

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO.

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA.

TESIS

**“RELACIÓN ENTRE VOLÚMENES TESTICULARES Y CONCENTRACIÓN
ESPERMÁTICA EN VARONES CON OLIGOZOOSPERMIA EN
PROTOCOLO DE ESTUDIO DE PAREJA INFERTIL.”**

PRESENTADA POR
DR. NICOLÁS KENICHI KAMEYAMA HUACUJA.

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA.

DIRECTORA DE TESIS
DRA. IMELDA HERNÁNDEZ MARÍN.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice.

Introducción	1
Marco Teórico Conceptual	1
Planteamiento del Problema	14
Justificación	14
Hipótesis	15
Objetivos	15
Tamaño de la Muestra	16
Diseño del Estudio	17
Material y Métodos	17
Criterios de Inclusión y No Inclusión	18
Resultados	20
Discusión	29
Conclusiones	30
Bibliografía	31
Anexos	32

RELACIÓN ENTRE VOLÚMENES TESTICULARES Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA EN VARONES CON OLIGOZOOSPERMIA EN PROTOCOLO DE ESTUDIO DE PAREJA INFERTIL.

Resumen.

La infertilidad afecta entre 10 y 15% de las parejas.

El factor masculino como causa única de infertilidad involucra entre 30 y 40% de estos casos, colaborando como factor contribuyente hasta en 20% del porcentaje restante.

Los testículos son órganos pares situados fuera de la cavidad corporal, en una bolsa de piel altamente especializada, el escroto. El testículo adulto maduro es un órgano ovoide sólido de aproximadamente 4-5cm de longitud, 3cm de grosor y 2.5cm de anchura, suele pesar entre 11 - 17g.

Para que la función testicular se lleve a cabo, son necesarias las acciones de las Gonadotropinas: Hormona Folículo Estimulante (FSH), y Hormona Luteinizante (LH); secretadas a nivel hipofisario por el Gonadotropo, en presencia de la liberación pulsátil de Hormona Liberadora de las Gonadotropinas (GnRH), hipotalámica.

En el Testículo, la LH estimula a las Células Intersticiales de Leydig, para la síntesis y secreción de Testosterona (aproximadamente 3-10mg/día); la Testosterona actúa en la gónada a través de los receptores de andrógenos que poseen las Células de Sertoli que revisten los túbulos seminíferos, manteniendo de esta forma la espermatogénesis. El epitelio de los túbulos seminíferos contiene a las células germinales que ocupan en el testículo, aproximadamente el 60-85% de su volumen.

Como parte del protocolo de estudio del factor masculino se encuentra el análisis del semen, que dentro de sus parámetros de evaluación involucra la concentración espermática, que se considera anormalmente disminuida por debajo de 20 millones/ml, (oligozoospermia). La Oligozoospermia se subdivide en Leve cuando la concentración espermática se ubica entre 15 y 20 millones de espermatozoides/mL, Moderada cuando esta se encuentra entre 10 y 15 millones/mL, y Grave cuando las cifras reportadas son menores a 10 millones/mL.

Objetivo: Demostrar que la Concentración Espermática se asocia con el Volumen Testicular. Y así demostrar que la Oligozoospermia es más frecuente en pacientes con Volúmenes Testiculares Bajos que en aquellos con Volúmenes Testiculares Normales.

Material y Métodos: Se incluyó al total de varones que acudieron por Infertilidad al servicio de Biología de la Reproducción Humana del Hospital Juárez de México durante el periodo comprendido entre Noviembre del 2007 a Abril del 2008 y que cursaron con oligozoospermia,. Se incluyó en un segundo grupo a varones que también acudieron por infertilidad, pero que no presentaron alteración del factor masculino. A todos los pacientes se realizó seminograma, medición de ambos testículos con compás de Bernier y determinación sérica de FSH, aún cuando la concentración espermática fuera mayor a 10 millones/ml y por tanto no fuera indicativa de su realización como parte del protocolo de estudio.

Resultados: Estudio Transversal Analítico. Se estudiaron dos grupos, pacientes con oligozoospermia y pacientes sin alteración en la concentración espermática, cada uno conformado por veinte pacientes. El volumen testicular medio derecho en los pacientes con oligozoospermia correspondió a $12.8 \text{ cc} \pm 2.7$ (rango 6.2 a 18.2 cc); mientras que el volumen testicular promedio izquierdo fue de $12.2 \text{ cc} \pm 2.8$ (rango 5.1 a 17.4). El promedio de concentración espermática para el grupo de pacientes con oligozoospermia fue de 13 millones ± 3.3 (rango de 7 a 19 millones). Con respecto al grupo control, (pacientes sin alteración en la concentración espermática), el volumen testicular medio derecho fue de $15.7 \text{ cc} \pm 2.79$ (rango 10.2 a 22.5) y el volumen testicular promedio izquierdo de $14.8 \text{ cc} \pm 2.3$ (rango 9.9 a 19.5). La concentración espermática promedio en el grupo control fue de 118 millones ± 58.9 (rango 32 a 234 millones).

Mediante T de student se compararon los valores intergrupales del volumen testicular derecho ($p=0.002$), volumen testicular izquierdo ($p=0.003$), y concentración espermática ($p=0.001$), observándose diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo al comparar los volúmenes testiculares derecho e izquierdo con respecto a la subclasificación de oligozoospermia, no se encontró diferencia estadísticamente significativa $p=0.373$ y $p=0.414$ respectivamente.

Conclusiones: Este estudio demuestra que la concentración espermática se asocia al volumen testicular, observándose volúmenes testiculares mayores en aquellos pacientes con seminograma normal en comparación con aquellos con oligozoospermia, con una diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, ésta relación no es directamente proporcional a la severidad de la oligozoospermia.

Abstract.

Infertility affects between 10 and 15% of couples.

The male factor as the sole cause of infertility involves between 30 and 40% of these cases, working as a contributing factor in up to 20% of the remaining percentage.

The testicles are pair organs outside the body cavity, in a bag of highly specialized skin, the scrotum.

The testicle is a mature adult ovoid solid body of about 4-5cm in length, 3cm thick and 2.5cm wide, although usually between 11-17g.

For the testicular function is carried out, are necessary actions gonadotrophins: follicle stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH); secreted by the gonadotropos, in the presence of the pulse release of releasing hormone gonadotrophins (GnRH), hypothalamic.

In Testicle, LH stimulates the interstitial Leydig cells, for the synthesis and secretino of Testosterone (approximately 3-10mg/day), Testosterone acts in the gonad through androgen receptors located at the Sertoly cells in seminiferous tubules for maintaining spermatogenesis. Seminiferous tubules contain germ cells, they conform approximately 60-85% of testicular volume.

Semen analysis is a part of the protocol of male factor in infertility, involves a sperm concentration, wich is considered abnormally diminished below 20 million/mL (oligozoospermia). The oligozoospermia is divided into Mild when the sperm concentration is between 15 and 20 million/mL, a Moderate when it is between 10 and 15 million/mL, and Severe when the figures reported are less than 10 million/mL.

Objectives: To demonstrate that the sperm concentration is associated with Testicular volume. And thus demonstrate that the oligozoospermia is more common in patients with decreased testicular volumes than in normal testicular volumes.

Material an Methods: We included the total number of men achieved medical attention at the Human Reproduction Clinics in the Hospital Juárez de México because of infertility, between November 2007 to April 2008 and studied with oligozoospermia. There was a a second group of men who also attended by infertility, but that did not submit altered male factor. All patients underwent seminograma, measuring of both testicles with compass Bernier and cuantification of serum FSH, even if the sperm concentration was greater than 10 million/mL and therefore was not indicated of its implementation as part of the study protocol.

