

DECLÍNIO DA FERTILIDADE MASCULINA NA POPULAÇÃO PORTUGUESA DA REGIÃO CENTRO ENTRE 1994 E 2013

Carolina Araújo Soares¹

¹Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Correspondência:

Carolina Araújo Soares

Mestrado Integrado em Medicina – 6º ano

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Morada: Travessa da Penteadá, nº 18, 1º esquerdo, 9020-105 Funchal

E-mail: carolinasoares1991@hotmail.com

ÍNDICE

ABSTRACT	1
RESUMO	2
INTRODUÇÃO.....	4
MATERIAIS E MÉTODOS	7
Caraterização do estudo.....	7
Análise e classificação das amostras de ejaculado	7
Recolha de dados dos espermogramas	7
Informatização dos dados recolhidos	7
Classificação das amostras em grupos	8
Parâmetros laboratoriais estudados	8
Outros parâmetros estudados.....	11
Análise estatística das variáveis	12
Representações gráficas	12
Apresentação dos resultados	12
RESULTADOS.....	13
Caracterização da Amostra.....	13
Volume médio do ejaculado.....	15
Concentração média de espermatozoides.....	16
Porcentagem de Azoospermia por grupo (%).....	17
Quantidade média de espermatozoides por ejaculado.....	18
Mobilidade dos espermatozoides do ejaculado	19
Morfologia normal dos espermatozoides do ejaculado	21
Concentração de Leucócitos no ejaculado	22
Presença e classificação de aglutinados no ejaculado	22
pH médio do ejaculado.....	23
Características físicas do ejaculado	23
Duração da Abstinência sexual dos participantes	24
DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO	31
APÊNDICE I	32
AGRADECIMENTOS	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1: CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA.....	13
TABELA 2: IDADE MÉDIA DOS INDIVÍDUOS DE CADA GRUPO.....	14
TABELA 3: VOLUME MÉDIO DO EJACULADO.....	15
TABELA 4: CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE ESPERMATOZOIDES	17
TABELA 5: PERCENTAGEM DE AZOOSPERMIA POR GRUPO	17
TABELA 6: QUANTIDADE DE ESPERMATOZOIDES POR GRUPO	18
TABELA 7: PERCENTAGEM DE FORMAS IMÓVEIS	20
TABELA 8: MORFOLOGIA DOS ESPERMATOZOIDES	21
TABELA 9: CONCENTRAÇÃO DE LEUCÓCITOS NO EJACULADO	22
TABELA 10: PERCENTAGEM DE EJACULADOS COM AGLUTINADOS	23

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: IDADE MÉDIA DOS INDIVÍDUOS DE CADA GRUPO	14
GRÁFICO 2: VOLUME MÉDIO DO EJACULADO	15
GRÁFICO 3: CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE ESPERMATOZOIDES NO EJACULADO.....	16
GRÁFICO 4. QUANTIDADE MÉDIA DE ESPERMATOZOIDES NO EJACULADO	19
GRÁFICO 5: PERCENTAGENS DE ESPERMATOZOIDES COM MOBILIDADE TIPO D (IMÓVEIS)	20

DECLÍNIO DA FERTILIDADE MASCULINA NA POPULAÇÃO PORTUGUESA DA REGIÃO CENTRO ENTRE 1994 E 2013

C. Soares¹, A.P. Sousa^{2,3}, T. Almeida-Santos^{1,2*}

¹Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal;

²Serviço de Medicina da Reprodução, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, (CHUC), E.P.E., Coimbra, Portugal;

³Grupo de Biologia da Reprodução e Células Estaminais, Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra

* Em caso de necessidade, contactar a Professora Doutora Teresa Almeida Santos, Serviço de Medicina da Reprodução, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Edifício de São Jerónimo, Piso 2, Praceta Professor Mota Pinto, 3000-075 Coimbra, Portugal; Endereço de correio eletrónico: anateresasantos.tas@gmail.com.

ABSTRACT

Background: For the last decades, the quality of semen has been object of several studies and motivating the discussion, of whether or not there has been a decline of sperm quality parameters among different geographic areas.

Methods: We analyzed semen parameters such as volume, sperm concentration, normal morphology and motility of 3168 samples of seminal fluid from men attending a fertility clinic in the central area of Portugal. Samples were classified in 5 groups according to the date of collection: Group I includes samples collected in 1994, 1995 and 1996; Group II includes samples collected in 1999 and 2000; groups III, IV and V include samples collected in 2005, 2009 and 2013, respectively.

Results: We found no differences of mean sperm concentration between 1994-1996 (Group I) and 2013 (Group V). There was a statistically significant difference of mean sperm volume between the two groups from 3.59 ± 1.9 to 3.31 ± 1.7 milliliters ($p=0.031$). These parameters implied a decrease of mean quantity from $282.2 \pm 316.4 \times 10^6$ (Group I) to $232,3 \pm 246.3 \times 10^6$ (Group V) spermatozoa per ejaculate ($p=0.0105$). The differences in age and duration of sexual abstinence between the two groups were not statistically significant.

Conclusion: Our data show differences in volume of seminal fluid and mean quantity of spermatozoa per ejaculate. These differences are not sufficient evidence to prove deterioration of sperm quality in male population studied in this fertility clinic between 1994 and 2013.

RESUMO

Introdução: Estudos prévios demonstraram um declínio da qualidade espermática em áreas geográficas distintas, motivando discussão científica sobre a existência ou não de declínio destes parâmetros.

Métodos: Foram analisados parâmetros de 3168 amostras de ejaculado como a concentração média de espermatozoides, o volume médio do ejaculado, a quantidade média de espermatozoides por ejaculado, a percentagem de espermatozoides no ejaculado com mobilidade e morfologia normais de homens que recorreram a uma clínica de fertilidade da Região Centro de Portugal. Foram também analisadas a idade média e duração da abstinência sexual à data de realização do exame. As amostras reunidas foram classificadas de acordo com o ano da colheita em 5 grupos. O Grupo I inclui amostras colhidas em 1994, 1995 e 1996; o grupo II inclui amostras colhidas em 1999 e 2000; os grupos III, IV e V compreendem amostras colhidas nos anos 2005, 2009 e 2013, respetivamente.

Resultados: A concentração média de espermatozoides dos grupos I ($82,8 \pm 82,7 \times 10^6/\text{mL}$) e V ($73,4 \pm 68,7 \times 10^6/\text{ml}$) não apresentou diferença estatisticamente significativa. O volume médio do ejaculado no Grupo I ($3,59 \pm 1,9 \text{mL}$) foi significativamente superior ao do Grupo V ($3,31 \pm 1,7 \text{mL}$); ($p=0,031$). A quantidade média de espermatozoides por ejaculado foi de $282,2 \times 10^6 \pm 316,4$ no Grupo I, enquanto a quantidade média de espermatozoides por ejaculado no Grupo V foi de $232,3 \pm 246,3 \times 10^6$ espermatozoides por ejaculado ($p=0,0105$). A idade e a duração da abstinência sexual não apresentaram diferenças.

Conclusão: Foram identificadas alterações significativas do volume do ejaculado e da quantidade média de espermatozoides por ejaculado. Contudo, as alterações verificadas não são suficientes para ser sugerida uma deterioração da qualidade espermática da população masculina estudada nesta clínica de fertilidade entre 1994 e 2013.

