



Revisión

Factores nutricionales y no nutricionales pueden afectar la fertilidad masculina mediante mecanismos epigenéticos

Nutritional and non-nutritional factors may affect male infertility through epigenetic mechanisms

Maria Oliver Bonet¹ y Núria Mach^{1,2}

¹Àrea de Ciències de la Salut. Institut Internacional de Postgrau de la Universitat Oberta de Catalunya (UOC). Barcelona, España. ²INRA, Animal Genetics and Integrative Biology Unit. Jouy-en-Josas, Francia

Resumen

Introducción: la infertilidad es un problema global en aumento. Se estima que aproximadamente un 15% de las parejas en edad reproductiva tiene dificultades a la hora de concebir. De estas, alrededor de la mitad presentan uno o varios factores masculinos asociados a infertilidad o subfertilidad, aislados o en combinación con problemas de origen femenino. Durante la última década se ha empezado a estudiar la infertilidad desde una perspectiva multifactorial, considerando las interacciones y conexiones entre diferentes situaciones genéticas, epigenéticas, bioquímicas y fisiológicas del paciente.

Objetivo: la presente revisión pretende describir mecanismos epigenéticos que pueden ser modulados mediante aspectos nutricionales y que están relacionados con la etiología de la infertilidad masculina y con la herencia transgeneracional de este fenotipo.

Material y métodos: se ha realizado una extensa búsqueda de publicaciones científicas en las principales bases de datos electrónicas especializadas: NBCI, Elsevier, Scielo, Scirus y Science Direct.

Resultados y conclusión: varios trabajos que muestran la importancia del estado nutricional en la fertilidad del hombre y, más específicamente, la capacidad de los componentes de la dieta para modificar los perfiles epigenéticos que no únicamente pueden afectar a su fertilidad, sino que también pueden ser transmitidos a la descendencia mediante lo que se ha denominado herencia transgeneracional, ocasionándoles problemas de salud diversos entre los que también se hallan problemas en la fertilidad.

Palabras clave:

Infertilidad masculina.
Epigenética.
Nutrición.

Abstract

Introduction: Infertility rate is globally increasing. It is estimated that approximately 15% of couples in reproductive age have troubles conceiving. Half of these couples present with problems related to male infertility or subfertility, alone or in combination with female problems. During the last decade, infertility has been studied from a multifactorial perspective, which includes interactions between different genetics, epigenetics, biochemical and physiological situations of the patients.

Objective: The present review aims to describe epigenetic mechanisms that can be modulated by nutritional aspects and which are related to the aetiology of male infertility and transgenerational inheritance.

Materials and method: Extensive search of scientific publications was performed in specialized electronic databases: NBCI, Elsevier, Scielo, Scirus and Science Direct.

Results and conclusion: Several published works have shown the importance of nutritional status in man's fertility, and more specifically, the ability of diet components to modify the epigenetic profiles, affecting not only their fertility, but also increasing the possibility to be transmitted to the offspring. This mechanism has been called transgenerational inheritance.

Key words:

Male infertility.
Epigenetics. Nutrition.

Recibido: 12/10/2015
Aceptado: 02/11/2015

Oliver Bonet M, Mach N. Factores nutricionales y no nutricionales pueden afectar la fertilidad masculina mediante mecanismos epigenéticos. Nutr Hosp 2016;33:1236-1244

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.591>

Correspondencia:

Núria Mach. INRA, Animal Genetics and Integrative Biology Unit. Jouy-en-Josas, Francia
e-mail: nuria.mach@jouy.inra.fr

INTRODUCCIÓN

La infertilidad es una condición multifactorial y patológica que afecta aproximadamente al 15% de las parejas en edad reproductiva (1). Se define como la incapacidad de una pareja de conseguir o completar un embarazo de forma espontánea tras un periodo de un año manteniendo relaciones sexuales sin medidas anticonceptivas (2). Aproximadamente en el 40-50% de los casos la causa de la infertilidad es atribuible, total o parcialmente, al varón (3). La infertilidad masculina es un trastorno multifactorial y poligénico, donde interaccionan factores genéticos y epigenéticos con factores ambientales (Tabla I). Una revisión del año 2007 (4) indicaba que la infertilidad asociada a causas genéticas se presenta aproximadamente en un 15% de los varones infértiles. Hasta el presente, se conocen más de 139 variantes genéticas asociadas con infertilidad masculina, aunque estas solo repre-

sentan una fracción muy pequeña de los 2.300 genes asociados con la espermatogénesis (5). Sin embargo, estos estudios con marcadores genéticos no pueden dar cuenta completamente de la heredabilidad de la infertilidad masculina. Esto puede ser, en parte, debido a la naturaleza poligénica de la infertilidad masculina, en donde diferentes variantes de la secuencia de ADN ejercen un pequeño efecto y por las cuales se necesita una población de análisis muy amplia para detectarla o debido a las modificaciones y alteraciones epigenéticas (Fig. 1). Se puede definir epigenética como la herencia de la actividad del ADN que no depende de la secuencia *per se* sino de las modificaciones químicas del ADN y de las proteínas reguladoras adyacentes (6). Las marcas epigenéticas más conocidas son la adición de un grupo metilo al ADN en la citosina del dinucleótido CpG en sentido 5'-3' (6). En el varón, las metilaciones del ADN son especialmente importantes durante la espermatogénesis, la cual consiste en una serie coordinada de

Tabla I. Causas de la infertilidad masculina

Causas	Descripción	Ejemplos
Genéticas	Anomalías genéticas asociadas con alteraciones de la fertilidad	Aneuploidías de los cromosomas sexuales; mutaciones en genes implicados en espermatogénesis (<i>SYCP3, TEX11, AZFc, NR5A1...</i>)
Epigenéticas	Anomalías en el epigenoma, asociadas a exposición a factores ambientales, que causan infertilidad o subfertilidad	Exposición durante la etapa adulta a hábitos de vida o tóxicos ambientales que producen alteraciones en el epigenoma
Epigenética: herencia transgeneracional	Fenotipos alterados en la descendencia debida a epimutaciones en la línea germinal del progenitor	Exposición durante el desarrollo o la etapa adulta a tóxicos ambientales (vinclozina, BPA, DTT, metoxiclorina) que pueden provocar alteraciones en el epigenoma del espermatozoide
Hábitos de vida/exposición ocupacional	Hábitos o exposiciones que causan alteraciones en la fertilidad del individuo, potencialmente reversibles	Incremento constante de la temperatura escrotal (sauna, uso de ropa interior ajustada...); obesidad; tabaquismo; uso de drogas; exposición a insecticidas, pesticidas o contaminantes orgánicos

Adaptada de la referencia 58.

