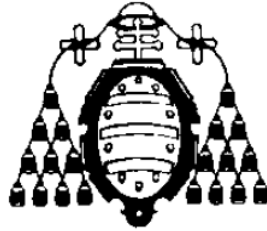


UNIVERSIDAD DE OVIEDO



**“Estudio retrospectivo de la variación de los  
parámetros seminales con la edad y su  
evolución en los últimos siete años en la  
población subfértil vizcaína”**

**Máster Universitario en Biología y  
Tecnología de la Reproducción**

**Autora: Ainhoa Gómez Abaurrea**

**Tutora: Lourdes Sánchez**

**Junio 2014**

## **AGRADECIMIENTOS**

La realización del presente proyecto no habría sido posible sin la colaboración de varias personas, y por ello quiero mostrarles mi agradecimiento.

Gracias a Belén Murillo y a Carmen Puyo, por formarme y por darme la oportunidad de incorporarme de manera altruista a su equipo durante el periodo de prácticas y, también por compartir conmigo los datos obtenidos en su unidad de reproducción de la Clínica Elcano<sup>7</sup>.

Gracias también a todo el personal de la clínica que me han hecho partícipe de su rutina y que, con su trato amable, cercano y; sobre todo; desinteresado, han hecho que me sienta como en casa.

Gracias a mi directora, la Dra. Lourdes Sánchez por su guía, ayuda y colaboración constante en la elaboración de este trabajo. Gracias por su apoyo y confianza en mis ideas, y sobre todo por su paciencia y disponibilidad.

Gracias a Pablo, por ayudarme en todo lo relativo al análisis estadístico.

Gracias a mi familia y amigos, por su apoyo incondicional, por saber ayudarme a dejar atrás un mal día y, sobre todo, por creer en mí en todo momento, incluso cuando yo misma no soy capaz de hacerlo.

Por último, pero no por ello menos importante, gracias a todas esas personas que han hecho que este tiempo fuera de casa haya sido muy especial y que se haya convertido en una gran experiencia; permitiéndome dar lo mejor de mí misma, y crecer tanto a nivel personal como profesional. Gracias por los buenos ratos vividos durante este año.

En definitiva, gracias a cada uno de vosotros por aportar vuestro granito de arena en esta aventura y por darme el empujón necesario para continuar.

## **ABREVIATURAS**

ANACER Asociación Nacional de Clínicas de Reproducción

ASESA Asociación Española de Andrología

DNA Ácido Desoxirribonucleico

DS Desviación Estándar o Típica

FIV Fecundación *in vitro*

ICSI Inyección Intracitoplasmática de un Espermatozoide

INE Instituto Nacional de Estadística

LIR Límite Inferior de Referencia

M.O Microscopio Electrónico

N Número de sucesos o casos

OMS Organización Mundial de la Salud

RA Reproducción Asistida

TRA Técnicas de Reproducción Asistida

Spz Espermatozoide(s)

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Prevalencia de la infertilidad masculina.....	2
1.2 Etiología de la infertilidad masculina.....	3
1.3 Variación de la calidad seminal con la edad.....	4
1.4 Protocolos de estandarización para el análisis del semen.....	5
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>8</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>9</b>
3.1 Población en estudio .....	9
3.2 Protocolo de recogida de muestras .....	9
3.3 Protocolo de análisis de semen.....	10
3.4 Tratamiento de datos.....	14
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>15</b>
4.1 Porcentaje de seminogramas normales y alterados, en función de los criterios de la OMS vigentes en el momento del diagnóstico.....	15
4.2 Porcentaje de seminogramas normales y alterados según el criterio de la OMS 1999 y la OMS 2010.....	16
4.3 Análisis de la concentración espermática, volumen, movilidad progresiva, morfología y vitalidad espermática en función de los criterios de la OMS de 1999 y de 2010.....	17
4.4 Análisis de la concentración espermática, volumen, movilidad progresiva, morfología y vitalidad en relación con la edad del varón .....	20
4.5 Variación de la concentración espermática, el volumen, la movilidad progresiva, la morfología y la vitalidad a lo largo del tiempo de estudio (2007-2013).....	23
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>

## **1. INTRODUCCIÓN**

En las últimas décadas, la importancia de los problemas de esterilidad se han hecho cada vez más evidentes. No sólo desde el punto de vista individual o de pareja, si no desde la visión colectiva de la sociedad. A lo largo de los años han existido varias definiciones para este término, pero parece que actualmente las distintas sociedades científicas se han puesto de acuerdo al considerar la esterilidad como “la ausencia de consecución de embarazo tras 12 meses de relaciones sexuales sin empleo de métodos anticonceptivos”. Esta definición surge de la observación de que una pareja sana tiene un 20% de probabilidad mensual de conseguir el embarazo, que al cabo de 12 meses se transforma en una probabilidad acumulativa del 90% (15).

Se estima que aproximadamente entre un 15-20% de las parejas en edad reproductiva presentan problemas de esterilidad o infertilidad y existen cerca de un millón de parejas demandantes de Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) en nuestro país. Este fenómeno afecta a ambos sexos y entorno a la mitad de los casos, el factor masculino tiene un papel importante (12).

Los datos demográficos recogidos por el Instituto Nacional de Estadística (INE), revelan que este descenso de la natalidad atiende al efecto combinado de los cambios sociales y económicos a los que se ve sometida nuestra sociedad y, como consecuencia de ello, hay una reducción progresiva del número de mujeres en edad fértil. El aumento de la edad media en el primer nacimiento (con una media de 31,12 años, máximo histórico registrado entre enero y junio de 2010) está vinculado a parámetros sociales como pueden ser el retraso en el matrimonio, el mayor nivel de estudios de la mujer y su incorporación a la vida laboral, la difusión de la píldora anticonceptiva, así como las dificultades para la independencia de los jóvenes debido a una inestabilidad laboral y económica (27).

Simultáneamente, se ha producido en los últimos años un aumento en la demanda de las TRA. En la actualidad, España es el tercer país europeo en volumen de tratamientos, detrás de Francia y Alemania (19).

### **1.1. Prevalencia de la infertilidad masculina**

Actualmente se tiene una mayor preocupación por la salud reproductiva masculina en general y más concretamente por los cambios en la calidad seminal, que también han ido adquiriendo importancia (1).

Estudios recientes describen una disminución de la fertilidad masculina junto al empeoramiento de la calidad seminal en los últimos años, con diferencias regionales significativas, que no han dejado de suscitar controversias desde su publicación, porque quizás, las muestras analizadas no representaron de forma ecuánime a toda la población (voluntarios, candidatos a vasectomía, donantes de semen o pacientes en estudio por infertilidad) (20).

La calidad seminal ha disminuido notablemente en los últimos años y esto no sólo se confirma en estudios de hace unas décadas (5) sino también en estudios más recientes, como por ejemplo, el publicado en el año 2013 basado en varones universitarios españoles (29) o un estudio realizado en la población de Salamanca en el que los resultados demuestran un descenso de la calidad seminal a lo largo de los últimos 30, sugiriendo que factores no relacionados con la industrialización pueden estar implicados en el decremento de la calidad seminal (7).

Por el contrario hay otros autores que unos años atrás ya afirmaron que los recuentos espermáticos no han variado apreciablemente como proponen estos estudios. Y, no solo no encuentran un descenso en la calidad seminal, sino que logran hallar incrementos estadísticamente significativos en los parámetros de calidad seminal (5).

La infertilidad masculina ha sido asociada cada vez más con factores de riesgo, incluyendo la exposición a factores ambientales, ocupacionales o de estilo de vida. Actualmente todavía no está claro cómo afectan estos factores (y otros como el daño en el DNA espermático) a la infertilidad masculina. Por ello, una mejor caracterización de los factores de riesgo, ayudarían a entender qué está ocurriendo con la infertilidad masculina (1).

## 1.2. Etiología de la infertilidad masculina

La subfertilidad masculina es uno de los factores que influye en la esterilidad de las parejas. A pesar de que la causa más común es el fracaso idiopático de la espermatogénesis, también hay que mencionar que un elevado porcentaje de los casos de infertilidad es médicamente tratable (3).

Para una procreación exitosa se requiere una eyaculación intravaginal, la producción de espermatozoides y el transporte normal de los espermatozoides. La subfertilidad masculina puede ser dividida en diferentes categorías, incluyendo los trastornos sexuales que impiden o disminuyen la eyaculación intravaginal, defectos testiculares, endocrinopatías que reducen la espermatogénesis o defectos del transporte espermático, entre otros (3).

Involucra alrededor del 35% al 45% de la casuística total de la infertilidad. El origen que subyace al declive de los parámetros seminales no se conoce. Entre las causas descritas se encuentran, las anomalías congénitas (criptorquídea, hipospadias), infecciones del tracto genitourinario (parotiditis pospuberal, enfermedades de transmisión sexual), patología urológica (prostatitis, litiasis), traumáticas, consecuencia de cirugía inguinoescrotal, asociadas a enfermedades pulmonares crónicas, disfunciones sexuales (eréctiles, eyaculatorias), trastornos inmunológicos, genéticas, por lesiones neurológicas, por factores ambientales, y tóxicos, tumorales o idiopáticas (37).

