

Esterilidad Masculina. Abordaje

Male Infertility. Approach

José Luis Balleescà Lagarda¹, Rafael Oliva Virgili²

¹Unidad de Reproducción. Institut Clínic de Ginecologia, Obstetricia i Neonatologia.

²Grupo de Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona y Servicio de Bioquímica y Genética Molecular.

RESUMEN

La esterilidad conyugal es una patología con una creciente incidencia en las sociedades desarrolladas, siendo muy frecuentemente el factor masculino el responsable o el favorecedor de dicha dificultad reproductiva.

En el presente trabajo se realiza una revisión de su diagnóstico y de las posibilidades terapéuticas más habituales de las que dispone el andrólogo a fin de ayudar a estas parejas.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2014; 31; 26-31 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Palabras Claves: *Reproducción, Factor masculino, Esterilidad masculina, Espermatozoide.*

SUMMARY

Conjugal sterility is a condition with an increasing incidence in developed societies, and is very commonly the male factor is the one that is responsible for the reproductive difficulty. The aim of the present work is the diagnosis and the most frequent therapeutic possibilities available to the andrologist to help the affected couples.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2014; 31; 26-31 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Key Words: *Reproduction, Male Factor, Male Infertility, Sperm.*

Aceptado 29/8/2014

Correspondencia: José Luis Balleescà
Hospital Universitari Clínic de Barcelona
Calle Villarroel, 170, 08036, Barcelona
ballezca@clinic.ub.es

"8658jlb@comb.cat" <jllballezca@gmail.com>

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: editorialmedica@editorialmedica.com

INTRODUCCIÓN

La esterilidad es la imposibilidad de concebir tras un año de relaciones sexuales desprotegidas. En condiciones normales en ese periodo el 85 % de las parejas consiguen la gestación. Por tanto, si en ese tiempo de un año la pareja no logra el deseado embarazo, debe iniciarse el estudio de la pareja, que debe siempre incluir desde su comienzo a ambos miembros de la misma. Lógicamente pueden existir situaciones que hagan aconsejable el inicio del estudio antes del año, como puede ser la edad, especialmente de la mujer o los antecedentes patológicos de alguno de los miembros de la pareja.

La dificultad concepcional afecta a un 17 % de las parejas y de ellas alrededor del 50 % presentan alguna deficiencia seminal, un 27-30 % de forma aislada, es decir sin aparentes alteraciones en la mujer y el 20 % restante de forma asociada a alguna alteración de la fertilidad de su pareja.

La esterilidad es una enfermedad por carencia que en las sociedades desarrolladas está experimentando un alarmante crecimiento, como consecuencia de muy diversos factores tanto médicos como sociales, por lo que el deseable abordaje profiláctico, que aconsejaría una medicina moderna, adquiere una alta y compleja dificultad (1).

Es evidente que las parejas cada vez inician más tardíamente su deseo concepcional, ya sea por exigencias profesionales o simplemente de hábitos sociales, este retraso se ha visto potenciado desde la incorporación de la mujer al mundo laboral y la aparición de una eficaz contracepción.

Por otro lado desde mediados del siglo XX, han aparecido numerosos estudios que alertan de un posible descenso de la fertilidad de las parejas, que en el caso de la masculina, siendo esta numérica, permite una más fácil cuantificación. Esta afectación sería atribuible a los llamados disruptores endocrinos, ambientales, industriales y alimentarios, que actuarían como agonistas o antagonistas a nivel de los receptores nucleares y de las membranas celulares, interfiriendo con las señales de regulación hormonal y de expresión genética.

Estos disruptores pueden interferir no tan solo de forma directa sobre el individuo ya sea en el adulto, sino también en sus primeras fases de formación intrauterino, lo que explicaría el incremento de disgenesias gonadales, hipospadias y criptorquidias, patologías que con frecuencia se correlacionan con defectos de la calidad seminal.

El conocimiento de las posibles etiologías permitirá el diseño de programas preventivos y si estos no resultan eficaces, un correcto abordaje diagnóstico será fundamental a fin de seleccionar las más correctas opciones terapéuticas (2).