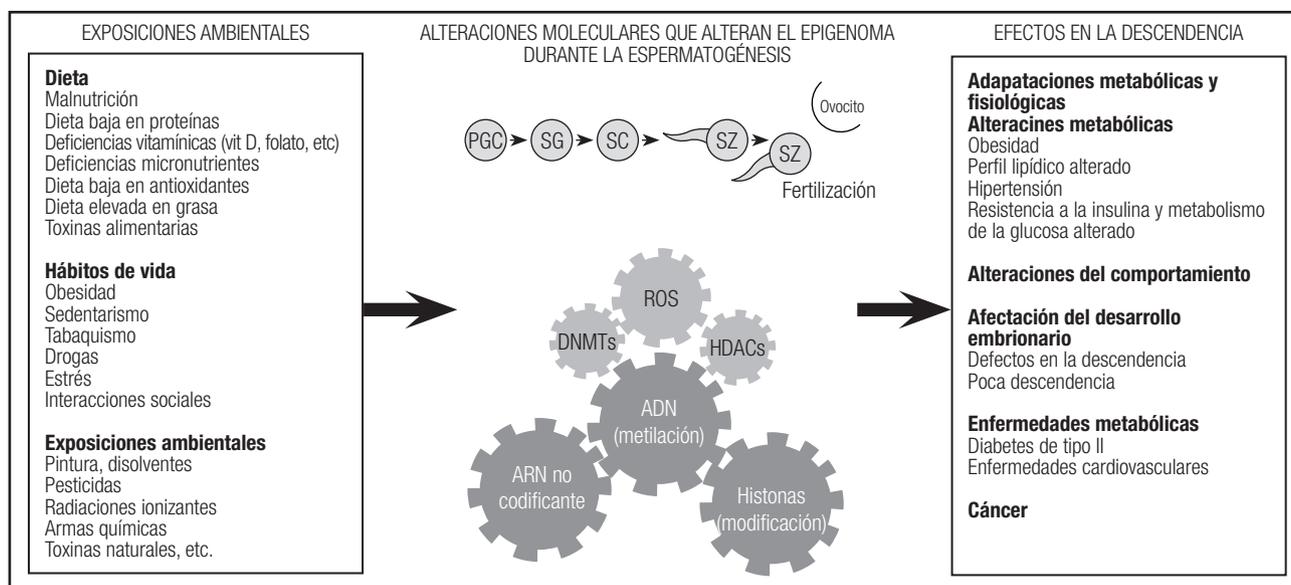


Figura 1.

Epigenoma del espermatozoide: el mensajero de experiencias y exposiciones ancestrales (55).

eventos que empiezan con la división por meiosis de la espermatogonia, la cual produce espermátidas haploides, seguida, de un proceso de diferenciación de las espermátidas a espermatozoides maduros (7). Por ejemplo, patrones aberrantes de metilación en los genes de las células germinales masculinas (*e.g.* gen *MTHFR*, del inglés *Methylene tetrahydrofolate reductase*) resultan en procesos de embriogénesis alteradas y en alteraciones en la capacidad fertilizante de los individuos afectados (8). Otra marca epigenética estudiada es la modificación de las proteínas llamadas histonas. En general, las modificaciones que pueden padecer las histonas incluyen acetilaciones, metilaciones, ubiquitinizaciones, sumolaciones y fosforilaciones. Aunque la presencia de histonas en el espermatozoide maduro es muy inferior a la de las células somáticas (9), su metilación temporal es esencial para la progresión de la espermatogénesis. Así por ejemplo, una reducción en la actividad de la enzima H3K4 metiltransferasa en la histona H3 provoca una disminución muy importante del número de espermatozoides, mediada por procesos de apoptosis, que culmina en una interrupción de la espermatogénesis (10). Recientemente se ha descubierto que la actividad anormal de los pequeños ARN no codificantes (ARN de ~22 nucleótidos, sncARN), así como los ARN no codificantes de cadena larga, y los ARN antisentido, entre otros, pueden alterar la espermatogénesis o producir retrasos importantes en el desarrollo embrionario (11).

Los cambios epigenéticos presentan una gran plasticidad y responden a las señales ambientales, incluyendo la dieta. Se ha demostrado que la ingestión de grasa saturada en varones ejerce no solamente una actividad lipémica y aterogénica mediante la regulación de la expresión de diferentes genes asociados con el sistema inmunológico y el metabolismo energético, sino también mediante la inducción de cambios en el patrón de metilación de islas CpG del ADN de genes como *IGF2* (12), y la modulación de la expresión de algunos microARN (por ejemplo, miR-122) en adultos (microARN que, a su vez, están asociados con la gametogénesis masculina) (13). Además, se sabe también que los componentes de la dieta pueden modular la disponibilidad de grupos metil para las reacciones de metilación (7). Hasta el momento, son pocos los estudios que describen el efecto de la ingestión de diferentes tipos de nutrientes sobre las modi-

ficaciones epigenéticas y la expresión de los genes asociados con la fertilidad masculina. Existe, pues, la necesidad de contrastar los datos públicos e ilustrar la relación entre la ingestión de ciertos nutrientes, especialmente micronutrientes y grasas saturadas, y las modificaciones epigenéticas asociadas con la fertilidad masculina. Así, el objetivo del presente estudio es realizar una revisión de los estudios más recientes para describir mecanismos epigenéticos, especialmente la metilación del ADN, modificación de las histonas y rol de los ARN no codificantes, que pueden ser modulados mediante aspectos nutricionales y que están relacionados con la etiología de la infertilidad masculina y con la herencia transgeneracional de este fenotipo.

MÉTODOS

Para la realización de esta revisión se seleccionaron artículos publicados antes del 1 de julio de 2015 y que se encontraron al realizar diversas búsquedas en PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). Los datos utilizados se extrajeron de los artículos seleccionados, así como artículos secundarios identificados durante la lectura de estos. Las palabras clave utilizadas durante las diferentes búsquedas realizadas fueron: “male infertility”, “male infertility and genetics”, “male infertility and obesity”, “male infertility and diet”, “epigenetics”, “male infertility and epigenetics” y “obesity and epigenetics”.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El epigenoma puede alterarse dependiendo de las condiciones ambientales a las que esté expuesto el individuo. Esto puede provocar alteraciones en la fertilidad del individuo, y es posible que la descendencia de estos individuos pueda desarrollar patologías que vendrán determinadas por el epigenoma heredado (14). En la tabla II se presentan los genes más importantes en los que se han detectado alteraciones epigenéticas en individuos infértiles, mientras que en la tabla III se precisan las funciones de las principales enzimas modificadoras del epigenoma durante

Tabla II. Lista de modificaciones epigenéticas encontradas en varones infértiles

Gen/proteína	Alteración e infertilidad masculina
<i>MTHFR</i>	Hipermetilación resulta en baja calidad espermática e infertilidad
<i>PAX8, NTF3, SFN, HRAS</i>	Hipermetilación se asocia a baja concentración espermática, movilidad y morfologías anormales
<i>JHM2DA</i>	<i>Knockouts</i> resultan en un mal empaquetamiento del ADN y pueden ocasionar infertilidad
<i>IGF2*, H19*</i>	Hipometilación se asocia a baja concentración espermática
<i>RASGRF1*</i>	Hipermetilación de la región imprintada se asocia a parámetros seminales alterados
<i>GTL2*</i>	Hipermetilación de la región imprintada se asocia a parámetros seminales alterados
<i>PLAG1*, D1RAS3*, MEST*</i>	Hipermetilación de la región imprintada se asocia a parámetros seminales alterados
<i>KCNQ1*, LIT1*, SNRPN*</i>	Hipermetilación de la región imprintada se asocia a parámetros seminales alterados

*Genes con impronta genética. Adaptada de la referencia 59.

