



Universidad de Oviedo

Departamento de Cirugía y Especialidades Médico Quirúrgicas

Programa de Doctorado en Biología Molecular y Celular

TESIS DOCTORAL

INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL ÉXITO
DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN ASTURIAS

Vanesa Castañón Bernardo

Oviedo, 2018





Universidad de Oviedo

Departamento de Cirugía y Especialidades Médico Quirúrgicas

Programa de Doctorado en Biología Molecular y Celular

TESIS DOCTORAL

INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL ÉXITO
DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN ASTURIAS

Vanesa Castañón Bernardo

Oviedo, 2018









RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Influencia de los distintos factores ambientales en el éxito de las técnicas de reproducción asistida en Asturias	Inglés: Effect of ambiental factors on assisted reproduction techniques in our region Asturias
2.- Autor	
Nombre: Vanesa Castañón Bernardo	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: Biología Molecular y Celular	
Órgano responsable: Universidad de Oviedo	

RESUMEN (en español)

La OMS estima en un 8-10% el porcentaje de parejas/personas que presentan problemas de fertilidad. De todas ellas, entre un 15 y un 20% no poseen un diagnóstico claro que explique dicha situación.

Es por ello que se buscan factores que puedan influir tanto en la aparición del problema de esterilidad como en el éxito de las técnicas de reproducción asistida.

Son abundantes los estudios que relacionan la presencia de disruptores endocrinos y contaminantes ambientales con la salud general de la población, pero no existe tanta literatura al respecto que se centre exclusivamente en la fertilidad.

Nuestra hipótesis de trabajo es que los factores ambientales analizados: exposición a sustancias tóxicas (lugar de residencia o trabajo, tabaco, alcohol o medicación crónica), el ejercicio físico y los hábitos alimentarios, influyen sobre el éxito reproductivo de las parejas que se someten a FIV en nuestro medio.

Como objetivo principal de la tesis está evaluar la tasa de gestación clínica y aborto en los diferentes grupos de estudio y como objetivos secundarios estudiar la relación de los factores ambientales estudiados con los distintos parámetros de calidad ovocitaria y espermática, así como con las variables relacionadas con los ciclos de FIV/ICSI.

Se trata de un estudio transversal, observacional, descriptivo y unicéntrico de cohortes no concurrentes desarrollado en el HUCA.

Entre el año 2016 y 2017, se invitó a participar en el estudio a los pacientes que iban a realizar un ciclo FIV/ICSI en la Unidad de Reproducción Asistida del HUCA de los que finalmente, participaron 146 parejas y 2 mujeres.

Las parejas se dividieron en tres grupos dependiendo de que uno de los dos miembros estuviera expuesto a sustancias tóxicas, los dos miembros lo estuvieran o ninguno de ellos lo estuviera.

A los participantes se les entregaban en la consulta una serie de cuestionarios para valorar la exposición a sustancias tóxicas, el nivel de ejercicio físico y los hábitos alimentarios y posteriormente, se recogían datos relativos al tratamiento de reproducción asistida.

Se realizó el análisis estadístico mediante el programa R (R Development Core Team), versión 3.4.3.

La tasa de gestación clínica en el grupo en el que ningún miembro de la pareja estaba expuesto a sustancias tóxicas fue de 35,9%, en el grupo en el que un miembro estaba expuesto fue de 20,8% y en el grupo en el que los dos miembros estaban expuestos fue de 14,5% ($p=0,04$).



La tasa de aborto en el grupo en el que ningún miembro estaba expuesto a sustancias tóxicas fue del 0%, en el grupo en el que uno de los miembros de la pareja estaba expuesto fue de 36,4% y en el grupo en el que los dos miembros estaban expuestos fue del 33,3% ($p=0,01$) El número medio de embriones de calidad óptima (A y B) obtenido en cada ciclo de las parejas en las que ninguno de los dos miembros estaba expuesto a sustancias tóxicas fue 3, frente a 1,8 en los otros dos grupos ($p=0,012$). El porcentaje de embriones de calidad óptima (A y B) en el grupo de parejas donde ningún miembro de la pareja estaba expuesto a sustancias tóxicas en su trabajo fue de 52,6%, frente a un 38,6% cuando uno de los dos miembros tenía un trabajo con exposición a sustancias tóxicas y un 30,3% cuando los dos tenían un tipo de trabajo que implicaba exposición a sustancias tóxicas ($p=0,036$)

El estudio concluyó que:

- La exposición a sustancias tóxicas en las parejas/personas sometidas a FIV/ICSI en nuestra unidad se relaciona negativamente con la gestación clínica y positivamente con la tasa de aborto, siendo las exposiciones que más afectan a esta última el alcohol y el riesgo profesional.
- La tasa de madurez ovocitaria no se relaciona con la exposición a sustancias tóxicas. Aunque el ejercicio físico no se relaciona con la tasa de embarazo, sí influye en la tasa de madurez ovocitaria, mejorándola.
- El volumen seminal disminuye con el consumo de tabaco y medicación crónica y aumenta con el consumo de hidratos de carbono y vitamina E, mientras que el porcentaje de espermatozoides tipo a se relaciona negativamente con la exposición a sustancias tóxicas y positivamente con el consumo de legumbres y de alimentos ricos en vitamina B6 y E.
- La exposición a sustancias tóxicas ambientales y el nivel de actividad física no se relacionan con la tasa de fertilización.
- La exposición a sustancias tóxicas y, más concretamente, la existencia de riesgo profesional, se relaciona con el número y porcentaje de embriones de calidad óptima (A y B) según la clasificación embrionaria de ASEBIR.
- La exposición a sustancias tóxicas no se relaciona con la tasa de implantación, mientras que el consumo de alimentos ricos en vitamina B12 y vitamina A guarda una correlación positiva con dicha tasa de implantación. Por otro lado, el ejercicio físico se relaciona negativamente con la tasa de implantación.

RESUMEN (en Inglés)

The World Health Organisation estimates that 8-10% of couples/individuals experience fertility problems. Between 15% and 20% of those people have not been given a clear diagnosis to explain their situation.

Consequently, research is being conducted to identify contributing factors that might influence both the development of fertility problems and the success rates of assisted reproduction techniques.

There are numerous studies that indicate a relationship between the presence of endocrine disruptors and environmental contaminants with the general health of the population; however, not much of the literature on the subject focuses exclusively on fertility.

Our working hypothesis is that the environmental factors analysed: exposure to toxic substances (at home or at work, tobacco, alcohol or long-term medication), physical exercise and eating habits, all have an impact on the reproductive success of couples receiving IVF treatment at our hospital.

The main objective of the thesis is to evaluate the rate of clinical gestation and abortion in the various trial groups; the secondary objectives are to study the relationship between the



environmental factors studied and the parameters indicating the quality of the oocytes and spermatozoa, and the variables related to the IVF/ICSI cycles.

The study in question is transverse, observational, descriptive, and single-centre study of non-concurrent cohorts that was carried out at the HUCA (Central University Hospital of Asturias).

Between 2016 and 2017, any patients who were about to start an IVF/ICSI cycle at the Assisted Reproduction Unit of HUCA were invited to participate in the study; ultimately 146 couples and 2 women participated in the study.

The couples were divided into three groups according to whether one, both or neither of the members of the couple were exposed to toxic substances.

The participants were given a series of questionnaires to fill in, which were designed to evaluate their exposure to toxic substances, their level of physical exercise, and eating habits. Thereafter, details of their treatment during the assisted reproduction cycle were recorded.

The statistical analysis was carried out using the R Development Core Team software, version 3.4.3.

The clinical gestation rate in the group in which neither member of the couple was exposed to toxic substances was 35.9%; in the group in which one member of the pair was exposed the rate was 20.8% and in the group in which both members of the couple were exposed the rate was 14.5% ($p=0.4$).

The abortion rate in the group in which neither member was exposed to toxic substances was 0%; in the group in which one of the members of the couple was exposed it was 36.4%, and in the group in which both members of the couple were exposed it was 33.3% ($p=0.01$).

The average number of optimum-quality embryos (A & B) obtained in each cycle in the case of the couples where neither of the members were exposed to toxic substances was 3, compared with 1.8 in the other two groups ($p=0.012$).

The percentage of optimum-quality embryos (A & B) obtained in the group in which neither of the members of the couple were exposed to toxic substances at work was 52.6%, compared with 38.6% for the group in which one of the two members was exposed to toxic substances at work, and 30.3% for the group in which both members of the couple were exposed to toxic substances at work ($p=0.036$).

The study concluded that:

- Exposure to toxic substances in couples/individuals undergoing IVF/ICSI in our hospital shows a negative correlation to clinical gestation and a positive correlation to the abortion rate; exposure to alcohol and exposure to toxic substances at work generated the most significant effects on the abortion rate.
- The rate of oocyte maturation is not correlated to exposure to toxic substances. In the case of physical exercise, there is no correlation to the pregnancy rate, although it does improve the rate of oocyte maturation.
- Semen volume decreases with the consumption of tobacco and long-term medication and increases with the consumption of carbohydrates and vitamin E, whilst the percentage of type-A sperm shows a negative correlation with exposure to toxic substances and a positive correlation with the consumption of vegetables and foodstuffs rich in vitamin B6 and E. The sperm volume is lower in smokers and the percentage of class A sperm is negatively related to toxic exposure and positively related to legume and foodstuffs rich in B6 and E vitamin consumption.
- Exposure to toxic substances in the environment and levels of physical activity show no correlation to the fertilization rate.
- Exposure to toxic substances and, more specifically, exposure in the workplace, is correlated to the number and percentage of optimum-quality embryos (A & B), as defined by the ASEBIR embryo classification system.



- Exposure to toxic substances bears no correlation to the implantation rate, whereas the consumption of foodstuffs rich in vitamin B12 and vitamin A exhibits a positive correlation with said implantation rate. Conversely, there is a negative correlation between physical exercise and the implantation rate.

A mi padre



AGRADECIMIENTOS

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más sincero agradecimiento a las personas que me han ayudado tanto personal como profesionalmente a realizar esta tesis doctoral.

Al Doctor Ángel Plácido Llaneza Coto, por su ayuda y apoyo en todo el proceso que medió desde el inicio hasta la culminación de esta tesis.

A la Doctora Elena Díaz Rodríguez, por su disponibilidad durante este período.

Al equipo de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario Central de Asturias, por su profesionalidad y colaboración en todo momento.

A Fernando Graña Zañón y a Tania Iglesias Cabo, por su atención y valioso asesoramiento estadístico, sin el cual este trabajo no habría podido finalizarse.

A Edu, por su paciencia y comprensión en los momentos más difíciles.

A mi hija Lucía, por ser mi mayor estímulo y por su inmensa alegría a pesar de mis necesarias ausencias.

A mi hermana Maribel y a mi sobrino Lucas, porque su lucha ha sido y sigue siendo un aprendizaje continuo para mí y por estar siempre ahí.

A mis padres, Isabel y Jesús, sin ellos no sería la persona que soy, por su amor infinito.

A mi madre por su cariño y entrega incondicional. A mi padre porque me enseñó lo más importante de la vida y su recuerdo siempre me da fuerza.

No hay palabras que puedan expresar el agradecimiento que siento hacia mi familia. Os quiero.

En general a todas las personas que me han acompañado durante estos últimos años, animándome y ayudándome de diferentes maneras.



ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de la varianza
BPA	Bisfenol A
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DE	Disruptores endocrinos
E2	Estradiol
ESCA	Esterilidad sin causa aparente
FIV	Fecundación in vitro
FSH	Hormona folículo estimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
hCG	Gonadotropina coriónica humana
HSG	Histerosalpingografía
HUCA	Hospital Universitario Central de Asturias
ICSI	Microinyección intracitoplasmática
IMC	Índice de masa corporal
LH	Hormona luteinizante
OCDE	Organización para la cooperación y desarrollo económicos
OMS	Organización Mundial de la Salud

PBDEs	Éter difenilicopolibromados
PCBs	Policlorobifenilos
PFA s	Sustancias poliinsaturadas y perfluoroalquilados
SOP	Síndrome de ovario poliquístico
TRA	Técnicas de reproducción asistida
TSH	Tirotropina
URA	Unidad de reproducción asistida
VHB	Virus hepatitis B
VHC	Virus hepatitis C
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
VOC	Compuestos orgánicos volátiles

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Epidemiología de la esterilidad.....	1
1.2. Los disruptores endocrinos.....	2
1.2.1. Efecto sobre la salud.....	2
1.2.2. Tipos de disruptores endocrinos.....	7
1.3. Contaminación atmosférica en la actualidad.....	8
1.3.1. Contaminación atmosférica en Asturias.....	8
1.3.2. Normativa europea medioambiental.....	11
1.3.3. Factores ambientales y fertilidad.....	11
1.3.4. Exposición paterna.....	15
1.4. Factores ocupacionales y fertilidad.....	17
1.5. Estilo de vida y fertilidad.....	18
1.5.1. Influencia de la dieta en reproducción.....	19
1.5.2. Influencia del tabaco en la reproducción.....	21
1.5.3. Influencia del alcohol en la reproducción.....	22
1.5.4. Influencia del ejercicio físico en la reproducción.....	23
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	25
2.1. Justificación del estudio.....	25
2.2. Hipótesis.....	25
2.3. Objetivos.....	26
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
3.1. Tipo de estudio.....	27
3.2. Criterios de inclusión.....	27
3.3. Criterios de exclusión.....	27

3.4. Cálculo tamaño muestral.....	28
3.5. Descripción de la muestra.....	28
3.6. Protocolo de reclutamiento y seguimiento.....	30
3.6.1. Reclutamiento de las pacientes.....	30
3.6.2. Cuestionarios utilizados en el estudio.....	31
3.6.3. Valoración de las variables.....	34
3.7. Tratamiento de reproducción asistida.....	35
3.7.1. Estimulación ovárica.....	35
3.7.2. Recuperación de ovocitos.....	38
3.8. Laboratorio FIV.....	39
3.9. Clasificación embrionaria.....	42
3.10. Transferencia embrionaria.....	44
3.11. Criopreservación embrionaria.....	45
3.12. Variables del estudio.....	46
3.13. Análisis estadístico.....	48
4. RESULTADOS.....	49
4.1. Descripción de las variables analizadas.....	49
4.2. Resultados comparativos.....	49
4.2.1. Relación entre factores ambientales y gestación clínica y aborto.....	49
4.2.1.1. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas y gestación clínica y aborto.....	49
4.2.1.2. Relación entre el nivel de actividad física y la gestación clínica y aborto.....	52
4.2.1.3. Relación entre los distintos hábitos alimentarios y gestación clínica y aborto.....	52
4.2.2. Relación entre los factores ambientales y la calidad ovocitaria.....	52
4.2.2.1. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas y la tasa de madurez.....	52

4.2.2.2. Relación entre el nivel de actividad física y la tasa de madurez ovocitaria	53
4.2.2.3. Relación entre los distintos hábitos alimentarios y la tasa de madurez ovocitaria.....	53
4.2.3. Relación entre los factores ambientales y el seminograma.....	53
4.2.3.1. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas y los parámetros seminales.....	53
4.2.3.2. Relación entre el nivel de actividad física y los parámetros seminales	54
4.2.3.3. Relación entre hábitos alimentarios y parámetros seminales.....	54
4.2.4. Relación entre los factores ambientales y la tasa de fertilización.....	55
4.2.4.1. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas y la tasa de fertilización.....	55
4.2.4.2. Relación entre la actividad física y la tasa de fertilización.....	55
4.2.4.3. Relación entre los distintos hábitos alimentarios y la tasa de fertilización.....	55
4.2.5. Relación entre los factores ambientales y la calidad embrionaria.....	56
4.2.5.1. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas y la calidad embrionaria.....	56
4.2.5.2. Relación entre los niveles de actividad física y la calidad embrionaria	58
4.2.5.3. Relación entre los distintos hábitos alimentarios y la calidad embrionaria.....	58
4.2.6. Relación entre los factores ambientales y la tasa de implantación.....	59
4.2.6.1. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas y la tasa de implantación.....	59
4.2.6.2. Relación entre el nivel de actividad física y los distintos	

hábitos alimentarios con la tasa de implantación.....	59
4.3. Análisis multivariante.....	60
5. DISCUSIÓN.....	60
5.1. Importancia de la exposición a tóxicos en el éxito de las TRA y su impacto en la gestación clínica y el aborto.....	61
5.1.1. Gestación clínica y tasa de abortos.....	62
5.1.2. Calidad ovocitaria y parámetros seminales.....	64
5.1.3. Tasa de fertilización.....	65
5.1.4. Calidad embrionaria y tasa de implantación.....	66
5.2. Influencia del ejercicio físico en el éxito de las TRA.....	67
5.2.1. Gestación clínica y tasa de abortos.....	67
5.2.2. Calidad ovocitaria y parámetros seminales.....	67
5.2.3. Tasa de fertilización.....	68
5.2.4. Calidad embrionaria y tasa de implantación.....	68
5.3. Influencia de los hábitos alimentarios en el éxito de las TRA.....	69
5.3.1. Gestación clínica y tasa de abortos.....	69
5.3.2. Calidad ovocitaria y parámetros seminales.....	70
5.3.3. Tasa de fertilización.....	71
5.3.4. Calidad embrionaria y tasa de implantación.....	72
5.4. Limitaciones y puntos fuertes	73
6. CONCLUSIONES.....	74
7. BIBLIOGRAFÍA.....	75
8. TABLAS.....	93
9. ANEXOS.....	117
Anexo I. Documento de consentimiento informado.....	117
Anexo II. Cuestionario sobre exposición a sustancias tóxicas.....	119

Anexo III. Cuestionario relativo a los hábitos o estilo de vida.....	120
Anexo IV. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.....	121



ÍNDICE DE TABLAS

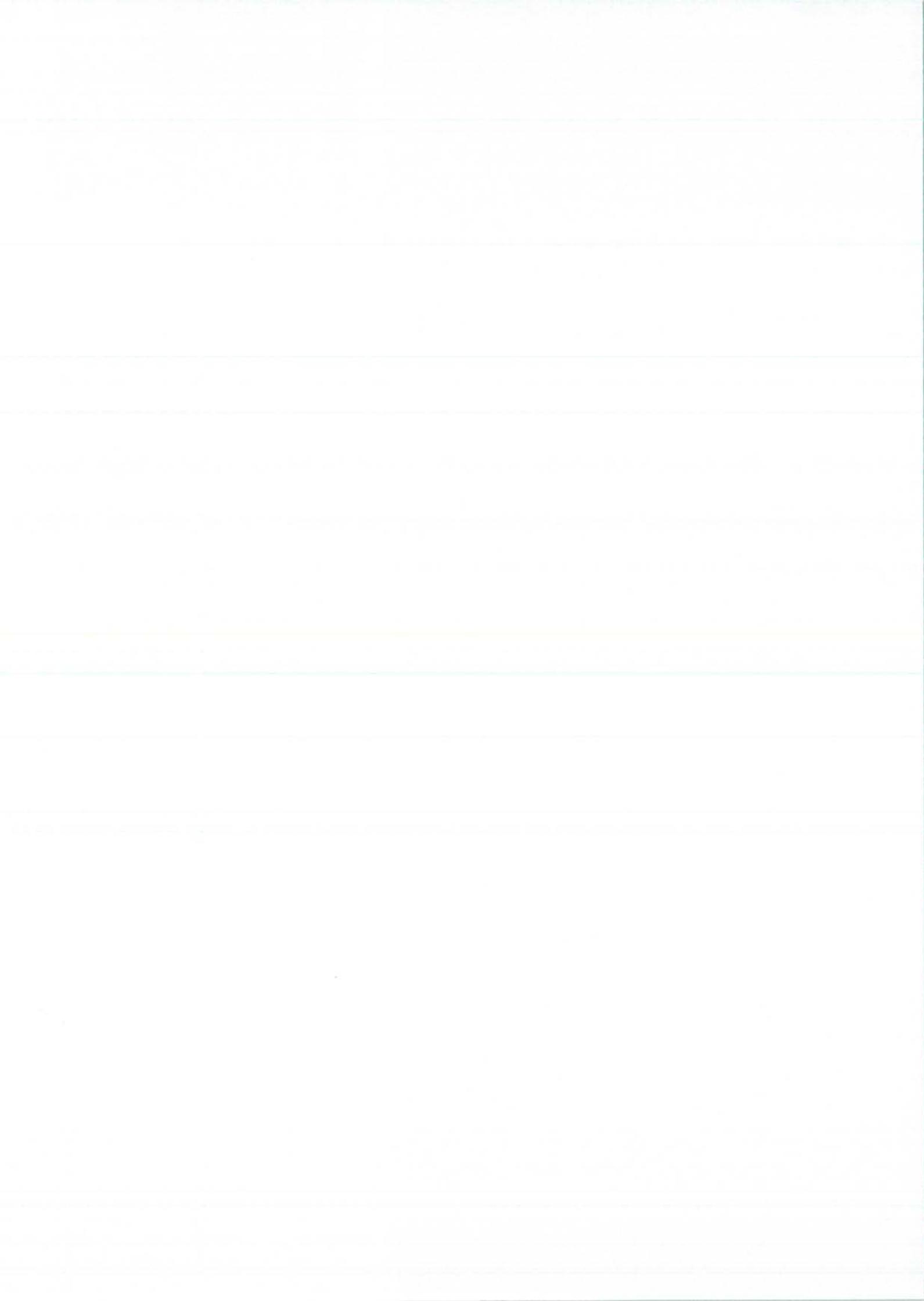
TABLA 1. Valores de referencia del seminograma según la OMS en sus dos últimas ediciones.....	3
TABLA 2. Sustancias tóxicas y efecto relacionado con la exposición prenatal.....	5
TABLA 3. Estaciones de control de calidad del aire en el Principado de Asturias.....	9
TABLA 4. Características de la población en estudio.....	93
TABLA 5. Características de la población a estudio según los grupos de exposición a sustancias tóxicas	94
TABLA 6. Relación entre los distintos tipos de exposición a sustancias tóxicas analizados por separado y la tasa de gestación clínica en las parejas estudiadas.....	95
TABLA 7. Relación entre las distintas exposiciones a sustancias tóxicas y la tasa de aborto.....	96
TABLA 8. Relación entre la actividad física de las parejas según el factor medio de actividad física y la gestación clínica y aborto.....	97
TABLA 9. Relación entre la frecuencia del consumo semanal de diferentes alimentos por parte de las parejas y la tasa de gestación clínica y aborto.....	98
TABLA 10. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas en las mujeres y la madurez ovocitaria.....	100
TABLA 11. Relación de los diferentes patrones de alimentación y la actividad física (factor medio de actividad física) con la madurez ovocitaria.....	100
TABLA 12. Relación entre los factores de exposición a sustancias tóxicas y los parámetros seminales.....	102
TABLA 13. Correlaciones entre el nivel de actividad física según el factor medio de actividad física y los parámetros seminales en varones. Correlación de Pearson	103
TABLA 14. Relación entre patrones de alimentación y parámetros seminales.....	104
TABLA 15. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas según los factores analizados y la tasa de fertilización.....	104
TABLA 16. Correlaciones entre las frecuencias de consumo de alimentos y la tasa de fertilización. Correlación entre el nivel de actividad física y la tasa de fertilización. Correlación de Pearson.....	106

TABLA 17. Relación entre la calidad embrionaria y la exposición a sustancias tóxicas por presencia de al menos uno de los factores analizados. ANOVA de un factor.....	107
TABLA 18. Pruebas post hoc. Comparación entre diferentes grupos según la exposición a sustancias tóxicas. Prueba HSD de Tukey.....	108
TABLA 19. Relación entre la calidad embrionaria y el riesgo profesional.....	108
TABLA 20. Relación entre la calidad embrionaria y el lugar de residencia (rural o urbano).....	109
TABLA 21. Relación entre la calidad embrionaria y el tabaquismo.....	109
TABLA 22. Relación entre la calidad embrionaria y el alcohol.....	109
TABLA 23. Relación entre la calidad embrionaria y el consumo de sustancias/medicamentos de manera crónica.....	110
TABLA 24. Relación entre el nivel de actividad física de las parejas en base al factor medio de actividad física y el porcentaje de embriones de calidad óptima. Correlación de Pearson.....	110
TABLA 25. Relación entre la frecuencia de consumo de alimentos ricos en vitaminas antioxidantes y calidad embrionaria. Correlación de Pearson.....	110
TABLA 26. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas por diferentes factores en parejas y la tasa de implantación.....	111
TABLA 27. Relación de los distintos patrones de alimentación y niveles de actividad física según el factor medio de actividad física con la tasa de implantación.....	113
TABLA 28. Análisis multivariante.....	114

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Las 10 industrias más contaminantes en toneladas de CO ₂ emitidas.....	10
FIGURA 2. Tamaño muestral.....	28
FIGURA 3. Estaciones de la Red de control de calidad del aire del Principado de Asturias.....	32
FIGURA 4. Protocolos de estimulación ovárica.....	36
FIGURA 5. Ovocitos con granulosa recién recuperados de la punción folicular	39
FIGURA 6. Ovocitos en distinto estadio madurativo: profase I o vesícula germinal, metafase I y metafase II.....	39
FIGURA 7. Técnica de swim up de preparación seminal.....	40
FIGURA 8. Ovocito correctamente fertilizado con sus dos pronúcleos y dos corpúsculos polares.....	41
FIGURA 9. Esquema de categorización de los embriones según su morfología y su ritmo de división.....	43
FIGURA 10. Relación entre la tasa de gestación clínica y la exposición a sustancias tóxicas.....	50
FIGURA 11. Relación entre la tasa de aborto y la exposición a sustancias tóxicas por al menos una de las siguientes condiciones: medio urbano, riesgo profesional, tabaco, alcohol, medicación crónica.....	51
FIGURA 12. ANOVA de un factor. Relación de la presencia de al menos un factor de los estudiados como exposiciones a sustancias tóxicas y la calidad embrionaria.....	56
FIGURA 13. ANOVA de un factor. Relación entre la presencia de al menos un factor de los estudiados como exposiciones a sustancias tóxicas y el número de embriones de calidad óptima.....	57
FIGURA 14. ANOVA de un factor. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas debido a un riesgo profesional y la calidad embrionaria.....	58
FIGURA 15. Gráfico de tasa global de fecundidad en España por Comunidades Autónomas. Fuente: www.ine.es	62





1. INTRODUCCIÓN

1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ESTERILIDAD

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que aproximadamente el 8-10% de las parejas presenta algún problema de fertilidad. Esto supone que unos 50-80 millones de personas tienen problemas para tener hijos. La incidencia de la infertilidad es variable de una zona geográfica a otra (1).

La esterilidad suele ser debida a un factor femenino en un 30-40% de los casos y suele deberse al factor masculino en un 10-30% (2). El problema lo presentan tanto el hombre como la mujer en un 15-30%. Actualmente aproximadamente el 15-20% de las parejas presentan problemas de fertilidad de causa desconocida. La tasa de fertilidad ha disminuido a lo largo de los últimos años. Este hecho podría explicarse por diferentes causas, como son ciertas patologías o determinados cambios en el estilo de vida en las últimas décadas (estrés, obesidad, contaminación, etc).

Uno de los principales problemas observados actualmente en el varón es el estrés oxidativo seminal, que provoca un daño en la membrana plasmática del espermatozoide y en la integridad del ADN. Lo normal es que exista un equilibrio entre la concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS) y los sistemas antioxidantes. Los hábitos que incrementan el estrés oxidativo, como el tabaquismo, disminuyen la capacidad de los espermatozoides de formar embriones de buena calidad que permitan llevar a término un embarazo.

Existen multitud de estudios que relacionan los niveles de contaminantes ambientales y de disruptores endocrinos con diferentes problemas de salud, desde problemas respiratorios, cardiocirculatorios hasta oncológicos (3) (4) (5).

1.2. LOS DISRUPTORES ENDOCRINOS

1.2.1. EFECTO SOBRE LA SALUD

Los compuestos disruptores endocrinos (DE) son sustancias estrogénicas, androgénicas o antiandrogénicas que pueden perturbar e interferir con la producción, liberación, transporte, metabolismo, unión o eliminación de las hormonas naturales del cuerpo responsables del mantenimiento homeostático de la regulación de procesos vitales y del desarrollo (6).

Los DE incluyen sustancias como plaguicidas y herbicidas, biocidas, retardantes del fuego o contaminantes plásticos que se encuentran en componentes alimenticios, farmacéuticos e industriales o de vertidos urbanos y rurales. La población general está expuesta a DE a través de la ingesta de comida contaminada, inhalación de aire y polvo contaminado y contacto con la piel. Además, algunas áreas están sujetas a un mayor riesgo debido a razones culturales o geográficas (7).

Los efectos de los DE pueden deberse a que :

1. Mimetizan los efectos de las hormonas endógenas.
2. Antagonizan los efectos de las hormonas endógenas.
3. Alteran la síntesis y metabolismo de las hormonas endógenas.
4. Se unen a los receptores de las proteínas esteroideas interfiriendo con su actividad normal (8).

Ya en los años 60 se lanzó la voz de alarma con la publicación de la obra "*silent spring*" en la que se advertía sobre la desaparición de varias familias de aves debido a la acción del DDT (diclorodifeniltricloroetano) (9).

En los últimos 40 años aproximadamente se han producido cambios ambientales como aumento en los niveles de radiofrecuencias, temperaturas, etc... que se han asociado

con las dramáticas variaciones en los parámetros seminales poblacionales, consecuencia de los cuales la Organización mundial de la salud (OMS) ha validado unos nuevos valores de normalidad en el año 2010 (10) (11) , que se muestran en la tabla 1.

	1999 (4ª edición OMS)	2010 (5ª edición OMS)
pH	7,2-7,8	Mayor o igual a 7,2
Volumen	2 ml	1,5 ml
Concentración	20 x 10 ⁶ / ml	15 x 10 ⁶ / ml
Motilidad total	No especificada	40%
Motilidad progresiva	50%	32%
Vitalidad	75%	58%
Formas normales	15%	4%

Tabla 1. Valores de referencia del seminograma según la OMS en sus dos últimas ediciones.

Además de la tendencia de los últimos años de descenso de concentración espermática también se ha reportado un descenso de los niveles séricos de testosterona y un incremento de los casos de cáncer testicular en poblaciones de varones adultos (12).

En general se podrían clasificar los factores ambientales en tres grandes grupos:

- Riesgo ocupacional: solventes, etc.
- Estilo de vida: tabaco, alcohol, etc.
- Ambiental: agua, aire, alimentos, etc.

El grado en que unos factores u otros influyen sobre la salud general y sobre la fertilidad más concretamente es un continuo campo de estudio.