ABORDAJE DEL DIAGNÓSTICO DEL FACTOR MASCULINO

Historia Clínica y estudio seminal

La primera prueba a realizar al varón es el estudio seminal (3), siendo muy recomendable que dicho estudio incluya un mínimo de dos análisis seminales, espaciados ambos un mes, no descartándose un tercer análisis en caso de apreciarse alguna disparidad entre los iniciales.

Este estudio seminal es aconsejable que lo realice un laboratorio especializado y que refleje un mínimo de parámetros fundamentales para centrar el posible enfoque del estudio del factor masculino, no es infrecuente que en ocasiones se dé una información tan abundante y compleja que más que orientar al clínico le llegue a confundir.

Esta valoración básica seminal debe incluir algunos rasgos macroscópicos del mismo, como el color, que debe reseñarse cuando éste se aparte de la normalidad. El volumen del eyaculado, puede orientar hacia alguna de las patologías, ya que éste es el producto de una secreción secuencial de diversas glándulas, por tanto sus variaciones puede reflejar alguna patología y/o obstrucción de alguna de ellas.

La cuantificación del número de espermatozoides, tanto por mililitro como en el total del eyaculado es imprescindible, así como la calidad de los mismos, que se reflejará en su movilidad más o menos progresiva y en su morfología. Creemos que es aconsejable que estos parámetros se expresen no tan solo en sus valores relativos, como se hace habitualmente, sino que también en absolutos, lo que sin duda ayudará a orientar al clínico, evitando posibles dudosas interpretaciones (4).

Sin duda el estudio seminal, como ya se ha dicho, es la primera y fundamental prueba para identificar la presencia de un posible factor masculino en la dificultad reproductiva de una pareja. Una vez evidenciada la presencia del factor masculino se precisará de una valoración andrológica que debe basarse en una cuidadosa historia clínica, que se iniciará por una amplia anamnesis, incluyendo datos de la infancia, como posibles retrasos del descenso testicular, traumatismos y posibles inflamaciones. Es evidente que pueden existir factores previos que pueden afectar durante el embarazo, pero frecuentemente este apartado es complejo y de muy difícil interpretación (5).

El estudio microbiológico del eyaculado queda relegado a aquellas situaciones en que la presencia incrementada de leucocitos haga sospechar de un proceso infeccioso. La identificación y cuantificación de las colonias de gérmenes presentes en el eyaculado deben realizarse conjuntamente con el estudio de la primera fracción de orina previa a dicho

eyaculado, lo que permitirá descartar posibles contaminaciones seminales a su paso por la uretra.

Los antecedentes familiares, pueden poner de manifiesto patologías familiares que interfieran con la fertilidad, así como los antecedentes médicos y quirúrgicos del paciente pueden orientar a procesos que afecten la fertilidad o a posibles lesiones iatrogénicas que expliquen la misma. También deben quedar reflejadas posibles alteraciones ligadas con la aparición de la pubertad.

No deben olvidarse factores relacionados con la sexualidad, frecuencia de relaciones, libido, dificultades en la erección, trastornos de la eyaculación así como cualquier trastorno relacionado con el normal depósito espermático intravaginal.

Exploración Clínica

La exploración del varón debe incluir el hábito somático, talla, peso y caracteres sexuales secundarios, si es que se detecta alguna anomalía o variación digna de ser reseñada.

La exploración genital debe descartar la presencia de alteraciones dermatológicas, defectos del meato, como epispadias o hipospadias. La valoración gonadal, incluye el tamaño, consistencia e implantación testicular, así como la posible presencia de quistes epididimarios y la normalidad del conducto deferente. Esta exploración debe realizarse estando el paciente en bipedestación, lo que permitirá una mejor valoración de posible presencia de un varicocele, así como el grado o severidad del mismo.

El tacto rectal no es imprescindible, dado que un gran número de pacientes son jóvenes y sin sintomatología urinaria, pudiendo reservarse la misma cuando no se den estas circunstancias.