Results: Analytical Study Cross. We studied two groups, patients with oligozoospermia and without alteration in sperm concentration, each consisting of twenty patients. The right testicular volume in patient with oligozoospermia accounted for $12.8\text{cc} \pm 2.7$ (range 6.2 to 18.2cc), while the average of left testicular volume was $12.2\text{cc} \pm 2.8$ (range 5.1 to 17.4). The average sperm concentration for the group of patients with oligozoospermia was 13 million ± 3.3 (range 7 to 19 million). With regard to the control group (patients with no change in sperm concentration), the right testicular volume was $15.7\text{cc} \pm 2.79$ (range 10.2 to 22.5cc), and the left testicular volume was $14.8\text{cc} \pm 2.3$ (range 9.9 to 19.5cc). The average sperm concentration in the control group was 118 million ± 58.9 (range 32 to 234 million).

By comparing values by the T student we compared for both groups, right testicular volume ($p=0.002$), left testicle ($p=0.003$), and sperm concentration ($p=0.001$), with statistically significant differences.

However when comparing volumes testicular right and left regarding the sub-classification of oligozoospermia, no statistically significant difference was found ($p=0.373$) and ($p=0.414$) respectively.

Conclusions: This study shows that sperm concentration is associated with testicular volume, with testicular volume higher in those patients with normal seminogram compared with those with oligozoospermia, with a statistically significant difference. However, this relationship is not directly proportional to the severity of oligozoospermia.

Planteamiento del Problema.

En el Protocolo de estudio del Factor Masculino en la Pareja Infértil, deben realizarse Seminogramas, dentro de los cuales se incluye la Concentración Espermática.

Dado que el 60-85% de las células del testículo corresponde a Células Germinales, es de esperarse que en pacientes con Oligozoospermia el Volumen Testicular se encontrara disminuido.

Introducción.

Marco Teórico Conceptual.

Anatomía.

Los testículos son órganos pares situados fuera de la cavidad corporal, en una bolsa de piel altamente especializada, el escroto. Lo que significa que se mantienen a una temperatura de alrededor de 1-3 °C por debajo de la temperatura corporal. Esta temperatura más baja es esencial para la espermatogénesis normal.⁽¹⁾

Embriológicamente los testículos se desarrollan en una zona alta de la pared abdominal posterior y migran hacia el escroto, al que llegan en general en el séptimo mes de vida intrauterina. Se denomina criptorquidia cuando los testículos no consiguen migrar hacia el escroto, pueden ser incapaces de producir espermatozoides y verse alterados en su función endocrina.^(2,3)

El testículo adulto, maduro es un órgano ovoide sólido de aproximadamente 4-5cm de longitud, 3cm de grosor y 2.5cm de anchura, suele pesar entre 11 - 17g. Con frecuencia el testículo derecho es ligeramente mayor y pesa algo más que el izquierdo.⁽¹⁾

Cada testículo tiene un epidídimo unido a su superficie posterior y está suspendido en la bolsa escrotal por el cordón espermático que contiene el conducto deferente, la irrigación arterial, el drenaje venoso y linfático.⁽⁴⁾

El testículo está envuelto por completo por la túnica albugínea, que en su parte posterior está engrosada formando el mediastino del testículo, del cual surgen algunas proyecciones hacia el cuerpo testicular. Los vasos sanguíneos y linfáticos y los conductos por los que son transportados los espermatozoides pasan por esta zona. Los tabiques fibrosos del mediastino dividen el cuerpo del testículo en 250-350 lobulillos, cada uno de los cuales contiene 1-4 túbulos seminíferos.^(1,2)

Función Testicular.

Para que la función testicular se lleve a cabo, son necesarias las acciones de las Gonadotropinas: Hormona Folículo Estimulante (FSH), y Hormona Luteinizante (LH); mismas que son secretadas a nivel hipofisario por el Gonadotropo, en presencia de la liberación pulsátil de Hormona Liberadora de las Gonadotropinas (GnRH), hipotalámica. ⁽⁴⁾

En el Testículo, la LH estimula a las Células Intersticiales de Leydig, para la síntesis y secreción de Testosterona (aproximadamente 3-10mg/día). Mientras que la actividad de la FSH sobre estas mismas células, involucra la expresión de receptores de LH, con lo cual mantiene indirectamente las acciones de LH. ⁽⁵⁾

Así, la Testosterona es vertida tanto a la circulación sistémica, como hacia la luz de los túbulos seminíferos, (concentraciones 50-100 veces superiores a nivel testicular). La Testosterona actúa en la gónada a través de los receptores de andrógenos que poseen las Células de Sertoli que revisten los túbulos seminíferos, manteniendo de esta forma la espermatogénesis. ⁽⁵⁾

Por otro lado, la FSH también es capaz de unirse a las Células de Sertoli, induciendo la producción de Proteína Fijadora de Andrógenos (ABP), responsable de las elevadas concentraciones de testosterona testiculares, necesarias para la espermatogénesis. ^(5,6)

Conforme las concentraciones sistémicas de testosterona se elevan, ejercen acciones de retroalimentación negativa a nivel hipotalámico, (alterando la liberación pulsátil de GnRH), e hipofisario, (disminuyendo la sensibilidad del gonadotropo a la GnRH), inhibiendo así la secreción de LH. ⁽⁵⁾

Las Células de Sertoli también son capaces de sintetizar y secretar Inhibina-B, en respuesta al estímulo inducido por FSH. La Inhibina-B es la responsable de inhibir específicamente la secreción de FSH hipofisaria. ^(5,6)

Por otro lado, la LH modula de forma indirecta la secreción de Inhibina-B, ya que la testosterona al actuar en las Células de Sertoli, es capaz de inhibir la expresión del gen de la Inhibina-B. ⁽⁵⁾

Controversias en los requerimientos para mantener la espermatogénesis.

La presencia de espermatozoides en semen de varones con mutación inactivadora en el gen de la subunidad beta de la LH, y en otros con deficiencia aislada de LH indican que FSH puede iniciar por sí sola la espermatogénesis, (probablemente a través de factores secretados por la Célula de Sertoli, capaces de estimular a la Célula de Leydig), o bien que exista un efecto residual de LH. Así mismo, en varones con mutaciones inactivadoras para el receptor de FSH y en aquellos con otras deficiencias aisladas de FSH, también son capaces de producir espermatozoides en presencia de LH, o debido a algún efecto residual de FSH. ^(5,6)

Independientemente de estos hechos, tanto FSH como LH son necesarias para la adecuada producción cualitativa y cuantitativa de espermatozoides. ⁽⁴⁾

Gametogénesis.

Es la serie de cambios genéticos y fenotípicos que deben experimentar las células sexuales o gametos (tanto masculinos como femeninos), para convertirse en células maduras, capaces de participar en el proceso de fecundación.

Se divide en 4 fases.

- Origen y Migración de las Células Germinales hacia las Gónadas.
- Mitosis (aumento del número de Células Germinales).
- Meiosis (reducción del número de Cromosomas).
- Maduración Estructural y Funcional Celular (Espermatogénesis en el varón y Ovogénesis en la mujer). ⁽⁴⁾

Origen y Migración de las Células Germinales.