Con el gran alcance que las técnicas de reproducción asistida (TRA) tienen en nuestros días somos capaces de evaluar diferentes parámetros de calidad tanto en gametos como en embriones. En los ovocitos se presupone que la calidad está directamente

relacionada con el ambiente folicular y la edad. En los espermatozoides, la morfología o la fragmentación del DNA se podrían ver afectados por el ambiente externo. El resultado de la unión de ambos gametos genera embriones cuya morfología podría depender de la calidad ovocitaria o espermática. Es decir, que el desarrollo embrionario temprano se ve afectado por eventos previos a la generación de los embriones (13).

Entre los múltiples factores que podrían actuar sobre el desarrollo embrionario se encuentran la dieta, desórdenes metabólicos, estado general de salud, estrés, exposición a diferentes contaminantes, uso de fármacos, hábitos tóxicos, temperatura, etc (14) (15). Evidentemente unos son más fáciles de modificar que otros. De lo que no cabe duda, es de que el reconocimiento de estos factores así como un adecuado consejo preconcepcional podrían resultar de gran importancia.

La exposición a diferentes sustancias antes y durante el embarazo acarrear efectos de duración variable. El paso de dichas sustancias a través de la placenta podría influir en el desarrollo fetal. El número de sustancias químicas registradas para uso humano aumenta cada año lo que ha conllevado que los países más influyentes del mundo hayan aprobado recientemente leyes para ejercer un control más directo sobre las sustancias utilizadas en la industria (16).

Es importante resaltar que las exposiciones prenatales podrían tener un efecto tardío en la función reproductiva del adulto. Existe una hipótesis que habla sobre el síndrome de disgenesia testicular. Esta teoría sugiere que un desarrollo testicular inadecuado intra útero podría dar lugar a desórdenes reproductivos postnatales. Este síndrome comprende cáncer testicular, hipospadias, criptorquidia y baja calidad seminal, uno de los factores de riesgo es la exposición a DE (17).

Los mecanismos por los que actúan estos factores sobre la salud pueden ser muy diversos y no siempre fáciles de estudiar. Se han visto modificaciones genéticas como mutaciones en los oncogenes p 53 y k-ras, representando esto una susceptibilidad incrementada a ciertos tipos de tumores: colorrectal y páncreas (18).

En el terreno de la reproducción humana hay menos estudios. Los efectos reportados van desde efectos sobre la fertilidad, efectos adversos durante el embarazo y efectos sobre la salud de la descendencia.

El número de sustancias que se han identificado como potencialmente perjudiciales asciende a miles, se detallan en la tabla 2 las más abundantes y estudiadas.

Sustancia	Efecto
PCBs	Descenso calidad seminal, baja respuesta a la inducción de la ovulación, bajo peso al nacer, TDA.
PFAS	Preeclampsia, bajo peso al nacer, riesgo de afección tiroidea en descendencia.
PBDEs	Efecto sobre el neurodesarrollo.
Fenoles	Abortos recurrentes.
Metales pesados: Cadmio	Alteraciones epigenéticas en placenta y recién nacidos.
Metales pesados: Mercurio	Afectación cognitiva, psicomotora y conductual.
Perclorato	Alteración de la función tiroidea de recién nacidos.
Benzopirenos (tabaco, diesel)	Maduración ovocitaria, alteraciones DNA espermático
Dioxinas (incineración plásticos)	Elevación riesgo endometriosis
Pesticidas	Influencia en la calidad seminal, aborto espontáneo, parto pretérmino.
DDT/DDE	Descenso calidad seminal, retraso crecimiento intrauterino.
Dibromocloropropano	Descenso recuento seminal, infertilidad.
Plomo	Descenso calidad seminal, aborto espontáneo.

Tabla 2. Sustancias tóxicas y efecto relacionado con la exposición prenatal (15) (23).

PCBs: policlorobifenilos, PFAS: sustancias poliinsaturadas y perfluoroalquiladas, PBDEs: éter difenílico polibromados, DDT/DDE: diclorodifeniltricloroetano.

La población general y, por supuesto, las mujeres gestantes pueden sufrir exposición a estas sustancias por ingestión de alimentos o bebidas, contacto con materiales o inhalación de aire. Entre las propiedades de los agentes tóxicos se encuentra el tiempo que pueden perdurar en el ambiente. Los PCBs, PFAS, PBDEs y los pesticidas organoclorados son muy persistentes y acumulables mientras que los fenoles son todo lo contrario y tienden a metabolizarse y eliminarse rápidamente.

Una dificultad a añadida a estudiar los efectos de la exposición a sustancias químicas es que la susceptibilidad a dichas sustancias varía y está determinada genéticamente (19).

Por ejemplo, hay variantes o polimorfismos genéticos que modifican la transferencia de metales a través de la placenta y así los nacidos de madres con la variante HFE C282Y poseen niveles más bajos de hierro en sangre de cordón que los de mujeres sin dicha variante genética (20). Otras variantes genéticas están relacionadas con la actividad de enzimas relacionados con rutas de detoxificación (21).

En las mujeres gestantes es muy difícil medir la exposición exacta del feto, es por eso que se recurre a medir diferentes sustancias en sangre de cordón, líquido amniótico, placenta o meconio (22).

El paso directo de contaminantes a través de la placenta puede provocar un daño directo e irreversible en el embrión llegando a producirse aborto (23). Otro daño importante se produce en la hipoxia resultante en mujeres expuestas a CO durante el embarazo que podría llegar a producir una alteración en el patrón normal de segregación celular durante los primeros estadios (24).

1.2.2. TIPOS DE DISRUPTORES ENDOCRINOS

- Bisfenol A (BPA): Se ha utilizado extensamente en la producción de plástico policarbonato, resinas epoxi, recipientes y empaquetamiento para comida, recubrimiento de latas de conserva, albañilería, barnices, materiales ortopédicos, tintes y como base del composite dental. Se ha encontrado también en alimentos, productos manufacturados y productos farmacéuticos. Los humanos estamos expuestos fundamentalmente por ingestión dietaria proveniente de los envases. El BPA se ha descrito como un compuesto con efectos estrogénicos y antiandrogénicos (25).
- Ftalatos: Son compuestos ubicuos. Se utilizan también para la elaboración de plásticos, recubrimientos de suelos y paredes, utensilios médicos, también en productos cosméticos. No son compuestos persistentes, pero el mayor inconveniente es la presencia ubicua de los mismos y la exposición continua (26).
- Plaguicidas organoclorados: El principal es el DDT y su metabolito el DDE. Son persistentes y ubicuos, poseen gran estabilidad y carácter lipofílico. En modelos ceulares y en estudios experimentales se ha demostrado que el DDT promueve la actividad estrogénica. La exposición a estas sustancias hace que se puedan acumular en la placenta durante la gestación y estaría asociada a malformaciones urogenitales como criptorquidia e hipospadias (27).
- Plaguicidas organofosforados: Se utilizan en el control de plagas domésticas y actividades agrícolas. A pesar de su uso tan extendido el mecanismo de acción aún no está claramente descrito. En humanos se ha visto que la exposición de manera crónica produce alteraciones endocrinas y reproductivas (28).
- Bifenilos policlorados (PBCs): Son un conjunto de sustancias tóxicas sintéticas, persistentes y lipofílicas, que se encuentran en el medio ambiente y se han reconocido como DE. Se usaron en productos industriales y de consumo, tales como los transformadores y fluidos hidráulicos, y como aditivo en pinturas,

aceites y materiales de construcción. Su uso se prohibió en los años 70, sin embargo, no se ha detectado una bajada significativa de los niveles de estas sustancias en medio ambiente desde mitad de los años 90 (26) (29).

1.3. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA ACTUALIDAD

La contaminación atmosférica se define como la modificación de las características naturales de la atmósfera debido a agentes químicos, físicos o biológicos.

El estilo de vida actual, el aumento de población en las ciudades, el exceso de uso de combustibles fósiles y la gran industrialización, han incrementado la contaminación del aire. Esta peor calidad del aire se asocia a una mayor morbilidad y mortalidad (30).

Hay contaminantes que persisten como el dióxido de nitrógeno, partículas en suspensión y el ozono. La legislación se ha ido adaptando a los cambios sufridos y la Agencia Europea de Medioambiente (AEMA) trata de identificar los posibles riesgos y facilitar la implantación de políticas que ayuden a mejorar la calidad del aire. No obstante, las particularidades de cada región hacen que casi nunca sea sencillo implantar este tipo de medidas.

1.3.1. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN ASTURIAS

La ley 34/2007 de 15 de noviembre, de calidad del aire y protección de la atmósfera define la contaminación atmosférica como *“la presencia en la atmósfera de materias, sustancias o formas de energía que impliquen molestia grave, riesgo o daño para la seguridad o la salud de las personas, el medio ambiente y demás bienes de cualquier naturaleza”*.

Aunque dentro de las fuentes de contaminación contamos con productos como los aerosoles y los productos químicos volátiles, la principal fuente es sin duda la resultante de procesos que implican una combustión. Estos procesos suelen estar muy

presentes en las zonas urbanas e industrializadas ya que son principalmente los asociados a transportes, industrias y algunos usos domésticos (31).

La concentración de uno o varios contaminantes, medida a nivel del suelo, en el punto de la emisión o a cierta distancia, se denomina inmisión o calidad del aire en ese lugar en concreto.

El Gobierno del Principado de Asturias lleva a cabo unas medidas encaminadas a vigilar las emisiones atmosféricas y la calidad del aire, así como la corrección de los niveles de contaminación elevados. Existe para estos fines la Red de vigilancia y previsión de la contaminación atmosférica. Esta incluye diferentes estaciones de medida (un total de 19 estaciones remotas en 8 localidades), un centro de control de los datos y un laboratorio móvil de control de inmisión. En la tabla 3 se muestran las estaciones de control de calidad del aire en el Principado de Asturias.

Cangas del Narcea	Cangas del Narcea
Avilés	Matadero, Llanares, Llano Ponte, Pza. de la Guitarra
Gijón	Avda. de la Constitución, Avda. de Argentina, Avda. Hnos. Felgueroso, Avda. Castilla
Oviedo	Palacio de los deportes, Pza. de Toros, Parque Purificación Tomás, Trubia
Siero	Lugones
Mieres	Mieres
Langreo	Meriñán, Sama, La Felguera
San Martín del Rey Aurelio	Sotrondio

Tabla 3. Estaciones de control de calidad del aire en el Principado de Asturias.

Los ayuntamientos con estaciones a su cargo son los responsables de su mantenimiento y de la recogida de datos que se enviarán mensualmente a la Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio e Infraestructuras, donde se

analizan y se remiten periódicamente al Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Las grandes industrias deben contar con su propia red por imperativo legal recogido en el artículo 73 del Real Decreto 833/1975, de 6 de febrero.

Según los datos de los últimos años, la Comunidad del Principado de Asturias, tal como se muestra en la figura 1, se sitúa entre las de peor calidad ambiental del país.

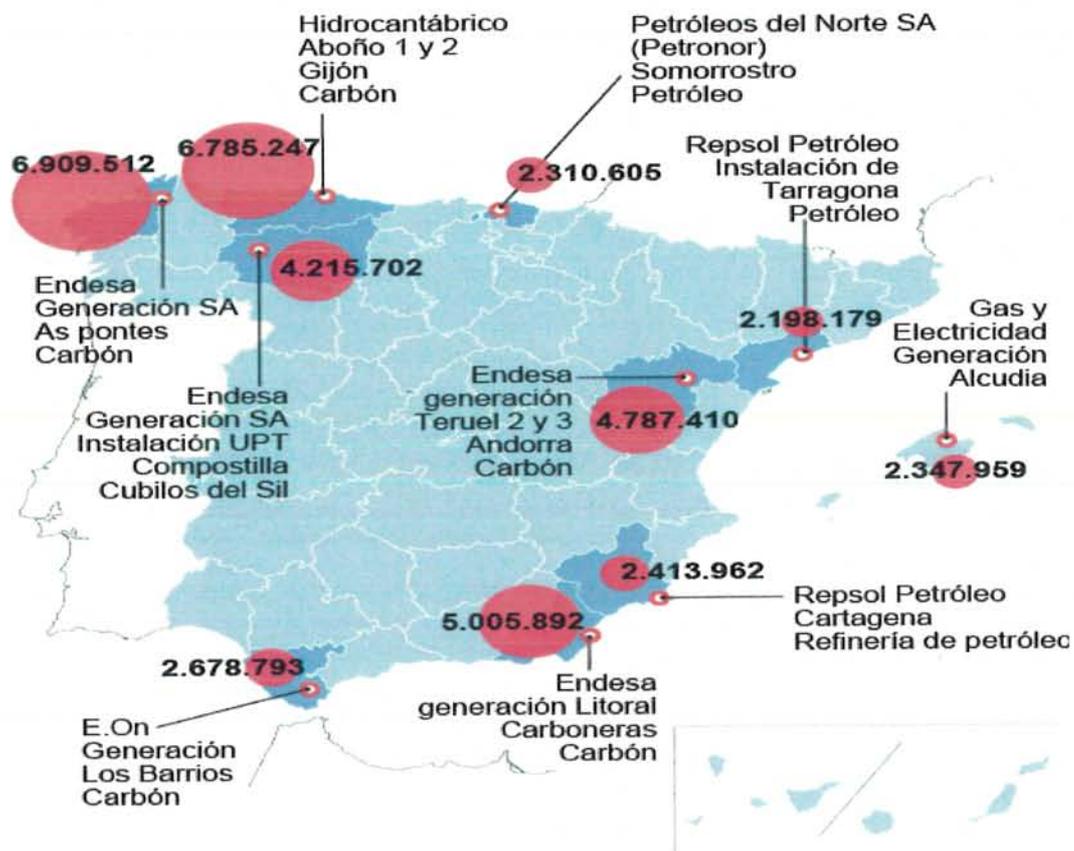


Figura 1. Las 10 industrias más contaminantes en toneladas de CO₂ emitidas. Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

1.3.2. NORMATIVA EUROPEA MEDIOAMBIENTAL

Se calcula que cerca del 90% de la población urbana europea está expuesta a alguno de los contaminantes atmosféricos más perjudiciales que la OMS considera nocivos para la salud. Esto acarrea un coste tanto para la salud como para la economía. Durante 2015 se ha dado a conocer el informe de evaluación que se realiza cada 5 años por la Agencia Europea de Medio Ambiente (32). El programa incluye objetivos a corto plazo para el año 2020 y a medio plazo para el año 2030, pero todo parece indicar que serán necesarias políticas más ambiciosas si se quieren cumplir los objetivos marcados para el año 2050.

Hay evidencias de que la degradación del ecosistema pone en peligro la producción económica así como nuestro bienestar (33)

En el área de salud, las políticas medioambientales han supuesto una mejora en la calidad del agua potable y de baño pero en las zonas urbanas la contaminación atmosférica y acústica sigue provocando diferentes problemas de salud (34).

1.3.3. FACTORES AMBIENTALES Y FERTILIDAD

La contaminación del aire o ambiental es uno de los factores de riesgo que más se ha visto que influyen la salud en general y su papel sobre la fertilidad permanece aún sin esclarecer. Muchos estudios relacionan la calidad del aire con los resultados perinatales: partos prematuros, bajo peso al nacer y retardo en el crecimiento intrauterino (35) (36).

Además existen varios estudios que relacionan la calidad del aire en el laboratorio, concretamente la presencia de compuestos orgánicos volátiles (VOC), con el éxito en los cultivos embrionarios (37) (38) (39).

En la década de los 90, y en concordancia con los resultados obtenidos en estudios con embriones animales, se trató de impulsar una filosofía encaminada a mantener el aire de laboratorio lo más puro posible. Las dos estrategias fundamentales son (40):

- Filtros HEPA (“*high efficiency particulate air filters*”) → Filtración de partículas.
- Filtros de fase sólida: Carbón activado y permanganato potásico (KMnO₄) → Filtración química del aire para la eliminación de VOCs.

Además de estos métodos, en la actualidad se han implementado otros nuevos como por ejemplo variaciones en las presiones relativas del aire de las salas ocupadas por laboratorios de embriología.

En lo que respecta a la fertilidad el descenso acusado en los últimos años es consecuencia de muchos factores: estilo de vida, retraso en la edad de maternidad, migración de zonas rurales a urbanas, aumento de la contaminación. Uno de los factores que se han estudiado también es el tabaco y se han encontrado resultados como que las mujeres fumadoras necesitan más ciclos de FIV que las no fumadoras para lograr el éxito. Este dato resulta de la combinación de descensos en tasas de fertilización, número de ovocitos y tasas de embarazo en fumadoras (41) (42). Todos estos efectos podrían explicarse mediante el efecto de determinados compuestos de los cigarrillos en el microambiente folicular. Este hecho también se ha relacionado con un descenso en la producción de E2 en los ovarios de estas mujeres fumadoras, lo cual afectaría a la calidad ovocitaria restando posibilidades de éxito.

Los efectos deletéreos de según qué sustancias se han probado en otras especies animales. En humanos estos efectos son difíciles de estudiar y los estudios se centran en observar diferencias ocupacionales en determinadas poblaciones (43).

Son muchas las variables que se han analizado a lo largo de los estudios en los últimos años.

- **Recién nacido vivo:**

Algunos autores encuentran una relación inversa entre los niveles de contaminantes y la tasa de recién nacido vivo. Por ejemplo, se ha visto que los niveles elevados de dióxido de nitrógeno (NO_2) tienen un impacto negativo sobre esta fase en las técnicas de reproducción asistida. Sorprendentemente, los niveles elevados de ozono (O_3) durante la inducción de la ovulación se asocian con altas tasas de recién nacido vivo pero si estas elevadas exposiciones ocurren durante la transferencia embrionaria se observa una disminución en la tasa de recién nacido vivo (44).

También se ha observado un efecto adverso de la exposición a niveles altos de partículas en suspensión de diámetro menor de 10 micras (PM_{10}).

- **Prematuridad:**

La prematuridad es uno de los problemas más graves de salud y que provoca una gran cantidad de muertes cada año, además de incapacidades y elevado consumo de recursos sanitarios. Es por ello que su prevención siempre suscita gran interés.

Se ha asociado en varios estudios la presencia de partos pretérmino con determinados factores que hacen referencia al estilo de vida (41). Así, en este estudio casos y controles en el que se comparaban madres de 922 prematuros frente a madres de 965 recién nacidos a término, las mujeres fumadoras durante el embarazo presentaban un incremento del 38% del riesgo de prematuridad respecto a las no fumadoras (RR 1.38, 95% IC 1,04-1,84). Las mujeres que no seguían un patrón de dieta mediterránea también presentaban un incremento en el riesgo de prematuridad. Era especialmente importante el consumo de frutas y verduras debido al contenido de folato, es por esto que se presupone que adquiere más interés aumentar el consumo de productos beneficiosos que disminuir el de productos perjudiciales.

- **Embarazo clínico:**

Se ha observado una disminución en la tasa de embarazo con la exposición a partículas de diámetro menor de 2,5 micras (PM_{2,5}), con altas concentraciones de NO₂ así como con la exposición a elevadas concentraciones de dióxido de sulfuro (SO₂) (45).

- **Aborto:**

Se ha visto un aumento del riesgo de aborto en la población general asociado con la exposición a altos niveles de NO₂ y SO₂, además de otros productos de combustión (46).

- **Calidad embrionaria:**

No se han encontrado diferencias en los embriones de mujeres sometidas a tratamientos de reproducción asistida según el número de partículas en suspensión de diferentes tamaños (47).

- **Fertilidad:**

Algunos estudios han mostrado un descenso en la fertilidad de la población general asociado a contaminantes relacionados con el tráfico de vehículos (45).

En general se encuentra una pequeña asociación entre los niveles elevados de contaminación y la disminución de las variables relacionadas con la fecundidad, muchas de estas se podrían asociar con la contaminación relacionada con el tráfico, la cual estaría compuesta por 4 elementos:

- **Aerosoles (PM)** → Mezcla de partículas sólidas y líquidas que permanecen suspendidas en el aire y varían en tamaño y composición. El diámetro suele ir desde unas 2,5 micras a 10 micras. Se han asociado a descensos en las tasas de fertilidad, recién nacido y aumento del riesgo de aborto.
- **NO₂** → La principal fuente es la combustión de combustibles fósiles. Se ha asociado con elevada tasa de aborto y descenso de la tasa de recién nacido (46).

- **SO₂** → Viene también de la combustión y provoca descenso en la síntesis del ADN, puede inducir aberraciones cromosómicas *in vitro* y se ha asociado con abortos tanto en la población general como subfétil.
- **Monóxido de carbono (CO)** → Proviene de combustión industrial y cigarrillos. El efecto proviene de la capacidad de unión directa a la hemoglobina, se disminuye la oxigenación e incrementa el número de abortos (46).

Además de estas sustancias los metales pesados contenidos en las PM se han asociado a ovotoxicidad, las PM disminuyen el número de folículos antrales (47).

1.3.4. EXPOSICIÓN PATERNA

La mayoría de los estudios hablan de la exposición materna pero se ha visto que la exposición paterna previa a la concepción, especialmente a químicos persistentes como el PCBs y PBDE podría alterar la calidad seminal, sin existir aún un consenso claro. Dado que se cifra en hasta un 40% los casos de subfertilidad debido al factor masculino este tema se merece una especial consideración. Entre las consecuencias de dichas exposiciones se habla de riesgo incrementado de alteraciones epigenéticas en los gametos masculinos, incluso los componentes podrían transportarse en los espermatozoides y afectar directamente el desarrollo del embrión (48).

Muchos estudios han señalado a las PM como causantes de un descenso en la concentración y motilidad espermática y un efecto deletéreo sobre la morfología (49). También otros contaminantes como el NO_x, SO₂ y O₃ podrían relacionarse con la fragmentación del DNA espermático, concentración, movilidad, además de con la morfología como ya mencionamos anteriormente. De todos estos parámetros, se puede decir que hasta la fecha el que ha demostrado estar más relacionado con el ambiente es el de la morfología, sobre todo en las técnicas de reproducción asistida más que *in vivo*, le sigue la fragmentación del DNA con unos resultados que sugieren una débil pero sugestiva relación (50). La contaminación ambiental se asocia con estrés

oxidativo y los radicales libres provocan daños en la estructura del DNA como la fragmentación que es un marcador de apoptosis, además de la subfertilidad el potencial riesgo de este efecto es el aborto espontáneo. Resulta complicado demostrar estas relaciones en humanos, pero modelos animales ya han mostrado estas asociaciones.

En cuanto a la movilidad espermática se sabe que tiene efecto sobre la fertilidad asociándose recuentos bajos con descenso de la fertilidad (51).

El recuento espermático da una idea de la capacidad de producción espermática de las gónadas aunque su asociación directa con la fertilidad no está tan clara. Detrás de que la asociación entre el recuento y la contaminación ambiental sea menor que en otras variables podría subyacer el hecho de que esta concentración se correlaciona positivamente con los niveles de FSH (mantenimiento de la espermatogénesis y regulador de la función testicular) y esta hormona no se altera tanto por factores ambientales. Las fases de la espermatogénesis más vulnerables a los factores ambientales serían las del final (52).

Otros autores estudiaron la influencia de los policlorobifenilos (PBC) sobre la espermatogénesis, encontrando una asociación positiva entre los niveles en suero de PBC y la ratio testosterona/estradiol ($p=0.04$), también se vio relación positiva de la exposición a PBC con incrementos séricos de SHBG ($p=0.01$) y FSH ($p=0.05$). En cambio estos mismos autores no encontraron asociación entre los niveles séricos de PBC y las variables de calidad seminal (53). Los efectos de estas sustancias se basarían en interferencias con hormonas sexuales.

1.4. FACTORES OCUPACIONALES Y FERTILIDAD

Desde hace años existe la percepción de que la unión de gametos cuyos progenitores estén expuestos a tóxicos o contaminantes durante un período de tiempo considerable, como podría ser una jornada laboral, influye en el éxito de las técnicas de reproducción asistida. Es cierto que las dificultades metodológicas que entrañan este tipo de estudios hacen que exista aún controversia y que no haya una evidencia clara (54)(55).

La hipótesis barajada en trabajos anteriores es que la exposición a disruptores endocrinos ambientales ejerce una acción directa sobre el desarrollo de la descendencia de los individuos expuestos.

Los disruptores endocrinos químicos pueden ser sintéticos o naturales y no se pueden clasificar por una única propiedad física o química. Se caracterizan por mimetizar o antagonizar los efectos de hormonas endógenas, inducen cambios enzimáticos en la esteroidogénesis, con lo cual podrían alterar los niveles circulantes de hormonas (56). Estas características y el efecto que se ha visto sobre poblaciones animales es lo que han animado a seguir estudiando su influencia sobre nuestra salud. Existen estudios epidemiológicos que relacionan la exposición a elevadas temperaturas en hombres y a ruidos en mujeres con incremento en la infertilidad. En un estudio de casos y controles con 1583 mujeres en el Norte de California se reportó una OR 1,8, con un IC 1,01-4,81 del 95% de aborto en mujeres que trabajaban más de 20 horas a la semana con terminales de vídeo (47).

Se vio que las dentistas, constantemente en contacto con mercurio, cloroformo y benceno no tenían dificultades para quedarse embarazadas, quizás porque los niveles no eran suficientemente altos (57). Sí se ha demostrado que la exposición a tolueno, xileno, cloroformo, ésteres de etilenglicol y formalina desciende las tasas de fertilidad cuando son las mujeres las expuestas, no así si son los varones los expuestos. Otras profesiones de riesgo descritas en varios estudios son las enfermeras expuestas a fármacos citostáticos.

En el caso de los hombres, existen estudios en trabajadores del metal. Por ejemplo, uno con 400 varones daneses no encontró reducción en la tasa de recién nacido vivo en expuestos a plomo y otros metales. Otros estudios ponen de manifiesto un descenso en los parámetros seminales de calidad, aunque no en la fertilidad. Esta disparidad de resultados hace interesante intentar dilucidar lo que ocurre con los embriones procedentes de hombres con riesgo ocupacional (58).

También existe disparidad en los resultados publicados de estudios de varones expuestos a pesticidas (59).

1.5. ESTILO DE VIDA Y FERTILIDAD

Los hábitos de vida pueden influir mucho en la salud en general y en la fertilidad en particular. Factores como la edad a la hora de formar una familia, la nutrición, el peso, el ejercicio, el estrés y la exposición ambiental afectan a la fertilidad, pero el tabaquismo, el consumo de alcohol, las drogas y la cafeína también podrían influir negativamente (60).

Es importante tener en cuenta que determinadas conductas pueden beneficiar o perjudicar los resultados reproductivos y, tanto los pacientes como los profesionales, deben ser conocedores y conscientes de ello. Una modificación activa de los hábitos más perjudiciales antes de un tratamiento de reproducción asistida, tanto en hombres como en mujeres, puede significar una mayor probabilidad de éxito.

1.5.1. INFLUENCIA DE LA DIETA EN REPRODUCCIÓN

Indudablemente la calidad de nuestra dieta influye nuestra salud.

En los últimos años en general han aumentado las cantidades de calorías ingeridas, azúcares añadidos, carbohidratos refinados, grasas saturadas y consumo de carne (61).

Son conocidos los efectos beneficiosos de la dieta mediterránea sobre el aparato cardiocirculatorio. La edad y el índice de masa corporal en mujeres son dos de los factores más estudiados como factores asociados al éxito reproductivo, y últimamente emerge la literatura que sugiere cierto impacto del tipo de dieta en dicho éxito (62). En cuanto a la influencia en reproducción e infertilidad no se ha estudiado tanto pero sí que hay estudios que relacionan determinados macronutrientes y micronutrientes con la fisiología reproductiva. Uno de los parámetros que se han evaluado recientemente es la deficiencia de la fase lútea. Esto supone una secreción inadecuada de progesterona por parte del cuerpo lúteo y con ello una menor receptividad endometrial, menor tasa de implantación y mayor tasa de pérdidas gestacionales. La prevalencia de la deficiencia de la fase lútea se sitúa entre un 4 y un 9% en mujeres sanas. Varios estudios han relacionado esta deficiencia con un aporte calórico escaso y con un ejercicio físico excesivo (50).

Otros estudios previos habían mostrado la asociación entre ingestas altas de fibra y/o bajas de grasas con descensos en la concentración de progesterona (50). El selenio se ha perfilado como uno de los micronutrientes que se asocian negativamente con el déficit de la fase lútea, después de llevar a cabo ajustes edad, IMC y contenido calórico de la dieta.

Este mismo micronutriente se ha asociado también a mejoras en la fertilidad masculina. Los parámetros seminales también se han visto modificados últimamente coincidiendo con cambios en el estilo de vida de la población. Se ha visto como patrones de dieta más saludables se correlacionaban con índices de daño de DNA espermático menores y mayor porcentaje de espermatozoides móviles (53).

Otros estudios encuentran asociación entre la cantidad de nutrientes ingerida y el resultado final, es decir, la tasa de recién nacido vivo (54). Inesperadamente, en el grupo de mujeres mayores de 35 años se ha asociado positivamente la cantidad de comida ingerida con la tasa de recién nacido vivo sin saber muy bien cuál puede ser el mecanismo biológico que explique este resultado. En cambio, no encuentran relación con los otros parámetros clínicos de TRA como son la calidad embrionaria, tasa de implantación, etc (53). En estudios animales, el consumo de altas cantidades de galactosa diaria se asocia con una reducción en las tasas de ovulación así como con fallo ovárico precoz y una mayor atresia folicular. En cambio los estudios que tratan de buscar asociaciones entre consumo de ciertos productos y subfertilidad femenina han resultado inconsistentes. Mientras que en determinados países el consumo de leche se ha asociado con descensos en la fertilidad, en otros estudios se ha visto por ejemplo un riesgo del 70% menor de infertilidad en mujeres que consumían 3 o más vasos de leche al día (63).

Se ha visto también que el consumo de determinadas grasas se asociaba con un menor riesgo de problemas reproductivos debidos a factores ovulatorios, en base a interferencias con el metabolismo esteroideogénico (64).

El consumo diario de ciertos alimentos, concretamente la leche, influye sobre los niveles circulantes de IGF-1 y, a través de este mecanismo, podría existir una influencia en el crecimiento fetal. Es sabido también que el consumo de leche durante el embarazo se asocia con un aumento del tamaño de la placenta y de la descendencia en determinadas poblaciones (54).

En un estudio caso-control con un grupo de pacientes subfértiles con y sin síndrome de ovario poliquístico (SOP) y otro grupo de pacientes control se ha encontrado que una cantidad menor de IGFBP-3 (*insulin-like growth factor binding protein-3*) circulante se asocia con una mayor probabilidad de embarazo y de embarazo evolutivo. Esto pone de manifiesto la importancia de determinadas moléculas en el éxito de las TRA (65).

