

Polimorfismo Ser326Cis de la 8-oxoguanina ADN glucosilasa 1 (OGG1) en hombres con teratozoospermia

Daniel A. Torres-Ramírez¹, Saúl I. Fernández-Espitia² y Virginia Sánchez-Monroy^{1*}

¹Escuela Superior de Medicina, Sección de Posgrado e Investigación; ²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México

Resumen

Antecedentes: El incremento seminal de especies reactivas de oxígeno (ERO) se ha vinculado con la oxidación del ADN y anomalías en la morfología espermática. La enzima 8-oxoguanina ADN glucosilasa 1 (OGG1) repara la oxidación del ADN. Sin embargo, la presencia del polimorfismo en la OGG1 que involucra cambio de citocina (C) por guanina (G), resultando la sustitución de una cisteína por una serina en el codón 326 (Ser326Cis), ha demostrado disminución en la reparación del ADN oxidado. Estudios del polimorfismo Ser326Cis en hombres españoles y asiáticos con infertilidad demostraron que el alelo G(Cis) incrementa las ERO, impactando en la infertilidad y en la teratozoospermia. **Objetivo:** Conocer la prevalencia del polimorfismo Ser326Cis de OGG1 en pacientes con teratozoospermia. **Método:** Se analizaron parámetros espermáticos y el polimorfismo Ser326Cis de OGG1 de 81 muestras de semen con teratozoospermia. **Resultados:** Los genotipos detectados fueron Ser326Ser(CC) 43%, Ser326Cis(CG) 41% y Cis326Cis(GG) 16%. La frecuencia del alelo G(Cis) fue de 0.4, valor mayor a la frecuencia reportada en las bases de datos disponibles para poblaciones americanas (0.21-0.29), los parámetros espermáticos no se relacionaron con el polimorfismo Ser326Cis. **Conclusión:** El alelo G(Cis) es un factor que contribuye a la infertilidad.

Palabras clave: Polimorfismo. Infertilidad. Teratozoospermia.

Ser326Cys polymorphism of 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (OGG1) in men with teratozoospermia

Abstract

Background: The increase in seminal reactive oxygen species (ROS) has been linked to DNA oxidation and abnormalities in sperm morphology. The enzyme 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (OGG1) repairs DNA oxidation. However, the presence of the polymorphism in OGG1 that involves a change of cytosine (C) to guanine (G) resulting in the substitution of a cysteine for serine at codon 326 (Ser326Cys) has shown a decrease in the repair of oxidized DNA. Studies of the Ser326Cys polymorphism in Spanish and Asian men with infertility demonstrated that the G(Cys) allele increases ROS, impacting infertility and teratozoospermia. **Objective:** To know the prevalence of the Ser326Cys polymorphism of OGG1 in patients with teratozoospermia. **Method:** Sperm parameters and the Ser326Cys polymorphism of OGG1 were analyzed from 81 semen samples. **Results:** The genotypes detected were Ser326Ser(CC) 43%, Ser326Cys(CG) 41%, and Cys326Cys(GG) 16%. The frequency of the G allele (Cys) was 0.4, a value higher than the frequency reported in the databases available for American populations (0.21-0.29), the sperm parameters were not related to the Ser326Cys polymorphism. **Conclusion:** The G (Cys) allele is a factor that contributes to infertility.

Keywords: Polymorphism. Infertility. Teratozoospermia.

*Correspondencia:

Virginia Sánchez-Monroy

E-mail: vickysm17@hotmail.com

Fecha de recepción: 11-02-2024

Fecha de aceptación: 19-03-2024

DOI: 10.24875/PER.24000003

Disponible en internet: 17-05-2024

Perinatol Reprod Hum. 2024;38(1):7-11

www.perinatologia.mx

0187-5337/© 2024. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La infertilidad es un problema que afecta a millones de personas en el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la infertilidad como la imposibilidad de conseguir un embarazo después de 12 meses o más de tener relaciones sexuales sin protección¹. En esta investigación se abordará la infertilidad masculina, en la que se ha considerado la baja calidad del semen como una de las principales causas de su etiología². Un parámetro importante que determina la calidad del semen es la morfología del espermatozoide. De acuerdo con la OMS, la teratozoospermia se define como la alteración caracterizada por un porcentaje de espermatozoides con morfología normal menor al 4%^{3,4}.