Tabla III. Funciones de las principales enzimas modificadoras del epigenoma durante la espermatogénesis y efecto fenotípico de su disfunción en modelo animal

Gen / proteína	Función	Fenotipo (referencia)
<i>MTHFR</i>	Mantenimiento del <i>pool</i> de los donantes de grupo metilo	Infertilidad
<i>DNMT1</i>	Mantenimiento de la metilación del ADN	Esterilidad
<i>DNMT3L</i>	Cofactor <i>DNMT3a</i>	Esterilidad
<i>SWI/SNF, ISWI</i>	Remodelación de la cromatina	Infertilidad
<i>JHDM2A</i>	Remodelación de la cromatina	Infertilidad
<i>G9a</i>	Metilación de las histonas	Esterilidad
<i>MI2 (HMT)</i>	Metilación de las histonas	Esterilidad
<i>LSD1/KDM1</i>	Desmetilación de las histonas	Infertilidad
<i>HATs</i>	Acetilación de las histonas	Subfertilidad y posible azoospermia en humanos
<i>MYST</i>	Acetilación de las histonas	Infertilidad
<i>HDAC</i>	Deacetilación de las histonas	Esterilidad
<i>SIRT1</i>	Deacetilación de las histonas	Infertilidad

Adaptada de las referencias 11 y 60.

la espermatogénesis y las consecuencias fenotípicas de su desregulación. Los resultados detallados de estos experimentos se exponen en tres diferentes subsecciones y en función del tipo de marca epigenética, desde las metilaciones, pasando por las acetilaciones y el rol de los ARN no codantes. En el varón, estos cambios epigenéticos pueden producirse en tres niveles diferentes: a) testículos; b) epidídimo; y c) espermatozoide. A nivel testicular, los cambios epigenéticos pueden alterar los procesos de protaminación y en la cantidad y expresión de genes y ARN no codantes durante la espermiogénesis. Paralelamente, a nivel epididimal, los cambios epigenéticos pueden afectar la capacidad fecundante del individuo a través de cambios en el microambiente en el cual los espermatozoides realizan el proceso de maduración. Finalmente, estudios recientes demuestran que el espermatozoide puede transmitir también información epigenética a las generaciones siguientes (revisado en la cita bibliográfica 15 (15).

LA ALTERACIÓN DE LOS PATRONES DE METILACIÓN DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS PUEDE AFECTAR LA FERTILIDAD MASCULINA

Las marcas epigenéticas más estudiadas son la adición de un grupo metilo al ADN. Según definición de Takai y Jones (16), las islas CpG son regiones de ADN con más de 500 pares de bases,

en donde el contenido de nucleótidos G+C es igual o superior al 55% y donde el ratio entre dinucleótidos CpG observados y los dinucleótidos CpG esperados es superior a 0,65. En mamíferos, estas islas CpG se encuentran en las regiones promotoras de aproximadamente el 40% de los genes. El proceso de metilación del ADN es consecuencia de la acción de las enzimas DNMT (*DNA methyltransferase*, en inglés). Esta familia de proteínas incluye tanto miembros catalíticos, responsables de la metilación *de novo*, como proteínas encargadas del mantenimiento de estas marcas epigenéticas. Las enzimas DNMT3a, DNMT3b y DNMT3L (*DNA methyltransferase* 3a, 3b y 3L, respectivamente) son las encargadas de la metilación *de novo* en los espermatozoides de mamíferos. Las dos primeras catalizan la reacción de metilación, mientras que DNMT3L facilita la acción de DNMT3a y DNMT3b y coordina el correcto emplazamiento de las marcas de metilación (17). La importancia de la metilación para la fertilidad del individuo se demuestra en estudios realizados en ratones *knockout* para alguno de estos genes. En estos estudios, la disrupción del gene *DNMT3L* ocasiona infertilidad en el individuo portador (18) (Tabla III). Además, aunque la fertilización puede ocurrir en ausencia del correcto establecimiento y mantenimiento de la metilación del ADN, el embrión resultante es incapaz de desarrollarse adecuadamente (19). En otra serie de estudios, también realizados en modelo ratón, se analizó la función de la enzima histona demetilasa JHDM2A(20), la cual juega un papel importante tanto en infertilidad masculina como en obesidad (20). En particular, los autores de este estudio describieron cómo JHDM2A se une directamente a las regiones promotoras de dos genes vitales para el correcto empaquetamiento del ADN en el núcleo del espermatozoide: el gen *Tnp1* (proteína de transición nuclear) y el gen *Prm1* (protamina 1). La unión de JHDM2A induce su activación transcripcional al desmetilar los residuos en H3K9 (21). Si el empaquetamiento no se realiza correctamente, se altera la fertilidad (9). Además, esta enzima regula también la transcripción de genes implicados en el metabolismo de los lípidos, de manera que ratones *knockout* para esta proteína exhibían obesidad e hiperlipidemia (20). Entre los genes regulados por JHDM2A se halla PPAR α (del inglés *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha*). Finalmente, estudios realizados en humanos han demostrado que estados de hipermetilación aberrantes en determinados *loci* se relacionan con parámetros seminales alterados: baja o nula concentración espermática (oligospermia y azoospermia) y movilidad y morfología alterada (8,22) (Tabla II). Entre los genes en los que se detectó esta hipermetilación se encuentran *MEST* (21), *LIT1* (23), *KCNQ1* (23,24), *PAX8* (22), *NTF3* (22), *SFN* (22), *HRAS* (22) y *MTHFR* (8,25,26). En otro estudio, realizado en varones humanos infértiles, se demostró que niveles anormalmente elevados de metilación del promotor del gen *MTHFR* en testículo (niveles que no se correspondían con los hallados en sangre) se asocian a una mayor probabilidad de presentar infertilidad (25).

Los patrones de hipometilación en ciertos genes también pueden provocar desequilibrios en el proceso de la maduración del espermatozoide. Durante la espermatogénesis, existen procesos epigenéticos que incluyen una masiva y activa desmetilación del genoma para asegurar una reiniciación específica de sexo combi-

nando la metilación del ADN y las modificaciones de las histonas (7). Estudios realizados en ratón han demostrado que la desregulación del patrón de metilación en las células germinales puede resultar en la ausencia del vaso deferente o en azoospermia (27).

