



ORIGINAL

La exposición a plaguicidas se asocia con la disminución del recuento espermático[☆]

Cristóbal Avivar Oyonarte*, Ignacio Durán Salas, María Angustias Molina Arrebola, José Antonio Castilla Alcalá, Nicolás Olea Serrano y Mariana Fernández Cabrera

Área Integrada de Biotecnología, Hospital de Poniente, El Ejido, Almería, España

Recibido el 15 de diciembre de 2008; aceptado el 7 de julio de 2009

Disponible en Internet el 8 de septiembre de 2009

PALABRAS CLAVE

Calidad seminal;
Concentración espermática;
Movilidad espermática;
Plaguicidas

Resumen

Introducción: Recientes estudios han demostrado un posible descenso de la calidad seminal en el hombre, debido, en parte, a sustancias químicas exógenas al organismo, y entre éstas, algunas con actividad hormonal, consideradas disruptores endocrinos, como son los plaguicidas. Estos estudios se han criticado por el sesgo que pueden presentar en cuanto a la selección de las poblaciones de estudio y en cuanto a la metodología analítica empleada.

Material y métodos: El objetivo de nuestro estudio es valorar la concentración de plaguicidas en las muestras de sangre, así como el recuento espermático y la calidad en las muestras de semen, según los criterios de la OMS, de una población de 273 varones con una media de edad de 20,7 años, sin antecedentes patológicos del Sudeste de España y reclutados en colaboración con la Universidad de Almería.

Resultados: En la totalidad de las 224 muestras de suero disponibles se cuantificó al menos un plaguicida, con una mediana de 11 plaguicidas por muestra; el p,p'-DDE es el más frecuente, presente en el 95,98% de las muestras. Únicamente con el endosulfán-sulfato (presente en el 45,1% de los voluntarios) se encontró una fuerte tendencia a la reducción de más 1,23 millones en el número total de espermatozoides, por lo que se alcanzó la significación estadística ($p = 0,009$; con un intervalo de confianza del 95%: $-1,43$ a $-1,05$). En cuanto al número de espermatozoides móviles, también únicamente con el endosulfán-sulfato, se presentó un descenso estadísticamente significativo de 1,23 millones ($p = 0,02$; con un intervalo de confianza del 95%: $-1,47$ a $-1,04$).

© 2009 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

[☆] Comunicación premiada en el II Congreso Nacional del Laboratorio Clínico celebrado en A Coruña, en junio de 2008.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cristobal.avivar@ephpo.es (C. Avivar Oyonarte).

KEYWORDS

Semen quality;
Sperm count;
Sperm motility;
Pesticides

Pesticide exposure and decreased sperm count**Abstract**

Introduction: Recent studies have demonstrated a possible decline in semen quality in men. One of the reasons for this is due, in part, to exogenous chemical substances, some of which have hormonal activity, and are considered to be endocrine-disrupting chemicals. Pesticides can be included in this group.

Material and methods: These studies have been criticized both for errors in selecting the study group as well as for the analytical methods employed. The objective of our study is to evaluate the concentration of pesticides in blood samples in addition to the sperm count and semen quality parameters (according to criteria set out by the W.H.O.) in a population of 273 healthy men with an average age of 20.7 years; all from Southern Spain and recruited in collaboration with the University of Almería.

Results: Out of the total of 224 serum samples available, at least one pesticide was quantified per sample, with an average of 11 pesticides per sample; the most frequent being p,p'-DDE, present in 95.98% of the samples. Only in the case of endosulfan sulphate (present in 45.1% of the volunteers) was there a strong reduction tendency in the number of spermatozoa of more than 1.23 million, reaching statistical significance ($P=0.009$), with a 95% confidence interval of -1.43 to -1.05 . As far as the number of motile spermatozoa were concerned, it was also only with endosulfan sulphate that a statistically significant reduction of 1.23 million ($P=0.02$) in the total number appeared, with a 95% confidence interval of -1.47 to -1.04 .

© 2009 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Con la publicación del informe Carlsen en el año 1992 se desencadena la alarma mundial sobre la decadencia de la calidad seminal en el hombre. Este informe comprende un metaanálisis de 61 trabajos revisados entre los años 1938 y 1991 que incluyen un total de 14.947 varones; entre los resultados durante esas 5 décadas, destaca un descenso en el número de espermatozoides que llega al 50%, lo que supone una disminución del 1% anual¹. A partir de entonces comienzan a aparecer estudios que contradicen y critican los resultados presentados por Carlsen^{2,3}, y otros que respaldan su hipótesis, tanto en Europa³⁻⁹ como en otros continentes¹⁰⁻¹⁴. Otros artículos, además de la calidad seminal, informan de otro tipo de alteraciones en los órganos reproductivos; entre éstos encontramos los del equipo liderado por el profesor Niels Skakkebaek, que proponía, aparte de una disminución en el recuento espermático, un incremento en la incidencia del cáncer de testículo¹⁵⁻¹⁷ y en la frecuencia de criptorquidias e hipospadias¹⁸, que junto con el aparente crecimiento en la demanda de reproducción asistida, no eran más que signos de un problema de salud, con una base común, al que denominaron *síndrome de disgenesia testicular* (TDS).