Algunos trabajos de investigación han reportado que las anomalías en la morfología espermática se vinculan a una concentración alta de especies reactivas de oxígeno (ERO)⁵. Se ha documentado que los espermatozoides pueden crear ERO, las cuales en niveles adecuados tienen un impacto positivo en la capacitación de los espermatozoides, así como en variedad de sus procesos, pero cuando hay una generación excesiva de ERO se presenta un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes que genera estrés oxidativo (EO). En pacientes teratozoospermicos se ve elevada una subclase de las enzimas NADPH oxidasas (NOX5), las cuales se cree que están relacionadas con la producción de ERO por los espermatozoides. Asimismo, el papel de los antioxidantes en este contexto es de suma importancia, ya que ayudarán al correcto funcionamiento de los espermatozoides. Un claro ejemplo es la ingesta en la dieta de la vitamina C, la cual tiene una protección en el daño del ADN de los espermatozoides, otro ejemplo es el zinc, el cual tiene efectos que se correlacionan positivamente con la motilidad y el recuento de espermatozoides⁶. El EO como resultado de la teratozoospermia puede generar en los pacientes una oxidación de sus moléculas, incluyendo ADN que posteriormente puede fragmentarse y desnaturalizarse⁷. Las oxidaciones al ADN espermático son más frecuentes en las bases nitrogenadas, de las cuales la guanina es la más afectada⁸. Estas reacciones a la guanina crean una base modificada denominada 8-hidroxí-2'-desoxiguanosina (8-OHdG); esta molécula se considera un marcador de daño oxidativo confiable⁹. El organismo tiene mecanismos de protección contra la 8-OHdG mediante una reparación a cargo de la enzima 8-oxoguanina ADN glucosilasa 1 (OGG1). Se han descrito polimorfismos del gen que codifican para la OGG1 afectando su actividad dejando al organismo vulnerable

a problemas oxidativos. El polimorfismo más común descrito es la modificación de C por G en el nucleótido 1245, lo que da como resultado un cambio en la cadena de aminoácidos, de una cisteína por una serina en el codón 326 (*Ser326Cis*) que compromete la función de la enzima y el control de las ERO¹⁰.

Algunos reportes han evaluado la prevalencia del polimorfismo en poblaciones de varones asiáticos y europeos con problemas de infertilidad¹¹⁻¹³, estos han concluido que el genotipo *Cis326Cis* incrementa EO, por lo tanto, puede impactar en la infertilidad. En la población mexicana actualmente no hay reportes que analicen la variante en varones infértiles con teratozoospermia, por lo que el objetivo de este trabajo es conocer la prevalencia del polimorfismo *Ser326Cis* de la OGG1 en una población de pacientes con teratozoospermia.

Método

Población de estudio

Se diseñó un estudio transversal que incluyó a 81 hombres seleccionados durante consultas de infertilidad entre enero de 2016 y noviembre de 2019 en el Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología de la Secretaría de la Defensa Nacional (SE-DENA) en la Ciudad de México. Los criterios de inclusión fueron hombres que asistían al hospital para investigar la infertilidad conyugal. Se excluyeron los hombres que estaban bajo terapia farmacológica y aquellos con testículos no descendidos, varicocele u otras anomalías estructurales.

La aprobación ética y el consentimiento informado fueron otorgados por el Comité Ético de Investigación Humana Institucional del hospital. Todos los pacientes fueron informados sobre los objetivos de la investigación y aceptaron voluntariamente participar, firmando un consentimiento informado. Se aplicaron la Declaración de Helsinki y la Norma Oficial Mexicana (NOM-012-SSA3-2012).

Recolección de muestras

Se obtuvieron muestras de semen de todos los participantes por masturbación después de dos a siete días de abstinencia sexual y se permitió la licuefacción durante 30 minutos a 37 °C. Se realizaron pruebas semiológicas y se evaluaron los parámetros de esperma de acuerdo con las guías del Manual de Laboratorio de la OMS⁴. Las muestras se almacenaron a 4 °C para extraer ácidos nucleicos.

Evaluación del polimorfismo Ser326Cis

El polimorfismo se evaluó mediante análisis de discriminación alélica (Applied Biosystems). La confirmación del genotipo se realizó mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) con cebadores específicos: sentido 5'TTCCACCTCCCAACTGTCA-3' y antisentido 5'TGCCTGGCCTTTGAGGTAGT3'. Los productos de PCR se secuenciaron con el kit ABI Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems).