Recientemente se ha relacionado un patrón de dieta más mediterráneo con un alto consumo en verduras, legumbres y fruta frente a un consumo bajo de carnes rojas, con los resultados de las técnicas de reproducción asistida (62).

1.5.2. INFLUENCIA DEL TABACO EN LA REPRODUCCIÓN

Los efectos adversos del tabaco en la evolución de un embarazo tanto si es resultado de las TRA como si es espontáneo son conocidos: aumenta el riesgo de prematuridad y de bajo peso (66). En las pacientes sometidas a TRA, concretamente, se ha hecho un meta-análisis con 21 estudios en el que se concluía que el hábito tabáquico durante los tratamientos se asocia en las mujeres con disminución en las tasas de embarazo y de recién nacido vivo y aumenta las tasas de aborto espontáneo y embarazo ectópico (67).

Se ha descrito también un menor número de mujeres fumadoras entre las mujeres que se someten a tratamientos de esterilidad que la población general. Probablemente el deseo gestacional hace que se tome más en cuenta los consejos preconceptionales de los profesionales médicos (68).

En el caso de los hombres, se estima que hasta un 35% de los que están en edad reproductiva son fumadores (69), y se estima que los que fuman antes o durante los intentos de concebir tienen una fertilidad disminuida en comparación con los no fumadores (70). Existen estudios que describen los efectos nocivos del tabaco sobre la calidad seminal, pero también hay otros que no encuentran asociación alguna. Se han descrito efectos sobre concentración espermática, movilidad, morfología e incluso en la tasa de fecundación, probablemente debido a una reducción en la actividad mitocondrial (71). También hay estudios que asocian un alto nivel de aneuploidía en espermatozoides (72), alto nivel de estrés oxidativo (73) y aumento en la fragmentación del DNA (74) con el tabaquismo.

Otros trabajos hablan de cómo el tabaco podría alterar la función endocrina, aumentando los niveles de gonadotrofinas y disminuyendo los de testosterona (75) (76).

A pesar de la controversia entre los trabajos revisados lo cierto es que el humo del cigarrillo contiene hasta 4000 sustancias químicas diferentes (77).

1.5.3. INFLUENCIA DEL ALCOHOL EN LA REPRODUCCIÓN

Es un hecho conocido que el consumo de alcohol en las mujeres embarazadas puede acarrear serios problemas para la descendencia como el síndrome de alcoholismo fetal u otros problemas obstétricos (78). Además de estas situaciones últimamente se está poniendo de relieve la recomendación de no consumir alcohol previamente a los tratamientos de FIV con el fin de aumentar el éxito de las técnicas, ya que incluso cantidades pequeñas podrían afectar.

En mujeres sometidas a FIV, se ha visto un descenso en la tasa de recién nacido vivo (OD 0.84, IC 95% 0.71-0.99) en mujeres que bebían más de 4 veces alcohol a la semana previamente o durante los tratamientos. También se ha visto una mayor tasa de aborto en esas mujeres que bebían más (OR 2.21, IC 1.09-4.49) en mujeres que consumían 12 g/día de alcohol previamente a la técnica. Estos resultados concuerdan con experimentos en hembras de animales, en los que se asocia el consumo de alcohol con una alteración en la función ovárica, alteraciones hipotalámicas y de la secreción hormonal (niveles menores de gonadotrofinas y mayores de prolactina circulantes), cambios en el ciclo menstrual, menor producción folicular y una menor captación ovocitaria así como tasa de fertilización también menor (79).

Además en estudios epidemiológicos se ha visto como las parejas en las que alguno de sus miembros consumía alcohol de manera crónica veían disminuida su fertilidad y aumentado el período hasta la concepción (80).

En el caso de los varones, el consumo de alcohol se asocia con atrofia testicular, disminución de la libido, y disminución de la concentración espermática (81). Está descrito que la espermatogénesis puede deteriorarse progresivamente a medida que se incrementa el consumo de alcohol (82) y un consumo crónico afecta directamente al eje hormonal y por tanto, también a la calidad seminal (83). También se ha visto un mayor número de aneuploidías en consumidores de alcohol que no consumidores (84).

En un meta análisis que incluye 57 estudios y 29914 hombres se detectó asociación entre el consumo de alcohol y el volumen seminal (85).

No es fácil determinar si todas las bebidas alcohólicas tienen el mismo efecto sobre la calidad de los gametos, así como una cantidad de alcohol recomendada como límite de seguridad. Se ha descrito un efecto sinérgico entre el alcohol y el tabaco (86) y sería interesante saber si existe alguna otra interrelación con otros factores ambientales.

1.5.4. INFLUENCIA DEL EJERCICIO FÍSICO EN LA REPRODUCCIÓN

Es difícil evaluar la influencia del ejercicio físico sobre los resultados en TRA. Evidentemente, el hecho de realizar ejercicio físico de una forma regular tiene una clara repercusión en el índice de masa corporal (IMC) y la obesidad sí que es una de las variables más estudiadas en diferentes problemas de salud, entre ellos la fertilidad.

El papel de la obesidad en la reproducción humana sí se ha estudiado mucho, tanto en embarazos espontáneos como por TRA. Se han realizado estudios en los que las mujeres obesas tenían una tasa de embarazo y de recién nacido vivo menores, además de una mayor tasa de aborto y un tiempo mayor hasta conseguir embarazo (87). En este terreno se ha visto el importante papel de la resistencia a la insulina y las adipocinas (88).

Las recomendaciones para bajar el IMC incluyen un cambio en el estilo de vida tanto a nivel de ingesta hipocalórica como a nivel de realización de actividad física.

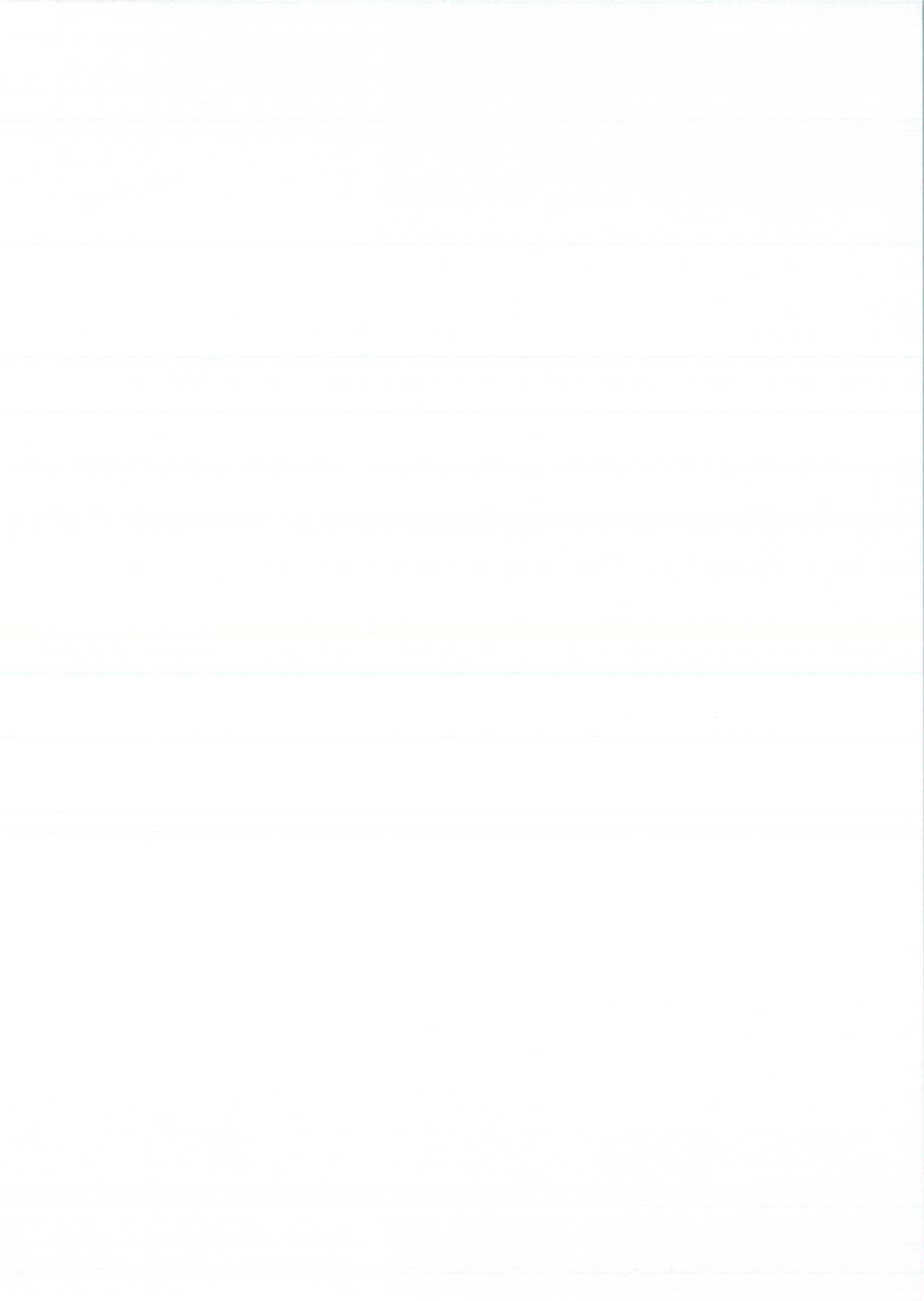
Son muy pocos los trabajos en los que se busca una relación específica de la actividad física con la reproducción.

En uno de ellos, se ha encontrado una asociación entre el nivel de actividad física regular y el éxito de las TRA al estudiar a mujeres obesas sometidas a tratamientos de fertilidad y con un IMC estable. La tasa de embarazo fue mayor en mujeres de este grupo que realizaban ejercicio físico frente a las que no (39% vs 16%, $p=0,002$) y la tasa de recién nacido vivo también fue mejor (24.4% vs 7.4%, $p=0.004$).

La hipótesis que maneja este grupo es la de una acción directa de la actividad física sobre el endometrio, mediado por un aumento de la sensibilización a la insulina que restauraría la función ovárica. Esto se debería a la expresión endometrial de diferentes proteínas como los transportadores de glucosa (89).

En el caso de los hombres se ha visto que un ejercicio moderado (3 veces a la semana por ejemplo) mejoraba la calidad seminal en comparación con los hombres que realizaban ejercicio de un modo más intenso o frecuente (90). En el caso particular del ciclismo se ha visto que más de 5 horas a la semana se correlacionaba negativamente con la concentración y movilidad espermática (91).

Además un ejercicio intenso excesivo puede afectar negativamente al alterar el balance energético del cuerpo y afectar al sistema reproductivo, pero si se practica de forma adecuada reduce el estrés y resulta muy beneficioso (92).



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Entre los pacientes a los que atendemos habitualmente en las unidades de reproducción asistida un número importante de ellos no llegan a saber cuál es el motivo de su fracaso reproductivo. Tanto en ellos como en quienes sí poseen un diagnóstico la medicina de tipo preventivo adquiere cada vez más protagonismo y por eso cualquier consejo preconcepcional que se pueda ofrecer sería de gran ayuda.

La identificación de factores modificables que se asocien con peores resultados de las TRA sería de gran interés porque se podrían plantear determinados cambios en el estilo de vida de las personas o parejas que precisan de estos tratamientos

2.2. HIPÓTESIS

La hipótesis alternativa que se plantea es:

Los factores ambientales analizados: exposición a sustancias tóxicas (lugar de residencia o trabajo, tabaco, alcohol o medicación crónica), el ejercicio físico y los hábitos alimentarios, influyen sobre el éxito reproductivo de las parejas que se someten a FIV en nuestro medio.

2.3. OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Evaluar la tasa de gestación clínica y de aborto de las parejas a tratamiento de reproducción asistida en la unidad de reproducción asistida del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) en función de distintos factores ambientales analizados (exposición a tóxicos por lugar de residencia o trabajo, tabaco, alcohol o medicación crónica), ejercicio físico y hábitos alimentarios.

Objetivos secundarios:

1. Comparar la calidad ovocitaria en los diferentes grupos de mujeres a tratamiento según diferentes exposiciones ambientales.
2. Comparar los valores de los parámetros seminales en distintos grupos de varones a tratamiento según diferentes exposiciones ambientales.
3. Comparar la tasa de fertilización en diferentes grupos de parejas a tratamiento según diferentes exposiciones ambientales.
4. Comparar la calidad embrionaria en diferentes grupos de parejas a tratamiento según diferentes exposiciones ambientales.
5. Evaluar la tasa de implantación en las parejas de los diferentes grupos estudiados.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. TIPO DE ESTUDIO

Estudio transversal, observacional, descriptivo y unicéntrico de cohortes no concurrentes desarrollado en el HUCA.

3.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Edad comprendida entre 18 y 40 años para mujeres y entre 18 y 55 años para hombres
- Diagnóstico de esterilidad
- Tener indicación médica para realizar un ciclo FIV/ICSI
- Pacientes que acepten participar en el estudio y firmen el correspondiente consentimiento informado

3.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Esterilización voluntaria previa
- Existencia de contraindicación médica documentada para el tratamiento de la esterilidad o para la gestación
- Imposibilidad de cumplir el tratamiento
- Parejas con algún hijo en común previo sano
- IMC>32

3.4. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se obtuvo una muestra piloto de tamaño 30 y para ella se calculó el porcentaje de gestación clínica para el grupo sin exposición a sustancias tóxicas y para el grupo con exposición a sustancias tóxicas (simple o doble).

En concreto, para el porcentaje de gestación clínica se obtuvo en el grupo sin exposición un 44% y en el otro un 13%. Considerando un nivel de significación del 95% y una potencia del 80%, se concluye que se necesitan 39 parejas para el grupo con exposición y 39 en el grupo sin exposición.

En la muestra obtenida para realizar el estudio tenemos 39 parejas sin exposición y 110 con exposición, por lo que encaja con el cálculo previo.

3.5. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Se analizaron los datos referidos a 318 pacientes de la Unidad de Reproducción asistida (158 hombres y 160 mujeres), que realizaron tratamiento entre febrero de 2016 y diciembre de 2017.

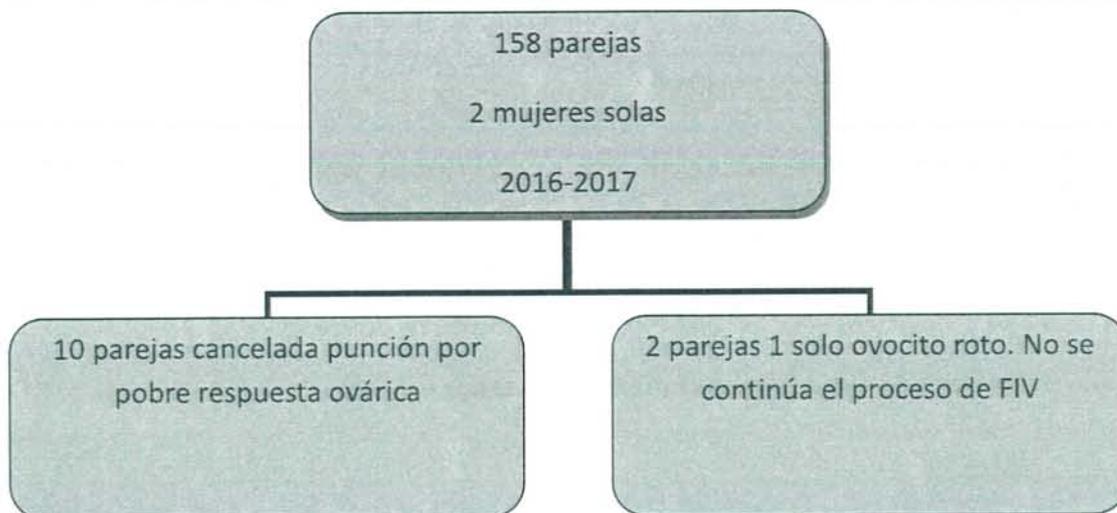


Figura 2. Tamaño muestral

La tasa de participación estimada fue del 53%.

Excluyendo los datos perdidos por algún motivo (cancelación del tratamiento o no respuesta a la encuesta) fueron incluidos en el estudio un total de 146 mujeres de las cuales el 75% vivían en una zona urbana, el 14% tenía un trabajo que le suponía contacto con sustancias tóxicas, el 17% fumaban, el 19% consumían alcohol todas las semanas y el 15% eran consumidoras crónicas de algún tipo de sustancia o medicamentos.

De los 144 hombres incluidos en el estudio el 74% vivían en núcleos urbanos (prácticamente igual que las mujeres), el 29% tenía un trabajo que les suponía un contacto con sustancias tóxicas, el 30% eran fumadores, el 38% consumían alcohol semanalmente y el 14,6% consumían medicación crónica.

Las 146 parejas y 2 mujeres solas se dividieron en dos grupos:

- Grupo con presencia de al menos una exposición a sustancias tóxicas: Varones o mujeres expuestos a sustancias tóxicas debido a: profesión, lugar de residencia o hábitos de vida no saludables (tabaquismo, alcohol, medicación crónica). N: 85 hombres y 64 mujeres.
- Grupo no expuesta: Varones o mujeres no expuestos a sustancias tóxicas por ninguna de las causas mencionadas en el grupo anterior. N: 60 hombres y 83 mujeres.

3.6. PROTOCOLO DE RECLUTAMIENTO Y SEGUIMIENTO

3.6.1. RECLUTAMIENTO DE PACIENTES

Los pacientes acuden a la Unidad de reproducción asistida del HUCA procedentes de toda la región. Los estudios previos de esterilidad se realizan en sus centros de referencia, de manera que la Unidad es una unidad de tratamiento. El estudio básico de esterilidad incluye:

- Anamnesis ginecológica
- Historia clínica (enfermedades genéticas, enfermedades que puedan agravarse con un embarazo, edad, etc.)
- IMC
- Seminograma (según criterios de la OMS 2010) (93)
- Citología
- Serología a ambos miembros de la pareja (Lúes, VHB, VHC, VIH, Rubeola)
- *Clamidia* y toxoplasmosis
- Estudio hormonal basal (FSH, LH, Estradiol, progesterona, prolactina y TSH)
- Cariotipo a ambos miembros de la pareja
- Ecografía vaginal
- Histerosalpingografía (HSG). No es necesaria en factores masculinos severos ni en mujeres mayores de 38 años

Las parejas/personas que cumplían los criterios anteriormente mencionados y deseaban participar en el estudio, recogían un consentimiento informado previamente aprobado por el Comité de ética del HUCA, que leían y entregaban firmado si deseaban participar en el estudio (Anexo I).

3.6.2. CUESTIONARIOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

El documento de consentimiento informado se les entregaba en la consulta médica el primer día de control del ciclo de tratamiento junto con una encuesta que trataba de valorar su exposición a sustancias tóxicas (anexo II), otro cuestionario para evaluar aspectos de su estilo de vida como el nivel de actividad física (anexo III), así como un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario para valorar los hábitos alimentarios (Anexo IV) (94).

En el cuestionario administrado a los pacientes se recogía información relativa a los distintos factores ambientales que podían tener relación con la exposición a sustancias tóxicas de una manera sencilla, para así optimizar la tasa de respuesta.

En primer lugar, la exposición a sustancias tóxicas se valoró con preguntas cerradas como se puede apreciar en el anexo II.

En la encuesta elaborada para esta tesis se valoraban las distintas exposiciones. Una de ellas se refiere al medio en el que se vive, considerando zonas rurales áreas con una densidad poblacional menor de 150000 habitantes por km² y zonas urbanas con una densidad mayor que esa cifra. Se consideró este punto de corte en base a la definición de zona rural que da la OCDE (*Creating rural indicators for shaping territorial policy, OCDE, París, 1994*). Para su cálculo se utilizaron los datos recogidos por la Sociedad Asturiana de Estudios Económicos e industriales (SADEI) para el año 2015. Hemos elegido este criterio en base a que las fuentes de contaminación debidas a la actividad humana, como son la combustión doméstica y las emisiones procedentes de vehículos tienen un peso importante en la calidad del aire.

Residentes de localizaciones en las que claramente, a pesar de tener una densidad poblacional baja, existía una actividad industrial elevada, fueron descartados.

En el Principado de Asturias existe una Red de Control de Calidad del Aire compuesta por 22 estaciones automáticas de inmisión:

ÁREA GEOGRÁFICA	NOMBRE ESTACIÓN	CONCEJO	TIPO	ÁREA	ANALIZADORES							
Asturias Central (área de Oviedo)	Plaza de Toros	Oviedo	Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Palacio de los Deportes		Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃	BIX	Meteor
	PurificaciónTomás		Fondo	Urbana	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Trubia Piscinas		Fondo	Rural	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃	BIX	Meteor
Gijón	Lugones Instituto	Siero	Industrial	Urbana	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Constitución	Gijón	Tráfico	Urbana	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂	NO _x	CO	O ₃	BIX	Meteor
	Argentina		Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Hermanos Felgueroso		Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Castilla		Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Montevil		Fondo	Suburbana	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂	NO _x		O ₃		Meteor
Santa Bárbara	Fondo		Suburbana	PM ₁₀	PM _{2.5}		NO _x	CO				
Asturias Central (área de Avilés)	Matadero	Avilés	Industrial	Suburbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO			Meteor
	Llaranes		Industrial	Suburbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x		O ₃	BIX	
	Llano Ponte		Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Plaza de la Guitarra		Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
Asturias Central (área de Cuencas)	Salinas	Castrillón	Fondo	Urbana	PM ₁₀	PM _{2.5}		NO _x	CO	O ₃		
	Jardines de Juan XXIII	Mieres	Tráfico	Urbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		Meteor
	Meriñán	Langreo	Industrial	Suburbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x		O ₃		Meteor
	Sama I		Fondo	Urbana	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂	NO _x	CO	O ₃	BIX	
	La Felguera		Industrial	Urbana			SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
Blimea	San Martín del Rey Aurelio	Fondo	Suburbana	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃			
Resto de Asturias	Cangas del Narcea	Cangas del Narcea	Fondo	Rural	PM ₁₀		SO ₂	NO _x	CO	O ₃		
	Niembro	Llanes	Fondo	Rural	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂	NO _x		O ₃		

Figura 3. Estaciones de la Red de control de calidad del aire del Principado de Asturias.

En el riesgo profesional se tenía en cuenta el tipo de actividad realizada y si tenía contacto con sustancias tóxicas: conductor de camiones, cristalero, chófer, encolador, exterminador de plagas, fontanero, higienista, jardinero, manipulador de animales, mecánico, operador caldera, pintor, reparador aparatos eléctricos, soldador, técnico de laboratorio, peluquería) .

Las profesiones consideradas de riesgo son las recogidas en la “Guía de Profesiones” dentro de la Enciclopedia de Salud y Seguridad en el trabajo (página web del Instituto Nacional de Seguridad, Salud y Bienestar en el Trabajo, www.insht.es) además de tener en cuenta determinadas exposiciones: metales, disolventes orgánicos, plaguicidas, etc (95).

Para valorar la actividad física se utilizó el anexo III, tanto en hombres como en mujeres, se recurrió a los índices validados por National Research Council (Recommended dietary allowances. National Academy Press, Washington D.C, 1989). Para el cálculo de estos índices se tuvo en cuenta la tasa metabólica basal o en reposo (TMR) además del tiempo destinado por cada participante del estudio a realizar diferentes tareas, de este modo se obtenía un valor numérico que posteriormente se dividía entre 24 (horas) y así obteníamos el factor medio de actividad física, que es una variable cuantitativa que se relaciona de manera directa con el nivel de actividad física. Ver anexo III.

Los consumos de tabaco, alcohol o consumo crónico de medicación se consideraban como una variable dicotómica (sí/no).

La recogida de datos referentes a la alimentación se planteó como una exploración de los hábitos alimentarios de los participantes, mediante un cuestionario de frecuencia de consumo de diferentes alimentos, así como un recordatorio de 24 horas , que era útil como método de validación interna. Ver anexo IV.

El cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos está validado en una población similar a nuestro entorno, permitiendo valorar en general el consumo de grupos de alimentos, energía y macronutrientes con adecuada reproducibilidad y validez (94).

Los datos se expresaron como frecuencia semanal (número de veces en que se consumía determinado alimento en una semana) y, dada la gran cantidad de alimentos analizados, se agruparon en diferentes grupos *a posteriori* según su contenido en vitaminas (vitamina A, vitamina E, vitamina B6 y vitamina B12). Se eligieron estas vitaminas por sus conocidas propiedades antioxidantes, especialmente la vitamina A y la E y por el papel de las vitaminas del complejo B en la regeneración del ácido fólico.

Los valores del aporte vitamínico en nuestros pacientes se estimó utilizando la frecuencia de consumo de verduras, para la vitamina A, de hortalizas de hoja verde y huevo, para la vitamina E, de carne y verduras, para la vitamina B6 y de lácteos, huevos, carne y pescado, para la vitamina B12.

Además también se agruparon los alimentos según un contenido más rico en hidratos de carbono, considerando la suma de los siguientes alimentos del cuestionario: cereales, arroz, pasta, pan, repostería y bollería, y según un patrón más proteico, considerando la suma de los siguientes alimentos del cuestionario: legumbres, huevos, pollo o pavo, carne roja, pescados y mariscos y jamón.

3.6.3. VALORACIÓN DE LAS VARIABLES

Según la variable estudiada durante el proceso reproductivo (variables relativas a gametos, embriones o resultados reproductivos) se estudiaron personas si se trataba de un momento previo a la fertilización o parejas si nos encontrábamos después de ese momento. En el caso de las mujeres sin pareja, al no tener datos del donante por ser anónimo, se consideró solo la información relativa a la mujer. Presuponemos que el donante tiene buena calidad seminal y que lleva a cabo un estilo de vida saludable.

Por las características del tratamiento, cuando acudían a la consulta para un control ecográfico, devolvían el cuestionario cubierto. Una vez realizado el tratamiento el resto de las variables a analizar se recogen de la historia clínica.

3.7. TRATAMIENTO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Los pacientes que acudieron a la consulta de la Unidad de Reproducción Asistida (URA) podían ser mujeres solas o parejas que ya habían completado el estudio de esterilidad tras un mínimo de un año intentando conseguir gestación. Estos estudios se llevaron a cabo en la consulta de esterilidad del mismo centro o en otros centros periféricos de la región, de manera que en la URA propiamente dicha se completaban si es necesario con pruebas adicionales y se valoraba el tratamiento más indicado.

Los tratamientos realizados a nuestra población en estudio fueron los siguientes:

- Fecundación in Vitro:

Surgió para dar solución a la patología tubárica severa y consiste en la fertilización en el laboratorio de los ovocitos al ponerlos en contacto con una concentración de espermatozoides de 10^5 emp/ml y continuar con el cultivo embrionario *in vitro* hasta el momento de la transferencia.

- ICSI:

Inyección intracitoplasmática de espermatozoides. Surgió para los factores masculinos severos y hoy en día es la técnica más extendida. Consiste en la inyección de los ovocitos con espermatozoides seleccionados y cultivo *in vitro* de embriones hasta el momento de la transferencia.

3.7.1. ESTIMULACIÓN OVÁRICA

Las pacientes se sometieron a un protocolo de estimulación ovárica para aumentar el número de folículos, de ovocitos y embriones y así poder incrementar las posibilidades de éxito (96) (97). Un número óptimo de embriones permitirá seleccionar los mejores para poder así transferirlos o criopreservarlos (98).

El protocolo de estimulación corto, que fue el que se utilizó en el estudio, se inicia en el momento de la menstruación.

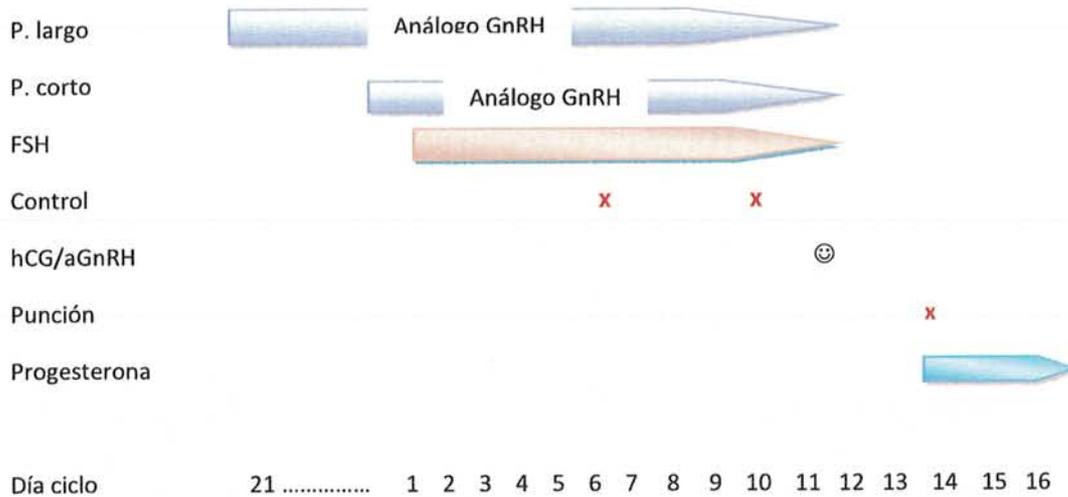


Figura 4. Protocolos de estimulación ovárica.

Se administraban análogos de la GnRH (aGnRH) como método de regulación negativa de la hipófisis para impedir la ovulación y luteinización prematura. Estos fármacos pueden ser:

1. **Agonistas de la GnRH** → Antes de producir inhibición se produce una activación. Por eso es necesario administrarlos de una manera temprana. Se utilizan mucho en el protocolo largo. Se comprueba a los 14 días la supresión de la hipófisis para así poder iniciar la estimulación ovárica propiamente dicha.

En el protocolo corto la administración del agonista y de la gonadotropina comienzan simultáneamente.
2. **Antagonistas de la GnRH** → Tienen una acción rápida, por ello se administran días previos a la fase ovulatoria, que es cuando podría darse el pico endógeno de LH y alterar la eficacia del ciclo.

El agonista utilizado fue decapeptyl[®] 0,1 mg y los antagonistas cetrotide[®] 0,25 mg y orgalutran[®] 0,25 mg.

Las gonadotropinas administradas exógenamente podían ser FSHr: ovaleap[®] 900, 450 o 300 UI, elonva[®] 150 o 100 µg, gonal[®] 1050, 900, 450 o 300 UI, puregon[®] 900, 600 o 300 UI, bemfolá[®] 300, 225, 150, 75 UI, pueden contener también LH: luveris[®] 75 UI, pergoveris[®] 75 UI, fostipur[®] 150 o 75 UI, menopur[®] 1200, 600 o 75 UI y merioferti[®] 75 o 150 UI.

