

¿Es la temperatura ambiente un factor condicionante del resultado en ciclos de inyección intracitoplasmática de espermatozoides?

Beatriz Migueles Pastor^a, Mónica Dorado Silva^a, María Hebles Duvison^b, Mercedes González Martínez^a, Laura Aguilera Duvison^a, José A. Lara Gallego^b, Pascual Sánchez Martín^b y Fernando Sánchez Martín^b

^aFundación Guadalquivir de Investigación Médica. Sevilla. España.

^bClinica Ginemed. Sevilla. España.

RESUMEN

Objetivos: Los resultados de los ciclos de fecundación in vitro (FIV)-inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) en las diferentes clínicas de reproducción sufren altibajos más o menos notables a los que no siempre encontramos una explicación. La sensibilidad de la espermatogénesis a estrés de distintos orígenes da como resultado a diferentes poblaciones espermáticas. Si tenemos en cuenta que el peso del factor masculino en el ciclo de FIV-ICSI se cifra en torno al 50% (factor masculino puro o mixto), debemos pensar cómo podría afectar al eyaculado final una situación de estrés ambiental puntual. La periodicidad en las tasas de embarazo en nuestro centro nos hizo pensar que podría haber alguna relación entre éstas y la temperatura registrada en la ciudad.

Material y métodos: Se hizo un estudio retrospectivo y aleatorizado de las tasas de embarazo registradas en nuestro centro durante 3 años consecutivos. Se incluyeron pacientes sometidas a ciclos de ICSI, menores de 38 años, sin fallo ovárico y se excluyeron las pacientes cuyos óvulos fueron microinyectados con semen de donante.

Resultados: Una vez analizados los datos, se pudo relacionar la disminución de los resultados de las tasas de embarazo en ciclos de ICSI con las elevadas temperaturas registradas en Sevilla en el período estival.

Palabras clave: Espermatogénesis. Temperatura ambiente. Factor masculino.

ABSTRACT

Does environmental temperature affect the results of intracytoplasmic sperm injection?

Objectives: The results of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF-ICSI) cycles in assisted reproduction clinics show distinct degrees of variability. The sensitivity of spermatogenesis to various types of stress results in distinct spermatic populations. Since the male factor (pure or mixed male factor) plays an important role in about 50% of IVF-ICSI cycles, identifying how temporary environmental stress might affect the final ejaculation is important. Observation of temporal patterns of pregnancy rates in our center prompted us to investigate the possible relationship between these rates and the temperature in the city.

Material and methods: We performed a retrospective, randomized study of the pregnancy rates in our center in 3 consecutive years. Patients undergoing ICSI cycles, aged less than 38 years old, and with no ovarian failure were included. Patients whose eggs had been microinjected with donor sperm were excluded.

Results: Analysis of the data revealed an association between decreases in pregnancy rates in IVF cycles and the high temperatures registered in Seville during summer.

Key words: Spermatogenesis. Environmental temperature. Male factor.

Correspondencia: Dra. B. Migueles Pastor.
Clínica Ginemed.
Farmacéutico Murillo Herrera, 3 Bajo. 41010 Sevilla. España.
Correo electrónico: bmigueles@ginemed.es

INTRODUCCIÓN

El éxito de la espermatogénesis se debe, en gran medida, a la existencia de un ambiente testicular adecuado. Estas condiciones cifran una temperatura de entre 2 y 4 °C menor a la temperatura media corporal^{1,2}; un aumento de ésta por encima de 35 °C perjudica la espermatogénesis³. Así, Brindley⁴ describe los cambios en la temperatura escrotal debidos a las condiciones ambientales, a las condiciones posturales, y Jung et al⁵ describen las diferencias en función de la postura en la que duerme el varón. Períodos continuados de trabajo sedentario producen un aumento en la temperatura escrotal, lo que reduce la concentración espermática^{6,7}.