Las Células Germinales Primordiales se identifican a los 24 días de la fecundación en la capa endodérmica del saco vitelino, dirigiéndose hacia el epitelio del intestino primitivo posterior, luego migran a través del mesenterio dorsal hasta alcanzar los primordios gonadales, en las crestas urogenitales. ⁽⁴⁾

Mitosis.

Una vez en las gónadas, las Células Germinales Primordiales, comienzan una fase de proliferación mitótica rápida, en las que cada célula produce 2 células hijas Diploides (genéticamente iguales), de manera que en varias divisiones mitóticas, estas células aumentan exponencialmente a millones.

Las Espermatogonias, (células germinales, mitóticamente activas en el hombre), a diferencia de lo que ocurre en la mujer, mantienen la capacidad de dividirse a lo largo de toda la vida. ⁽⁴⁾

Meiosis.

La meiosis consta de 2 grupos de divisiones.

Previo a la primera división meiótica, el ADN ya se ha duplicado, de forma que al inicio de la meiosis la célula es $2n, 4c$, (n es el número de cromosomas de la especie y c la cantidad de ADN por cada grupo n de cromosomas). Una Célula normal posee un número normal de cromosomas ($2n$), pero como resultado de la replicación, el contenido de ADN es del doble ($4c$), de lo normal. ⁽⁴⁾

En la primera división meiótica, (División Reduccional), una Profase prolongada da como resultado el apareamiento de cromosomas homólogos y entrecruzamientos que tiene como consecuencia el intercambio de segmentos entre los miembros de cada pareja de cromosomas. Así las tétradas (parejas de cromosomas), durante la Metafase de la primera división meiótica, se alinean en la llamada placa metafísica (ecuatorial), de

forma que en la Anafase I un cromosoma de un par homólogo se desplace hacia un polo del huso y el otro se dirija hacia su extremo opuesto. Esto da origen a células hijas genéticamente desiguales.

Cada célula hija de la primera división meiótica es $1n\ 2c$, contiene un número haploide de cromosomas ($1n$), pero cada cromosoma todavía consta de 2 cromátides ($2c$), unidas por un centrómero. ^(3,4)

En la segunda división meiótica, (División Ecuacional), en la Metafase II los centrómeros situados entre las cromátides hermanas se dividen, migrando cada una hacia extremos opuestos del huso durante la Anafase II. El resultado de lo anterior son células hijas haploides ($1n, 1c$). ⁽⁴⁾

La meiosis masculina no inicia hasta la pubertad, pero no todas las espermatogonias entran en meiosis simultáneamente, permaneciendo buena parte de ellas en el ciclo mitótico durante gran parte de la vida reproductora de los varones. ⁽³⁾

Espermatogénesis.

(Maduración estructural y funcional celular).

La Espermatogénesis que es la secuencia de acontecimientos a través de los cuales las Espermatogonias se transforman en Espermatozoides Maduros, tiene una duración de 72 ± 4 días y puede dividirse en varias fases:

Espermatogónica, Espermatocitaria, Espermiogénesis y Espermiación. Durante las cuales la espermatogonia se autorrenueva constantemente (mitosis), pero también

mediante una forma de división especial con resultado haploide (meiosis), tiene por fin la liberación por parte de la Célula de Sertoli, del gameto maduro, el espermatozoide.^(3,4)

La Espermatogénesis se lleva a cabo en los tubos seminíferos, conductos dispuestos en circunvolución en el interior del testículo, que comunican con unos conductos eferentes denominados rete testis, para finalmente vaciar su contenido hacia el epidídimo, y de allí a las vesículas seminales, vía conductos deferentes, donde son almacenados, y posteriormente durante la eyaculación, adicionarse a otras secreciones de próstata y glándulas bulbouretrales que en conjunto conforman el eyaculado.^(1,2)

El epitelio de los túbulos seminíferos contiene a las células germinales que ocupan de este, aproximadamente el 60-85% de su superficie.⁽²⁾

La Espermatogénesis, se inicia en la pubertad, con la proliferación mitótica de las espermatogonias en los túbulos seminíferos.⁽⁴⁾

La base del epitelio germinal posee a las espermatogonias, de las que existen 2 poblaciones distintas; las tipo A que constituyen la población de células madres que mediante mitosis mantienen la población de espermatogonias, y las tipo B que derivan de las espermatogonias de tipo A que al abandonar el ciclo mitótico comienzan el proceso de meiosis. Ambos grupos de espermatogonias se ubican en la base del epitelio seminífero, retenidas por prolongaciones entrelazadas de las células de Sertoli, unidades celulares muy complejas de distribución regular, periférica al epitelio seminífero, que ocupando aproximadamente el 30% de su volumen.^(3,4)

Las prolongaciones de las células de Sertoli se encuentran estrechamente unidas formando una barrera inmunológica, la barrera hematotesticular, que divide a las células espermáticas en formación y el resto del cuerpo, incluyendo las espermatogonias.

Los descendientes de las espermatogonias tipo B, los Espermatocitos Primarios inician la primera división meiótica, y una vez que completan la etapa de leptoteno atraviesan la barrera de las células de Sertoli, desplazándose hacia el interior del túbulo seminífero, pero continuando unidas a las prolongaciones citoplasmáticas de las Células de Sertoli. Esta primera división meiótica por la que atraviesan los Espermatocitos Primarios transcurre a lo largo de 24 días aproximadamente. Durante esta etapa, se sintetizan por adelantado gran cantidad de moléculas de ARNm que se almacenan en forma inactiva, y que serán necesarias en fases posteriores, para la síntesis de proteínas. Ejemplo de ello lo constituye el ARNm sintetizado para la posterior traducción de Protaminas (en el estadio de espermátides), constituida por moléculas pequeñas, cuya función futura sustituirá a las histonas, permitiendo el alto grado de compactación de la cromatina nuclear, durante las fases finales de la formación de espermatozoides. ⁽⁴⁾

Una vez completada la primera división meiótica cada Espermatocito Primario origina 2 Espermatocitos Secundarios, que inician la segunda división meiótica.

La segunda división meiótica se completa rápidamente en un lapso de 8hrs aproximadamente, produciéndose 2 gametos haploides inmaduros, las Espermátides.

A diferencia de las etapas anteriores, las Espermátides no se dividen, en cambio sufren un proceso denominado Espermiogénesis, que los transformará en Espermatozoides. ⁽³⁾

Durante la Espermiogénesis se suscitan varios eventos importantes:

Reducción progresiva del tamaño nuclear debido a la condensación de la cromatina asociada a la sustitución de histonas por protaminas. ⁽⁴⁾

Crecimiento a partir de los Centriolos, en el extremo opuesto al núcleo de un Flagelo prominente.

Disposición mitocondrial en forma de espiral en la porción proximal del flagelo.

Reorganización del citoplasma, que se aleja del núcleo, constituyendo un Cuerpo Residual, que es eliminado a lo largo de la cola en desarrollo, y es fagocitado por la Célula de Sertoli.