Para completar este arsenal terapéutico, la hCG utilizada fue Ovitrelle[®] 250 µg (99).

La dosis de gonadotropinas empleada dependía de la respuesta esperada en función de los resultados de ciclos previos, IMC, edad y determinaciones hormonales.

La respuesta ovárica se controló a partir del 5º día, mediante estudios ultrasonográficos (Toshiba[®] Nemio 20) y determinaciones de los niveles de estradiol (inmunoensayo competitivo de electroquimioluminiscencia, que emplea dos anticuerpos monoclonales específicamente dirigidos contra el 17β estradiol) y progesterona (inmunoensayo tipo competitivo de electroquimioluminiscencia, que emplea un anticuerpo monoclonal dirigido específicamente contra la progesterona humana) . Este control es necesario para dosificar las unidades de gonadotropinas y para evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica.

Cuando se observan 3 o más folículos de más de 17 mm se indica la punción folicular. La hCG es indispensable para la maduración final de los folículos y aplicábamos el intervalo estándar entre la administración de hCG y la punción que era de 36 horas. Durante la monitorización del desarrollo folicular se valoró también el grosor endometrial y el aspecto del mismo con arreglo a los tres patrones ecográficos descritos en la literatura (100).

3.7.2. RECUPERACIÓN DE OVOCITOS

La recuperación de los ovocitos por vía transvaginal y guiada por ecografía se realizaba aproximadamente a las 35 o 36 horas de la administración de la hCG (confirmación de la paciente previa a la punción folicular).

Es una técnica quirúrgica que consiste en puncionar el ovario a través de la pared vaginal y vaciar el contenido folicular (aspirador Cook ® Vacuum pump). Se utilizaba ecógrafo 2D con sonda vaginal de 7,5 MHz a la que se ajustaba una guía de punción desechable por la que se introducía una aguja de 17G (Cook 17 G®).

Se realizaba bajo sedación anestésica.

Se registraban el número de folículos puncionados en cada ovario así como el de ovocitos obtenidos y la existencia de posibles incidencias.

Los líquidos así obtenidos se pasaban al laboratorio, donde se llevaba a cabo el examen con estereomicroscopio (Leica ® M125) y la captación de los ovocitos en campana de flujo laminar (IVF Tech ®). Los ovocitos así recuperados se lavaban y se dejaban en reposo en medio de cultivo "*fertilization medium*", Cook ®, durante un período de 2-3 horas en incubadores con condiciones controladas, CO₂ 6% y 37°C (Heraeus ® Heracell 150i). Pasado este tiempo los ovocitos podían tener dos destinos:

- Decumulación con hialuronidasa (80 UI/ml) para posteriormente microinyectarlos.
- Evaluación de los cúmulos-ovocitos para posteriormente inseminarlos si existe indicación para la técnica de FIV clásica.

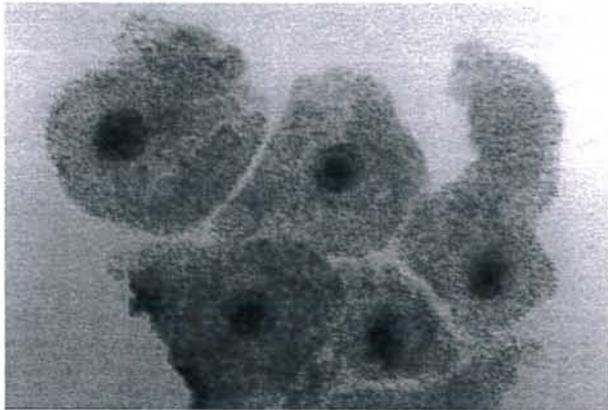


Figura 5. Ovocitos con granulosa recién recuperados de la punción folicular



Figura 6. Ovocitos en distinto estadio madurativo: profase I o vesícula germinal, metafase I y metafase II

3.8. LABORATORIO FIV

El laboratorio de FIV y el quirófano estaban contiguos para evitar cambios bruscos de temperatura que pudieran afectar a los gametos y embriones. Las superficies de trabajo estaban calefactadas para minimizar el contacto con la temperatura ambiente.

Las punciones para extraer los ovocitos tenían lugar a primera hora de la mañana y los sémenes se entregaban en el laboratorio a las 11 de la mañana. La entrega de muestras seminales la realizaba el varón, aportando datos referentes a la obtención de la muestra así como su identificación. La muestra iba identificada con los datos de la mujer a la que se le había realizado la punción folicular.

La recogida seminal por parte de los varones se llevaba a cabo en bote estéril identificado con los datos de la mujer. En casos de biopsias testiculares o muestras procedentes de donantes los especímenes estaban congelados y se procedía a la descongelación en el laboratorio.

La preparación de los sémenes tenía lugar mediante la técnica de *swim-up* consistente en lavado y centrifugación, con el fin de recuperar el mayor número de espermatozoides con movilidad progresiva, utilizando el medio de cultivo "gamete" (Cook®).

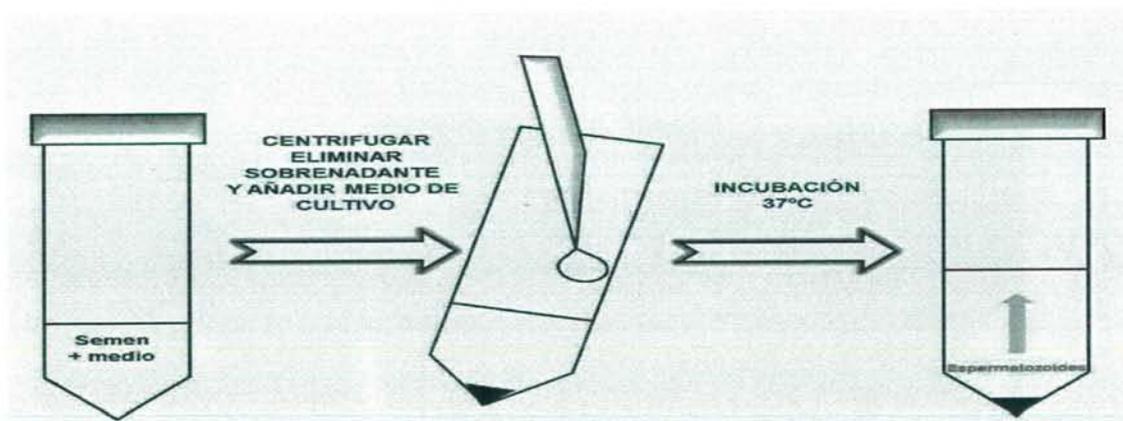


Figura 7. Técnica de swim up de preparación seminal.

Existen dos técnicas para la fecundación de los ovocitos.

- Inseminación convencional (FIV):

Consiste en poner en contacto unos 100000 espermatozoides de movilidad progresiva con los ovocitos sin decumular, es decir, con todas las células de la granulosa presentes. La hacíamos cuando la muestra seminal era de buena calidad, es decir, cuando tenía más de 5 millones de espermatozoides de movilidad progresiva por ml.

- ICSI (microinyección intracitoplasmática):

Es la inyección de un espermatozoide en el interior del citoplasma del ovocito. En este caso el ovocito estaba preparado eliminando las células de la granulosa con hialuronidasa. Los equipos utilizados para realizar la microinyección fueron por un lado

los micromanipuladores Nikon® y Leica® acoplados a los micromanipuladores Nikon Narishige® y Eppendorf®, respectivamente.

Independientemente del método utilizado, los ovocitos inseminados se guardaban en su medio de cultivo en las incubadores a 37° y 6% CO₂.

Al día siguiente, entre 17 y 20 horas post inseminación se evaluaba la fertilización. En el caso de la FIV clásica, se debían eliminar en este momento las células de la granulosa.

Se daban por bien fertilizados y, por tanto, continuaban el cultivo embrionario, los ovocitos en los que se visualizaban dos pronúcleos y dos corpúsculos polares.

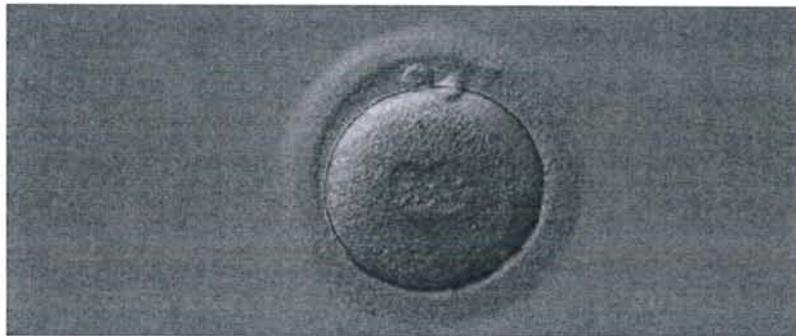


Figura 8. Ovocito correctamente fertilizado con sus dos pronúcleos y dos corpúsculos polares.

Generalmente los embriones se mantenían dos o tres días en cultivo hasta el momento de la transferencia y se evaluaban cada 24 horas.

3.9. CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA

Existen diferentes alternativas para seleccionar el mejor embrión para transferir. Esto es importante a la hora de decidir transferir un único embrión y criopreservar el resto de embriones evolutivos, con el fin de minimizar el riesgo de embarazo múltiple.

Entre las diferentes estrategias de selección nosotros elegimos la morfológica y seguimos la clasificación de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR) (101) (102).

Los embriones se podían clasificar en 4 categorías: A, B, C y D, siendo los dos primeros los de mejor calidad y los que más capacidad de implantación poseen.

La transferencia solía realizarse en día +2 o día +3, dependiendo fundamentalmente del número de embriones que cada pareja/mujer poseían en cultivo (si el número era menor o igual a 3 se transferían en día +2).

Aunque existe cierto acuerdo sobre qué es un buen embrión y un mal embrión, el consenso entre laboratorios para categorías intermedias es muy difícil de alcanzar. De ahí la importancia de realizar controles intra e interlaboratorio para reducir las diferencias, tanto entre los embriólogos de un mismo centro como entre los distintos laboratorios, así como de aplicar correctamente la clasificación embrionaria y las recomendaciones. La clasificación de ASEBIR tiene valor pronóstico tanto para la tasa de implantación como para la tasa de recién nacido vivo, ya que ambas aumentan gradualmente al aumentar la categoría (máximas en calidad A y mínimas en calidad D (102).

Los parámetros evaluados en día +2 y +3 fueron los siguientes:

- Número de células y ritmos de división
- Porcentaje y tipo de fragmentación celular
- Tamaño de las blastómeras estadio-específico
- Visualización de núcleos y grado de multinucleación

- Anomalías citoplasmáticas: anillo acitoplasmático, vacuolas, moteado
- Forma de la blastómera
- Zona pelúcida
- Grado de compactación/adhesión temprana

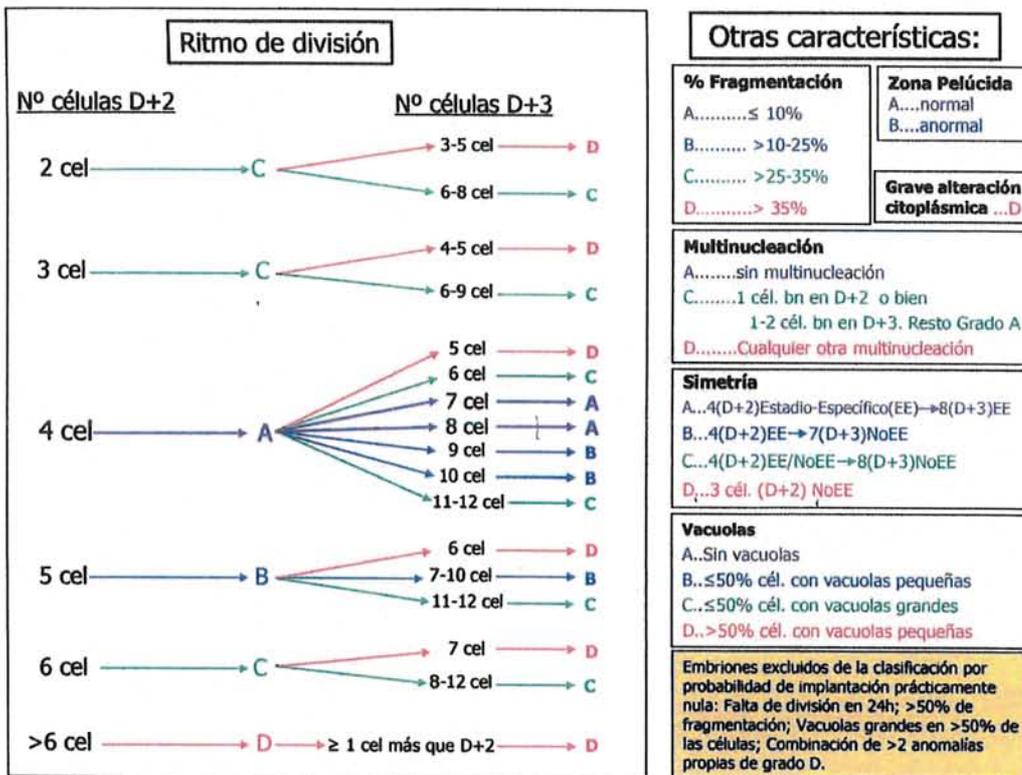


Figura 9. Esquema de categorización de los embriones según su morfología y su ritmo de división.

3.10. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

La transferencia embrionaria es la última fase de todo este proceso y contribuye de una manera decisiva al resultado final (103).

Según el número de embriones viables y el deseo de los pacientes, se transferían 1 o 2 embriones.

En nuestra unidad la transferencia se llevaba a cabo de un modo ecoguiado. El ginecólogo introducía el catéter de transferencia Cook Guardia Access Embryo Transfer Catheter® y el embriólogo depositaba los embriones en un lugar cerca del "*fundus*".

Se trataba en todo momento de evitar manipulación del endometrio y el uso de cánulas rígidas tipo Fryedman®.

Para facilitar la técnica la paciente recibía unas instrucciones precisas entre las que se encontraban acudir a la transferencia con la vejiga llena además de tomar la progesterona pautaada para mantenimiento de la fase lútea de manera oral la noche previa a la transferencia y ese día por la mañana.

Uno de los factores importantes es preveer las dificultades que puedan aparecer en este momento tan decisivo. Es por ello que previamente se realizaba una prueba de transferencia en la consulta.

En el caso de no tener las mejores condiciones para transferir (sangrado, extrema dificultad, riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica, etc.) siempre se optaba por criopreservar los embriones por medio del proceso de vitrificación para posteriormente transferirlos una vez solucionado el problema.

Una vez realizada la transferencia la paciente podía continuar con su vida normal, aunque sí recomendábamos evitar los ejercicios muy intensos.

Para ayudar al adecuado mantenimiento de la fase lútea se le pautaaba a la paciente progesterona vía vaginal desde el día de la punción hasta el día en que realizaba el test de embarazo, y de estar embarazada durante unas 10 semanas, aunque existe

controversia en este período según los distintos grupos de trabajo (104)(105) (106) (107).

A las dos semanas de la transferencia le indicábamos que se podía realizar un test de embarazo en su domicilio y avisarnos del resultado. Sea cual sea el resultado todas las pacientes volvían a la consulta y en caso de test positivos se realizaba una ecografía a la 6-7 semana de gestación. Considerábamos gestación bioquímica la presencia de test de embarazo hCG positivo junto con ausencia de signos ecográficos de gestación, gestación clínica si había saco gestacional intraútero y aborto la pérdida fetal antes de la semana 20 de gestación.

3.11. CRIOPRESERVACIÓN EMBRIONARIA

En todos los ciclos en los que se obtenían embriones excedentes de buena calidad morfológica se llevaba a cabo la criopreservación de los mismos para posibles transferencias futuras , en caso de no conseguir embarazo con embriones en fresco (108).

También se criopreservaban los embriones cuando no fue posible realizar la transferencia.

El método de criopreservación era el de vitrificación, utilizando los medios de cultivo Rapid-i Cleave Vit Vitrolife[®]. Cada kit de vitrificación poseía 3 medios con concentraciones ascendentes de crioprotector (108).

Se utilizó el protocolo estándar que recomienda el fabricante con los siguientes tiempos de incubación en cada uno de los medios:

Medio de vitrificación 1 → De 5 a 10 minutos

Medio de vitrificación 2 → 2 minutos

Medio de vitrificación 3 → 30 segundos

Una vez completado el protocolo se colocaban los embriones en pajuelas de seguridad Rapid-i kit Vitrolife[®], para posteriormente almacenarlos en los contenedores de nitrógeno líquido de la Unidad.

3.12. VARIABLES DEL ESTUDIO

Se realizó un registro en un cuaderno electrónico de recogida de datos mediante una hoja Excel.

VARIABLES PARA AMBOS MIEMBROS DE LA PAREJA:

- Edad
- Sexo
- Diagnóstico
- Profesión
- Lugar de nacimiento
- Lugar de residencia
- Frecuencias semanales de consumo de alimentos
- Presencia de hábito tabáquico
- Consumo de alcohol
- Actividad física diaria: factor medio de actividad física

VARIABLES ESPECÍFICAS PARA EL VARÓN:

- Recuento o concentración de espermatozoides en millones de espermatozoides/ml
- Porcentaje de espermatozoides de movilidad progresiva o tipo a
- Volumen seminal en ml

VARIABLES ESPECÍFICAS PARA LA MUJER:

- Dosis total de gonadotropinas utilizada en UI
- Nº ovocitos obtenidos
- Porcentaje ovocitos maduros (MII)

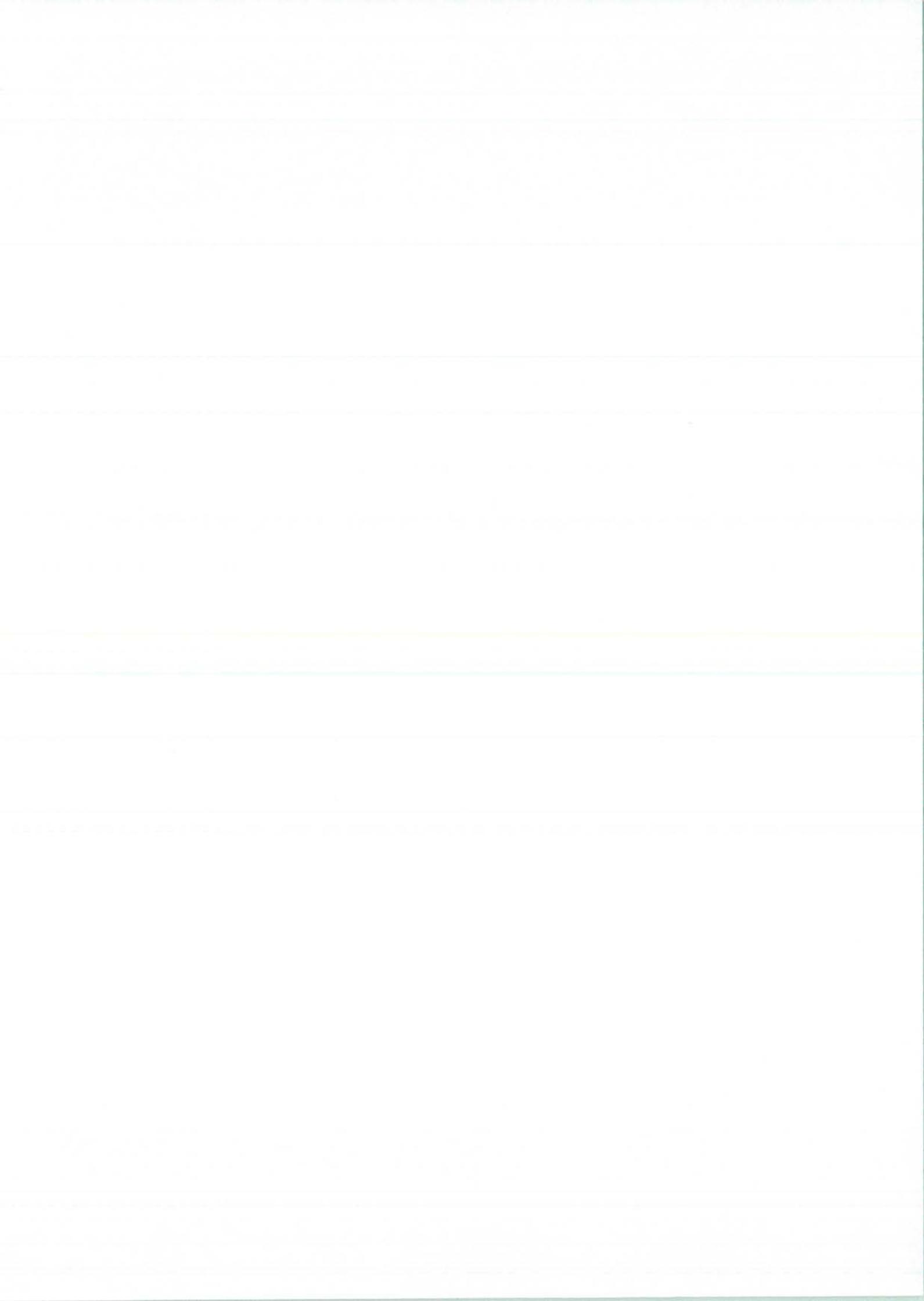
VARIABLES POSTCIGÓTICAS:

- Tasa de fertilización: Porcentaje de ovocitos con dos corpúsculos polares y dos pronúcleos tras haber pasado 16-20 horas después de la FIV/ICSI
- Proporción de embriones de buena calidad (A y B) según la clasificación embrionaria de la asociación para el estudio de la biología de la reproducción (ASEBIR)
- Tasa de implantación: Nº sacos gestacionales/nº embriones transferidos (98)
- Tasa de gestación clínica: Nº de pacientes que presentan por ecografía embrión con latido fetal positivo a las cinco semanas de la transferencia embrionaria/ nº de ciclos de tratamiento.
- Tasa de aborto: Nº pérdidas gestacionales antes de la semana 20/ nº test embarazo positivo

3.13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis descriptivo proporcionando distribuciones de frecuencias para variables cualitativas y medidas como la media, mediana, valores mínimo y máximo y cuartiles para variables cuantitativas. Se estudió la relación lineal entre variables cuantitativas a través del coeficiente de correlación de Spearman o de Pearson y del test asociado. Para valorar las diferencias de una variable cuantitativa en función de una cualitativa con 2 categorías se empleó el test t de Student o el test de Wilcoxon para muestras independientes, según se verificara o no la hipótesis de normalidad o tamaño de muestra suficiente.

El análisis estadístico se efectuó mediante el programa R (R Development Core Team), versión 3.4.3. *R: A language and environment for statistical computing [Manual de software informático]. Vienna, Austria. Disponible en <http://www.r-project.org/> (ISBN 3-900051-07-0)*



4. RESULTADOS

4.1. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES ANALIZADAS

La descripción de las variables que expresan las características de la muestra de pacientes del estudio, previas al tratamiento FIV/ICSI se muestran en las **tablas 4 y 5**.

4.2. RESULTADOS COMPARATIVOS

4.2.1. RELACIÓN ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA Y ABORTO

4.2.1.1. RELACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS TÓXICAS Y LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA Y ABORTO

La tasa de gestación clínica global en todos los grupos fue de 23,7%.

Hemos dividido a las parejas en tres grupos:

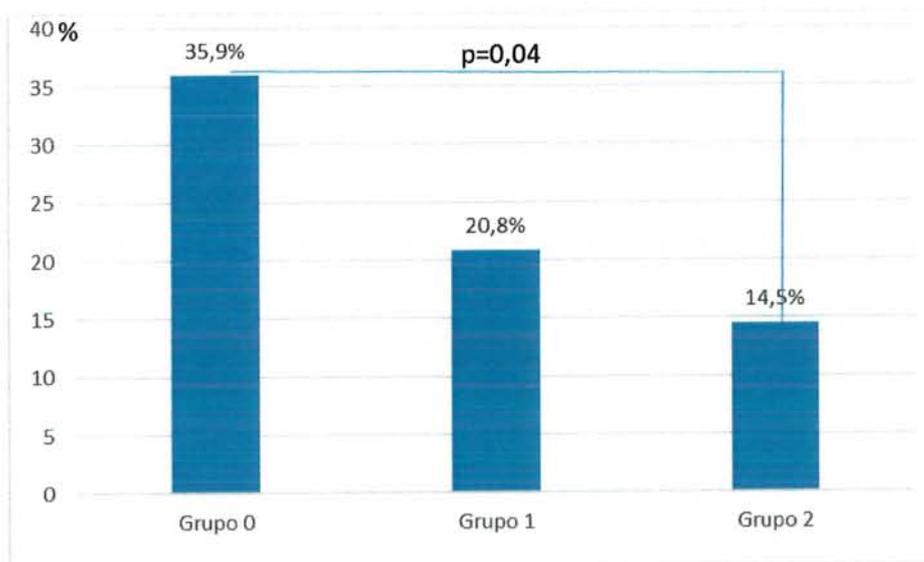
Grupo 0: Ninguno de los miembros de la pareja está sometido a exposición a sustancias tóxicas.

Grupo 1: Uno de los dos miembros está expuesto a sustancias tóxicas

Grupo 2: Los dos miembros de la pareja están expuestos a sustancias tóxicas

Tal como se muestra en la figura 10, las parejas del grupo 0 tenían más tasa de gestación clínica que las del grupo 1 y, a su vez, estas poseían mayor tasa de gestación clínica que las del grupo 2.

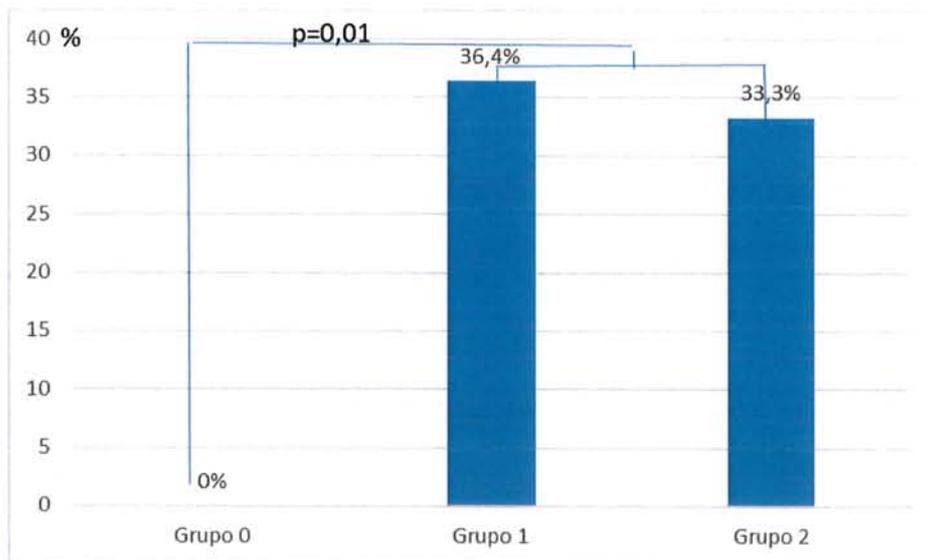
Figura 10. Relación entre la tasa de gestación clínica y la exposición a sustancias tóxicas.



Chi- cuadrado de Pearson. $p = 0,04$. Grupo 0: parejas en las que ningún miembro de la pareja estaba expuesto a sustancias tóxicas. Grupo 1: parejas en las que un miembro de la pareja estaba expuesto a sustancias tóxicas. Grupo 2: parejas en las que ambos miembros estaban expuestos a sustancias tóxicas.

Al analizar cada tipo de exposición por separado no se encontraron diferencias significativas. Estos resultados se muestran en la **tabla 6** del apartado Tablas.

También se observó relación entre la exposición a sustancias tóxicas (al menos uno de los siguientes: medio urbano, riesgo profesional, tabaco, alcohol, medicación crónica) y aborto (test de Fisher, $p=0,01$). Figura 11.

Figura 11. Relación entre la tasa de aborto y la exposición a sustancias tóxicas.

Test de Fisher. Los resultados se expresan en porcentaje. Grupo 0: parejas en las que ningún miembro de la pareja estaba expuesto a sustancias tóxicas. Grupo 1: parejas en las que un miembro de la pareja estaba expuesto a sustancias tóxicas. Grupo 2: parejas en las que ambos miembros estaban expuestos a sustancias tóxicas.

Analizando por separado cada una de las diferentes exposiciones a sustancias tóxicas, se observó relación significativa de la tasa de aborto con el consumo de alcohol y con el riesgo profesional de las parejas. Estos resultados se muestran en la **tabla 7**.

4.2.1.2. RELACIÓN ENTRE EL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA Y LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA Y ABORTO

No se han encontrado diferencias entre el nivel de actividad física en las mujeres que conseguían embarazo y las que no, ni en las que sufrían un aborto de las que no. La prueba realizada fue el test de Wilcoxon para el análisis de las gestaciones clínicas y el test de Welch para el análisis de los abortos (**tabla 8**).

4.2.1.3. RELACIÓN ENTRE LOS DISTINTOS HÁBITOS ALIMENTARIOS Y LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA Y ABORTO

Analizando los diferentes alimentos consumidos por ambos miembros de la pareja, se encontraron relaciones negativas entre el consumo de legumbres, carnes rojas y proteínas con la tasa de gestación clínica. También se vio relación positiva entre el consumo de chocolate y verduras con la tasa de aborto.

El test estadístico empleado fue el de Wilcoxon.

El resto de alimentos analizados no mostraron relación con estas dos variables.

Los resultados se muestran en la **tabla 9**.

4.2.2. RELACIÓN ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA CALIDAD OVOCITARIA

4.2.2.1. RELACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS TÓXICAS Y LA TASA DE MADUREZ

La tasa media de madurez fue de 85,8 (SD:15,70).

Se estudió la relación entre la exposición a tóxicos y la tasa de madurez mediante el test de Wilcoxon sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas. Los resultados se muestran en la **tabla 10**.

4.2.2.2. RELACIÓN ENTRE EL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA Y LA TASA DE MADUREZ

Se analizó la relación entre la actividad física (factor medio de actividad física calculado) de las mujeres analizadas y la madurez ovocitaria mediante la correlación de Pearson y se encontró una correlación positiva de 0,235 con una significación estadística de 0,006 (**tabla 11**).

4.2.2.3. RELACIÓN ENTRE LOS DISTINTOS HÁBITOS ALIMENTARIOS Y LA TASA DE MADUREZ

Los diferentes patrones de alimentación no mostraron diferencias en la tasa de madurez ovocitaria en las mujeres analizadas (**tabla 11**).

