).

DIABETES Y SUBFERTILIDAD/INFERTILIDAD MASCULINA

En el manejo de las complicaciones crónicas ocasionadas por la DM juegan un papel importante las problemáticas andrológicas, las cuales requieren de una evaluación especializada combinada para contribuir de manera concreta a la mejora de la calidad de vida de dichos pacientes. La prevalencia de subfertilidad en pacientes diabéticos alcanza el 51%. Esto hace a la enfermedad diabética, tanto la DM1 como la DM2, responsable de la inducción de una serie de cambios que, aunque sutiles, resultan cruciales para la calidad y función espermáticas. La DM puede afectar la función reproductiva masculina en múltiples niveles como resultado de sus efectos sobre el control endocrino de la espermatogénesis, la espermatogénesis en sí misma o al afectar la erección del pene y la eyaculación.

La disfunción sexual masculina, por disminución de la libido o impotencia, se relaciona con la DM comprometiendo la salud reproductiva masculina y alterando el comportamiento sexual con consecuencias nefastas para la fertilidad masculina. También se relaciona la diabetes con la disfunción eréctil, la cual es bastante prevalente entre los individuos diabéticos. Si bien esta condición se ve influenciada por factores como la edad, la duración de la enfermedad y

el correcto control glucémico. Sin embargo, de todas las condiciones médicas comórbidas, la DM implica el mayor riesgo de disfunción eréctil y su aparición se asocia con una reducción de la calidad de vida y un aumento de los síntomas depresivos. No obstante, se requiere una exposición glucémica acumulada durante un largo período de tiempo antes de que la disfunción eréctil relacionada con la diabetes se vuelva clínicamente evidente.

La disfunción eréctil se define como la incapacidad de conseguir y/o mantener una erección satisfactoria. Su etiología puede ser diversa: Vascular, neurogénica, hormonal, anatómica, iatrogénica, psicológica, o una combinación de ellas. La prevalencia de esta condición en pacientes con DM oscila entre el 20 y el 85%, según el estudio analizado. Asimismo, la duración de la DM aumenta la posibilidad de desarrollar disfunción eréctil un 10% por año. La edad de aparición en este tipo de pacientes es de 10 a 15 años antes que en la población general. Para que se produzca una erección se requiere ON el cual activa una cascada molecular que produce la relajación del músculo liso y la afluencia de sangre arterial hacia el cuerpo cavernoso. A continuación, se produce la compresión del retorno venoso, gracias al cual se mantiene la erección. En condiciones fisiológicas, la insulina ejerce un efecto vasodilatador a través de la síntesis de ON en las células endoteliales al estimular la expresión y activación de la ON sintetasa (ONS). La resistencia a la insulina puede provocar disfunción eréctil a través de la disfunción endotelial generada en el cuerpo cavernoso. El descenso en la biodisponibilidad de ON se debe a la reducción de la expresión o la actividad de la ONS, o al aumento de la eliminación de ON. Así pues, esto induce una reactividad vascular disminuida dependiente del endotelio, junto a un aumento de endotelina-1 que es un predictor independiente de disfunción eréctil y, a su vez, marcador de disfunción endotelial. El principal predictor del éxito del tratamiento de la disfunción eréctil es la ausencia de complicaciones de la DM y un control glucémico adecuado (10). Aquellos pacientes con un mal control glucémico tienen un riesgo de sufrir disfunción eréctil de 2 a 5 veces mayor en comparación con aquellos con un buen control glucémico.

Se ha descrito cómo el uso de metformina recupera la expresión de la ONS en el endotelio vascular de ratas obesas; y un estudio llevado a cabo en Argentina ha descubierto la efectividad del tratamiento con sildenafil al adicionar metformina en pacientes con resistencia a la insulina y disfunción eréctil. Recientemente se ha señalado cómo tras el uso crónico de inhibidores de la enzima *fosfodiesterasa-5* (PDE5) se consigue mejorar el perfil de respuesta vascular, evaluada mediante *eco-doppler* (ECD) dinámica penénea. Los hombres con hipogonadismo no responden a la administración de inhibidores de la PDE5 desarrollan una mejora significativa de la función eréctil con la adición de testosterona. Sin embargo, los suplementos de esta hormona pueden causar eritrocitosis, exacerbación de apnea del sueño no tratada e hiperplasia prostática benigna. Así pues, los pacientes bajo tratamiento de reemplazo con testosterona, deben controlarse periódicamente el hematocrito, las transaminasas séricas y el PSA. La terapia sustitutiva con testosterona supone una mejora de las erecciones nocturnas, tumescencia y rigi-

dez, y erecciones espontáneas en hombres con deficiencia androgénica, así como varones con resistencia insulínica en tratamiento con metformina. Se ha comprobado que hombres con DM2 en tratamiento sustitutivo con testosterona ven reducidos los niveles de glucosa en ayunas, la glucemia postprandial y la concentración de *hemoglobina glicosilada* (HbA1c). Asimismo, los pacientes que reciben terapia insulínica, al adicionar testosterona, reducen la dosis de insulina en una media de 7 unidades (33).

También se ha detectado una disminución en la velocidad del flujo sanguíneo testicular de ratas diabéticas. Se cree que la disminución en la expresión del *factor de crecimiento endotelial vascular* (VEGF) conduce al deterioro de la función de las células endoteliales vasculares, y la alteración de la microcirculación conduce a cambios morfológicos y estructurales testiculares (18).

Asimismo, en algunos pacientes diabéticos se produce una condición conocida como eyaculación retrógrada, consistente en el paso anormal del eyaculado hacia la vejiga después del orgasmo. Este suele ser un síntoma tardío de la enfermedad, y está asociado con la disfunción del mecanismo del esfínter uretral interno, la cual puede estar causada por neuropatía autonómica diabética, por lo que la función del esfínter uretral frecuentemente se ve afectada debido a la pérdida de inervación (10).

Durante la eyaculación normal, el esfínter uretral interno se contrae bajo el control simpático adrenérgico α_1 , lo que hace que el cuello de la vejiga se cierre con presión alta. La eyaculación luego sigue el camino de menor resistencia, pasando así anterógrado. La interferencia con este reflejo eyaculatorio da como resultado que el cuello de la vejiga no pueda cerrarse a alta presión y, por tanto, da como resultado una vía de baja presión para que la eyaculación pase a la vejiga.

La DM puede causar la complicación microvascular de la neuropatía, incluida la neuropatía autonómica, la cual afecta las fibras simpáticas que surgen del plexo hipogástrico superior, que normalmente median la contracción del esfínter uretral interno durante la eyaculación. El daño a estos nervios simpáticos durante la cirugía pélvica o espinal también puede causar eyaculación retrógrada. Las manifestaciones de la neuropatía diabética en la función eyaculatoria varían, pero en la mayoría de los casos se presenta como eyaculación retrógrada secundaria a un cierre incompleto del cuello vesical. Los casos más severos de neuropatía diabética se asocian a la ausencia de peristalsis de los conductos y vesículas seminales, que provocan la falta de emisión seminal (10).

Asimismo, algunos fármacos como los antagonistas simpáticos (particularmente los antagonistas α) también pueden contribuir a la eyaculación retrógrada.

Los pacientes pueden presentar orina turbia tras del orgasmo y el diagnóstico se confirma por la presencia de espermatozoides en una muestra de orina post-eyaculatoria. La eyaculación retrógrada puede ser parcial (con un volumen de eyaculado disminuido) o completa (con ausencia de eyaculado después del orgasmo).

Se estima que la prevalencia de la eyaculación retrógrada es de aproximadamente el 34 % en hombres diabéticos de edades comprendidas entre 35 y 55 años, aunque otros estudios de hombres jóvenes diabéticos han estimado que esta condición está presente en solo el 6% de los pacientes. Si bien, no existen estudios que comparen las tasas de eyaculación. Además, la DM puede causar subfertilidad o infertilidad masculina al alterar algunos mecanismos importantes, induciendo una producción anormal de espermatozoides y/o trastornos en la función reproductiva. Se han descrito alteraciones histológicas en biopsias testiculares de hombres diabéticos a nivel de los capilares testiculares y el endotelio linfático, los cuales presentaban alteraciones debido a una expansión de la matriz intersticial, que puede deberse a complicaciones microvasculares, frecuentes en la enfermedad diabética. Asimismo, se han detectado pequeñas lesiones en el citoplasma de las células de Sertoli asociadas a disrupción espermatogénica. Por otro lado, el aumento del grosor de la pared de vasos sanguíneos pequeños podría provocar daño celular inducido por hipoxia.

Estudios llevados a cabo en ratas diabéticas enumeran una serie de alteraciones a nivel testicular, entre las que se encuentran reducción del diámetro de los túbulos seminíferos, aumento del número de túbulos testiculares vacíos y aumento de la densidad vascular, limitado pudiendo esta última estar relacionada con el incremento de la temperatura escrotal y la consiguiente apoptosis de células germinales (5).

Se ha observado una falta de contracción fisiológica de la porción craneal y caudal del epidídimo después de la eyaculación en pacientes con DM1. Generalmente, el grosor del epidídimo por ultrasonido disminuye aproximadamente 3 mm después de la eyaculación, tal y como ocurre en pacientes con DM1 con una duración de la enfermedad inferior a 10 años. Sin embargo, esta disminución no se produce en pacientes diabéticos durante más de 10 años, lo que sugiere un estado de atonía/hipotonía de estas estructuras anatómicas, poco estudiado en pacientes con DM1. Los tractos craneal y caudal del epidídimo se caracterizan por un peristaltismo espontáneo que también puede transportar espermatozoides inmóviles. La porción caudal del epidídimo tiene una rica inervación adrenérgica, que se activa durante la eyaculación. La denervación adrenérgica no elimina la contractilidad del epidídimo. Esto sugiere que la contractilidad está mediada por un mecanismo neuronal y otros factores hormonales (oxitocina y endotelina 1) y no hormonales, que pueden alterar la función contráctil del epidídimo (11).

CALIDAD ESPERMÁTICA EN EL PACIENTE DIABÉTICO

Junto a la historia reproductiva, el análisis de la calidad seminal es el paso principal en la evaluación de la infertilidad masculina. Este análisis incluye la determinación del volumen, pH, viscosidad y apariencia del eyaculado, así como recuento, motilidad, vitalidad y morfología de los espermatozoides, cuyos valores se comparan con los valores de referencia establecidos por el manual de la-

boratorio de la OMS para el examen y procesamiento de semen humano (9). No obstante, aunque estos valores de normalidad son ampliamente utilizados, existe una gran controversia en cuanto al valor de los umbrales "normales" recomendados, ya que un hombre con un análisis de semen aparentemente normal aún puede ser subfértil. Además, con el tiempo se producen grandes variaciones intraindividuales.

Sin embargo, en más del 30% de los casos, el análisis de semen convencional tiene un valor limitado en la determinación del estado de fertilidad, a excepción de alteraciones graves, como oligoastenoteratozoospermia o azoospermia.

Existen otras pruebas diagnósticas para el estudio de los trastornos de la fertilidad masculina, pero no se utilizan de forma rutinaria en la práctica clínica. Estas pruebas tienen como objetivo determinar la aptitud de los espermatozoides para someterse a la capacitación, el estado del acrosoma, la integridad de la membrana, la interacción con el ovocito, la actividad mitocondrial, la integridad del ADN, etc.

DIABETES Y ADN ESPERMÁTICO

Debido a las limitaciones del análisis de semen convencional, se ha reconocido la necesidad de introducir la evaluación de la calidad del ADN espermático como biomarcador molecular del potencial de fertilidad en el entorno clínico. Esta prueba de "integridad genética" ofrece información adicional sobre la calidad del espermatozoide, permitiendo identificar alteraciones no identificables en un análisis de semen básico. Numerosos informes han demostrado un aumento en el daño del ADN espermático en hombres infértiles, siendo el daño de naturaleza oxidativa. Se sabe que el daño del ADN espermático está asociado con la disminución de la calidad del embrión, las tasas de implantación más bajas y, posiblemente, la aparición temprana de algunas enfermedades infantiles (14). Además, se ha demostrado que el ADN del espermatozoide predice el tiempo necesario para lograr un embarazo.

Así pues, los espermatozoides de varones diabéticos tienen defectos estructurales consistentes en fragmentación del ADN nuclear y mitocondrial, baja motilidad y reducción de la capacidad de fijación a la zona pelúcida del ovocito. Se ha descrito que cambios en la expresión de los genes involucrados en la reparación y replicación del ADN se encuentran estrechamente relacionados con los aumentos en la fragmentación del ADN espermático observados en hombres diabéticos.

Son numerosos los factores que inducen estrés oxidativo. Una de ellas es la producción de ROS. La hiperglucemia parece tener un papel fundamental en las complicaciones diabéticas debido a la producción excesiva de ROS. Además, se atribuye a los espermatozoides y leucocitos inmaduros la mayor producción de ROS endógenos en muestras de semen de pacientes diabéticos (31).

La hiperglucemia prolongada induce la glicación no enzimática de proteínas a través de la reacción de Maillard, lo que da como resultado productos de base de Schiff y productos de Amadori que generan la producción de ROS. Estas ROS se producen a través de la fosforilación oxidativa,

la *nicotinamida adenina dinucleótido fosfato* (NADPH) oxidasa, la xantina oxidasa y las reacciones de la monooxigenasa del citocromo P450, el desacoplamiento de las lipoxigenasas y la autooxidación de la glucosa. Una vez formadas, las ROS agotan los sistemas de defensa antioxidantes, lo que hace que las células y los tejidos afectados sean más susceptibles al daño oxidativo. Los lípidos, el ADN y las proteínas son los objetivos celulares de la oxidación, lo que conduce a cambios en la estructura y función celular. El daño celular se puede ver en varios órganos, incluido el testículo, constituyendo un factor importante en la patogenia de la DM y sus complicaciones (3).