**Tabla 1.** Causas comunes de infertilidad masculina (3).

Common Causes of Male Subfertility	
Sexual disorders	Endocrinopathies that affect spermatogenesis
Erectile dysfunction	Hypothalamopituitary disease
Failure to have intercourse	Hyperprolactinemia
Lack of libido	Thyroid dysfunction
Relationship dysfunction	Obesity
Anorgasmia	Cushing syndrome
Primary testicular defect in sperm production	Defects in sperm transportation
Idiopathic	Obstruction
Chemotherapy	Congenital absence of the vasa deferens
Klinefelter syndrome	Acquired ejaculatory duct obstruction (eg, recurrent infection, vasectomy)
Genetic mutations	Ejaculatory dysfunction
Pelvic irradiation or surgery	Anejaculation
Orchidectomy	Retrograde ejaculation
Testicular cancer	
Trauma	
Large varicoceles	
Cryptorchidism	
Infection (eg, mumps orchitis in nonvaccinated men)	
Autoimmune	
Drugs	

Uno de los factores ambientales que más se ha estudiado, es el tabaco. Fumar es ampliamente considerado como un factor de riesgo de infertilidad masculina (33). Algunos estudios han demostrado que puede afectar a la calidad del semen aunque estudios recientes sugieren que “no está demostrado que fumar reduzca la fertilidad masculina” (Comité de Práctica de la Sociedad Americana). Así mismo, también hay un creciente interés en la evaluación del efecto del tabaco por exposiciones transgeneracionales. Estas exposiciones no solo se refieren a cómo afectaría el tabaco a través del útero materno, sino también a las exposiciones del padre al tabaco porque en principio las exposiciones de generaciones anteriores al tabaco también pueden ser importantes (1).

En definitiva, una mejor caracterización de los factores de riesgo ayudará a una mejor comprensión de lo que está pasando con la infertilidad masculina.

Aún así, la mala salud reproductiva masculina en general, y la incidencia y las causas de la infertilidad masculina, son cuestiones importantes que siguen estando mal caracterizados.

Hasta ahora, a pesar de una extensa investigación, parece que a nivel de población general, las causas de infertilidad masculina no están muy bien definidas. Los factores de riesgo tienen que estar claramente identificados y las interacciones entre los factores genéticos y ambientales también tienen su importancia. Las exposiciones paternas así como las uterinas, son particularmente difíciles de estudiar. Sería recomendable hacer un estudio con una cohorte de varones sometidos a diferentes exposiciones y su descendencia. Sin duda, los resultados de estos estudios proporcionarían una evidencia importante en el área de la infertilidad masculina. En el año 2000, Richard Sharpe escribió que "uno de los más tristes aspectos científicos de la reproducción humana e infertilidad es nuestra persistente ignorancia sobre las causas y el tratamiento de la infertilidad masculina" (1).

### **1.3. Variación de la calidad seminal con la edad**

A diferencia de las mujeres, los hombres en general pueden concebir hijos más allá de los 40 años. Esto es debido a que no se le reconoce un cese tan repentino a la función reproductiva masculina (22). Sin embargo, hay estudios que revelan que el



retraso en la paternidad puede disminuir las probabilidades de concepción de un embarazo. Esto ocurre no solamente en parejas que consultan por infertilidad, sino también en las parejas fértiles (30, 5).

La revisión de la bibliografía sugiere que el aumento en la edad del varón está asociado a una disminución de la calidad seminal afectando al factor masculino, lo cual se ve reflejado en los parámetros seminales, sin que exista (en muchos casos) consenso en lo referente a la concentración espermática (2, 5, 14, 21, 22, 30).

Teniendo en cuenta la tendencia al retraso de la paternidad, sería necesaria la elaboración de más estudios con el fin de establecer relación entre la edad del varón y las características seminales. Por ejemplo, incluyendo un número adecuado de voluntarios en todo el espectro de edades, controlando los posibles factores externos y seleccionando grupos comparativamente adecuados (21).

#### **1.4. Protocolos de estandarización para el análisis del semen**

En respuesta a la necesidad de estandarizar los protocolos para el análisis del semen, la OMS publicó en 1980 el primer *“Manual de Laboratorio para el análisis de semen humano y su interacción con el moco cervical”*. El manual ha sido sometido a revisiones posteriores (OMS 1987, 1992, 1999 a, b y c) y, el uso de su última edición, la quinta, se puso en marcha en el año 2010 (17, 36, 39).

Hasta 2009, el manual de 1999 fue ampliamente utilizado como fuente metodológica estándar en los laboratorios que llevaban a cabo el análisis seminal. En cambio, la interpretación y aplicación de los valores que la OMS indicaba como “normal” o “de referencia” tenían sus limitaciones. Esto era debido a que los valores de referencia 1999 se basaron en el análisis de un número no muy elevado de muestras de semen, en diferentes laboratorios en los que no se habían estandarizado ni los métodos de trabajo ni tampoco se habían implementado los sistemas de calidad correspondientes (17). Por ello, estos valores estaban limitados y no definían los rangos o límites de referencia reales (6).

En el año 2010 la OMS publica una nueva edición del “*Manual de laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (5ª ed, 2010) para el examen y procesamiento del semen humano*” (40). En este manual no sólo se proporcionan los valores de referencia para el análisis del semen, sino para todos los estudios que hoy se realizan para evaluar la función espermática, integridad de las membranas, determinación de anticuerpos anti-espermatozoides y de especies oxígeno-reativas o fragmentación del DNA, entre otros. Por lo tanto, dicho manual debe de ser una guía para los clínicos, biólogos, químicos y enfermeras de las clínicas de fertilidad o de reproducción asistida (36).

Los límites inferiores de referencia actuales para evaluar la calidad seminal en los laboratorios de andrología, son los que se exponen a continuación en la **tabla 2**, así como los de la edición anterior.

**Tabla 2.** Valores de referencia (1999) y los nuevos (2010) del límite inferior de referencia (LIR) en seminograma; entre paréntesis se muestra el intervalo de confianza del 95% (34).

	1999, 4 <sup>ta</sup> edición <sup>3</sup>	2010, 5 <sup>ta</sup> edición <sup>4</sup>
	Valor de referencia	Límite inferior de referencia, LRL
Licuefacción	Total a los 60 min	Total a los 60 min
pH	7,2-7,8	≥7,2
volumen	2,0 mL	1,5 mL (1,4-1,7)
Concentración espermática	20 x 10 <sup>6</sup> /mL	15 x 10 <sup>6</sup> /mL (12-15)
Concentración total	40 x 10 <sup>6</sup>	39 x 10 <sup>6</sup> (33-46)
Motilidad total (progresivos + no progresivos)	No detallada	40% (38-42)
Motilidad progresiva	50%	32% (31-34)
Viabilidad	75%	58% (55-63)
Formas normales	15%	4% (3-4)
Leucocitos	< 1 x 10 <sup>6</sup> /mL	< 1 x 10 <sup>6</sup> /mL
Mar test	< 50 % esp. unidos a partículas	< 50 % esp. unidos a partículas
“Immunobeads”	< 50 % esp. unidos a partículas	< 50 % esp. unidos a partículas

Del mismo modo, en el manual de la OMS, encontramos la nomenclatura básica relativa a la calidad seminal, **Tabla 3**.

**Tabla 3.** Definición de los diagnósticos de los pacientes según la OMS.

<b>Normozoospermia</b>	Todos los parámetros tiene que ser iguales o estar por encima del LIR indicado en cada caso
<b>Hipospermia</b>	Volumen por debajo de los LIR
<b>Oligozoospermia</b>	Número total de espermatozoides por debajo del LIR
<b>Azoospermia</b>	Ausencia de espermatozoides en el eyaculado
<b>Astenozoospermia</b>	Porcentaje de motilidad progresiva por debajo del LIR
<b>Necrozoospermia</b>	Bajo porcentaje de espermatozoides vivos y alto porcentaje de espermatozoides inmóviles en el eyaculado
<b>Teratozoospermia</b>	Porcentaje de la morfología normal espermática por debajo del LIR

Aún así, los valores que caen por encima del LIR no garantizan la fecundidad y posterior embarazo, pero amplían sus posibilidades. La OMS recalca que estos valores son sólo una guía y que cada laboratorio, dependiendo de su realidad geográfica, debe hacer esfuerzos para obtener sus propios valores (34).

Centrándonos en la calidad seminal, el análisis de la muestra de semen se usa rutinariamente para evaluar el factor masculino en las parejas infértiles, pero los análisis estándar que se realizan hoy en día se han descrito como un pobre indicador del potencial de fertilidad masculina. Esto se debe, entre otras cosas, a que la gran variabilidad entre laboratorios en torno a la estimación de los porcentajes de progresividad, motilidad y morfología infiere en la objetividad de los resultados (41).

Además se han realizado numerosos estudios en los que otros factores, como el estudio de aneuploidías por FISH, el porcentaje de fragmentación del DNA o de espermatozoides apoptóticos pueden influir negativamente en la consecución de un embarazo, aún cuando los valores de referencia de la OMS, estén dentro de la normalidad (9, 10, 18).

## 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Teniendo en cuenta, los cambios descritos anteriormente en las distintas ediciones de la OMS y la variabilidad observada en los parámetros del semen, nos hemos planteado realizar un estudio con los seminogramas realizados en el laboratorio de reproducción asistida de la Clínica Elcano7 entre los años 2007-2013.

Nuestra **hipótesis** de trabajo es que ha habido un cambio en los parámetros básicos del seminograma de los varones que acuden a la clínica Elcano7, provocado por los diferentes criterios utilizados por la OMS y en función de la edad de los pacientes que acuden a la unidad de RA durante el periodo estudiado.

Por ello nos planteamos los siguientes **objetivos**:

1. Determinar el número de diagnósticos que hubieran cambiado de ser clasificados como seminogramas alterados, a normozoospermicos; basándonos únicamente en los cambios propuestos por el Manual de la OMS 2010 frente a los previos (Manual de la OMS 1999).
2. Estudiar si la edad del varón influye en los parámetros seminales estudiados.
3. Observar la evolución de la calidad seminal entre los años 2007 y 2013 en la población de varones en estudio.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Población en estudio**

Se trata de un estudio observacional, retrospectivo y longitudinal. Para la realización del mismo se recogieron los datos de los seminogramas de pacientes varones que acudieron al Consultorio Ginecológico Elcano<sup>7</sup> (Bilbao-Vizcaya) y que se derivaron a la unidad de reproducción asistida (RA) de la clínica por problemas de esterilidad. La recopilación de los datos tuvo lugar durante el periodo comprendido entre enero de 2007 y diciembre de 2013 para el diagnóstico de un posible factor masculino de esterilidad.