Condensación del aparato de Golgi en el extremo apical del núcleo, que dará origen al Acrosoma, una estructura rica en enzimas que participarán en el proceso de fecundación. ⁽³⁾

Los espermatozoides de los túbulos seminíferos, pese a parecer maduros morfológicamente hablando, son inmóviles e incapaces de fecundar al óvulo. Durante su paso a través del epidídimo adquieren maduración bioquímica, adquiriendo una cubierta glucoprotéica y sufriendo otras modificaciones de membrana. Cuando los espermatozoides se mezclan con las secreciones de las Vesículas Seminales y la Próstata, durante la eyaculación, adquieren una mayor maduración bioquímica, reciben una fuente externa de energía, (fructosa), y se dotan de un medio que facilita su movimiento. ⁽⁴⁾

La cubierta glucoprotéica se elimina durante el paso del espermatozoide a través del tracto genital femenino, durante el proceso denominado Capacitación, con lo que el espermatozoide adquiere la capacidad de fecundar al óvulo. ^(3,4)

El espermatozoide es una célula muy especializada, adaptada para el movimiento y para ceder su material genético al óvulo. Consta de una Cabeza de 2-3 μ m de ancho por 4-5 μ m de largo, que contiene el núcleo y el acrosoma; una Pieza Intermedia compuesta

por los centriolos, la parte proximal del flagelo y la hélice mitocondrial; y la Cola de 50µm compuesta por el flagelo. ⁽³⁾

En resumen, cada Espermatogonia tipo B (de composición cromosómica 2n2c), que inicia el ciclo meiótico como Espermatocito Primario y que posee igual composición cromosómica (2n2c), da por resultado tras la primera división meiótica completa 2 Espermatocitos Secundarios (de composición cromosómica 1n2c); que al completar la segunda división meiótica darán por resultado 4 Espermátides (de componente 1n1c), que conservarán tras la Espermiogénesis, en forma de 4 Espermatozoides de igual componente (1n1c). ⁽⁴⁾

Infertilidad y Factor Masculino.

Se define a la Infertilidad como la ausencia de embarazo posterior a 12 meses de relaciones sexuales, sin utilización de método anticonceptivo. ⁽⁷⁾

La infertilidad se Clasifica en Primaria, cuando la pareja nunca ha logrado un embarazo, y Secundaria cuando ya se ha producido embarazo previo, independientemente de su culminación. ⁽⁷⁾

El Factor Masculino como causa de Infertilidad se ve alterado en el 30-40% de las parejas infértiles. Mientras que el Factor Femenino presenta frecuencias de 50% aproximadamente, lo cual obliga al estudio de la pareja. ^(7,8)

Parámetros que evalúa el Seminograma según la Organización Mundial de la Salud (OMS).⁽⁹⁾

Días de Abstinencia.	Entre 48hrs y 7días.
Aspecto.	Homogéneo, gris opalescente.
Licuefacción	Entre 15 y 30 min.
Viscosidad.	<2cm.
Volumen.	Entre 2 y 6mL.
pH.	Entre 7.2-7.8
Concentración Espermática.	Entre 20 y 250millones de espermatozoides/mL.
Motilidad.	A \geq 25% o A+B \geq 50%.
Vitalidad.	>50%.
Morfología.	\geq 30% de Formas Normales.
Aglutinación.	Adhesión de Espermatozoides entre sí negativa.
Leucocitos.	Normal <1millón/mL.

Acorde a los Parámetros Normales del Seminograma publicados por la OMS se considera normal una concentración espermática de entre 20 y 250 millones de espermatozoides/mL. Aplicándose el calificativo de Oligozoospermia cuando concentraciones son menores a 20 millones de espermatozoides/mL.

La Oligozoospermia se subdivide en Leve cuando la concentración espermática se ubica entre 15 y 20 millones de espermatozoides/mL, Moderada cuando esta se encuentra entre 10 y 15 millones/mL, y Grave cuando las cifras reportadas sean menores a 10 millones/mL.

Algunos sugieren que en casos de oligozoospermia severa se cuantifique FSH.⁽⁸⁾

Cuando la FSH se encuentra aumentada, ($>8\text{mUI/mL}$), se sospecha lesión testicular primaria, con lo cual se indica la realización de cariotipo, el cual puede mostrar alteraciones numéricas en los gonosomas indicativos de Síndrome de Klinefelter, aunque también alteraciones estructurales del cromosoma Y caracterizados por microdeleciones pudieran explicar disminuciones en la concentración espermática. Posterior a ello se indica la realización de biopsia testicular para valorar la presencia o ausencia de espermatogénesis.^(7,8)

La oligozoospermia asociada a FSH normal indica también la realización de biopsia testicular, que puede dar por resultado una hipoespermatogénesis o una detención en la maduración de los espermatozoides. En caso de encontrarse espermatogénesis conservada deberá descartarse algún proceso obstructivo unilateral.

La FSH disminuida, ($<2\text{mUI/mL}$), en pacientes con oligozoospermia indica hipogonadismo hipogonadotrópico.^(7,8)

Se aplica el término Criptozoospermia a toda concentración espermática inferior a 1 millón de espermatozoides/mL.⁽⁹⁾

El término azoospermia denota la ausencia absoluta de espermatozoides en el eyaculado.^(9,10,11,12)

Para el continente Europeo el volumen testicular normal se considera de 12-30mL, siendo el promedio 18mm.^(14, 15)

Causas frecuentes de volúmenes testiculares reducidos involucran pacientes con antecedentes criptorquidia uni o bilateral, (falta de descenso testicular), y varicocele, (dilatación del plexo pampiniforme), que condiciona un aumento en la temperatura testicular, hecho que se ha relacionado con atrofia de la gónada y disminución en sus dimensiones; así como estados de hipogonadismo hipogonadotrópico en los que la inadecuada secreción de gonadotropinas a nivel hipofisario, (FSH y LH), son incapaces de estimular los diferentes componentes celulares testiculares, condicionando alteraciones en su desarrollo y función endocrina; o estados de hipogonadismo hipergonadotrópico en los que la alteración se encuentra a nivel testicular, hecho que se relaciona con una disminución en la secreción de Testosterona e Inhibina por parte del testículo, con lo cual no es posible la retroalimentación negativa a nivel hipotálamo-hipofisario incrementándose así los niveles de gonadotropinas (FSH y LH), en un intento de estimular a los testículos afectados.⁽⁸⁾

Justificación.

La infertilidad afecta entre 10 y 15% de las parejas. ⁽⁸⁾

El factor masculino como causa única de infertilidad involucra entre 30 y 40% de estos casos, colaborando como factor contribuyente hasta en 20% del porcentaje restante. ^(7,8)

Como parte del protocolo de estudio del factor masculino se encuentra el análisis del semen, que dentro de sus parámetros de evaluación involucra la concentración espermática, que se considera anormalmente disminuida por debajo de 20 millones/ml, (oligozoospermia). ⁽⁹⁾

Para el continente Europeo el volumen testicular normal se considera de 12-30mL, siendo el promedio 18mm. ^(14, 15) Sin embargo no existen parámetros de referencia realizados en población latinoamericana.

Hipótesis.

Hipótesis de trabajo.

El Volumen Testicular es mayor en pacientes sin alteraciones en las cuentas seminales que en aquellos con oligozoospermia.

Hipótesis nula.

El Volumen Testicular es igual en pacientes con oligozoospermia que en aquellas sin alteración en las cuentas seminales.

Objetivo General.

Demostrar que la Concentración Espermática se asocia con el Volumen Testicular. Y así demostrar que la Oligozoospermia es más frecuente en pacientes con Volúmenes Testiculares Bajos que en aquellos con Volúmenes Testiculares Normales.

Objetivos Específicos.

- Determinar el Volumen Testicular Medio en pacientes con Concentraciones Espermáticas Normales en Población Mexicana.
- Determinar el Volumen Testicular Medio en Pacientes con Oligozoospermia.

Tamaño de la Muestra.