Pese a que se ha demostrado que los diabéticos al igual que los hombres infértiles, los adolescentes con varicocele, hombres mayores de 45 años y fumadores de cigarrillos, los parámetros del semen dentro del rango normal de la OMS no excluyen un daño significativo subyacente al ADN nuclear (ADNn) (22), la fragmentación del ADN aún no ha ganado popularidad clínica al tratarse de técnicas laboriosas que consumen mucho tiempo, además de ser relativamente caras. Asimismo, aún no se han establecido valores clínicos para muchas de ellas.

El daño al ADN espermático no excluye necesariamente la fertilización; si bien, el ovocito tiene una capacidad limitada para reparar el ADN espermático dañado y cuando la fragmentación supera este umbral puede resultar en mayores tasas de fallo embrionario e interrupción del embarazo.

Varios estudios reportan que en pacientes diabéticos tipo 1, la expresión de los genes implicados en la respuesta al estrés, el metabolismo del ADN, así como los mecanismos de replicación/reparación del mismo, presentan alteraciones fundamentalmente por su asociación con ROS, glicación y productos finales de glicación avanzada (AGE).

Los AGE están implicados en un número cada vez mayor de complicaciones diabéticas que resultan del daño oxidativo debido a la generación de ROS. También se han implicado en el deterioro de la relajación neurogénica y dependiente del endotelio del cuerpo cavernoso (56). Formados en los grupos amino de proteínas, lípidos y ADN a través de una serie de vías intrincadas, estos complejos compuestos heterogéneos son parte del proceso normal de envejecimiento y son producidos e introducidos en el organismo a través de la dieta, tabaquismo, etc.

Los AGE son capaces de dañar el ADN ya sea directamente o mediante la generación de ROS a través de la activación del *receptor para AGE* (RAGE). RAGE es un miembro de la superfamilia IgG y es un receptor multiligando con una alta afinidad por, entre otras, varias proteínas modificadas por AGE. La unión de AGE a RAGE en muchos tipos celulares provoca una variedad de respuestas fisiopatológicas vinculadas a la activación posterior de NFκB y otras vías de señalización que conducen a la generación de ROS y ciertas respuestas proinflamatorias. Se ha demostrado que la supresión de la unión del ligando RAGE usando RAGE soluble o anticuerpos neutralizantes previene varios eventos patológicos en una variedad de células. Por tanto, RAGE ejerce una función clave en muchas de las complicaciones diabéticas.

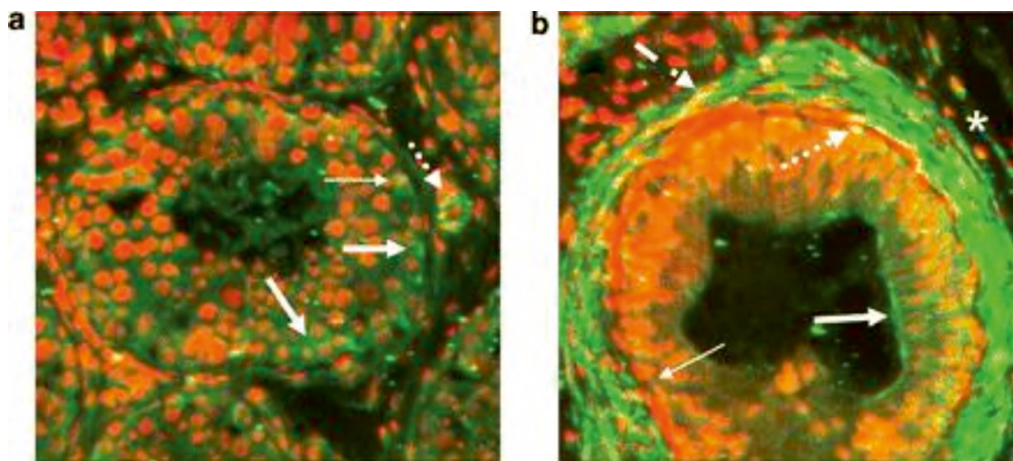


Figura 4. Distribución inmunohistoquímica de RAGE en testículo y epidídimo. (Tomado de Mallidis C, Agbaje I, Rogers D et al). Distribution of the receptor for advanced glycation end products in the human male reproductive tract: Prevalence in men with diabetes mellitus. Hum Reprod [artículo de revista] 2007).

Por otro lado, la edad puede influir en el proceso de glicación y el aumento de las ROS, induciendo la disfunción del sistema reproductivo. Recientemente, se ha demostrado que el epidídimo es un potencial objetivo del estrés oxidativo en varones diabéticos, y que estos pacientes muestran niveles más altos de proteínas RAGE y fragmentación de ADN en el espermatozoides. Un estudio comparativo entre pacientes diabéticos y varones sanos en el que se llevó a cabo un análisis semicuantitativo de la inmunotinción de espermatozoides para la identificación de RAGE, reveló que la mayoría de espermatozoides (>60%) en muestras de hombres diabéticos (independientemente del tipo) mostraban la presencia de RAGE, una proporción aproximadamente tres veces superior a la observada en muestras de hombres no diabéticos ($p < 0,01$) (22). La correlación entre los niveles de RAGE y la fragmentación del ADN nuclear en los espermatozoides ratifica el papel central de RAGE en las alteraciones de la función sexual de los hombres diabéticos. La activación de RAGE aumenta la producción de ROS y, a su vez, el alto nivel de ROS induce la fragmentación del ADN. Asimismo, las alteraciones en el ADN mitocondrial en la diabetes son responsables de cambios adversos en la motilidad de los espermatozoides. Estos son hallazgos importantes desde una perspectiva clínica para pacientes diabéticos que asisten a clínicas de infertilidad, ya que medidas terapéuticas adecuadas para el control de la diabetes pueden revertir estos cambios y aumentar así la probabilidad de embarazo.

Fisiológicamente, RAGE existe en un estado de activación basal provocado por la unión del ligando RAGE pero, en situaciones patológicas como la diabetes, el aumento en su expresión induce el daño tisular y previene la restauración de la homeostasis.

Se ha evaluado la presencia de RAGE en el tracto reproductivo masculino y comparado los niveles del mismo entre el semen de hombres con DM1 vs el semen de hombres sanos. Los resultados revelaron un patrón de tinción uniforme en el citoplasma de todos los tipos de células presentes en el epitelio seminífero, células peritubulares y los constituyentes del intersticio (Figura 4a). Las secciones de los conductos eferentes/región caput del epidídimo mostraron varios grados de inmunorreactividad RAGE (Figura 4b).

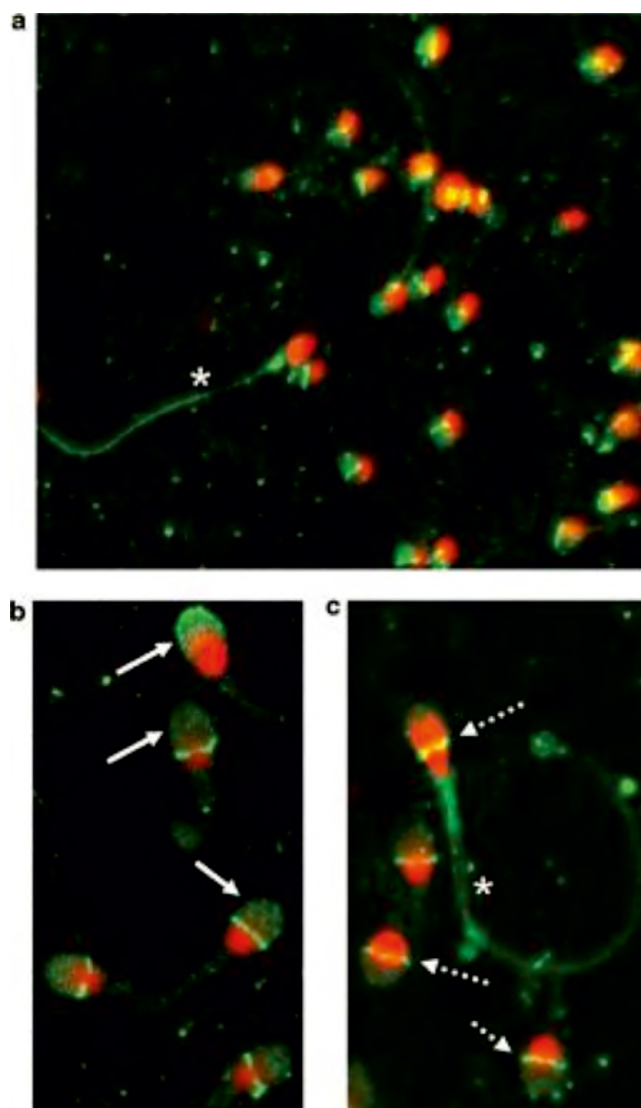


Figura 5. Distribución inmunohistoquímica de RAGE en espermatozoides. (Tomado de Mallidis C, Agbaje I, Rogers D et al). Distribution of the receptor for advanced glycation end products in the human male reproductive tract: Prevalence in men with diabetes mellitus. Hum Reprod [artículo de revista] 2007).

En cuanto a la distribución de RAGE en los espermatozoides, se detectó inmunorreactividad en una gran cantidad

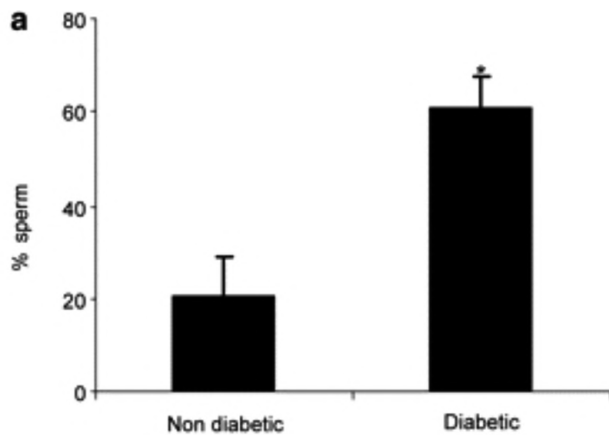


Figura 6. Comparación del porcentaje de espermatozoides inmunorreactivos encontrados en muestras de semen de hombres sanos vs varones diabéticos (Tomado de Mallidis C, Agbaje I, Rogers D et al). *Distribution of the receptor for advanced glycation end products in the human male reproductive tract: Prevalence in men with diabetes mellitus. Hum Reprod [artículo de revista] 2007).*

de ellos, principalmente en la región de la cabeza (Figura 5a). En particular, era prominente una apariencia de tinción moteada que se extendía desde la sección media de la cabeza hasta el borde mismo del espermatozoide, aproximándose a la extensión del casquete acrosomal (Figura 5b). Una banda ecuatorial justo debajo del acrosoma también se tiñó muy intensamente y se delineó claramente (Figura 5c)

en la mayoría de los espermatozoides inmunoreactivos, independientemente de su morfología.

Resulta llamativa la especificidad de la expresión de RAGE por el capuchón acrosomal y la región ecuatorial de la cabeza del espermatozoide, independientemente del tipo de DM. Es la región acrosómica la que sufre una serie de modificaciones durante la maduración del epidídimo, constituyendo un punto de acceso directo al ADNn subyacente y, en consecuencia, un sitio potencialmente dañable por RAGE. Más allá de su capacidad para inducir la activación de una cascada oxidativa, los AGE y RAGE también pueden facilitar el ataque de las ROS producidas por otros mecanismos, como leucocitos, al debilitar la membrana plasmática que encapsula y protege el genoma. La presencia de RAGE en esta región vulnerable de los espermatozoides también abre la posibilidad de que el daño en el ADNn no solo sea el resultado del ataque oxidativo, sino que también pueda deberse a la desestabilización o fragmentación del ADN por un proceso mediado por RAGE o una modificación de AGE de proteínas nucleares, que a su vez debilita la integridad del empaquetamiento del ADNn, lo que conduce a roturas de cadenas.

Se han detectado niveles significativamente superiores (2.2 veces) de proteína RAGE mediante ELISA tanto en el espermato (p < 0,0001) como en el plasma seminal (p < 0,0001) de hombres diabéticos en comparación con los hallados en muestras de hombres no diabéticos (22).