La hipótesis patogénica subyacente explica que algunas sustancias químicas se comportan como hormonas, alteran la homeostasis normal del sistema endocrino, o lo que es igual, producen una inestabilidad en el equilibrio de estrógenos, andrógenos, progestágenos y hormonas tiroideas, a través de mecanismos de acción diversos¹⁶. Aunque cualquier sistema hormonal es susceptible de dañarse, lo cierto es que los primeros compuestos exógenos o xenobióticos identificados se comportaban como estrógenos o

andrógenos, es decir, interferían con las hormonas sexuales, ya sea imitando, alterando o bloqueando su acción¹⁹.

En el año 1991 la conferencia de Wingspread (Wisconsin, EE. UU.) concluyó que un gran número de sustancias químicas, unas sintetizadas por el hombre y liberadas al medio ambiente y otras naturales, tenían efecto sobre el sistema endocrino del hombre y de los animales. Se conocen desde entonces con el nombre de "disruptores endocrinos" (DE)²⁰ o *endocrine disrupting chemicals*. Se trata de compuestos persistentes, organohalogenados y bioacumulables que incluyen algunos pesticidas-plaguicidas (fungicidas, herbicidas e insecticidas), compuestos de síntesis y algunos metales, que interfieren con la producción, liberación, transporte, metabolismo, unión, acción biológica o eliminación de las hormonas causantes del mantenimiento de la homeostasis y regulación del desarrollo²¹.

La asociación entre la exposición a los compuestos químicos y el riesgo de las enfermedades dependientes de las hormonas, como el aumento en la incidencia de los problemas relacionados con el tracto reproductor masculino se ha explorado escasamente.

Se plantea un estudio prospectivo, descriptivo y comparativo, en el que el objetivo se enmarca dentro de los planteados en el Proyecto de Investigación "Increasing incidence of human male reproductive health disorders in relation to environmental effects on growth-and sex steroid-induced alterations in programmed development", dirigido y llevado a cabo por un grupo multidisciplinario de clínicos, investigadores básicos y epidemiólogos de distintas instituciones, financiados por la Unión Europea (QLK4-1999-01422).

El objetivo general de nuestro estudio es determinar la calidad seminal en un grupo de jóvenes voluntarios de la provincia de Almería y obtener una base de datos de

referencia sobre los parámetros seminales en la población joven que sirva de utilidad para futuros estudios en otras áreas de España.

Los objetivos específicos son los siguientes: a) analizar el grado de exposición medioambiental a un grupo seleccionado de DE en jóvenes, junto con la determinación de la frecuencia de presentación y de los niveles medios de pesticidas organoclorados (OC) en muestras de sangre para cada individuo, y b) analizar la asociación con los parámetros seminales determinados y la exposición a los DE seleccionados.

Material y métodos

La población de estudio inicial está constituida por 380 varones residentes y nacidos en la provincia de Almería, con edades comprendidas entre 18 y 23 años, con una media de 20,7 años, procedentes en un 85,3% de áreas de residencia urbana, sin padecimiento de enfermedad crónica y desconocedores de su salud reproductiva y de su calidad seminal. A todos se les informó sobre los objetivos del estudio y se les solicitó un consentimiento informado. El índice de participación del estudio fue del 71,8%; de forma que el tamaño muestral final fue de 273 varones. Las razones que excluyeron la participación del resto fueron no acudir a la cita, la no disponibilidad de alguna de las fuentes de información, la pérdida de las muestras biológicas o no seguir el protocolo propuesto para la recogida, transporte y almacenamiento de las muestras.

La selección de los participantes en el estudio se realizó con la colaboración de la Universidad de Almería (UAL), que diseñó un protocolo de captación de una muestra de voluntarios basado en campañas en prensa y en medios de comunicación local, con espacios informativos en las "Jornadas de puertas abiertas" de la UAL.

Con el fin de facilitar a los voluntarios el proceso de toma de los datos y de las muestras, se habilitó un centro en la UAL que disponía de 4 zonas separadas, destinadas a la realización del examen físico-andrológico y recogida de sangre, cumplimentación de la encuesta, recogida de semen y un pequeño laboratorio donde se realizaba el estudio in situ e inmediato de las muestras de semen.