4.2.3 RELACIÓN ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LOS PARÁMETROS SEMINALES

4.2.3.1. RELACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS TÓXICAS Y LOS PARÁMETROS SEMINALES

Se analizaron los distintos factores que conllevaban una exposición a sustancias tóxicas y su relación con los parámetros seminales.

Se utilizó fundamentalmente el test t de Student y también el test de Welch para valorar la influencia del tabaco en el volumen seminal y el test de Wilcoxon para valorar la influencia del consumo crónico de sustancias/medicamentos en el volumen seminal.

El volumen seminal se vio afectado por el hábito tabáquico ($p=0,021$) y por el consumo de otras sustancias o tratamientos crónicos ($p=0,029$), ambos consumos se mostraron perjudiciales. No mostró diferencias por el consumo de alcohol o por el hecho de vivir en un medio rural o urbano.

El hecho de vivir en un medio rural o urbano, si bien no afectaba a otros parámetros, sí que evidenció diferencias significativas en el porcentaje de espermatozoides de movilidad progresiva ($p=0,046$), resultando beneficioso el medio rural.

El riesgo profesional en varones tampoco ha mostrado relación con los parámetros seminales. Los resultados se muestran en la **tabla 12** del apartado tablas.

4.2.3.2. RELACIÓN ENTRE EL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA Y LOS PARÁMETROS SEMINALES

Los parámetros seminales no mostraron diferencias significativas en varones con distintos niveles de actividad física calculado mediante el factor medio de actividad física (**tabla 13**). El test estadístico realizado fue una correlación de Pearson.

4.2.3.3. RELACIÓN ENTRE LOS DISTINTOS HÁBITOS ALIMENTARIOS Y LOS PARÁMETROS SEMINALES

Mediante estudios de correlación se observó que existe una correlación significativa entre algunos parámetros seminales y una alimentación donde predominen alimentos ricos en ciertas vitaminas especialmente las que tienen una importante función antioxidante.

Concretamente, una correlación positiva entre el porcentaje de espermatozoides de movilidad progresiva o tipo a y la frecuencia de consumo de alimentos ricos en vitamina B6 y vitamina E. Coeficientes de correlación de Pearson y significación: 0,232 ($p=0,010$), 0,2 ($p=0,027$), respectivamente.

El volumen seminal mostró correlación positiva con los alimentos ricos en vitamina E, en hidratos de carbono y con la combinación de cereales, vegetales y fruta. Coeficientes de correlación y significaciones: 0,185 ($p=0,041$), 0,246 ($p=0,006$), 0,184 ($p=0,041$), respectivamente.

La frecuencia de consumo de vino mostró una correlación positiva con el volumen seminal de 0,185 ($p=0,020$).

Estos resultados se muestran en la **tabla 14**.

4.2.4. RELACIÓN ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA TASA DE FERTILIZACIÓN

4.2.4.1. RELACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS TÓXICAS Y LA TASA DE FERTILIZACIÓN

No se encontró relación entre los distintos factores que suponen exposición a sustancias tóxicas analizados y la tasa de fertilización (**tabla 15**).

4.2.4.2. RELACIÓN ENTRE EL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA Y LA TASA DE FERTILIZACIÓN

No se encontró correlación entre el nivel de actividad física de las parejas y la tasa de fertilización, tal y como se muestra en la **tabla 16**.

4.2.4.3. RELACIÓN ENTRE LOS DISTINTOS HÁBITOS ALIMENTARIOS Y LA TASA DE FERTILIZACIÓN

Se analizó mediante la correlación de Pearson si existía alguna correlación entre la frecuencia de consumo de determinados alimentos de la pareja con la tasa de fertilización. Los resultados se muestran en la **tabla 16**.

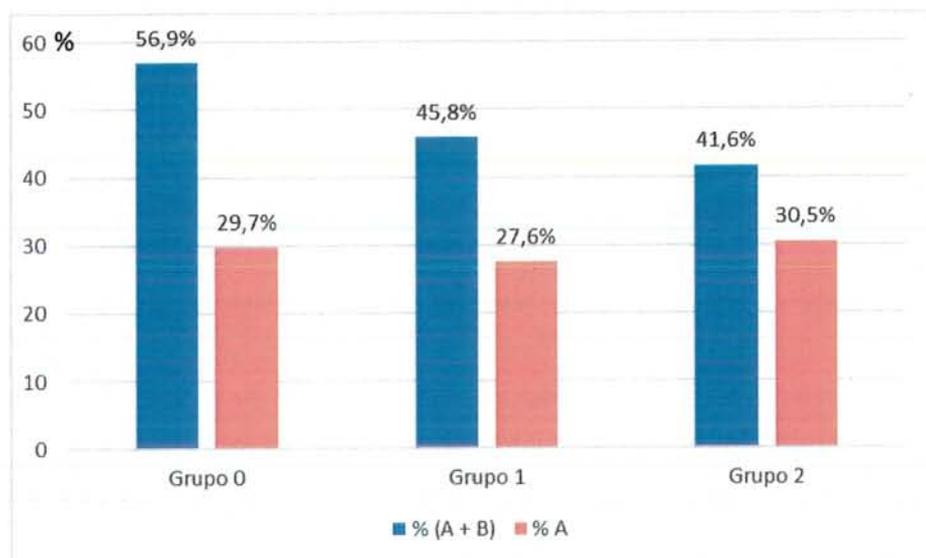
Se encontró correlación negativa entre la frecuencia de consumo por parte de las parejas de chocolate, pollo y carnes rojas con la tasa de fertilización, con unos coeficientes de correlación y significaciones de -0,184 ($p=0,027$), -0,197 ($p=0,018$) y -0,208 ($p=0,012$), respectivamente.

4.2.5. RELACIÓN ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA CALIDAD EMBRIONARIA

4.2.5.1. RELACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS TÓXICAS Y LA CALIDAD EMBRIONARIA

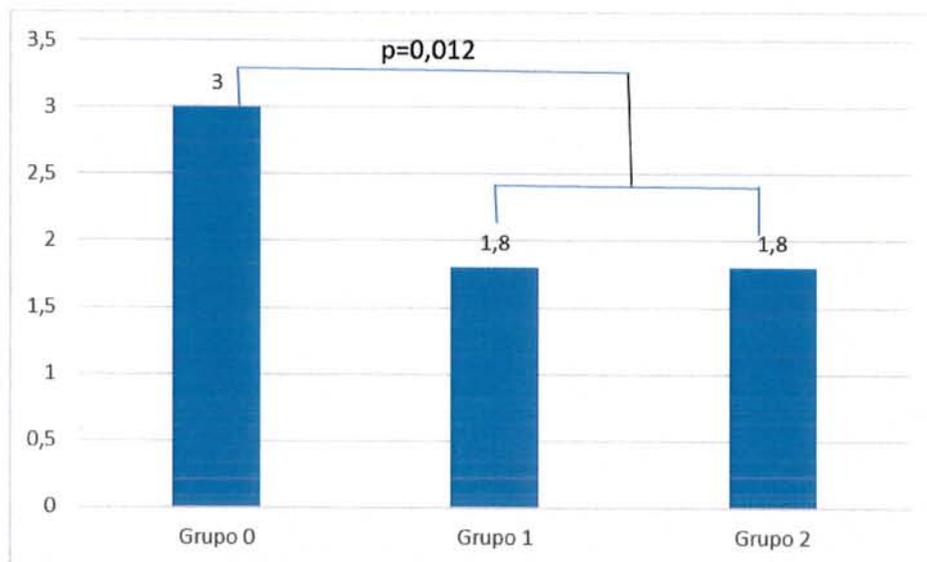
Se analizó la calidad embrionaria en los diferentes grupos, encontrándose una relación estadísticamente significativa negativa entre el número de embriones de calidad óptima (A y B) y la presencia de al menos un tipo de exposición a sustancias tóxicas de las estudiadas, tal y como se muestra en las figuras 12 y 13.

Figura 12. ANOVA de un factor. Relación de la presencia de al menos un factor de los estudiados como exposiciones a sustancias tóxicas y la calidad embrionaria.



% (A + B): porcentaje de embriones de calidad A y B sobre el total. %A: porcentaje de embriones de calidad A sobre el total. Sign % (A + B): $p=0,127$, Sign %A: $p=0,907$

Figura 13. ANOVA de un factor. Relación entre la presencia de al menos un factor de los estudiados como exposiciones a sustancias tóxicas y el número de embriones de calidad óptima.



Sign N° A y B: $p= 0,012$

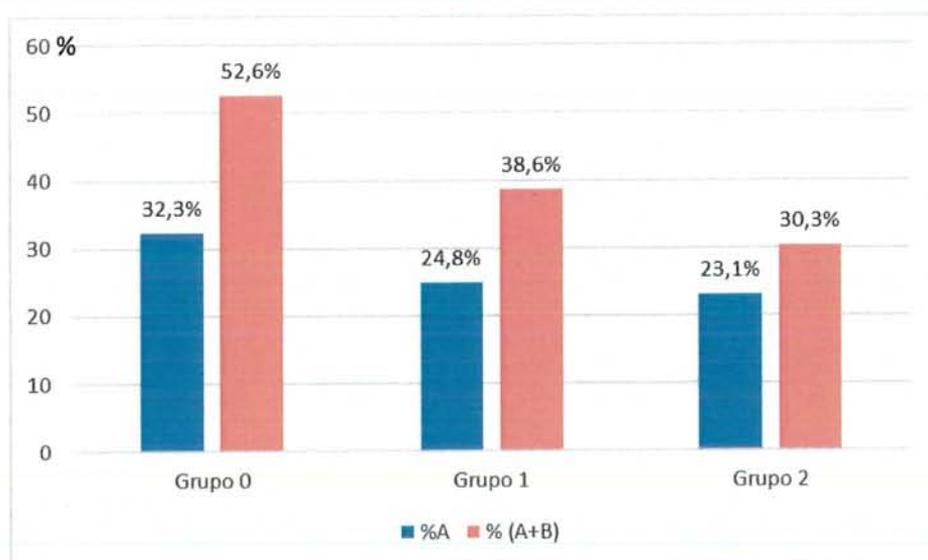
En la **tabla 17** del apartado tablas se muestran los resultados detallados.

Mediante métodos de comparaciones múltiples se encontró que el grupo 0 difiere significativamente de los grupos 1 y 2 (**tabla 18**).

Analizando cada factor ambiental por separado se observa que el hecho de tener un riesgo profesional por pasar la jornada en contacto con sustancias tóxicas también se relaciona de un modo estadísticamente significativo con el número y con el porcentaje de embriones de calidad óptima (A y B), como se refleja en la figura 14 y en la **tabla 19**.

El resto de las variables estudiadas: medio rural o urbano, tabaco, alcohol y sustancias/medicamentos no mostraron relación estadísticamente significativa con la calidad embrionaria (**tablas 20, 21,22 y 23**).

Figura 14. ANOVA de un factor. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas debido a un riesgo profesional y la calidad embrionaria.



Sign % A: $p=0,412$, sign % (A+B): $p=0,036$. Comparación del grupo 0 frente al grupo 1 y 2 para ambas variables.

4.2.5.2. RELACIÓN ENTRE EL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA Y LA CALIDAD EMBRIONARIA

No se encontró correlación entre los valores de los índices que indicaban el nivel de actividad física de las parejas o factor medio de actividad física y el porcentaje de embriones de calidad óptima. Los resultados de dichas correlaciones se muestran en la **tabla 24**.

4.2.5.3. RELACIÓN ENTRE LOS DISTINTOS HÁBITOS ALIMENTARIOS Y LA CALIDAD EMBRIONARIA

Los distintos patrones de alimentación, considerando frecuencias de consumo de distintos alimentos y grupos de alimentos con diferentes contenidos en vitaminas antioxidantes, no mostraron diferencias significativas entre los grupos con embriones de calidad óptima y los de calidad subóptima. Los resultados se muestran en la **tabla 25** del apartado Tablas. Correlación de Pearson.

4.2.6. RELACIÓN ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA TASA DE IMPLANTACIÓN

4.2.6.1. RELACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS TÓXICAS Y LA TASA DE IMPLANTACIÓN

No se observó ninguna relación entre la exposición a sustancias tóxicas por los diferentes factores analizados y la tasa de implantación. Los resultados se observan en la **tabla 26**.

4.2.6.2. RELACIÓN ENTRE EL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA Y LOS DISTINTOS HÁBITOS ALIMENTARIOS CON LA TASA DE IMPLANTACIÓN.

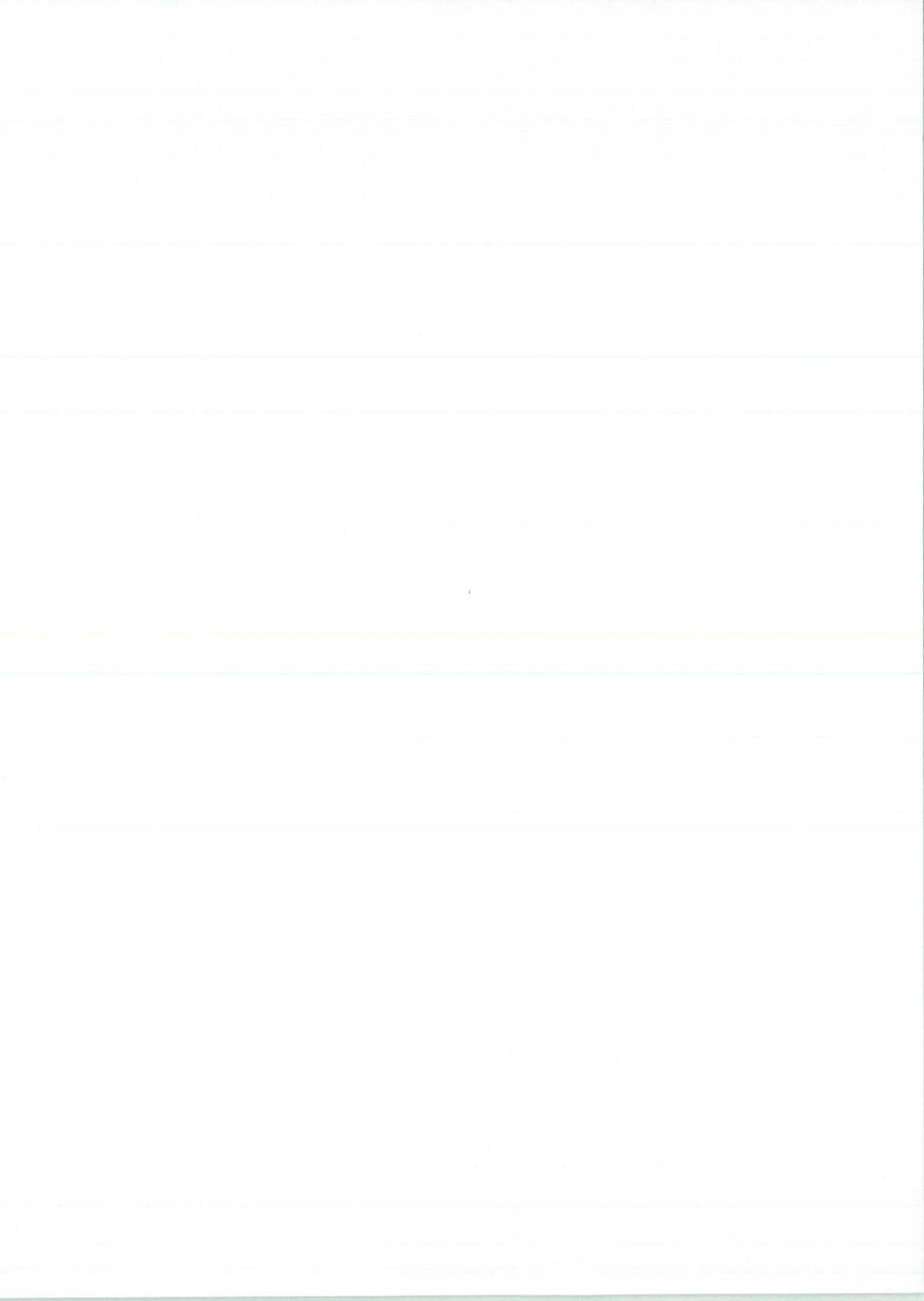
Mediante la correlación de Pearson, se estudiaron las relaciones de la actividad física según el factor medio de actividad física y los diferentes patrones alimentarios según la frecuencia de consumo semanal de determinados alimentos con la tasa de implantación. Las correlaciones encontradas se muestran en la **tabla 27**.

4.3. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Las características de los pacientes se analizaron de manera conjunta para determinar qué factores se relacionaban con unos mejores resultados en las TRA. Como variables independientes se consideraron aquellas con una significación $p < 0,20$ en el análisis previo. Los modelos se simplificaron empleando un algoritmo de selección paso a paso.

Se construyeron modelos lineales multivariantes para predecir cada una de las variables indicadas

En la **tabla 28** del apartado tablas se muestran los coeficientes obtenidos, así como sus p valores u odds ratio con el intervalo de confianza al 95%. Ver comentarios en la tabla.



5. DISCUSIÓN

5.1. IMPORTANCIA DE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS TÓXICAS EN EL ÉXITO DE LAS TRA Y SU IMPACTO EN LA GESTACIÓN CLÍNICA Y EL ABORTO

Los problemas de fertilidad son un importante problema de salud que afectan a entre un 8 y un 15% de la población (109). Existen causas que afectan solo al hombre, solo a la mujer o a ambos. Un número importante de pacientes presentan una esterilidad sin causa aparente y aquí podrían estar influyendo los factores ambientales en mayor o menor medida.

En España, la tasa de natalidad ha experimentado un descenso notable en los últimos años. Una de las razones de más peso para este hecho es la edad de la madre al momento de la concepción, pero puede ser que estén influyendo más factores, algunos de ellos modificables, como ciertos hábitos en el estilo de vida (110).

Según datos del Instituto Nacional de Estadística (www.ine.es) la tasa de fecundidad (nacidos/1000 mujeres) en el Principado de Asturias es de 29,9 (una de las más bajas del país junto con Galicia, Castilla León y Cantabria) mientras que la tasa global a nivel nacional es de 38,5. Estos datos ponen de manifiesto diferencias geográficas que podrían estar en relación con factores ambientales o hábitos de vida y alimentarios.

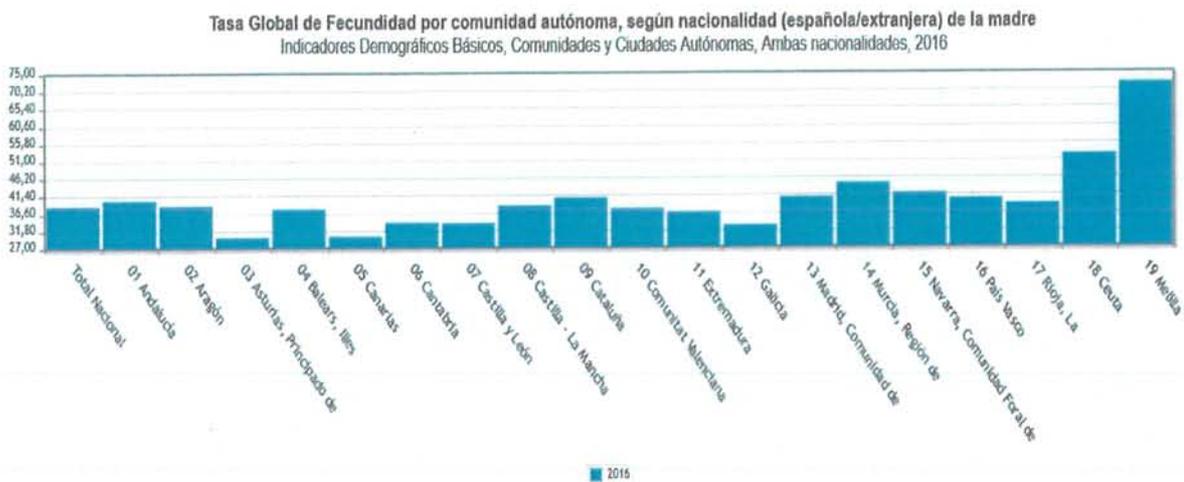


Figura 15. Gráfico de tasa global de fecundidad en España por Comunidades autónomas. Fuente: www.ine.es

De todos los factores ambientales analizados, concretamente la contaminación atmosférica, es uno de los que tradicionalmente ha preocupado especialmente en nuestra región, por las actividades industriales realizadas en la misma, por su posible implicación en la salud y, en concreto, en la fertilidad (111)

5.1.1. GESTACIÓN CLÍNICA Y TASA DE ABORTOS

En nuestro estudio se encuentra una reducción de la tasa de gestación clínica así como un aumento de la tasa de aborto en las parejas en las que existía al menos un factor de los analizados de exposición a sustancias tóxicas.

La tendencia encontrada a una menor tasa de gestación en pacientes con cierto riesgo profesional o consumidores de alcohol concuerda con estudios previos realizados en la población general (43) (111) (112) (113), si bien la literatura al respecto en pacientes sometidas a FIV es mucho más escasa y no existen datos en estudios relevantes al respecto.

Choe y cols (114) estudiaron una cohorte de manera retrospectiva de 6621 ciclos (4581 pacientes) en Seúl teniendo en cuenta la composición del aire en diferentes momentos importantes para el proceso reproductivo de los participantes y encontraron

asociación entre estos cinco contaminantes del aire: PM10, NO2, CO, SO2 y O3 y un descenso en la tasa de gestación y aumento en la tasa de aborto.

En nuestro caso, los niveles de PM10 y demás contaminantes son publicados por la Consejería de infraestructuras, ordenación del territorio y medio ambiente. En poblaciones como Avilés y Gijón, de donde procedía un 35% aproximadamente de la muestra se superaban los niveles recomendados de partículas en suspensión durante el período del estudio en unos 126 días, aproximadamente.

El mecanismo por el cual la polución produce un efecto deletéreo en la fertilidad permanece aún sin esclarecer y resulta difícil analizar compuestos concretos debido a las implicaciones éticas. Solo los estudios observacionales podrían llegar a encontrar asociación entre estos factores y la fertilidad alterada, por lo que es difícil encontrar evidencias en este terreno (114).

En el caso del aborto, también se encontró un aumento de la tasa de aborto en el grupo de parejas con riesgo profesional y con mayor consumo de alcohol (43) (115) (116). Ambas causas podrían relacionarse con alteraciones del estrés oxidativo (117). El mecanismo por el que aumentan los abortos en estas pacientes aún está sin esclarecer, pero se apunta además de a un aumento del estrés oxidativo a un incremento de la inflamación de la placenta (117).

En nuestro estudio el riesgo de aborto fue más alto cuando uno o ambos miembros de la pareja trabajaba en profesiones consideradas de riesgo. Kumar (118) realizó una revisión en la que se manifiesta la relación entre las pérdidas gestacionales y las exposiciones por motivos profesionales de mujeres a pesticidas, percloroetileno, tolueno y solventes orgánicos, entre otras sustancias.

5.1.2. CALIDAD OVOCITARIA Y PARÁMETROS SEMINALES

En cuanto al efecto de la exposición a sustancias tóxicas sobre la calidad de los gametos, hemos observado en nuestro una mayor susceptibilidad del gameto masculino a las sustancias tóxicas que del femenino.

En la contaminación ambiental considerada como residir en municipios con una densidad poblacional superior a 150 hab/km² además de en el tabaquismo, se observó una relación negativa con los parámetros de calidad seminal.

En este sentido, Santi D y cols (119) realizaron un estudio observacional prospectivo en el que analizaron una cohorte de varones en Módena (Italia). Analizaron 406 seminogramas y registraron variables como la temperatura del aire y la concentración de partículas en suspensión. La temperatura media del aire se relacionó inversamente con la concentración espermática ($p < 0,001$) y el número de partículas en suspensión en el aire se relacionó también con el número de espermatozoides y con el volumen ($p < 0,001$ en ambos casos), no así con la concentración ni con la movilidad. Es decir, se sugiere una influencia de la temperatura del aire en la calidad seminal, sin un efecto claro de las partículas en suspensión sobre la misma.

En la literatura revisada existe controversia, hay estudios que apoyan la influencia de la contaminación ambiental sobre la calidad seminal y otros que no ven un efecto claro (48) (49)(120). Esto podría explicarse por ser una célula mucho más sensible que el ovocito al estrés oxidativo (121) (122) (123). Algunos trabajos apoyan esta teoría al considerar los componentes de la membrana del espermatozoide un blanco fácil para las sustancias reactivas de oxígeno, además, el escaso contenido de citoplasma de esta célula limita la acción de los sistemas reparadores antioxidantes (121). Otros estudios en cambio manifiestan que los sistemas de los espermatozoides para soportar el daño oxidativo incluyen sistemas reparadores en el plasma seminal. El desequilibrio entre las sustancias oxidativas y antioxidativas determina los daños posteriores en el espermatozoide (124).

En lo referente a hábitos de vida que conllevan una exposición a sustancias tóxicas como el consumo de tabaco, este mostró relación con el volumen seminal, asociándose el consumo de tabaco con la disminución del mismo en ml. (69).

5.1.3. TASA DE FERTILIZACIÓN

No se observó relación entre la exposición a tóxicos debido al tipo de trabajo, lugar de residencia, tabaco, alcohol o consumo crónico de otras sustancias o medicamentos. No se encontró relación entre la tasa de fertilización y el nivel de ejercicio físico ni tampoco se han encontrado trabajos previos al respecto.

Una posible explicación podría ser que el proceso de fertilización en nuestro caso, ocurre íntegramente en el laboratorio, donde las condiciones del aire y de los medios de cultivo están extremadamente controladas y estandarizadas (125) (126). A pesar de la influencia de la calidad de los gametos sobre la tasa de fertilización, es difícil discernir si esta tasa sería exactamente igual in vivo que in vitro. Tsujii y cols (127) estudiaron la influencia de la composición de los medios de cultivo, concretamente las concentraciones de fructosa y glucosa en dichos medios, sobre las tasas de fertilización en ovocitos porcinos, resultando la suplementación con estos elementos beneficiosa.

5.1.4. CALIDAD EMBRIONARIA Y TASA DE IMPLANTACIÓN

En nuestro estudio se ha visto influencia negativa de la exposición a sustancias tóxicas sobre la calidad embrionaria. Existen estudios previos que valoran la influencia de ciertos elementos considerados compuestos volátiles orgánicos (etileno, etano, propeno, propano, butano, benceno, tolueno), sobre embriones animales, pero no existen tales estudios en humanos (128) (129) (130) (131).

Se vió asociación negativa entre el riesgo ocupacional y el porcentaje de embriones de calidad óptima. No se ha encontrado ningún estudio en humanos al respecto.

En principio, la tasa de implantación, así como la de nacido vivo por embrión transferido disminuyen con la categoría de embriones. Pons y cols (132) realizaron un estudio retrospectivo multicéntrico analizando 2678 embriones transferidos en día +3 y clasificados según el mismo criterio que hemos utilizado nosotros (42). Las tasas de implantación y de recién nacido vivo por embrión transferido en este estudio fueron máximas en los embriones de categoría A (25,3% y 21,7% respectivamente) y mínimas en los de categoría D (9,7% y 7,1%, respectivamente). A pesar de ello, en nuestro estudio no hemos encontrado relación entre la exposición a sustancias tóxicas y la tasa de implantación. En el proceso de implantación no solo influye la calidad del embrión, el papel del endometrio parece ser clave y en la capacidad receptiva del mismo influyen factores paracrinos y endocrinos, que aún no están del todo estudiados.

5.2. INFLUENCIA DEL EJERCICIO FÍSICO EN EL ÉXITO DE LAS TRA

5.2.1. GESTACIÓN CLÍNICA Y TASA DE ABORTOS

No hemos encontrado relación entre la tasa de gestación clínica y la tasa de abortos con los niveles de ejercicio físico y el resto de factores relativos al estilo de vida analizados: tabaco y alcohol. La literatura revisada al respecto no es del todo concluyente. Existen diversos estudios (133) (134) en los que se relaciona la resistencia a la insulina o un IMC elevado con los peores resultados reproductivos pero no tanto analizando únicamente el nivel de ejercicio físico.

Best y cols (134) incluyeron 40 estudios en un metaanálisis para evaluar la efectividad de la bajada de peso en parejas obesas para incrementar las tasas de gestación, 14 de los estudios eran ensayos clínicos randomizados. Se encontró que en mujeres, las dietas hipocalóricas y el ejercicio físico aumentaba la tasa de embarazo respecto al grupo control (OR 1,59, IC 95%: 1,01-2,50). En cambio, la tasa de aborto en este metaanálisis no se vio reducida en los grupos de estudio.

5.2.2. CALIDAD OVOCITARIA Y PARÁMETROS SEMINALES

El nivel de ejercicio físico mostró una correlación positiva con la tasa de madurez ovocitaria. No existen estudios que analicen esta relación, aunque sí que es ampliamente conocido el efecto de la obesidad como disruptor endocrino en la fisiología reproductiva, que podría estar relacionado con este resultado (135)(136).

En cambio el ejercicio físico no mostró en los varones influencia como en el caso de las mujeres (137) (138). Por un lado, en general el ejercicio físico se asocia con IMC correspondientes a normopeso y con un buen estado de salud general, pero también es cierto que hay autores como Vaamonde y cols (139) estudiaron tres grupos de sujetos: físicamente activos, jugadores de wáter polo y triatletas, encontrando que los triatletas tuvieron un menor recuento total de espermatozoides, una menor movilidad y un mayor porcentaje de formas anormales. Estos autores concluyeron que al

augmentar la intensidad del ejercicio, decrecía la calidad espermática. Concretamente, el aumento de temperatura se ha asociado con la práctica del ciclismo y hay estudios que relacionan esta temperatura, además del uso de trajes ajustados con una disminución del flujo sanguíneo de la zona perineal en hombres (Southorn T y cols, 140).

5.2.3. TASA DE FERTILIZACIÓN

No hemos encontrado relación entre el ejercicio físico, y la tasa de fertilización. No hemos encontrado en la literatura trabajos que se centren en este parámetro en humanos.

5.2.4. CALIDAD EMBRIONARIA Y TASA DE IMPLANTACIÓN

Los factores que pueden afectar a la tasa de implantación se centran en la calidad del embrión (ej: aneuploidías) y en la calidad del endometrio (141) (142) (143).