La temperatura ambiental juega un importante papel en los cambios a nivel escrotal. Krause y Krause⁸ citan una disminución de las tasas de embarazo en verano debido a la baja concentración de espermatozoides. Mateo et al⁹ afirman que la concentración de espermatozoides es mayor en invierno y primavera, frente al resto del año, siendo menor en verano, y que esta variación se produce sólo en regiones subtropicales debido a las altas temperaturas alcanzadas en estas áreas geográficas durante el período estival. Yamamoto et al¹⁰ realizaron un estudio en el que sometieron testículos de rata adulta a situaciones de hipertermia (43 °C durante al menos 15 min), esto se traducía en un selectivo, pero reversible, daño en el epitelio de los túbulos seminíferos, donde se encontró un incremento de la apoptosis de células germinales en estadios tempranos (I-V) y en los finales (XII-XIV), llegando degenerar en algunos casos en azoospermia. Said et al¹¹ estudiaron el papel que las caspasas jugaban en la infertilidad masculina y demostraron que exposiciones a temperaturas elevadas mayores a 6 h producían una activación de la apoptosis de células germinales a nivel testicular, siendo las mitocondrias del retículo endoplasmático la principal vía de apoptosis y muerte celular inducida por calor.

No debemos olvidar que una temperatura elevada en el epidídimo es una de las principales causas, entre otras, de la fragmentación del ADN espermático¹². Un eyaculado con una elevada proporción de espermatozoides con ADN fragmentado producirá embriones con una menor tasa de división, de implantación, de embarazo y una mayor tasa de aborto¹³.

El objetivo de este estudio es verificar la relación entre las variaciones de temperatura (que se producen en la ciudad de Sevilla donde, en determinados días, en los meses de julio y agosto se llegan a alcanzar los 43-47 °C en las horas centrales) y las tasas de embarazo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio retrospectivo en el que se han incluido un total de 886 ciclos realizados en nuestro centro entre enero de 2004 y diciembre de 2006.

Para realizar el estudio seleccionamos las pacientes de edad menor o igual a 38 años que se han sometido a un ciclo de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). No se han incluido en el estudio los casos en los que se utilizó semen de banco y no se han tenido en cuenta ni los parámetros seminales ni la calidad embrionaria en la transferencia. El diagnóstico que determinó el tratamiento se basó en los parámetros que aportó el seminograma, parámetros hormonales y eco-gráficos registrados en cada una de las pacientes. Se sometió a las pacientes a protocolo de estimulación ovárica largo o corto en función del diagnóstico obtenido.

Se han analizado las tasas de embarazo por transferencia y de temperatura recogidos mes a mes durante el período estudiado. Las temperaturas con las que hemos trabajado son las máximas medias registradas mes a mes.

El análisis estadístico se ha realizado mediante el programa estadístico Sigmastat 3.1 y el tratamiento de los datos mediante el estadístico one-way anova.

RESULTADOS

Se analizaron las tasas de embarazo por transferencia obtenidas cada mes y fueron comparándose un total de 886 ciclos.

Las gráficas obtenidas en cada uno de los años estudiados son muy similares, observándose el mismo comportamiento en tasas de embarazo y en temperaturas registradas.

En la figura 1 (año 2004) podemos observar como las 2 curvas, tasa de embarazo y temperaturas máximas medias registradas en el año, llegan a solaparse en los meses estivales. Cuanto mayor es la temperatura (junio, julio y agosto), menor llegan a ser las tasas de embarazo, produciéndose de nuevo un aumento de éstas a partir del mes de septiembre.

En la figura 2 (año 2005) vemos un comportamiento similar de los datos; las tasas de embarazo se mantienen estables a lo largo del año, produciéndose una disminución nuevamente en los meses de verano, donde la temperatura máxima media alcanzada es superior a los 35 grados.