Para la realización del estudio se contó con las siguientes fuentes de información: cuestionario epidemiológico, examen físico básico, análisis químico en muestras de sangre de un grupo seleccionado de pesticidas y análisis del recuento espermático y parámetros de calidad en la muestra de semen.

Muestras de sangre

Las muestras se obtuvieron por venopunción cubital, con la obtención de 15–20 ml de sangre. Tras la centrifugación, se procedió a la separación del suero en 2 alícuotas y congelación a -20°C , hasta su empleo para las determinaciones bioquímicas y hormonales, así como de las medidas de exposición a contaminantes químicos ambientales.

Análisis seminal

Para la realización del análisis de semen se siguió estrictamente el protocolo indicado por la OMS en la última edición del manual para el análisis estandarizado de semen²². Se procedió al recuento en cámara de Neubauer improved mediante diluciones con una solución inmovilizadora. El estudio de la movilidad se llevó a cabo en un portaobjetos atemperado y la observación bajo contraste de fases a $400\times$ se llevó a cabo en un microscopio Olympus BX50 dotado de pletina térmica a 37°C . Se visualizaron 200 espermatozoides, que se clasificaron según los tipos de movilidad establecidos en: tipo a, movilidad progresiva rápida ($\geq 25\mu\text{m/s}$ a 37°C); tipo b, movilidad progresiva lenta ($5\text{--}24\mu\text{m/s}$ a 37°C); tipo c, movilidad no progresiva ($< 5\mu\text{m/s}$ a 37°C), y tipo d, inmóviles a 37°C .

Todas las mediciones se efectuaron por un único observador y por duplicado, éste recogió los valores medios de ambos recuentos y siguió los criterios de la OMS para un intervalo de confianza del 95%.

Control de calidad

Nuestro grupo de trabajo, al igual que los otros grupos participantes en el proyecto europeo Environmental Reproductive Health, recibió un control de calidad externo de periodicidad mensual para evaluar la variabilidad interobservador en el proceso de análisis de muestras de semen fijadas con azida sódica y remitidas desde el Hospital Universitario de Copenhague, Dinamarca. Consistía en la evaluación, por parte del mismo observador del estudio, de la concentración espermática en 16 muestras y en la comparación de los resultados con los obtenidos por el laboratorio de referencia, que resultó ser del 96%, es decir, un 4% menos que el laboratorio de referencia, con un intervalo de confianza del 95% (87–106%).

Análisis de plaguicidas en suero

Se realizó mediante el método más utilizado para el análisis de xenobióticos lipofílicos en suero humano, como es la extracción líquido-líquido que separa, en función de su polaridad, los plaguicidas OC presentes en las muestras.

Para la extracción se utilizó una mezcla de disolventes compuesta por éter-etílico y hexano. En la técnica se distinguen 2 etapas, la primera consiste en la extracción propiamente dicha de los compuestos liposolubles en la que se obtiene un extracto todavía demasiado grosero, para en una segunda etapa purificar este extracto mediante cromatografía en columna mediante la utilización de cartuchos *sep-pack* (Waters[®]) rellenos de sílice, según el método de Moreno Frías²³. De esta forma, se pudo obtener un residuo que contenía los plaguicidas OC contaminantes del suero ya preparado para analizarse por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG/DCE). Todas las determinaciones, basadas en la técnica de CG/DCE, se confirmaron mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas.

Plaguicidas analizados

Se determinó la concentración de 18 pesticidas en suero, expresada en ng/ml. Los pesticidas analizados fueron o,p'-diclorodifeniltricloroetano (DDT); p,p'-DDT; o,p'-diclorodifenildicloroetano (DDD); p,p'-diclorodifenildicloroetileno (DDE); metoxicloro; mirex; lindano; hexaclorobenceno (HCB); vinclozolina; aldrín; dieldrín; endosulfán-*i*; endosulfán-*ii*; endosulfán-éter; endosulfán-lactona; endosulfán-diol y endosulfán-sulfato. En el caso del DDT se calculó la suma de las concentraciones del compuesto y sus metabolitos halladas en la muestra, por lo que se expresaron como Σ DDT; de igual manera se procedió con el endosulfán y los metabolitos, y se expresó la suma como Σ endosulfán. Cada una de las variables de concentración de pesticidas se describió mediante el cálculo de la media, la mediana, la desviación estándar aritmética y los valores mínimos y máximos. Los cálculos de los valores medios de los pesticidas se efectuaron teniendo en cuenta el límite de cuantificación (LC), definido como la cantidad o la concentración del analito a partir de la que es confiable realizar determinaciones cuantitativas. Se les asignó valor de 0 a las determinaciones inferiores al LC.