Se seleccionaron y analizaron un total de 812 seminogramas, en varones con una edad comprendida entre 19 y 68 años, siendo la edad media 36,97 años. De los pacientes que acudieron a la clínica en el periodo de tiempo mencionado se seleccionaron 812 porque eran aquellos de los que se poseían todos los datos para el estudio.

Todos los análisis fueron de semen en fresco, no se estudiaron seminogramas de muestras de semen tras ser descongeladas. Además, se consideraron independientes los seminogramas realizados a un mismo varón puesto que, la proporción de más de un análisis seminal en el mismo paciente durante este periodo fue muy pequeña.

#### **3.2 Protocolo de recogida de muestras**

Se siguió el protocolo de recolección indicado por la OMS 2010. Las muestras se recogieron por masturbación y se depositaron en un contenedor de plástico estéril, bien cerrado y debidamente etiquetado con el nombre del paciente, o de su pareja, el día y la hora de obtención de la misma así como los días de abstinencia (mínimo de 2, máximo de 7). Siempre que fue posible, la muestra se obtuvo en la privada próxima al laboratorio de reproducción para evitar, en la medida de lo posible, la exposición del semen a fluctuaciones de temperatura así como para controlar el tiempo que pasa desde la obtención de la muestra hasta su procesamiento (no debe transcurrir más de una hora (40)).

El semen se mantuvo (mientras se licuaba) en un rango de temperatura entre 20-37° C, para evitar el daño espermático. La indicación general para la recogida de la muestra fue recolectar la muestra completa en un único recipiente a excepción de aquellos casos en los que el experto solicitó la recogida de la muestra fraccionada en dos botes diferentes. En este caso, se solicitó al hombre la recogida de la primera fracción del eyaculado (más rica en fluido prostático y espermatozoides) en un recipiente y la segunda fracción en otro (40).

En caso de que la recogida de la muestra se llevara a cabo fuera de la clínica, el paciente debía acercarla (mismas condiciones que las anteriormente explicadas) lo antes posible al centro, sin exceder de una hora en ningún caso.

### **3.3 Protocolo de análisis del semen**

El seminograma es el examen de diagnóstico inicial y el más importante y sencillo para iniciar el estudio de un posible factor masculino de infertilidad. Permite dar información sobre la espermatogénesis y la condición fisiológica de los tejidos comprometidos, permitiendo diagnosticar el estado funcional o las anomalías presentes en los distintos órganos que producen el semen (12, 36).

Al llevar a cabo este examen se evaluaron los siguientes aspectos físicos del semen; el volumen, el pH, viscosidad, color, olor y licuefacción y los aspectos celulares que estudian el espermatozoide en relación con el número, movilidad, morfología y vitalidad. Para este análisis de datos se tuvieron en cuenta por un lado el volumen seminal y por otro, el número, la movilidad, la morfología y la vitalidad espermática (13,31).

La evaluación de los parámetros mencionados y su método de análisis se explican a continuación.

#### **a) Volumen seminal**

La medición del volumen se llevó a cabo con una jeringa, que por lo general bastaba con que fuera de 5ml. En los casos en los que el volumen del eyaculado era mayor, se usaron jeringas de mayor capacidad o dos de 5ml.

El valor de referencia inferior para considerar un volumen normal fue de 2 y 1,5ml (con un intervalo de confianza del 95%) para los seminogramas valorados según la OMS 1999 y 2010 respectivamente. Por debajo de estos valores se diagnosticaba a los pacientes de *hipospermia* o lo que es lo mismo, bajo volumen de eyaculado.

#### **b) Recuento de espermatozoides**

El recuento espermático se realizó con una cámara de recuento específica, en este caso una Cámara Makler. Se añadió una gota de 20µl de semen ya licuado a la cámara y se cubrió para contar al microscopio electrónico (M.O) el número total de espermatozoides por ml (spz/ml) que había. Una vez bien enfocada la cuadrícula de la Makler en el objetivo de 20X o de 10X (como resulte más cómodo), se procedió al contaje de espermatozoides observados en varias filas y se hizo una media para obtener el valor de la concentración espermática.

Se siguieron los criterios indicados por la OMS 1999 y 2010. Así, cuando la cantidad de espermatozoides fue inferior a  $20 \cdot 10^6/\text{ml}$  ( $20 \cdot 10^6/\text{ml}$ ) y  $15 \cdot 10^6/\text{ml}$  respectivamente para el manual de 1999 y de 2010, se diagnosticaba al paciente de *oligozoospermia*. Cuando no había ningún espermatozoide, se clasificaba como *azoospermia*.

#### **c) Movilidad**

En la evaluación de la capacidad reproductiva del espermatozoide, la movilidad es un criterio determinante para su normalidad (13).

Para hacer la valoración en fresco se depositó una gota de semen en un portaobjetos (0,8µl) y se puso el cubre. La observación al M.O en este caso se hizo con el objetivo de 40X aumentos y se tomó nota de la movilidad de los espermatozoides. En este caso el valor de interés fue la movilidad progresiva, es decir, movilidad a+b, dada en porcentaje.

Los criterios que se siguieron para dicha valoración fueron los presentados en la **Tabla 4** expuesta a continuación.

**Tabla 4:** Clasificación de la movilidad espermática según el Manual de la OMS 2010. Grados a y b, movilidad progresiva (PM); grado c, movilidad no progresiva (NP) y grado d, inmóviles (IM).

<b>Grado a</b>	Móviles rápidos y trayectoria rectilínea
<b>Grado b</b>	Móviles lentos y con desplazamiento no rectilíneo
<b>Grado c</b>	Movilidad flagelar, pero sin desplazamiento
<b>Grado d</b>	Inmóviles

Se diagnosticó a los varones con *astenozoospermia* cuando la movilidad progresiva (a+b) fue inferior al 50% (OMS 1999) e inferior al 32% (OMS 2010).

#### **d) Morfología**

La morfología es un índice importante del estado del epitelio germinal y tiene un valor predictivo en el proceso de fertilización, por lo que se creó un criterio estricto para su valoración, enunciado por Kruger y conocido como “valoración estricta o de Kruger” que fue el utilizado por nosotros (36).

Para hacer el estudio morfológico se preparó una extensión de la gota de semen y se dejó secar en la placa calefactora. Una vez concluido este paso, se procedió a la tinción de la muestra pasando la preparación por una secuencia de panópticos y nuevamente se dejó secar.

Finalmente el conteo de los espermatozoides con morfología normal y anormal (macrocéfalos, microcéfalos, pieza intermedia, *tapering*, acrosoma reducido...) se hizo observando varios campos al M.O, con el objetivo 100X y con una gota de aceite de inmersión sobre la extensión. Los valores obtenidos se presentaron en forma de porcentajes.

Presentar pocos defectos en la cabeza, en la pieza intermedia y en la cola, fueron los criterios en los que nos basamos en este caso para clasificar los espermatozoides como morfológicamente normales. La cabeza no puede ser grande, pequeña, cónica, piriforme, redonda, amorfa o vacuolada, según nuestro criterios solo los de cabeza oval serían normales. Respecto al cuello y pieza intermedia, no deben ser doblados, inserción



asimétrica de la pieza intermedia en la cabeza, irregular o que la pieza intermedia sea anormalmente delgada. La cola puede ser curva, pero no bruscamente angulada, corta, en forma de horquilla, rota, doblada o retorcida.

El límite inferior de referencia utilizado por nosotros para la morfología normal fue del 15% (OMS 1999) y del 4% (OMS 2010). Cuando las formas normales observadas eran inferiores a dichos porcentajes, se consideró la existencia de un problema en la morfología. El diagnóstico para estos casos fue de *teratozoospermia*.

#### **e) Vitalidad**

La vitalidad espermática la estimamos, en este caso, haciendo una valoración de la integridad de la membrana celular.

Existen diferentes métodos para estudiar la vitalidad, en este caso se utilizó la eosina (colorante rosa) para hacer la valoración de la integridad de la membrana plasmática. Dicho colorante penetra a través de la membrana lesionada, observándose una coloración interna rosácea que será el indicativo de que esa célula está muerta. Los espermatozoides vivos, en cambio, se verán sin teñir pero quietos (40).

En un portaobjetos, además de una gota (0,8µL) de semen, se añadió la misma cantidad de eosina, y tras haber mezclado el colorante con la muestra, se cubrió y se dejó secando en la placa calefactora.

Una vez seca la preparación se procedió al estudio de la vitalidad al M.O. Observando la preparación con el objetivo de 40X, se hizo el conteo de cien espermatozoides entre los cuales los vivos se veían grisáceos (porque no estaban teñidos) y los muertos se diferenciaban porque estaban teñidos de rosa. Los valores se estimaron en forma de porcentaje tras hacer el conteo de 100 espermatozoides totales por secciones aleatorias de la extensión.

El límite inferior de formas viables considerado fue el que indica la OMS 1999 (75%) y el indicado por la OMS 2010, que es del 58% y en caso de no ser así, el diagnóstico que se daba era de *necrozoospermia*.

### **3.4 Tratamiento de datos**

Los datos fueron extraídos de la base de datos de seminogramas y de un programa de almacenamiento de datos e historiales clínicos, “Sara”. Los indicadores tomados se trabajaron con el programa Excel y con el SPSS versión 15.0 a nivel estadístico.