En nuestro estudio no hemos encontrado relación entre los factores ambientales que impliquen exposición a sustancias tóxicas y tasa de implantación. En la literatura revisada, Heger et al (144) encuentran un efecto negativo del hecho de fumar sobre el grosor endometrial. En su estudio se revisaron retrospectivamente 200 ciclos FIV/ICSI encontrando un grosor endometrial de $10,4 \text{ mm} \pm 1,5 \text{ mm}$ en fumadoras vs. $11,6 \text{ mm} \pm 1,8 \text{ mm}$ en no fumadoras.

En nuestros resultados el nivel de actividad física se relaciona negativamente con la tasa de implantación. Se ha visto en un estudio de Gaskins y cols (145) y en otro de Rocha y cols (146) que el efecto del ejercicio sobre el éxito reproductivo no está del todo claro. Gaskins y cols (145) llevaron a cabo un estudio de cohortes prospectivo en Massachusetts valorando el ejercicio realizado durante el año previo al tratamiento, un total de 273 parejas y 427 ciclos fueron analizados sin encontrar asociación entre el ejercicio realizado y la tasa de implantación. Rocha y cols (146) relaciona el efecto deletéreo del ejercicio en las pérdidas fetales y la tasa de implantación en ratas con el

efecto del ejercicio y la adaptación del organismo materno durante el embarazo, cambios en la presión arterial y en la placentación. Este estudio en otra especie aporta resultados similares a los nuestros en lo relativo al efecto del ejercicio físico y la tasa de implantación.

5.3. INFLUENCIA DE LOS HÁBITOS ALIMENTARIOS EN EL ÉXITO DE LAS TRA

En cuanto a los alimentos estudiados, el tipo de pacientes que se someten a TRA soportan un elevado nivel de estrés, por lo que no es sencillo medir la cantidad exacta de alimentos ingeridos por ellos, ya que a menudo el manejo de las herramientas para conocer con gran exactitud el tipo de alimentación conlleva pesar los alimentos, lo que podría aumentar aún más la presión. Es por ello que, nuestro estudio ofrece una visión de los hábitos alimenticios, con una estimación de los alimentos predominantes en la dieta, más que una cuantificación exacta de los mismos.

5.3.1. GESTACIÓN CLÍNICA Y TASA DE ABORTOS

Se ha encontrado una relación entre el consumo de chocolate y un aumento en la tasa de aborto, que podría estar relacionada con la relación ya estudiada de estos parámetros con la cafeína (147), al contener el chocolate cafeína. Del resto de grupos de alimentos, algunos grupos con alto contenido proteico como las carnes rojas mostraron un aumento en la tasa de gestación mientras que otros alimentos con contenido proteico importante como las legumbres mostraron el efecto contrario y el vino se relacionó de manera negativa con dicha tasa de gestación.

Al construir el perfil de embarazo, parece que está determinado en parte por los consumos bajos en legumbres, pero esto no implica que haya una relación causal entre el consumo de legumbres y el embarazo. Además, podrían estar influyendo factores confusores como la edad y el sexo.

Se cree que las proteínas podrían contribuir a la formación de nuevas estructuras tanto maternas (placenta) como fetales , es por ello que durante la gestación los requerimientos de las mismas se incrementan y nuestro estudio apoyaría en parte esta recomendación nutricional (148).

De todas formas, el efecto de las proteínas en el éxito de las TRA resultó ambiguo y en la literatura también hay diversidad de opiniones (148). Las dietas con alto contenido proteico se asocian con cambios en el ambiente uterino que podrían perjudicar los resultados TRA. Amundson y cols (149) se propusieron estudiar el efecto del nitrógeno ureico uterino en vacas (n=150) y no se encontraron diferencias significativas en el número de ovocitos, número de blastocistos ni en la tasa de gestación según el nivel de proteínas ingerido. Estudios recientes como el de Carlos S. y cols (150) sugieren que la adherencia a la dieta mediterránea podría estar relacionada con el éxito en las técnicas de reproducción. Otros estudios como el de Karayiannis y cols (62) encontraron asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y la tasa de gestación clínica, si bien no encontraron relación entre este tipo de dieta y la tasa de implantación.

5.3.2. CALIDAD OVOCITARIA Y PARÁMETROS SEMINALES

En el caso de las mujeres no se observó ninguna relación entre los distintos patrones alimentarios y el porcentaje de ovocitos en metafase II. El porcentaje de ovocitos maduros es una forma de medir la calidad ovocitaria. Esta falta de relación podría deberse a la existencia de otros factores que podrían influir en los resultados además de los propios del ambiente, como podrían ser: IMC, patología ginecológica o la edad, entre otros (151) (152). Sin embargo, en nuestro estudio no se observaron diferencias en el IMC y edad de las pacientes, ni se incluyeron pacientes con comorbilidades importantes, por lo que aunque estas variables pueden afectar a los resultados (151) (152), no parecen corresponderse con factores de confusión en el presente estudio.

La función de la vitamina B12 en la maduración ovocitaria fue estudiada recientemente por Zacchini y cols (153) en otras especies. En su grupo observaron un incremento en la tasa de fertilización cuando se llevaba a cabo suplementación con vitamina B12 en los medios de cultivo (69,56% vs 57,91%, $p=0,006$). En nuestro estudio el coeficiente de correlación de Pearson entre la tasa de fertilización y el consumo de alimentos ricos en vitamina B12 es 0,146 ($p=0,066$), mostrando una correlación positiva que no alcanza la significación estadística. En nuestro estudio no se observó correlación entre la tasa de madurez ovocitaria y el consumo de alimentos ricos en vitamina B12 (Coeficiente de correlación de Pearson: $-0,018$, $p=0,173$).

Se observó también en el caso de los varones que el consumo de alimentos ricos en vitamina B6 o vitamina E y de legumbres aumentaba la proporción de espermatozoides tipo a o de movilidad progresiva. Otro parámetro seminal que se vio afectado por los distintos hábitos alimentarios fue el volumen seminal, que mostró un aumento en dietas ricas en hidratos de carbono, alimentos que contengan cantidades importantes de vitamina E y vino. Estos resultados apoyan otros que muestran el especial interés de alimentos con potencial antioxidante probado como la vitamina E que ayudaría a mejorar el estatus oxidativo en los espermatozoides (154).

5.3.3. TASA DE FERTILIZACIÓN

Hemos observado que el consumo de una dieta con alto contenido en carne roja, pollo y chocolate se relaciona negativamente con la tasa de fertilización. No hemos encontrado publicaciones en este sentido. Nuestra encuesta está diseñada para valorar hábitos y no con el fin de saber exactamente qué nutrientes o elementos y en qué cantidad exacta son consumidos. En la literatura existen otros tipos de estudios que valoran determinados componentes de manera individual para buscar su relación con el proceso de fertilización (155). Por el tipo de pacientes y tratamientos y el estrés al que están sometidas, además de por cuestiones éticas, estos estudios resultan muy complicados de llevar a cabo con nuestra casuística.

5.3.4. CALIDAD EMBRIONARIA Y TASA DE IMPLANTACIÓN

No hemos encontrado relación entre los distintos patrones alimentarios y la calidad embrionaria en nuestros pacientes.

Por el contrario, sí que hemos encontrado una correlación positiva del consumo de alimentos ricos en vitamina B12 y en vitamina A con la tasa de implantación. A este respecto, conviene recordar que la vitamina B12 o cobalamina está directamente implicada en la regeneración del ácido fólico y la vitamina A presenta un gran poder antioxidante (156) (157). Existen estudios previos que valoran la suplementación con determinados nutrientes de manera preconcepcional con el fin de mejorar las TRA (158) (159).

5.4. LIMITACIONES Y PUNTOS FUERTES

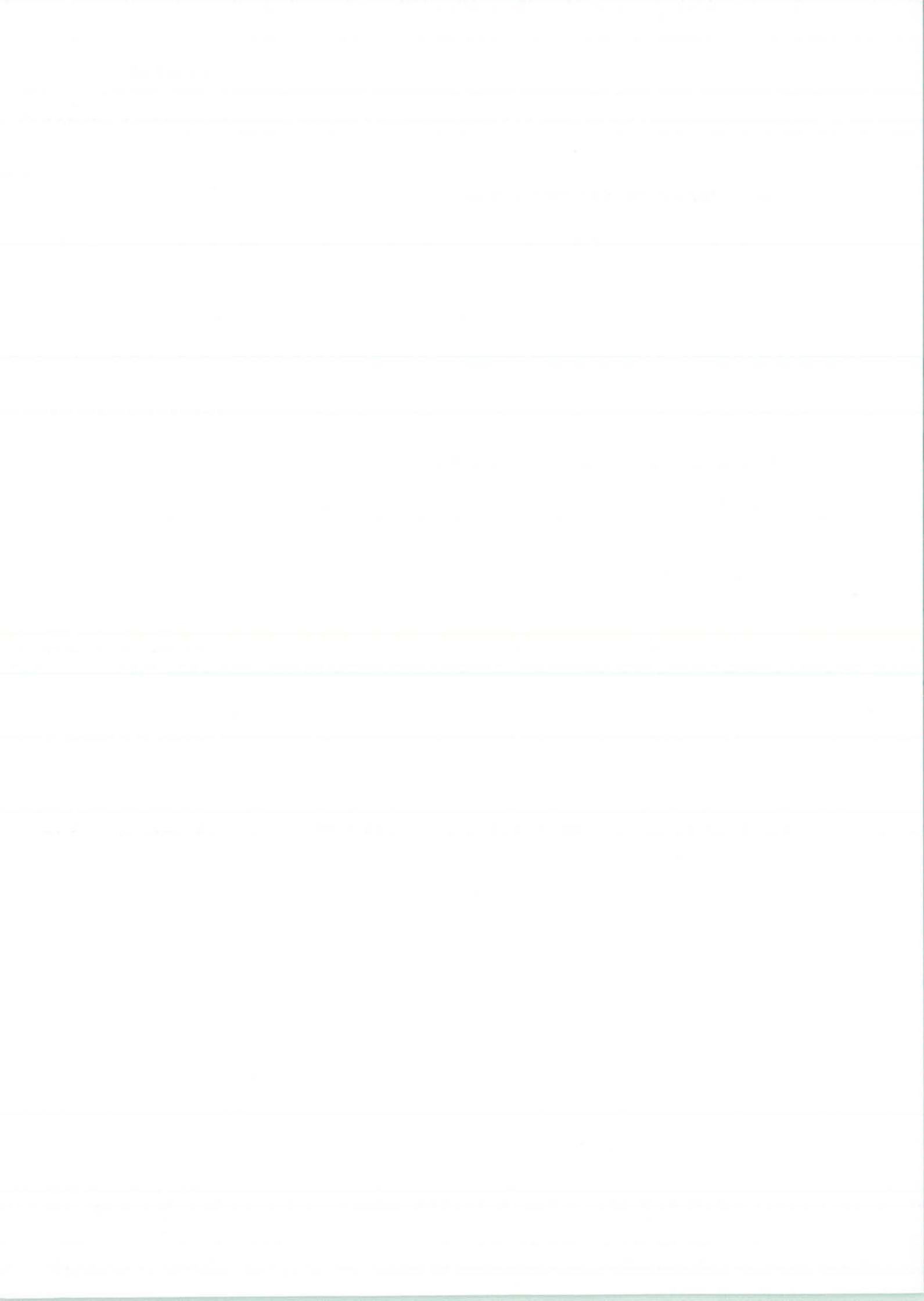
El presente estudio realiza una revisión pormenorizada de los principales factores ambientales que podrían afectar el resultado de los tratamientos en la Unidad de Reproducción Asistida. Nos permite obtener una visión completa del estilo de vida de nuestra población y poder así planificar futuras líneas investigadoras.

En el presente estudio por un lado se analizaron variables para los varones, por otro variables propias de las mujeres y , por último, variables para las parejas y para facilitar el estudio se dividió a las parejas en tres grupos.

Una de las limitaciones más importantes del estudio es el tipo de cuestionario. Al ser un cuestionario que los pacientes cumplimentan solos en su casa, existe cierta subjetividad. Además, estas características del cuestionario y del protocolo de recogida de datos, también hacen que la tasa de respuesta no sea alta con una tasa de respuestas estimada de sólo el 53%. Otra debilidad del estudio es la imposibilidad de conocer las tasa de contaminación en localizaciones en donde no existen estaciones medidoras de la contaminación del aire y se asume su posible atmósfera menos contaminada, únicamente por su condición de baja densidad de población.

Por otro lado, nuestro estudio tiene también fortalezas como es el hecho de una población con problemas de fertilidad bastante homogénea con inclusión solo de mujeres menores de 40 años con lo que algunos factores asociados a la edad avanzada no se consideran. Se realizó también en una sola URA con trabajo protocolizados y poca variación en los tipos de estimulación ovárica controlada y con un equipo médico y de biólogos bien entrenados.

En nuestro estudio se ha visto la existencia de una relación negativa entre la exposición a sustancias tóxicas de las parejas/personas y la tasa de gestación clínica y la calidad embrionaria así como una relación positiva de dicha exposición con la tasa de aborto.





6. CONCLUSIONES

1. La exposición a sustancias tóxicas en las parejas/personas sometidas a FIV/ICSI en nuestra unidad se relaciona negativamente con la gestación clínica y positivamente con la tasa de aborto, siendo las exposiciones que más afectan a esta última el alcohol y el riesgo profesional.
2. La tasa de madurez ovocitaria no se relaciona con la exposición a sustancias tóxicas. Aunque el ejercicio físico no se relacionó con la tasa de embarazo, sí influye en la tasa de madurez ovocitaria, mejorándola.
3. El volumen seminal disminuye con el consumo de tabaco y medicación crónica y aumenta con el consumo de hidratos de carbono y vitamina E, mientras que el porcentaje de espermatozoides tipo a se relaciona negativamente con la exposición a sustancias tóxicas y positivamente con el consumo de legumbres y de alimentos ricos en vitamina B6 y E.
4. La exposición a sustancias tóxicas ambientales y el nivel de actividad física no se relacionan con la tasa de fertilización.
5. La exposición a sustancias tóxicas y, más concretamente, la existencia de riesgo profesional, se relaciona con el número y porcentaje de embriones de calidad óptima (A y B) según la clasificación embrionaria de ASEBIR.
6. La exposición a sustancias tóxicas no se relaciona con la tasa de implantación, mientras que el consumo de alimentos ricos en vitamina B12 y vitamina A guarda una correlación positiva con dicha tasa de implantación. Por otro lado, el ejercicio físico se relaciona negativamente con la tasa de implantación.



7. BIBLIOGRAFIA

1. Gil Alonso F, Bayona i Carrasco J, López Villanueva C, Pujadas Rúbies I. Diferencias geográficas de la fecundidad en España: Una perspectiva provincial. *Papeles de Geografía* 2017;63:21-38.
2. Matorras Weinig JR. Libro blanco sociosanitario la infertilidad en España: situación actual y perspectivas. Las Matas, Madrid: Imago Concept & Image Development; 2011.
3. Buck Louis G, Sundaram R, Schisterman E, Sweeney A, Lynch C, Gore-Langton r, Kim S, Chen Z, Bart D. Persistent environment pollutants and couple fecundity: the LIFE study. *Environmental health perspectives* 2013;121(2):231-236.
4. Sharma R, Biedenharn K, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reproductive biology and endocrinology* 2013;11:66.
5. Frutos V, González-Comadrán M, Solà I, Jacquemin B, Carreras R, Checa Vizcaíno M.A. Impact of air pollution on fertility: a systematic review. *Gynecological Endocrinology* 2015;31(1):7-13.
6. Kavlock RJ, Daston GP, De Rosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S. Research needs for the risk assessment of Elath and environmental effects of endocrine disruptors:a report of the US EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect.* 1996;104:715-40.
7. Nash JP, Kime DE, Van der Ven LTM, Wester PW, Brion F, Maack G. Long-term exposure to environmental concentrations of the pharmaceutical etinilestradiol causes reproductive failure in fish. *Environ Health Perspect.* 2004;112:1725-33.

8. Colborn T, Vom Saal FS, Soto AM. Development effects of endocrine-disrupting chemical in wildlife and humans. *Environ Health Perspect.* 1993;101:378-84.
9. Carson Rachel. *Silent Spring* 2000, Ed. Penguin.
10. Barazani Y, Farrel Katz B, Nagler H, Sol Stember D. Lifestyle, environment, and male reproductive health. *Urol Clin N Am* 2014;41:55-66.
11. Girela J, Gil D, Johnsson M, Gómez-Torres M.J, De Juan J. Semen parameters can be predicted from environmental factors and lifestyle using artificial intelligence methods. *Biology of reproduction* 2013;88(4):99,1-8.
12. Travison TG, Araujo AB, O'Donnell AB, Lupelian V, McKinlay JB. A population-level decline in serum testosterone levels in American men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:196-202.
13. Rieger D. Culture Systems: Physiological and environmental factors that can affect the outcome of human ART. *Embryo culture: methods and protocols, methods in molecular biology* 2012;vol.912:333-354.
14. Ben-Haroush A, Ashkenazi J, Sapir O, Pinkas H, Fisch B, Farhi J. High quality embryos maintain high pregnancy rates in passive smokers but not in active smokers. *Reproductive BiomMedicine Online* 2011;22:44-49.
15. Wdowiak A, Lewicka M, Plewka K, Bakalczuk G. Nicotism and quality of embryos obtained in in-vitro fertilization programmes. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2013;20(1):82-85.
16. Wang A, Padula A, Sirota M, Woodruff T.J. Environmental influences on reproductive health: the importance of chemical exposures. *Fertility and Sterility* 2016;106(4):905-929.
17. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Human Reprod.* 2001;16:972-978.

18. Sánchez- Fayos P, Martín M.J, Porres J.C. Genetic profile and molecular basis of pancreatic carcinogenesis. *Gastroenterol Hepatol* 2007;30(10):592-6.
19. Anderson O.S, Kim J.H, Peterson K.E, Sanchez B.N, Sant K.E, Sartor M.A, Weinhouse C, Dolinoy D.C. Novel epigenetic biomarkers mediating bisphenol A exposure and metabolic phenotypes in female mice. *Endocrinology* 2017;158(1):31-40.
20. Karwowski M.P, Just A.C, Bellinger D.C, Jim R, Hatley E.L, Ettinger A.S, Hu H, Wright R.O. Maternal iron metabolism gene variants modify umbilical cord blood lead levels by gene-environment interaction: a birth cohort study. *Environ Health* 2014;13:77.
21. Rybicki B.A, Neslund-Dudas C, Nock N.L, Schultz L.R, Eklund L, Rosbolt J, Bock C.H, Monaghan K.G. Prostate cancer risk from occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons interacting with the GSTP1 Ile105Val polymorphism. *Cancer Detect Prev* 2006;30(5):412-22.
22. Quintana M.M, Vera B, Magnarelli G, Guiñazú N, Rovedatti M.G. Neonatal, placental, and umbilical cord blood parameters in pregnant women residing in areas with intensive pesticide application. *Environ Sci. Pollut Res Int* 2017;24(25):20736-20746.
23. Krieg S.A, Shahine N.K, Lathi R.B. Environmental exposure to endocrine-disrupting chemicals and miscarriage. *Fertil Steril* 2016;106(4):941-7.
24. Dechanet C, Brunet C, Anahory T, Hamamah S, Hedon B, Dechaud H. Effects of cigarette smoking on embryo implantation and placentation and analysis of factors interfering with cigarette smoke effects. *Gynecol Obstet Fertil* 2011;39(10):567-74.
25. Dere E, Anderson L.M, Huse S.M, Spade D.J, McDonnell-Clark E, Madnick S.J, Hall S.J, Camacho L, Lewis S.M, Vanlandingham M.M, Boekelheide K. Effects of continuous bisphenol A exposure from early gestation on 90

- day old rat testes function and sperm molecular profiles: A CLARITY-BPA consortium study. *Toxicol Appl Pharmacol* 2018 [epub ahead of print].
26. CDC. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Updated Tables. Centers for disease control and prevention, Washington, DC. 2015.
 27. Fernández M.F, Olmos B, Granada A, López-Espinosa M.J, Molina-Molina J.M, Fernández J.M, Cruz M, Olea-Serrano F, Olea N. Human exposure to endocrine-disrupting chemicals and prenatal risk factors for cryptorchidism and hypospadias: a nested case-control study. *Environ Health Perspect* 2007;115(1):8-14.
 28. Mostafalou S, Abdollahi M. Pesticides: an update of human exposure and toxicity. *Arch Toxicol* 2017;91(2):549-599.
 29. Bloom MS, Whitcomb BW, Chen Z, Ye A, Kannan K, Buck Louis GM. Associations between urinary phthalate concentrations and semen quality parameters in a general population. *Hum Reprod*. 2015;30(11):2645-57.
 30. An Z, Jin Y, Li J, Li W, Wu W. Impact of particulate air pollution on cardiovascular health. *Curr Allergy Asthma Rep* 2018;18(3):15.
 31. Assessment of sources of air, water and land pollution. A guide to rapid source inventory techniques and their use in formulating environmental control strategies. Part one: Rapid inventory techniques in environmental pollution. OMS. Ginebra, 1993.
 32. El medio ambiente en Europa. Estado y perspectivas 2015. Informe de síntesis. Agencia Europea de Medio Ambiente; 2015.
 33. Gómez J.A. Economía de los recursos naturales y ecosistemas: necesidad de su valoración económica. *Ciencia y Sociedad* 2003; volumen XXVIII(4):600-611.
 34. De Esteban A. Contaminación acústica y salud. *Observatorio medioambiental* 2003;6:73-95.

35. Checa M.A, González-Comadran M, Jacquemin B . Outdoorair pollution and human infertility: a systematic review. *Fertility and Sterility* 2016;106(4):897-904.
36. Rokoff L.B, Rifas-Shiman S.L, Coull B.A, Cardenas A, Calafat A.M, Ye X, Gryparis A, Schwartz J, Sagiv S.K, Gold D.R, Oken E, Fleisch A.F. Cumulative exposure to environmental pollutants during early pregnancy and reduced fetal growth: the project Viva cohort. *Environ Health* 2018;17(1):19.
37. Morbeck D.E. Air quality in the assisted reproduction laboratory: a mini review. *J Assist Reprod Genet* 2015;32:1019-1024.
38. Legro R.S, Sauer M.V, Mottla G.L, Richter K.S, Li X, Dodson W.C, Liao D. Effect of air quality on assisted human reproduction. *Human Reproduction* 2010;25(5):1317-1324.
39. Agarwal N, Chattopadhyay R, Ghosh S, Bhoumik A, Goswami S.K, Chakravarty B. Volatile organic compounds and good laboratory practices in the in vitro fertilization laboratory: the important parameters for successful outcome in extended culture. *J Assist Reprod Genet* 2017;34(8):999-1006.
40. Pérez-Uz B, Silóniz M.I, Torralba B, Vázquez C. Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *Reduca (Biología) Serie Microbiología* 2010;3(5):1-14.
41. Smith LK, Draper ES, Evans TA, Field DJ, Johnson SJ, Manktelow BN, Seaton SE, Marlow N, Petrou S, Boyle EM. Associations between late and moderately preterm birth and smoking, alcohol, drug use and diet: a population-base case-cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2015;100:F486-F491.
42. Kovac J.R, Khanna A, Lipshultz L.I. The effects of cigarette smoking on male fertility. *Postgrad Med* 2015;127(3):338-41.

43. Park C, Kang M.Y, Kim D, Park J, Eom H, Kim E.A. Prevalence of abortion and adverse pregnancy outcomes among working women in Korea: A cross-sectional study. *PloS One* 2017;12(8).
44. Smith R.B, Fecht D, Gulliver J, Beevers S.D, Dajnak D, Blangiardo M, Ghosh R.E, Hansell A.L, Kelly F.J, Anderson H.R, Toledano M.B. Impact of London's road traffic air and noise pollution on birth weight: retrospective population based cohort study. *BMJ* 2017;5:359.
45. Mendola P, Wallace M, Hwang B.S, Liu D, Robledo C, Mannisto T, Sundaram R, Sherman S, Ying Q, Grantz K.L. Preterm birth and air pollution: Critical windows of exposure for women with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(2):432-440.
46. Dastoorpoor M, Idani E, Goudarzi G, Khanjani N. Acute effects of air pollution on spontaneous abortion, premature delivery, and stillbirth in Ahvaz, Iran: A time series study. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018;25(6):2447-2458.
47. Younglai E.V, Holloway A, Foster W. Environmental and occupational factors affecting fertility and IVF success. *Human Reproduction Update* 2005;11(1):43-57.
48. Lafuente R, García-Blázquez N, Jacquemin B, Checa M.A. Outdoor air pollution and sperm quality. *Fertility and Sterility* 2016;106(4):880-896.
49. Petersen MS, Halling J, Weihe P, Jensen TK, Grandjean P, Nielsen F, Jorgensen N. Spermatogenic capacity in fertile men with elevated exposure to polychlorinated biphenyls. *Environ Res* 2015;138:345-351.
50. Andrews M, Schliep K, Wactawski-Wende J, Stanford J, Zarek M, Radin R, Sjaarda L, Perkins N, Kalwerisky R, Hammoud A, Mumford S. Dietary factors and luteal phase deficiency in healthy eumenorrheic women. *Human Reproduction* 2015;30(8):1942-1951.
51. Khatun A, Rahman M.S, Pang M.G. Clinical assessment of the male fertility. *Obstet Gynecol Sci.* 2018;61(2):179-191.

52. Arif S, Khan A. Reconsidering a lower level of follicle-stimulating hormone as abnormal in sub-fertile males of Pakistan. *J Coll Physicians Surg Pak* 2017;27(8):466-469.
53. Cutillas-Tolín A, Mínguez-Alarcón L, Mendiola J, López-Espín J.J, Jorgensen N, Navarrete-Muñoz E.M, Torres-Cantero A.M, Chavarro J.E. Mediterranean and western dietary patterns are related to markers of testicular function among healthy men. *Human Reproduction* 2015;30(12):2945-2955.
54. Afeiche M.C, Chiu Y, Gaskins A.J, Williams P.L, Souter I, Wright D.L, Hauser R, Chavarro J.E. Dairy intake in relation to in vitro fertilization outcomes among women from a fertility clinic. *Human Reproduction* 2016;31(1):563-571.
55. Au WW, Sierra-Torres CH, Cajas-Salazar N, Shipp BK, Legator MS. Cytogenetic effects from exposure to mixed pesticides and the influence from genetic susceptibility. *Environ Health Perspect* 1999;107(6):501-5.
56. Lympéri S, Giwercman A. Endocrine disruptors and testicular function. *Metabolism* 2018 [epub ahead of print].
57. Lindbohm M.L, Ylostalo P, Sallmen M, Henriks-Eckerman M.L, Nurminen T, Forss H, Taskinen H. Occupational exposure in dentistry and miscarriage. *Occup Environ Med* 2007;64(2):127-33.
58. Bonde J.P, Kolstad H. Fertility of Danish battery workers exposed to lead. *Int J Epidemiol* 1997;26(6):1281-8.
59. Giudice L.C. Environmental toxicants: hidden players on the reproductive stage. *Fertil Steril* 2016;106(4):791-4.
60. Tong VT, Kissin DM, Bernson D, Copeland G, Boulet SL, Zhang Y, Jamieson D, England LJ. Maternal smoking among women with and without use of assisted reproductive technologies. *Journal of women's health* 2016. Doi:10.1089/jwh.2015.5662.
61. Shab-Bidar S, Golzarand M, Hajimohammadi M, Mansouri S. A posteriori dietary patterns and metabolic syndrome in adults: a systematic review and meta-analysis of observational study. *Public Health Nutr* 2018;21:1-12.

62. Karayiannis D, Kontogianni M.D, Mendorou C, Mastrominas M, Yiannakouris N. Adherence to the Mediterranean diet and IVF success rate among non obese women attempting fertility. *Hum Reprod* 2018 [epub ahead of print].
63. Wise L.A, Wesselink A.K, Mikkelsen E.M, Cueto H, Hahn K.A, Rothman K.J, Tucker K.L, Sorensen H.T, Hatch E.E. Dairy intake and fecundability in 2 preconception cohort studies. *Am J Clin Nutr* 2017;105(1):100-110.
64. Fayezi S, Leroy JLMR, Gaffari Novin M, Darabi M. Oleic acid in the modulation of oocyte and preimplantation embryo development. *Zygote* 2018;26(1):1-13.
65. Kwon H, Choi D.H, Bae J.H, Kim J.H, Kim Y.S. mRNA expression pattern of insulin-like growth factor components of granulosa cells and cumulus cells in women with and without polycystic ovary syndrome according to oocyte maturity. *Fertil Steril* 2010;94(6):2417-20.
66. Tong V.T, England L.J, Rockhill K.M, D'Angelo D. V. Risks of Preterm Delivery and Small for Gestational Age Infants: Effects of Nondaily and Low-Intensity Daily Smoking During Pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2017;31(2):144-148.
67. Bérard A, Zhao J.P, Sheehy O. Success of smoking cessation interventions during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2016;215(5):611.
68. Augood C, Duckitt K, Templeton AA. Smoking and female infertility: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 1998;13:1532-1539.
69. Harlev A, Agarwal A, Gunes SO, Shetty A, du Pleiss SS. Smoking and male infertility: An evidence-based review. *World J Mens Health* 2015; 33(3):143-60.
70. Calogero A, Polosa R, Perdichizzi A, Guarino F, La Viguera S, Scarfia A, Fratantonio E, Condorelli R, Bonanno O, Barone N. Cigarette smoke extract immobilizes human spermatozoa and induces sperm apoptosis. *Reprod Biomed Online* 2009;19:564-571.

71. Jurewicz J, Radwan M, Sobala W, Radwan P, Jalubowski L, Hawula W, Ulanska A, Hanke W. Lifestyle factors and sperm aneuploidy. *Reprod Biol* 2014; 14(3):190-9.
72. Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril* 2002;78:491-9.
73. Viloria T, Garrido N, Fernández JL, Remohi J, Pellicer A, Meseguer M. Sperm selection by swim-up in terms of deoxyribonucleic acid fragmentation as measured by the sperm chromatin dispersion test is altered in heavy smokers. *Fertil Steril* 2007;88:523-525.
74. Terzioglu F, Investigation into effectiveness of counseling on assisted reproductive techniques in Turkey. *J Psychosom Obstet Gynaecol* 2001;22:133-141.
75. American Lung Association: <http://www.lung.org/stop-smoking/aboutsmoking/facts-figures/whats-in-a-cigarette.html>.
76. Jandikova H, Duskova M, Starka L. The influence of smoking and cessation on the human reproductive hormonal balance. *Physiol Res* 2017;66:S323-S331.
77. Nicolau P, Miralpeix E, Solà I, Carreras R, Checa M.A. Alcohol consumption and *in vitro* fertilization: a review of the literature. *Gynecol Endocrinol, Early Online* 2014:1-5.
78. Lange S, Rehm J, Popova S. Implications of Higher Than Expected Prevalence of Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *JAMA* 2018;319(5):448-449.
79. Krulewitch C.J. Alcohol consumption during pregnancy. *Annu Rev Nurs Rev* 2005;23:101-34.
80. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. *Fertil Steril* 2005;84:919-924.