Relacionado con el nivel de metilación del ADN, encontramos el concepto de la "impronta genética" (28). El concepto describe la herencia de la información epigenética específica de uno de los progenitores. Esta impronta genética nos lleva al concepto de herencia epigenética transgeneracional. *Grosso modo*, los estudios publicados hasta la fecha indican que la herencia transgeneracional se basa en una memoria epigenética, que tal vez tenga un papel de adaptación evolutiva para la descendencia frente a condiciones ambientales adversas (15). Los padres pueden estar expuestos a cambios epigenéticos tanto en el tejido somático como en la línea germinal en respuesta a factores ambientales (p. ej., factores nutricionales o no nutricionales, tabaco, estrés, enfermedades). Estos cambios se transmiten a la descendencia y determinan un estado metabólico mejor o peor adaptado al ambiente en el cual ha vivido el padre o la madre. Si el ambiente en el que se desarrolla la descendencia es diferente a la de sus padres, el estado metabólico heredado ya no estará adaptado a las condiciones ambientales, lo que podría derivar en enfermedades metabólicas. Esta idea contrasta con la hipótesis extendida de que el patrón de metilación es completamente eliminado en las células primordiales germinales y durante las primeras etapas embrionarias, como paso necesario para su totipotenciación. Si la eliminación de la metilación fuese completa, entonces la herencia epigenética a través de las marcas de metilación sería imposible. Y, sin embargo, las evidencias encontradas en animales nos hablan de una persistencia de los cambios en el patrón de la metilación del ADN adquiridos, de una herencia transgeneracional que se perpetúa y que consigue transmitir cambios epigenéticos que se manifiestan en el fenotipo de la descendencia, y que pueden mantenerse generación tras generación. Por todo ello, se empieza a aceptar que la pérdida de la metilación en las células primordiales germinales y en el embrión no es completa. De hecho, ya se ha demostrado que algunas secuencias repetitivas, como los elementos IAP (*Intracisternal A particle*, en inglés) y algunos genes con impronta no son desmetilados (29). Posiblemente, otras secuencias genómicas puedan también escaparse de este borrado epigenético y tengan un papel como transmisores transgeneracionales del epigenoma (15). En la tabla II se pueden encontrar algunos ejemplos de genes con impronta y los efectos de su desregulación sobre la fertilidad.

LAS MODIFICACIONES DE LAS HISTONAS PUEDEN AFECTAR A LA FERTILIDAD MASCULINA

Las histonas, además de empaquetar el ADN, juegan un rol muy importante en las modificaciones post-traduccionales de sus aminoácidos (p. ej., acetilación de la lisina, metilación de la arginina, fosforilación de la serina) (30). Generalmente, las acetilaciones se asocian a regiones activas desde el punto de vista transcripcional.

A su vez, las metilaciones de las histonas se asocian tanto a regiones activas como a regiones inactivas, dependiendo principalmente de qué residuo es el que padece la metilación: la metilación de la lisina 9 de la histona H3 (H3K9), por ejemplo, se asocia a un silenciamiento de la transcripción; en cambio, la metilación de la lisina 4 (H3K4) de esta misma histona se asocia a una activación de la transcripción. Existen varios enzimas encargados de las modificaciones post-transcripcionales de las histonas. Algunas, como la proteína PRDM9, encargada de la tri-metilación en los residuos H3K4 y H3K36, son específicas de la línea germinal (31). La presencia de histonas en el espermatozoide maduro es muy inferior a la de las células somáticas (9). Esto es debido a cambios en la estructura de la cromatina, cambios que implican la sustitución de las histonas por protaminas. El resultado final es un estado de compactación tan elevado del ADN del espermatozoide que imposibilita la transcripción, a la vez que ejerce un efecto protector contra daños en el genoma. Se cree que las histonas que no son reemplazadas por protaminas (aproximadamente un 10% de ellas) (24), tienen un papel fundamental en la transmisión de la epigenética a la descendencia. De hecho, en las regiones del núcleo del espermatozoide maduro en las que se mantienen las histonas se encuentran promotores del desarrollo, agrupaciones de microARN y genes con impronta genética (24).

La evolución temporal de los niveles de modificación en H3K4, H3K9 y H3K27 son esenciales para la progresión de la espermatogénesis (32). Los niveles de metilación en H3K4 en el ADN de las espermatogonias, por ejemplo, necesitan alcanzar su máximo para empezar su diferenciación e iniciar meiosis. En cambio, los niveles de H3K9 y H3K27 son mínimos al inicio de meiosis y van incrementando a medida que se suceden los diferentes estadios de esta división celular. Finalmente, para iniciar la espermiogénesis, se requiere la eliminación de la metilación en H3K9. Todos estos cambios están orquestados por enzimas específicas. Si alguna de ellas no funciona correctamente, el resultado es una alteración importante en la fertilidad del individuo. Por ejemplo, una reducción en la actividad de la enzima H3K4 metiltransferasa provoca una disminución muy importante del número de espermatozoides, mediada por procesos de apoptosis, que culmina en una interrupción de la espermatogénesis (33). Otro ejemplo es el control de la acetilación de las histonas al final de la espermatogénesis. Esta acetilación permite que la cromatina adopte una configuración más relajada, de manera que facilita la eliminación de las histonas y su sustitución por protaminas. Si este proceso es alterado y la acetilación ocurre antes de lo pautado, se incrementa la fragmentación del ADN del espermatozoide y se compromete la capacidad fecundante del espermatozoide.

LOS sncARN DESEMPEÑAN UN ROL IMPORTANTE EN EL CONTROL DE LA FERTILIDAD MASCULINA

El espermatozoide se considera una célula inactiva desde el punto de vista transcripcional. No obstante, se sabe desde hace varias décadas que contiene ARN (9). La mayor parte de este ARN

son fragmentos de transcritos largos. El primer ARN mensajero específico identificado en espermatozoides humanos fue el c-MYC mRNA (34). Además de transcritos o fragmentos de transcritos que codifican proteínas, el transcriptoma del espermatozoide también contiene una gran variedad de sncARN.