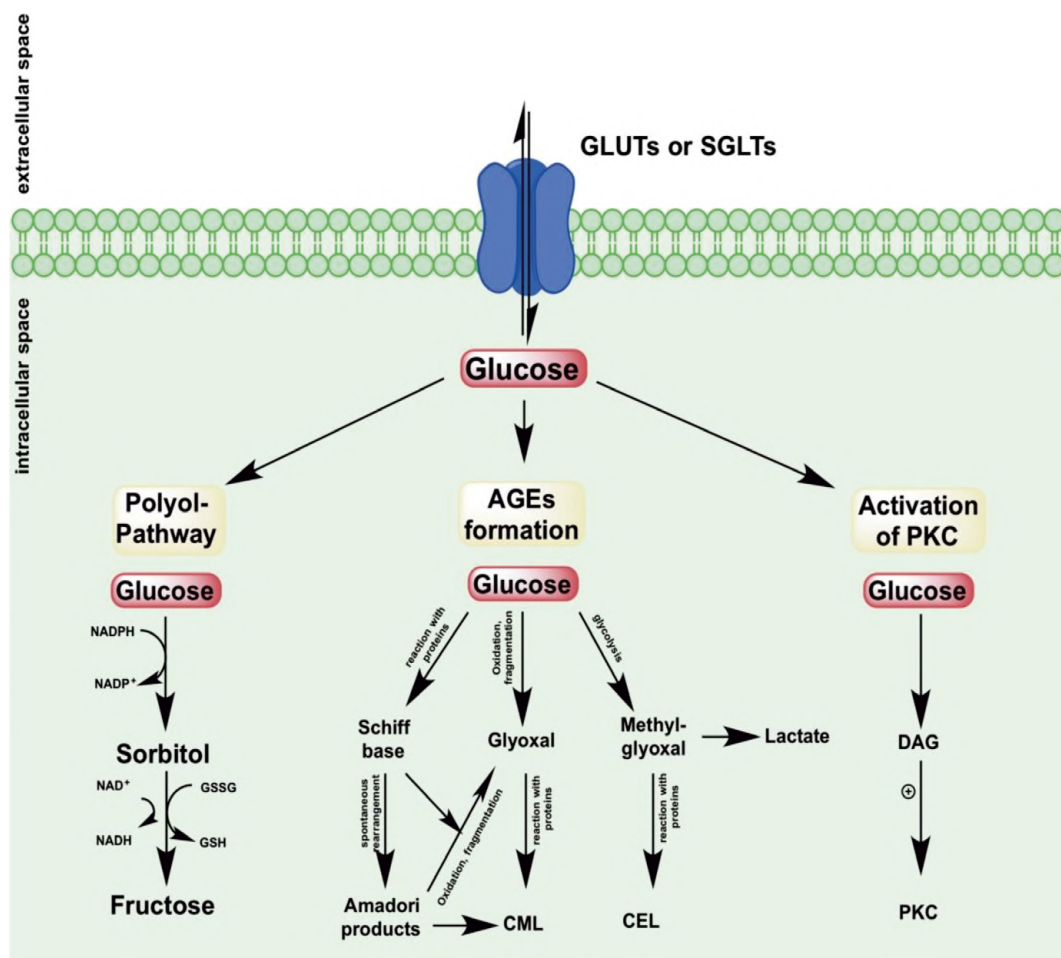


Figura 7. Vías del metabolismo de la glucosa asociadas con daño inducido por hiperglucemia (Tomado de Maresch CC, Stute DC, Alves MG et al. *Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: A systematic review. Hum Reprod Update [artículo de revista] 2018).*

La presencia de RAGE en el citoplasma de las células principales del epidídimo, un órgano conocido por sus capacidades fagocíticas y de absorción, es sugestivo de que la presencia de estos receptores en el sitio de acumulación de AGE refuerza las defensas contra el daño instigado por AGE. Esto es especialmente probable ya que la región apical ciliada parece expresar niveles más altos del receptor. Sin embargo, a diferencia de otros sitios a los que se unen los AGE y que sí participan en su eliminación y desintoxicación (lactoferrina, receptores depuradores I y II, oligosacriltransferasa-48, fosfoproteína 80 KH, galectina 3 y CD36), RAGE tiene función opuesta. Es decir, no acelera ni contribuye a la eliminación o degradación de los AGE. De hecho, activa una serie de cascadas de transducción de señales que amplifican los efectos dañinos de los AGE. Por tanto, es más probable que, como en otros órganos, en el epidídimo RAGE contribuya a la propagación y/o el mantenimiento de un entorno potencialmente hostil, o medie en él. Esto es de particular interés cuando se considera que los espermatozoides pasan una cantidad sustancial de tiempo en el epidídimo, donde son particularmente vulnerables al ataque oxidativo, ya que se cree que el epidídimo es el sitio principal del daño inducido por ROS al ADNn (22).

La etiología del daño del ADN espermático es multifactorial, incluyendo:

- Empaquetamiento deficiente de cromatina.
- Apoptosis. Se trata de un proceso autónomo de muerte celular programada inducido bajo condiciones especí-

ficas. Los niveles elevados de ROS pueden causar una pérdida transitoria del potencial de la membrana mitocondrial y formar poros mitocondriales en la membrana interna a través de los cuales tiene lugar la salida del citocromo c, el cual es capaz de activar el complejo apoptosoma, seguido de la activación de caspasas ejecutoras, exposición de fosfatidilserina en la cara externa de la membrana plasmática y, en última instancia, la muerte celular (2). El potencial de membrana es un indicador importante del estado energético mitocondrial responsable de la producción de ATP y, por lo tanto, del movimiento del flagelo de los espermatozoides. Así pues, es el parámetro que mejor refleja la función mitocondrial y la motilidad espermática. Se ha demostrado una asociación entre la disminución de la motilidad progresiva de los espermatozoides y un aumento en el porcentaje de espermatozoides con bajo potencial de membrana mitocondrial (11).

- Contaminantes ambientales
- Aumento del estrés oxidativo. Un estudio realizado en hombres normozoospermicos con DM2 y hombres no diabéticos detectó niveles más altos de malondialdehído, un marcador de estrés oxidativo, en pacientes diabéticos. Esto fue consistente con una menor concentración de espermatozoides, motilidad y morfología normal en este grupo en comparación con los hombres no diabéticos (24). Y es que los espermatozoides son particularmente vulnerables al daño causado por niveles excesivos de estrés oxidativo, debido a su alto

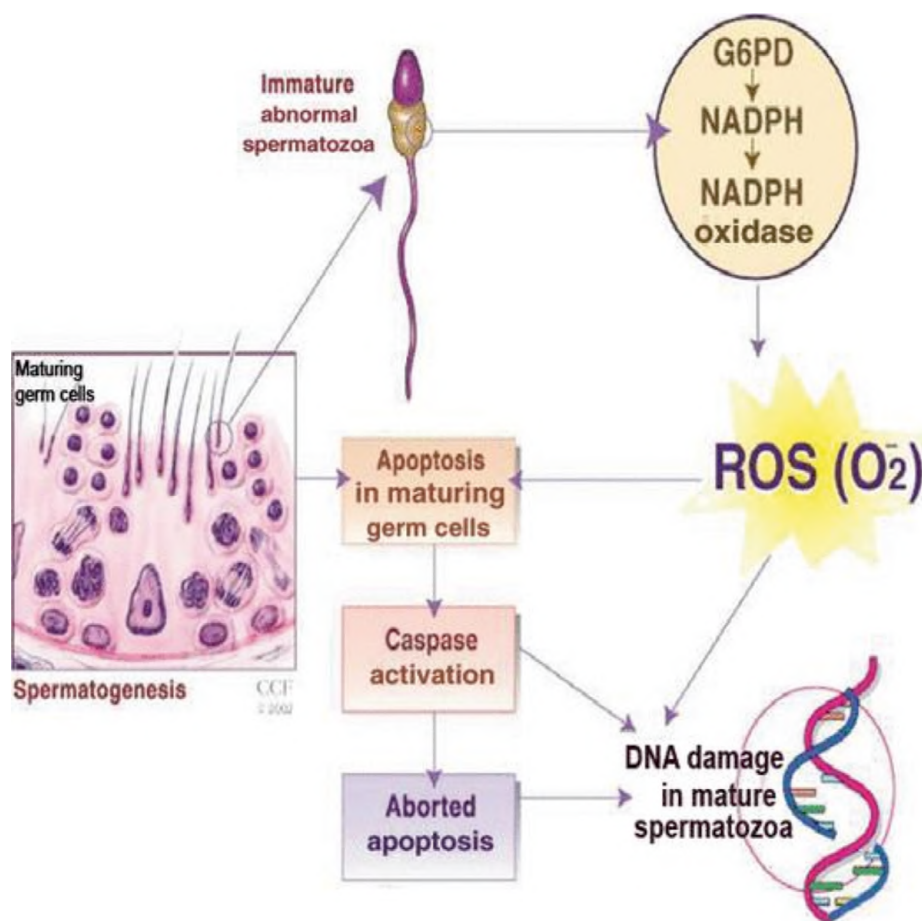


Figura 8. Mecanismos inductores de daño en el ADN espermático (Tomado de Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol* [artículo de revista] 2008).

contenido de ácidos grasos insaturados y a su relativa falta de protección antioxidante citosólica. Los enfoques terapéuticos dirigidos a la reducción del estrés oxidativo en los testículos pueden ser efectivos para mejorar las complicaciones de infertilidad relacionadas con la diabetes (7). Presentes en altas concentraciones en el semen, las poliaminas (espermina, espermidina y putrescina) presentan acción antioxidante, son potentes agentes antiglicantes y protegen contra modificaciones estructurales/funcionales de AGE. Se ha descrito que la cantidad de espermatozoides que muestran agentes antioxidantes es notablemente inferior en pacientes diabéticos que en varones sanos (14). La disminución de la eficiencia de las defensas antioxidantes es un proceso que comienza muy temprano y empeora durante el curso de la enfermedad. Además, se ha observado una mayor concentración del radical libre anión superóxido mitocondrial en pacientes con DM2 que en pacientes con DM1. De hecho, la lipoperoxidación solo aumenta en pacientes con DM2, especialmente en relación con la mayor concentración de leucocitos en líquido seminal de este grupo de pacientes. Por tanto, en pacientes afectados de DM2 el aumento tanto del anión superóxido mitocondrial como de la lipoperoxidación, contribuyen a disminuir el potencial de membrana mitocondrial y, en consecuencia, son responsables de una mayor disminución de la motilidad espermática que en individuos con DM1 (11).

Existen pocos estudios que evalúen la asociación entre la generación de ROS y las hormonas relacionadas con el estrés en los problemas de fertilidad. Algunos sostienen que tras la generación de ROS tiene lugar la activación del eje hipotalámico-hipofisario, liberándose cortisol en respuesta al estrés. Se han encontrado niveles más altos de cortisol en hombres diabéticos en comparación con varones sanos. Además, se ha descrito una correlación estadísticamente significativa entre el cortisol y la testosterona, de forma que el incremento en los niveles de cortisol induce la inhibición de la síntesis de testosterona. El cortisol, a través de la interacción entre los ejes *hipotálamo-pituitario-gonadal* (HPG) e *hipotálamo-pituitario-adrenal* (HPA), así como la reducción de los niveles de testosterona en respuesta a cantidades excesivas de ROS, podría producir la alteración de los parámetros espermáticos.

PREDIABETES Y ESTRÉS OXIDATIVO

La prediabetes constituye un factor de riesgo importante para el desarrollo de DM2 y se acompaña de niveles elevados de glucosa en sangre, aunque no suficientes para cumplir los criterios de diabetes establecida. Se caracteriza por *alteración de la glucosa en ayunas* (IFG) y/o *alteración de la tolerancia a la glucosa* (IGT), y su prevalencia está aumentando entre los jóvenes. Cada año, alrededor del 5 al 10% de las personas prediabéticas evolucionan a diabetes.

La prediabetes induce cambios metabólicos a nivel testicular. El *coactivador 1 α del receptor γ activado por proliferador de peroxisomas* (PGC-1α) y la sirtuina 3 (Sirt3) son fundamentales en la función mitocondrial. Parece ser que la prediabetes interrumpe el eje testicular PGC-1α/Sirt3, comprometiendo la función mitocondrial testicular.

Las mitocondrias son orgánulos celulares fundamentales para el correcto funcionamiento espermático. PGC-1α es miembro de una pequeña familia de reguladores transcripcionales, cuya función es regular la expresión de genes implicados en la homeostasis energética, la biogénesis mitocondrial, la oxidación de ácidos grasos y el metabolismo de la glucosa. PGC-1α induce la expresión de los *factores respiratorios nucleares 1 y 2* (NRF-1 y NRF-2), que actúan sobre los genes nucleares que codifican subunidades del sistema de *fosforilación oxidativa* (OXPHOS). El *factor de transcripción mitocondrial A* (TFAM) constituye una diana corriente abajo tanto de NRF-1 como de NRF-2 que activa la transcripción a través de la unión específica de secuencia en los promotores mitocondriales. El gen TFAM presenta sitios de unión por consenso tanto para NRF-1 como para NRF-2, lo que proporciona un mecanismo único para que la célula integre la expresión de proteínas codificadas por ADN nuclear con la transcripción de genes codificados por *ADN mitocondrial* (ADNmt). De este modo, PGC-1α es fundamental para la función mitocondrial, así como para la expresión de proteínas mitocondriales clave, como Sirt3. Sirt3 es un miembro de la familia de sirtuinas de histonas de clase III dependientes de NAD⁺ desacetilasas y/o ADP-ribosiltransferasas que median las respuestas adaptativas a una variedad de estímulos. Entre los siete miembros de la familia de las sirtuinas, Sirt3 es particularmente importante en relación con la función mitocondrial, ya que esta proteína se localiza preferentemente en las mitocondrias. De manera similar a PGC-1α, Sirt3 promueve la reprogramación metabólica mediante la activación de enzimas implicadas en el catabolismo de sustratos mitocondriales. Sirt3 modula la homeostasis energética mitocondrial al regular la generación de ATP a partir de OXPHOS e interacciona con los complejos enzimáticos integrantes de la cadena de transporte de electrones, lo que aumenta la actividad de los complejos y contribuye a un flujo de electrones eficiente. PGC-1α y Sirt3 actúan sinérgicamente para mantener activos la biogénesis mitocondrial, OXPHOS y un sistema de defensa ROS.

Se han encontrado niveles significativamente disminuidos tanto de PGC-1α como de Sirt3 en animales a los que se indujo la condición de prediabetes, al someterlos a una dieta altamente energética. Esta reducción en los niveles de PGC-1α puede resultar perjudicial para la fisiología mitocondrial testicular, particularmente porque su descenso implica la disminución de Sirt3, y es que PGC-1α funciona como un activador aguas arriba de la expresión del gen Sirt3 en células musculares y hepatocitos, lo que tiene un efecto estimulador sobre el promotor de Sirt3. Por ende, la expresión reducida de PGC-1α compromete el mecanismo de expresión de Sirt3, disminuyendo así el contenido testicular de esta sirtuina. Es conocido que niveles reducidos de PGC-1α y Sirt3 producen la activación de la vía reguladora del estrés oxidativo. Concretamente, PGC-1α actúa como supresor de ROS al aumentar la expresión de enzimas desintoxicantes, como glutatión peroxidasa 1 y superóxido dismutasa 2 (SOD2), mientras que Sirt3 induce la expresión de defensas antioxidantes, mediando así los efectos de PGC-1α en los niveles de ROS. Esto demuestra el papel sinérgico ejercido por PGC-1α y Sirt3 en el control del estrés oxidativo.