En la figura 3 vemos que se produce una modificación respecto a las 2 gráficas anteriores: en el mes de junio la tasa de embarazo no disminuye como en años anteriores, y si observamos la temperatura media

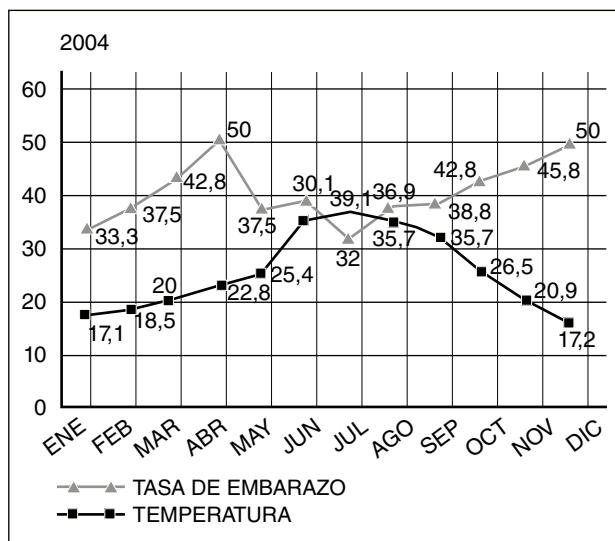


Figura 1. Tasa de embarazo y temperaturas máximas medias registradas en el año 2004.

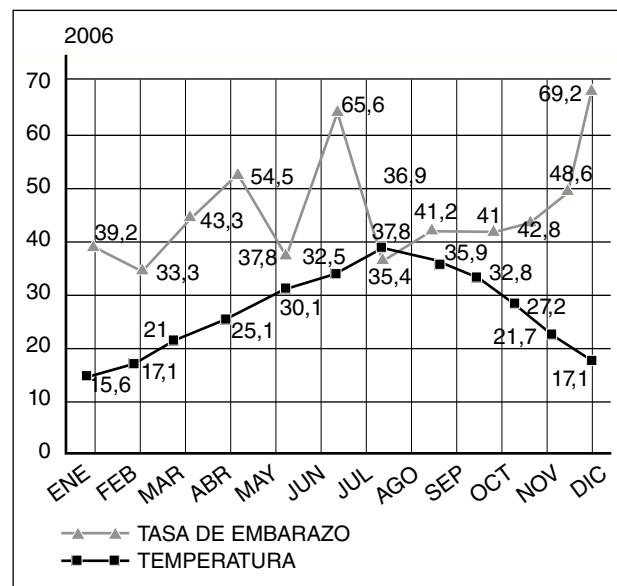


Figura 3. Tasa de embarazo y temperaturas máximas medias registradas en el año 2006.

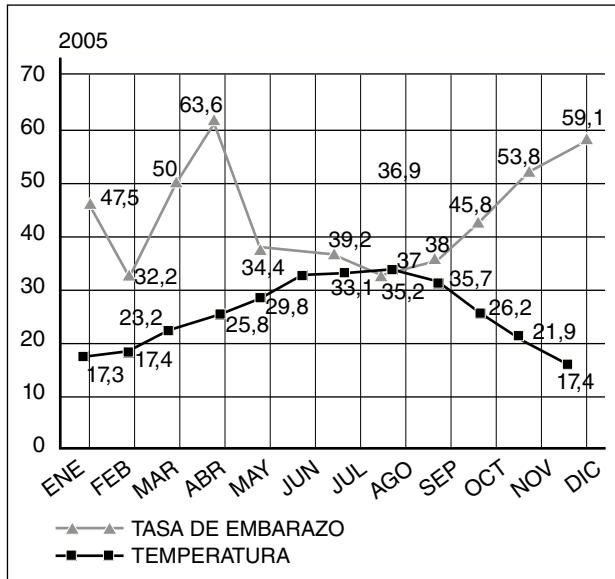


Figura 2. Tasa de embarazo y temperaturas máximas medias registradas en el año 2005.

máxima del mes, 32,8 °C, es inferior a la registrada en los 2 años anteriores, 35,4 °C en junio de 2004 y 35,2 °C en junio de 2005.

La media de los datos en los últimos 3 años nos da la siguiente gráfica (fig. 4). En esta gráfica observamos de nuevo cómo la media de las tasas de embarazo es superponible a cualquiera de los años analizados. Si comparamos las gráficas de cada uno de los años por separado con la media de los 3 años analizados obtenemos para cada uno de los años:

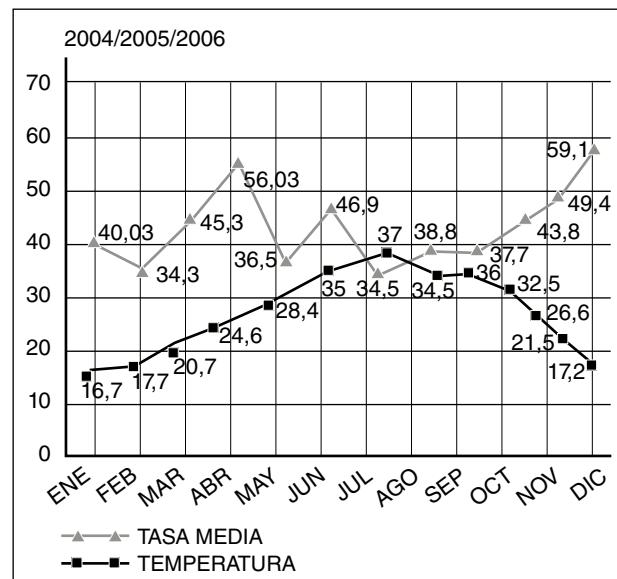


Figura 4. Tasa de embarazo y temperaturas máximas medias en los 3 años: 2004, 2005 y 2006.

– Como hemos comprobado en cada una, los patrones son muy similares exceptuando el pico del mes de junio del año 2006, ya que esa disminución de la temperatura en este mes dispara la tasa y hace que la media de los 3 años eleve el valor y desajuste la gráfica.

– Al analizar los datos vemos que las tasas de embarazo tienen prácticamente el mismo trazado en cada uno de los 3 años, no habiendo diferencias significativas en dichos datos (tabla 1).

TABLA 1. Tasas de embarazo en cada uno de los 3 años analizados

Año	n	Tasa de embarazo anual (%)
2004	260	40,2
2005	303	43,2
2006	322	44,6

p = 0,321, no hay diferencia significativa.

TABLA 2. Tasa de embarazo, según que la temperatura máxima media excede o no de los 33 °C

Temperaturas (°C)	n	Tasa de embarazo (%)
> 33	207	36,71
< 33	679	45,6

p = 0,023, sí hay diferencias significativas.

– Sin embargo, si comparamos los meses en los que la temperatura máxima media excede de los 33 °C, con los meses en los que no excede, obtenemos que sí hay diferencias significativas (tabla 2).

Observamos así que los meses donde la temperatura máxima media ambiental es superior a los 33 °C las tasas de embarazo disminuyen de forma notable respecto al resto de los meses del año.

DISCUSIÓN

Ver cómo las tasas de embarazo siguen año tras año el mismo patrón nos lleva a intentar averiguar por qué sucede de esta forma.

Muchos autores han estudiado el comportamiento del escroto y los testículos frente al calor: Robinson y Rock¹⁴ describen que un aumento de temperatura en los testículos inhibe la producción de espermatozoides, que se observa en patologías como el varicocele y criptorquidia. Sin embargo, no se ha visto que el ambiente juegue un papel en varones sanos sometidos a un aumento de temperatura ambiental. Brindley⁴ investiga los cambios en la temperatura escrotal con relación a los cambios de temperatura ambiente, la postura y el tiempo sentado y el tipo de ropa interior, y sugiere que un aumento de la temperatura escrotal es uno de los factores de infertilidad más relevantes. Safik¹⁵ describe que una temperatura elevada a 36,3 °C en varones, por el uso de ropa interior de poliéster durante 3 meses, podría degenerar en azoospermia. Por el contrario Stoy et al¹⁶ argumentan que el trabajo sedentario no está correlacionado con la concentración espermática. El estudio publicado por Song y Seo³ describen que cuando la temperatura ambiental

excede los 35 °C perjudica la espermatogénesis, lo que produce una disminución en la concentración espermática, el escroto se ve afectado por la temperatura ambiente, y la tasa de metabolismo testicular por la postura sedentaria del sujeto, lo que también hace que ésta aumente. Concluyen así que para que la espermatogénesis sea un proceso que se desarrolle con éxito, la temperatura ambiental debe mantenerse en un rango de entre 23 y 33 °C. Yamamoto et al¹⁰ recogen en un experimento, que una simple exposición al calor del testículo de rata, de 43 °C durante 15 min, da lugar a un selectivo, pero reversible, daño en el epitelio de los túbulos seminíferos dando lugar a un incremento de la apoptosis de células germinales. El calor induce apoptosis en diferentes estadios de la espermatogénesis como en paquitene (estadios I-IV y XII), diplotene y espermatocitos en división (en estadios XIII-XIV) y en los pasos iniciales (de 1 a 4) de las espermatidas se ha demostrado que son más sensibles al calor.

La población de espermatozoides en el eyaculado es muy heterogénea, y esto parece ser más evidente en pacientes con parámetros espermáticos por debajo de la normalidad¹⁷. La relación positiva entre parámetros seminales de mala calidad y el daño en el ADN espermático es indicador de problemas inherentes a la espermatogénesis, en pacientes específicos. Estrés ambiental, mutaciones génicas y anomalías cromosómicas pueden alterar los precisos cambios bioquímicos que ocurren durante la espermatogénesis, dando como resultado una estructura anormal de la cromatina que es incompatible con la fertilidad¹². Según Hoffmann y Hilscher¹⁸, el espermatozoide de un varón fértil presenta un ADN capaz de descondensarse en un tiempo apropiado en el momento de la fertilización. Por el contrario, el espermatozoide que manifiesta alteraciones nucleares que incluyen una estructura cromatínica anormal, cromosomas con microdeleciones, aneuploidías y roturas del ADN da lugar a infertilidad. Esta fragmentación afecta principalmente a la integridad del núcleo de un espermatozoide maduro eyaculado¹⁹. La cromatina del espermatozoide está altamente organizada y compactada, y está formada por ADN + nucleoproteínas heterogéneas. Este diseño tiene el único fin de transportar el genoma paterno a través de los tractos reproductivos masculinos y femeninos²⁰. La superproducción de espermatozoides que se produce a nivel testicular en mamíferos requiere procesos como la apoptosis, que es un mecanismo de control que restringe los niveles de producción normal durante condiciones inadecuadas para el desarrollo del espermatozoide¹⁰. Viendo cómo afecta la temperatura a la espermatogénesis en diferentes fases, no estaríamos equivocados al estable-

cer una relación directa entre los meses donde la población espermática puede estar dañada y cómo puede llegar a afectar el resultado de los ciclos de ICSI realizados.

CONCLUSIÓN

Si asumimos que el factor masculino juega un papel importante en el 50% de las parejas infértilas, debemos prestar especial atención a todos aquellos parámetros que puedan dañarlo. Una temperatura elevada puede alterar tanto los parámetros seminales básicos como parámetros que no se estudian de rutina en todas las muestras en un laboratorio de reproducción. En la ciudad de Sevilla se llegan a registrar temperaturas en las horas centrales del día de hasta 45 °C, valor más que suficiente para provocar un estrés puntual a nivel testicular que puede dar lugar a determinadas consecuencias en el eyaculado. Este estudio es el primero que intenta relacionar las tasas de embarazo en ICSI y las condiciones de temperatura ambiente, demostrando que hay una asociación entre ambas.