Análisis estadístico

Una vez analizadas su distribución y las medidas de tendencia central se comprobó que la mayoría de las variables continuas no seguía una distribución normal, por lo que se buscaron las transformaciones matemáticas adecuadas para lograrla. En el caso concreto de los residuos de plaguicidas OC se utilizó la transformación a su logaritmo natural ya que, pese a que con ninguna transformación matemática conseguimos obtener una distribución normal, con esta transformación se conseguía reducir la dispersión de los datos.

Para el análisis bivalente se utilizaron los test no paramétricos de correlación de Spearman y la prueba de Kruskal-Wallis, de acuerdo con las características de las variables; para la comparación de 2 a 2 se utilizó la correlación U de Mann Whitney. Todos los análisis estadísticos se realizaron con los programas STATA 9.2 y SPSS 14. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

Parámetros seminales

En la [tabla 1](#) se muestran los valores de la media, la mediana y el rango de los parámetros seminales analizados del total de 273 individuos que entregaron una muestra de semen. La media del volumen del semen eyaculado fue de 3,1 ml (rango: 0,4–9,8). El 78% de las muestras presentó un volumen considerado como normal (≥ 2 ml). La concentración espermática alcanzó una media de 72 millones/ml (rango: 0–420), de forma que un 81,3% de las muestras superó los 20 millones/ml considerados como corte de normalidad por la OMS. El número total de espermatozoides (NTE), cálculo de la concentración espermática por el volumen del eyaculado, fue de 215,4 millones de media, con un 82,4% de las muestras que superaba los 40 millones. En cuanto a la movilidad, según los criterios de la OMS, el 58% de los espermatozoides mostraba una movilidad total (a+b+c), mientras que el 42% no presentaba ningún grado de movilidad. Por último, el número total de espermatozoides móviles (NTEM), obtenido de la movilidad total por el NTE, fue de 66,8 millones de media.

Estimación de la exposición a plaguicidas

De acuerdo con la utilización de la metodología cromatográfica expuesta se procedió a la detección de la concentración de plaguicidas OC seleccionados en 224 muestras de suero disponibles para el estudio.

En la [tabla 2](#) se presentan los resultados obtenidos en cuanto al número de plaguicidas presentes, así como los datos relacionados con su concentración. La totalidad de las muestras contenía, al menos, un plaguicida en concentración cuantificable, con una mediana de 11 plaguicidas por muestra (rango comprendido entre 1 y 17).

El plaguicida encontrado con mayor frecuencia entre todos los compuestos analizados es el p,p'-DDE, presente en el 95,98% de las muestras, con un valor medio de 5,17 ng/ml en suero; le sigue en frecuencia la vinclozolina, detectada en el 95,54% de las muestras, con un valor medio de 9,76 ng/

Tabla 1 Resultados de los parámetros seminales estudiados en las 273 muestras (media, mediana y rango) en cuanto al volumen del eyaculado, concentración espermática, número total de espermatozoides, número total de espermatozoides móviles en eyaculado y porcentaje de espermatozoides por tipos de movilidad según los criterios de la OMS

| | \bar{x} | Md | Rango |
|---|-----------|-------|---------------|
| Volumen del eyaculado (ml) | 3,1 | 3,0 | 0,4–9,8 |
| Concentración espermática (millones/ml) | 72 | 51 | 0–420 |
| NTE (millones) | 215,4 | 149,3 | (0–1.757,5) |
| NTEM (millones) | 66,8 | 86,3 | (0,2–1.387,7) |
| % con movilidad de tipo a (progresiva rápida) | 29,9 | 28 | (0–78%) |
| % con movilidad de tipo b (progresiva lenta) | 18 | 17,5 | (0–51%) |
| % con movilidad de tipo c (no progresiva) | 10,9 | 10 | (0–45) |
| % con movilidad de tipo d (inmóviles) | 42,6 | 40 | (12–100) |

Md: mediana; NTE: número total de espermatozoides; NTEM: número total de espermatozoides móviles; \bar{x} : media.

Tabla 2 Resultados del número de plaguicidas encontrados divididos por grupos en el total de las 224 muestras de suero disponibles, porcentajes de cada uno, valores medios de concentración en ng/l (media), desviación estándar y mediana