También se han detectado mayores concentraciones de carbonilo y especies reactivas de ácido tiobarbitúrico, un subproducto de la peroxidación lipídica, en testículos de ratas prediabéticas. Esto sugiere una mayor susceptibilidad testicular a la oxidación asociada al estado de prediabetes. Los niveles reducidos de Sirt3 contribuyen a esto, ya que los animales knockout para Sirt3 presentan niveles más altos de peroxidación lipídica hepática y neuronal y carbonilación de proteínas.

Asimismo, se ha observado una disminución significativa en el contenido de ADNmt testicular en ratas prediabéticas, lo que ratifica que el estado de prediabetes resulta perjudicial para la función mitocondrial. La pérdida de ADNmt probablemente esté relacionada con la biogénesis mitocondrial, ya que PGC-1 α está conectado con la coactivación de varios transcritores nucleares como NRF-1, NRF-2 y TFAM, implicados en las vías de señalización que conducen a la replicación del ADNmt. Pese a que NRF-1, NRF-2 y TFAM son genes

sensibles a PGC-1 α , su concentración a nivel testicular permanece inalterada. Esto puede indicar la existencia de mecanismos compensatorios activados bajo condiciones de estrés oxidativo para mantener la biogénesis mitocondrial. Además, aunque los niveles de proteína se mantienen estables, es probable que sus actividades disminuyan, ya que también se ha sugerido que Sirt3 interviene en la regulación de las actividades de NRF1 y TFAM.

El ADNmt es muy susceptible al estrés oxidativo (8), en parte debido a su localización, ya que se empaqueta en un complejo proteína-ADN conocido como nucleóide mitocondrial. De este modo, el desequilibrio entre la eliminación de ROS y su sobreproducción, que se ve exacerbada por la interrupción del eje PGC-1 α /Sirt3, provocan la alteración de la composición del nucleóide mitocondrial, favoreciendo la degradación del ADNmt en el medio testicular. Esto respalda aún más la hipótesis de que PGC-1 α y Sirt3 son esenciales para el sistema de desintoxicación

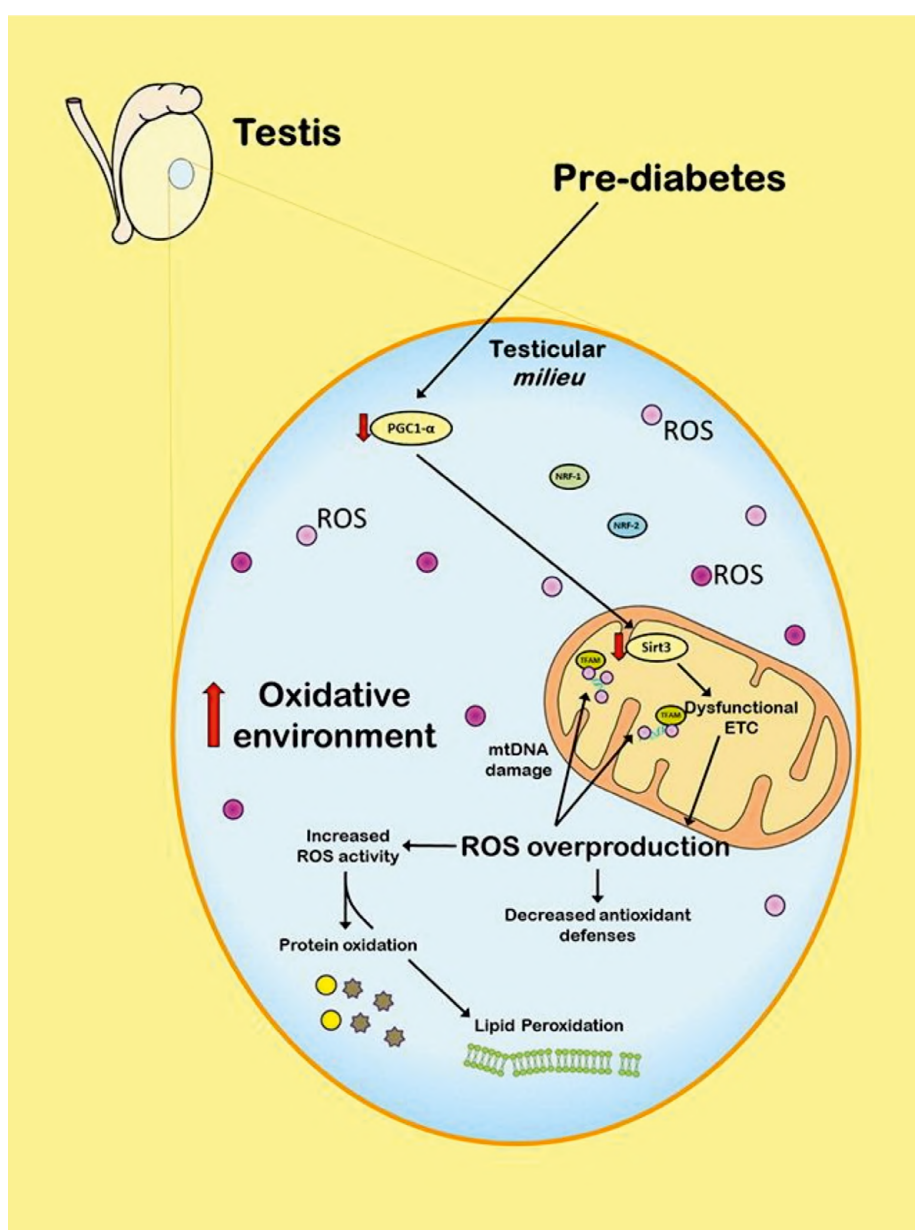


Figura 9. Implicación del eje testicular PGC-1 α /Sirt3 en la generación de ROS en el paciente prediabético (Tomado de Rato L, Duarte AI, Tomás GD et al. Pre-diabetes alters testicular PGC1- α /SIRT3 axis modulating mitochondrial bioenergetics and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta* [artículo de revista] 2014).

de ROS, y la regulación a la baja de ambas proteínas disminuye las defensas antioxidantes, comprometiendo la integridad del ADNmt.

También se ha descrito que la DM afecta la función mitocondrial al alterar las actividades enzimáticas de los complejos de la cadena transportadora de electrones. Se ha descrito un importante incremento en la actividad enzimática de la NADH reductasa (complejo I). Este hallazgo podría corresponderse con un mecanismo compensatorio por parte de las mitocondrias testiculares en respuesta a los cambios metabólicos provocados por el estado prediabético, con el objetivo de mantener una correcta función de la cadena de transporte electrónico y garantizar un aporte energético adecuado al evento espermatogénico.

Después de la oxidación de NADH, los electrones fluyen secuencialmente a través de la citocromo c reductasa (complejo III), que canaliza los electrones de la reserva de coenzima Q al citocromo c. Se ha observado una reducción significativa en la actividad del complejo III que puede deberse a la disminución de los niveles de Sirt3, ya que el complejo III es uno de las dianas principales de esta proteína desacetilasa.

El desequilibrio entre las actividades del complejo I y el complejo III invierte el flujo electrónico estimulando la producción de ROS e interfiriendo en la síntesis de ATP. Esto exacerba aún más el entorno prooxidativo.

Los cambios observados en la cadena de transporte electrónico son consecuencia de la desregulación del eje PGC-1 α /Sirt3 y de las fluctuaciones metabólicas testiculares, ya que los testículos son órganos compartimentados con características metabólicas especiales y requerimientos energéticos que confieren un microambiente especial al medio testicular. La disminución significativa en los niveles de ATP testicular en ratas prediabéticas se debe a la interrupción del eje PGC-1 α /Sirt3, con el consiguiente deterioro de la función de la cadena transportadora de electrones. Además, la disminución en el contenido de ATP testicular puede deberse a su hidrólisis a nucleótidos de adenina (ADP y AMP) y metabolitos de adenosina posteriores. Esta hipótesis se apoya en el hallazgo de niveles disminuidos de ADP en ratas prediabéticas, que podría implicar un mayor funcionamiento de la adenilato quinasa para la producción de AMP. Así pues, se han descrito niveles de AMP testicular significativamente más elevados en estos animales. El desequilibrio entre los nucleótidos de adenina subyace a una relación ATP/AMP testicular más baja, lo que evidencia una carga energética de adenilato testicular disminuida en ratas prediabéticas. De este modo, el AMP puede surgir como una molécula reguladora clave, potenciando vías catabólicas como la glucólisis.

Todos estos mecanismos inducidos por el estado de prediabetes: Disminución de la expresión de las proteínas PGC-1 α y Sirt3, desregulación este eje y deterioro de la bioenergética mitocondrial (especialmente en el complejo I y el complejo III), así como de la carga energética de adenilato testicular, inducen la acumulación de hipoxantina. Los niveles elevados de hipoxantina se correlacionan con el aumento de la relación lactato/piruvato, que también puede reflejar el estado redox celular. Este incremento en los niveles de

hipoxantina puede ser responsable del daño oxidativo a las células testiculares.

Por tanto, los cambios sutiles que tienen lugar en el metabolismo de la glucosa testicular y la bioenergética mitocondrial, que ocurren antes del desarrollo de la patología diabética, pueden tener un impacto negativo grave posterior en la fertilidad masculina (28).

Se ha propuesto que el equilibrio entre las especies oxidantes y antioxidantes tiene un papel importante en el retraso del proceso de la prevención de complicaciones diabéticas. Este equilibrio minimiza los niveles de ROS con el objetivo de mantener la función normal de los espermatozoides. El aumento de la producción de ROS o la disminución del sistema de defensa antioxidante están asociados con la peroxidación lipídica en la membrana plasmática del espermatozoide. Existen diversos sistemas de defensa antioxidantes contra ROS. Estos sistemas de defensa incluyen antioxidantes endógenos, que pueden clasificarse como sistemas de defensa enzimáticos (superóxido dismutasa: SOD, glutatión: GSH) y no enzimáticos (vitamina E, ácido úrico, bilirrubina). Los estudios han detectado un aumento del 25 % al 40 % de los niveles de ROS en el semen de los hombres infértiles.

Los antioxidantes de la dieta como la vitamina C, la vitamina E y otros micronutrientes, juegan un papel importante en el mantenimiento del equilibrio oxidativo. La vitamina E es un antioxidante no enzimático rompedor de cadenas con una función particular de captación de radicales peróxido para prevenir la peroxidación lipídica. Se ha demostrado que los cambios patológicos severos en el tejido testicular están asociados con una mayor peroxidación de lípidos. Se ha descrito que el proceso de lipoperoxidación solo ocurre en pacientes diabéticos tipo 2, especialmente en relación con la mayor concentración de leucocitos en líquido seminal de este grupo de pacientes, quienes además presentan una mayor concentración del radical libre anión superóxido mitocondrial. Por tanto, en pacientes afectados de DM2 el aumento tanto del anión superóxido mitocondrial como de la lipoperoxidación, contribuyen a disminuir el potencial de membrana mitocondrial y, en consecuencia, son responsables de una mayor disminución de la motilidad espermática que en individuos con DM1 (6).

DIABETES Y GAMETOS

La epigenética se refiere a una serie de mecanismos y fenómenos que definen el fenotipo de una célula sin afectar el genotipo. Los estados epigenéticos pueden ser modificados por factores ambientales, lo que puede contribuir al desarrollo de fenotipos anormales. La evidencia epidemiológica sugiere cada vez más que las exposiciones ambientales tempranas en el desarrollo tienen un papel en la susceptibilidad a la enfermedad en la edad adulta. Un creciente número de datos, tanto de estudios en animales como en humanos, ha establecido que la base molecular de la programación involucra la metilación alterada del ADN. En términos moleculares, representa las modificaciones de la cromatina, incluida la metilación del ADN, las modificaciones de las histonas, la remodelación de los

nucleosomas y la reorganización de la cromatina de orden superior y los ARN no codificantes.

El perfil epigenético inicia en la línea germinal y resulta clave para el desarrollo embrionario y posnatal normal. Actualmente, se conoce que las modificaciones epigenéticas durante el desarrollo de las células germinales desempeñan funciones en la expresión génica, la meiosis, la integridad y la impronta genómica, siendo esenciales durante la espermatogénesis (Figura 10):

- La **metilación** del ADN ocurre en las células germinales mitóticas, estableciendo las improntas paternas específicas.
- La **fosforilación** ocurre en las células meióticas, ayudando tanto en la recombinación como en la formación de cuerpos XY.
- La **ubiquitilación, la sumoilación y la incorporación de las variantes H2AZ y H3.3** están todas involucradas en la formación de cuerpos XY.
- La **hiperacetilación** tiene lugar en la fase de espermiación para ayudar en la transición histona-protamina.

Actualmente, se conoce que el estado de prediabetes paterna altera los patrones generales de metilación en los espermatozoides.

La hiperglucemia materna tiene efectos nefastos sobre la estructura y función de los sistemas testicular y endocrino reproductivos. Es un hecho que este cambio perjudicial ocurre durante la vida fetal y se mantiene durante la vida posnatal. De este modo, la diabetes paterna/materna puede transmitirse a la siguiente generación a través de los gametos, lo que sugiere la asociación de la herencia epigenética con la diabetes. Estudios recientes indican que tanto la obesidad como la diabetes modifican el ADN y los niveles de metilación de histonas, su acetilación, así como los ARN no codificantes y microARN en ovocitos y espermatozoides (26).