Aunque cuando se compara con el transcriptoma del ovocito la contribución de sncARN del espermatozoide parezca insignificante, al menos dos estudios han demostrado que la inhibición en el cigoto de los sncARN provenientes del espermatozoide conduce a retrasos importantes en el desarrollo embrionario. Los sncARN se diferencian, entre otras características, por los mecanismos de su biogénesis y sus mecanismos de acción. Entre los tipos de sncARN destacan los microRNA (ARN ~22 nc que regulan post-transcripcionalmente la expresión génica mediante su emparejamiento con la región no traducible 3' del ARN mensajero (3' UTR); los siARN (con complementariedad perfecta y con una representación del 17%) y los piARN (especializados en controlar la transcripción de transposones en las células germinales y de particular interés debido a su papel en la herencia epigenética transgeneracional) (35). Es interesante notar que algunos microARN se expresan de manera exclusiva o preferencial a nivel testicular y, en algunos casos, en tipos celulares específicos. A modo de ejemplo, existen microRNA que se expresan durante el período de diferenciación de la espermatida, como por ejemplo miR-18, encargado de la regulación del gen *Hsf2*; miR-469, regulador de los genes *Tp2* (en inglés, *transition protein-2*) y *Prm2* (en inglés, *protamine 2*) y miR-122, encargado también de la regulación del *Tp2* (36). En cuanto a la importancia de los sncARN durante la espermatogénesis, varios estudios realizados en ratones *knockout* para la proteína Dicer 1 (una endonucleasa ARNasa III con funciones importantes en la biogénesis de los microARN) sugieren que la falta de actividad de Dicer provoca una desaparición gradual pero completa de microARN en las células de Sertoli (células mitóticas presentes en el testículo que ofrecen soporte vital a las células germinales y meióticas). Esta desaparición provoca una gran desregulación del transcriptoma, proceso que provoca una interrupción de la espermatogénesis y una progresiva degeneración testicular (37). Hoy día se conoce la implicación de los ARN no codificantes de cadena larga (lncRNA) en la espermatogénesis (p. ej. *Tsx*, *HongrES2*, *Mrhl* y *Spga-lncRNA*) (38), aunque Luk y cols. (38) concluyen que los lncRNA están infrarepresentados en las bases de datos de anotación actuales, resultando en una predicción errónea de los lncRNA y su funcionalidad en las células especializadas durante el desarrollo germinal de los hombres. Recientemente, se ha sugerido que el concepto de herencia transgeneracional no solamente está ligado a los patrones de metilación sino también a los sncARN. Se ha demostrado, por ejemplo, que el estrés traumático sufrido durante las primeras semanas de vida altera la expresión de microARN y piARN en espermatozoides y esto, a su vez, modifica respuestas conductuales en la descendencia (39). Así pues, lo que propone este trabajo es una explicación biológica, unas bases moleculares que explican la naturaleza transgeneracional de la conducta innata, donde los sncARN del espermatozoide actúan como *bits* de información que moldean

el *hardware* genético de la descendencia, provocando modificaciones en el comportamiento de las generaciones futuras.

LA NUTRICIÓN PUEDE INFLUENCIAR LA FERTILIDAD MASCULINA MEDIANTE LA REGULACIÓN DE MECANISMOS EPIGENÉTICOS. LA EPIGENÉTICA NOS EXPLICA POR QUÉ NO TODOS LOS PACIENTES OBESOS SON INFÉRTILES

La relación entre la obesidad y la disminución de la fertilidad no ha sido establecida con claridad. Diferentes estudios muestran el impacto negativo del sobrepeso y la obesidad sobre la calidad del ADN de los espermatozoides y, consecuentemente, sobre la salud de la descendencia (13,40). Varios estudios han vinculado el síndrome metabólico con una función espermática alterada (41) (Fig. 2). Así, los resultados sugieren que la relación entre obesidad e infertilidad es más compleja que la simple interacción entre el peso y la función reproductiva, y que la epigenética puede tener un rol importante (Figs. 3 y 4). Como se representa en la figura 3, diferentes factores ambientales (entre ellos la dieta) actuarían sobre la maquinaria epigenética, provocando alteraciones en el epigenoma del individuo. De manera más precisa, un estudio realizado con ratones que recibieron dietas ricas en grasa durante 9 semanas detectó alteraciones importantes a nivel de calidad espermática: los espermatozoides presentaron un incremento en la fragmentación del ADN, una disminución de la motilidad, problemas en la capacitación y menores tasas de fecundación (13). Además, se detectó también una elevada presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) (42). Con estos resultados, los autores concluyeron que la obesidad inducía estrés oxidativo y fragmentación del ADN, dos factores relacionados con una mala capacidad reproductiva. No obstante, tal y como se ha comentado anteriormente, es posible que no sea la obesidad o la adiposidad *per se* la que contribuya al incremento de ROS y a la elevada fragmentación del ADN, sino que estos factores sean consecuencia de alteraciones en el metabolismo (Fig. 2). Los cambios que se observan en la expresión de microARN (p. ej. miR-122) debido al consumo elevado de grasas se han relacionado con la patogénesis de estas enfermedades y oligoastenozoospermicos (36). Este tipo de dietas no únicamente afecta a la función de los sncARN, puesto que también se han observado modificaciones en el patrón de metilación de algunas regiones del ADN que provocan la alteración en la expresión de algunos genes, como por ejemplo *IGF2* (43). Cuando la dieta, además de ser rica en grasas, contiene también niveles elevados de colesterol, los microARN que presentan una reducción de su expresión (p. ej. miR-16, miR-103, miR-107 y miR-451), o un aumento (p. ej. miR-351 y miR-669c) son varios. Paralelamente, la disminución del miR-107 implica el incremento de la expresión del gen *FASN* (*fatty acid synthetase*, en inglés) en ratones obesos (44) y un incremento de la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa, mientras que su sobre expresión conducía a alteraciones en la homeostasis de la glucosa (45). Finalmente, en otro estudio se encontró

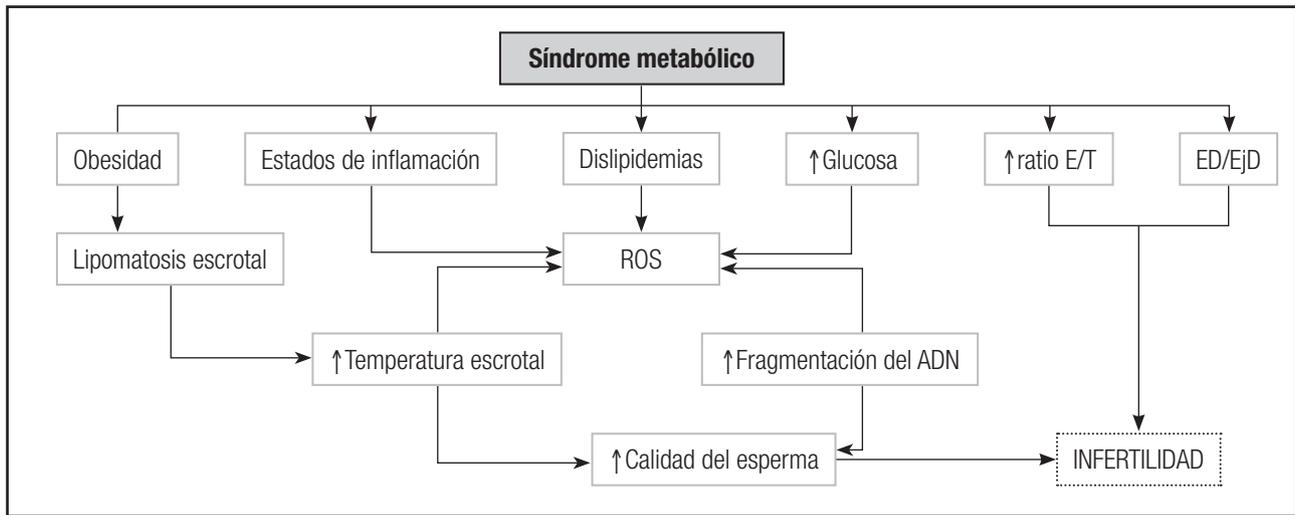


Figura 2. Relación entre nutrición y obesidad, entre nutrición e infertilidad y entre obesidad y nutrición (adaptada de la referencia 41).

expresión elevada de miR-143 y miR-145 en ratones alimentados con dietas ricas en grasa (46). La desregulación de la expresión de miR-143 se asoció a niveles incrementados de insulina basal en plasma, alteraciones en la homeostasis de la glucosa e intolerancia a la insulina. Todos estos mecanismos son importantes en la fertilidad masculina, pues el metabolismo de la glucosa tiene una función muy importante durante la espermatogénesis (47). Diferentes trabajos confirman el efecto deletéreo de la diabetes en los parámetros seminales del individuo, la fragmentación del ADN del espermatozoide y la calidad de la cromatina y la resultante capacidad fecundante del individuo (48). En otro estudio, los autores concluyeron que los espermatozoides de individuos infértiles presentaban contenidos de ácidos grasos muy elevados (independientemente de su peso), lo cual promueve la generación

de ROS por parte de la mitocondria del espermatozoide y una pérdida de competencia funcional (49).

Al analizar el efecto de los micronutrientes sobre la fertilidad del individuo; en general, los resultados demuestran que la suplementación con vitaminas específicas (como la vitamina E o la vitamina C) y minerales (como el zinc) se relaciona con un incremento en la calidad seminal y en el éxito reproductivo (50). Aunque no se ha demostrado todavía a nivel testicular, es probable que los mecanismos de acción de los micronutrientes sobre la fertilidad tengan también una base epigenética moduladora basada en la regulación de algunos microARN. Como se ha indicado precedentemente, las vitaminas del grupo B (especialmente la vitamina B6 y la B12) sirven como coenzimas del metabolismo de 1 carbono (C1), el cual determina los niveles de la S-adenosil-

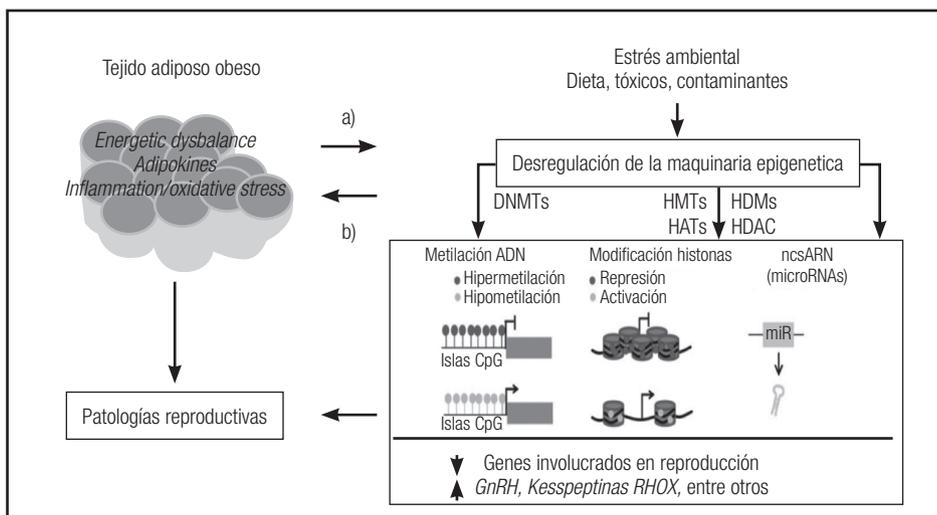
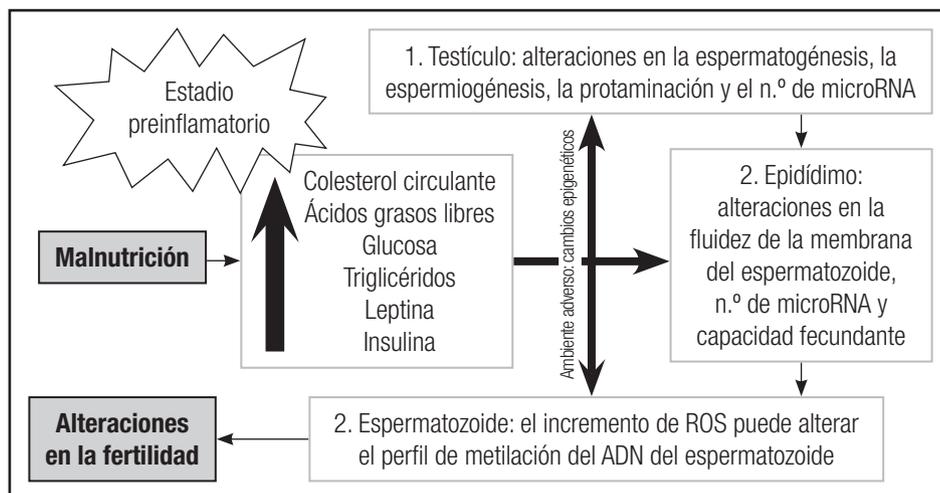


Figura 3. Representación de las alteraciones metabólicas relacionadas con el síndrome metabólico y su asociación con la infertilidad masculina. La modificación del epigenoma provocada por factores ambientales (como por ejemplo la dieta) participaría en el desarrollo de estas alteraciones metabólicas (imagen adaptada de la referencia 56).

**Figura 4.**

Hipótesis de cómo la malnutrición puede afectar a la fertilidad del individuo, a través de cambios epigenéticos provocados por desequilibrios metabólicos (adaptado de referencia 57).

metionina (SAM), una molécula que participa en numerosas reacciones celulares como la metilación del ADN o las modificaciones postraduccionales de las histonas (51). Por lo tanto, los niveles de folato en la dieta pueden influenciar los niveles de metilación del ADN a nivel celular y consecuentemente afectar la expresión de genes importantes para el desarrollo y la homeostasis de un organismo (7). De hecho, Lambrot y cols. (7) alimentaron ratones con dietas deficientes en folato (0,3 mg ácido fólico por kg) o suficientes en folato (2 mg ácido fólico por kg) durante toda su vida para evaluar el papel de los folatos en los mecanismos de transmisión de la información ambiental vía el epigenoma del espermatozoide. En sus resultados destacaron que la deficiencia de folato alimentario resulta en la metilación de las histonas H3 de los espermatozoides o la metilación del ADN, lo que significa una inadecuada salud de los hijos. En mamíferos, se sabe que el butirato, que es un ácido de cadena corto resultante de la fermentación bacteriana de carbohidratos complejos y compuestos organosulfurados, es un inhibidor de la deacetilasa de las histonas (HDACs, en inglés *histone deacetylases*) (52). Se necesitan experimentos para revelar si los alimentos que inducen el aumento de ácido butírico pueden modificar las histonas y afectar la fertilidad masculina. Curiosamente, se ha demostrado que el gen *SIRT1* (del inglés *sirtuin 1*) puede desacetilar la proteína DNMT1 y consecuentemente alterar su actividad. Este resultado sugiere que las sirtuinas pueden modificar los patrones epigenéticos. La acción de la proteína sirtuin es potenciada por el resveratrol (53), un polifenol natural que se encuentra de manera abundante en las plantas, frutos y vino, y que ha ganado mucho interés debido a su potencial efecto antienviejimiento. Se necesitan estudios para elucidar si las sirtuinas están involucradas en cambios epigenéticos mediados por la nutrición. Finalmente, en hombres, la ingestión de factores no nutricionales como las toxinas o drogas también puede producir modificaciones epigenéticas que afectan a la generación siguiente. Así, por ejemplo, la ingestión de 5-aza-2'-deoxycytidina, un agente anticancerígeno, causa una disminución de la metilación global del ADN y una morfología alterada de los espermatozoides (54), con un impacto en la dis-

minución de la motilidad, de la capacidad de fertilización o la capacidad del embrión para sobrevivir.

CONCLUSIÓN

La infertilidad masculina es un trastorno multifactorial donde interactúan factores genéticos y epigenéticos con factores ambientales como el sobrepeso o la obesidad. Las modificaciones epigenéticas observadas con más frecuencia corresponden a la hipermetilación de genes relacionados con la espermatogénesis o las modificaciones enzimáticas asociadas con la regulación postranscripcional de las histonas durante la espermatogénesis. Finalmente, también se presentan resultados que muestran cómo la espermatogénesis puede desregularse mediante las modificaciones de expresión de ciertos ARN no codificantes de cadena corta y larga.

Las primeras observaciones indican que la exposición a dietas ricas o deficientes en determinados nutrientes (especialmente grasas saturadas o donadores de grupos metilo) durante largos periodos de tiempo, inducen cambios epigenéticos con consecuencias para la fertilidad masculina del paciente y la fertilidad de su descendencia (herencia transgeneracional). Además, es necesario subrayar que el impacto de los nutrientes y de los factores no nutricionales durante la programación epigenética de las células germinales es importante pues puede modificar la regulación de la espermatogénesis. Cabe remarcar que aunque la afectación del epigenoma acontece en periodos puntuales, primeros estadios de la embriogénesis y de la infancia, existe también la posibilidad de intervenir durante la edad adulta.

BIBLIOGRAFÍA

1. De Kretser DM. Male infertility. *Lancet* 1997; 349(9054):787-90.
2. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. *Hum Reprod* 2009;24(11):2683-7.