Se Calculó Tamaño de la Muestra para un Estudio Transversal con la Siguiete
Fórmula:

$$N = \frac{[Z_{\alpha/2}]^2 [p(1-p)]}{d^2}$$

N: Tamaño de la Muestra.

Z α : Valor del Error Tipo I, usualmente de 0.05 que de acuerdo al estadígrafo Z
corresponde a 1.96.

p: Prevalencia de la Enfermedad o Evento Estudiado.

d: Magnitud de las diferencias que uno pretende probar.

$$N = \frac{[1.96]^2 [0.03](1-0.3)}{(0.2)^2}$$

$$N = \frac{[3.8416][0.3(0.7)]}{0.04}$$

$$N = \frac{[3.8416][0.21]}{0.04}$$

$$N = 20$$

Cada Grupo Será de 20 Personas.

Diseño de Estudio.

Estudio Transversal Analítico.

Material y Métodos.

Se incluyó al total de varones que acudieron por Infertilidad al servicio de Biología de la Reproducción Humana del Hospital Juárez de México durante el periodo comprendido entre Noviembre del 2007 a Abril del 2008 y que cursaron con oligozoospermia,. Se incluyó en un segundo grupo a varones que también acudieron por infertilidad, pero que no presentaron alteración del factor masculino.

Cartas de Consentimiento Informado, Hoja de Recolección de Datos, Lápices.

Compás de Bernier. (Instrumento de medición graduado en milímetros utilizado para la cuantificación de diámetros).

El total de varones que acudan por Infertilidad, y que reúnan los criterios de inclusión, serán sometidos al siguiente abordaje.

- Llenado de la hoja colectora de datos (recabar de expediente clínico los reportes de Seminograma)
- Medición de ambos testículos con compás Bernier.
- A todos los pacientes se realizó determinación sérica de FSH, aún cuando la concentración espermática fuera mayor a 10 millones/ml y por tanto no fuera indicativa de su realización como parte del protocolo de estudio.
- Análisis estadístico.

Criterios de Inclusión y de No Inclusión para el Estudio.

Criterios de Inclusión.

Grupo Casos.

Pacientes con Seminograma.

Varones en protocolo de estudio de pareja infértil que acudan al servicio de Biología de la Reproducción Humana del Hospital Juárez de México y que cursen con oligozoospermia.

Grupo Control.

Varones en protocolo de estudio de pareja infértil que acudan al servicio de Biología de la Reproducción Humana del Hospital Juárez de México y que no cursen con alteración en el seminograma.

Criterios de No Inclusión.

Pacientes sin seminogramas.

Pacientes que no acepten participar en el estudio.

Hoja de captación de datos. *Ver Anexo.**

Se registraron Edad, tipo de Infertilidad (primaria o secundaria), Volumen testicular por orquidometría con compás Bernier (aplicando la Fórmula de las Elipses) y concentración espermática (acorde a parámetros de la OMS), así como concentraciones séricas de FSH y Testosterona, enfermedades crónico-degenerativos y medicación actual.

Técnicas.

Se midió largo, ancho y grosor de ambos testículos mediante compás de Bernier.

Se aplicó la Fórmula de las Elipses para determinar el volumen testicular.

Volumen = Largo x Ancho x Grosor x 0.523.

Estudios de Laboratorio.

Seminograma, Concentraciones séricas de FSH y Testosterona.

Pruebas Estadísticas.

Empleando el paquete estadístico SPSS v13 se obtendrán medidas de tendencia central, dispersión y distribución de frecuencias. Las medias se compararán mediante la prueba T de Student, mientras que para comparar las frecuencias intergrupales se empleará chi cuadrada.

Consideraciones Éticas.

Se realizará hoja de Consentimiento Informado para cada paciente que acepte participar en el estudio. El paciente podrá no participar del mismo si así lo desea.

Resultados

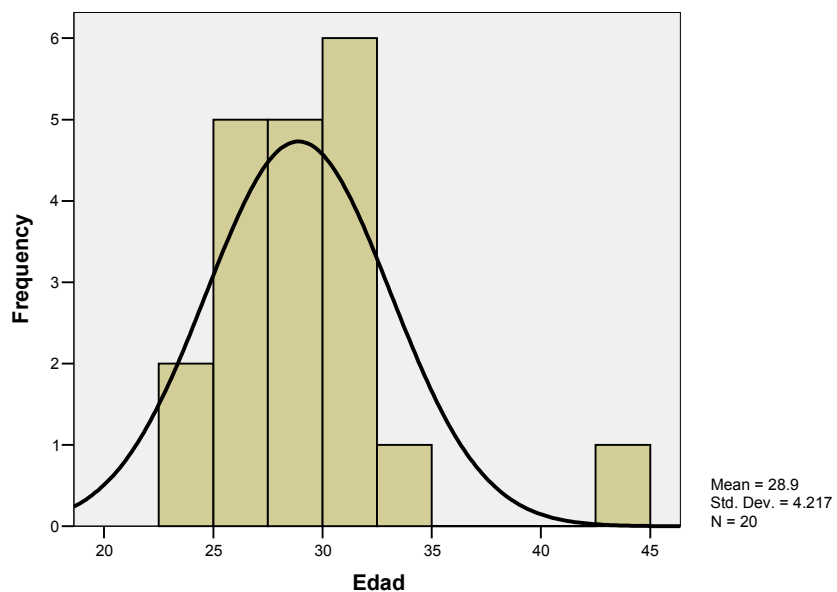
Se estudiaron dos grupos, pacientes con oligozoospermia y pacientes sin alteración en la concentración espermática, cada uno conformado por veinte pacientes. Del total de pacientes estudiados la infertilidad de tipo primaria fue la más frecuente, correspondiendo al 72.5% de los casos, mientras que la infertilidad secundaria correspondió al 27.5% restante. (Tabla 1).

Tabla 1. Tipo de Infertilidad

Infertilidad	Frecuencia	Porcentaje (%)
Primaria	29	72.5
Secundaria	11	27.5
Total	40	100

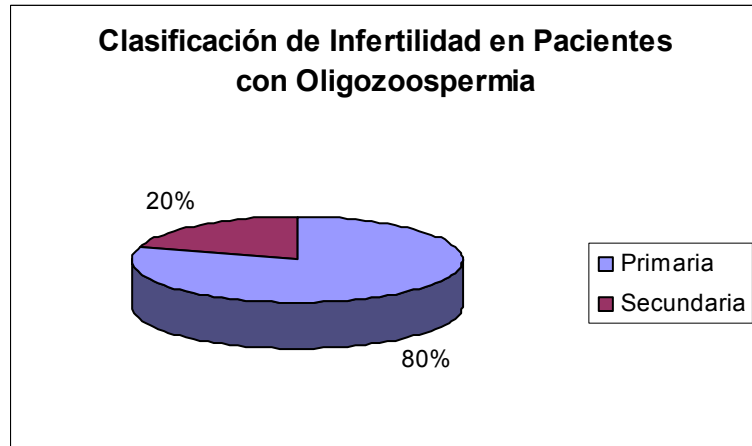
El grupo de casos que incluía a los pacientes con oligozoospermia tuvo una edad promedio de 28.9 años \pm 4.2 (rango 23 a 43 años). (Figura 1).

Figura 1. Distribución por edades de Pacientes con Oligozoospermia.



De los pacientes con oligozoospermia, 16 casos correspondieron a una infertilidad primaria, siendo los 4 restante de tipo secundaria. (Figura 2).

Figura 2.