| | Plaguicidas | n | % | \bar{x} | DE | Md |
|------------------------------------|---------------------|-----|--------|-----------|-------|-------|
| Grupo de los ciclodienos | Aldrín | 177 | 79,02 | 3,63 | 4,40 | 2,62 |
| | Endrín | 136 | 60,71 | 4,46 | 9,47 | 1,22 |
| | Dieldrín | 107 | 47,77 | 1,59 | 2,87 | 0,50 |
| Endosulfán, isómeros y metabolitos | Endosulfán-I | 180 | 80,36 | 2,05 | 2,84 | 1,47 |
| | Endosulfán-II | 77 | 34,38 | 0,65 | 1,18 | 0 |
| | Endosulfán-éter | 89 | 39,73 | 0,49 | 1,03 | 0 |
| | Endosulfán-lactona | 183 | 81,70 | 2,00 | 2,18 | 1,68 |
| | Endosulfán-diol | 206 | 91,96 | 15,37 | 14,89 | 9,56 |
| | Endosulfán-sulfato | 101 | 45,09 | 2,08 | 5,94 | 0,5 |
| | Σ endosulfán | 224 | 100,00 | 22,66 | 20,17 | 16,33 |
| DDT, isómeros y metabolitos | o,p'-DDT | 43 | 19,20 | 0,31 | 0,83 | 0 |
| | p,p'-DDT | 129 | 57,59 | 3,41 | 5,04 | 1,8 |
| | o,p'-DDD | 147 | 65,63 | 3,07 | 4,25 | 2,06 |
| | p,p'-DDE | 215 | 95,98 | 5,17 | 4,08 | 4,15 |
| | Σ DDT | 222 | 99,11 | 11,98 | 8,65 | 10,04 |
| Grupo de varios | Lindano | 145 | 64,73 | 1,66 | 2,38 | 1,19 |
| | Metoxicloro | 136 | 60,71 | 2,64 | 5,18 | 1,47 |
| | Mirex | 78 | 34,82 | 0,86 | 2,45 | 0 |
| | Hexaclorobenceno | 179 | 79,91 | 3,78 | 4,57 | 2,31 |
| | Vinclozolina | 214 | 95,54 | 9,76 | 7,40 | 8,80 |

DDT: diclorodifeniltricloroetano; DE: desviación estándar; Md: mediana; \bar{x} : media.

Tabla 3 Correlación entre el número total de espermatozoides con la concentración de plaguicidas en las 224 muestras, en cuanto al número de plaguicidas encontrados, pendiente en el número total de espermatozoides expresado en millones, error estadístico, nivel de significación y límites de intervalo de confianza

| Variable | β NTE (millones) | EE | p | IC del 95% |
|---------------------|------------------------|------|-------|---------------|
| Aldrín | -1,04 | 1,1 | 0,702 | (-1,24-1,16) |
| Endrín | 1,11 | 1,1 | 0,255 | (-1,08-1,34) |
| Dieldrín | 1,12 | 1,11 | 0,252 | (-1,09-1,37) |
| Endosulfán-I | 1,08 | 1,1 | 0,42 | (-1,11-1,29) |
| Endosulfán-II | 1,21 | 1,28 | 0,447 | (-1,35-1,98) |
| Endosulfán-diol | -1,03 | 1,07 | 0,719 | (-1,18-1,12) |
| Endosulfán-éter | 1,04 | 1,06 | 0,504 | (-1,09-1,18) |
| Endosulfán-lactona | -1,01 | 1,06 | 0,855 | (-1,14-1,11) |
| Endosulfán-sulfato | -1,23 | 1,08 | 0,009 | (-1,43--1,05) |
| Σ Endosulfán | -1,06 | 1,13 | 0,645 | (-1,34-1,2) |
| o,p'-DDT p | -1,14 | 1,22 | 0,52 | (-1,69-1,31) |
| p,p'-DDT | 1,11 | 1,08 | 0,166 | (-1,05-1,29) |
| p,p'-DDE | -1,11 | 1,13 | 0,387 | (-1,42-1,15) |
| o,p'-DDD | -1,03 | 1,09 | 0,772 | (-1,22-1,16) |
| Σ DDT | 1,03 | 1,17 | 0,869 | (-1,33-1,4) |
| Lindano | -1,03 | 1,12 | 0,82 | (-1,28-1,21) |
| Vinclozolina | 1,07 | 1,12 | 0,536 | (-1,16-1,33) |
| Hexaclorobenceno | 1,1 | 1,09 | 0,278 | (-1,08-1,32) |
| Mirex | -1,19 | 1,14 | 0,185 | (-1,55-1,09) |
| Metoxicloro | -1,07 | 1,09 | 0,477 | (-1,27-1,12) |

β : pendiente; EE: error estadístico; NTE: número total de espermatozoides.

ml y el endosulfán-diol, en el 91,96%; es, además, el compuesto con mayor valor medio de concentración de todos los compuestos analizados (15,37 ng/ml suero). Habría

que destacar que la suma de los diferentes compuestos de endosulfán muestra un 100% de frecuencia en suero, con un valor medio de 22,66 ng/ml.

Número total de espermatozoides y plaguicidas

En la *tabla 3* se expresan los resultados obtenidos de la correlación entre el NTE, referido a millones, y la concentración de plaguicidas. Estos datos ofrecerían una medida de la posible asociación entre el residuo circulante y la calidad seminal.