PALAVRAS-CHAVE:

Análise/qualidade do esperma; concentração/quantidade de espermatozoides; morfologia dos espermatozoides; mobilidade dos espermatozoides; declínio da fertilidade masculina

INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas, os estudos realizados no âmbito da saúde reprodutiva masculina, com a finalidade de avaliar a qualidade espermática, têm gerado controvérsia na comunidade científica devido aos resultados discordantes obtidos pelos diferentes investigadores.^{1,2}

A meta análise de Carlsen e colaboradores (1992), ao analisar 61 estudos realizados em diferentes regiões geográficas, generalizou o declínio da fertilidade masculina, entre 1938 e 1990.^{1, 3, 4} De facto, grande parte dos estudos retrospectivos posteriores com o intuito de averiguar a existência de alterações da qualidade espermática corroboraram o declínio verificado por Carlsen e colaboradores.^{3, 5-11} Autores como Auger e colaboradores (1995) apresentaram conclusões concordantes com o supra referido estudo, ao apresentarem alterações da qualidade espermática como a diminuição da concentração de espermatozoides no ejaculado e da sua mobilidade numa amostra de 1351 indivíduos saudáveis estudada durante 20 anos, em Paris³. Contudo, Paulsen e colaboradores (1996) contra argumentaram a existência de declínio da fertilidade masculina ao demonstrarem a conservação da qualidade espermática de 510 indivíduos jovens saudáveis em Seattle, durante 21 anos.¹² Já Fisch e colaboradores (1996) evidenciaram uma melhoria da qualidade espermática, que se traduziu pelo aumento da concentração de espermatozoides de 1283 indivíduos, também nos Estados Unidos.¹³ Fisch e Paulsen, e os respetivos colaboradores, reportaram ainda, diferenças nas características dos ejaculados de homens de diferentes regiões, sugerindo uma forte relação com a área geográfica.^{13, 14} Diferentes áreas geográficas estão associadas a diferentes fatores genéticos, estilos de vida e condições ambientais sugerindo uma influência multifatorial na qualidade espermática.^{2, 7} A área geográfica e a deterioração da qualidade espermática

parecem estar relacionadas, sobretudo se houver um aumento da incidência de neoplasias testiculares nessa mesma região.^{1-3, 15}

A qualidade espermática deficiente e a maior incidência de neoplasias testiculares podem estar associadas à presença de malformações congénitas, em especial a hipospádias e a criptorquidia, integrando a Síndrome de Disgenesia Testicular¹⁶. A crescente incidência de patologias que interferem com a reprodução como a Síndrome de Disgenesia Testicular corrobora a hipótese de uma etiologia multifatorial.¹⁶

O estilo de vida, tal como a dieta,^{3, 16, 17} a profissão,^{18, 19} o alcoolismo crónico²⁰ e os hábitos tabágicos marcados (>20 cigarros/dia),^{21, 22} podem interferir com a qualidade espermática.

Por outro lado, atividades antropogénicas condicionam a libertação de compostos⁷ com estrogénios exógenos (como o bisfenol A, o dietilestilbestrol e o etinilestradiol) e anti androgénios [como o (1,1-dicloro-2,2-bis(p-chlorofenil)etileno (DDE) e o 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano (DDT)]¹⁶, que são substâncias capazes de interferir com a qualidade espermática, uma vez que funcionam como disruptores do eixo endócrino e bloqueiam e/ou interferem com a ação das hormonas sexuais circulantes.¹⁷ Poluentes orgânicos persistentes (POPs) como os policlorobifenilos (PCB) podem afetar o volume do ejaculado, a morfologia e a concentração de espermatozoides¹⁷ e aumentar o risco de neoplasia testicular.

Independentemente da etiologia, a deterioração da qualidade espermática afeta a eficácia reprodutiva, o que pode constituir um problema de saúde pública a longo prazo.²³ De facto, a qualidade espermática é um indicador da saúde reprodutiva masculina, que por sua vez influencia a saúde reprodutiva de uma população.⁵

Com o presente estudo, pretende-se efetuar uma análise retrospectiva da qualidade espermática das amostras de ejaculado de indivíduos que recorreram ao Serviço de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra por situações de infertilidade

conjugal entre 1994 e 2013. De acordo com alguns dos estudos supra citados, serão estudados alguns parâmetros do espermograma como o volume médio do ejaculado, a concentração média de espermatozoides, a quantidade média de espermatozoides por ejaculado, a morfologia e mobilidade normal dos espermatozoides, entre outros. A avaliação dos parâmetros laboratoriais dos espermogramas ao longo das duas últimas décadas tem o intuito de averiguar a presença ou ausência de alterações nos parâmetros que nos propomos a estudar. Pretendemos determinar a existência de alterações significativas dos espermogramas que possam ser responsáveis pelo declínio da fertilidade masculina em Portugal.

Por conseguinte, os resultados obtidos poderão alertar para a necessidade de adoção de medidas promotoras de saúde orientadas para a fertilidade masculina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caraterização do estudo

Este é um estudo descritivo, transversal e retrospectivo que consistiu na recolha e interpretação de dados de espermogramas analisados entre 1994 e 2013.

Análise e classificação das amostras de ejaculado

As amostras de ejaculado foram analisadas e classificadas de acordo com a 3ª Edição (1992), 4ª Edição (1999) e 5ª Edição (2010) das normas descritas no manual da Organização Mundial de Saúde (OMS) – “*World Health Organization (WHO) Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*”.

Recolha de dados dos espermogramas

Foram reunidos os dados relativos a 3168 espermogramas analisados no Serviço de Medicina da Reprodução do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) entre Janeiro de 1994 e Dezembro de 2013. A análise laboratorial dos espermogramas avaliados neste estudo decorreu nos anos de 1994, 1995, 1996, 1999, 2000, 2005, 2009 e 2013.

Os espermogramas pertencem a homens que recorreram ao referido serviço por infertilidade conjugal, sendo este o único critério de inclusão.

Informatização dos dados recolhidos

Os documentos com a análise laboratorial dos espermogramas realizados entre 1994 e 2005 encontravam-se em suporte de papel, pelo que foram informatizados e organizados com recurso ao software Microsoft Office Excel 2007.

Classificação das amostras em grupos

As 3168 amostras de ejaculado foram agrupadas em 5 grupos de acordo com o ano em que foi efetuada a colheita, por forma a obter grupos de dimensões semelhantes. Deste modo, o “Grupo I” reúne os espermogramas analisados em 1994, 1995 e 1996. O “Grupo II” integra os espermogramas analisados em 1999 e 2000. O “Grupo III” inclui as amostras analisadas em 2005, o “Grupo IV” integra as amostras analisadas em 2009 e o “Grupo V” reúne as amostras de ejaculado analisadas em 2013.

Parâmetros laboratoriais estudados

Neste estudo, foram avaliados os seguintes parâmetros laboratoriais: volume médio do ejaculado (mL), concentração média de espermatozoides no ejaculado (milhões de espermatozoides/mL), quantidade média de espermatozoides por ejaculado (milhões de espermatozoides/ejaculado), morfologia normal dos espermatozoides (%), mobilidade dos espermatozoides (%), pH do ejaculado, concentração de leucócitos no ejaculado (milhões de leucócitos/mL), aglutinação de espermatozoides no ejaculado. Foram ainda avaliadas as seguintes características físicas do ejaculado: cor, aspeto e viscosidade.

O volume do ejaculado é considerado normal, de acordo com a OMS, quando este é igual ou superior a 1,5mL (2010).²⁴ Classificações mais antigas consideram normal um volume igual ou superior a 2 mL (1992;1999).^{25, 26}

A concentração de espermatozoides é definida pela quantidade de espermatozoides presentes em um mililitro de ejaculado (10^6 /mL).²⁴ A ausência total de espermatozoides no ejaculado denomina-se azoospermia.²⁴ Foi calculada a percentagem de casos de azoospermia em cada um dos grupos estudados. De acordo com a OMS (1992;1999), a concentração de espermatozoides do ejaculado era considerada normal quando igual ou superior a 20×10^6 /mL.^{25, 26} Desde 2010, a concentração de espermatozoides mínima no ejaculado para

cumprir o critério de normalidade preconizado pela OMS deve ser igual ou superior a $15 \times 10^6/\text{mL}$.²⁴ A oligozoospermia designa uma concentração de espermatozoides no ejaculado inferior à dos valores de referência da OMS.²⁴

A quantidade média de espermatozoides (milhões de espermatozoides/ejaculado) corresponde ao número total espermatozoides por ejaculado.²⁴ Foi calculada através do produto da concentração média de espermatozoides e do volume médio do ejaculado. Os critérios da normalidade da OMS são apresentados em anexo.