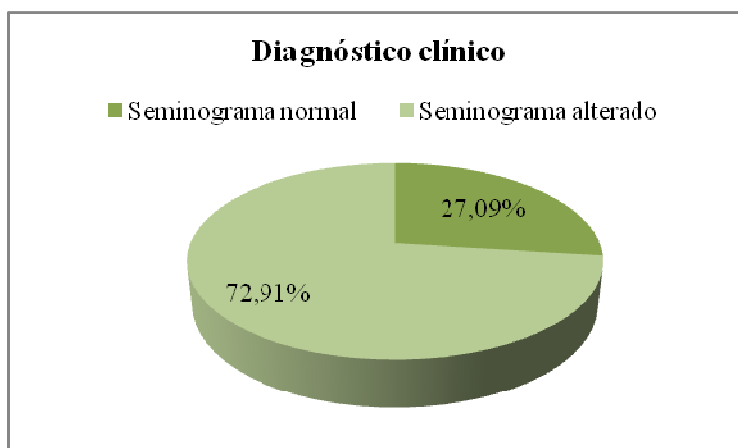
Las variables continuas se describen mediante medias y desviaciones típicas. Las categóricas mediante frecuencias relativas y absolutas. La comparación de las medias por distintos grupos se realizó mediante las pruebas robustas de Welch (previamente se contrastó la normalidad de las variables mediante el test de Kolmogorov -Smirnov), en el caso en que hubiera diferencias significativas, se utilizó el test pos hoc SNK para ver entre que pares se encontraban las diferencias. La independencia entre las variables categóricas se contrastó mediante la prueba chi-2. El índice de concordancia Kappa se usó para medir el grado de concordancia entre los métodos usados. Los p-valores inferiores a 0,05 fueron considerados estadísticamente significativos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Porcentaje de seminogramas normales y alterados, en función de los criterios de la OMS vigentes en el momento del diagnóstico.

Los valores de referencia seminal de la OMS 2010 para los parámetros estudiados incluyen un volumen seminal de 1,5ml, una concentración espermática de  $15 \times 10^6$  spz/ml, una movilidad progresiva del 32% y una morfología espermática de al menos el 4% para ser considerada como normal (según el Criterio de Kruger). Todo ello contrastado con los parámetros seminales propuestos por la OMS en su edición de 1999 en los que se cita un volumen  $\geq 2,0$ ml, una concentración espermática  $\geq 20 \times 10^6$  spz/ml, una movilidad progresiva  $\geq 50\%$  y  $\geq 14\%$  de formas normales para considerar la morfología espermática como normal.

A continuación se procede a observar el porcentaje de seminogramas normales entre los años 2007 y 2013. En cada caso, el diagnóstico obtenido fue, en base a los valores de la OMS que estaban en vigor en cada momento, es decir, los seminogramas relativos a los años 2007-2009, se evaluaron según los criterios establecidos por el Manual de la OMS 1999 y ya en el 2010, su evaluación fue basada en la quinta y última edición de dicho manual. Actualmente todavía en vigor.



**Figura 1:** Representación gráfica (dada en valores de porcentaje) del número de seminogramas considerados "normales" y con alteraciones en uno o varios de los parámetros en estudio; según los valores de la OMS que estaban en vigor en el momento de su análisis.

Como muestra la **Figura 1**, el 27,09% de los análisis fueron considerados como normales y el 72,91% presentaron algún tipo de alteración en el diagnóstico.

#### 4.2 Porcentaje de seminogramas normales y alterados según el criterio de la OMS 1999 y la OMS 2010.

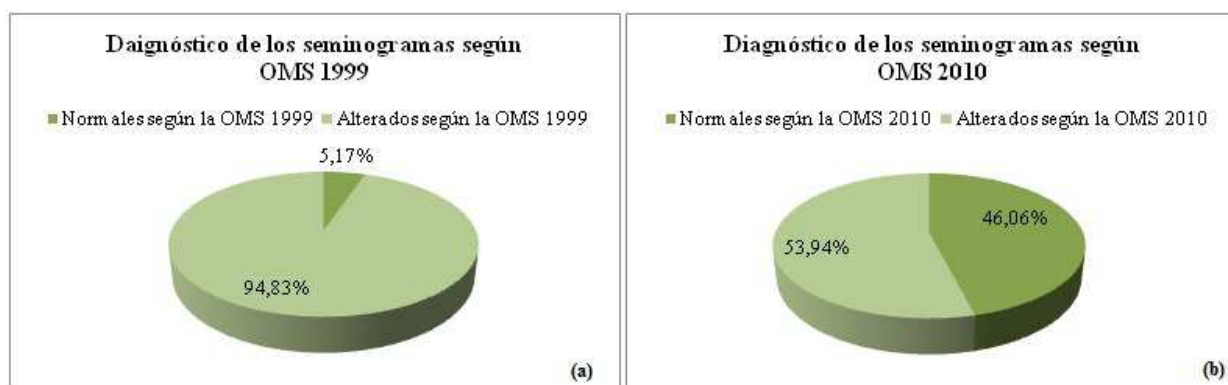
Debido al cambio de los límites inferiores de referencia (LIR) publicados por la OMS 2010, se optó por hacer la valoración de todos los seminogramas utilizando los criterios de la edición de 1999 y de nuevo utilizando los criterios establecidos en el manual actual, para ver los cambios que se hubiesen obtenido y los resultados se exponen en la **Tabla 5** y en la **Figura 3**.

**Tabla 5.** Número total de seminogramas estudiados entre 2007 y 2013, sus respectivos diagnósticos según la normativa de la OMS 1999 y según la 5ª edición de la OMS 2010 y los valores dados en porcentaje.

Total seminogramas 812	
Normales según la OMS 1999	Alterados según la OMS 1999
42	770
5,17%	94,83%
Normales según la OMS 2010	Alterados según la OMS 2010
374	438
46,06%	53,94%

En base a todos los parámetros revisados, sólo 42 de los 812 seminogramas hubieran sido estimados como normales y 770 presentarían alguna alteración al ser evaluados según los criterios de la OMS establecidos en 1999. Aplicando lo establecido en la 5ª edición del Manual de la Organización Mundial de la salud para todos los casos en estudio, esos 42 seminogramas normales pasarían a ser 374; reduciéndose así los diagnósticos de seminogramas alterados hasta 438 (**Tabla 5**).

Tras aplicar los porcentajes, los valores obtenidos fueron representados de la siguiente manera:



**Figura 2.** Estudio comparativo del análisis de semen según los criterios de la OMS 1999 (a) y 2010 (b) en pacientes infértiles (n=812), dado en valores de porcentaje.

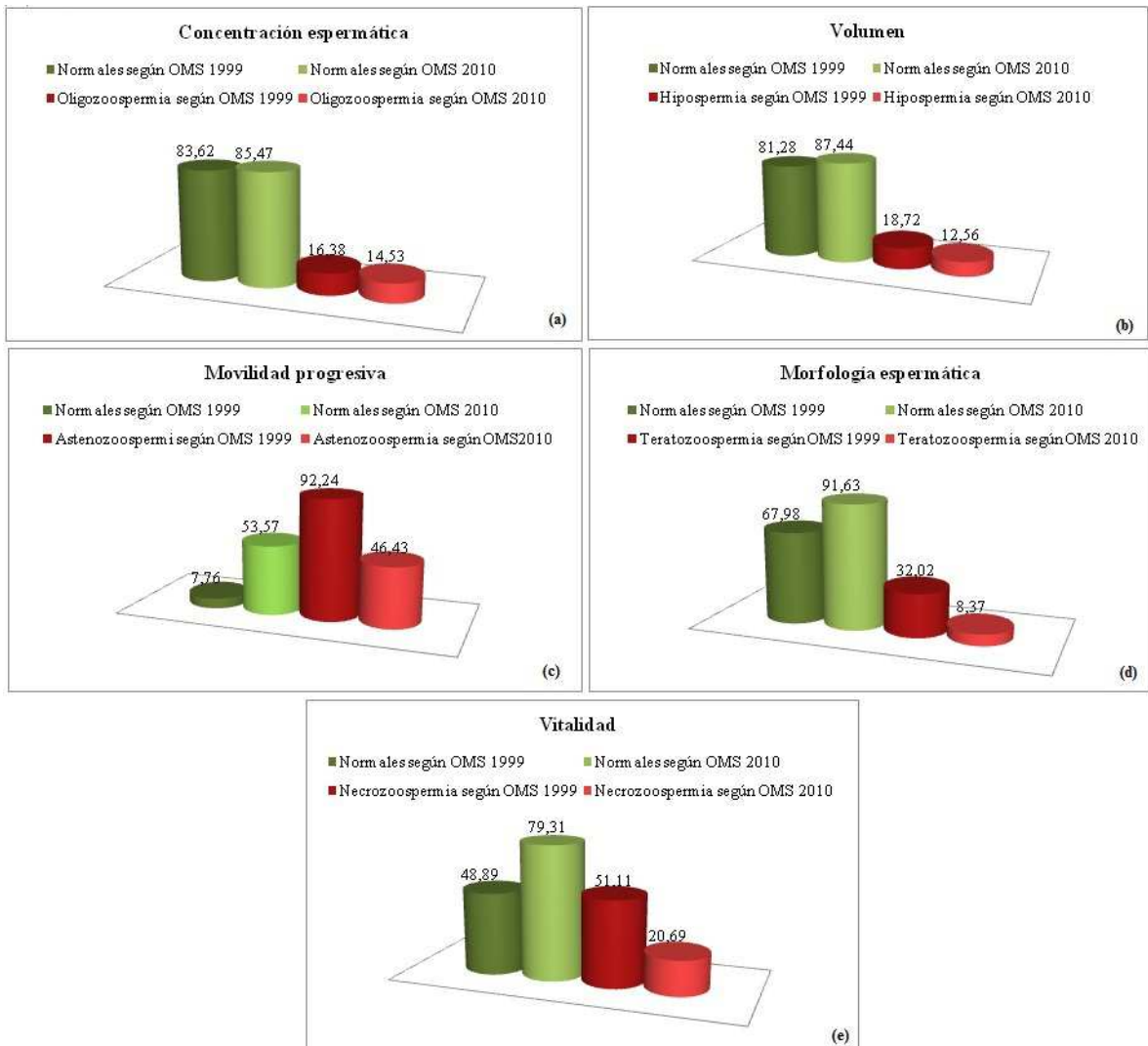
Como muestra la **Figura 2**, el 94,83% de los seminogramas, al menos por presentar alterado uno de los parámetros en estudio, no hubieran sido considerados normales por la OMS 1999. Obteniendo así sólo el 5,17% de los seminogramas normales según el criterio antiguo.