Únicamente con el endosulfán-sulfato (presente en el 45,1% de los voluntarios) se encontró una fuerte tendencia a la reducción de más de 1,23 millones en el número de espermatozoides, por lo que se alcanzó la significación estadística ($p = 0,009$; intervalo de confianza del 95%: $-1,43$ a $-1,05$).

Número total de espermatozoides móviles y plaguicidas

Por otro lado, la concentración de cada uno de los plaguicidas OC se ha asociado con el NTEM. Se presentan en la *tabla 4* los resultados para cada residuo. De nuevo, solamente el endosulfán-sulfato presentó un decremento estadísticamente significativo de 1,23 millones ($p = 0,02$; intervalo de confianza del 95%: $-1,47$ a $-1,04$).

Discusión

La publicación de Carlsen et al en el año 1992, que indica una tendencia hacia la caída significativa en la concentración espermática en el varón sano¹, fue el detonante de la percepción negativa del binomio salud reproductiva-medioambiente actual, y pronto se vio acompañada de nuevos datos, no menos preocupantes, sobre el

aumento en la incidencia del cáncer de testículo y las malformaciones del tracto genitourinario masculino²⁴. A este respecto, la hipótesis conocida como TDS liga las 3 entidades (fertilidad, cáncer y malformación) y reconoce una patogenia común para los 3 procesos en la que los factores exógenos al individuo, como la exposición materno-infantil a compuestos químicos, desempeña un papel primordial^{25,26}.

Es conocido en estos trabajos la heterogeneidad, en términos de fertilidad, de las poblaciones estudiadas. En cualquier análisis comparativo factores como la edad, el estado socioeconómico, las diferencias geográficas^{2,7,9,27,28}, la tendencia temporal^{6,8,29,30}, el período de abstinencia, la metodología empleada para el análisis seminal, el control de calidad interlaboratorio e intralaboratorio y el análisis estadístico empleado, podrían conducir a la obtención de conclusiones no apropiadas^{31,32}. En este sentido, nuestro estudio tuvo presente estas recomendaciones desde su diseño para que cualquier ejercicio de comparación fuera posible.

Uno de los puntos importantes de nuestro trabajo fue la integración en el programa de control de calidad establecido para todos los grupos europeos participantes, centrado en el análisis de la concentración espermática y coordinado por el Departamento de Reproducción del Rigshospitalet de Copenhague en Dinamarca. El análisis de los resultados obtenidos en cada centro, comparados con los derivados del centro de referencia, mostró una gran fiabilidad de las determinaciones efectuadas ya que la desviación media con respecto a la referencia fue inferior al 4%.

Respecto a las características de la población masculina reclutada, lo cierto es que, tanto el número de individuos como su homogeneidad y su representación poblacional, son

Tabla 4 Correlación entre el número total de espermatozoides móviles con la concentración de plaguicidas en las 224 muestras, en cuanto al número de plaguicidas encontrados, pendiente en el número total de espermatozoides expresado en millones, error estadístico, nivel de significación y límites de intervalo de confianza

| Variable | β NTEM (millones) | EE | p | IC del 95% |
|---------------------|-------------------------|------|------|---------------|
| Aldrín | -1,05 | 1,11 | 0,65 | (-1,29-1,17) |
| Endrín | 1,11 | 1,11 | 0,33 | (-1,11-1,37) |
| Dieldrín | 1,18 | 1,12 | 0,15 | (-1,06-1,47) |
| Endosulfán-I | 1,07 | 1,11 | 0,53 | (-1,15-1,31) |
| Endosulfán-II | 1,29 | 1,33 | 0,36 | (-1,35-2,26) |
| Endosulfán-diol | -1,03 | 1,08 | 0,71 | (-1,2-1,13) |
| Endosulfán-éter | 1,03 | 1,07 | 0,72 | (-1,12-1,18) |
| Endosulfán-lactona | -1,02 | 1,07 | 0,78 | (-1,17-1,12) |
| Endosulfán-sulfato | -1,23 | 1,09 | 0,02 | (-1,47--1,04) |
| Σ Endosulfán | -1,09 | 1,14 | 0,51 | (-1,43-1,19) |
| o,p'-DDT p | -1,25 | 1,25 | 0,32 | (-1,95-1,25) |
| p,p'-DDT | 1,09 | 1,09 | 0,30 | (-1,08-1,3) |
| p,p'-DDE | -1,1 | 1,15 | 0,49 | (-1,45-1,2) |
| o,p'-DDD | -1,07 | 1,1 | 0,48 | (-1,3-1,13) |
| Σ DDTs | -1,05 | 1,2 | 0,77 | (-1,5-1,35) |
| Lindano | 1,1 | 1,11 | 0,33 | (-1,11-1,35) |
| Vinclozolina | -1,09 | 1,13 | 0,50 | (-1,39-1,18) |
| Hexaclorobenceno | 1,05 | 1,13 | 0,67 | (-1,21-1,35) |
| Mirex | -1,05 | 1,1 | 0,60 | (-1,28-1,16) |
| Metoxicloro | -1,22 | 1,16 | 0,18 | (-1,65-1,1) |

β : pendiente; EE: error estadístico; NTEM: número total de espermatozoides móviles.

factores muy frecuentemente discutidos y de gran controversia. En este trabajo, la población de estudio es muy homogénea y no tiene probada su fertilidad dada la juventud.