Estudio hematológico

Es recomendable la práctica de una analítica basal a fin de descartar posibles patologías metabólicas que puedan interferir, en esta solicitud debe incluirse el estudio de las serologías luética, hepatitis B y C, así como la del virus del HIV.

En pacientes con trastornos de la libido es recomendable valorar los niveles de LH, testosterona y PRL.

En aquellos pacientes que presenten disminuciones del recuento espermático, oligozoospermias y azoospermias, los niveles de FSH e inhibina B (6), orientarán de si el hipogonadismo es hiper o hipogonadotropo, siendo éste último susceptible de posibles tratamientos sustitutivos de dicho déficit. Los niveles circulantes de dichas hormonas también adquieren un valor relevante en el diagnóstico de las azoospermias y pueden orientar en relación a la posible producción focal de espermatozoides en azoospermias no obstructivas (7).

El estudio hormonal puede ampliarse de forma individualizada (8), en función de las características clínicas y específicas de cada paciente. Así en aquellos pacientes con alteraciones de la libido será conveniente el estudio de los niveles de LH, andrógenos y de prolactina.

Los estudios genéticos (9) han adquirido una gran relevancia en los últimos tiempos (10), ya que gran número de los defectos reproductivos masculinos tiene esta etiología (11), por lo que el cariotipo debería ser una prueba incluida entre las rutinarias en esterilidad (12), especialmente ante deficiencias en el recuento espermático e imprescindible en las azoospermias, ya sean excretoras o secretoras.

En las azoospermias obstructivas, especialmente en las agenesias deferenciales, el estudio de las mutaciones de la fibrosis quística es preceptivo, dada su alta incidencia, generalmente se realiza mediante un kit que estudia las 50 mutaciones más frecuentes en la raza caucásica.

Los estudios moleculares del cromosoma Y (13), especialmente las microdeleciones del Gen DAZ, son aconsejables en las oligozoospermias severas y en las azoospermias, ya que su presencia puede aportar una valiosa información en relación al pronóstico reproductivo, ya que en caso de deleciones de las regiones AZF_b o AZF_c, existen expectativas de recuperación espermática mediante el recurso de una biopsia testicular, lo que no sería posible en las AZF_a, que siempre cursan con aplasia germinal y por tanto deben ser orientadas a inseminaciones con semen de donante o a la adopción, evitando al paciente la realización de una inútil biopsia testicular (14).

Estudio Ecográfico testicular

El recurso al estudio ecográfico del testículo puede ser de una valiosa ayuda ante la sospecha de cualquier proceso tumoral, así deberá solicitarse cuando en la exploración se observe alguna irregularidad en la superficie testicular, ante marcadas asimetrías entre ambos testículos o ante la sospecha de cualquier anomalía en la estructura gonadal.

Este estudio por la imagen generalmente se complementa mediante el recurso de las técnicas de doppler, que permitirán objetivar alteraciones vasculares (15), como varicoceles y orientar en situaciones no formativas.

El diagnóstico por la imagen es especialmente aconsejable en todos los pacientes con antecedentes de pexias testiculares, ya que presentan un mayor riesgo de neoplasias testiculares, por lo tanto en estos pacientes también deben solicitarse marcadores de posibles procesos tumorales.

Biopsia Testicular

En la actualidad el estudio histológico del tejido testicular ha perdido vigencia, ya que la valoración clínica gonadal,

tamaño y consistencia testicular, asociada al estudio seminal y hormonal, generalmente es suficiente como para obtener un muy buena aproximación de lo que informaría la biopsia testicular, evitando así molestias, riesgos y costos al paciente. Este procedimiento ha quedado prácticamente relegado a la finalidad de obtener espermatozoides, “testicular sperm extraction” (TESE), para una microinyección espermática (ICSI).