3. Wong WY, Thomas CM, Merkus JM, Zielhuis GA, Steegers-Theunissen RP. Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors. *Fertil Steril* 2000;73(3):435-42.
4. Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. *Reprod Biomed Online* 2007;14(6):734-45.
5. Ying HQ, Pu XY, Liu SR, A ZC. Genetic variants of eNOS gene may modify the susceptibility to idiopathic male infertility. *Biomarkers* 2013;18(5):412-7.
6. Dada R, Kumar M, Jesudasan R, Fernandez JL, Gosalvez J, Agarwal A. Epigenetics and its role in male infertility. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(3):213-23.
7. Lambrot R, Xu C, Saint-Phar S, Chountalos G, Cohen T, Paquet M, et al. Low paternal dietary folate alters the mouse sperm epigenome and is associated with negative pregnancy outcomes. *Nat Commun* 2013;4:2889.
8. Khazamipour N, Noruzinia M, Fatehmanesh P, Keyhaneh M, Pujol P. MTHFR promoter hypermethylation in testicular biopsies of patients with non-obstructive azoospermia: the role of epigenetics in male infertility. *Hum Reprod* 2009;24(9):2361-4.
9. Miller D, Brinkworth M, Iles D. Paternal DNA packaging in spermatozoa: more than the sum of its parts? DNA, histones, protamines and epigenetics. *Reproduction* 2010;139(2):287-301.
10. Glaser S, Lubitz S, Loveland KL, Ohbo K, Robb L, Schwenk F, et al. The histone 3 lysine 4 methyltransferase, Mll2, is only required briefly in development and spermatogenesis. *Epigenetics & Chromatin* 2009;2.
11. Rajender S, Meador C, Agarwal A. Small RNA in spermatogenesis and male infertility. *Front Biosci (Schol Ed)* 2012;4:1266-74.
12. Soubry A, Hoyo C, Jirtle RL, Murphy SK. A paternal environmental legacy: Evidence for epigenetic inheritance through the male germ line. *Bioessays* 2014;36(4):359-71.
13. Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *Inter J Androl* 2011;34(5):402-10.
14. Flintoft L. Epigenetics: Dad's diet lives on. *Nat Rev Genet* 2011;12(2):80.
15. Szyf M. Nongenetic inheritance and transgenerational epigenetics. *Trends Mol Med* 2015;21(2):134-44.
16. Takai D, Jones PA. Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(6):3740-5.
17. Okano M, Xie S, Li E. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases. *Nat Genet* 1998;19(3):219-20.
18. La Salle S, Oakes CC, Neaga OR, Bourc'his D, Bestor TH, Trasler JM. Loss of spermatogonia and wide-spread DNA methylation defects in newborn male mice deficient in DNMT3L. *BMC Dev Biol* 2007;7:104.
19. Li E, Bestor TH, Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell* 1992;69(6):915-26.
20. Okada Y, Tateishi K, Zhang Y. Histone demethylase JHDM2A is involved in male infertility and obesity. *J Andro*. 2010;31(1):75-8.
21. Houshdaran S, Cortessis VK, Siegmund K, Yang A, Laird PW, Sokol RZ. Widespread Epigenetic Abnormalities suggest a broad DNA methylation erasure defect in abnormal human sperm. *PLoS one* 2007;2(12).
22. Houshdaran S, Cortessis VK, Siegmund K, Yang A, Laird PW, Sokol RZ. Widespread epigenetic abnormalities suggest a broad DNA methylation erasure defect in abnormal human sperm. *PLoS one* 2007;2(12):e1289.
23. Hammoud SS, Purwar J, Pflueger C, Cairns BR, Carrell DT. Alterations in sperm DNA methylation patterns at imprinted loci in two classes of infertility. *Fertil Steril* 2010;94(5):1728-33.
24. Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, Purwar J, Carrell DT, Cairns BR. Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature* 2009;460(7254):473-8.
25. Wu W, Shen O, Qin Y, Niu X, Lu C, Xia Y, et al. Idiopathic male infertility is strongly associated with aberrant promoter methylation of methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR). *PLoS one* 2010;5(11):e13884.
26. Chan D, Cushnie DW, Neaga OR, Lawrance AK, Rozen R, Trasler JM. Strain-specific defects in testicular development and sperm epigenetic patterns in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase-deficient mice. *Endocrinology* 2010;151(7):3363-73.
27. Doerksen T, Benoit G, Trasler JM. Deoxyribonucleic acid hypomethylation of male germ cells by mitotic and meiotic exposure to 5-azacytidine is associated with altered testicular histology. *Endocrinology* 2000;141(9):3235-44.
28. Sapienza C, Paquette J, Tran TH, Peterson A. Epigenetic and genetic factors affect transgene methylation imprinting. *Development* 1989;107(1):165-8.
29. Seisenberger S, Andrews S, Krueger F, Arand J, Walter J, Santos F, et al. The dynamics of genome-wide DNA methylation reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mol Cell* 2012;48(6):849-62.
30. Holbert MA, Marmorstein R. Structure and activity of enzymes that remove histone modifications. *Cur Opin Struct Biol* 2005;15(6):673-80.
31. Eram MS, Bustos SP, Lima-Fernandes E, Sjarheyeva A, Senisterra G, Hajian T, et al. Trimethylation of histone H3 lysine 36 by human methyltransferase PRDM9 protein. *J Biol Chem* 2014;289(17):12177-88.
32. Godmann M, Auger V, Ferraroni-Aguar V, Di Sauro A, Sette C, Behr R. Dynamic regulation of histone H3 methylation at lysine 4 in mammalian spermatogenesis. *Biol Reprod* 2007;77(5):754-64.
33. Glaser S, Lubitz S, Loveland KL, Ohbo K, Robb L, Schwenk F, et al. The histone 3 lysine 4 methyltransferase, Mll2, is only required briefly in development and spermatogenesis. *Epigenetics Chromatin* 2009;2(1):5.
34. Kumar G, Patel D, Naz RK. c-MYC mRNA is present in human sperm cells. *Cell Mol Biol Res* 1993;39(2):111-7.
35. McManus MT, Sharp PA. Gene silencing in mammals by small interfering RNAs. *Nat Rev Genet* 2002;3(10):737-47.
36. Kotaja N. MicroRNAs and spermatogenesis. *Fertil Steril* 2014;101(6):1552-62.
37. Papaioannou MD, Nef S. microRNAs in the testis: building up male fertility. *J Androl* 2010;31(1):26-33.
38. Luk AC, Gao H, Xiao S, Liao J, Wang D, Tu J, et al. Germ lncRNA: a unique catalogue of long non-coding RNAs and associated regulations in male germ cell development. *Database (Oxford)* 2015. 2015:bav044.
39. Gapp K, Jawaid A, Sarkies P, Bohacek J, Pelczar P, Prados J, et al. Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice. *Nat Neurosci* 2014;17(5):667-9.
40. Fejes I, Koloszar S, Zavaczki Z, Daru J, Szollosi J, Pal A. Effect of body weight on testosterone/estradiol ratio in oligozoospermic patients. *Arch Androl* 2006;52(2):97-102.
41. Crujeiras AB, Casanueva FF. Obesity and the reproductive system disorders: epigenetics as a potential bridge. *Hum Reprod Update* 2015;21(2):249-61.
42. Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *Int J Androl* 2011;34(5 Pt 1):402-10.
43. Susiarjo M, Bartolomei MS. EPIGENETICS You are what you eat, but what about your DNA? *Science* 2014;345(6198):733-4.
44. Park JH, Ahn J, Kim S, Kwon DY, Ha TY. Murine hepatic miRNAs expression and regulation of gene expression in diet-induced obese mice. *Mol Cells* 2011;31(1):33-8.
45. Trajkovski M, Hausser J, Soutschek J, Bhat B, Akin A, Zavolan M, et al. MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity. *Nature* 2011;474(7353):649-53.
46. Jordan SD, Kruger M, Willmes DM, Redemann N, Wunderlich FT, Bronneke HS, et al. Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism. *Nat Cell Biol* 2011;13(4):434-46.
47. Ding GL, Liu Y, Liu ME, Pan JX, Guo MX, Sheng JZ, et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian J Androl* 2015;17(6):948-53.
48. Kilarkaje N, Al-Hussaini H, Al-Bader MM. Diabetes-induced DNA damage and apoptosis are associated with poly (ADP ribose) polymerase 1 inhibition in the rat testis. *Eur J Pharmacol* 2014;737:29-40.
49. Koppers AJ, Garg ML, Aitken RJ. Stimulation of mitochondrial reactive oxygen species production by unesterified, unsaturated fatty acids in defective human spermatozoa. *Free Radic Biol Med* 2010;48(1):112-9.
50. Buhling KJ, Laakmann E. The effect of micronutrient supplements on male fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2014;26(3):199-209.
51. Kelly TL, Neaga OR, Schwahn BC, Rozen R, Trasler JM. Infertility in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)-deficient male mice is partially alleviated by lifetime dietary betaine supplementation. *Biol Reprod* 2005;72(3):667-77.
52. Dashwood RH, Ho E. Dietary agents as histone deacetylase inhibitors: sulforaphane and structurally related isothiocyanates. *Nutr Rev* 2008;66(Suppl. 1):S36-38.
53. Kaeberlein M, McDonagh T, Heltweg B, Hixon J, Westman EA, Caldwell SD, et al. Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. *J Biol Chem* 2005;280(17):17038-45.
54. Kelly TL, Li E, Trasler JM. 5-aza-2'-deoxycytidine induces alterations in murine spermatogenesis and pregnancy outcome. *J Androl* 2003;24(6):822-30.
55. Soubry A. Epigenetic inheritance and evolution: A paternal perspective on dietary influences. *Prog Biophys Mol Biol* 2015;118(1-2):79-85.
56. Gorbachinsky I, Akpinar H, Assimos DG. Metabolic syndrome and urologic diseases. *Rev Urol* 2010;12(4):e157-180.
57. McPherson NO, Lane M. Male obesity and subfertility, is it really about increased adiposity? *Asian J Androl* 2015;17(3):450-8.
58. Guerrero-Bosagna C, Savenkova M, Haque MM, Nilsson E, Skinner MK. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of altered Sertoli cell transcriptome and epigenome: molecular etiology of male infertility. *PLoS one* 2013;8(3):e59922.
59. Rajender S, Avery K, Agarwal A. Epigenetics, spermatogenesis and male infertility. *Mutat Res* 2011;727(3):62-71.
60. Boissonnas CC, Jouannet P, Jammes H. Epigenetic disorders and male subfertility. *Fertil Steril* 2013;99(3):624-31.