81. Pajarinen J, Karhunen PJ, Savolainen V, Lalu K, Penttilä A, Laippala P. Moderate alcohol consumption and disorders of human spermatogenesis. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:332-7
82. Robbins WA, Elashoff DA, Xun L. Effect of lifestyle exposures on sperm aneuploidy. *Cytogenet Genome Res* 2005;111:371-7.
83. Li Y, Lin H, Li Y, Cao J. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality. Systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2011;95:116-123.
84. Palomba S, Falbo A, Valli B, Morini D, Villani MT, Nicoli A, Battista La sala G. Physical activity before IVF and ICSI cycles in infertile obese women: an observational cohort study. *Reproductive Biomedicine Online* 2014;29:72-79.
85. Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto ME, Garcia-Manso JM, Vaamonde-Lemos R, Swanson RJ, Oehninger SC. Response of semen parameters to three training modalities. *Fertil Steril* 2009;92:1941-1946.
86. Sansone A, Di Dato C, de Angelis C, Menafra D, Pozza C, Pivonello R, Isidori A, Gianfrilli D. Smoke, alcohol and drug addiction and male fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 2018;16(1):3.
87. Van Oers A.M, Mutsaers M.A.Q, Burggraaff J.M, KuchenbeckerW.K.H, Perguin D.A.M, Koks C.A.M, van Golde R, Kaajik E.M et al. Association between periconceptional weight loss and maternal and neonatal outcomes in obese infertile women. *PLoS One* 2018;13(3):e0192670 .
88. Michalakis K, Mintziori G, Kaprara A, Tarlatzis B.C, Goulis D.G. The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review. *Metabolism* 2013;62(4):457-78.
89. Wise LA, Cramer DW, Hornstein MD, Ashby RK, Missmer SA. Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 2011;95:1025-1030.
90. Redman LM. Physical activity and its effects on reproduction. *Reprod Biomed Online* 2006;12:579-586.

91. Bendayan M, Alter L, Swierkowski-Blanchard N, Caceres-Sanchez L, Selva J, Robin G, Boitrelle F. Environment and lifestyle: impacts on male fertility? *Gynecol Obstet Fertil Senol* 2017;30(epub ahead of print)
92. Amsiejene A, Drasutiene G, Usoniene A, Tutkuvienė J, Vilsinskaite S, Barskutyte L. The influence of age, body mass index, waist-to-hip ratio and antimullerian hormone level on clinical pregnancy rates in ART. *Ginecol Endocrinol* 2017;33(1):41-43.
93. González Ravina C, Pacheco Castro A. Implementación de los nuevos criterios de la OMS en la práctica clínica. *Rev Asoc Est Biol Rep* 2011;16:4-9.
94. Rodríguez T, Fernández Ballart J, Cucó Pastor G, Biarnés Jordià E, Arija Val V. Validación de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario corto: reproducibilidad y validez. *Nutr Hosp* 2008;23(3):242-252.
95. Khul K, Schmitz-Felten E, Sorig Hougaard K, Miranowicz K. Informe relevante sobre los agentes tóxicos para la reproducción. Revisión de las publicaciones observatorio europeo de riesgos. Agencia Europea para la seguridad y salud en el trabajo 2016.
96. Polanski LT, Baumgarten MN, Quenby S, Brosens J, Campbell BK, Raine-Fenning NJ. What exactly do we mean by “recurrent implantation failure”? A systematic review and opinion. *Reprod Biomed Online* 2014;28(4):409-23.
97. Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev* 2006;27:170-207.
98. Bosch E, Ezcurra D. Individualised controlled ovarian stimulation (iCOS): maximizing success rates for assisted reproductive technology patients. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;21(9):82.
99. Checa MA, Espinos JJ, Requena A. Efficacy and safety of human chorionic gonadotropin for follicular phase stimulation in assisted reproduction: a systematic review and metaanalysis. *Fertility and Sterility* 2012;97:1343-50.

100. Gonen Y, Casper RF. Prediction of implantation by the sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization (IVF). *J Vitro Fertil Embryo Transf IVF* 1990;7(3):146-52.
101. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE special interest group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction* 2011;26(6):1270-1283.
102. Hurtado de Mendoza y Acosta MV, Cuadros Fernández J. Cuadernos de embriología clínica. Criterios ASEBIR de valoración morfológica de ovocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos. 3ª Edición 2015. ISSN: 1988-8011.
103. Yding Andersen C, Vilbour Andersen K. Improving the luteal phase after ovarian stimulation: reviewing new options. *Reprod Biomed Online* 2014;28:552-9.
104. Csapo AI, Pulkkinen MO, Ruttner B, Sauvage JP, Wiest WG. The significance of the human corpus luteum in pregnancy maintenance. Preliminary studies. *Am J Obstet Gynecol* 1972;112:1061-7.
105. Daya S, Gunby J. Luteal phase support in assisted reproduction cycles. *Cochrane database Syst Rev* 2004;3:CD004830.
106. Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, Devroey P. Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Hum Reprod Update* 2000;6:139-48.
107. Shi Y, Sun Y, Hao C, Zhang H, Wei D, Zhang Y et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women. *N Engl J Med* 2018;11;378(2):126-136.
108. Ebru Alcolak, Ehab Abu Marar, Sotiris C. Mytas, Nectarios Chalvatzas, Vassili Palapelas, Beate Schöpfer et al. Comparison of two different media for vitrification and rewarming of human zygotes: prospective randomized study. *Middle East Fertility Society Journal* 2011;16:189-193.
109. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: definition and epidemiology. *Clin Biochem* 2018(16): S0009-9120.

110. Piché M.L, Babineau V, Robitaille J, Lachance E, Ruchat S.M. Lifestyle-Related Factors Associated with Reproductive Health in Couples Seeking Fertility Treatments: Results of A Pilot Study. *Int J Fertil Steril* 2018;12(1):19-26.
111. Ballester F, Saez M, Daponte A, Ordóñez J.M, Taracino M, Cambra K y cols. El proyecto EMECAS: Protocolo del estudio multicéntrico en España de los efectos a corto plazo de la contaminación atmosférica sobre la salud. *Rev Esp Salud Pública* 2005;79:229-242.
112. Hammer P, Flachs E, Specht I, Pinborg A, Petersen S, Larsen A, Hougaard K, Hansen J, Hansen Å, Kolstad H, Garde A, Bonde JP. Night work and hypertensive disorders of pregnancy: a national register-based cohort study. *Scand J Work Environ Health* 2018;18:3728.
113. Ribeiro E, Ladeira C, Viegas S. Occupational Exposure to Bisphenol A (BPA): A Reality That Still Needs to Be Unveiled. *Toxics* 2017;5(3):E22.
114. S.A. Choe, Y.B. Jun, W.S. Lee, T.K. Yoon, S.Y. Kim. Association between ambient air pollution and pregnancy rate in women who underwent IVF. *Human Reproduction* 2018;pp.1-8.
115. Kim H, Kwon HJ, Rhie J, Lim S, Kang YD, Eom SY, Lim H, Myong JP, Roh S. The relationship between spontaneous abortion and female workers in the semiconductor industry. *Ann Occup Environ Med* 2017;29:49.
116. Dodge LE, Missmer SA, Thornton KL, Hacker MR. Women's alcohol consumption and cumulative incidence of live birth following in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2017;34(7):877-883.
117. Nogales F, Ojeda M.L, Jotty K, Murillo M.L, Carreras O. Maternal ethanol consumption reduces Se antioxidant function in placenta and liver of embryos and breastfeeding pups. *Life Sci.* 2017;190:1-6.
118. Kumar S. Occupational, Environmental and Lifestyle factors associated with spontaneous abortion. *Reproductive Sciences* 2011;18(10):915-930.
119. Santi D, Vezzani S, Granata AR, Roli L, De Santis MC, Ongaro C, Donati F, Baraldi E, Trenti T, Setti M, Simoni M. Sperm quality and environment: A

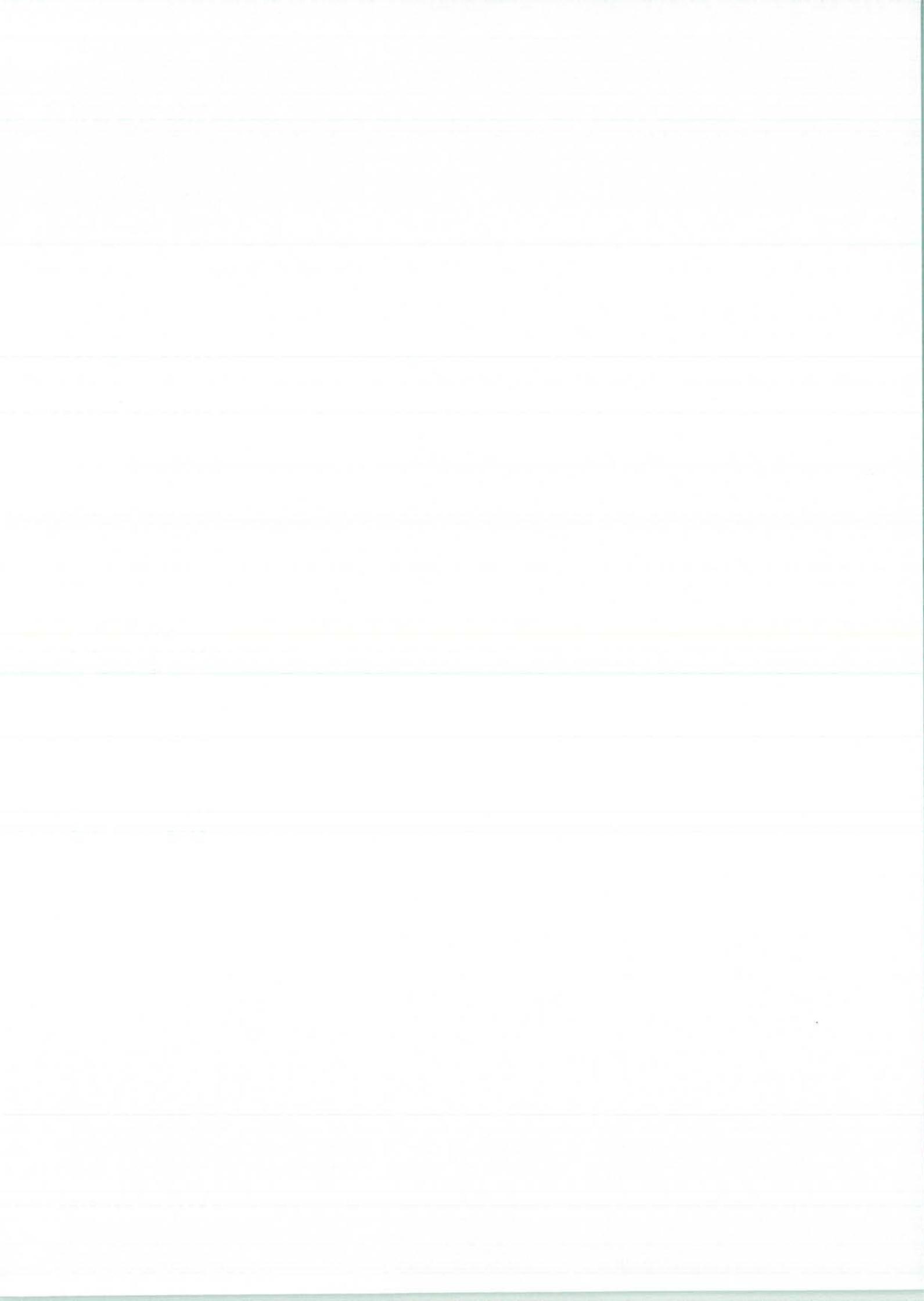
- retrospective, cohort study in a Northern province of Italy. *Environ Res* 2016;150:144-53.
120. Nobles C.J, Schisterman E.F, Ha S, Kim K, Mumford S.L, Buck Louis G.M, Chen Z, Liu D, Sherman S, Mendola P. Ambient air pollution and semen quality. *Environ Res* 2018;163:228-236.
121. Bui AD, Sharma R, Henkel R, Agarwal A. Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility. *Andrologia* 2018; 11:e13012.
122. Roque M, Esteves SC. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *Int Urol Nephrol* 2018;50(4):583-603.
123. Merton J.S, Vermeulen Z.L, Otter T, Mullaart E, de Ruigh L, Hasler J.F. Carbon-activated gas filtration during in vitro culture increased pregnancy rate following transfer of in vitro-produced bovine embryos. *Theriogenology* 2007;67(7):1233-8.
124. Menezo Y, Evenson D, Cohen M, Dale B. Effects of antioxidants on sperm genetic damage. *Adv Exp Med Biol* 2014;791:173-89.
125. Shimizu T, Sato T, Tsukiyama K, Fujita H, Kato S, Hoizumi M, Shirasawa H, Narita T, Terada Y, Seino Y, Yamada Y. Food Intake Affects Sperm-Egg Fusion Through the GIP/PSG17 Axis in Mice. *Endocrinology* 2017;158(7):2134-2144.
126. Kataoka C, Kato Y, Ariyoshi T, Takasu T, Narazaki T, Nagasaka S, Tatsuta H, Kashiwada S. Comparative toxicities of silver nitrate, silver nanocolloids, and silver chloro-complexes to Japanese medaka embryos, and later effects on population growth rate. *Environ Pollut* 2018;233:1155-1163.
127. Tsujii H, Lee J.H, Hossain M.S, Tareg KMA, Hamano K, Sawada T. The beneficial effect of fructose and glucose on in vitro maturation and the fertilization of porcine oocytes. *Reprod Med Biol* 2008;8(1):19-24.
128. Fernández-Díez C, González-Rojo S, Lombó M, Herráez MP. Impact of sperm DNA damage and oocyte-repairing capacity on trout development. *Reproduction* 2016;152(1):57-67.

129. Romek M, Gajda B, Krzysztofowicz E, Kucia M, Uzarowska A, Smorag Z. Improved quality of porcine embryos cultured with hyaluronan due to the modification of the mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species level. *Theriogenology* 2017;102:1-9.
130. Silvestris E, de Pergola G, Rosania R, Loverro G. Obesity as disruptor of the female fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):22.
131. Simões-Pereira J, Nunes J, Aguiar A, Sousa S, Rodrigues C, Sampaio Matias J, Calhaz-Jorge C. Influence of body mass index in anti mullerian hormone levels in 951 non polycystic ovarian syndrome women followed at a reproductive medicine unit. *Endocrine* 2018;1:1-5.
132. Pons M.C, De los Santos M.J, Múgica A, Vilches M.A, Arroyo G, González B, Moragas M y cols. Grupo de Interés de Embriología de ASEBIR: estudio multicéntrico para la validación del criterio ASEBIR de valoración morfológica de embriones tempranos en día +3 y su asociación con la tasa de nacido vivo. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica* 2014;1:50-55.
133. Sakumoto T, Tokunaga Y, Tanaka H, Nohara M, Motegi E, Shinkawa T, Nakaza A, Higashi M. Insulin resistance/hyperinsulinemia and reproductive disorders in infertile women. *Reprod Med Biol.* 2010 Sep 7;9(4):185-190.
134. Best D, Avenell A, Bhattacharya S. How effective are weight-loss interventions for improving fertility in women and men who are overweight or obese? A systematic review and meta-analysis of the evidence. *Hum Reprod Update* 2017;23(6):681-705.
135. Józków P, Mędraś M, Lwow F, Zagrodna A, Słowińska-Lisowska M. Associations between physical activity and semen quality in young healthy men. *Fertil Steril* 2017;107(2):373-378.
136. Boudoures AL, Chi M, Thompson A, Zhang W, Moley KH. The effects of voluntary exercise on oocyte quality in a diet-induced obese murine model. *Reproduction* 2016;151(3):261-70.
137. Heger A, Sator M, Walch K, Pietrowski D. Smoking Decreases Endometrial Thickness in IVF/ICSI Patients. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2018;78(1):78-82.

138. Gaskins AJ, Williams PL, Keller MG, Souter I, Hauser R, Chavarro JE; EARTH Study Team. Maternal physical and sedentary activities in relation to reproductive outcomes following IVF. *Reprod Biomed Online* 2016;33(4):513-521.
139. Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto M.E, Garcia-Manso J.M, Vaamonde-Lemos R, Swanson R.J, Oehninger S.C. Response of semen parameters to three training modalities. *Fertility and Sterility* 2009;92(6):1941-1946
140. Southorn, T .Great balls of fire and the vicious cycle: A study of the effects of cycling on male fertility. *J Fam Plann Reprod Health Care* 2002: 28(4)
141. Fesahat F, Montazeri F, Sheikhha MH, Saeedi H, Dehghani Firouzabadi R, Kalantar SM. Frequency of chromosomal aneuploidy in high quality embryos from young couples using preimplantation genetic screening. *Int J Reprod Biomed* 2017;15(5):297-304.
142. Majumdar G, Majumdar A, Verma JC, Upadhyaya KC. Relationship Between Morphology, Euploidy and Implantation Potential of Cleavage and Blastocyst Stage Embryos. *J Hum Reprod Sci.* 2017 Jan-Mar;10(1):49-57
143. Cui N, Li AM, Luo ZY, Zhao ZM, Xu YM, Zhang J, Yang AM, Wang LL, Hao GM, Gao BL. Effects of growth hormone on pregnancy rates of patients with thin endometrium. *J Endocrinol Invest.* 2018 [Epub ahead of print]
144. Rocha R, Peraçoli JC, Volpato GT, Damasceno DC, Campos KE. Effect of exercise on the maternal outcome in pregnancy of spontaneously hypertensive rats. *Acta Cir Bras* 2014;29(9):553-9.
145. Oumaima A, Tesnim A, Zohra H, Amira S, Ines Z, Sana C, Intissar G, Lobna E, Ali J, Meriem M. Investigation on the origin of sperm morphological defects: oxidative attacks, chromatin immaturity, and DNA fragmentation. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018 [Epub ahead of print].
146. Higdon H.L, Blackhurst D.W, Boone W.R. Incubator management in an assisted reproductive technology laboratory. *Fertil Steril* 2008;89(3):703-10
147. Dworzanski W, Opielak G, Burdan F. Side effects of caffeine. *Pol Merkur Lekarski* 2009;27(161):357-61.
148. Härter CJ, Lima LD, Silva HGO, Castagnino DS, Rivera AR, Resende KT, Teixeira IAMA. Energy and protein requirements for maintenance of dairy

- goats during pregnancy and their efficiencies of use. *Anim Sci.* 2017 Sep;95(9):4181-4193.
149. Amundson OL, Larimore EL, McNeel AK, Chase CC, Cushman RA, Freetly HC, Perry GA. Uterine environment and pregnancy rate of heifers with elevated plasma urea nitrogen. *Anim Reprod Sci* 2016;173:56-62.
150. Carlos S, De La Fuente-Arrillaga C, Bes-Rastrollo M, Razquin C, Rico-Campà A, Martínez-González MA, Ruiz-Canela M. Mediterranean Diet and Health Outcomes in the SUN Cohort. *Nutrients.* 2018 Mar 31;10(4).
151. Kasum M, Orešković S, Čehić E, Lila A, Ejubović E, Soldo D. The role of female obesity on in vitro fertilization outcomes. *Gynecol Endocrinol* 2018;34(3):184-188.
152. Reynaud Q, Poupon-Bourdy S, Rabilloud M, Al Mufti L, Rousset Jablonski C, Lemonnier L, Nove-Josserand R, Touzet S, Durieu I. Pregnancy outcome in women with cystic fibrosis related diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017;96(10):1223-1227.
153. Zacchini F, Toschi P, Ptak GE. Cobalamin supplementation during in vitro maturation improves developmental competence of sheep oocytes. *Theriogenology* 2017;93:55-61.
154. Mateos Blanco J, Alonso J. Evaluación de un compuesto de antioxidantes sobre los parámetros seminales de concentración, movilidad y morfología espermática en pacientes con oligoastenoteratozoospermia idiopática. *Revista internacional de Andrología* 2011;9(3):109-115.
155. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Jordan V, Hart RJ. Antioxidants for female subfertility. *Cochrane database Syst Rev* 2017;28:7.
156. Obeid R, Murphy M, Solé-Navais P, Yajnik C. Cobalamin Status from Pregnancy to Early Childhood: Lessons from Global Experience. *Adv. Nutr* 2017;8(6):971-979.
157. Muñoz D, Barrientos G, Alves J, Grijota FJ, Robles MC, Maynar M. Oxidative stress, lipid peroxidation indexes and antioxidant vitamins in long and middle distance athletes during a sport season. *J Sports Med Phys Fitness* 2017 [Epub ahead of print]

158. Wu Y, Zhang N, Li Y.H, Zhao L, Yang M, Jin Y, Xu Y.N, Guo H. Citrinin exposure affects oocyte maturation and embryo development by inducing oxidative stress-mediated apoptosis. *Oncotarget* 2017;8(21):34525-34533.
159. Fatemi F, Mohammadzadeh A, Sadeghi MR, Akhondi MM, Mohammadmoradi S, Kamali K, Lackpour N, Jouhari S, Zafadoust S, Mokhtar S, Giahi L. Role of vitamin E and D3 supplementation in Intra-Cytoplasmic Sperm Injection outcomes of women with polycystic ovarian syndrome: A double blinded randomized placebo-controlled trial. *Clin Nutr ESPEN* 2017;18:23-30.



8. TABLAS

Tabla 4. Características de la población a estudio.

	Mujeres (n=147)	Hombres (n=145)
Edad	36,3 (2,78)	38,9 (5,18)
IMC	24,5 (3,96)	26,7 (3,47)
Medio Rural	24,5%	25,5%
Medio Urbano	74,8%	73,8%
Riesgo profesional	14%	29%
Alcohol	19%	37,9%
Sustancias/ medicación	15%	14,5%
Tabaco	17%	30%
Presencia de al menos una de las exposiciones	51,7%	66,9%
Actividad física (FA)	2,1 (0,54)	2,3 (0,75)
Factor de esterilidad	Femenino – 26% Masculino – 33% ESCA – 18,5% Mixto – 22,6%	
Vitamina A	24,9 (9,19)	22,7 (8,81)
Vitamina E	10,2 (4,94)	8,8 (4,18)

Vitamina B6	9,1 (4,96)	7,5 (4,07)
Vitamina B12	20,2 (7,49)	20,3 (7,37)

Los valores se representan en media (desviación estándar). F.A: Factor medio de actividad física. (n.º horas dedicadas a cada tipo de actividad x factor ajustado por tasa metabólica basal)/ 24 horas. Ver anexo III.

Tabla 5. Características de la población a estudio según los grupos de exposición a sustancias tóxicas.

	Mujeres		Hombres	
	E (n=76)	NE (n=70)	E (n=97)	NE (n=47)
Edad	36,3 (3,05)	36,4 (2,49)	39,0 (5,02)	38,8 (5,61)
IMC	24,5 (4,11)	24,4 (3,83)	27,2 (3,51)	25,8 (3,25)
Dosis	2059,8 (637,06)	2103,0 (637,85)		

E: Expuestos/as a sustancias tóxicas. NE: No expuestos/as a sustancias tóxicas.

Tabla 6. Relación entre los diferentes tipos de exposición a sustancias tóxicas analizados por separado y la tasa de gestación clínica en las parejas estudiadas.

		Tasa de gestación clínica (%)	p
Medio Rural	(n= 33)	18,2	0,162
Medio Urbano	(n= 97)	25,5	
Riesgo profesional	Grupo 0 (n= 81)	29,6	0,122
	Grupo 1 (n= 44)	13,6	
	Grupo 2 (n= 6)	16,7	
Tabaco	Grupo 0 (n=85)	21,2	0, 509
	Grupo 1 (n=32)	31,2	
	Grupo 2 (n=14)	21,4	
Alcohol	Grupo 0 (n= 83)	27,7	0,305
	Grupo 1 (n= 44)	20	
	Grupo 2 (n= 6)	13	
Sustancias	Grupo 0 (n= 101)	25,7	0,579
	Grupo 1 (n= 25)	16	
	Grupo 2 (n=5)	20	

Chi – cuadrado de Pearson. Grupo 0: parejas en las que ningún miembro presentaba la exposición estudiada. Grupo 1: Parejas en las que solo uno de los dos presentaba dicha exposición. Grupo 2: Parejas en las que los dos miembros presentaban la exposición.

Tabla 7. Relación entre las distintas exposiciones a sustancias tóxicas y la tasa de aborto.

Medio		
Rural (n= 6)	33,33%	0,406*
Urbano (n= 24)	20,00%	
Riesgo profesional		
Sin riesgo (n=34)	10,53%	0,027*
Riesgo o riesgo doble (n=7)	41,87%	
Tabaco		
Grupo 0 (n=21)	16%	0,341*
Grupo 1 (n=7)	30%	
Grupo 2 (n=3)	40%	
Alcohol		
Grupo 0 (n=24)	11,11%	0,019*
Grupo 1 (n=3)	57,14%	
Grupo 2 (n=4)	33,33%	
Sustancias		
Grupo 0 (n=27)	15,62%	0,059*
Grupo 1 (n=3)	57,14%	
Grupo 2 (n=1)	0,00%	

* Test de Fisher. Grupo 0: ninguno de los dos miembros de la pareja sufre la exposición a sustancias tóxicas estudiada en cada caso. Grupo 1: solo uno de los dos miembros de la pareja sufre dicha exposición. Grupo 2: los dos miembros de la pareja están expuestos a las sustancias tóxicas estudiadas en cada caso.

Tabla 8. Relación entre la actividad física de las parejas según el factor medio de actividad física y la gestación clínica y aborto.

Actividad física y embarazo clínico			
No	n=114	2,11 [0,85]	0,444*
Sí	n=30	2,14 [0,53]	
Actividad física y aborto			
No	n=30	2,2 (0,45)	0,18**
Sí	n=9	2,63 (0,94)	

*Test de Wilcoxon. **Test de Welch. Los resultados se muestran en mediana [RIQ] y media (desviación típica) del factor medio de actividad física. RIQ: Rango intercuartílico.

Tabla 9. Relación entre la frecuencia del consumo semanal de diferentes alimentos por parte de las parejas y la tasa de gestación clínica y aborto.

Gestación clínica N: 114 (no), 30 (sí)			Aborto N: 30 (no), 9 (sí)		
Chocolate					
No	1,0 [0,88]	0,217*	No	0,8 [1,50]	0,028*
Sí	1,0 [1,50]		Sí	2,0 [1,50]	
Lácteos					
No	14,0 [6,50]	0,189*	No	14,25 [7,38]	0,326*
Sí	14,3 [8,38]		Sí	12,50 [8,50]	
Verduras					
No	6,0 [5,00]	0,118*	No	7,0 [5,63]	0
Sí	4,0 [4,88]		Sí	3,5 [1,50]	
Legumbres					
No	2,0 [1,38]	0,007*	No	1,5 [0,88]	0,623*
Sí	1,5 [1,00]		Sí	1,5 [1,50]	
Cereales					

No	3,5 [2,00]	0,065*	No	3,0 [1,76]	0,488*
Sí	3,0 [0,50]		Sí	3,0 [1,50]	
Pescados y mariscos					
No	3,0 [2,50]	0,376*	No	3,3 [2,26]	0,084*
Sí	2,8 [1,88]		Sí	1,5 [1,00]	
Carnes rojas					
No	2,0 [1,50]	0,025*	No	2,5 [1,50]	0,084*
Sí	3,0 [2,00]		Sí	2,0 [1,00]	
Proteínas					
No	14,5 [6,50]	0,014*	No	12,5 [6,25]	0,278*
Sí	12,3 [4,75]		Sí	15,0 [3,00]	
Vino					
No	0,5 [1,00]	0,005*	No	0 [0,50]	0,553*
Sí	0 [0,38]		Sí	0 [0]	

Los resultados se expresan en mediana [RIQ] de frecuencia de consumo semanal. RIQ: Rango intercuartílico. *Test de Wilcoxon.

Tabla 10. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas en las mujeres y la madurez ovocitaria en % ovocitos metafase II sobre el total de ovocitos obtenidos.

Rural (n=34)	86,7 (15,51)	0,675*
Urbano (n=99)	89,0 (15,94)	
Tabaco Si (n=21)	100 [18]	0,262**
Tabaco No (n=112)	87,5 [25]	
Alcohol Sí (n=25)	86 [20]	0,544**
Alcohol No (n=106)	89 [25]	
Sustancias Sí (n=20)	87 [33]	0,604**
Sustancias No (n=113)	89 [25]	

Los resultados se muestran en media (desviación típica) y mediana (rango intercuartílico). RIQ: Rango intercuartílico. *Test t de Student. **Test de Wilcoxon.

Tabla 11. Relación entre los diferentes patrones de alimentación y la actividad física (factor medio de actividad física) con la madurez ovocitaria.

Correlación	Coef. Correlación	p
Madurez – B6	-0,013	0,883
Madurez – B12	-0,140	0,106

Madurez – Vit A	-0,105	0,227
Madurez – Vit E	-0,060	0,491
Madurez – Chocolate	-0,062	0,478
Madurez – Lácteos	-0,114	0,192
Madurez – Verduras	-0,027	0,757
Madurez – Legumbres	-0,021	0,812
Madurez – Cereales	-0,100	0,247
Madurez – Hidratos de C.	-0,084	0,333
Madurez – Pollo	0,038	0,666
Madurez – Pescados/marisco	0,015	0,868
Madurez – Carnes rojas	-0,038	0,668
Madurez – Proteínas	-0,003	0,976
Madurez – Frutos secos	0,039	0,658
Madurez – Frutas	-0,095	0,277
Madurez – Bebidas azucaradas	-0,040	0,644
Madurez – Vino	-0,121	0,164
Madurez – Bollería industrial	0,106	0,223
Madurez – Actividad física	0.235	0,006

Madurez: número de ovocitos en metafase II sobre el total de ovocitos obtenidos.

Tabla 12. Relación entre los factores de exposición a sustancias tóxicas y los parámetros seminales.