El objetivo de este trabajo era, igualmente, estudiar la exposición ambiental de los hombres jóvenes de la provincia de Almería a compuestos orgánicos persistentes, DE, e investigar si estos compuestos químicos afectaban su salud reproductiva. Para esto, se determinó tanto la frecuencia de presentación como la concentración de 18 pesticidas OC, seleccionados para su análisis por su actividad hormonal, y que se pueden catalogar, por tanto, como DE. En el catálogo de los compuestos investigados, sólo el grupo del endosulfán, metoxicloro, vinclozolina y lindano tienen un uso actual bien reconocido en España. El resto de los compuestos, o bien están prohibidos, o su empleo está muy restringido o limitado a aplicaciones muy concretas.

De forma resumida, se constata que la exposición es importante y se pone de manifiesto por la identificación y por la cuantificación del residuo de, al menos, un plaguicida en cada uno de los jóvenes en el estudio, y se alcanza un valor medio de 11 residuos detectables por individuo. El compuesto OC más frecuente es p,p'-DDE seguido por vinclozolina. En orden subsiguiente de frecuencia, y de mayor a menor, se hallaron endosulfán-diol; endosulfán-lactona; endosulfán-*i*; HCB; aldrín; o,p'-DDD y lindano.

La información epidemiológica disponible sobre la asociación entre la exposición a sustancias químicas y su efecto sobre la salud reproductiva no es muy abundante. De entre todos los contaminantes ambientales, los compuestos orgánicos persistentes, como algunos pesticidas, son de mayor interés, debido a los largos períodos de retención en el organismo y al hecho de que muchos de éstos pertenecen al grupo de los compuestos OC-DE. Estos compuestos se bioacumulan preferentemente en el tejido adiposo; sin embargo, algunos de éstos, como por ejemplo el DDT y los metabolitos, se bioacumulan también en los fluidos del tracto reproductivo masculino³³.

En nuestra población se encontró una reducción significativa entre el NTE y la concentración de endosulfán-sulfato. Igualmente se observó una reducción del NTEM con este compuesto.

En conclusión, los parámetros de calidad seminal obtenidos en nuestra muestra servirán para estudios comparativos sobre los valores de referencia regionales, así como de correlación con la concentración de plaguicidas, y ofrecerán, asimismo, datos basales para la estimación en futuras investigaciones de una posible caída en la cuenta espermática relacionada con la exposición a DE.

Son necesarios estudios epidemiológicos, como el planteado en este trabajo, que incluyan el uso de biomarcadores de exposición/efecto, para progresar en el conocimiento del papel de los contaminantes ambientales-DE sobre los parámetros que definen la salud reproductiva masculina.