Análisis estadístico

Los genotipos y alelos se expresaron en frecuencia (%). Se utilizó estadística descriptiva para la comparación de los parámetros seminales. Los datos se expresaron como medias \pm error estándar para distribución normal y medianas y percentiles (25, 75), para distribución anormal. Para comparar grupos, se aplicaron la prueba estadística paramétrica de análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba estadística no paramétrica de análisis de varianza de rangos de Kruskal-Wallis. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

Resultados

En este estudio se evaluó la prevalencia del polimorfismo Ser326Cis para el gen OGG1 en un grupo de pacientes con teratozoospermia. Los genotipos detectados se muestran en la figura 1 y sus frecuencias genéticas se resumen en la tabla 1. Los datos indicaron que la distribución genotípica de la variante se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg. En la tabla 2 se resumen los valores de los parámetros espermáticos por genotipos, en los que no se detectó diferencia significativa de los parámetros espermáticos entre los genotipos ($p > 0.05$).

Discusión

Este estudio evaluó la prevalencia del polimorfismo Ser326Cis del gen OGG1 en una población de pacientes con teratozoospermia. Los genotipos detectados mostraron frecuencias genéticas que revelaron que se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg, indicando que la población era estable. Respecto al alelo G(-Cis), otros estudios que han analizado a poblaciones asiáticas y españolas detectaron frecuencias mayores del alelo cuando comparan población de fértiles y no

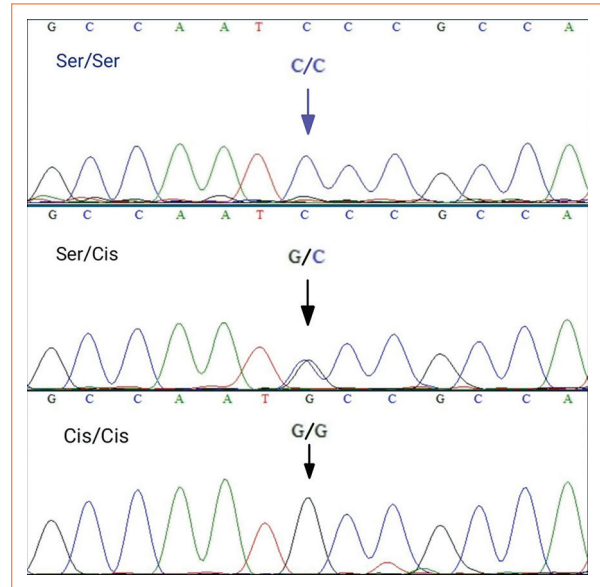


Figura 1. Electroferograma representativo de un fragmento de la reacción en cadena de polimerasa secuenciado por la técnica de Sanger. Se muestran los tres genotipos detectados en el estudio, se indica con la flecha el cambio de un solo nucleótido, denotando también el cambio del aminoácido en la proteína.

Tabla 1. Análisis del polimorfismo Ser326Cis en la población de estudio

Genotipos	Ser326Ser (CC) N (%)	Ser326Cis (CG) N (%)	Cis326Cis (GG) N (%)
Frecuencia observada	35 (43)	33 (41)	13 (16)
Frecuencia esperada	33 (41)	37 (46)	11 (13)
La distribución genotípica se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg (χ^2 : 1.172; P = 0.279)			
Frecuencia alélica			
Alelo C	51.5 (60)		
Alelo G	29.5 (40)		

fértiles¹¹⁻¹³. Sin embargo, en este estudio la frecuencia se comparó con las frecuencias de las bases de datos disponibles en el Centro Nacional de Información de Biotecnología de los Estados Unidos, las cuales analizan las frecuencias ancestrales en diferentes poblaciones. El proyecto ALFA (*Allele Frequency Aggregator*)¹⁴ y Hapmap (*Haplotype map*)¹⁵ reportan frecuencias del alelo G(Cis) en el rango de 0.21-0.29 para poblaciones americanas, lo que representa valores mas bajos a la

Tabla 2. Análisis de parámetros espermáticos por genotipos

Genotipos	<i>Ser326Ser</i> (CC) n = 35	<i>Ser326Cis</i> (CG) n = 33	<i>Cis326Cis</i> (GG) n = 13	p
Volumen (ml)	3.2 (2.7-4.5)	2.8 (2.5-3.7)	2.2 (1.9-4.3)	0.137
Número total de espermatozoides	67.0 (30-122)	93 (52-159)	50 (37-96)	0.347
pH	8.0 (7.0-8.0)	8.0 (7.0-8.0)	8.0 (7.0-8.0)	0.604
Motilidad (%)	35 ± 21.3	42 ± 20	43 ± 23	0.803
Morfología normal (%)	2.0 (1.0-3.0)	2.0 (2.0-3.0)	2.0 (2.0-2.5)	0.800

Los datos distribuidos normalmente se dan como media y desviación estándar; los datos asimétricos se dan como mediana y percentiles (25, 75). Estadísticamente significativo si $p < 0.05$.

población estudiada aquí (0.4), lo que sugiere que el alelo G(Cis) pudiera estar contribuyendo al problema de infertilidad asociado a la teratozoospermia.