Si la espermatogénesis se ve afectada durante la fase de desarrollo crítico, las modificaciones epigenéticas inducidas por el medio ambiente (hábitos, dieta, etc) pueden volverse permanentes en el epigenoma de la línea germinal y tener un impacto potencial en las generaciones posteriores a través de la herencia transgeneracional epigenética (20). Las enfermedades resultantes pueden

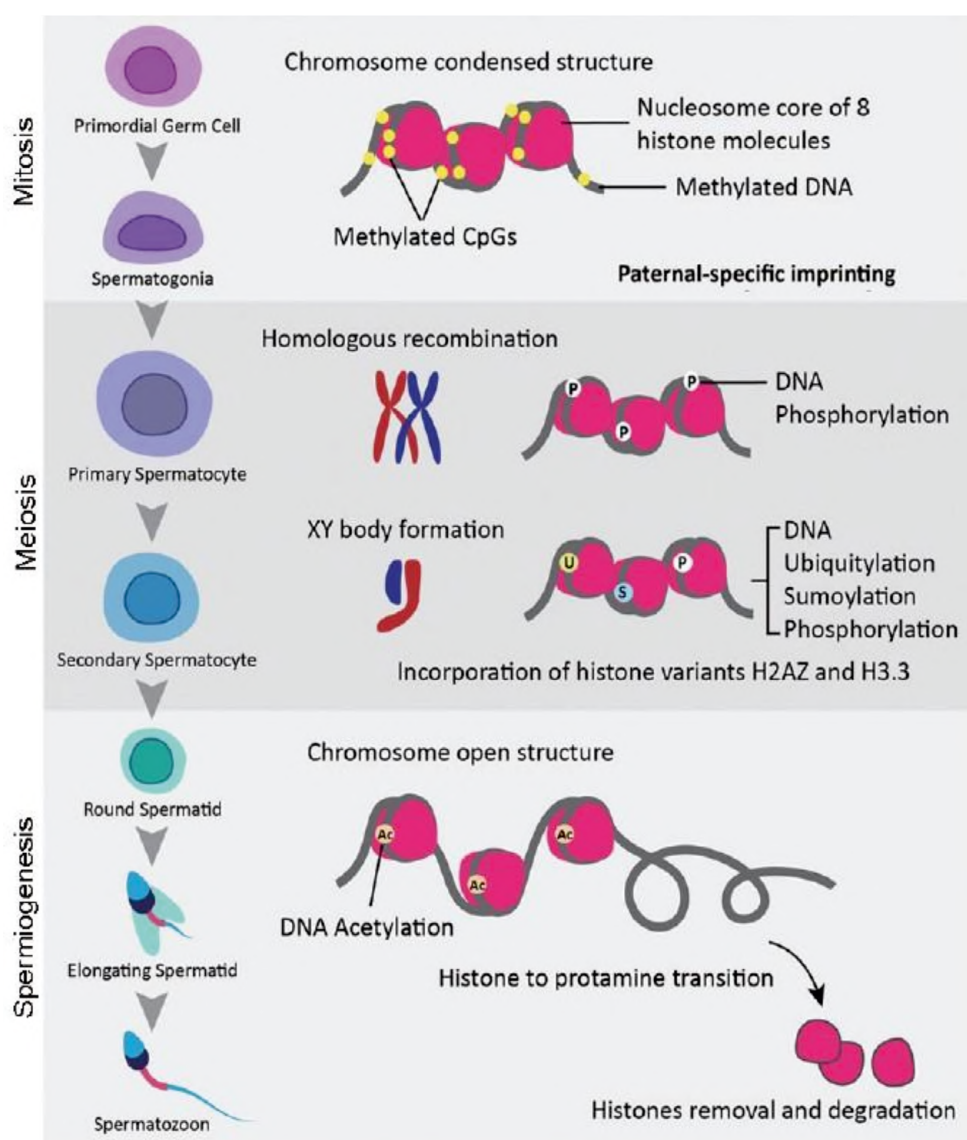


Figura 10. Modificaciones epigenéticas durante la espermatogénesis. (Ding GL, Liu Y, Liu ME et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian J Androl.* [artículo de revista] 2015).

aparecer en la edad adulta, incluida la infertilidad, tanto en los propios individuos como entre generaciones. Los mecanismos potenciales que contribuyen a la transmisión transgeneracional de fenotipos son complejos y dependen de si los efectos se transmiten a través del linaje materno o paterno. Hasta ahora, la mayoría de los estudios se han centrado en los efectos maternos. La línea materna de transmisión del fenotipo metabólico es multifactorial e incluye efectos genéticos (ADN nuclear y mitocondrial), factores epigenéticos, función placentaria alterada y ambiente diabético intrauterino y postnatal temprano. Por el contrario, los efectos paternos inducidos por el ambiente alterado represen-

tan predominantemente modificaciones epigenéticas en los espermatozoides. Se ha demostrado que la diabetes paterna aumenta la susceptibilidad a la infertilidad en la descendencia a través de alternancias gaméticas. En concreto, se ha detectado un aumento en la expresión del marcador de apoptosis anexina V y ratios de protamina alterados en los espermatozoides. Los cambios en las proporciones de protamina nuclear espermática se correlacionan con los cambios en la expresión de protamina 1 en los testículos de las generaciones masculinas F1 y F2 de padres diabéticos. Estos efectos transgeneracionales de la diabetes paterna indican cambios en la información

Tabla 2. *Proteínas espermáticas desreguladas en la diabetes. (Modificado de Bisconti M, Simon JF, Grassi S et al. Influence of risk factors for male infertility on sperm protein composition. Int J Mol Sci [artículo de revista] 2021).*

Proteína (nombre del gen)	Papel en la fertilidad del esperma
Acrosina (ACR)	Enzima acrosomal involucrada en la reacción del acrosoma y la penetración en la zona pelúcida
Fructosa-bifosfato aldolasa A (ALDOA)	Enzima glicolítica implicada en la unión de la zona pelúcida
ATP sintasa subunidad beta (ATP5B)	Participa en la síntesis de ATP durante la fosforilación oxidativa, que es importante para mantener la motilidad de los espermatozoides.
Calicina (CCIN)	Proteína del citoesqueleto de la cabeza del espermatozoide
Clusterina (CLU)	Proteína del plasma seminal involucrada en la maduración y capacitación de los espermatozoides.
Proteína secretora del epidídimo E3-beta (EDDM3B)	La proteína del epidídimo, puede estar involucrada en la maduración de los espermatozoides.
Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDHS)	Enzima glicolítica implicada en la motilidad de los espermatozoides.
Lactotransferrina (LTF)	Involucrado en la protección de los espermatozoides y la regulación de la motilidad.
Proteína de fibra densa externa 1 (ODF1)	Proteína chaperona que compone las fibras densas externas (ODF) de la cola del espermatozoide, involucrada en la estructura y motilidad del esperma.
Proteína de fibra densa exterior 2 (ODF2)	Componente principal de las fibras densas externas (ODF) de la cola de los espermatozoides, implicado en la motilidad de los espermatozoides.
Proteína/ácido nucleico deglicasa DJ-1 (PARK7)	Proteína de respuesta al estrés oxidativo involucrada en el proceso de fertilización y motilidad espermática.
Piruvato deshidrogenasa E1 componente subunidad a, forma específica de testículo, mitocondrial (PDHA2)	Participa en el desarrollo de las células espermátogénicas.
Proteína inducible por prolactina (PIP)	Puede influir en la viscosidad del esperma.
Prostaglandina-H2 D-isomerasa (PTGDS)	Proteína transportadora de hormona tiroidea y retinoides implicados en la espermátogénesis y la maduración de los espermatozoides.
Proteína relacionada con Ras Rab-2A (RAB2A)	Biogénesis del acrosoma
Semenogelina-1 (SEMG1)	Proteína seminal que inhibe la capacitación prematura de los espermatozoides.
Alfa-1-antitripsina (SERPINA1)	Inhibidor de la serina proteasa implicado en la cascada de licuefacción del esperma eyaculado.
Proteína 1 asociada a quinasa en fase S (SKP1)	Regula la meiosis durante la espermátogénesis.
Proteína de superficie espermática Sp17 (SPA17)	Proteína de la vaina fibrosa implicada en la unión a la zona pelúcida del ovocito.
Proteína 3 asociada a la membrana del acrosoma espermático (SPACA3)	Proteína acrosómica implicada en la unión al ovocito.
Triosafosfato isomerasa (TPI1)	Enzima glicolítica implicada en la unión a la zona pelúcida del ovocito.
Cadena beta de tubulina (TUBB4B)	Proteína del citoesqueleto de la cola del espermatozoide.

epigenética del esperma. Entre las modificaciones epigenéticas inducidas por el entorno de las células de la línea germinal se encuentran la metilación del ADN, la modificación postraduccional de histonas y protaminas, variantes de histonas y ARN no codificantes. Por tanto, la diabetes paterna altera la calidad del esperma y el patrón de expresión en los testículos en la descendencia de hasta dos generaciones posteriores (27).

En los testículos prenatales, las únicas células germinales son los gonocitos. Los gonocitos proliferan durante unos días y luego se detienen. Poco después del nacimiento, los gonocitos se trasladan a la membrana basal, se convierten en espermatogonias y reanudan su proliferación. Las espermatogonias que se dividen en la mitosis constituyen el conjunto de células madre a partir de las cuales tendrán lugar los procesos de meiosis y espermatogénesis. Antes de la espermatogénesis, los *elementos transponibles* (ET) se silencian en los gonocitos y prospermatogonias.

La metilación facilitada por la *ADN metiltransferasa 3L* (DNMT3L) está involucrada en la silenciamiento de los ET a nivel testicular. DNMT3L se expresa en los gonocitos a los 14-18 días posteriores al coito cuando se produce la metilación global del ADN. De hecho, se ha propuesto que la ausencia de silenciamiento de ET por DNMT3L contribuye directamente a la detención meiótica y la infertilidad en estudios realizados en ratones adultos.

La adquisición de improntas para asegurar la expresión específica del alelo del progenitor adecuado es una etapa especialmente crítica. Los genes con impronta paterna son aquellos genes que están sujetos a expresión monoalélica. Es decir, la expresión se produce únicamente a partir del alelo heredado del progenitor materno. Los genes con impronta paterna se metilan y silencian en las células germinales masculinas. Este fenómeno comienza en los gonocitos aproximadamente a los 15,5 post-coito y se mantiene en las espermatogonias. Esta metilación y silenciamiento de genes se llevan a cabo durante el resto de la espermatogénesis y se mantienen en cualquier esperma y descendencia resultantes. Se han identificado algunas regiones con impronta paterna, como H19, Igf 2, Ras, GRF y Dlk1- Gtl2. En las células germinales masculinas, el establecimiento de las improntas paternas involucra al factor BORIS (por sus siglas en inglés: *Brother Of the Regulator of Imprinted Sites*) y a DNMT, DNMT3A, DNMT3B y DNMT3L. La eliminación de esta última da como resultado la pérdida de metilación en las regiones impresas paternalmente.

La prediabetes paterna altera los patrones generales del metiloma en los espermatozoides con una gran parte de genes diferencialmente metilados que se superponen con los de los islotes pancreáticos en la descendencia, lo que indica que la prediabetes paterna aumenta la susceptibilidad a la diabetes en la descendencia a través de alteraciones epigenéticas gaméticas (14).

DIABETES Y CONTENIDO SEMINAL (PROTEOMA ESPERMÁTICO)

Cada vez son más los estudios que se centran en los mecanismos moleculares implicados en la infertilidad mascu-

lina. Entre ellos, los enfoques proteómicos se utilizan en la identificación de proteínas clave implicadas en los trastornos de infertilidad, principalmente mediante la comparación de muestras de esperma de diferentes donantes (muestras normospermicas de hombres fértiles frente a infértiles, esperma astenospermico frente a normospermico, etc.).

El análisis del perfil proteómico de espermatozoides de pacientes diabéticos tipo 1 revela una desregulación de 82 proteínas en relación con la diabetes. Por ejemplo, es el caso de SEMG1, la *proteína inducida por prolactina* (PIP) y la *proteína de anclaje 4 de la quinasa A* (AKAP4). SEMG1 es una proteína seminal que inhibe la capacitación prematura de los espermatozoides. Su disminución en los espermatozoides de los pacientes diabéticos podría, por tanto, provocar una disminución de la fertilidad. El papel exacto de la PIP en los espermatozoides aún no se ha dilucidado, aunque se ha propuesto que podría influir en la viscosidad de los espermatozoides. En cuanto a AKAP4, es un componente importante de la vaina fibrosa de los espermatozoides y su ausencia provoca una baja motilidad progresiva e infertilidad.

La *proteína de fibra densa externa 2* (ODF2) y la cadena de *tubulina beta-4B* (TUBB4B) son estructuras citoesqueléticas importantes de la cola del esperma. Su disminución en los individuos diabéticos podría ser responsable de la morfología y motilidad espermática anormales. Otra de las proteínas comúnmente desreguladas en la diabetes es la subunidad beta de la ATP sintasa mitocondrial (ATP5B), la cual está presente en mayor o menor abundancia en los espermatozoides de pacientes diabéticos. Esta enzima sintetiza ATP durante la fosforilación oxidativa, que se utiliza para mantener la motilidad de los espermatozoides.

Entre las proteínas que sufren alteraciones muchas son comunes a varios factores de riesgo (edad, tabaquismo, obesidad, etc) además de la diabetes. Todas estas proteínas podrían convertirse en nuevos marcadores diagnósticos para la infertilidad masculina y su identificación específica debe considerarse además del análisis de esperma de rutina. De hecho, se han descrito variaciones en el nivel de cada una de estas proteínas incluso en casos de muestras normospermicas, lo que demuestra que los análisis de esperma de rutina no son suficientes para identificar las causas de la infertilidad (9).

DIABETES Y METABOLISMO ANORMAL DEL ZINC

El zinc es un potente antioxidante que puede estabilizar y mantener la integridad de la estructura de la membrana de las células espermáticas al impedir la oxidación lipídica de la membrana celular. El semen y los testículos son ricos en zinc. El zinc en plasma seminal se correlaciona positivamente con los niveles de testosterona libre, regulando su secreción.