A morfologia dos espermatozoides do ejaculado é definida pela percentagem de espermatozoides de morfologia normal presentes no ejaculado.²⁴ A percentagem de espermatozoides considerada como morfologia normal usada neste estudo dependeu do ano da colheita do ejaculado já que os critérios morfológicos da OMS (1992) foram aplicados aos espermogramas de 1994 a 1999, sendo normal uma percentagem de espermatozoides normais superior ou igual a 30%;²⁶ os critérios morfológicos da OMS (1999) foram aplicados aos espermogramas de 2000, 2005 e 2009, sendo normal uma percentagem de espermatozoides normais superior ou igual a 15%;²⁵ por fim, segundo os critérios morfológicos da OMS (2010) que foram aplicados aos espermogramas de 2013, a percentagem de espermatozoides com morfologia considerada normal no ejaculado deverá ser superior ou igual a 4%.²⁴ Os critérios morfológicos da OMS foram reformulados em 1999, de modo a considerarem os critérios estritos de Kruger na classificação morfológica do ejaculado,²⁷ que consideravam uma normal uma percentagem de espermatozoides com morfologia normal se esta fosse superior ou igual a 15% (1999)^{25, 27} e posteriormente superior ou igual a 4% (2010).^{24, 27} Percentagens de espermatozoides normais inferiores às preconizadas nos critérios da OMS traduzem teratozoospermia.²⁴ No presente estudo, a morfologia de cada ejaculado foi considerada

normal ou anormal de acordo com os critérios da OMS em vigor na data de realização do exame.

A mobilidade dos espermatozoides (%) foi classificada em mobilidade progressiva rápida (Grau A), mobilidade progressiva lenta (Grau B), mobilidade *in situ* (Grau C) e imobilidade (Grau D). A mobilidade progressiva total resulta do somatório das mobilidades A e B. A mobilidade não progressiva corresponde à mobilidade de Grau C.²⁴⁻²⁶ De acordo com os critérios mais antigos da OMS (1992;1999), a mobilidade progressiva total dos espermatozoides do ejaculado (%) deveria ser igual ou superior a 50% (Grau A+B) e a mobilidade progressiva rápida deveria ser igual ou superior a 25% (Grau A).^{25, 26} Desde 2010, a mobilidade total dos espermatozoides do ejaculado (%) deve ser igual ou superior a 40% (Grau A+B+C) e a mobilidade progressiva deve ser igual ou superior a 32% (Grau A+B).²⁴ A mobilidade dos espermatozoides de uma amostra de ejaculado inferior à dos critérios de normalidade denomina-se astenozoospermia.²⁴

O pH médio do ejaculado é considerado normal, de acordo com os critérios da OMS (1992;1999;2010), quando é igual ou superior a 7,2.²⁴⁻²⁶ Em 1992, a OMS preconizava que 8 como o limite superior da normalidade do pH do ejaculado,²⁶ o que não se verificou nos critérios da OMS mais recentes (1999;2010).^{24, 25}

A concentração de leucócitos (milhões/mL) é definida pela quantidade de leucócitos num mililitro (mL) de ejaculado.²⁴ De acordo com a OMS (1992;1999;2010), o ejaculado tem uma concentração de leucócitos normal quando esta é inferior a um milhão de leucócitos por mL.²⁴⁻²⁶ Deste modo, o valor da concentração de leucócitos de cada ejaculado foi classificado em inferior a um milhão por mL ($<1 \times 10^6/\text{mL}$) ou em superior ou igual a um milhão por mL ($\geq 1 \times 10^6/\text{mL}$).

A aglutinação de espermatozoides no ejaculado consiste na agregação específica de espermatozoides móveis pela cabeça, cauda ou ambas.²⁴ Segundo a OMS (2010), a aglutinação de espermatozoides não garante uma causa imunológica de infertilidade. No entanto, é sugestiva da presença de anticorpos anti espermatozoides.²⁴ Quando presentes no ejaculado, os aglutinados foram classificados em raros ou frequentes.

O ejaculado apresenta-se sob a forma de um líquido homogêneo cinza opalescente.²⁴ O aspeto do ejaculado foi classificado em translúcido, normal e opaco. A cor do ejaculado foi classificada em clara, amarela, branca, normal e avermelhada. A cor pode estar alterada em determinadas situações, como icterícia ou hematospermia,²⁴ sendo esta última definida pela presença de sangue no ejaculado. A viscosidade do ejaculado foi classificada: em diminuída, normal e elevada.

Outros parâmetros estudados

Foram ainda estudados os seguintes parâmetros: idade média (anos) dos indivíduos de cada grupo e duração média de abstinência sexual (dias).

A idade média dos indivíduos de cada grupo corresponde à idade média em anos dos indivíduos de cada grupo à data de realização do exame.

A duração média da abstinência sexual corresponde ao número de dias sem estimulação sexual até à data da realização do exame. Os homens que frequentaram o Serviço de Medicina da Reprodução dos CHUC foram aconselhados a manterem uma abstinência sexual durante 3 a 5 dias.

Análise estatística das variáveis

Os parâmetros avaliados neste estudo foram classificados em numéricos e nominais, de acordo com natureza das variáveis.

Os dados foram analisados com o software SPSS® (Statistical Package for the Social Science) versão 20.0. Todas as variáveis foram submetidas ao teste Kolmogorov-Smirnoff de modo apurar a normalidade da distribuição da amostra. Foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis às variáveis numéricas não paramétricas. Às variáveis nominais, foram efetuados Crosstabs com o teste Chi².

Representações gráficas

Nas representações gráficas, foram utilizados o software Graphpad Prism6® para os gráficos e o Microsoft Office Word para as tabelas.

Apresentação dos resultados

Os resultados foram apresentados sob a forma de média±DP (desvio-padrão). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Caracterização da Amostra

A amostra é constituída por 3168 espermogramas com data de colheita entre Janeiro de 1994 e Dezembro de 2013. Os espermogramas foram agrupados em 5 grupos de acordo com a data da análise: o Grupo I (n=698), o Grupo II (n=485), o Grupo III (n= 709), o Grupo IV (n= 650) e o Grupo V (n=626);(Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização da Amostra

Grupos	Anos/Grupo	Espermogramas /Ano	Total de espermogramas/ grupo
Grupo I	1994	226	698
	1995	243	
	1996	229	
Grupo II	1999	291	485
	2000	194	
Grupo III	2005	709	709
Grupo IV	2009	650	650
Grupo V	2013	626	626
		Total	3168

Foram calculadas as idades médias de realização dos espermogramas, dentro de cada grupo (Tabela.2). A idade média de realização de espermograma no Grupo I foi de $33,6 \pm 5,3$ anos (16-67 anos). No Grupo V, a idade média de realização de espermograma foi de $33,8 \pm 4,4$ anos (21-45 anos). A diferença da idade média dos grupos I e V não é estatisticamente significativa ($p=0,904$);(Gráfico 1).