Aplicando los LIR de la OMS 2010, el 46,06% de los seminogramas hubieran tenido todos los parámetros en estudio por encima de los límites establecidos, considerándose por lo tanto normales. Así el porcentaje de “seminogramas dentro de los parámetros normales según la OMS 2010” hubiera ascendido del 5,17% al 46,06%. Y, en consecuencia, los diagnosticados como alterados, hubieran descendido al 53,94%.

#### **4.3 Análisis de la concentración espermática, volumen, movilidad progresiva, morfología y vitalidad espermática en función de los criterios de la OMS de 1999 y de 2010.**

Al observarse cierta tendencia al aumento del porcentaje de seminogramas normales según el criterio utilizado, se creyó oportuno desglosarlos en base a los diferentes parámetros de los que se tomaron datos para ver el porcentaje de pacientes que cambiarían el criterio en función de cada parámetro individual.

Así, se procedió a hacer el mismo tipo de estudio comparativo, según las valoraciones de la OMS 1999 frente a las valoraciones que se hubieran obtenido según la OMS 2010 para cada parámetro, los resultados gráficos y los análisis estadísticos que indican si hay diferencias significativas o no, se muestran a continuación.



**Figura 3.** Representación gráfica de la frecuencia (dada en %) de seminogramas normales y diagnosticados de (a) oligozoospermia, (b) hipospermia, (c) astenozoospermia, (d) teratozoospermia y (e) necrozoospermia según los criterios de la OMS 1999 y su comparativa con la valoración de todos los seminogramas en base al Manual de la OMS 2010 (5ª Edición).

Tras hacer los análisis de datos pertinentes, se observa que todos y cada uno de los parámetros en estudio se hubieran visto favorecidos con el cambio de los criterios de la OMS.

El porcentaje de varones diagnosticados con oligozoospermia hubiera descendido de 16,38% a 14,53%; el de hipospermia de 18,72% a 12,56%; el porcentaje de astenozoospermia de 92,24% a 46,43%; el de teratozoospermia 32,02% a 8,37 y el porcentaje de necrozoospermia se hubiera visto modificado de 51,11% a 20,69%.

Así, a priori, los cambios más notables son los observados en la movilidad progresiva, con un descenso del 45,81%; seguido de los observados en la necrozoospermia con un descenso del 30,42% y de la morfología que mejora en un 23,65%. Por el contrario, los porcentajes que menos han variado son los de volumen (6,16%) seguido de la concentración espermática, la cual presenta un descenso en los diagnósticos de oligozoospermia de un 1,85%.

Tras el análisis estadístico las mayores diferencias se observaron en la valoración de la movilidad, seguido de la vitalidad y de la morfología.

Respecto a la movilidad, con la valoración de la OMS 1999 se declaran 749 astenozoospermicos y 63 con este parámetro dentro de los límites normales. De los 749; 377 (50,3%) son también declarados astenozoospermicos por la OMS 2010. La OMS 2010 declara 377 astenozoospermicos y todos son diagnosticados como tal por la OMS 1999. El resto, es decir, 372 seminogramas (49,7%) de 812 fueron clasificados de forma diferente por la OMS 1999 y 2010. El índice Kappa fue de 0,136 (DS 0,025).

Respecto a la vitalidad, con la valoración de la OMS 1999 se declaran 415 necrozoospermicos y 397 con este parámetro dentro de los límites normales. De los 415; 168 (40,5%) son también declarados necrozoospermicos por la OMS 2010. La OMS 2010 declara 168 necrozoospermicos y todos son diagnosticados como tal por la OMS 1999. El resto, es decir, 247 seminogramas (59,5%) de 812 fueron clasificados de forma diferente por la OMS 1999 y 2010. El índice Kappa fue de 0,399 (DS 0,025).

Respecto a la morfología, con la valoración de la OMS 1999 se declaran 260 teratozoospermicos y 552 con este parámetro dentro de los límites normales. De los 260; sólo 68 (26,2%) son también declarados teratozoospermicos por la OMS 2010. La OMS 2010 declara 68 teratozoospermicos y todos son diagnosticados como tal por la OMS 1999. El resto, es decir, 192 seminogramas (73,8%) de 812 fueron clasificados de forma diferente por la OMS 1999 y 2010. El índice Kappa fue de 0,325 (DS 0,031).

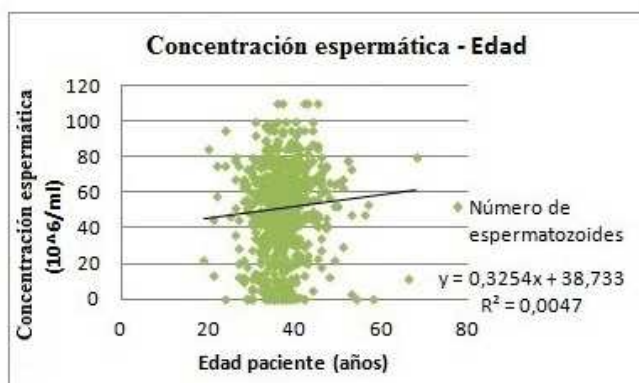
El índice Kappa mide el grado de concordancia entre dos medidas categóricas y oscila entre -1 y 1. Valores próximos a 1 dan grado total de acuerdo, -1, grado total de desacuerdo y 0, independencia. Así, cuanto más próximo esté este valor de 1; mayor concordancia habrá entre los dos criterios que se utilizaron para determinar el diagnóstico del paciente. La movilidad, la vitalidad y la morfología fueron, en este

orden, los parámetros que menor concordancia mostraron al ser valorados con los diferentes criterios de la OMS.

#### 4.4 Análisis de la concentración espermática, volumen, movilidad progresiva, morfología y vitalidad en relación con la edad del varón.

Por otro lado, con los datos recogidos, se procedió a hacer un estudio para ver cómo variaban en relación a la edad de los varones. Y los resultados obtenidos se muestran a continuación.

En este caso, se exponen los resultados obtenidos para la concentración espermática, el volumen, la movilidad progresiva, la morfología y por último la vitalidad. Todos ellos fueron analizados mediante gráficos de dispersión en relación con la edad.



**Figura 4.** Representación gráfica de la dispersión de los datos de concentración espermática (nº de spz \*10<sup>6</sup>/ml) en función de la edad del varón.

**Tabla 6.** Análisis estadístico de los valores de concentración espermática donde se exponen la edad, el número de casos (N), la media y su desviación típica (DS) y la significancia estadística o p valor.

Concentración espermática	Edad	N	Media ±DS
	<30	40	45,60±27,681
	30-40	457	50,74±25,391
	>40	179	55,70±23,360
	Total	676	51,75±25,115
Sign. estadística			0,068

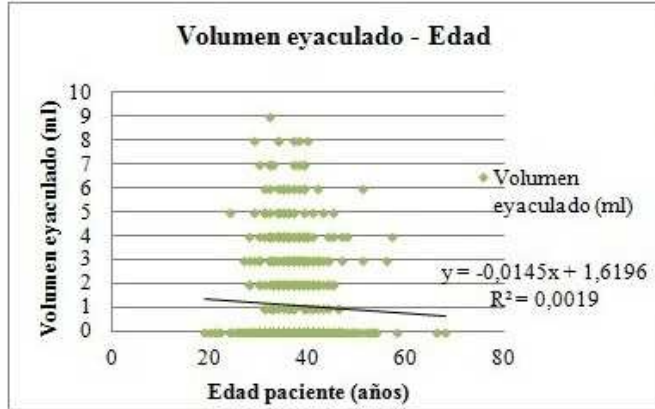
El número de espermatozoides es el único de los cinco parámetros que no muestra un descenso. Incluso al hacer el análisis de dispersión de los datos en relación con la edad, se observó un ligero aumento de la concentración. La pendiente de la recta de regresión lineal indica un aumento en la concentración de 0,325 por año del paciente.

Al observar esta tendencia, se agruparon los sujetos en tres grupos en función de la edad: <30años; entre 30-40 años y >40. En el análisis estadístico (**tabla 6**), se observó



que sin ser un aumento significativo, el p valor era muy próximo a 0,05. En este caso fue de 0,068; lo cual indica que hay cierta tendencia (aunque no significativa al 5%) de que a mayor edad, mayor número de espermatozoides.

Con el resto de variables en estudio se llevó a cabo el mismo tratamiento de datos.

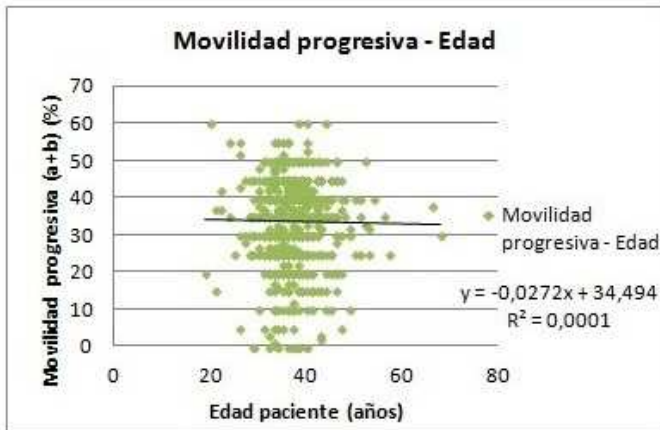


**Figura 5.** Representación gráfica de los datos de volumen (ml) en función de la edad del varón.

**Tabla 7.** Análisis estadístico de los valores de volumen de eyaculado donde se exponen la edad, el número de casos (N), la media y su desviación típica (DS) y la significancia estadística o p valor.

Volumen eyaculado	Edad	N	Media ±DS
	<30	9	3,89±1,900
	30-40	167	3,45±1,919
	>40	51	2,90±1,473
	Total	227	3,34±1,838

Sign. estadística 0,151

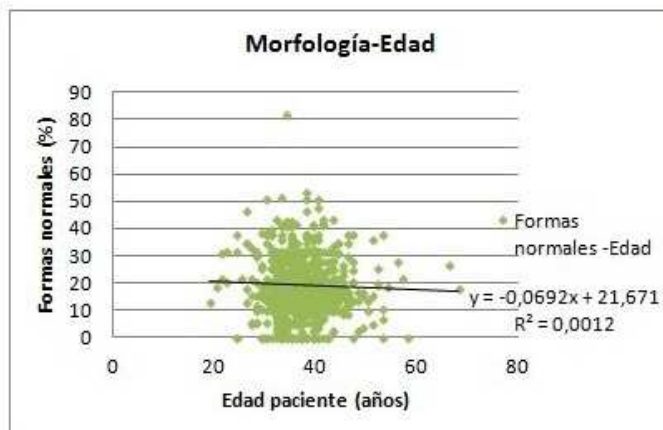


**Figura 6.** Representación gráfica de los datos de movilidad espermática (%) en función de la edad del varón.

**Tabla 8.** Análisis estadístico de los valores de movilidad progresiva donde se exponen la edad, el número de casos (N), la media y su desviación típica (DS) y la significancia estadística o p valor.

Movilidad progresiva	Edad	N	Media±DS
	<30	34	32,97±14,113
	30-40	412	33,61±12,271
	>40	167	33,34±11,782
	Total	613	33,50±12,229

Sign. estadística 0,764

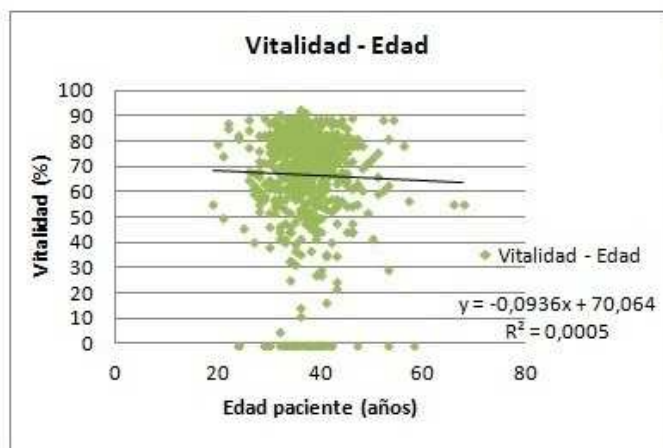


**Figura 7.** Representación gráfica de los datos de morfología espermática (%) en función de la edad del varón.

**Tabla 9.** Análisis estadístico de los valores de morfología espermática donde se exponen la edad, el número de casos (N), la media y su desviación típica (DS) y la significancia estadística o p valor.

	Edad	N	Media±DS
Morfología	<30	36	22,47±10,737
	30-40	441	20,33±10,307
	>40	178	19,88±9,202
	Total	655	20,32±10,043

Sign. estadística 0,351



**Figura 8.** Representación gráfica de los datos de vitalidad espermática (%) en función de la edad del varón.

**Tabla 10.** Análisis estadístico de los valores de vitalidad donde se exponen la edad, el número de casos (N), la media y su desviación típica (DS) y la significancia estadística o p valor.

	Edad	N	Media±DS
Vitalidad	<30	36	69,39±13,434
	30-40	444	71,36±15,393
	>40	177	69,86±14,746
	Total	657	70,84±15,118

Sign. estadística 0,181

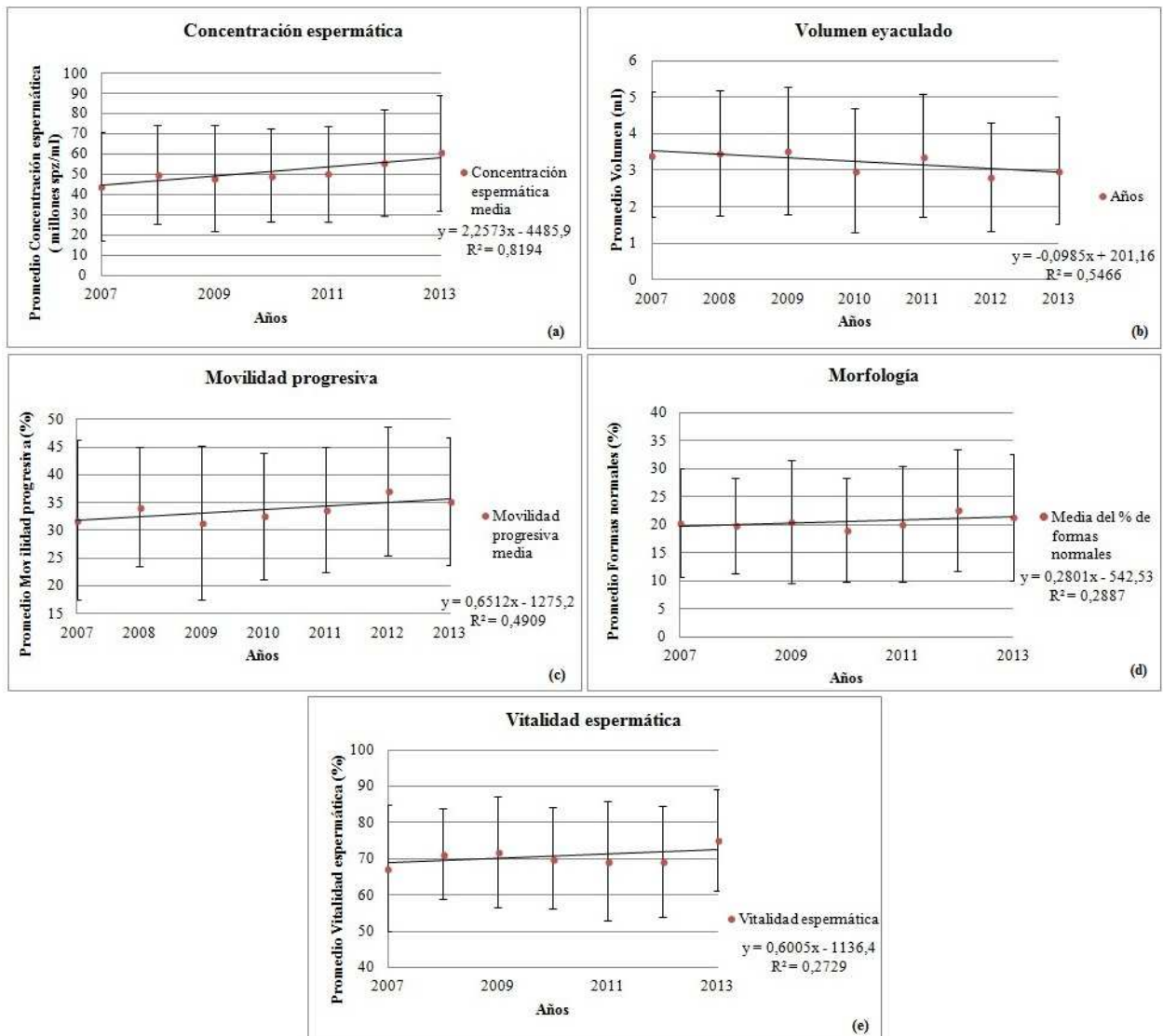
Una vez observados todos los resultados, comentar que el volumen (**Figura 5**) muestra una tendencia a descender con la edad con una relación de 0,0145 (interpretación correspondiente a la pendiente de la recta de regresión lineal la cual informa de que no es una pendiente muy pronunciada). La movilidad progresiva descende con la edad en 0,0272 (**figura 6**); la morfología en 0,0692 (**figura 7**) y la vitalidad en 0,0936 (**figura 8**).

El análisis estadístico mostró que el descenso de estas variables con la edad del varón, en ninguno de los casos era significativo, teniendo como p valor 0,171; 0,764;

0,351 y 0,181 (todos  $p > 0,05$ ) para el volumen, movilidad progresiva, morfología y vitalidad respectivamente (**Tablas 7-10**).

#### 4.5 Variación de la concentración espermática, el volumen, la movilidad progresiva, la morfología y la vitalidad a lo largo del tiempo de estudio (2007-2013).

Con el objetivo de observar cómo han variado dichos parámetros a lo largo del tiempo (desde 2007 hasta 2013), a continuación se presentan los valores medios obtenidos en cada caso junto con su desviación estándar y la representación gráfica de los mismos.



**Figura 9.** Representación gráfica de los valores promedio y las desviaciones estándar para (a) la concentración espermática ( $n^\circ \text{ spz} \cdot 10^6/\text{ml}$ ), (b) el volumen del eyaculado (ml), (c) la movilidad progresiva (%), (d) la morfología (%) y (e) la vitalidad (%) presentada a lo largo de los años.

Como muestra la **figura 9**, cuatro de los cinco parámetros estudiados muestran una tendencia al aumento a lo largo del tiempo de estudio, desde 2007 hasta 2013. El mayor aumento se observa en la concentración espermática con una pendiente (2,2573) más pronunciada que la de la movilidad (0,6512), la vitalidad (0,6005) o la morfología (0,2801). El volumen es el único de los cinco parámetros que muestra una ligera tendencia a la baja a lo largo del tiempo con una pendiente de 0,0985.

## 5. DISCUSIÓN

Desde el año 1980 la OMS ha editado un manual en el que se recogen los valores de referencia para los parámetros estudiados en un análisis seminal.

A pesar de que muchas de las investigaciones llevadas a cabo hasta el 2009 indicaban que los parámetros propuestos por la OMS como valores de referencia podrían ser buenos límites de corte para separar hombres fértiles de hombres con problemas de fertilidad, las dudas acerca de la validez de estos criterios cada vez eran mayores (16).

El valor que daba la OMS en su manual de 1987 ya fue considerado inadecuado en una publicación de Check *et al.*, del año 1992 porque según se publicó, estos valores no distinguían entre hombres fértiles e infértiles cuyas parejas eran sanas. Con estos valores tan dudosos, el diagnóstico de muchos varones podría ser sobre o subestimado.

Todavía en 2009 no había un consenso acerca de si los valores, que estaban en ese momento en vigor según la OMS 1999, eran adecuados o no; porque algunos centros consideraban que los valores citados para concentración espermática, morfología o movilidad eran demasiado elevadas, mientras que otros consideraban que eran demasiado bajos (32).

Si fueran demasiado altos, un elevado porcentaje de hombres fértiles podrían haber sido clasificados como infértiles, especialmente cuando se consideraba la concentración, la morfología o la movilidad (32). En este caso, en el que los límites propuestos fueran demasiado elevados, hombres sanos hubieran sido tratados con técnicas de reproducción asistida como consecuencia de su “baja” calidad seminal, de forma innecesaria (6, 16).

De acuerdo con estos estudios, nuestros resultados muestran que, si los datos de los seminogramas llevados a cabo entre 2007 y 2013 hubiesen sido valorados en base a los criterios de la OMS 1999, un 94,83% hubieran presentado un seminograma alterado frente a un 53,94% según los criterios ahora vigentes.

Desde que tuvo comienzo este estudio en el 2007 hasta el 2013, el porcentaje de seminogramas alterados (bien sea por uno o varios parámetros por debajo de los límites inferiores de referencia), hubiera descendido en un 40,89%. Así, estos pacientes

hubieran sido diagnosticados de infertilidad masculina por la OMS 1999, y hubieran sido valorados según la OMS 2010 como normales.

El hecho de que una de las modificaciones del último manual sea la retirada de los adjetivos de leve, moderado y grave, nos lleva a que al interpretar un diagnóstico haya que mirar también los valores numéricos de concentración, volumen, movilidad, morfología y vitalidad para concretar el tipo de tratamiento que recibirá la pareja. Por ejemplo, porque dependiendo del número de espermatozoides móviles progresivos se determina el tipo de tratamiento a realizar en una pareja. Por lo tanto, no es lo mismo un varón con alteraciones leves, que quizás pueda someterse a una inseminación artificial conyugal que si las alteraciones que presenta son graves, que requerirá de un FIV o incluso un ICSI (17).

En nuestra casuística, los cambios observados en los diagnósticos desglosados en función de un único parámetro, parecen seguir la lógica del cambio propuesto por la OMS. Es decir, los parámetros que se han visto más afectados por el cambio de la normativa son de mayor a menor; la movilidad (la astenozoospermia descendería en un 45,81%), la vitalidad (descenso de la necrozoospermia en un 30,42%) y la morfología (descenso de la teratozoospermia en un 23,65%); coincidiendo con ser estos mismos los que mayores cambios sufrieron con el cambio de la normativa del 2010.

Justo en el otro extremo, se observó que eran la concentración espermática y el volumen, los sometidos a una menor modificación en los nuevos criterios, los parámetros que hubieran cambiado en menor grado su diagnóstico aún cambiando los criterios utilizados (1,85 y 6,16% respectivamente) (**Tabla 3**). Los análisis estadísticos se corresponden con estas observaciones.

Siendo la calidad seminal una herramienta predictiva de la fertilidad, el peso de las evidencias indica que los hombres pueden volverse progresivamente menos fértiles a medida que envejecen. A pesar de que los efectos del envejecimiento masculino o andropausia, son menos prominentes que los femeninos, los hombres comienzan a contribuir con la disminución de la fertilidad en una pareja a finales de la tercera década y con la disminución de la fecundidad a principios de la cuarta década (22, 30).

Se han publicado varios trabajos en los que se ha estudiado la influencia de la edad sobre la calidad del semen. En algunos de ellos la población en estudio fueron

pacientes sin patologías previas conocidas que pudieran comprometer la calidad del esperma (2, 5, 29) y en otros, en cambio, se trabajó con seminogramas de hombres miembros de parejas con problemas de fertilidad (14, 30) como es el caso de nuestro estudio.

Esta revisión de la bibliografía sugiere que el aumento en la edad del hombre está asociado a una disminución en el volumen seminal, en la concentración y movilidad espermática (que podría ser debido a cambios en el epidídimo, la próstata y las vesículas seminales debidos a la edad del varón) y a la disminución del porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales.

En nuestro estudio los parámetros volumen seminal, movilidad progresiva, porcentaje de formas normales y la vitalidad muestran un descenso con la edad del varón sin llegar a ser este estadísticamente significativo. Concuerdancia con trabajos publicados por otros autores, pero por lo que respecta a la concentración espermática, se observa una tendencia al aumento que tampoco es significativa.

En varios trabajos publicados no hay consenso en lo referente a la concentración espermática y la edad (11, 22, 26, 36.). Se sugiere que la relativa baja concentración espermática observada en algunas regiones geográficas puede ser debida a la exposición de factores ambientales tóxicos durante el periodo prenatal en áreas industrializadas (24, 25). Un estudio publicado por el Institut Marqués dirigido por la Asociación Española de Andrología (ASESA) y ANACER (Asociación Nacional de Clínicas de Reproducción) constata la gran disparidad en cuando a la calidad seminal que existe en España (24).

Aún así esta teoría no explica la tendencia al aumento en la concentración espermática observada en nuestra población de varones. Para confirmar esta tendencia al aumento habría que aumentar el tamaño de la muestra y ampliar el estudio a una población de varones fértiles. En caso de confirmarse, dado que los varones estudiados proceden de un área geográfica reducida, habría que comprobar cómo se comporta la concentración espermática en relación con la edad en otras regiones geográficas y probablemente achacar las variaciones encontradas a factores ambientales que afectan a las diferentes poblaciones.

Los indicadores estudiados en un seminograma habitual, en muchas ocasiones no pronostican el potencial fértil, ya que muchas parejas conciben rápidamente, a pesar de que los estudios seminales resulten anormales y, por el contrario, otras con análisis dentro de la normalidad resultan estériles (31). Por ejemplo, las medidas de la concentración de espermatozoides por sí solos no son necesariamente el biomarcador definitivo de la función testicular y no se puede extrapolar la disminución de la concentración espermática directamente con infertilidad masculina (35).

A pesar de que los parámetros mencionados pueden sufrir modificaciones por la función alterada del epidídimo o de las glándulas accesorias, hay muy pocos estudios que analizan los niveles seminales de marcadores como la  $\alpha$ -glucosidasa, la fructosa, el zinc o el ácido cítrico como evidencia del deterioro en la función de estas estructuras. En uno de los estudios que sí hace referencia a estas variables, se evaluó la relación de la edad con la calidad espermática y con los niveles seminales de marcadores funcionales del epidídimo y de glándulas anexas (30).

A parte de haber llegado a las mismas conclusiones que todos los estudios anteriormente mencionados, éste corroboró una reducción en los niveles de  $\alpha$ -glucosidasa y fructosa seminales en relación con la edad, lo cual afecta a la fertilidad del varón (30). De ahí se propone como posible ampliación de este tipo de estudios añadir estos marcadores al análisis.

Es importante recordar que para que la fertilización sea exitosa deben ocurrir procesos altamente complejos y que además se ven involucrados ambos miembros de la pareja. Hay estudios que determinan que aparte de los parámetros habituales, se debería incorporar un estudio sobre la integridad del DNA espermático, ya que la fragmentación en las cadenas simples o dobles del DNA, son muy frecuentes en pacientes no fértiles. Todos ellos concluyen que la tendencia actual a ser padres en la madurez se asocia a una disminución de la integridad genética de los espermatozoides. Esto explicaría la reducción de la fertilidad en estos varones sobre los 40 años de edad (8, 9, 18).

Se ha despertado particular interés en esta área debido al riesgo que implica la transmisión de defectos genéticos a la descendencia, en especial cuando se utilizan técnicas de reproducción asistida (18).



Además, teniendo en cuenta la tendencia actual a retrasar la paternidad, sería interesante hacer estudios más detallados con el fin de establecer la relación entre la edad del hombre y las características seminales, ocupando un amplio espectro de edades, y controlando los posibles factores de confusión (consumo de tabaco, alcohol, drogas, días de abstinencia,...) y seleccionando grupos comparativamente adecuados (21).

El estudio de la esterilidad masculina basada en la evidencia plantea el problema de que la fertilidad depende en gran medida del factor femenino, el cual no se ha tenido en cuenta en este estudio y que además, en muchas ocasiones resulta difícil de estandarizar (28).

Muchos de los estudios realizados se centran únicamente en la edad de la mujer o en la edad del hombre. Otros estudios en cambio, han tenido en cuenta la edad de los dos miembros de la pareja analizándose como una única variable (“edad de la pareja”). Tras ajustar varios parámetros determinaron que el riesgo de aborto era mayor cuando la mujer tenía  $\geq 35$  años; como ha sido confirmado en varios estudios más. Sin embargo, determinaron que el aumento en el riesgo de aborto fue mucho mayor cuando el varón también era de edad avanzada. Así, concluyeron que ambas edades son variables a tener en cuenta (23).

Por lo tanto, puede que el retraso en la edad de la maternidad sea una de las causas por las que se observa cierta tendencia a la mejora en la calidad seminal a lo largo del tiempo en nuestro estudio. Es decir, una posible hipótesis que explique esto es que, cuando comenzó el estudio en el año 2007, las mujeres que acudían a los centros eran más jóvenes y por lo tanto el factor masculino podría cobrar mayor importancia en la esterilidad de la pareja.

Si esto fuera así, habría que comprobar cómo evoluciona la edad de las mujeres que acuden a la clínica en este periodo. Si este aumento se confirmara, podría explicar un mayor peso del factor femenino en la esterilidad de la pareja y por lo tanto sería mayor el número de varones que acuden con parámetros normales.

A medida que avanzaba el estudio en el tiempo, se ha ido retrasando también la edad de la maternidad, y por lo tanto es de suponer que la mujer de las parejas que acudieron más tarde, fueran de mayor edad. Así, en el 2013 el peso del factor de infertilidad podría recaer con más fuerza en ellas que en sus parejas.