Esta biopsia terapéutica puede realizarse coincidiendo con el día de la punción ovárica, es decir utilizando los espermatozoides en fresco o de forma diferida al día de la obtención ovocitaria, lo que obligará a la criopreservación de los espermatozoides, que con frecuencia requerirán de un breve periodo de incubación, a fin de que adquieran un cierto grado de madurez y por tanto de movilidad. Cada vez son más los grupos que optan por el TESE diferido, ya que permite tener la certeza de la cantidad y calidad de espermatozoides disponibles, de forma previa al inicio de la compleja y costosa estimulación ovárica, sin que dicha criopreservación repercuta de forma significativa en la obtención de gestaciones.

En cualquier caso creemos que cuando se realiza un TESE es aconsejable remitir una pequeña fracción de la muestra para su estudio histológico, ya que no se añade ningún riesgo al paciente y puede aportar alguna información, especialmente en disfunciones de la espermatogénesis, tales como las paradas madurativas.

En algunas situaciones se recurre a la biopsia testicular a fin de detectar posibles alteraciones en el complejo proceso de la meiosis (16), que pudieran justificar algunas dificultades reproductivas, especialmente en bloqueos espermatogénicos, especialmente en los totales, es decir en pacientes azoospermicos no obstructivos, también puede ser de utilidad en infertilidades primarias, consecuentes a abortos precoces de repetición aunque en la actualidad el estudio de carga genética de los espermatozoides mediante FISH puede orientar a diagnósticos que harían innecesaria dicha biopsia.

El recurso de la TESE es un valioso procedimiento en todas aquellas situaciones en que no sea posible la obtención de espermatozoides en el eyaculado, ya sea por alteraciones no tratables de la eyaculación o por azoospermias, ya sean secretoras o excretoras.

Fragmentación del ADN

Los estudios de la fragmentación del ADN (17) han suscitado un notable protagonismo no exento de controversia, ya que la interpretación de sus resultados es compleja, dada la variabilidad en los tipos de fragmentación, así como en las técnicas para su cuantificación. Pero es evidente que dicha fragmentación puede implicar no tan solo defectos en la ca-

lidad espermática y dificultades para que estos espermatozoides consigan una correcta fecundación, sino que también en caso de lograrla, la calidad embrionaria podrá ser mas deficitaria lo que podría traducirse en dificultades en la implantación o en pérdidas embrionarias (18).

El ovocito de buena calidad tiene una capacidad reparadora de ciertas fragmentaciones, lo que lógicamente puede considerarse una limitación para establecer posibles pronósticos reproductivos en base a los estudios de fragmentación.

Esta fragmentación puede ser causada por diversos factores, entre los que destaca el llamado estrés oxidativo, consecuente al desequilibrio entre la presencia de excesivos radicales oxidativos, que rompen el balance de la capacidad antioxidante fisiológica del fluido seminal, de ahí el posible efecto beneficioso de los tratamientos con antioxidantes en estas situaciones.

FISH en espermatozoides

Los estudios mediante inmunofluorescencia permiten determinar la dotación cromosómica de los espermatozoides eyaculados u obtenidos por otro procedimiento, expresando porcentualmente la presencia de las posibles alteraciones, lo que traduciría el eventual riesgo de transmisión de las mismas. Estos estudios que parecen tener esperanzadores horizontes también presentan sus limitaciones, ya que obligan a disponer de un considerable número mínimo de espermatozoides, lo que no siempre va a ser posible.

Otros estudios

En base a la morfología espermática se han desarrollado procedimientos que mediante su magnificación permiten seleccionar aquellos espermatozoides aparentemente idóneos (IMSI), descartando aquellos con una presencia anómala de vacuolas, que al parecer podrían relacionarse con una mayor fragmentación de su ADN, esta selección podría mejorar los resultados de la técnicas de microinyección, los estudios publicados hasta la fecha no permiten confirmar estas esperanzadoras expectativas, por lo que será preciso ampliar los mismos a fin de obtener conclusiones definitivas.

Los estudios de la ultraestructura espermática mediante la microscopía electrónica permiten abrir nuevas líneas de investigación, que requieren de un complejo utillaje, así como de un personal muy experto, por lo que de momento están lejos de poder considerarse como recursos diagnósticos rutinarios.

En la actualidad los estudios del proteoma del espermatozoide (19), constituido por unas 8 000 proteínas diferentes (20), están adquiriendo gran relevancia y abren prometedoros horizontes. La composición, concentración e integridad

de estas proteínas del espermatozoide son fundamentales para su normal funcionalidad (21). Estos estudios de la proteómica espermática podemos afirmar que se hallan en sus inicios, pero podrán ser la clave en el conocimiento de los complejos mecanismos moleculares de la fertilidad masculina (22).

En nuestro laboratorio hemos identificado más mil nuevas proteínas que se hallan presentes en los espermatozoides humanos, lo que permite establecer posibles bases en la investigación de la estructura y función de la cromatina espermática, correlacionando nuestros hallazgos con alteraciones de la fertilidad de estos varones, esta línea de estudio tiene un prometedor horizonte en la andrología reproductiva.

ABORDAJE TERAPÉUTICO

Generalmente no es fácil establecer un abordaje terapéutico de forma aislada, ya que la valoración del paciente debe realizarse de forma global (23), pero en aras de una simplificación, se intentará dar unas orientaciones básicas.

ALTERACIONES DEL RECUENTO ESPERMÁTICO

En los pacientes afectos de una oligozoospermia, las posibles opciones terapéuticas vendrán determinadas por los niveles circulantes de FSH y la consecuente respuesta en la producción de inhibina B

Los pacientes con niveles elevados de FSH, consecuentemente tendrán una inhibina B baja, incapaz de frenar la hipófisis, por lo que normalmente serán varones con una baja reserva espermatogénica, que escasamente se beneficiarán de tratamientos médicos. No es infrecuente que estos pacientes también tengan defectos de la calidad espermática, es decir de su movilidad y/o morfología, por lo que las posibles opciones terapéuticas podrán dirigirse hacia estas alternativas, pudiendo beneficiarse en algunas situaciones de los tratamientos antioxidantes.

Cuando los niveles de FSH e inhibina B se encuentran en rangos de normalidad, se podría afirmar que la reserva de células germinales es correcta y que existe alguna alteración en el complejo proceso de la espermatogénesis, probablemente en sus últimas fases madurativas, pudiendo ser ésta consecuente a factores tóxicos ambientales, profesionales o a un varicocele, por lo general severo. Según el grado de deterioro en la producción espermática los estudios de la fragmentación del ADN pueden orientarnos en su tratamiento. Descartados estos factores la estimulación hormonal debe considerarse, pudiendo realizarse con FSH o de forma indirecta con clomifeno o tamoxifeno, éstos tienen la ventaja de

su fácil administración y su bajo costo, pudiendo ser la primera elección y en caso de lograrse una mejoría insuficiente recurrir a la FSH.

En las situaciones de FSH muy baja, es decir hipogonadismos – hipogonadotropos, el tratamiento de elección debe ser la FSH en combinación con la LH.

ALTERACIONES DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA

En las asteno-teratozoospermias, muy frecuentemente idiopáticas, en nuestra opinión los tratamientos antioxidantes están resultando un eficaz recurso (24). Parece que su nivel de actuación no se ciñe exclusivamente a la reducción de los radicales oxidativos con la consecuente mejoría en la fragmentación del ADN espermático (25), si no que esta acción también es beneficiosa a otros niveles, evitando alteraciones de la proteómica espermática y daños de la peroxidación lipídica de las membranas del espermatozoide o alteraciones funcionales de la mitocondria, estructura fundamental en el aporte energético espermático. En experimentación animal se ha observado que algunas de estas sustancias también pueden actuar intratubularmente favoreciendo la regeneración y función espermatogénica.

TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Las técnicas de reproducción asistida tienen la finalidad de aproximar ambos gametos y optimizar los recursos reproductivos de ambos miembros de la pareja, por tanto son sin duda un excelente recurso en algunas situaciones de factores masculinos, pero no deben ser un obstáculo para un correcto estudio del varón con dificultades reproductivas, lo que obliga a utilizarlas cuando estén realmente indicadas y ajustadas en función de la alteración detectada, la situación de ambos miembros de la pareja, la edad, especialmente de la mujer y los años de esterilidad.

La selección de la técnica vendrá por tanto determinada por la situación clínica en su conjunto, pero desde el punto de vista andrológico será el recuento de espermatozoides de buena calidad disponibles, tras una técnica de capacitación.

En algunas situaciones estos procedimientos serán el complemento de un tratamiento médico, insuficiente por sí solo para lograr la deseada gestación y en situaciones extremas requerirán la crioconservación espermática previa a fin de asegurar la disposición de gametos en el día de la punción.

Las inseminaciones conyugales tiene un bajo rendimiento por lo que a nuestro entender deben realizarse en parejas jóvenes, con escasos años de esterilidad y con recuperaciones espermáticas mínimas de 3 millones de espermatozoides, siendo deseables que superen los 5 millones, se han de prac-

ticar siempre en ciclos estimulados y no deberían superar los 3-4 intentos, en caso de fracasar se orientará a la pareja ha técnica de fecundación "in vitro" (FIV).

Cuando se deben realizar técnicas de FIV por factor masculino, la tendencia generalizada es a orientar a la microinyección espermática (ICSI), aunque a nuestro entender en ocasiones se deberían aconsejar, especialmente si se dispone de un buen número de ovocitos, a la FIV convencional al menos en algunos de ellos, ya que mediante este procedimiento tendremos una valiosa información sobre la interacción fisiológica de ambos gametos, que puede ser de gran utilidad en el diagnóstico de disfunciones a éste nivel.

En situaciones extremas, especialmente en las criptozoospermias, es decir de ausencia de espermatozoides en la valoración en fresco pero presencia de algunos aislados en el centrifugado de la muestra, se aconsejará la crioconservación previa de espermatozoides.

Podemos afirmar que las técnicas de reproducción asistida han supuesto en auténtico revulsivo en el campo de la fertilidad y la ICSI ha revolucionado los tratamientos andrológicos en situaciones especialmente extremas, como muchas azoospermias, que antes debían orientarse a las inseminaciones con semen de donante (IAD) y que sin embargo en la actualidad un buen número de estos pacientes pueden lograr la deseada paternidad biológica mediante la extracción quirúrgica de espermatozoides testiculares (TESE) y su inyección en el ovocito. Estos espectaculares avances no deben hacernos olvidar que no están exentos de posibles ciertos riesgos, algunos conocidos ya, como el incremento de alteraciones genéticas, que de forma natural serían de un 0,2 % y que con la ICSI son de un 0,8 % y otros que muy probablemente iremos conociendo con el paso del tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Olsen J, Ramlau-Hansen CH.** Epidemiologic methods for investigating male fecundity. *Asian J Androl* 2014, 16, 1: 17-22.
2. **Bassas L,** New aspects in the clinical assessment of the male infertile male. Papers Contributed to the 9th International Congress of Andrology. Edit.: Ballecà JL y Oliva R. Medimond International Proceedings, 2009.
3. **Brazil C.** Practical semen analysis: from A to Z. *Asian J Androl* 2010, 12, 14-20.
4. **The ESHRE Capri Workshop Group.** Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. *Hum Reprod* 2000, 15, 3: 723-32.
5. **World Health Organization.** WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5ª Ed. Geneva 2010: World Health Organization; 2010
6. **Myers GM, Lambert-Messerlian GM, Sigman M,** Inhibin B reference data for fertile and infertile men in Northeast America, *Fertil Steril* 2009, 92, 6: 1920-3.
7. **Ballecà JL, Balasch J, Calafell JM, Alvarez R, Fábregues F, de Osaba MJ, Ascaso C, Vanrell JA.** Serum inhibinB determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 2000, 15, 8: 1734-8.
8. **George B, Bantwai G.** Endocrine Management of male subfertility. *Indian J Endocrinol metab*, 17, suppl 1 2013, S32-S34.
9. **Alonso C, Cañadas MC, de la Fuente LA, García-Ochoa C, García JM, González V, Marcos M, Oliva R, Orera M.** Recomendaciones para el estudio genético de la pareja con alteraciones en la reproducción. *Rev Int Androl* 2009, 7, 3: 172-9.
10. **Zorrilla M, Yatsenko AN.** The genetics of infertility: Current status of the field. *Curr Genet Med Rep* 2013, 1.
11. **Esteves SC.** A clinical appraisal of the genetic basis in unexplained male infertility. *J Hum Reprod Sci* 2013, 6, 3: 176-82.
12. **Penna Videau S, Araujo J, Ballesta F, Ballecà JL, Vanrell JA.** Chromosomal abnormalities and polymorphisms in infertile men. *Arch Androl* 2001, 46, 3: 205-10.
13. **Krausz C, Gianchi C, Xue Y, O'Bryan MK, Gromoll J, Rajpert-de Meyts E, Oliva R, Aknin-Seifer I, Eredei E, Jorgensen N, Simoni M, Ballecà JL, Levy R, Balercia G, Piomboni P, Nieschlag E, Forti G, McLachlan R, Tyler-Smith C.** Phenotypic variation within European carriers of the Y-chromosomal gr/gr deletion is independent of Y-chromosomal background. *J Med Genet* 2009, 46, 1: 21-31.
14. **Oliva R, Margarit E, Ballecà JL, Carrió A, Sánchez A, Milà M, Jiménez L, Alvarez-Vijande JR, Ballesta F.** Prevalence of Y chromosome microdeletions in oligospermic and azospermic candidates for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998, 70, 3: 506-10.
15. **Suk Choi W, Woong Kim S,** Current issues in varicocele management: a review. *World J Mens Health* 2013, 31,1: 12-20.
16. **Benet J, Codina-Pascual M, Navarro J, Oliver-Bonet M,** Synapsis and recombination in male meiosis. Papers Contributed to the 9th International Congress of Andrology. Edit.: Ballecà JL y Oliva R. Medimond International Proceedings, 2009.
17. **Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA, De Iulius GN.** Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl* 2014, 16, 1: 31-8.
18. **Borini A, Tarozzi N, Bizzarro D, Bonu MA, Fava L, Flamigni C, Coticchio G,** Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Hum Reprod* 2006, 21,11: 2876-81.
19. **Aitken RJ, Baker MA.** The role of proteomics in understanding sperm cell biology. *Int J Androl* 2008, 31: 295-302.
20. **De Mateo S, Castillo J, Estanyol JM, Ballecà JL, Oliva R.** Proteomic characterization of the human sperm nucleus. *Proteomics* 2011, 11, 13: 2714-26.
21. **Martínez-Heredia J, Estanyol JM, Ballecà JL, Oliva R,** Proteomic identification of sperm proteins, *Proteomics* 2006, 6, 15: 4356-69.
22. **Jodar M, Kalko S, Castillo J, Ballecà JL, Oliva R.** Differential RNAs in the sperm cells asthenozoospermic patients. *Hum Reprod* 2012, 27, 5: 1431-8.
23. **Ballecà JL y Oliva R.** Técnicas de reproducción asistida en la esterilidad por factor masculino. Capítulo 43. En tratado de Andrología y Medicina Sexual. N.Cruz (Eds.), pag 376-82: Editorial Panamericana, Buenos Aires 2012.
24. **Zareba P, Colaci DS, Afeiche M, Gaskins AJ, Jorgensen N, Mendiola J, Swan SH, Chavarro JE.** Semen quality in relation to antioxidant intake in a healthy male population. *Fertil Steril* 2013, 100, 6: 1572-9.
25. **Ballecà JL, Oliva R, Espinosa N, Corral JM.** Efecto de la administración de un complejo de antioxidantes en pacientes afectos de astenoteratozoospermia idiopática. *Rev Int Androl* 2012, 10: 51-6.