Tabela 2. Idade média dos indivíduos de cada grupo à data de realização do exame

Grupos	Idade média±DP (anos)	Mínimo	Máximo
Grupo I	33,6±5,3	16	67
Grupo II	33,5±4,4	21	59
Grupo III	33,4±5,4	17	54
Grupo IV	34,4±5,6	15	57
Grupo V	33,8±4,4	21	45

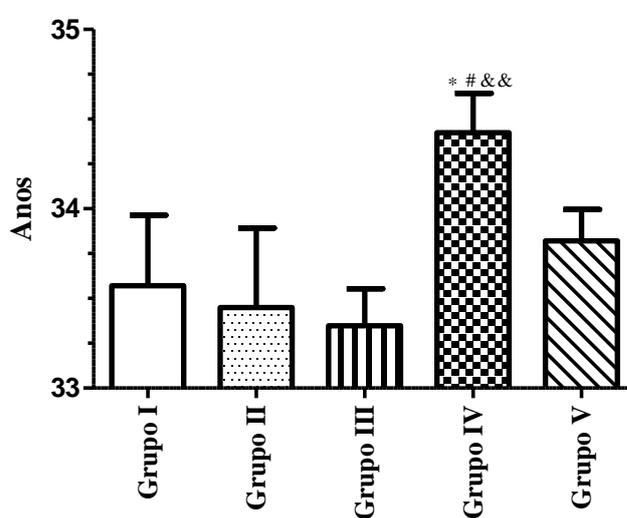


Gráfico 1 – Idade média dos indivíduos de cada grupo à data de realização do exame

O gráfico representa a idade média dos indivíduos de cada grupo à data de realização do exame. A idade média entre dos indivíduos dos grupos I e V não apresenta diferenças estatisticamente significativas ($p=0,904$). No Grupo IV, a idade média apresentou diferenças estatisticamente significativas com os grupos I, II e III (* $p<0,05$ quando comparamos o Grupo I com o Grupo IV; # $p<0,05$ quando comparamos o Grupo II com o Grupo IV; && $p<0,01$ quando comparamos o Grupo III com o Grupo IV).

Volume médio do ejaculado

O volume médio do ejaculado no Grupo I foi de $3,59 \pm 1,9$ mL e foi superior ao volume médio dos restantes grupos. O Grupo V apresentou um volume médio do ejaculado inferior ao do Grupo I, que foi de $3,31 \pm 1,7$ mL (**Tabela 3**). A diferença observada entre o volume médio do ejaculado dos grupos I e V é estatisticamente significativa ($p=0,031$). Os indivíduos com azoospermia foram excluídos da análise estatística (**Gráfico 2**).

Tabela 3. Volume médio do ejaculado

Grupos	Volume médio do ejaculado (mL) \pm DP
Grupo I	$3,59 \pm 1,9$
Grupo II	$3,30 \pm 1,6$
Grupo III	$3,29 \pm 1,7$
Grupo IV	$3,28 \pm 1,8$
Grupo V	$3,31 \pm 1,7$

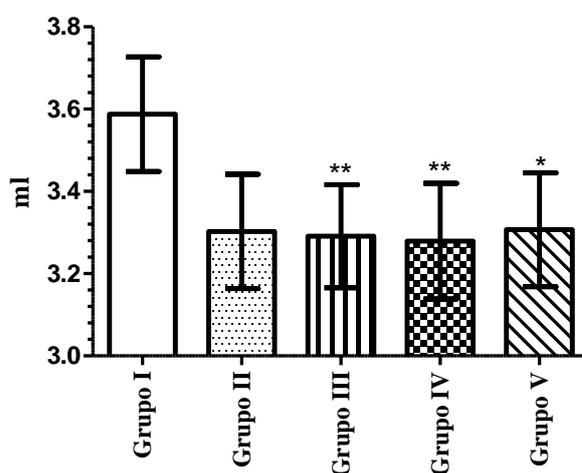


Gráfico 2 – Volume médio do ejaculado

O gráfico representa o volume médio do ejaculado dos diferentes grupos. O volume médio do ejaculado do Grupo I é superior ao dos restantes grupos (* $p < 0,05$ quando comparamos o Grupo I com o Grupo V; ** $p < 0,01$ quando comparamos o Grupo I com os grupos III e IV).

Concentração média de espermatozoides

O Grupo I foi o grupo que apresentou a concentração média de espermatozoides mais elevada, com $82,8 \pm 82,7 \times 10^6$ espermatozoides por mililitro (mL). O Grupo V apresentou uma concentração média de $73,4 \pm 68,7 \times 10^6$ espermatozoides por mL (**Tabela 4**). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre a concentração média dos grupos I e V ($p=0,2735$); (**Gráfico 3**). Os casos de azoospermia foram excluídos da análise estatística.

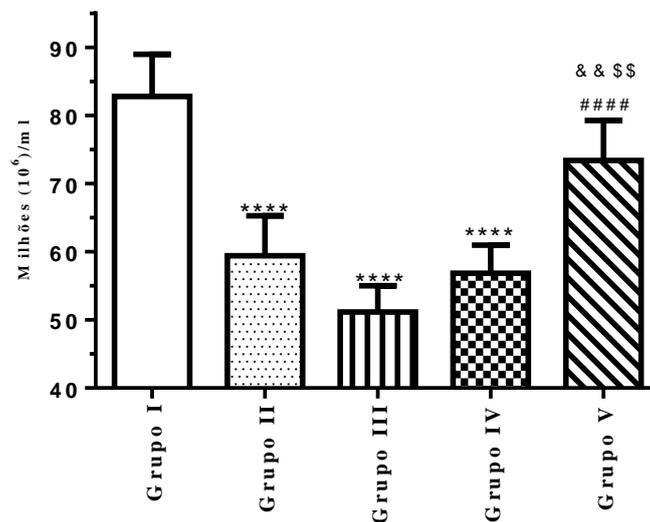


Gráfico 3 – Concentração média de espermatozoides (casos de azoospermia excluídos)

O gráfico representa a concentração média de espermatozoides por mL de ejaculado. O Grupo I foi o grupo que apresentou o valor de concentração média de espermatozoides mais elevado com $82,8 \pm 82,7 \times 10^6$ /mL, enquanto o Grupo III foi o grupo que apresentou o valor da concentração média de espermatozoides mais baixo, com $51,2 \pm 48,6 \times 10^6$ /mL. (**** $p < 0,0001$ quando comparamos o Grupo I com os grupos II, III e IV; #### $p < 0,0001$ quando comparamos o Grupo III com o Grupos V; \$\$ $p < 0,01$ quando comparamos o Grupo IV com o Grupo V).

Tabela 4. Concentração média de espermatozoides

Grupos	Concentração média de espermatozoide \pmDP por grupo (milhões/ml)
Grupo I	82,8 \pm 82,7
Grupo II	59,4 \pm 63,3
Grupo III	51,2 \pm 48,6
Grupo IV	56,8 \pm 51,3
Grupo V	73,4 \pm 68,7

Percentagem de Azoospermia por grupo (%)

Azoospermia é definida pela ausência total de espermatozoides no ejaculado.²⁴ No Grupo I, apenas 1% dos indivíduos apresentaram azoospermia. O Grupo V é o grupo com maior número de indivíduos com azoospermia, que correspondiam a 15,5% do total desse grupo (**Tabela 5**).

Tabela 5. Percentagem de Azoospermia por grupo

Grupos	Azoospermia/grupo (%)
Grupo I	1,0%
Grupo II	8,2%
Grupo III	14,5%
Grupo IV	8,0%
Grupo V	15,5%

Quantidade média de espermatozoides por ejaculado

A quantidade média de espermatozoides corresponde ao número total de espermatozoides por ejaculado e resulta do produto do volume médio do ejaculado e da concentração média de espermatozoides.²⁴

A quantidade média de espermatozoides (**Tabela 6.**) foi superior no Grupo I, com $282,2 \pm 316,4 \times 10^6$ de espermatozoides por ejaculado. O Grupo V apresentou uma quantidade média de espermatozoides inferior à do Grupo I, com $232,3 \pm 246,3 \times 10^6$ espermatozoides por ejaculado ($p=0,0105$); (**Gráfico 4**). Foram excluídos os casos de azoospermia da análise estatística

Tabela 6 – Quantidade média de espermatozoides por grupo

Grupos	Quantidade média de espermatozoides \pm DP por ejaculado (milhões/ejaculado)
Grupo I	282,2 \pm 316,4
Grupo II	190,8 \pm 211,4
Grupo III	172,5 \pm 196,2
Grupo IV	183,5 \pm 211,8
Grupo V	232 \pm 246,3

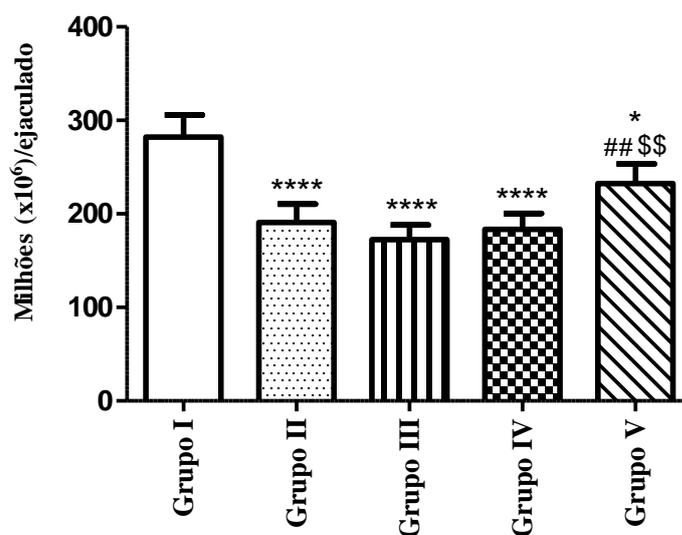


Gráfico 4 – Quantidade média de espermatozoides do ejaculado (casos de azoospermia excluídos)

O gráfico representa a quantidade média de espermatozoides por ejaculado. Foram excluídos os casos de azoospermia. O Grupo I é o grupo com maior quantidade média de espermatozoides por ejaculado com $282,2 \pm 316,4 \times 10^6$ espermatozoides por ejaculado. O Grupo V apresenta uma quantidade média de espermatozoides por ejaculado inferior à do Grupo I ($p=0,0105$). Foram ainda registadas diferenças estatisticamente significativas entre os restantes grupos (* $p<0,05$ quando comparamos o Grupo I com o Grupo V; **** $p<0,0001$ quando comparamos os grupos II,III e IV com o Grupo I; ## $p<0,01$ quando comparamos o Grupo III com o Grupo V; \$\$ $p<0,01$ quando comparamos o Grupo IV com o Grupo V).

Mobilidade dos espermatozoides do ejaculado

No presente estudo, foi apresentada a percentagem de espermatozoides imóveis (mobilidade de Grau D) por grupo. O Grupo I apresenta uma percentagem média de $51,9 \pm 16,7\%$ espermatozoides imóveis no ejaculado, enquanto o Grupo V apresenta uma percentagem média de espermatozoides imóveis de $35,8 \pm 32,3\%$ (**Tabela 7**). A diferença entre as percentagens de espermatozoides imóveis no ejaculado dos grupos I e V foi considerada estatisticamente significativa ($p<0,0001$); (**Gráfico 5**).

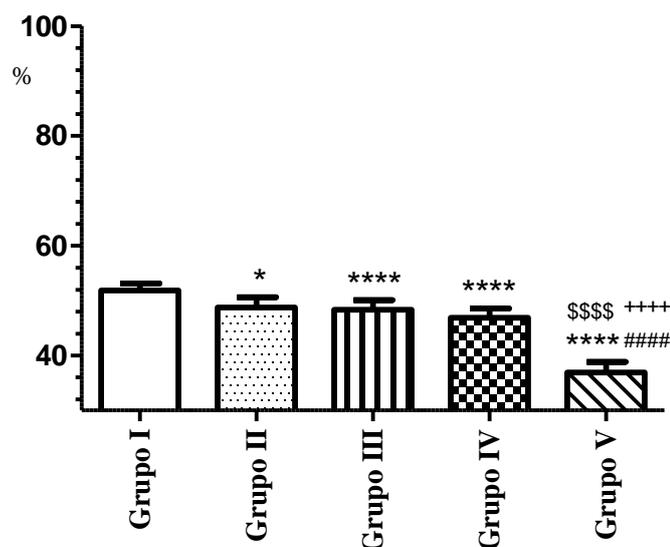


Gráfico 5 – Percentagens de espermatozoides com Mobilidade tipo D (imóveis)

O gráfico representa a percentagem média de espermatozoides imóveis por grupo. O Grupo I apresenta uma maior percentagem de espermatozoides imóveis no ejaculado, com $51,9 \pm 16,7\%$ espermatozoides imóveis. O Grupo V é o grupo com menor percentagem de espermatozoides imóveis. (* $p < 0,05$ quando comparamos o Grupo II com o Grupo I; **** $p < 0,0001$ quando comparamos os grupos III, IV e V com o Grupo I; ##### $p < 0,0001$ quando comparamos o Grupo II com o Grupo V; \$\$\$ $p < 0,0001$ quando comparamos o Grupo III com o Grupo V; ++++ $p < 0,0001$ quando comparamos o Grupo IV com o Grupo V).

Tabela 7. Percentagem de espermatozoides com Mobilidade tipo D (imóveis)

Grupos	Percentagem média \pm DP de formas de espermatozoides imóveis (%)
Grupo I	51,9 \pm 16,7
Grupo II	48,8 \pm 20,4
Grupo III	48,3 \pm 21,9
Grupo IV	46,9 \pm 21,4
Grupo V	36,9 \pm 22,3

Morfologia normal dos espermatozoides do ejaculado

A morfologia de cada ejaculado foi considerada normal ou anormal de acordo com os critérios da OMS (1992,1999,2010) em vigor na data de realização do exame.²⁴⁻²⁶ A morfologia normal foi apresentada através da percentagem de indivíduos com espermogramas com morfologia normal dentro de cada grupo.

No Grupo I, 86,4% dos indivíduos tinham um ejaculado com espermatozoides de morfologia anormal de acordo com os critérios de normalidade da OMS (presentes em anexo). O Grupo V apresenta uma percentagem inferior de indivíduos com morfologia anormal do ejaculado (60,3%), comparativamente à do Grupo I. A percentagem de indivíduos com morfologia normal do ejaculado do Grupo V foi superior à do Grupo I (39,7%);(Tabela 8). A diferença entre os grupos I e V, relativamente à percentagem de indivíduos com morfologia normal dos espermatozoides do ejaculado é estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabela 8. Percentagem de indivíduos com morfologia normal (%)

Morfologia	Grupo				
	I	II	III	IV	V
Formas normais (% de indivíduos por grupo)	13,6%	6,3%	41,7%	70,0%	39,7%
Formas anormais (% de indivíduos por grupo)	86,4%	93,7%	58,3%	30,0%	60,3%

Concentração de Leucócitos no ejaculado

De acordo com os critérios da OMS (1992;1999;2010), o valor da concentração de leucócitos de cada ejaculado foi classificado como sendo inferior a um milhão por mL ($<1 \times 10^6/\text{mL}$) ou superior ou igual a um milhão por mL ($\geq 1 \times 10^6/\text{mL}$).²⁴⁻²⁶

Cerca de 73,1% dos espermogramas do Grupo I apresentaram uma concentração de leucócitos no ejaculado inferior a $1 \times 10^6/\text{mL}$. Os restantes 26,9% dos espermogramas do Grupo I apresentaram uma concentração de leucócitos no ejaculado igual ou superior a $1 \times 10^6/\text{mL}$. No Grupo V, cerca de 72,5% dos espermogramas apresentaram uma concentração de leucócitos no ejaculado inferior a $1 \times 10^6/\text{mL}$ (**Tabela 9**). Não há diferenças na concentração de leucócitos no ejaculado entre estes dois grupos ($p \geq 0,05$).

Tabela 9. Concentração de leucócitos no ejaculado (milhões/mL)

	Grupo				
Leucócitos ($10^6/\text{mL}$)	I	II	III	IV	V
$<1 \times 10^6/\text{mL}$ (% de indivíduos por grupo)	73,1%	88,0%	85,2%	65,7%	72,5%
$\geq 1 \times 10^6/\text{mL}$ (% de indivíduos por grupo)	26,9%	12,0%	14,8%	34,3%	27,5%

Presença e classificação de aglutinados no ejaculado

A aglutinação de espermatozoides no ejaculado consiste na agregação específica de espermatozoides móveis pela cabeça, cauda ou ambas.²⁴ Quando presentes no ejaculado, estes foram classificados em raros ou frequentes. Não se valorizou o local de agregação dos espermatozoides neste trabalho.

A avaliação da presença de aglutinados no ejaculado demonstrou ausência destes em 93,4% dos espermogramas do Grupo I. No Grupo V, cerca de 84,5% dos espermogramas estavam isentos de aglutinados no ejaculado. Não há diferenças nas percentagens de espermogramas sem aglutinados, entre os grupos I e V ($p \geq 0,05$); (**Tabela 10**).

Quando presentes no ejaculado, os aglutinados foram classificados em raros ou frequentes. Dos 10-25% espermogramas com aglutinados, todos eram raros, exceto no Grupo III, que apresentava uma maior percentagem de aglutinados frequentes.

Tabela 10. Percentagem de ejaculados com aglutinados presentes (%)

GRUPO					
Aglutinados (%)	I	II	III	IV	V
Ausentes	93,4%	16,7%	88,4%	77,7%	84,5%
Presentes	6,6%	83,3%	11,6%	22,3%	15,5%

pH médio do ejaculado

O pH médio dos ejaculados do Grupo I foi de $8,2 \pm 0,2$ enquanto o pH médio dos espermogramas do Grupo V foi de $8,4 \pm 0,5$. A diferença entre os grupos I e V é estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

Características físicas do ejaculado

Cor: A cor da amostra de esperma não foi registada no Grupo I. No Grupo V, 78% das amostras de esperma eram de cor normal, 8,4% de cor amarela, 7% de cor branca, 6,5% de cor clara e 0,2% de cor avermelhada.

Viscosidade: Cerca de 92,7% dos espermogramas do Grupo I apresentavam uma viscosidade normal, enquanto os restantes 7,3% apresentavam uma viscosidade elevada. No Grupo V, cerca de 78,2% dos espermogramas apresentavam uma viscosidade normal, enquanto 14% apresentava uma viscosidade elevada. Não foram encontradas diferenças na viscosidade dos espermogramas dos grupos I e V ($p \geq 0,05$).

Aspeto: O aspeto do ejaculado começou a ser analisado a partir do Grupo III, pelo que não existem dados deste parâmetro para os grupos I e II. Do Grupo III, 91,6% dos espermogramas apresentavam um aspeto normal, enquanto 8,4% dos espermogramas apresentavam um aspeto translúcido. No Grupo V, 70,8% dos espermogramas apresentavam um aspeto normal, enquanto 25,8% dos espermogramas apresentavam um aspeto translúcido. Ainda no Grupo V, cerca de 3,2% dos espermogramas apresentavam um aspeto opaco. Não foram encontradas diferenças no aspeto dos espermogramas dos grupos I e V ($p \geq 0,05$).

Duração da Abstinência sexual dos participantes:

Os participantes foram aconselhados a manter 3 a 5 dias de abstinência sexual antes da realização do exame, de acordo com o preconizado pela OMS.²⁴⁻²⁶ Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o Grupo I os restantes grupos, principalmente com o Grupo V ($p=1,000$).

DISCUSSÃO

A qualidade espermática pode ser considerada um indicador da saúde reprodutiva masculina, pelo que o estudo laboratorial dos espermogramas de uma amostra representativa da população masculina de determinada região permite especular sobre a saúde reprodutiva dessa mesma população em estudo, e a sua possível influência na perpetuação de gerações futuras.⁵

Os diversos estudos que têm sido realizados ao longo dos anos têm apresentado resultados discordantes entre si, na medida em que alguns autores demonstraram a existência de uma deterioração da qualidade espermática nalgumas populações^{3, 4, 7, 8, 10}, enquanto outros demonstraram a conservação ou mesmo a melhoria da qualidade espermática ao longo dos anos.^{12, 13} Até à atualidade, a qualidade espermática da população masculina portuguesa era desconhecida. A interpretação da análise laboratorial de 3168 espermogramas colhidos e analisados no Serviço de Medicina da Reprodução dos CHUC, entre Janeiro de 1994 e Dezembro de 2013, permitiu aferir acerca da qualidade espermática dos homens da Região Centro de Portugal que recorreram ao referido serviço em contexto de infertilidade conjugal. Os espermogramas analisados foram agrupados em 5 grupos de acordo com a data da análise: Grupo I (n=698), Grupo II (n=485), Grupo III (n= 709), Grupo IV (n= 650) e Grupo V (n=626). Antes da colheita, os indivíduos foram aconselhados a cumprir um período de abstinência sexual de 3 a 5 dias, de acordo com as recomendações da OMS (1992;1999;2010),²⁴⁻²⁶ o que se verificou na generalidade dos grupos uma vez que não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p=1,000$). Uma duração da abstinência sexual inferior ao período de tempo preconizado pode estar associada à redução do volume do ejaculado^{28, 29}

Os indivíduos que efetuaram a colheita entre 1994 e 1996 (Grupo I) tinham uma idade média de $33,6 \pm 5,3$ anos à data de realização do exame. Em 2013, os indivíduos apresentavam uma idade média de $33,8 \pm 4,4$ anos à data de colheita do ejaculado. Não existem diferenças relativamente à idade média dos indivíduos do Grupo I e do Grupo V ($p=0,904$). Estes resultados estão de acordo com Andolz e colaboradores (1999), que também não registaram diferenças na idade de 22 759 homens cujo ejaculado foi analisado, entre 1960 e 1996¹. Contudo, estes resultados não são concordantes com Auger e colaboradores (1995), que verificaram um aumento estatisticamente significativo da idade dos indivíduos, de 32 anos em 1973 para 36 anos em 1992, em Paris ($p<0,001$).³ De facto, Fisch e colaboradores, que estudaram a qualidade espermática de 1 283 homens durante 25 anos nos Estados Unidos, constataram que o aumento da idade estava associado à diminuição da mobilidade dos espermatozoides e do volume do ejaculado ($p<0,001$).¹³ Como tal, a idade do homem à data do exame é um dado relevante, uma vez que o seu aumento está relacionado com o declínio da fertilidade masculina.³⁰

Relativamente aos resultados do volume médio do ejaculado, foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos I e V, dado que o volume médio do ejaculado em 1994-1996 ($3,59 \pm 1,9\text{mL}$) foi significativamente superior ao volume médio do ejaculado registado em 2013 ($3,31 \pm 1,7\text{mL}$); ($p=0,031$). Estes dados estão de acordo com Andolz e colaboradores (1999), que demonstraram um declínio significativo do volume do ejaculado de 22 759 homens no nordeste de Espanha ($p<0,001$).¹ Também Carlsen e colaboradores (1992) demonstraram um declínio significativo do volume do ejaculado de 3,4mL para 2,75mL ($p=0,027$).⁴ Autores como Auger e colaboradores (1995) não registaram diminuições significativas do volume dos ejaculados analisados.³

Entre os vários estudos que demonstraram a existência de um declínio da qualidade espermática, a concentração de espermatozoides do ejaculado foi um dos parâmetros mais

afetados.^{3, 4, 6-10} Recentemente, Sripada e colaboradores (2007) demonstraram o declínio significativo da concentração média de espermatozoides do ejaculado de uma população escocesa entre 1994 e 2005,¹⁰ corroborando os resultados apresentados por Irvine e colaboradores (1994), que analisaram num estudo de coorte o ejaculado de 577 homens, também na Escócia.⁸ Outros autores como Auger e colaboradores (1995) demonstraram, também, diminuição da concentração de espermatozoides no ejaculado de uma população masculina parisiense, $89 \times 10^6/\text{mL}$ para $60 \times 10^6/\text{mL}$, durante 20 anos.³ Em contrapartida, e de acordo com os resultados obtidos neste estudo, Berling e Wölne-Hanssen (1997) não observaram a deterioração da qualidade espermática, de uma população masculina no sudeste da Suécia.³¹ Por outro lado, constataram um aumento da concentração de espermatozoides, o que não se verificou neste estudo. No presente estudo, verificou-se que havia uma concentração média de espermatozoides no ejaculado de $82,8 \pm 82,7 \times 10^6/\text{mL}$ em 2013 (Grupo V) e de $73,4 \pm 68,7 \times 10^6/\text{ml}$ em 1994-1996 (Grupo I), sem significância estatística ($p=0,2735$). Também Andolz e colaboradores (1999) demonstraram a inexistência de deterioração da concentração de espermatozoides no ejaculado na população espanhola, referindo ainda um aumento dessa mesma concentração de espermatozoides.¹ Fisch e colaboradores também demonstraram que não havia declínio da qualidade espermática na população estudada.¹³ Ainda, Paulsen e colaboradores (1996) argumentaram o declínio da qualidade espermática ao evidenciarem um aumento da concentração de espermatozoides nos espermogramas de uma população masculina nos Estados Unidos.¹² Tanto Paulsen e colaboradores (1996), como Fisch e colaboradores (1996;1999) vincaram a importância da área geográfica como condicionante da qualidade espermática, ao encontrarem diferenças da concentração de espermatozoides no mesmo país, em diferentes cidades.^{2, 12-14}

Na determinação da concentração de espermatozoides, não foram contabilizados os casos de azoospermia com o intuito de diminuir o viés. Feki e colaboradores (2009) excluíram

amostras oligozoospermicas, cuja concentração de espermatozoides era inferior a $20 \times 10^6/\text{mL}$, de modo a diminuir o viés.^{10, 11} Neste estudo, verificou-se apenas 1% de casos de azoospermia nos indivíduos do Grupo I, em 1994-1996. Contudo, em 2013 foram contabilizados mais casos de azoospermia relativamente ao Grupo I (15,5% de casos de azoospermia nos indivíduos do Grupo V).

A quantidade média de espermatozoides por ejaculado foi significativamente superior no Grupo I, quando comparamos com a quantidade média de espermatozoides por ejaculado do Grupo V ($p=0,0105$). A quantidade média de espermatozoides não é um parâmetro habitualmente referido em estudos de deterioração da qualidade espermática. Contudo, Irvine e colaboradores (1994) registaram uma diminuição da quantidade média de espermatozoides por ejaculado na população estudada.⁸

Relativamente à morfologia normal dos espermatozoides do ejaculado, esta foi representada pela percentagem de indivíduos cujos espermogramas apresentavam uma morfologia normal, dentro de cada grupo, de acordo com a data da colheita (OMS 1992,1999,2010). O Grupo V apresentou uma percentagem de indivíduos com valor de morfologia normal (39,7%) superior à do Grupo I (13,6%);($p<0,05$). Estes dados são concordantes com Berling e Wölne-Hanssen (1997) que detetaram um aumento da percentagem de espermatozoides com morfologia e mobilidade normais.³¹ Também Paulsen e colaboradores (1996) descreveram o aumento da percentagem de espermatozoides com morfologia normal e de espermatozoides móveis no ejaculado de 510 homens saudáveis em Seattle, estudados entre 1972 e 1993.¹² De acordo com os últimos dois autores referidos anteriormente, no presente estudo também se verificou uma percentagem de espermatozoides móveis em 2013 superior à do grupo I em 1994-1996 ($p<0,0001$). Por outro lado, Andolz e colaboradores (1999) detetaram uma diminuição da percentagem de espermatozoides com morfologia normal por ejaculado, apesar do aumento da percentagem de espermatozoides

móveis.¹ Também Vicari e colaboradores (1992), detetaram uma diminuição da percentagem de espermatozoides com morfologia e mobilidades normais, associado ao decréscimo da concentração de espermatozoides numa população masculina proveniente de Itália.⁵ Em Paris, Auger e colaboradores (1995) concluíram acerca da diminuição da percentagem de espermatozoides com morfologia e mobilidade normais.³

Relativamente a outros parâmetros do espermograma, como a concentração de leucócitos por ejaculado e a presença de aglutinados no ejaculado dos indivíduos dos grupos I e V, não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$). Atualmente, a literatura é escassa quanto à relação da deterioração da qualidade espermática com alterações de outros parâmetros avaliados no espermograma, como a concentração de leucócitos, a presença de aglutinados e o pH do ejaculado. Feki e colaboradores (2009) apresentaram resultados discordantes com o presente estudo ao demonstrarem um aumento significativo da concentração de leucócitos no ejaculado de 2 940 homens do Sul da Tunísia.¹¹ Sabe-se que a concentração de leucócitos no ejaculado está frequentemente associada a um quadro infeccioso em curso.²⁴ Alguns autores relataram ainda que, o consumo de tabaco pode estar associado ao aumento da concentração de leucócitos no ejaculado³².

O pH médio dos ejaculados do Grupo I ($8,2 \pm 0,23$) foi inferior ao do Grupo V ($8,4 \pm 0,5$); ($p < 0,0001$).

As características físicas do ejaculado podem traduzir uma situação patológica.²⁴ A cor pode estar alterada em situações de hematospermia ou de icterícia, assim como alterações do aspeto podem refletir indiretamente a concentração de espermatozoides.²⁴ Um ejaculado menos opaco pode estar relacionado com uma concentração de espermatozoides baixa. Não foram identificadas diferenças entre os parâmetros físicos dos espermogramas dos grupos I e V ($p \geq 0,05$).

Este estudo apresentou algumas limitações, designadamente: o único critério de inclusão do estudo foi o recurso ao Serviço de Medicina da Reprodução dos CHUC em contexto de infertilidade conjugal; verificou-se a ausência dos dados da “Mobilidade de Grau A”, “Mobilidade de Grau B” e “Mobilidade de Grau C” nos grupos I e II, uma vez que estes apenas começaram a ser avaliados a partir de 2005 (Grupo III); as três edições do manual da OMS (1992;1999;2010) em vigor na data da colheita do espermograma apresentam diferentes critérios de normalidade para a morfologia.²⁴⁻²⁶ De acordo com estes critérios, para que a morfologia de um espermograma fosse considerada normal, a percentagem de espermatozoides com morfologia normal deveria ser superior ou igual a 30% (1992).²⁶ Desde 1999, os critérios morfológicos da OMS consideraram os critérios estritos de Kruger para classificar a morfologia dos espermatozoides do ejaculado,²⁷ que seria normal quando a percentagem de espermatozoides com morfologia normal fosse superior ou igual a 15% (1999)^{25, 27} e posteriormente superior ou igual a 4% (2010).^{24, 27}

Deste modo, a análise dos 3168 espermogramas no Serviço de Medicina da Reprodução dos CHUC demonstrou que a idade média e a duração da abstinência sexual entre os grupos I e V não são diferentes. A concentração média de espermatozoides do ejaculado também não apresentou diferenças entre os grupos I e V. Por outro lado, em 1994-1996 registou-se um volume médio do ejaculado e uma quantidade média de espermatozoides por ejaculado superiores relativamente a 2013. Observou-se uma maior percentagem de espermatozoides com mobilidade normal, bem como do número de indivíduos com espermograma de morfologia normal no Grupo V. O pH médio do ejaculado também apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos I e V. Não se verificaram diferenças na presença de aglutinados e na concentração de leucócitos do ejaculado, entre grupos I e V.

CONCLUSÃO

As alterações observadas na análise de 3168 amostras de ejaculado, à exceção do volume médio do ejaculado e da quantidade média de espermatozoides por ejaculado, não são suficientes para ser sugerida uma deterioração da qualidade espermática nos últimos 20 anos.

Apesar do elevado número de artigos publicados, a atribuição de determinada etiologia às alterações observadas na qualidade espermática poderá ser dificultada pela diversidade de fatores condicionantes das mesmas, presentes no ambiente natural da população estudada.

Os resultados obtidos no âmbito deste estudo poderão ser validados através da ampliação da amostra analisada, sendo também útil para fomentar a realização de futuros estudos retrospectivos ou observacionais, entre outros, da qualidade espermática em diferentes regiões de Portugal, de modo a averiguar a existência de alterações intra e/ou inter regionais, servindo de termo de comparação para estudos posteriores que pretendam investigar possíveis causas de infertilidade masculina específicas do país, ou mesmo possíveis soluções para essa infertilidade.

APÊNDICE I

Valores de referência dos parâmetros da Organização Mundial de Saúde (OMS)

	OMS (1992)	OMS(1999)	OMS(2010)
Volume (mL)	≥2	≥2	≥1,5
Contagem de espermatozoides (10⁶/mL)	≥20	≥20	≥15
Quantidade de espermatozoides (10⁶ por ejaculado)	≥40	≥40	≥39
Mobilidade (%)	≥50	≥50	≥40
Mobilidade progressiva (%)	≥25 (Grau A)	≥25 (Grau A)	≥32 (Grau A+B)
Morfologia (%)	≥30	≥14*	≥4*
Leucócitos (10⁶/mL)	<1,0	<1,0	<1,0
pH	7,2-8,0	≥7,2	≥7,2

Adaptado de: *Esteves SC. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination.*

Legenda: Mobilidade progressiva rápida (Grau A), mobilidade progressiva lenta (Grau B); Mobilidade progressiva total (Grau A+B); *

Critérios estritos de Kruger.³³

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Teresa Almeida-Santos por ter aceite a orientação deste artigo, pela sua dedicação e empenho para a realização deste trabalho.

À Doutora Ana Paula Sousa, pela sua paciência, apoio, orientação e toda a disponibilidade apresentada neste percurso.

A toda a Equipa do Serviço de Medicina da Reprodução, pela sua simpatia e boa vontade com que me acolheram e acompanharam ao longo do processo de informatização de dados.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andolz P, Bielsa MA, Vila J. Evolution of semen quality in North-eastern Spain: a study in 22,759 infertile men over a 36 year period. *Hum Reprod.* 1999;14:731-735.
2. Jorgensen N, Andersen AG, Eustache F, et al. Regional differences in semen quality in Europe. *Hum Reprod.* 2001;16:1012-1019.
3. 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;332:281-285.
4. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ.* 1992;305:609-613.
5. Huang L-p, Li Y-f, Xiong H-y, Cao J. Changing Tendency Analysis of Chinese Normal Male's Semen Quality in Recent 25 Years: Samples from Chinese Documents. *Journal of Reproduction and Contraception.* 2010;21:229-241.
6. Organization WH. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge University Press 1999.
7. Adamopoulos DA, Pappa A, Nicopoulou S, et al. Seminal volume and total sperm number trends in men attending subfertility clinics in the greater Athens area during the period 1977-1993. *Hum Reprod.* 1996;11:1936-1941.
8. Irvine S, Cawood E, Richardson D, MacDonald E, Aitken J. Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *BMJ.* 1996;312:467-471.
9. Van Waeleghem K, De Clercq N, Vermeulen L, Schoonjans F, Comhaire F. Deterioration of sperm quality in young healthy Belgian men. *Hum Reprod.* 1996;11:325-329.

10. Sripada S, Fonseca S, Lee A, et al. Trends in semen parameters in the northeast of Scotland. *J Androl.* Vol 28. United States 2007:313-319.
11. Feki NC, Abid N, Rebai A, et al. Semen quality decline among men in infertile relationships: experience over 12 years in the South of Tunisia. *J Androl.* Vol 30. United States 2009:541-547.
12. Paulsen CA, Berman NG, Wang C. Data from men in greater Seattle area reveals no downward trend in semen quality: further evidence that deterioration of semen quality is not geographically uniform. *Fertil Steril.* 1996;65:1015-1020.
13. Fisch H, Goluboff ET, Olson JH, Feldshuh J, Broder SJ, Barad DH. Semen analyses in 1,283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality. *Fertil Steril.* 1996;65:1009-1014.
14. Fisch H, Goluboff ET. Geographic variations in sperm counts: a potential cause of bias in studies of semen quality. *Fertil Steril.* 1996;65:1044-1046.
15. Aitken RJ. The Amoroso Lecture. The human spermatozoon--a cell in crisis? *J Reprod Fertil.* 1999;115:1-7.
16. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod.* 2001;16:972-978.
17. Tavares RS, Martins FC, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J, Peixoto FP. Parabens in male infertility-is there a mitochondrial connection? *Reprod Toxicol.* Vol 27. United States 2009:1-7.
18. Bonde JP, Storgaard L. How work-place conditions, environmental toxicants and lifestyle affect male reproductive function. *Int J Androl.* Vol 25. England 2002:262-268.

19. Dallinga JW, Moonen EJ, Dumoulin JC, Evers JL, Geraedts JP, Kleinjans JC. Decreased human semen quality and organochlorine compounds in blood. *Hum Reprod.* 2002;17:1973-1979.
20. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. *Fertil Steril.* Vol 84. United States 2005:919-924.
21. Shi Q, Ko E, Barclay L, Hoang T, Rademaker A, Martin R. Cigarette smoking and aneuploidy in human sperm. *Mol Reprod Dev.* 2001;59:417-421.
22. Rubes J, Lowe X, Moore D, 2nd, et al. Smoking cigarettes is associated with increased sperm disomy in teenage men. *Fertil Steril.* Vol 70. United States 1998:715-723.
23. Dobrzynska MM, Baumgartner A, Anderson D. Antioxidants modulate thyroid hormone- and noradrenaline-induced DNA damage in human sperm. *Mutagenesis.* 2004;19:325-330.
24. WHO. World Health Organization (WHO) Laboratory Manual For The Examination Of Human Semen And Semen-Cervical Mucus Interaction. 5th ed. Geneva: WHO Press; 2010:1-286.
25. WHO. World Health Organization Laboratory Manual For The Examination Of Human Semen And Semen-Cervical Mucus Interaction. 4th ed. New York: Cambridge University Press; 1999:1-126.
26. WHO. World Health Organization Laboratory Manual For The Examination Of Human Semen And Semen-Cervical Mucus Interaction. 3rd ed. New York: Cambridge University Press; 1992:1-107.
27. Menkveld R, Wong WY, Lombard CJ, et al. Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Hum Reprod.* 2001;16:1165-1171.

28. Levitas E, Lunenfeld E, Weiss N, et al. Relationship between the duration of sexual abstinence and semen quality: analysis of 9,489 semen samples. *Fertil Steril*. Vol 83. United States 2005:1680-1686.
29. Makkar G, Ng EH, Yeung WS, Ho PC. A comparative study of raw and prepared semen samples from two consecutive days. *J Reprod Med*. 2001;46:565-572.
30. Hassan MA, Killick SR. Effect of male age on fertility: evidence for the decline in male fertility with increasing age. *Fertil Steril*. Vol 79 Suppl 3. United States 2003:1520-1527.
31. Berling S, Wolner-Hanssen P. No evidence of deteriorating semen quality among men in infertile relationships during the last decade: a study of males from Southern Sweden. *Hum Reprod*. 1997;12:1002-1005.
32. Zhang ZH, Zhu HB, Li LL, Yu Y, Zhang HG, Liu RZ. Decline of semen quality and increase of leukocytes with cigarette smoking in infertile men. *Iran J Reprod Med*. 2013;11:589-596.
33. Esteves SC. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. *Int Braz J Urol*. Vol 40. Brazil 2014:443-453.