Como hemos descrito, las muestras seminales más patológicas son las que van a reflejar de forma más patente cualquier tipo de estrés (ya sea ambiental o de otra índole), por otro lado, todas las parejas que acuden a los centros de reproducción han fracasado en su intento de procreación de forma natural. Si, como hemos reseñado antes, un 50% tiene causa masculina exclusiva o mixta, el porcentaje de pacientes que pueden verse afectados por esta situación es elevado y a tener en cuenta. Por tanto podemos concluir que las elevadas temperaturas registradas en la ciudad de Sevilla parece ser que provocan una disminución de las tasas de embarazo.

AGRADECIMIENTOS

A todo el equipo de Ginemed.

Bibliografía

1. Kandeel FR, Swedloff RS. Role of temperature in regulation of spermatogenesis and the use of heating as method for contraception. *Fertil Steril*. 1998;49:1-23.
2. Mieusset R, Bujan L. The potential of mild testicular heating as a safe, effective and reversible contraceptive method for men. *Int J Androl*. 1994;17:186-91.
3. Song GS, Seo JT. Changes in scrotal temperature of subjects in a sedentary posture over a heated floor. *Int J Androl*. 2006; 29:446-57.
4. Brindley GS. Deep scrotal temperature and the effect on it clothing, air temperature, activity, posture and paraplegia. *Br J Urol*. 1982;54:49-55.
5. Jung A, Hofstötter JP, Schuppe HC, Schill WB. Relationship between sleeping posture and fluctuations in nocturnal scrotal temperature. *Repro Toxic*. 2003;17:433-8.
6. Hjollund NHI, Bonde JPE, Jensen TK, Olsen J. The Danish first pregnancy planner study team Diurnal Scrotal skin temperature and semen quality. *Int J Androl*. 2000;23:309-18.
7. Hjollund NHI, Storgaard L, Ernst E, Bonde JP, Olesen J. The relation between daily activities and scrotal temperature. *Repro Toxi*. 2002;16:209-14.
8. Krause A, Krause W. Seasonal variations in human seminal parameters. *Eur J Obstet Reprod Biol*. 2002;101:175-8.
9. Mateo I, Caparrós JM, Narbona A, Oriola M, Fitera L, Montaña V, et al. Revista Iberoamericana de Fertilidad. 2005;22: 193-8.
10. Yamamoto CM, Hikim APS, Huynh PN, Shapiro B, Lue Y, Salameh WA, et al. Redistribution of bax is an early step in nan apoptotic pathway leading to germ cell death in rats, triggered by mild testicular hypertermia. *Biol Repro*. 2000;63:1683-90.
11. Said TM, Paasch U, Glander HJ, Agarwal A. Role of caspases in male infertility. *Human Reprod Update*. 2004;10:39-51.
12. Evenson DP, Larson KL, Jost LK. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with the other techniques. *J Androl*. 2002;23:25-43.
13. Tesarik J, Mendoza R, Mendoza C. Sperm nuclear damage: update on the mechanism, diagnosis and treatment. *RBM Online*. 2006;12:715-21.
14. Robinson D, Rock J. Intrascrotal hypertermia induced by scrotal insulation: effect on spermatogenesis. *Obstet Gynecol*. 1967;29:217-23.
15. Shafik A. Contraceptive efficacy of polyester-induced azoospermia in normal men. *Contraception*. 1992;45:439-51.
16. Stoy J, Hjollund NH, Mortensen JT, Burr H, Bonde JP. Semen quality and sedentary work position. *Int J Androl*. 2004; 27:5-11.
17. Agarwal A, Tamer MS. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Human Reprod Update*. 2003;4:331-45.
18. Hoffmann N, Hilscher B. Use of aniline blue to assess chromatin condensation in morphologically normal spermatozoa in normal and infertile men. *Human Reprod*. 1991;6:979-82.
19. Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, Bizzarro D, Bianchi PG, Bianchi U. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa. *Rev Reprod*. 1999;4:431-7.
20. Manicardi GC, Tombacco A, Bizzarro D, Bianchi U, Bianchi P, Sakkas D. DNA strand breaks in ejaculated human spermatozoa: comparison of susceptibility to the nick translation and terminal transferase assays. *Histochemistry J*. 1998;30:33-9.