Diversos estudios apoyan la idea de que la proporción de casos que siendo inexplicable ha aumentado el problema para concebir, puede derivar de un aumento de la edad de las mujeres, porque las mujeres mayores de 35 años tienen más probabilidades de presentar infertilidad de causa desconocida (38). Este factor unido al retraso en la edad de la maternidad podría explicar que en los últimos años de este estudio el factor femenino de infertilidad tuviera más peso que el masculino, en contraposición con lo que sucedía en los primeros años.

Hay que mencionar que, aunque puede ser que los resultados obtenidos de nuestra población no sean generalizables; se recomienda hacer futuros estudios teniendo en cuenta la edad de la mujer además de la del hombre para ver la tendencia de la infertilidad a lo largo del tiempo.

## 6. CONCLUSIONES

1. En la población estudiada hay un descenso de los seminogramas alterados coincidiendo con el cambio establecido en los criterios de la OMS. Además los parámetros seminales que mayor cambio mostraron fueron la movilidad progresiva, la vitalidad y la morfología.
2. Nuestro estudio sugiere que ha habido un descenso en la calidad espermática en la población del norte de España (Vizcaya) que se hace evidente en un descenso del volumen, la movilidad progresiva, la morfología y la vitalidad a medida que aumenta la edad del paciente. Observándose sólo una tendencia al aumento en la concentración espermática.
3. Desde el año en el que tuvo comienzo el estudio (2007) hasta el 2013, se observa una tendencia al aumento en la concentración espermática, la movilidad progresiva, el porcentaje de formas normales y la vitalidad; no así en el volumen del eyaculado, el cual muestra un ligero descenso a lo largo del tiempo.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A. C. POVEY and S. J. STOCKS. Epidemiology and trends in male subfertility. *Human Fertility*; 13(4): 182–188, December 2010.
2. B. Eskenazi et al. The association of age and semen quality in healthy men. *Hum Repr.* Vol.18, No2 pp.447-54, 2003.
3. Bradley D. Anawalt. Approach to Male Infertility and Induction of Spermatogenesis. *J Clin Endocrinol Metab*, 98(9):3532–3542; September 2013.
4. Baird D.T, Collins J, Egozcue J, Evers LH, Gianaroli L, Leridon H et al. Fertility and ageing. *Hum Repr Update*, Vol.11, No.3 pp. 261–276, 2005.
5. Cánovas, J.; Cadenas, V.; Gasset, R.; Fernández, J.; Sánchez, A. & García, J. Relación entre la edad y la calidad del estudio seminal. Experiencia en el área sanitaria 14 de la agencia valenciana de la salud. *Arch. Esp. Urol.*, 61(6):705-10, 2008.
6. Cooper, T. G.; Noonan, E.; von Eckardstein, S.; Auger, J.; Baker, H. W.; Behre, H. M.; Haugen, T. B.; Kruger, T.; Wang, C.; Mbizvo, M. T. & Vogelsong, K. M. World Health Organization reference values of human semen characteristics. *Hum. Reprod. Update*, 16(3):231-45, 2010.
7. Corrales JJ., Cordero M., Galindo P., Burgo RM<sup>a</sup>., Hernández J y Miralles JM. Evolución de la calidad seminal en una población no industrializada procedente de Salamanca durante los últimos treinta años. *Medicina Clínica*; Pages 277–283, Marzo 2011.
8. Cortés-Gutiérrez, E.; Dávila-Rodríguez, M.; López- Fernández, C.; Fernández, J. & Gosálves, J. Evaluación del daño en el DNA espermático. *Actas Urol. Esp.*, 31(2):120-31, 2007.
9. Cruz, I.; Colmenares, M.; Berrueta-Carrillo, L.; Gómez- Pérez, R.; Montes, H.; Berrueta, L.; Salmen, S. & Osuna, J. A. Evaluación de la calidad del espermatozoide humano: comparación entre la integridad del ADN espermático y variables del semen. *Invest. Clin.*, 51(1):87-99, 2010.
10. De Lama G. Valoración cromosómica espermática por FISH y su relación con implantación y fecundación. Revista decana de la especialidad, *Toko - Ginecología Práctica*; 69 (4): 96-101; 2010.

11. Eskenazi B, Wyrobek AJ, Slotter E, Kidd SA, Moore L, Young S, Moore D. The association of age and semen quality in healthy men. *Hum Reprod* 18:447–454, 2003.
12. Espinoza-Navarro, O. & Sarabia, L. Evaluación y Estandarización de la Calidad del Espermiograma: Nuevos Límites Inferiores de Referencia. *Int. J. Morphol.*, 29(3):885-890, 2011.
13. Fernando Vásquez R, Daniel Vásquez Echeverri. Espermograma y su utilidad clínica. *Salud Uninorte. Barranquilla (Col.)*; 23 (2): 220-230, 2007.
14. Fontanilla D, Ramírex J, Rámila A, Rodríguez J, Arenas C y Lucena E. La edad sobre el factor masculino y su efecto en la fertilidad de la pareja. *Revista Colombiana de obstetricia y ginecología*. Vol. 60 No 2; 1599-164; 2009.
15. F.van Balen, J.E.E. Verdurmen and E.Ketting. Age, the desire to have a child and cumulative pregnancy rate. *Hum. Reprod.*; 12 (3): 623-627, 1997.
16. Garrett C, Liu DY, Clarke GN, Rushford DD, Baker HW. Automated semen analysis: ‘zona pellucida preferred’ sperm morphometry and straight-line velocity are related to pregnancy rate in subfertile couples. *Hum Reprod*; 18:1643–1649; 2003.
17. González Ravina, Cristina, Alberto Pacheco Castro. Implementación de los nuevos criterios de la OMS en la práctica clínica. Laboratorio de Andrología y Banco de Semen. Clínica IVI Sevilla, Laboratorio de Andrología y Banco de Semen. Clínica IVI Madrid, Grupo de Interés de Andrología ASEBIR. *Rev Asoc Est Biol Rep* Junio 2011 Vol. 16 N° 1.
18. Horta, F.; Madariaga, M.; García, A.; Hartel, S. & Smith, R. Aumento del daño en el DNA espermático en varones mayores de 40 años. *Rev. Med. Chile*, 139(3), 2011. *In press*.
19. J. de Mouzon et al. The European IVF-Monitoring Consortium for the European Society on Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2007: results generated from European registers by ESHRE. 2012; 27(4): 954-966.
20. Jorgensen, N.; Andersen, A.G.; Eustache, F. y cols.: Regional differences in semen quality in Europe. *Hum. Reprod.*, 16: 1012, 2001.

21. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil. Steril.*; 75: 237; 2001.
22. Kühnert B, Nieschlag E. Reproductive functions of the ageing male. *Hum. Reprod. Up.*; 10: 327; 2004.
23. La Rochebrochard E and Thonneau P. *Hum. Reprod.* Vol. 17, No. 6 pp. 1649-1656, 2002.
24. López Teijón M, Elbaile M y Álvarez J.G. Geographical differences in semen quality in a population of young healthy volunteers from the different regions of Spain. *Andrología* 40, 318–328, 2008.
25. López-Teijón M. ¿Realmente está disminuyendo la fertilidad masculina? *Rev Iberoamer Fertil Reprod Hum* 22:1–3; 2005.
26. López-Teijón M, García F, Serra O, Moragas M, Rabanal A, Olivares R, Alvarez JG. Semen quality in a population of volunteers from the province of Barcelona. *Reprod Biomed Online* 15:434–444; 2007.
27. L. Schmidt et al. on behalf of the ESHRE Reproduction and Society Task Force. Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood. *Hum. Reprod. Update.*; 18(1):29-43; 2012.
28. Matorras R. El tratamiento del varón estéril a la luz de la medicina basada en la evidencia. *Revista iberoamericana de fertilidad.* Vol. 19 - nº 1 - Enero-Febrero 2002.
29. Mendiola J, et al. Sperm counts may have declined in Young university students in Southern Spain. *Andrology* 1, 409-413; 2013.
30. Molina RS et al. envejecimiento y calidad seminal: un análisis de 9.168 casos en Córdoba, Argentina. *Andrología, Arch. Esp. Urol.*; 63 (3): 214-222; 2010.
31. Munuce M<sup>a</sup>J. El laboratorio andrológico en la evaluación del factor masculino. *Reprolab- Biología de la Reproducción, Reproducción*; 23:120-128; 2008.
32. Nallella KP, Sharma RK, Aziz N, Agarwal A. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertil Steril*; 85:629–634; 2006.
33. Reina Bouvet B., Paparella CV. y Feldman RN. Efecto del tabaquismo sobre la espermatogénesis en hombres con infertilidad idiopática. *Andrología; Arch. Esp. Urol.* , 60, 3(273-277), 2007.

34. Sarabia L, y Munuce M<sup>a</sup>J. Nuevos valores para el espermograma OMS. *Rev Med Chile*; 139: 548-549, 2011.
35. Sheena E M Lewis. Focus on Determinants of Male Fertility. Is sperm evaluation useful in predicting human fertility? *Society for Reproduction and Fertility*; ISSN 1470–1626 (paper) 1741–7899 (online), 2007.
36. Tapia Serrano R. Una visión actual de la infertilidad masculina. *Rev Mex Repr.*; 4(3):103-109, 2012.
37. Teppa-Garrán A y Palacios Torres A. Evaluación actual de la infertilidad masculina. *Invest Clin* 45(4): 355 - 370, 2004.
38. Waylen AL, Metwally M, Jones GL, Wilkinson AJ, Ledger WL. Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis. *HumReprod Update*; 15:31–44; 2009.
39. World Health Organization. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile male, Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
40. World Health Organization (WHO) *Laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 5th Edition. Geneva, World Health Organization, 2010.
41. Youn, JS., et al 2011. Predictive value of sperm motility characteristics assessed by computer-assisted sperm analysis in intrauterine insemination with superovulation in couples with unexplained infertility. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 38 (1): 47-52; 2011.