La alteración de la homeostasis del zinc es la base de la patogenia de muchas enfermedades humanas. La distribución tisular de zinc en pacientes con DM está alterada. Los estudios han demostrado que la poliuria en los pacientes con DM2 puede conducir a una mayor excreción

de zinc en la orina resultando en una disminución de la concentración de zinc plasmático. Así pues, la deficiencia de zinc puede inducir la conformación mutante de la enzima SOD, causando estrés oxidativo, daño en el ADN, apoptosis, hipogonadismo, trastorno de la espermatogénesis y defectos morfológicos de los espermatozoides. Por otro lado, los testículos y el epidídimo mantienen su función gracias a la absorción de zinc. Se ha demostrado que los niveles de zinc en plasma seminal en pacientes con astenospermia disminuyen significativamente, lo que sugiere la correlación entre el zinc y la motilidad espermática. Durante la eyaculación, los espermatozoides pueden obtener iones de zinc del plasma seminal y mejorar su motilidad. La homeostasis celular del zinc se mantiene gracias a un gran número de *transportadores de zinc* (ZnT), que actúan reduciendo el daño celular. En la DM2, la expresión de genes ZnT se reduce significativamente. ZnT8 se expresa principalmente en células de Leydig de ratones adultos, aunque también se expresa en las células β de los islotes. La sobreexpresión de ZnT8 aumenta el contenido de zinc de las células β y promueve la secreción de insulina estimulada por glucosa. Además, ZnT8 también induce la producción de testosterona a través de la vía de señalización de la proteína quinasa A (PKA). ZnT1 se expresa en la membrana plasmática de células testiculares, el citoplasma de células espermatogénicas y en las células de Leydig. Por tanto, la expresión alterada de ZnT en las gónadas de los pacientes con DM afecta la homeostasis del zinc y la alteración de su metabolismo puede influir en la fertilidad masculina (18).

DIABETES Y DESREGULACIÓN ENDOCRINA

Es posible que el deterioro reproductivo en varones diabéticos sea el resultado de la interferencia de la enfermedad en el eje HPG a múltiples niveles. La desregulación endocrina provocada por la DM es bien conocida. Aunque los valores absolutos de las fluctuaciones hormonales pueden diferir entre estudios, es evidente que la DM induce una marcada reducción de los niveles plasmáticos de testosterona, alcanzando valores disminuidos a más de la mitad. Además, se ha descrito una disminución significativa de FSH y LH (*hormona luteinizante*) séricas en individuos diabéticos. El control glucémico adecuado es crucial para mantener una función testicular endocrina fisiológica. Las inyecciones de insulina pueden restaurar los niveles normales de FSH, mientras que el tratamiento sinérgico de insulina con testosterona puede restaurar algunas alteraciones en el peso corporal y órganos reproductivos, así como en el recuento y la motilidad de los espermatozoides (5).

Recientemente se ha descubierto una nueva molécula que parece estar implicada en la motilidad espermática. Se trata de la asprosinina, una proteína cuya liberación es estimulada durante el ayuno por los adipocitos del tejido adiposo blanco. Debido a su acción glucogénica induce la liberación de glucosa de las células hepáticas al unirse al receptor OLFR734 y activar la vía de la proteína G-cAMP-PKA. Además, actúa como péptido orexigénico estimulando la ingesta de alimentos a través de la activación de las neuronas AgRP en el hipotálamo, por lo que participa en el mantenimiento de la homeostasis energética del organismo. Parece ser que la asprosinina favorece la mejoría de la fertilidad

relacionada con la edad y la obesidad al mejorar la motilidad de los espermatozoides mediante la activación de OLFR734 (25).

La función testicular está controlada por 2 funciones sincronizadas e independientes. La primera es la biosíntesis de andrógenos por las células de Leydig y la segunda es la producción de espermatozoides en el epitelio de los túbulos seminíferos. La función principal de las células de Leydig es la producción de andrógenos, que controlan la libido masculina y la espermatogénesis. Se ha demostrado que la diabetes causa 2 cambios fundamentales en la función de las células de Leydig: 1) Una disminución en el número total de células de Leydig y 2) un deterioro de la función celular, debido a la pérdida de la fosforilación de tirosina, acompañada de una fuerte disminución en la expresión de otros marcadores bioquímicos como GLUT-3 y receptores de andrógenos e IGF-I. La combinación de estos 2 factores induce una disminución en la biosíntesis de andrógenos con la consecuente disminución de los niveles séricos de testosterona. Estos cambios inducidos por la diabetes en el número y la función de las células de Leydig pueden explicarse, al menos en parte, por el control que ejerce la LH sobre las células de Leydig. La disminución de los niveles de insulina inducida por la diabetes interfiere la función de las células de Leydig y la producción de testosterona debido a la ausencia de su efecto estimulante sobre estas células y a una disminución de la FSH dependiente de insulina que, a su vez, disminuye los niveles de LH. Asimismo, se ve reducida la producción de espermatozoides debido a la disminución de FSH (4).

Se ha demostrado la expresión de insulina en el espermatozoide humano y la secreción de esta hormona por parte de los espermatozoides, así como la existencia de un feedback autocrino de la insulina sobre su propia secreción y sobre la actividad de la enzima *glucosa 6-fosfato deshidrogenasa* (G6PDH). El análisis inmunocitoquímico de la insulina muestra un patrón de expresión heterogéneo, lo que implica diferentes grados de estado energético entre los espermatozoides. En la mayoría de los espermatozoides de muestras no capacitadas, la insulina se encuentra a nivel subacrosomal, en la pieza intermedia y en toda la cola. Además, la insulina se organiza dentro de los gránulos, de manera similar a los gránulos de almacenamiento de insulina dentro de las células β pancreáticas. Se observa una disminución general y una distribución uniforme de la intensidad de la señal de la insulina en los espermatozoides capacitados. Este hallazgo se puede atribuir a una mayor liberación de esta hormona de acuerdo con los altos niveles de insulina en el medio de los espermatozoides capacitados.

Los cambios en la liberación de insulina también están relacionados con diferentes condiciones fisiológicas, como la transición entre el estado no capacitado a capacitado de los espermatozoides. La secreción de insulina al medio capacitador tiene lugar inmediatamente (en el tiempo cero), lo que sugiere una posible participación de esta hormona en la inducción de la capacitación.

Los espermatozoides liberan insulina de manera pulsátil, lo que da como resultado concentraciones oscilatorias en el medio de incubación tanto en espermatozoides no ca-

pacitados como en espermatozoides capacitados. De manera similar, las células β pancreáticas secretan insulina de manera pulsátil, y se cree que el patrón oscilatorio mejora el control de la liberación y potencia la acción hormonal. La glucosa constituye el principal secretagogo de la insulina en las células β pancreáticas. Del mismo modo, la secreción de insulina en los espermatozoides también responde a la glucosa. Además, la secreción de insulina por los espermatozoides ejerce un efecto estimulante autocrino fisiológico sobre el metabolismo de la glucosa de acuerdo con sus necesidades energéticas, independientemente de la insulina sistémica.

La familia de factores de crecimiento similares a la insulina, compuesta por insulina, IGF-I e IGF-II proporciona señales esenciales para el control del desarrollo y la función de los testículos. Se trata de pequeños polipéptidos mitógenos de cadena única que proporcionan señales esenciales para el control del crecimiento, el metabolismo y la función reproductiva. En particular, el sistema insulina/IGF juega un papel fundamental en la regulación del crecimiento, la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular, y afecta a casi todos los órganos y sistemas del cuerpo, incluyendo el adecuado desarrollo y función de los testículos. Si bien la capacidad reproductiva está regulada por el eje HPG, la actividad de factores gonadales locales, como los de la familia insulina/IGF, modulan la función reproductiva. De hecho, estudios realizados con animales macho modificados sin IGF-I describen que se trata de individuos enanos e infértiles y exhiben una reducción de más del 80% tanto en la espermatogénesis como en los niveles séricos de testosterona. Esto no solo destaca la importancia general de IGF para el crecimiento y desarrollo corporal, sino que también enfatiza el papel crítico de los IGF en la función reproductiva (17).

DIABETES E INFERTILIDAD FEMENINA

La disfunción reproductiva es común en mujeres con DM1. Hasta el 40% de las mujeres diabéticas sufren trastornos menstruales o reproductivos importantes a lo largo de su vida. Los aspectos específicos de la disfunción reproductiva en las mujeres diabéticas son menos definidos que en los hombres debido a la falta de una evaluación estandarizada de la función sexual en las mujeres (16). Históricamente, las pacientes con DM1 y control metabólico insuficiente presentaban una alta prevalencia de hipogonadismo —a través del deterioro del eje HPO—, amenorrea, trastorno del deseo sexual hipoactivo, dispareunia, complicaciones gestacionales, aborto espontáneo, malformaciones congénitas, menopausia prematura e infertilidad. De hecho, las personas con DM1 tienen menos hijos que sus hermanos no afectados, siendo este efecto más pronunciado en mujeres y en cohortes de mayor edad. Asimismo, la edad tardía de debut de la enfermedad diabética se asocia con un mayor número de hijos.

Modelos de animales diabéticos inducidos farmacológicamente muestran hipogonadismo, tamaño ovárico reducido y calidad ovocitaria disminuida. Dentro del folículo ovárico, los ratones con DM1 muestran una comunicación alterada entre las células de la granulosa y los ovocitos, disfunción mitocondrial durante la meiosis, apoptosis de las células del cúmulo y alteración del estado de metilación del ADN. Sin

embargo, los mecanismos que subyacen a estos efectos de la diabetes en la reproducción no se conocen por completo (19).

Por otra parte, el inicio prematuro de la DM2 en mujeres jóvenes, particularmente en la segunda y tercera década de la vida, hace que se superponga con la vida reproductiva de la mujer, induciendo potenciales efectos adversos para la fertilidad y el embarazo. Las mujeres con DM2 parecen tener un riesgo similar de trastornos reproductivos que las mujeres afectas de DM1, si bien la literatura al respecto es escasa.

La introducción de la insulina en 1923 supuso una notable mejoría en la regulación del ciclo menstrual y la fertilidad de la mujer diabética. No obstante, persistían la amenorrea primaria y secundaria, y el retraso puberal severo. Antes de 1993, la terapia insulínica consistía en inyecciones de insulina dos veces al día, un tratamiento que con frecuencia no lograba un control metabólico óptimo y se asociaba con una alta prevalencia de problemas reproductivos femeninos. La terapia intensiva de insulina actual, consistente en múltiples inyecciones diarias de insulina o infusión continua de insulina subcutánea, ha permitido mejorar el control metabólico y la función reproductiva en mujeres con DM1 (23). Así lo demuestra la disminución en la prevalencia de amenorrea, al pasar de ser >20% a ser en la actualidad <10%, y el retraso de la menarquia, de varios años a algunos meses. No obstante, están surgiendo implicaciones reproductivas adicionales al control de la diabetes contemporánea, que se sustentan en la acción de la insulina sobre el ovario (32). De hecho, el exceso de insulina ha provocado otros problemas, especialmente hiperandrogenismo, ovarios poliquísticos y aumento excesivo de peso. En individuos sanos, cuando el páncreas secreta insulina a la circulación portal, el hígado es el órgano expuesto a las mayores concentraciones de insulina, y actúa eliminando una fracción importante de la insulina secretada. En pacientes con DM1, la insulina administrada al tejido subcutáneo se absorbe en la circulación sistémica, omitiendo este primer paso hepático y exponiendo a los tejidos periféricos a niveles suprafisiológicos de insulina, que contribuyen al aumento de la secreción de andrógenos y al desarrollo de *síndrome de ovario poliquístico* (SOP). Se ha informado que el 24% de las pacientes con DM1 padecen SOP, principalmente debido a hiperinsulinemia iatrogénica. Además, dosis diarias altas de insulina se asocian con una tasa de aborto más alta (21).

La metformina parece aumentar la probabilidad de ovulación y puede, en combinación con clomifeno, aumentar la frecuencia de ovulación y embarazo en mujeres con SOP. Sin embargo, la exposición intrauterina a metformina se asocia con niveles elevados de SHBG en los recién nacidos y se ha demostrado que los niños presentan mayores niveles de estrógenos y andrógenos en comparación con las niñas.