Bibliografía

- Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*. 1992;30:609-13.
- Bahadur Ling K, Katz M. Statistical modelling reveals demography and time are the main contributing factors in global sperm count changes between 1938 and 1996. *Hum Reprod*. 1996;10:2635-9.
- Olsen G, Bodner K, Ramlow J, Ross C, Lipshultz L. Have sperm counts been reduced 50 percent in 50 years? A statistical model revisited. *Fertil Steril*. 1995;63:887-93.
- Andersen AG, Jensen TK, Carlsen E. High frequency of sub-optimal semen quality in an unselected population of young men. *Hum Reprod*. 2000;15:366-72.
- Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med*. 1995;59:33-8.
- De Mouzon J, Thonneau P, Spira A, Multigner L. Declining sperm count. Semen quality has declined among men born in France since 1950. *BMJ*. 1996;313:343.
- Jorgensen N, Andersen AG, Eustache F, Irvine DS, Suominen J, Petersen JH. Regional differences in semen quality in Europe. *Hum Reprod*. 2001;16:1012-19.
- Richthoff J, Rylander L, Hagmar L, Malm J, Giwercman A. Higher sperm counts in Southern Sweden compared with Denmark. *Hum Reprod*. 2002;17:2468-73.
- Giwercman A, Rylander L, Rignell-Hydbom A, Jönsson BA, Pedersen HS, Ludwicki, JK, et al. INUENDO. Androgen receptor gene CAG repeat length as a modifier of the association between persistent organohalogen pollutant exposure markers and semen characteristics. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17:391-401.
- Fisch H, Goluboff ET. Geographic variations in sperm counts: A potential cause of bias in studies of semen quality. *Fertil Steril*. 1996;65:1044-6.
- Saidi JA, Chang DT, Goluboff ET, Bagiella E, Olsen G, Fisch H. Declining sperm counts in the United States? A critical review. *J Urol*. 1999;161:460-2.
- Swan SH, Elkin EP, Fenster L. The question of declining sperm density revisited: An analysis of 101 studies published 1934-1996. *Environ Health Perspect*. 2000;108:961-6.
- De Jager C, Farias P, Barraza-Villarreal A, Avila MH, Ayotte P, Dewailly, E, et al. Reduced seminal parameters associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico: A cross-sectional study. *J Androl*. 2006;27:16-27.
- Recio-Vega R, Ocampo-Gómez G, Borja-Aburto VH, Moran-Martínez J, Cebrian-García ME. Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: Association between sperm parameters and urinary pesticide levels. *J Appl Toxicol*. 2008;28:674-80.
- Adami HO, Bergström R, Möhner M, Zatoński W, Storm H, Ekblom, A, et al. Testicular cancer in nine northern European countries. *Int J Cancer*. 1994;59:33-8.
- Miller WR, Sharpe RM. Environmental oestrogens and human reproductive cancers. *Endocr Relat Cancer*. 1998;5:69-96.
- Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: An increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*. 2001;16:972-8.
- Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ. Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics*. 1997;100:831-4.
- Olea N, Olea-Serrano MF. Oestrogens and the environment. *Eur J Cancer Prev*. 1996;5:491-6.
- Colborn T, Clement C. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/human connection. Princeton, New Jersey: Princeton Scientific Publishing; 1992.
- Comisión de las Comunidades Europeas. COM(1999)706. Comunicación de la Comisión al Consejo y el Parlamento Europeo Estrategia comunitaria en materia de alteradores endocrinos (Sustancias de las que se sospecha interfieren en lo sistemas hormonales de seres humanos y animales). Bruselas: 7-12-1999.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus

- interaction, 4 ed. Cambridge: The Press Syndicate of the University of Cambridge; 1999.
23. Moreno Frías M, Garrido Frenich A, Martínez Vidal JL, Mateu Sánchez M, Olea F, Olea N. Analyses of lindane, vinclozolin, aldrin, p,p'-DDE, o,p'-DDT and p,p'-DDT in human serum using gas chromatography with electron capture detection and tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001;760:1-15.
 24. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette Jr. LJ, et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect.* 1996;104:741-803.
 25. Olea N, Avivar C. Disruptores endocrinos en biología de la reproducción. *Asebir.* 2003;8:10-15.
 26. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Jørgensen N, Carlsen E, Petersen PM, Giwercman, A, et al. Germ cell cancer and disorders of spermatogenesis: An environmental connection?. *APMIS.* 1998;106:3-11.
 27. Jørgensen N, Carlsen E, Nermoen N, Punab M, Suominen J, Andersen, AG, et al. East-West gradient in semen quality in the Nordic-Baltic area: A study of men from the general population in Denmark, Norway, Estonia and Finland. *Hum Reprod.* 2002;17:2199-208.
 28. Swan SH, Brazil C, Brobnis EZ, Liu F, Kruse RL, Hatch, M, et al. Overstreet, and the Study for Future Families Research Group. 2003. Geographic differences in semen quality of fertile US males. *Environ Health Perspect.* 2003;111:414.
 29. Avivar C, Durán I, Olea N, Fernández MF, Gonzalvo MC, Castilla JA. Estudio de la calidad seminal en población joven del sudeste español. *An Clin.* 2004;29:81-92.
 30. Paasch U, Thieme C, Glander HJ. Men born in the region of Leipzig (Saxony, Germany) between 1960 and 1970 showed a significantly decreased sperm count (examination of 3432 individuals). *Andrologia.* 2003;35:375.
 31. Auger J, Eustache F, Ducot B, Blandin T, Daudin M, Díaz, I, et al. Intra- and inter-individual variability in human sperm concentration, motility and vitality assessment during a workshop involving ten laboratories. *Hum Reprod.* 2000;15:2360-2368.
 32. Bromwich P, Cohen J, Stewart I, Walker A. Decline in sperm counts: Artefact of changing reference range of normal?. *BMJ.* 1994;30:919-22.
 33. Dallinga JW, Moonen EJ, Dumoulin JC, Evers JL, Geraedts JP, Kleinjans JC. Decreased human sperm quality and organochlorine compounds in blood. *Hum Reprod.* 2002;17:1973-9.