<i>Medio rural o urbano - % espermatozoides tipo a</i>		
Rural (n=33)	16,3 (20,11)	0,046*
Urbano (n=88)	10,9 (9,34)	
<i>Riesgo Prof- Volumen seminal (ml)</i>		
No (n=85)	2,7 (1,51)	0,951*
Sí (n=37)	2,7 (1,48)	
<i>Riesgo Prof – Concentración (Millones espermatozoides/ml)</i>		
No (n=84)	46,3 (79,01)	0,657*
Sí (n=37)	52,5 (47,58)	
<i>Riesgo Prof - % espermatozoides tipo a</i>		
No (n=84)	13,0 (14,37)	0,404*
Sí (n=37)	10,8 (10,50)	
<i>Tabaco- Volumen seminal (ml)</i>		
No (n= 86)	2,8 (1,67)	0,021**
Sí (n=36)	2,3 (0,83)	

<i>Medicación crónica – Volumen seminal</i>		
No (n=107)	2,5 [1,60]	0,029***
Sí (n=15)	1,5 [1,80]	

Los resultados se muestran en media (SD) y mediana [RIQ]. SD: Desviación típica. RIQ: Rango intercuartílico. *Test t de Student. **Test de Welch. ***Test de Wilcoxon.

Tabla 13. Correlaciones entre el nivel de actividad física según el factor medio de actividad física y los parámetros seminales en varones. Correlación de Pearson.

Correlación	Coefficiente de Correlación	p
F.A- Volumen	0,139	0,126
F.A- Concentración	0,148	0,106
F.A- % tipo a	0,086	0,349
F.A- % tipo b	0,169	0,065
F.A- % tipo c	-0,033	0,719
F.A- % tipo d	-0,155	0,091

F.A: Actividad física.

Tabla 14. Relación entre patrones de alimentación y parámetros seminales.

Correlación	Coefficiente Correlación	p
Vit. B6- % a	0.232	0.010
Vit. E- Volumen	0.185	0.041
Vit. E- % a	0.2	0.027
Hidratos de C- Volumen	0.246	0.006
Cereales/Vegetales/Fruta - Volumen	0.184	0.041
Legumbres - % a	0.237	0.009
Vino- Volumen	0,210	0,020

Tabla 15. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas según los factores analizados y la tasa de fertilización en % de ovocitos fertilizados sobre el total de ovocitos inseminados.

Tabaco- T.F		
Grupo 0 (n= 93)	67 [40]	p= 0,889*
Grupo 1 (n=36)	67 [37,5]	
Grupo 2 (n=16)	73 [30]	
Alcohol- T.F		
Grupo 0 (n=88)	71 [43,25]	p= 0,455*
Grupo 1 (n=31)	67 [39,5]	

Grupo 2 (n=26)	67 [28,75]	
Riesgo profesional- T.F		
Grupo 0 (n=101)	67 [48]	p= 0,45*
Grupo 1 (n=47)	67 [38,50]	
Grupo 2 (n= 8)	69 [14,25]	
Sustancias/Medicamentos- T.F		
Grupo 0 (n=109)	67 [36]	p= 0,616*
Grupo 1 (n=29)	66 [60]	
Grupo 2 (n=7)	60 [40]	
Medio- T.F		
Rural (n=36)	64,36 (29,15)	p= 0,905**
Urbano (n=108)	63,64 (32,05)	
Presente al menos una de las exposiciones a sustancias tóxicas anteriormente analizadas - T.F		
Grupo 0 (n=41)	63,24 (34,36)	p= 0,973***
Grupo 1 (n=48)	62,25 (30,62)	
Grupo 2 (n=62)	63,68 (31,45)	

Grupo 0: ningún miembro de la pareja presenta exposición a sustancias tóxicas por el factor analizado en cada caso. Grupo 1: uno de los miembros presenta dicha exposición a sustancias tóxicas. Grupo 2: los dos miembros de la pareja están expuestos sustancias tóxicas por el factor analizado en cada caso. T.F: Tasa de fertilización. *Test Kruskal-Wallis. **Test t de Student. ***Test ANOVA.

Tabla 16. Correlaciones entre las frecuencias de los consumos de los diferentes alimentos y patrones alimenticios con la tasa de fertilización. Correlación entre el nivel de actividad física según el factor medio de actividad física de las parejas con la tasa de fertilización. Test correlación de Pearson.

Correlación	Coef. Correlación	p
T.F- Chocolate	-0,184	0,027
T.F- Lácteos	-0,013	0,874
T.F- Verduras	-0,065	0,438
T.F- Legumbres	0,005	0,950
T.F- Cereales	0,005	0,950
T.F- H.C	0,058	0,492
T.F- Pollo	-0,197	0,018
T.F- Pescados/mariscos	-0,086	0,304
T.F- Carnes rojas	-0,133	0,113
T.F- Proteínas	-0,208	0,012
T.F- Frutos secos	-0,061	0,469
T.F- Frutas	-0,015	0,857
T.F- B6	0,103	0,199
T.F- B12	0,146	0,066
T.F- Vit A	0,147	0,066

T.F- Vit E	0,096	0,227
T.F- Bebidas azucaradas	-0,071	0,400
T.F- Vino	-0,152	0,069
T.F- Bollería industrial	-0,117	0,162
T.F- Actividad física	0,075	0,369

T.F: Tasa de fertilización. H.C: Hidratos de carbono.

Tabla 17. Relación entre la calidad embrionaria y la exposición sustancias tóxicas por presencia de al menos uno de los factores analizados (medio urbano, riesgo profesional, tabaquismo, alcohol, consumo de sustancias/medicamentos). ANOVA de un factor.

	Grupo 0 (n=32)	Grupo 1 (n=46)	Grupo 2 (n=54)	p
N.º embriones AB	3,0 (2,27)	1,76 (1,99)	1,81 (1,72)	0,012
% A	29,7 (32,02)	27,7 (32,41)	30,5 (33,57)	0,907
% A y B	56,9 (33,17)	45,9 (38,59)	41,6 (34,05)	0,127

Tabla 18. Pruebas post hoc. Comparación entre diferentes grupos según la exposición a sustancias tóxicas. Grupo 0: Ninguno de los dos miembros de la pareja está expuesto a sustancias tóxicas. Grupo 1: Uno de los dos miembros está expuesto a sustancias tóxicas. Grupo 2: los dos miembros están expuestos a sustancias tóxicas. Test para comparaciones múltiples HSD de Tukey.

Grupo	Grupo	Error típico	Sig
0	1	0,452	0,019
	2	0,438	0,021
1	0	0,452	0,019
	2	0,394	0,990
2	0	0,438	0,021
	1	0,394	0,990

Tabla 19. Relación entre la calidad embrionaria y el riesgo profesional.

	Grupo 0 (n=81)	Grupo 1 (n=44)	Grupo 2 (n=7)	p
N.º A y B	2,5 (2,08)	1,5 (1,85)	1,3 (1,11)	0,025*
% A	32,3 (33,98)	24,8 (30,93)	23,1 (27,45)	0,412*
% A y B	52,6 (32,64)	38,6 (35,74)	30,3 (26,92)	0,036*

*Test ANOVA de un factor. Los resultados se expresan en media (SD). SD: Desviación típica.

Tabla 20. Relación entre la calidad embrionaria y el lugar de residencia (rural o urbano).

	Rural (n= 36)	Urbano (n=108)	p
% A	22,2 (28,49)	28,3 (33,59)	0,33*
% A y B	41,8 (32,48)	41,9 (36,12)	0,978*

* test t de Student. Los resultados se expresan en media (desviación típica).

Tabla 21. Relación entre la calidad embrionaria y el tabaquismo.

	Grupo 0 (n=93)	Grupo 1 (n=36)	Grupo 2 (n=16)	p
% A	17 [44]	15 [51,75]	15 [34,75]	0,922*
% A y B	50 [67]	32,5 [68]	33 [23,50]	0,647*

* test Kruskal- Wallis. Los resultados se expresan en mediana [RIQ]. RIQ: Rango intercuartílico.

Tabla 22. Relación entre la calidad embrionaria y el alcohol.

	Grupo 0 (n=88)	Grupo 1 (n=31)	Grupo 2 (n=26)	p
% A	19 [50]	17 [41,50]	0 [45,75]	0,644*
% A y B	50 [51,50]	28 [73]	29 [50]	0,333*

* test Kruskal- Wallis. Los resultados se expresan en mediana [RIQ]. RIQ: Rango intercuartílico.

Tabla 23. Relación entre la calidad embrionaria y el consumo de sustancias/medicamentos de manera crónica.

	Grupo 0 (n=109)	Grupo 1 (n=29)	Grupo 2 (n=7)	p
% A	13 [40]	23 [50]	67 [54,50]	0,166*
% A y B	40 [67]	38 [37]	67 [63,5]	0,773*

* test Kruskal- Wallis. Los resultados se expresan en mediana [RIQ]. RIQ: Rango intercuartílico.

Tabla 24. Relación entre el nivel de actividad física de las parejas en base al factor medio de actividad física y el porcentaje de embriones de calidad óptima. Correlación de Pearson.

Correlación	Coef. Correlación	P
F.A- % A	-0,074	0,372
F.A- % AB	-0,082	0,329

F.A: Actividad física. %A: Porcentaje embriones calidad A sobre el total de embriones.

% AB: Porcentaje de embriones de calidad A y B sobre el total.

Tabla 25. Relación entre la frecuencia de consumo de alimentos ricos en vitaminas antioxidantes y calidad embrionaria. Correlación de Pearson.

Correlación	Coef. Correlación	p
Vit. A- %A	0,162	0,042
Vit. A- % AB	0,147	0,065
Vit. E- % A	0,148	0,063

Vit. E- % AB	0,122	0,128
Vit. B6- % A	0,177	0,060
Vit. B6- % AB	0,153	0,054
Vit. B12- % A	0,113	0,157
Vit. B12- % AB	0,121	0,131
Verduras - % A	0,164	0,050
Vino - % A y B	-0,156	0,062

Tabla 26. Relación entre la exposición a sustancias tóxicas por diferentes factores en parejas y la tasa de implantación.

Medio rural (n=9)	50 [50]	0,986*
Medio urbano (n=31)	50 [50]	
Riesgo profesional		
Grupo 0 (n=38)	50 [100]	0,567**
Grupo 1 (n=9)	50 [50]	
Grupo 2 (n=3)	0 [50]	
Tabaco		
Grupo 0 (n=25)	50 [50]	0,156**
Grupo 1 (n=10)	100 [37,5]	
Grupo 2 (n=5)	50 [100]	

Alcohol		
Grupo 0 (n=27)	100 [50]	0,584**
Grupo 1 (n=7)	50 [50]	
Grupo 2 (n=6)	50 [75]	
Sustancias/Medicamentos		
Sin exposición (n=32)	75 [50]	0,485*
Expuestos o doblemente expuestos (n=8)	50 [62,5]	
Presencia de al menos un tipo de exposición de los anteriormente analizados		
Grupo 0 (n=18)	75 [50]	0,48**
Grupo 1 (n=11)	100 [50]	
Grupo 2 (n=15)	50 [75]	

Los resultados se expresan en mediana (RIQ). *test de Wilcoxon. ** test de Kruskal-Wallis. RIQ: Rango intercuartílico. Grupo 0: ningún miembro de la pareja presenta exposición a sustancias tóxicas por el factor analizado en cada caso. Grupo 1: uno de los miembros presenta dicha exposición a sustancias tóxicas. Grupo 2: los dos miembros de la pareja están expuestos sustancias tóxicas por el factor analizado en cada caso.

Tabla 27. Relación entre los distintos patrones de alimentación según la frecuencia semanal de consumo de diferentes alimentos así como de alimentos ricos en las vitaminas analizadas y niveles de actividad física según el factor medio de actividad física con la tasa de implantación.

	Coeficiente de correlación	P valor
T.I – Actividad física	-0,373	0,019
T.I – Chocolate	-0,149	0,363
T.I - Lácteos	0,182	0,267
T.I – Verduras	-0,131	0,426
T.I – Legumbres	-0,109	0,509
T.I - Cereales	0,027	0,870
T.I – Frutos secos	-0,309	0,055
T.I – Vitamina B6	0,208	0,148
T.I – Vitamina B12	0,367	0,009
T.I – Vitamina A	0,346	0,014
T.I – Vitamina E	0,261	0,067
T.I – H.C	0,068	0,681
T.I – Pollo	-0,147	0,373
T.I – Pescados/mariscos	-0,248	0,128
T.I – Carnes rojas	-0,227	0,164

T.I – Proteínas	-0,175	0,286
T.I – Frutas	-0,140	0,394
T.I – Bollería industrial	-0,224	0,171
T.I – Bebidas azucaradas	0,187	0,254
T.I - Vino	-0,215	0,189

T.I: Tasa de Implantación. H.C: Hidratos de carbono.

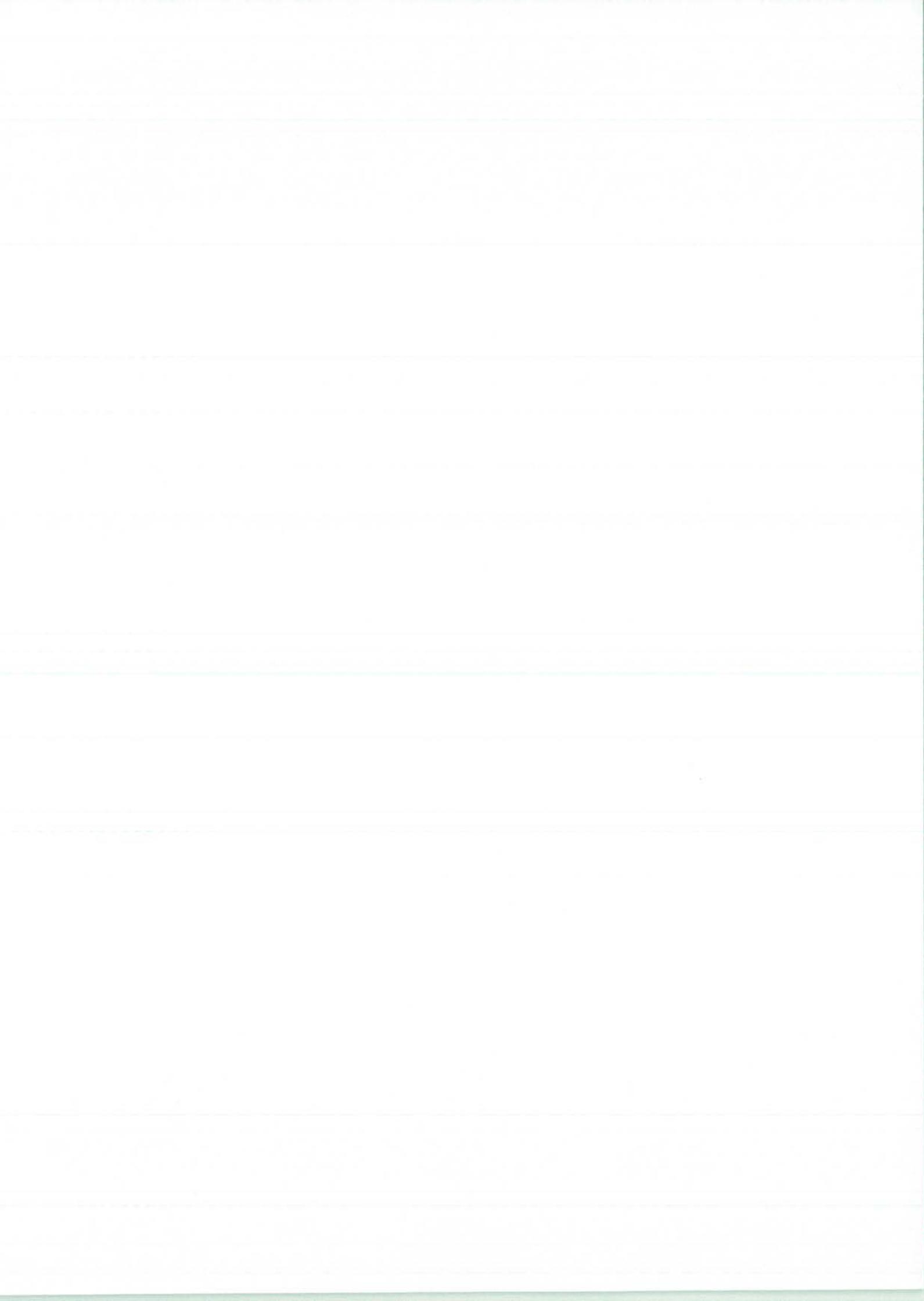
Tabla 28. Análisis multivariante

V. Dependiente	V.independiente	Coficiente	P	OR (IC 95%)
Gestación clínica R2*: 36,42%	Riesgo profesional	-1,03	0,051	0,36 (0,12-0,96)
	Lácteos	0,08	0,061	1,09(0,11-7,88)
	Legumbres	-0,56	0,039	0,57(0,32-0,95)
	Cereales	-0,29	0,081	0,74(0,53-1,03)
	Carnes rojas	-0,36	0,077	0,69(0,45-1,01)
	Aceite de oliva	0,87	0,094	2,39(0,85-6,89)
	Vino	-1,25	0,011	0,28(0,09-0,66)
Aborto R2*: 52,81%	Alcohol	2,63	0,016	13,88(2,06-176,38)
	Chocolate	1,28	0,017	3,60(1,401-12,369)
Nº Ovocitos R2: 3,44% P=0,036	Cereales	0,54	0,042	
	Bebidas azucaradas	-0,35	0,082	

Tasa de madurez ovocitaria R2: 4,81% p=0,006	Actividad física	0,28	0,006	
Volumen seminal R2:13,78% P<0,001	Tabaco Sí	-0,49	0,101	
	Sustancias/Medicamentos	-1,09	0,007	
	Actividad física	0,01	0,078	
	Hidratos de carbono	0,06	0,012	
Conc. seminal R2: 5,51% P=0,022	Actividad física	0,54	0,124	
	Carnes rojas	7,94	0,045	
	Pollo	-8,69	0,054	
% tipo a R2:11,91% P<0,001	Verduras	0,79	0,018	
	Legumbres	2,32	0,019	
	Bebidas azucaradas	1,23	0,005	
% tipo b R2: 3,61% P=0,043	Urbano	7,86	0,09	
	Actividad física	0,24	0,04	
Tasa de fertilización R2: 7,15% p=0,003	Chocolate	-4,22	0,04	
	Pollo	-5,33	0,01	
	Aceite de oliva	11,29	0,055	
%A R2: 4,62% p=0,013	Verduras	5,16	0,005	

%AB R2: 6,96% p=0,01	Riesgo profesional	-11,44	0,053	
	Verduras	5,25	0,018	
	Pescados y mariscos	-3,72	0,032	
Tasa implantación R2: 18,9% p=0,044	Actividad física	-0,95	0,024	
	Carnes rojas	-20,98	0,021	
	Vitamina B12	10,42	0,071	
	Vitamina A	-10,2	0,078	
	Vitamina E	8,59	0,136	
	Vino	-24,55	0,059	

*Modelo Nagelkerke de regresión logística. R2: Bondad de ajuste del modelo. OR: Odds Ratio. Gns: Gonadotropinas. Conc: concentración. % tipo a: porcentaje de espermatozoides de movilidad rápida progresiva sobre la concentración total. % tipo b: porcentaje de espermatozoides de movilidad progresiva. %A: Porcentaje de embriones de calidad A sobre el total. %AB: Porcentaje de embriones de calidad A y B sobre el total.



9. ANEXOS

ANEXO I: DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

.....DNI..... otorgo mi consentimiento para participar el Proyecto de Investigación titulado **“Influencia de los distintos factores ambientales sobre el éxito de las técnicas de reproducción asistida en Asturias”** tras haber sido informado/a detalladamente de los fines de la investigación tras haberseme propuesto participar voluntariamente en dicho estudio observacional para evaluar el impacto de diversos factores ambientales sobre el resultado de la técnicas de reproducción asistida y sobre el éxito reproductivo en general. El objetivo principal es evaluar la calidad embrionaria en parejas sometidas a tratamiento pertenecientes a diversos grupos, no pudiendo utilizarse en ningún caso, los datos obtenidos con fines comerciales.

Así mismo, conozco que mi participación en el estudio es estrictamente voluntaria, pudiendo negarme a participar antes o durante el estudio sin que de ello se derive ningún perjuicio, ni que se vea afectada la atención médica que recibo o que suponga pérdida de los beneficios a los que tengo derecho, de manera que este consentimiento podrá ser revocado en cualquier momento, sin tener que dar ninguna explicación y sin que ello tenga ninguna repercusión en la atención que recibo en el Centro. Si decidiera revocar el consentimiento, los datos aportados serían destruidos. De igual manera, se me ha informado que no obtendré un beneficio directo, derivado de mi participación.

Comprendo que mi participación consiste en completar la información de la encuesta correspondiente. Estos datos serán manejados con absoluta confidencialidad pudiendo ser utilizados únicamente en este proyecto de investigación o en otros proyectos de investigación futuros que hayan sido aprobados por los Comités de Ética para la Investigación del Principado de Asturias o de otros centros con los que colaboren los investigadores del estudio. Si lo deseo, existe la posibilidad de que pueda ser contactada en el futuro para completar la información que aportaré en este momento si fuera necesario para el desarrollo de la investigación biomédica, en cuyo caso volvería a ser informada de la situación y tendría la libertad de participar o declinar dicha participación.

PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES Y CONFIDENCIALIDAD

Se me ha explicado que además de cumplimentar las encuestas, los investigadores necesitan datos como: edad, sexo, altura, peso, antecedentes personales y familiares de enfermedades, etc. Estos datos personales y de salud serán incorporados y tratados en una base de datos de la que es responsable el Investigador Principal, cumpliendo la legislación que regula la protección de datos personales y confidencialidad.

De acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, todos los datos recogidos en el transcurso del estudio serán tratados de forma estrictamente confidencial y serán utilizados para la realización del estudio sin desvelar en ningún momento su nombre y apellidos. Sus datos sólo serán utilizados para desarrollar el estudio y su tratamiento tendrá estrictamente fines estadísticos. El acceso a su información personal quedará restringido al equipo médico del estudio o autoridades sanitarias, y al personal autorizado por el investigador principal, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio; pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. Los datos permanecerán en un fichero informatizado propiedad del equipo investigador y de acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al investigador principal del estudio o al médico del estudio.

DECLARO, que he sido informado por el profesional de salud abajo firmante:

- Sobre los objetivos de la investigación en la que participo.
- Que los datos personales que proporciono serán tratados de forma anónima y codificada por los investigadores que trabajen con ellos.
- Que en cualquier momento puedo revocar mi consentimiento y solicitar la eliminación de mis datos personales y de las encuestas. Esta eliminación no se extendería a los datos resultantes de las investigaciones que ya se hubieran llevado a cabo.
- Que he comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

CONSIENTO

- Que el Hospital u otros centros de investigación, públicos o privados, utilicen mis datos y las muestras, incluyendo la información sobre mi salud, para la presente investigación biomédica, manteniendo siempre la confidencialidad de mis datos que aporte de manera voluntaria.
- Que el investigador principal del estudio pudiera contactar conmigo en el futuro en caso de que se estime oportuno añadir nuevos datos a los recogidos.

Fdo.: D./Dña.....

Ena.....de.....de 20.....

Declaración del profesional de salud: He informado debidamente a la paciente

Fdo.: Dr/a.....DNI.....

Ena.....de.....de 20.....

ANEXO II : Cuestionario sobre exposición a sustancias tóxicas

ENCUESTA PARA PARTICIPANTES.

A continuación pasamos a solicitarle la cumplimentación de una serie de datos que serán tratados de manera confidencial conservando el anonimato, únicamente con el fin de contribuir a ampliar los conocimientos actuales sobre los distintos factores que afectan a la fertilidad, mediante la realización del estudio arriba mencionado.

Se trata de una serie de cuestiones sociodemográficas.

Nombre:

Edad:

Sexo:

Peso:

Altura:

Lugar de nacimiento:

Lugar de residencia:

Profesión:

Contacto con sustancias tóxicas en su trabajo:

Consumo de tabaco:

Consumo de alcohol:

Consumo de otras sustancias ó fármacos:

Diagnóstico (a rellenar por el centro):

Edad de la primera menstruación (para mujeres):

Regularidad en los ciclos menstruales (para mujeres):

ANEXO III: Cuestionario relativo a los hábitos o estilo de vida.

Básicamente, nos gustaría valorar su nivel de actividad física habitual. Para ello, debe rellenar el siguiente cuadro con el número de horas al día que dedica aproximadamente a cada actividad. Para realizarlo, piense en un día normal en su vida y evite fijarse en días que se salgan de la actividad que suele ud. realizar habitualmente.

Estimación individual del factor de actividad física (NRC, 1989) múltiplo de la Tasa Metabólica en Reposo (TMR).

Anotar el tiempo dedicado a cada una de las actividades y multiplicar por el coeficiente de la columna de TMR

(Recuerde que el tiempo tiene que sumar 24 horas):

Tipo de actividad	x TMR	Tiempo (horas)	Total
Descanso: dormir, estar tumbado,	1.0		
Muy ligera: estar sentado, conducir, estudiar, trabajo de ordenador, comer, cocinar, ...	1.5		
Ligera: tareas ligeras del hogar, andar despacio, jugar al golf, bolos, tiro al arco, trabajos como zapatero, sastre, ...	2.5		
Moderada: andar a 5-6 km/h, tareas pesadas del hogar, montar en bicicleta, tenis, baile, natación moderada, trabajos de jardinero, peones de albañil, ..	5.0		
Alta: andar muy deprisa, subir escaleras, montañismo, fútbol, baloncesto, natación fuerte, leñadores, ...	7.0		
		24 horas	A=

Factor medio de actividad física (FA) = A / 24 horas

Necesidades totales de energía = TMR × FA

Anexo IV: Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

A continuación hay dos tipos de encuestas alimentarias: en la primera de ellas debe rellenar la frecuencia con la que consume los alimentos mencionados y la segunda consiste en recordar los alimentos consumidos el día previo.

LISTADO DE ALIMENTOS	¿CUÁNTAS VECES COME?	
	A LA SEMANA	AL MES
Leche		
Yogur		
Chocolate: tableta, bombones, "Kit Kat", "Mars"...		
Cereales inflados de desayuno ("Corn-Flakes", "Kellog's")		
Galletas tipo "maría"		
Galletas con chocolate, crema...		
Magdalenas, bizcocho...		
Ensamada, donut, croissant...		
	A LA SEMANA	AL MES
Ensalada: lechuga, tomate, escarola...		
Judías verdes, acelgas o espinacas		
Verduras de guarnición: berenjena, champiñones		
Patatas al horno, fritas o hervidas		
Legumbres: lentejas, garbanzos, judías...		
Arroz blanco, paella		
Pasta: fideos, macarrones, espaguetis...		
Sopas y cremas		
	A LA SEMANA	AL MES
Huevos		
Pollo o pavo		
Ternero, cerdo, cordero (bistec, empanada,...)		
Carne picada, longaniza, hamburguesa		
Pescado blanco: merluza, mero...		
Pescado azul: sardinas, atún, salmón,...		
Marisco: mejillones, gambas, langostinos, calamares,...		
Croquetas, empanadillas, pizza		
Pan (en bocadillo, con las comidas,...)		
	A LA SEMANA	AL MES
Jamón salado, dulce, embutidos		
Queso blanco o fresco (Burgos,...) o bajo en calorías		
Otros quesos: curados o semicurado, cremosos		
	A LA SEMANA	AL MES
Frutas cítricas: naranja, mandarina...		
Otras frutas: manzana, pera, melocotón, plátano...		
Frutas en conserva (en almíbar...)		
Zumos de fruta natural		
Zumos de fruta comercial		
Frutos secos: cacahuètes, avellanas, almendras,...		
Postres lácteos: natillas, flan, requesón		
Pasteles de crema o chocolate		
Bolsas de aperitivos («chips», «chetos», «fritos»...)		
Golosinas: gominolas, caramelos...		
Helados		
	A LA SEMANA	AL MES
Bebidas azucaradas ("coca-cola", "Fanta"...)		
Bebidas bajas en calorías (coca-cola light...)		
Vino, sangría		
Cerveza		
Cerveza sin alcohol		
Bebidas destiladas: whisky, ginebra, coñac,...		

RECUERDO 24 HORAS

Instrucciones para realizar el Recuerdo de 24 horas.

Por favor, antes de comenzar, lea las siguientes observaciones que le ayudarán a optimizar la recogida de los datos.

El objeto de esta encuesta es conocer su consumo diario de alimentos y bebidas. Anote con la mayor precisión posible todos los alimentos y bebidas consumidos en las últimas 24 horas.

Puede empezar por el desayuno del día anterior y continuar hasta completar el recuerdo de la dieta del día entero. Anote los alimentos consumidos entre horas.

Escriba la **calidad del alimento** (leche entera o desnatada, pan blanco o integral, tipo de carne, aceite, etc.) y estime la cantidad consumida en medidas caseras o en raciones (grande, mediana, pequeña). La información que figura en el envase de muchos alimentos puede ser muy útil para este fin. No olvide **anotar el aceite empleado** en las preparaciones culinarias, **el pan, el azúcar o las bebidas** consumidas (refrescos y bebidas alcohólicas). Resulta muy útil registrar el **método de preparación culinario** (cocido, frito, asado, etc.) para estimar posteriormente la cantidad de aceite utilizado, si éste no se conoce con exactitud.

Para facilitar el recuerdo, escriba inicialmente el menú consumido en cada comida y luego describa detalladamente los ingredientes.

Igualmente, para ayudar a memorizar, es muy práctico recordar dónde comimos, con quién, a qué hora, quién preparó la comida.

Cuestionario de recuerdo de 24 horas

Trate de recordar todos los alimentos y bebidas que consumió ayer.

Fecha correspondiente al día de recuerdo:	Edad:
Nombre:	Sexo:
Actividad física (baja, moderada, elevada):	Peso (kg):
Consumo de suplementos (tipo y cantidad):	Talla (m):

DESAYUNO		Hora:	Lugar:
Menús y Proceso culinario	Alimentos (calidad y cantidad)		
	Azúcar:		
COMIDA		Hora:	Lugar:
Menús y Proceso culinario	Alimentos (calidad y cantidad)		
	Bebidas:		
	Pan: Aceite (tipo):		
MERIENDA		Hora:	Lugar:
Menús y Proceso culinario	Alimentos (calidad y cantidad)		
CENA		Hora:	Lugar:
Menús y Proceso culinario	Alimentos (calidad y cantidad)		
	Bebidas:		
	Pan: Aceite (tipo):		
ENTRE HORAS		Hora:	Lugar:
Menús y Proceso culinario	Alimentos (calidad y cantidad)		

La comida anterior, ¿ha sido diferente por algún motivo? SÍ NO

En caso afirmativo, indique por qué:



