

DECLINUL CALITĂȚII MATERIALULUI SEMINAL LA BĂRBAȚI – PROVOCAREA NOULUI MILENIU

MALE SEMINAL QUALITY DECLINE – THE CHALLENGE OF THE NEW MILLENIUM

Arian Iurie ¹, Dumbrăveanu Ion ²

IMSP Spitalul Clinic Municipal nr. 1, Chișinău¹

Catedra de Urologie și Nefrologie Chirurgicală, USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău²

Rezumat

Pe parcursul ultimelor decenii au fost multe dezbateri științifice despre declinul calității materialului seminal, consemnat în studiile din întreaga lume. Scăderea semnificativă a concentrației spermatozoizilor a fost raportată în majoritatea studiilor. Există un număr tot mai mare de publicații care sugerează că factorii fizici și chimici, ce rezultă din activitatea umană au contribuit direct la scăderea radicală a calității spermei. În același timp, se raportează creșterea incidenței altor afecțiuni ale sistemului reproductiv, cum ar fi cancerul testicular, hipospadia și criptorhidia. Expunerea la estrogeni și antiandrogeni în timpul perioadei fetale este un factor etiologic a multiplelor afecțiuni testiculare sau sistemice. Studiul prezintă o revizuire complexă a celor mai importante publicații care raportează instabilitatea calității materialului seminal și punctează asupra principalilor factori responsabili de acest declin, cu accentuarea impactului transgenerațional asupra fertilității umane.

Summary

Over the last decades, there have been scientific debates on the decline in semen quality, and several studies around the world have reported a deterioration in it. A significant decrease in sperm concentration was reported in some studies, but not in others. Meanwhile, there is an increasing number of reports suggesting that physical and chemical factors introduced and spread by human activity in the environment may have contributed to sperm radical decline. At the same time, studies report an increase in the incidence of other reproductive system diseases, such as testicular cancer, hypospasia and cryptorchidia. Exposure to estrogen and antiandrogens during the fetal period is found to be an etiological factor in multiple testicular and systemic disorders. This study presents a complex review by highlighting the most important studies that report the instability of semen quality as well as highlighting the main factors supposed or proven to be responsible for this decline, from perspectives of transgenerational factors affecting human fertility.

Introducere

Fundamentul analizei moderne a materialului seminal a fost pus în 1929 de către Donald Macomber și Morris B. Sanders, care au efectuat prima evaluare cantitativă a spermatozoizilor în probele de spermă a 294 de bărbați. Ei au concluzionat că numărul de 60 de milioane per ml de spermatozoizi ar putea induce fără dificultate o sarcină spontană (1). În acea perioadă, McLeod a scris: "Cred că dacă vom selecta un indicator de numărare pentru a reprezenta linia de demarcație între fertilitatea defectuoasă și normală, 60 de milioane per ml ar fi o alegere înțeleaptă" (2). Valoarea respectivă a fost stabilită ca o limită standard pentru măsurarea fertilității masculine. În 1951, valoarea normală, de referință pentru numărul de spermatozoizi a scăzut la 20 milioane per ml, urmare a studiului comparativ realizat de John MacLeod și Gold pe 1000 de bărbați fertili și 800 de bărbați infertili (3).

Constientizând importanța diagnostică a spermogramei, pentru a standardiza și uniformiza practica laboratoarelor din întreaga lume, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a inițiat cercetări pentru aprecierea valorilor de referință a spermogramei. Primele recomandări ale OMS în domeniu au fost publicate în 1980, fiind ulterior actualizate în anii 1987, 1992, 1999 și 2010 (4, 5). Deși ultima versiune OMS furnizează valori de referință conform datelor studiilor populaționale, ele sunt foarte mici, comparativ cu cele din edițiile precedente. Interesant este faptul că, scăderea treptată a valorilor de referință atribuite de OMS pentru evaluarea parametrilor materialului seminal se bazează

pe rezultatele multiplelor studii efectuate în diferite regiuni ale lumii unde în ultimele decenii se înregistrează scăderea alarmantă a fertilității bărbaților.