El volumen testicular medio derecho en los pacientes con oligozoospermia correspondió a $12.8 \text{ cc} \pm 2.7$ (rango 6.2 a 18.2 cc); mientras que el volumen testicular promedio izquierdo fue de $12.2 \text{ cc} \pm 2.8$ (rango 5.1 a 17.4). (Tabla 2).

Tabla 2. Volúmenes Testiculares en Pacientes con Oligozoospermia.

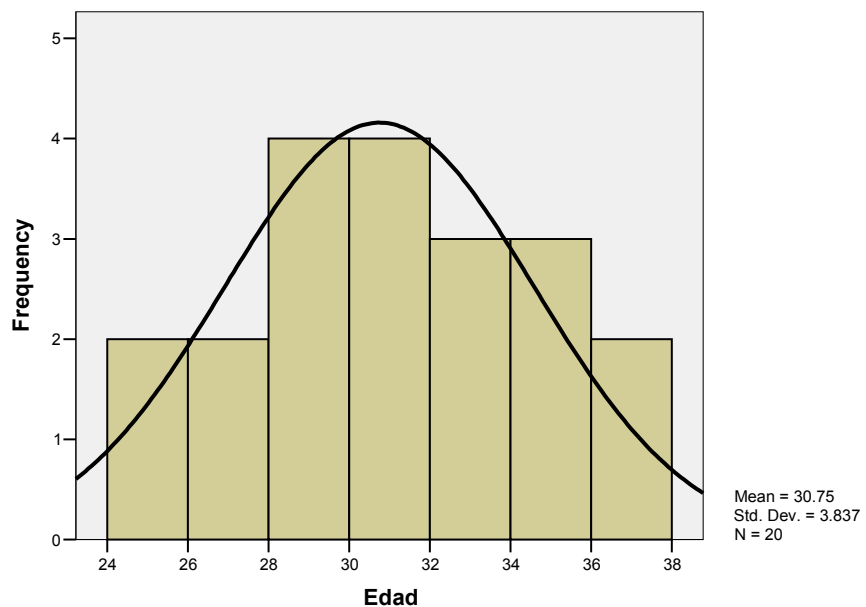
	Promedio (cm ³)	Desviación Estándar (cm ³)	Mínimo (cm ³)	Máximo (cm ³)
Volumen Testicular Derecho	12.8	± 2.7	6.2	18.2
Volumen Testicular Izquierdo	12.2	± 2.8	5.1	17.4

El promedio de concentración espermática para el grupo de pacientes con oligozoospermia fue de 13 millones \pm 3.3 (rango de 7 a 19 millones).

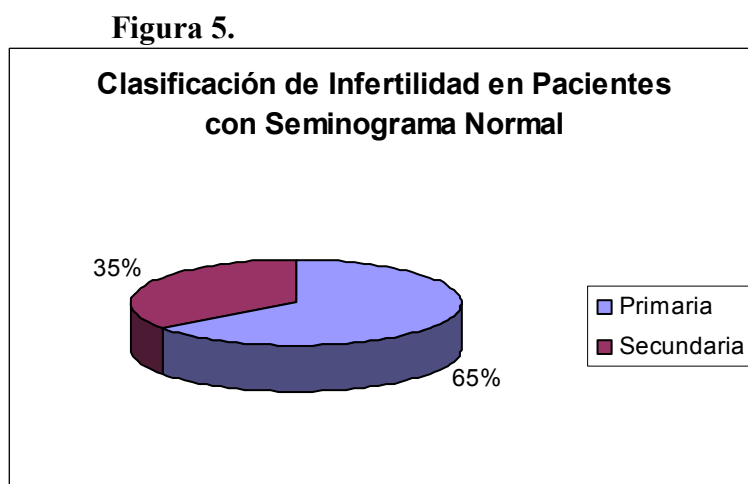
La FSH promedio fue de 3.9 \pm 2.3 (rango 1.8 a 12.1). Mientras que para la testosterona total el promedio fue 7.17 \pm 1.9 (rango 3.6 a 10.3).

Con respecto al grupo control, (pacientes sin alteración en la concentración espermática), los resultados obtenidos fueron los siguientes: la edad media fue de 30.7 años \pm 3.8 (rango 24 a 38 años). (Figura 4).

Figura 4. Distribución por edades de Pacientes con Seminograma Normal (Grupo Control).



Sesenta y cinco por ciento de ellos correspondió a infertilidad primaria y el 35% restante a infertilidad secundaria. (Figura 5).



El volumen testicular medio derecho del grupo control fue de 15.7 cc \pm 2.79 (rango 10.2 a 22.5). El volumen testicular promedio izquierdo fue de 14.8 cc \pm 2.3 (rango 9.9 a 19.5). (Tabla 3, Figuras 6 y 7).

Tabla 3. Volúmenes Testiculares en Pacientes con Seminograma Normal (Grupo Control).

	Promedio (cm ³)	Desviación Estándar (cm ³)	Mínimo (cm ³)	Máximo (cm ³)
Volumen Testicular Derecho	15.71	\pm 2.79	10.2	22.5
Volumen Testicular Izquierdo	14.82	\pm 2.38	9.9	19.5

Figura 6. Curva de Distribución del Volumen Testicular Derecho en el Grupo Control

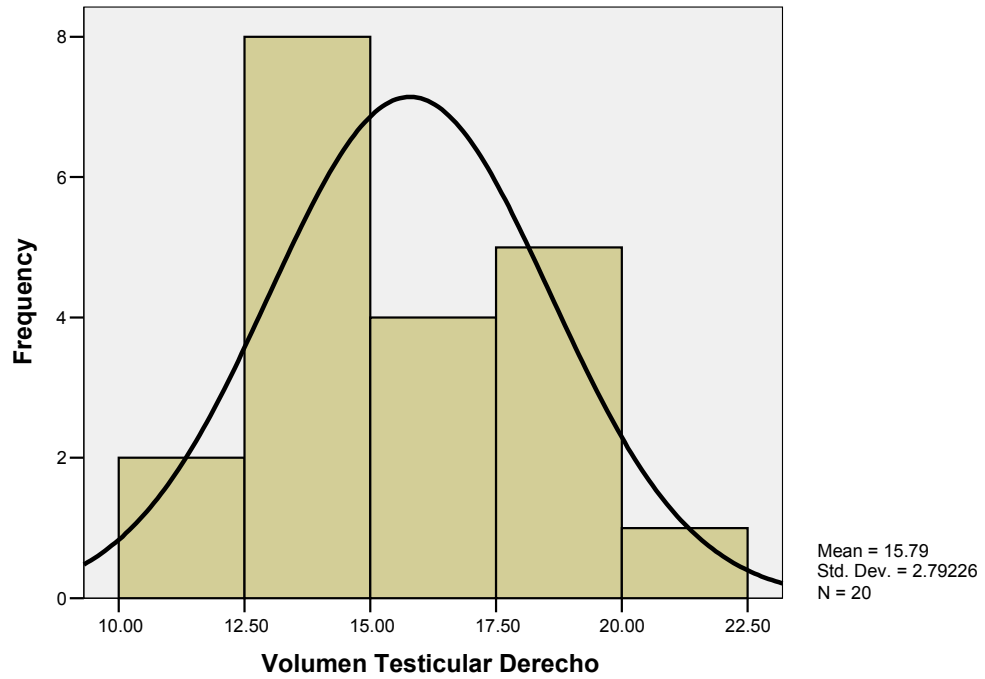
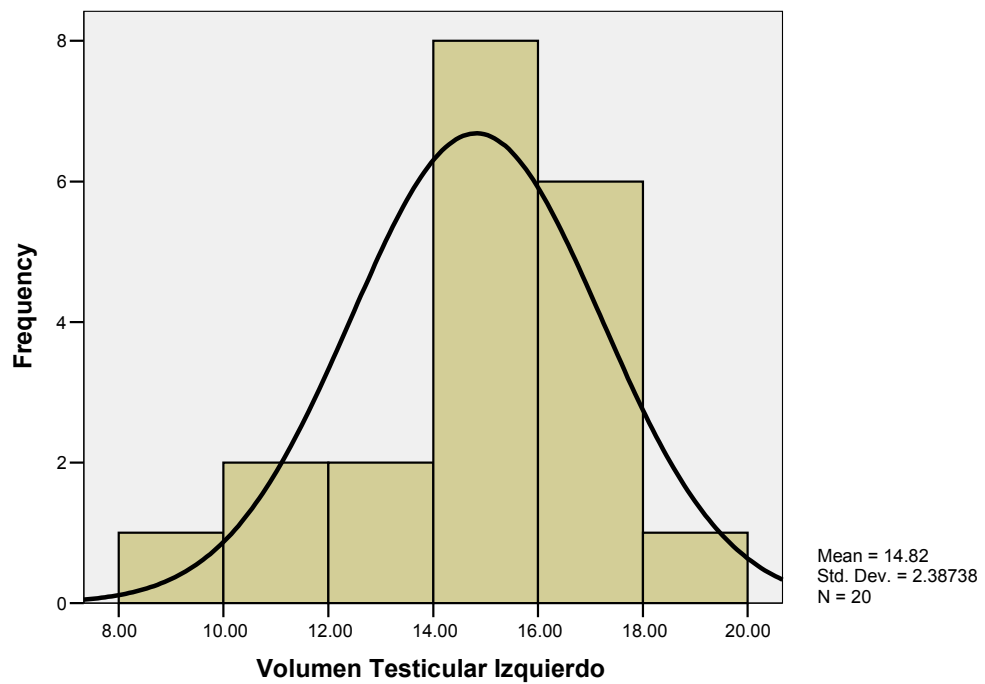