EJE HPG

La función reproductiva está regida por la acción sinérgica de varias señales neuronales y hormonales. El eje neurohormonal se inicia en el hipotálamo, el cual libera la

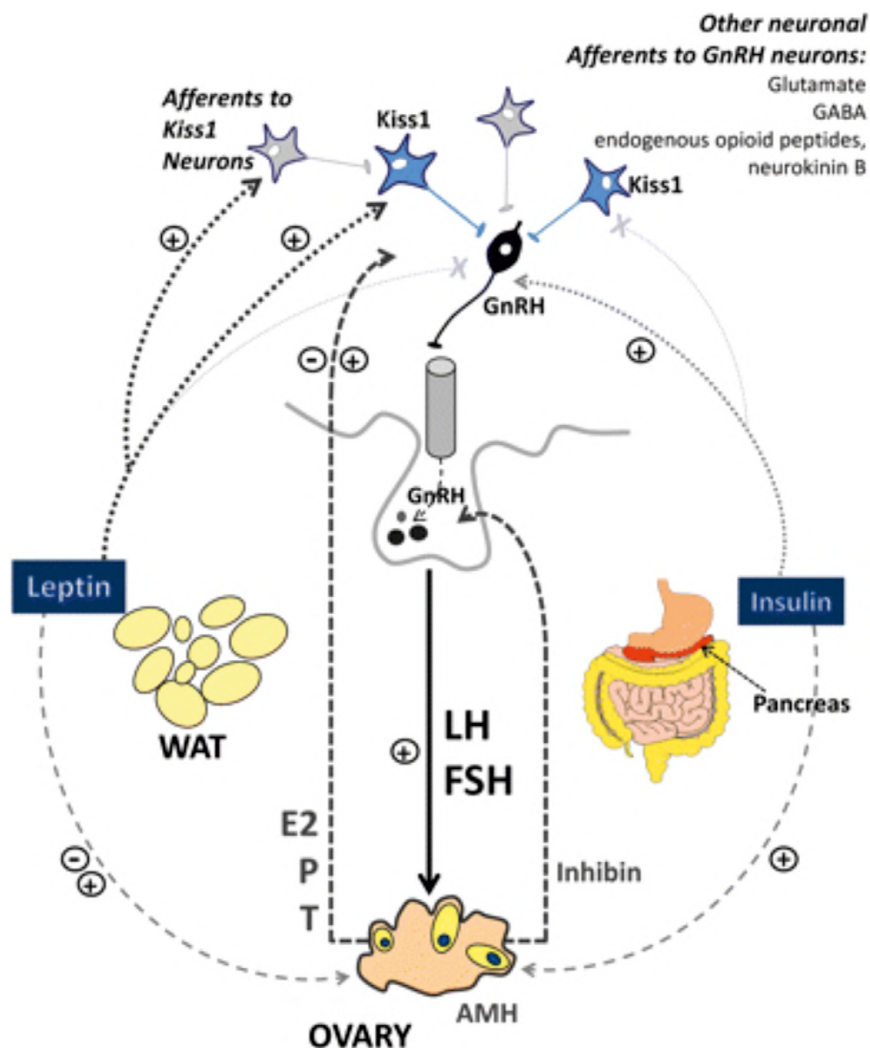


Figura 11. Regulación neuroendocrina del eje HPG. (Tomado de Codner E, Merino PM, Tena-Sempere M. Female reproduction and type 1 diabetes: From mechanisms to clinical findings. Hum Reprod Update [artículo de revista] 2012).

hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La secreción pulsátil de GnRH es estimulada por kisspeptinas producidas por neuronas Kiss1 (entre otros factores) e impulsa la función de los elementos aguas abajo del eje HPG, al dictar la secreción de gonadotropinas hipofisarias: LH y FSH. Estas hormonas resultan clave para el desarrollo y la función gonadal tanto en hombres como en mujeres. A su vez, las hormonas gonadales, principalmente los esteroides sexuales pero también los péptidos, proporcionan retroalimentación a los niveles superiores del eje HPG para regular dinámicamente la función de este eje neurohormonal. Los esteroides sexuales tienen efectos de retroalimentación negativos o positivos dependiendo de la etapa del ciclo. Otros productos secretados del ovario incluyen la hormona antimülleriana (AMH), cuyos niveles en sangre se correlacionan con los folículos en desarrollo. Asimismo, las hormonas metabólicas, como la leptina y la insulina, participan en el control del eje HPG. Así pues, la leptina, directa o indirectamente, modula la expresión de Kiss1. A su vez, la insulina tiene un papel regulador de la función de las neuronas GnRH. Por tanto, leptina e insulina contribuyen a la regulación metabólica de la función gonadal femenina.

La DM1 no controlada puede causar hipogonadismo debido a la supresión de la expresión hipotalámica de Kiss1/

kisspeptina, lo que sugiere que las neuronas Kiss1 son sensibles a los cambios del estado metabólico.

La DM1 se caracteriza por una disminución severa de la insulina, lo cual induce un balance energético catabólico que resulta en una disminución a mediano y largo plazo del peso corporal y un estado de hipoleptinemia. Los bajos niveles de leptina, ya sea directa o indirectamente, inhiben el tono hipotalámico Kiss1/ kisspeptina, que a su vez disminuye la secreción de GnRH. Esto induce un estado de hipogonadotropismo que finalmente suprime la función gonadal (hipogonadismo). Además, la falta de acción directa de la insulina sobre las neuronas de GnRH puede contribuir a la interrupción de la secreción de GnRH. Asimismo, la ausencia de su acción a nivel ovárico puede participar en el estado de hipogonadismo observado en pacientes con DM1 no controlada (21).

En resumen, son numerosos los niveles a los que la DM actúa para interferir en la salud reproductiva masculina. Por un lado, causa angioneuropatía a través de la disminución de la síntesis y liberación de ON y VEGF, y aumentos de endotelina y AGE en el endotelio que conducen a disfunción eréctil y eyaculación retrógrada. Además, el metabolismo anormal de la glucosa puede provocar estrés oxidativo y

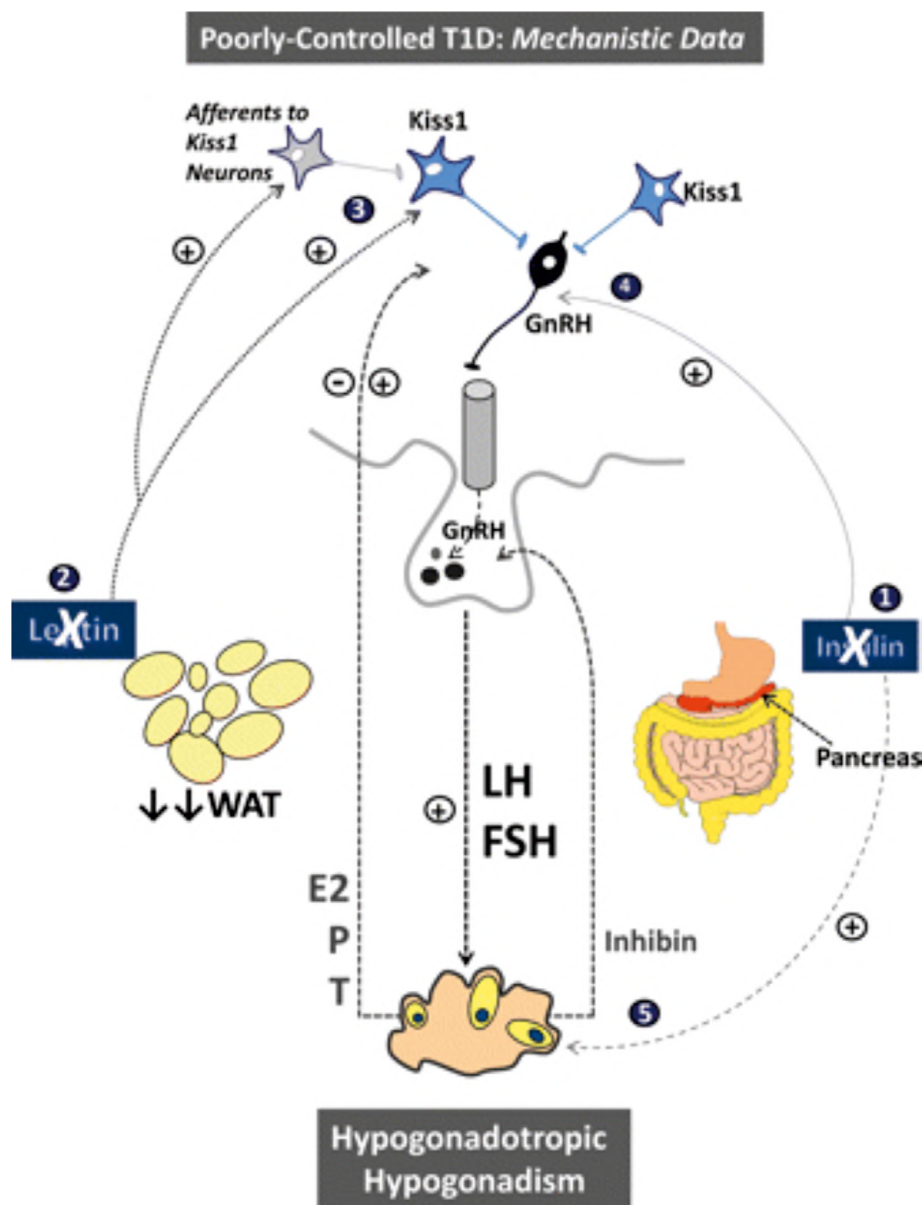


Figura 12. Alteración neuroendocrina del eje HPG mediada por la DM1. (Tomado de Codner E, Merino PM, Tena-Sempere M. Female reproduction and type 1 diabetes: From mechanisms to clinical findings. Hum Reprod Update [artículo de revista] 2012).

pérdida de zinc. El zinc es un poderoso antioxidante y su déficit agrava las alteraciones inducidas por estrés oxidativo. Asimismo, la deficiencia de insulina también causa daño a nivel del eje HPG, lo que reduce la secreción de GnRH, FSH, LH y testosterona, induciendo atrofia testicular, atrofia de células de Sertoli y Leydig, así como daño en los túbulos seminíferos y células espermatozoides. Todos estos factores actúan sinérgicamente en la supresión de la función sexual y reproductiva en hombres diabéticos (18).

DIABETES Y ENFERMEDAD TIROIDEA AUTOINMUNE (ETA)

La superposición frecuente entre DM1 y ETA se debe a potenciales loci de susceptibilidad genética comunes, como los alelos DQ y DR del antígeno leucocitario humano (HLA), proteína tirosina fosfatasa, PTPN22 y CTLA-4. Un estudio multicéntrico encontró una mayor prevalencia de anticuerpos contra la tiroperoxidasa y la tiroglobulina en niños y adolescentes con DM1. Además, la prevalencia de títulos autoinmunes aumenta con la edad, siendo más alta

en el grupo de edad de 15 a 20 años (anti-tiroperoxidasa: 16,9%, anti-tiroglobulina: 12,8%).

Las mujeres con ETA presentan niveles significativamente más altos de células T endometriales, lo que puede conducir a condiciones uterinas hostiles. Por otro lado, el déficit de vitamina D es más frecuente en mujeres con ETA. La vitamina D tiene un efecto antiinflamatorio y también activa el gen HOXA10, que ejerce una función clave en el proceso de implantación. Niveles bajos de hormona tiroidea también pueden inducir disfunción ovárica y ciclos menstruales irregulares. Las irregularidades menstruales son comunes en pacientes con hipertiroidismo debido al aumento de los niveles séricos de SHBG, testosterona y E2 (29).

Aunque la presencia de hipotiroidismo en mujeres con DM1 es un factor predictor de infertilidad (1), curiosamente las mujeres con DM1 e hipotiroidismo presentan tasas de nacidos vivos y fertilidad más altas en comparación con aquellas sin hipotiroidismo, probablemente debido a una terapia de reemplazo de tiroxina adecuada. El hipoti-

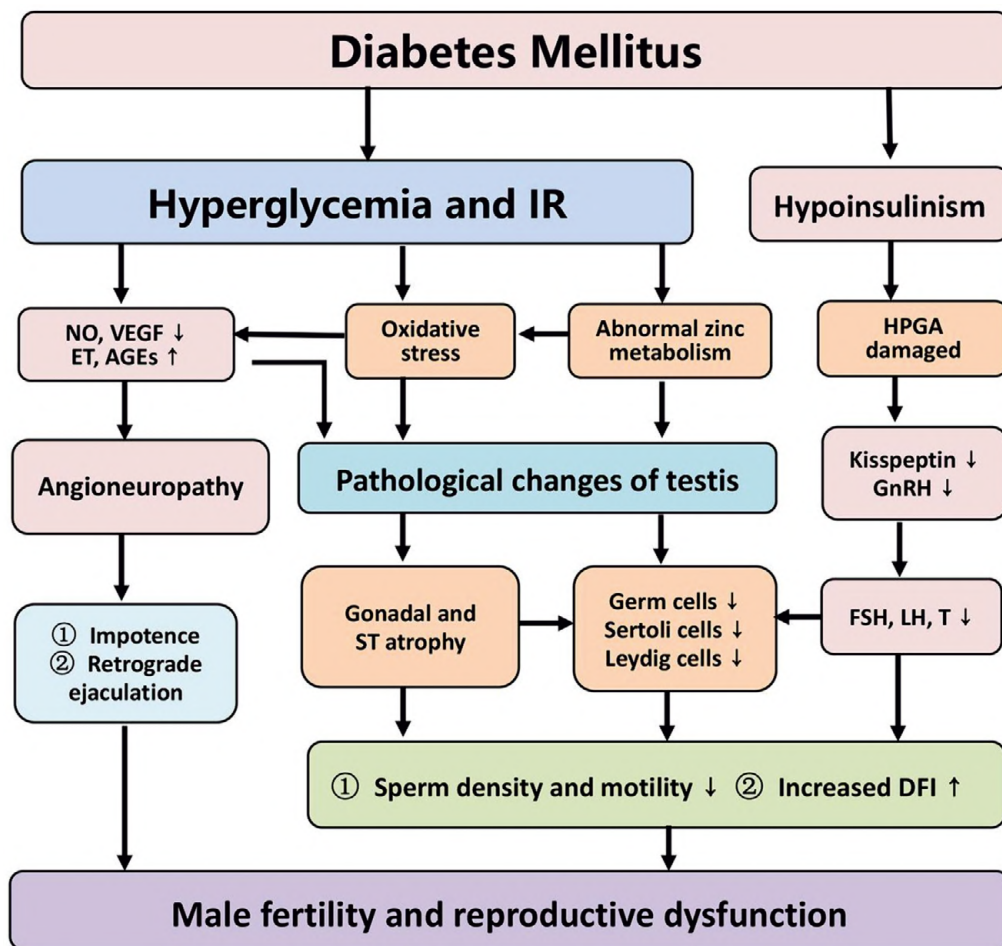


Figura 13. Efectos de la diabetes en la infertilidad (Tomado de He Z, Yin G, Li QQ et al. *Diabetes Mellitus Causes Male Reproductive Dysfunction: A Review of the Evidence and Mechanisms. In Vivo [artículo de revista]* 2021).

roidismo primario se asocia con una elevación de *hormona liberadora de tirotropina* (TSH) que a su vez estimula la secreción de prolactina, y la hiperprolactinemia concomitante a una alteración de la secreción pulsátil de GnRH puede conducir a disfunción ovárica. A pesar de la falta de evidencia sólida de que el reemplazo de tiroxina pueda mejorar la fertilidad, la concentración de TSH se relaciona inversamente con la fertilidad en mujeres que se someten a fertilización in vitro. En las pautas de la American Thyroid Association de 2017, se recomienda el reemplazo de tiroxina para mujeres infértiles con hipotiroidismo manifiesto, ya que la función tiroidea es reversible y el tratamiento con tiroxina generalmente es seguro y puede ejercer un efecto positivo sobre la fertilidad (21).