Respecto a los parámetros espermáticos y los genotipos, en contraste a otros autores que demostraron que los pacientes infértiles portadores de la variante G(Cis) presentan menor número de espermias normales¹¹, en este estudio no se encontró diferencia entre los genotipos, con parámetros espermáticos. Este resultado puede estar contribuyendo a la infertilidad, sin embargo, el número bajo de muestras analizadas pudiera estar enmascarando la asociación con alguna característica espermática.

En conclusión, la presencia de frecuencia alta para el polimorfismo *Ser326Cis* de *OGG1* en pacientes con teratozoospermia sugiere contribución al problema de infertilidad, sin embargo, se requiere incrementar el tamaño de muestra para comprobar hallazgo de asociación con alguna característica espermática o severidad de teratozoospermia.

Agradecimientos

A los especialistas Juan Manuel Carbonel Campos y José Cruz Miranda Covarrubias por su asistencia técnica durante el estudio.

Financiamiento

El trabajo fue financiado por el Instituto Politécnico Nacional, Proyecto SIP20230328.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Uso de inteligencia artificial para generar textos. Los autores declaran que no han utilizado ningún tipo de inteligencia artificial generativa en la redacción de este manuscrito ni para la creación de figuras, gráficos, tablas o sus correspondientes pies o leyendas.

Bibliografía

- Organización Mundial de la Salud. Infertilidad [Internet] Organización Mundial de la Salud [citado: 17 de febrero de 2024]. Disponible en: https://www.who.int/es/health-topics/infertility#tab=tab_1
- Assidi M. Infertility in men: advances towards a comprehensive and integrative strategy for precision therapeutics. *Cells*. 2022;11(10):1711.
- Sierra EMS, Hernández JRO, Campos AA, Martínez LL, Rodríguez SHS. Alteraciones en el semen de pacientes con problemas de infertilidad. *Arch Med*. 2014;10(1):1-17.
- World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 6th ed. Ginebra, Suiza: WHO Press; 2021.
- Agarwal A, Tvrda E, Sharma R. Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;12:45.
- Aitken RJ, Drevet JR, Moazamian A, Gharagozloo P. Male infertility and oxidative stress: a focus on the underlying mechanisms. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(2):306.
- Oumaima A, Tesnim A, Zohra H, Amira S, Ines Z, Sana C, et al. Investigation on the origin of sperm morphological defects: oxidative attacks, chromatin immaturity, and DNA fragmentation. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018;25(14):13775-86.
- Klungland A, Bjelland S. Oxidative damage to purines in DNA: role of mammalian OGG1. *DNA repair (Amst)*. 2007;6(4):481-8.
- Caballero-Sánchez MD, Hernández Cruz PA, Hernández-Juárez J, Fernández-Rojas B. La expresión de 8-hidroxil 2'-desoxiguanosina en el cáncer. *Tequilo*. 2022;5(15):31-40.

10. Jensen A, Lohr M, Eriksen L, Gronbaek M, Dorry E, Loft S et al. Influence of the OGG1 Ser326Cys polymorphism on oxidatively damaged DNA and repair activity. *Free Radic Biol Med.* 2012;52(1):118-25.
11. Chen SS, Chiu LP. The hOGG1 Ser326Cys polymorphism and male subfertility in Taiwanese patients with varicocele. *Andrologia.* 2018;50(5):e13007.
12. Ji G, Yan L, Liu W, Qu J, Gu A. OGG1 Ser326Cys polymorphism interacts with cigarette smoking to increase oxidative DNA damage in human sperm and the risk of male infertility. *Toxicol Lett.* 2013;218(2):144-9.
13. Garcia-Rodríguez A, de la Casa M, Serrano M, Gosálvez J, Roy Barcelona R. Impact of polymorphism in DNA repair genes OGG1 and XRCC1 on seminal parameters and human male infertility. *Andrologia.* 2018;50(10):e13115.
14. Phan L, Jin Y, Zhang H, Qiang W, Shekhtman E, Shao D, et al ALFA: Allele Frequency Aggregator [Internet]. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine; 10 de marzo de 2020. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/docs/gsr/alfa
15. International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature.* 2003;426(6968):789-96.