Figura 7. Curva de Distribución del Volumen Testicular Izquierdo en el Grupo Control



La concentración espermática promedio en el grupo control fue de 118 millones \pm 58.9 (rango 32 a 234 millones).

El análisis estadístico incluyó la prueba T de Student para muestras independientes, con un error alfa de 0.05, los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar y los valores < 0.05 se consideraron estadísticamente significativos. Empleando el programa estadístico SPSS v13 se compararon los valores intergrupales del volumen testicular derecho (p= 0.002), volumen testicular izquierdo (p= 0.003), (Tabla 4) y concentración espermática (p= 0.001). (Tabla 5).

Tabla 4. T de Student. Volúmenes Testiculares Derecho e Izquierdo.

	Grupo	Media (cm ³)	Desviación Estándar	Valor de P
Volumen Testicular Derecho	Oligozoospermia	12.82	± 2.7	0.002
	Control	15.79	± 2.7	
Volumen Testicular Izquierdo	Oligozoospermia	12.2	± 2.83	0.003
	Control	14.8	± 2.38	

Tabla 5. T de Student. Concentración Espermática.

	Grupo	Media (millones/ml)	Desviación Estándar	Valor de P
Concentración Espermática	Oligozoospermia	13.06	± 3.31	0.001
	Control	118.05	± 58.91	

De acuerdo a la subdivisión propuesta por la OMS respecto a la oligozoospermia, observamos que 6 de los pacientes del grupo de casos correspondió a una forma leve, once correspondieron a la subdivisión moderada y 3 integraron el grupo de oligozoospermia grave. (Tablas 6 y 7).

Tabla 6. Correlación Entre El Volumen Testicular Derecho Y La Concentración Espermiática

	N	Volumen Testicular Derecho		
		Media	DE	Rango
Normales	20	15.7	2.79	10.2 a 22.5
Oligozoospermia Leve	6	14.1	2.81	9.8 a 18.2
Oligozoospermia Moderada	11	12.9	2.19	10.2 a 16.8
Oligozoospermia Grave	3	9.8	3.21	6.2 a 12.3

Tabla 7. Correlación Entre El Volumen Testicular Izquierdo Y La Concentración Espermiática

	N	Volumen Testicular Izquierdo		
		Media	DE	Rango
Normales	20	14.8	2.38	9.9 a 19.5
Oligozoospermia Leve	6	13.7	2.61	9.4 a 17.4
Oligozoospermia Moderada	11	12.1	2.24	10 a 17
Oligozoospermia Grave	3	9.3	3.77	5.1 a 12.4

No se encontró diferencia estadística significativa al comparar los volúmenes testiculares derecho e izquierdo con respecto a la subclasificación de oligozoospermia. (Tablas 8 y 9).

Tabla 8. Relación Entre Volumen Testicular Derecho y Subclasificación de Oligozoospermia.

Volumen Testicular	Oligozoospermia			
	Leve	Moderada	Grave	Total
< 10 cc	1	0	1	2
10 a 14.9 cc	3	8	2	13
15 a 19.9 cc	2	3	0	5
> 20 cc	0	0	0	0
Total	6	11	3	20

p=0.373

Tabla 9. Relación entre Volúmenes Testicular Izquierdo y subclasificación de Oligozoospermia.

Volumen Testicular	Oligozoospermia			Total
	Leve	Moderada	Grave	
< 10 cc	1	0	1	2
10 a 14.9 cc	4	10	2	16
15 a 19.9 cc	1	1	0	2
> 20 cc	0	0	0	0
Total	6	11	3	20

p=0.414

Con base en los niveles de FSH obtenemos 3 grupos con características específicas. (Tabla 10).

Tabla 10. Nivel de FSH en Oligozoospermicos.

	Frecuencia	Porcentaje (%)
Normal	18	90
Baja	1	5
Alta	1	5

Aplicando la prueba de chi cuadrada, para comparar el volumen testicular derecho con los niveles séricos de FSH en pacientes oligozoospermicos, encontramos una p estadísticamente significativa (p= 0.041). (Tabla 11), mientras que para el testículo izquierdo el valor de p= 0.047. (Tabla 12).

Tabla 11. Volumen Testicular Derecho y su relación con FSH

Volumen Testicular Derecho	Nivel de FSH			Total
	Normal	Baja	Alta	
< 10cc	1	0	1	2
10-14.9cc	12	1	0	13
15-19.9cc	5	0	0	5
Total	18	1	1	20

Tabla 12. Volumen Testicular Izquierdo y su relación con FSH

Volumen Testicular Izquierdo	Nivel de FSH			Total
	Normal	Baja	Alta	
< 10cc	1	0	1	2
10-14.9cc	15	1	0	16
15-19.9cc	2	0	0	2
Total	18	1	1	20

No hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar los niveles séricos de FSH y las subdivisiones de pacientes oligozoospermicos ($p= 0.08$). (Tabla 13).

Tabla 13. Nivel de FSH en Varones con Oligozoospermia

FSH	Oligozoospermia			
	Leve	Moderada	Grave	Total
Normal	5	11	2	18
Baja	1	0	0	1
Alta	0	0	1	1
Total	6	11	3	20

Al comparar los volúmenes testiculares de pacientes oligozoospermicos y la concentración espermática, solo se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el testículo izquierdo, ($p=0.031$). (Tablas 14 y 15).