DISCUSIÓN

La DM es una entidad clínica cuya incidencia está aumentando de forma alarmante a nivel mundial. Las previsiones apuntan a que para el año 2025 el número de personas afectadas supere los 300 millones. Además, la edad de inicio, no solo de la DM1, sino también de la DM2, cada vez es menor debido al consumo de dietas hiperenergéticas y hábitos sedentarios. Esto implica la existencia de un número creciente de personas con diabetes en edad reproductiva.

Infertilidad y diabetes son habitualmente entidades comórbidas, ya que la deprivación insulínica que se produce en

la diabetes induce una serie de alteraciones tanto a nivel hormonal como a nivel metabólico, existiendo numerosos mecanismos implicados. Y es que la insulina desempeña una función clave en la reproducción. De hecho, se trata de una gonadotropina, y por tanto resulta fundamental en la fertilidad.

En el hombre, la infertilidad secundaria a DM se manifiesta como disfunción eréctil y eyaculación retrógrada, debido a una reducción de la biodisponibilidad de óxido nítrico, y a la disfunción del mecanismo del esfínter uretral interno debido a la neuropatía diabética, respectivamente. Además, la DM se relaciona con una producción anormal de espermatozoides.

El análisis de semen convencional, que incluye la determinación de volumen, pH, viscosidad y apariencia del eyaculado, así como recuento, motilidad, vitalidad y morfología de los espermatozoides, puede no ser suficiente en la detección de las anomalías inducidas por la diabetes. De hecho, muestras normospermicas según el análisis seminal básico pueden presentar alteraciones. Por tanto, el análisis de semen rutinario resulta insuficiente para identificar la causa subyacente a la infertilidad.

A pesar de no estar implementado en la práctica clínica, la fragmentación del ADN constituye un potencial parámetro para la evaluación de la integridad genética. Niveles elevados de fragmentación se relacionan con baja calidad

embrionaria, menores tasas de implantación e incluso aparición precoz de enfermedades infantiles.

Los espermatozoides con alto índice de fragmentación de ADN (ADNn/mt) presentan motilidad reducida y baja capacidad de fijación a la zona pelúcida del ovocito. El daño al ADN se inicia con la hiperglucemia secundaria al déficit o resistencia insulínicos. Los niveles elevados de glucosa favorecen la glicación no enzimática de proteínas a través de la reacción de Maillard, lo que da como resultado productos de base de Schiff y productos de Amadori que generan la producción de ROS a través de diversas vías. Las ROS agotan los sistemas antioxidantes celulares y promueven la oxidación de lípidos, ADN y proteínas. Esto conduce a modificaciones estructurales y funcionales celulares y tisulares, incluido el testículo.

Adicionalmente, la fragmentación del ADN puede estar mediada por AGE, los cuales son capaces de dañar el ADN directa o indirectamente, mediante la generación de ROS a través de la activación de RAGE. La unión de AGE a RAGE en muchos tipos celulares provoca una variedad de respuestas fisiopatológicas vinculadas a la activación posterior de NFκB y otras vías de señalización que conducen a la generación de ROS y ciertas respuestas proinflamatorias.

Asimismo, el estado prediabético ya induce modificaciones que, aunque sutiles, interfieren en la eliminación de ROS y por tanto, ejercen un impacto negativo sobre la fertilidad. Es el caso de PGC-1α/Sirt3, que actúan como supresor de ROS e inductor de defensas antioxidantes, respectivamente.

El zinc es un poderoso antioxidante que impide la oxidación lipídica de la membrana celular. La poliuria en pacientes diabéticos induce una mayor excreción urinaria de zinc, de forma que la reducción de los niveles plasmáticos de este elemento antioxidante conduce a un aumento del estrés oxidativo y los efectos derivados del mismo: Fragmentación de ADN, alteraciones estructurales de los espermatozoides, apoptosis, etc.

Se ha demostrado que las modificaciones epigenéticas inducidas por la dieta o el estilo de vida, entre otros, pueden volverse permanentes en el epigenoma de la línea germinal y transmitirse a generaciones posteriores a través de la herencia transgeneracional epigenética. La diabetes puede influir en la modificación epigenética durante la espermatogénesis del espermatozoide y que esta desregulación epigenética puede heredarse a través de la línea germinal masculina y transmitirse a más de una generación, lo que a su vez puede aumentar el riesgo de diabetes en la descendencia.

Los pacientes diabéticos presentan un perfil proteómico espermático alterado. De hecho, se ha identificado la desregulación de hasta 82 proteínas en relación con la diabetes y otras comorbilidades como la obesidad o el tabaquismo. Estas proteínas podrían constituir nuevos marcadores diagnósticos para la infertilidad masculina, ya que se han descrito variaciones en ellas incluso en casos de muestras normospermicas, lo que resulta consistente con el hecho de que el análisis de semen convencional resulta insuficiente en la evaluación de la infertilidad masculina.

La DM cursa con una importante desregulación a nivel endocrino que interviene en la supresión de la función sexual

y reproductiva del paciente diabético. El déficit de insulina que se produce en la DM induce la reducción de los niveles de leptina. La hipoleptinemia inhibe el tono hipotalámico Kiss1/ kisspeptina que disminuye la secreción de GnRH, que a su vez impide la liberación de las gonadotropinas FSH y LH, induciendo un estado de hipogonadismo.

En la actualidad, la terapia insulínica permite mejorar el control metabólico y la función reproductiva en mujeres diabéticas. No obstante, están emergiendo complicaciones relativas al control de la diabetes contemporánea que tienen su origen en la acción de la insulina sobre el ovario. El exceso de insulina provoca fundamentalmente hiperandrogenismo, ovarios poliquísticos y aumento excesivo de peso.

Asimismo, la DM1 se asocia frecuentemente a otras enfermedades autoinmunes como la enfermedad tiroidea autoinmune (15-30%), la enfermedad celíaca (4-9%) y la enfermedad de Addison (0,5%). Si bien el hipotiroidismo constituye un factor predictor de infertilidad, curiosamente las mujeres con DM1 e hipotiroidismo presentan tasas de nacidos vivos y fertilidad más altas en comparación con aquellas sin hipotiroidismo, probablemente en relación a una terapia de reemplazo de tiroxina adecuada.

CONCLUSIONES

La DM constituye una potencial causa de infertilidad en el hombre y mujer diabéticos. El debut a edades cada vez más tempranas implica la existencia de un número creciente de personas con diabetes en edad reproductiva, comprometiendo la fertilidad a través de diversos mecanismos interrelacionados entre sí. Un control glucémico adecuado es clave para el mantenimiento de las funciones endocrino-metabólicas fisiológicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbade RCF, Fernandes A, Zantut-Wittmann DE, Parisi MCR, Pavin EJ. Type 1 diabetes mellitus associated or not with primary hypothyroidism and women's fertility. *Gynecol Endocrinol.* 2020; 36(2): 126-130.
2. Abbasihormozi SH, Babapour V, Kouhkan A, Niasari Naslji A, Afraz K, Zolfaghary Z et al. Stress Hormone and Oxidative Stress Biomarkers Link Obesity and Diabetes with Reduced Fertility Potential. *Cell J.* 2019; 21(3): 307-313.
3. Alves MG, Martins AD, Cavaco JE, Socorro S, Oliveira PF. Diabetes, insulin-mediated glucose metabolism and Sertoli/blood-testis barrier function. *Tissue Barriers.* 2013; 1(2): e23992.
4. Alves MG, Martins AD, Rato L, Moreira PI, Socorro S, Oliveira PF. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1832(5):626-35.
5. Alves MG, Martins AD, Vaz CV, Correia S, Moreira PI, Oliveira PF, Socorro S. Metformin and male reproduction: effects on Sertoli cell metabolism. *Br J Pharmacol.* 2014; 171(4):1033-42.

6. Aybek H, Aybek Z, Rota S, Sen N, Akbulut M. The effects of diabetes mellitus, age, and vitamin E on testicular oxidative stress. *Fertil Steril*. 2008; 90(3): 755-60.
7. Barkabi-Zanjani S, Ghorbanzadeh V, Aslani M, Ghali-bafsabbaghi A, Chodari L. Diabetes mellitus and the impairment of male reproductive function: Possible signaling pathways. *Diabetes Metab Syndr*. 2020; 14(5):1307-1314.
8. Basmatzoglou T, Hatziveis K. Diabetes Mellitus and Influences on Human Fertility. *Int. J. Caring Sci*. 2016; 9(1): 371-379.
9. Bisconti M, Simon JF, Grassi S, Leroy B, Martinet B, Arcolia V, Isachenko V, Hennebert E. Influence of risk factors for male infertility on sperm protein composition. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(23): 13164.
10. Burruchaga A, Ávila P, Ré M, Costanzo S. Fertility alterations in men with type 1 and 2 diabetes. *SAD*. 2014; 48(3): 103-119.
11. Condorelli RA, La Vignera S, Mongioi LM, Alamo A, Calogero AE. Diabetes mellitus and infertility: different pathophysiological effects in type 1 and type 2 on sperm function. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 25; 9:268.
12. Deshpande PS, Gupta AS. Causes and Prevalence of Factors Causing Infertility in a Public Health Facility. *J Hum Reprod Sci*. 2019; 12(4): 287-293.
13. Dias TR, Alves MG, Rato L, Casal S, Silva BM, Oliveira PF. White tea intake prevents prediabetes-induced metabolic dysfunctions in testis and epididymis preserving sperm quality. *J Nutr Biochem*. 2016; 37: 83-93.
14. Ding GL, Liu Y, Liu ME, Pan JX, Guo MX, Sheng JZ, Huang HF. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian J Androl*. 2015; 17(6):948-53.
15. Facondo P, Di Lodovico E, Delbarba A, Anelli V, Pezzaioli LC, Filippini E et al. The impact of diabetes mellitus type 1 on male fertility: Systematic review and meta-analysis. *Andrology*. 2022; 10(3):426-440.
16. Gandhi J, Dagur G, Warren K, Smith NL, Sheynkin YR, Zumbo A, Khan SA. The role of diabetes mellitus in sexual and reproductive health: an overview of pathogenesis, evaluation, and management. *Curr Diabetes Rev*. 2017; 13(6): 573-581.
17. Griffeth RJ, Bianda V, Nef S. The emerging role of insulin-like growth factors in testis development and function. *Basic Clin Androl*. 2014; 18; 24:12.
18. He Z, Yin G, Li QQ, Zeng Q, Duan J. Diabetes Mellitus Causes Male Reproductive Dysfunction: A Review of the Evidence and Mechanisms. *In Vivo*. 2021; 35(5): 2503-2511.
19. Lee J, Lee HC, Kim SY, Cho GJ, Woodruff TK. Poorly-Controlled Type 1 Diabetes Mellitus Impairs LH-LHCGR Signaling in the Ovaries and Decreases Female Fertility in Mice. *Yonsei Med J*. 2019; 60(7): 667-678.
20. Leisegang K, Sengupta P, Agarwal A, Henkel R. Obesity and male infertility: Mechanisms and management. *Andrologia*. 2021; 53(1): e13617.
21. Lin YH, Chen KJ, Peng YS, Chen PC, Yang YH. Type 1 diabetes impairs female fertility even before it is diagnosed. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018; 143:151-158.
22. Mallidis C, Agbaje I, Rogers D, Glenn J, McCullough S, Atkinson AB et al. Distribution of the receptor for advanced glycation end products in the human male reproductive tract: prevalence in men with diabetes mellitus. *Hum Reprod*. 2007; 22(8): 2169-77.
23. Maresch CC, Stute DC, Alves MG, Oliveira PF, de Kretser DM, Linn T. Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2018; 24(1): 86-105.
24. Martins AD, Majzoub A, Agawal A. The metabolic syndrome and male infertility. *World J Mens Health*. 2019; 37(2): 113-127.
25. Mazur-Bialy IA. Asprosin-A fasting-induced, glucogenic, and orexigenic adipokine as a new promising player. Will it be a new factor in the treatment of obesity, diabetes, or infertility? A review of the literature. *Nutrients*. 2021; 14;13(2): 620.
26. Ou XH, Zhu CC, Sun SC. Effects of obesity and diabetes on the epigenetic modification of mammalian gametes. *J Cell Physiol*. 2019; 234(6): 7847-7855.
27. Pavlinkova G, Margaryan H, Zatecka E, Valaskova E, Elzeinova F, Kubatova A, et al. Transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes-induced male subfertility. 2017; 7(4940).
28. Rato L, Duarte AI, Tomás GD, Santos MS, Moreira PI, Socorro S, Cavaco JE, Alves MG, Oliveira PF. Pre-diabetes alters testicular PGC1- α /SIRT3 axis modulating mitochondrial bioenergetics and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1837(3): 335-44.
29. Sengupta P, Dutta S, Karkada IR, Chinni SV. Endocrinopathies and male infertility. *Life (Basel)*. 2021; 12(1):10.
30. Steve Harakeh, Mohammed Qari, Nisreen Rajeh, Soad Ali, Nagla El-Shitany, Saber Hassan et al. Ellagic acid Nanoparticles Attenuate Oxidative Stress and Testicular Damage in High Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J. King Saud Univ. Sci*. 2021; 34(2).
31. Temidayo SO, du Plessis S. Diabetes mellitus e infertilidad masculina. *Asian Pac. J. Reprod*. 2018; 7(1): 6-14
32. Thong EP, Codner E, Laven JSE, Teede H. Diabetes: a metabolic and reproductive disorder in women. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020; 8(2):134-149. *Sci Rep*. 2017; 7(4940).
33. Zaidi AA, Khan MA, (Sharif A, Shakir L, Irshad A, Ali A. Comparative study of sperm motility in Metformin-using and Insulin-dependent diabetics. *Biomed. Res. Ther*. 2017; 4(6): 1388-1399.