În 1974, Nelson și Bunge au analizat probele de spermă a 386 de bărbați care s-au prezentat pentru vasectomie. Titlul raportului a fost "Spermograma: dovezi în favoarea modificării valorilor de referință pentru fertilitatea masculină". Ei au observat că concentrația medie a spermatozoizilor a fost de 48 mln/ml și doar 7% au avut o concentrație de spermatozoizi mai mare de 100 mln/ml, fiind mult mai scăzută decât valorile stabilite de MacLeod și Gold (6). Cercetătorii Leto și Frensilli (7) au observat tendințe de scădere în ultimii 8 ani a concentrației spermatozoizilor, ratei spermatozoizilor cu mișcări progresive, viabilitate și morfologie normală.

În 1983, Bostoft și colab. au publicat un raport privind scăderea fertilității la bărbații danezi (8). În cadrul studiului au fost analizate rezultatele spermogramei la 1077 bărbați investigați în 1952, comparativ cu cele ale 1000 de bărbați examinați în 1972. S-a identificat scăderea evidentă a concentrației spermatozoizilor: de la 73,4 mln/ml în 1952 la 54,5 mln/ml în 1972; reducerea motilității spermatozoizilor și creșterea numărului de spermatozoizi anormali. Osser și colab. (1984) au raportat rezultate similare în cadrul unui studiu în care au fost incluși 185 de bărbați cu infertilitate din Suedia (9). Concentrația medie a spermatozoizilor a fost de 109 mln/ml în 1960 și 65 mln/ml în 1980. Dar studiile respective au fost catalogate ca prea mici și limitate la anumite regiuni, nefiind suficiente pentru a

instigă comunitatea științifică internațională la discuții asupra problemei declinului calității materialului seminal.

Problema a revenit în 1992, prin publicarea unui raport influent al lui Elisabeth Carlsen, care a furnizat dovezi despre scăderea globală a calității materialului seminal în ultimii 50 de ani (1938-1990) (10). Studiul său de meta-analiza a inclus 61 de studii naționale și regionale, ca criteriu de bază fiind investigarea bărbaților fără istoric de infertilitate. În urma utilizării regresiei liniare a fost raportată o scădere semnificativă a concentrației și a volumului spermei. Concentrația spermatozoizilor a scăzut cu o rată de 0,94 mln/ml pe an (circa 1% anual): de la 113 mln/ml în 1940 la 66 mln/ml în 1990. Volumul ejaculatului a scăzut de la 3,4 ml la 2,75 ml, ce a redus semnificativ numărul total de spermatozoizi. Studiul a avut numeroase critici care au pus semne de întrebare la designul retrospectiv și la analiza matematică folosită, dar totodată inițiat un nou val de cercetări în domeniu.

Începând cu anul 1992, literatura științifică a devenit aglomerată de publicații la temă cu dezbatere aprinse între oamenii de știință și clinicieni. Swan și colab. în 1997 a reevaluat studiul Carlsen și a încercat să sublinieze neajunsurile prin reglementarea factorilor de confuzie (vârsta, timpul de abținere, metoda de colectare a materialului seminal și starea fertilității) cu implementarea unor metode statistice diferite pentru a ajunge la o interpretare mai cuprinzătoare (11). Au fost utilizate date din 56 de studii efectuate în Statele Unite, Europa și țările non-occidentale și s-a constatat scăderea densității spermei în Statele Unite cu 1,5% anual, în Europa și Australia cu 3% anual, ce a fost mai mare decât declinul raportat de Carlsen în 1992 (1% anual). Deoarece datele pentru țările non-occidentale au fost insuficiente pentru o concluzie clară, Swan și colab. în 2000 a extins studiul Carlsen prin includerea a 47 de studii noi, meta-analiză fiind efectuată deja pe 101 studii publicate în perioada 1934-1996. Ca și în studiile anterioare s-a observat un ritm alarmant de scădere a fertilității (12).

Pentru a efectua studii prospective, clinicienii au început să preia date din evidențele băncilor de spermă, de la donatorii de spermă sau prin selectarea subiecților de sex masculin din cuplurile infertile sau subfertile (13). Auger și colab. în 1995 au colectat date privind materialul seminal acumulat timp de 23 de ani (1973-1996) de către o bancă de spermă din Paris unde modul de colectare a materialului seminal și metodele de analiză au rămas aceleași pe întreaga perioadă de studiu. Analiza nu a indicat nici o modificare a volumului spermei în timpul perioadei de studiu, în timp ce concentrația medie a spermei a scăzut cu 2,1% pe an, de la 89 mln/ml în 1973 la 60 mln/ml în 1992. În aceeași perioadă, rata de spermatozoizi motili și normali au scăzut cu 0,6% și respectiv 0,5% anual (14).

Începând cu anii 2000, au fost efectuate studii randomizate care au accentuat relevanța problemei. Un studiu efectuat în Austria în perioada 1986-2003 a inclus circa 7780 de bărbați din mediul urban și a arătat că concentrația spermei a scăzut de la 27,75 mln/ml în 1986 la 4,60 mln/ml în 2003, iar pH-ul spermei a crescut de la 7,4 în 1986 la 7,9 în 2003 (15). În Finlanda, un studiu efectuat pe 858 de bărbați de vârstă diferită, desfășurat în perioada 1998-2006, a demonstrat legătura între vârstă și calitatea materialului seminal. Paradoxal dar bărbații mai tineri au avut parametri spermali mai scăzuți decât băbații cu vârsta mai înaintată, concluzionându-se că bărbații născuți în condițiile prezenței factorilor care alterează funcția fertilă, apriori au o funcție diminuată a materialului seminal.

Într-un alt studiu Geoffroy-Siraudin și colab. au analizat funcția fertilă la circa 10.932 de bărbați normozoospermici din cuplurile infertile din Marsilia (Franța), demonstrând o depreciere a concentrației spermatozoizilor de 1%, motilitatea totală de 0,4%, motilitatea rapid progresivă de 5,5% și morfologia normală de 2,2% anual (16). În mod similar, Spingart și colab. (2012) a raportat o scădere semnificativă a numărului total de spermatozoizi, motilității, viabilității și morfologiei normale în Tours, Franța, în perioada 1976-2009 (17). Mai mult, scăderea concentrației spermatozoizilor cu 1,9% anual și morfologie normală a fost raportată de către Rolland și colab. (2012) pe o perioadă de 17 ani (1989-2005) pe un lot de 26609 de bărbați, din cupluri infertile care s-au adresat pentru servicii de reproducere asistată (18). Un alt studiu retrospectiv din Noua Zeelandă, realizat în perioada 1987-2007 pe 975 de donatori de spermă din Auckland și Wellington a arătat o scădere a concentrației spermei de la 110 mln/ml în 1987 la 50 mln/ml în 2007 (19).

Un studiu efectuat în SUA, care a inclus 489 de donatori de spermă din zona urbană a orașului Boston, a analizat datele spermogramei folosind regresia liniară după ajustarea pe vârstă, zile de abținere, precum și prin testul de tendință Cochran-Armitage, raportând scăderea numărului de spermatozoizi (20). Studiul dat vine cu o noutate în rezultate, deoarece studiile anterioare efectuate în SUA nu au raportat schimbări semnificative în materialul seminal. Este relevant de menționat studiul de meta-analiza care a cuprins 29 de studii publicate în perioada 1938-1996, incluzând 9612 de bărbați subfertili din SUA care a concluzionat ca parametrii spermali nu s-au modificat în perioada de studiu (21). Fisch și colab. (1996), analizând datele de la băncile de spermă din New York, California și Minnesota (1283 de bărbați care și-au crioconservat sperma înainte de vasectomie), au raportat o creștere a concentrației spermei pe o perioadă de 25 de ani (1970-1995) (21). În Brazilia, probele de spermă de la 764 de bărbați infertili, examinați în perioada 2000-2002 au fost comparate cu probele a 1536 de bărbați infertili în perioada 2010-2012. Concentrația medie a spermei per ml a scăzut remarcabil de la 61,7 milioane în 2000-2002 la 26,7 milioane în 2010-2012 (23).

Tendința de scădere a parametrilor materialului seminal este foarte interesantă, deoarece în studiile efectuate pe diverse populații putem observa creșterea prevalenței cancerilor testiculare, defectelor anatomice peniene de tip hipospadie și criptorchidie (24, 25). Incidența cancerului testicular a crescut semnificativ în țările dezvoltate în perioada dintre 1980 și 2002. Statisticile arată o creștere anuală de 2,4% în Suedia, 5,0% în Spania, 2,9% în Marea Britanie, 3,0% în Australia, 3,5% în China, iar în India găsim o cifră ceva mai scăzută de numai 1,7% (26). În Finlanda, s-a efectuat un studiu prospectiv pentru a analiza tendințele actuale ale calității materialului seminal și a incidenței cancerului testicular. Datele privind spermogramele a 858 de bărbați din populația generală (vârsta 18-19 ani) obținute în perioada 1998-2006 au fost comparate cu datele din registrele incidenței cancerului testicular (5974 de cazuri) din perioada 1954-2008. Studiul a confirmat incidența crescută a neoplaziei testiculare în ultimii 15 ani, în paralel cu scăderea calității spermei în perioada 1998-2006 (27).

Sistemul Internațional de Referință pentru Monitorizarea Defectelor la Naștere (ICBDMS), a raportat că în anii '60 în Suedia, Norvegia, Danemarca, Anglia și Ungaria au fost observate tendințe de creștere ale incidenței hipospadiilor (28). Analiza datelor preluate din registrele Programului Metropolitanului

Atlanta pentru defecte congenitale (MACDP) și a Programul Statelor Unite de monitorizare a defectelor la naștere (BDMP), a raportat dublarea ratei de apariție a hipospadiiilor în perioada 1970-1993 de la 20,2 la 39,7 la 10 000 de nașteri (29) iar un studiu longitudinal realizat în perioada 1977-2005 la băieții danezi a arătat apariția hipospadiiilor la 3940 băieți comparativ cu 921,745 născuți vii de sex masculin, cu prevalență în creștere de la 0,24% în 1977 la 0,52% în 2005 și o rată anuală de creștere a prevalenței de 2,40% (30). Prevalența criptorhidiei printre băieții născuți în Regatul Unit a crescut de la 2,7 la 4,1% între anii 1950 și 1980, iar în Danemarca de la 1,8 la 8,4% între anii 1950 și 1990. Aceste cifre variază între 2,1 și 8,4% în diferite țări din datele statistice pe ultimii 20 de ani (31, 32).

La aceasta etapa, este cert că în ultimele decenii în țările dezvoltate a apărut o scădere semnificativă a ratei fertilității (33, 34). În Europa și Japonia s-a înregistrat o medie de mai puțin de doi copii pe cuplu, în timp ce în Spania și Italia această cifră este sub 1,5 (Bosch 2000). Comitetul Internațional pentru Monitorizarea Tehnologiei de Reproducere Asistată (ICMART) în 2002 a raportat o creștere a utilizării metodei de injectare intracitoplasmatică a spermatozoidului (ICSI) la nivel mondial: de la 54,4% în 2000 la 60,8% în 2002 în America de Nord, de la 45,7% la 53,9% în Europa și a atins 76,1% în America Latină și 92,5% în Orientul Mijlociu în 2002. Conform consorțiului european de monitorizare a FIV, numărul ciclurilor raportate de FIV și ICSI a crescut cu 4,9% față de 2011 (35).

Deși rata fertilității este un fenomen complex care este influențat de mai mulți factori, un declin semnificativ și alarmant este constatat în calitatea materialului seminal ceea ce ne vorbește despre o sănătate compromisă a bărbaților născuți la finele sec. XX începutul sec. XXI.

Factori cu impact asupra calității materialului seminal

Parametrii materialului seminal sunt markeri foarte sensibili ai funcției reproductive masculine. Analiza spermatozoidilor furnizează informații despre funcționarea diferitor organe ale sistemului reproductiv masculin, cum ar fi: testiculele, epididimul, veziculele seminale și prostata și este folosită ca instrument de diagnosticare în infertilitatea masculină. Scăderea numărului și calității spermatozoidilor a avut loc în ultimii 60-70 de ani, iar acest fapt indică asupra implicării majore a factorilor de mediu și a stilului de viață care datorită progresului tehnico-științific a suferit schimbări radicale. O expansiune rapidă a industriei chimice a extins spectrul substanțelor chimice cu care omul contactează zi de zi. Majoritatea substanțelor chimice cu impact asupra sănătății reproductive masculine au structură chimică similară hormonilor estrogeni. Epiteliul tubilor seminiferi este extrem de sensibil la stres și substanțe chimice, astfel că, expunerea ocupațională sau internă la substanțe chimice cu structura estrogenică duce la afectarea spermatogenezei, ceea ce la rândul ei a determinat scăderea numărului de spermatozoizi și producerea de spermatozoizi defecti. Mecanismul patologic este unul simplu: compușii asemănători estrogenilor se leagă de receptorii de estrogen la nivelul glandei hipofize și declanșează mecanismul de feedback-negativ, astfel hipofiza reduce eliberarea sanguină a hormonilor gonadotropi primordiali necesari funcției testiculare. Declanșarea mecanismului de feedback-negativ este posibilă atât ca rezultat al creșterii nivelului de testosteron liber cât și a creșterii nivelului de estrogen liber. Particularitatea este că, globulina transportatoare de hormoni sexuali are afinitate mai sporită față de testosteron decât de estrogen, respectiv declanșarea mecanismului inhibitor

la nivel de hipofiză se va realiza mai rapid la un exces estrogenic decât de testosteron, astfel hormonii gonadotropi vor fi reglați nu de necesitățile spermatogenezei dar de excesul substanțelor chimice cu structura estrogenică.

Mediul poluant provoacă apariția multiplelor specii reactive de oxigen (SRO), care, în absența unui sistem antioxidant eficient, pot duce la deteriorarea calității spermei (36). Studiile au constatat că bărbații expuși la poluanții din traficul rutier, au avut un nivel crescut de metemoglobină în ser și o cantitate mai mare de plumb în materialul seminal în comparație cu cei care nu au fost expuși, iar expunerea prenatală și postnatală precoce a sugerat afectarea concentrației spermatozoidilor și dezvoltarea organelor reproductive ale unui copil de sex masculin (37). Un studiu observațional realizat pe o perioadă de 20 de ani, a raportat că consumul de alcool în perioada sarcinii a fost asociat cu scăderea numărului de spermatozoizi la feții de sex masculin, tot acest studiu a constatat că majoritatea femeilor incluse în studiu, au consumat alcool în timpul sarcinii (38). Fumatul matern în timpul sarcinii a fost, de asemenea, asociat cu scăderea numărului de spermatozoizi la copilul de sex masculin (39). În mod similar, fumatul patern și matern a fost raportat că afectează calitatea materialului seminal în viitoarele generații (40). Atât alcoolul, cât și fumatul au fost postulate pentru a avea efecte transgeneraționale, care pot dura până la câteva generații (41).

Radiațiile ionizante au impact asupra sănătății reproductive masculine (42). Expunerea la radiațiile telefonului mobil poate fi un factor comun corelat cu scăderea numărului de spermatozoizi, motilității, viabilității și morfologiei normale (43). Radiațiile electromagnetice de radiofrecvență ale telefoanelor mobile determină fragmentarea ADN-ului seminal și scăderea motilității spermatozoidilor (44). La fel ca și radiațiile telefonului mobil, radiațiile emise de cuptoarele cu microunde pot afecta numărul spermatozoidilor (45) iar dispozitivele care emit microunde de 2,45 GHz au fost asociate cu efectul de micșorare a diametrului tubulilor seminiferi și afectarea populației de celule Sertoli (46). Substanțele cu efect antiandrogenic afectează sănătatea reproductivă masculină (47). Inhalarea sau consumul substanțelor chimice de tip ftalați în timpul sarcinii a fost asociată cu nașterea copiilor de sex masculin cu un număr scăzut de spermatozoizi, ceea ce se explică prin mecanismul inhibiției producției de testosteron (48).

Infertilitatea afectează aproximativ 8-12% dintre cupluri de vârstă fertilă, iar în 50% din cazuri se constată afectarea fertilității masculine. Rata de fertilitate a bărbaților cu vârsta de până la 30 de ani a scăzut cu circa 15% (49). În același timp, cererea de reproducere asistată a crescut brusc în ultimele decenii (50). Astfel, rolul calității scăzute a materialului seminal, nu poate fi continuu neglijat în contextul infertilității de cuplu sau în procesul realizării tehnologiilor de reproducere asistată.

În ultimele decenii, incidența crescută a cancerului testicular și a altor anomalii congenitale masculine, cum ar fi hipospadia și criptorhidia, este sincronizată cu scăderea calității spermei. Unele studii subliniază faptul că creșterea incidenței neoplaziilor testiculare, anomaliilor congenitale masculine și scăderea calității materialului seminal ar avea o etiologie comună și anume - sindromul disgenezei gonadale, care se explică prin expunerea la substanțe chimice cu structura estrogenică sau antiandrogenică în perioada prenatală care afectează negativ dezvoltarea sistemului reproductiv a fătului.

Expunerea la modulatori endocrini, toxinele chimice cum

ar fi pesticidele, fungicidele, medicamentele sau alimentația necorespunzătoare, dieta bogată în grăsimi arată efecte transgeneraționale moștenite, care sunt de natură epigenetică (51). Acești factori pot modifica modelul de metilare a ADN-ului sau histonei în celulele de linie germinativă, ceea ce poate altera expresia genei și poate afecta parametrii spermei la mai multe generații. Studiile efectuate la șoareci au arătat că vinclozolinul, flatalul, dioxina, tetraciclina și dieta bogată în grăsimi sunt câțiva dintre puținii compuși cunoscuți care pot determina scăderea numărului de spermatozoizi și a funcțiilor de reproducere în generațiile viitoare (52).

Concluzii

Există suficiente date științifice și demografice ce susțin conceptul de scădere semnificativă a calității materialului seminal în majoritatea populațiilor, cu foarte puține excepții. Diminuarea calității materialului seminal poate fi o amenințare pandemică a tulburărilor reproductive a bărbaților inclusiv scăderea fertilității în generațiile viitoare. Ajustarea normelor în fertilitatea masculină corespunzător tendințelor de scădere a

influențat procesul de reproducere umană naturală și a favorizat creșterea cererii pentru reproducere asistată, punând sub semnul întrebării existența speciei umane. Deși expunerea la compușii antiestrogenici și antiandrogenici în timpul stadiului embrionar sunt cauze cunoscute ale scăderii numărului de spermatozoizi, elucidarea altor factori este extrem de importantă. Pe lângă scăderea numărului de spermatozoizi, este de asemenea important să explorăm ce fel de programare transmisibilă la nivel epigenetic în celulele germinative ar putea fi adusă prin expunerea femeii la factorii actuali din mediului înconjurător și prin stilul de viață matern în perioada prenatală a fătului. Este necesară o monitorizare imediată pe termen lung, cu studii bine concepute care va include multiple zone geografice, pentru a observa gravitatea și consecințele tendinței de schimbare a calității materialului seminal. La această etapă este cert ca populația globului se confruntă cu un fenomen ce are impact negativ asupra fertilității și cu certitudine, de acțiunile comunității științifice actuale va depinde tendința de mai departe.

Bibliografie

1. Macomber D, Sanders MB (1929) The spermatozoa count. *N Engl J Med* 200(19):981–984
2. MacLeod J, Heim LM (1945) Characteristics and variations in semen specimens in 100 normal young men. *J Urol* 54:474
3. Macleod J, Gold RZ (1951) The male factor in fertility and infertility: 2. Spermatozoon counts in 1000 men of known fertility and in 1000 cases of infertile marriage. *J Urol* 66(3):436–449
4. Belsey MA, Moghissi KS, Eliasson R, Paulsen CA, Gallegos AJ, Prasad MR (1980) WHO Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction
5. Barratt CLR, Naeeni M, Clements S, Cooke ID (1995) Andrology: clinical value of sperm morphology for in-vivo fertility: comparison between World Health Organization criteria of 1987 and 1992. *Hum Reprod* 10(3):587–593
6. Nelson CM, Bunge RG (1974) Semen analysis: evidence for changing parameters of male fertility potential. *Fertil Steril* 25(6):503–507
7. Leto S, Frensilli FJ (1981) Changing parameters of donor semen. *Fertil Steril* 36(6):766–770
8. Bostoft E, Serup J, Rebbe H (1982) Has the fertility of Danish men declined through the years in terms of semen quality? A comparison of semen qualities between 1952 and 1972. *Int J Fertil* 28(2):91–95
9. Osler S, Liedholm P, Ranstam J (1984) Depressed semen quality: a study over two decades. *Archives of andrology*, 12(1):113–116
10. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE (1992) Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 305(6854):609–613
11. Swan SH, Elkin EP, Fenster L (1997) Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. *Environ Health Perspect* 105(11):1228
12. Swan SH, Elkin EP, Fenster L (2000) The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934–1996. *Environ Health Perspect* 108(10):961
13. Fisch H (2008) Declining worldwide sperm counts: disproving a myth. *Urol Clin N Am* 35(2):137–146
14. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P (1995) Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med* 332(5):281–285
15. Lackner J, Schatzl G, Waldhör T, Resch K, Kratzik C, Marberger M (2005) Constant decline in sperm concentration in infertile males in an urban population: experience over 18 years. *Fertil Steril* 84(6):1657–1661
16. Geoffroy-Siraudin C, Loundou AD, Romain F, Achard V, Courbiere B, Perrard MH, Durand P, Guichaoua MR (2012) Decline of semen quality among 10 932 males consulting for couple infertility over a 20-year period in Marseille, France. *Asian journal of andrology*, 14(4):584
17. Splingart C, Frapsauce C, Veau S, Barthelemy C, Royère D, Guérif F (2012) Semen variation in a population of fertile donors: evaluation in a French Centre over a 34-year period. *Int J Androl* 35(3):467–474
18. Rolland M, Le Moal J, Wagner V, Royère D, De Mouzon J (2012) Decline in semen concentration and morphology in a sample of 26 609 men close to general population between 1989 and 2005 in France. *Human Reproduction*, p.des415
19. Shine R, Peek J, Birdsall M (2008) Declining sperm quality in New Zealand over 20 years. *N Z Med J (Online)* 121(1287):50–56
20. Centola GM, Blanchard A, Demick J, Li S, Eisenberg ML (2016) Decline in sperm count and motility in young adult men from 2003 to 2013: observations from a U.S. sperm Bank. *Andrology* 4(2):270–276
21. Saidi JA, Chang DT, Goluboff ET, Bagiella E, Olsen G, Fisch H (1999) Declining sperm counts in the United States? A critical review. *J Urol* 161(2):460–462
22. Fisch H, Goluboff ET, Olson JH, Feldshuh J, Broder SJ, Barad DH (1996) Semen analyses in 1,283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality. *Fertil Steril* 65(5):1009–1014
23. Borges E Jr, Setti AS, Braga DPDAF, Figueira RDCS, Iaconelli A Jr (2015) Decline in semen quality among infertile men in Brazil during the past 10 years. *Int Braz J Urol* 41(4):757–763
24. Giwercman A, Carlsen E, Keiding N, Skakkebaek NE (1993) Evidence for increasing incidence of abnormalities of the human testis: a review. *Environ Health Perspect* 101(Suppl 2):65
25. Purdue MP, Devesa SS, Sigurdson AJ, McGlynn KA (2005) International patterns and trends in testis cancer incidence. *Int J Cancer* 115(5):822–827
26. Chia VM, Quraishi SM, Devesa SS, Purdue MP, Cook MB, McGlynn KA (2010) International trends in the incidence of testicular cancer, 1973–2002. *Cancer Epidemiol*

- Biomark Prev 19(5):1151–1159
27. Jørgensen N, Joensen UN, Jensen TK, Jensen MB, Almstrup K, Olesen IA, Juul A, Andersson AM, Carlsen E, Petersen JH, Toppari J (2012) Human semen quality in the new millennium: a prospective cross-sectional population-based study of 4867 men. *BMJ Open* 2(4):e000990
 28. Toppari J, Kaleva M, Virtanen HE (2001) Trends in the incidence of cryptorchidism and hypospadias, and methodological limitations of registry-based data. *APMIS* 109(S103):S37–S42
 29. Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ (1997) Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics* 100(5):831–834
 30. Lund L, Engebjerg MC, Pedersen L, Ehrenstein V, Nørgaard M, Sørensen HT (2009) Prevalence of hypospadias in Danish boys: a longitudinal study, 1977–2005. *Eur Urol* 55(5):1022–1026
 31. Paulozzi LJ (1999) International trends in rates of hypospadias and cryptorchidism. *Environ Health Perspect* 107(4):297
 32. Virtanen HE, Toppari J (2008) Epidemiology and pathogenesis of cryptorchidism. *Hum Reprod Update* 14(1):49–58
 33. Kaufmann RB, Spitz AM, Strauss LT, Morris L, Santelli JS, Koonin LM, Marks JS (1998) The decline in US teen pregnancy rates, 1990–1995. *Pediatrics*, 102(5):1141–1147
 34. Pearce D, Cantisani G, Laihonen A (1999) Changes in fertility and family sizes in Europe. *Population Trends*, 95:33–40
 35. Kupka MS, D'Hooghe T, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, Castilla JA, Calhaz-Jorge C, De Geyter C, Goossens V, European IVF-Monitoring Consortium (2016) Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 31(2):233–248
 36. Hammoud A, Carrell DT, Gibson M, Sanderson M, Parker-Jones K, Peterson CM (2010) Decreased sperm motility is associated with air pollution in salt Lake City. *Fertil Steril* 93(6):1875–1879
 37. Jouannet P, Wang C, Eustache F, Kold-Jensen T, Auger J (2001) Semen quality and male reproductive health: the controversy about human sperm concentration decline. *Apmis*, 109(S103), pp.S48–S61
 38. Ramlau-Hansen CH, Toft G, Jensen MS, Strandberg-Larsen K, Hansen ML, Olsen J (2010) Maternal alcohol consumption during pregnancy and semen quality in the male offspring: two decades of follow-up. *Hum Reprod* 25(9):2340–2345
 39. Storgaard L, Bonde JP, Ernst E, Spanò M, Andersen CY, Frydenberg M, Olsen J (2003) Does smoking during pregnancy affect sons' sperm counts? *Epidemiology* 14(3):278–286
 40. Axelsson J, Rylander L, Rignell-Hydbom A, Silfver KÅ, Stenqvist A, Giwercman A (2013) The impact of paternal and maternal smoking on semen quality of adolescent men. *PLoS One* 8(6):e66766
 41. Lee HJ, Ryu JS, Choi NY, Park YS, Kim YI, Han DW, Ko K, Shin CY, Hwang HS, Kang KS, Ko K (2013) Transgenerational effects of paternal alcohol exposure in mouse offspring. *Anim Cells Syst* 17(6):429–434
 42. Aitken RJ, Bennetts LE, Sawyer D, Wiklendt AM, King BV (2005) Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *Int J Androl* 28(3):171–179
 43. Agarwal A, Deepinder F, Sharma RK, Ranga G, Li J (2008) Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: an observational study. *Fertil Steril* 89(1):124–128
 44. Gorpichenko I, Nikitin O, Banyra O, Shulyak A (2014) The influence of direct mobile phone radiation on sperm quality. *Cent Eur J Urol* 67(1):65–71
 45. Kim JY, Kim HT, Moon KH, Shin HJ (2007) Long-term exposure of rats to a 2.45 GHz electromagnetic field: effects on reproductive function. *Korean J Urol* 48(12):1308–1314
 46. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz AC (2011) Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health* 27(5):455–463
 47. Nordkap L, Joensen UN, Jensen MB, Jørgensen N (2012) Regional differences and temporal trends in male reproductive health disorders: semen quality may be a sensitive marker of environmental exposures. *Mol Cell Endocrinol* 355(2):221–230
 48. Swan SH (2008) Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res* 108(2):177–184
 49. Kumar N, Singh AK (2015) Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: a review of literature. *J Hum Reprod Sci* 8(4):191
 50. Andersen AN, Goossens V, Ferraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum R, De Mouzon J, Nygren KG (2008) Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 23(4):756–771
 51. Jirtle RL, Skinner MK (2007) Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet* 8(4):253–262
 52. Padmanabhan N, Watson ED (2013) Lessons from the one-carbon metabolism: passing it along to the next generation. *Reprod Biomed Online* 27(6):637–643