Tabla 14. Volumen Testicular Derecho y Concentración Espermática.

Volumen Testicular	Normales	Oligozoospermia			
		Leve	Moderada	Grave	Total
< 10 cc	0	1	0	1	2
10 a 14.9 cc	10	3	8	2	23
15 a 19.9 cc	9	2	3	0	14
> 20 cc	1	0	0	0	1
Total	20	6	11	3	40

$p= 0.240$

Tabla 15. Volumen Testicular Izquierdo y Concentración Espermática.

Volumen Testicular	Normales	Oligozoospermia			
		Leve	Moderada	Grave	Total
< 10 cc	1	1	0	1	3
10 a 14.9 cc	8	4	10	2	24
15 a 19.9 cc	11	1	1	0	13
> 20 cc	0	0	0	0	0
Total	20	6	11	3	40

$p= 0.031$

Discusión.

En la población estudiada, la infertilidad primaria predominó sobre la secundaria, en una relación aproximada de 3:1. Con respecto a la edad, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

A diferencia de lo reportado en Países Europeos, el volumen testicular observado en el grupo control es en apariencia menor.

Mientras que en los pacientes con oligozoospermia el volumen testicular fue menor que en los pacientes sin alteraciones en el seminograma, observándose una diferencia estadísticamente significativa (testículo izquierdo $p= 0.003$; testículo derecho $p= 0.002$). En la subclasificación de oligozoospermia no se observó diferencia estadística significativa entre los grupos, (leve, moderada y severa); por lo que no existe una relación directamente proporcional entre el volumen testicular y la concentración espermática en pacientes con oligozoospermia.

Al comparar la concentración espermática entre casos y controles, se observó una diferencia estadísticamente significativa; sin embargo, cuando se subdividió a los casos de acuerdo a la severidad de la oligozoospermia, ésta diferencia desapareció. Lo anterior se presentó al valorarse ambos testículos.

Los niveles de FSH se mantuvieron dentro de límites normales en el 90% de los casos. Cuando se comparó el volumen testicular contra los niveles séricos de FSH, para ambos testículos se observó diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, al comparar los niveles de FSH en los varones con oligozoospermia, solo se encontró diferencia estadísticamente significativa en el testículo izquierdo.

Conclusiones.

Aunque el volumen testicular ya ha sido determinado en países Europeos, hasta la fecha no se tenían reportes en población mexicana, los valores obtenidos en varones sin alteraciones seminales fueron de 15.71 ± 2.79 para el testículo derecho y de 14.82 ± 2.38 para el testículo izquierdo. Mientras que para los pacientes con oligozoospermia los valores fueron de 12.8 ± 2.7 y 12.2 ± 2.8 , respectivamente.

Este estudio demuestra que la concentración espermática se asocia al volumen testicular, observándose volúmenes testiculares mayores en aquellos pacientes con seminograma normal en comparación con aquellos con oligozoospermia, con una diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, ésta relación no es directamente proporcional a la severidad de la oligozoospermia.

Una limitante a estos hallazgos es la heterogenicidad entre los diversos subgrupos de los casos de oligozoospermia, que podrían sesgar los resultados. Por lo que se requiere de un estudio que incluya una muestra mayor y más selectiva para ratificar lo antes expuesto.

Anexos.

Hospital Juárez de México SSA.
División de Ginecología y Obstetricia.
Servicio Biología de la Reproducción Humana.

Carta de Consentimiento Informado.

Nombre del paciente: _____
Edad _____
Fecha y hora _____
Dirección _____
Teléfono _____

El presente documento, tiene la finalidad de corroborar por escrito su participación en la investigación sobre la relación entre el Volumen Testicular (Tamaño Testicular), y la Concentración Espermática (Número de Espermatozoides en el Semen), para la cual deberá realizarse exploración física, y revisión de su expediente, para registrar algunos datos pertenecientes a los Seminogramas que se ha realizado. Su aceptación es voluntaria.

Yo _____ acepto ser explorado.

Firma de la paciente.

Testigos (nombre y firma).

Hoja de Recolección de Datos.

Fecha: (/ /).

Nombre del Paciente.

Número de Expediente.

Edad.

Fecha de Ingreso al Servicio.

Dx. De Ingreso: _____

Antecedentes:

Criptorquidia, Varicocele, Hipogonadismo:

Seminogramas.

Fecha de Realización.	Primero (/ /)	Segundo (/ /)
Aspecto		
Licuefacción		
Viscosidad		
Volumen (cc)		
Concentración Espermática (millones/mL)		
Motilidad (%)		
Vitalidad (%)		
Morfología Normal (%)		
Aglutinación		
Leucocitos		

FSH (UI/L):

Fecha (/ /) Resultado: _____

Testosterona Total (ng/dL):

Fecha (/ /) Resultado: _____

Orquidometría con Vernier.

Testículo Derecho:

Largo (cm):

Ancho (cm):

Grosor (cm):

Volumen (cm³):

Testículo Izquierdo:

Largo (cm):

Ancho (cm):

Grosor (cm):

Volumen (cm³):

Bibliografía.

- 1.- Tanagho, E. McAninch, Jack. Smith's Urology. Appleton and Lange. 1995.
- 2.- Stevens, A. Lowe, J. Texto y Atlas de Histología. Mosby. 1992. 304-315.
- 3.- Moore, K.L. Persaud, T.V.N. Embriología Clínica. 7ª Edición. Saunders. 2004. 1-22.
- 4.- Carlson, B.M. Embriología Humana y Biología del Desarrollo. 3ª Edición. Mosby. 2005. 3-26.
- 5.- Holdcraft, RW. Braun, RE. Hormonal regulation of spermatogenesis. Int J Androl, 2004; (27):335-342.
- 6.- Jarow, JP. Zirkin, BR. The Androgen Microenvironment of the Human Testis and Hormonal Control of Spermatogenesis. Ann. N.Y. Acad. Soc. 2005; (1061):208-220.
- 7.- Hernández, I. Ayala, A. Carrera, E. Lenzos de Reproducción Humana. ETM. 2005; 41-50, 121-132.
- 8.- Lebovic, D, Gordon, J, Taylor, R. Reproductive Endocrinology and Infertility. 1st Ed. Scrub-Hill. 2005. 208-224.
- 9.- WHO Laboratori manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. New York: Cambridge University Press, 1999.
- 10.- Keel, BA. Whithin and Between-subject variation in semen parameters in infertile men and normal semen donors. Fertil. Steril. 2006;85(1):128-134.
- 11.- Guzick, DS, Overstreet, JW. Brazil, C. Nakajima, ST. Sperm morphology, motility and concentration in fertile and infertile men. N Eng J Med. 2001;345(19):1388-1393.
- 12.- Nallella, KP. Sharma, RK. Aziz, N, Agarwal, A. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. Fertil Steril. 2006;85(3):629-634.
- 13.- Sakamoto, H. Saito, K. Oohta, M, Inoue, K. Ogawa, Y. Yoshida, H. Testicular volume measurement: Comparison of Ultrasonography, Orchidometry, and Water Displacement. Urology. 2007;69(1):152-157.
- 14.- Ku, JH. Jeon, YS. Lee, NK, Park, YH. Factors influencing testicular volume in young men: result of a community-based survey. BJU International. 2002;(90):446-450.
- 15.- Nieschlag, E. Behre, HM. Andrology: Male reproductive health and Dysfunction. Springer. 1997. 89-90.