

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 966 809**

51 Int. Cl.:

A61K 36/05 (2006.01)

A61P 15/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2020** **E 20382623 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.09.2023** **EP 3936139**

54 Título: ***Tetraselmis chuii (T. chuii)* para el tratamiento de la infecundidad masculina**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.04.2024

73 Titular/es:

FITOPLANCTON MARINO S.L. (100.0%)
Muelle pesquero, Darsena comercial, s/n
11500 El Puerto de Santa Maria, Cádiz, ES

72 Inventor/es:

UNAMUNZAGA ESCOSURA, CARLOS;
MANTECÓN GÁLVEZ, EULALIA y
INFANTE TOSCANO, CARLOS

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 966 809 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tetraselmis chuii (*T. chuii*) para el tratamiento de la infecundidad masculina

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere al campo de composiciones para su uso en el tratamiento de la infecundidad masculina asociada a deficiencias en el semen, en donde dichas composiciones se obtienen a partir de microalgas.

10 **Antecedentes de la invención**

Se diagnostica infecundidad en el 12-15 % de parejas sexualmente activas. En el 50 % de dichas parejas, la infecundidad se debe a un trastorno en el sujeto masculino, ya sea solo o en combinación con un trastorno en el sujeto femenino.

15 Los defectos que provocan la infecundidad masculina pueden clasificarse como relacionados con el hipotálamo o con la hipófisis, los testículos o el suministro defectuoso de espermatozoides debido a trastornos en el pene o las glándulas sexuales relacionadas. A menudo se observan deficiencias en los parámetros del semen en hombres infecundos. Por tanto, a menudo se diagnostica infecundidad masculina tras el análisis de muestras de semen del sujeto masculino.

20 Los parámetros del semen generalmente alterados en hombres infecundos incluyen el volumen de una muestra de semen, el número aproximado de espermatozoides totales, la motilidad o la progresión hacia delante de los espermatozoides, el porcentaje de espermatozoides con fragmentación del ADN (SDF), el número de espermatozoides muertos en el semen o la presencia de leucocitos en el semen. Las alteraciones en dichos
25 parámetros se clasifican dentro de diferentes trastornos, tales como oligozoospermia (recuento espermático muy bajo), aspermia (ausencia de semen), hipospermia (bajo volumen de semen), azoospermia (ausencia de espermatozoides en el semen), teratozoospermia (altos defectos morfológicos en los espermatozoides), astenozoospermia (escasa motilidad espermática), necrozoospermia (alto número de espermatozoides muertos), leucospermia (presencia de una alta cantidad de leucocitos en el semen) y alto porcentaje de SDF (alto porcentaje de espermatozoides que muestran fragmentación del ADN).
30

Los tratamientos de la infecundidad masculina tienen como objetivo generalmente tratar una alteración fisiológica específica que muy probablemente sea la causa del trastorno. Por ejemplo, puede usarse cirugía en casos en los que la infecundidad masculina está provocada por un bloqueo en el sistema de transporte de espermatozoides, tal como
35 después de una vasectomía. Generalmente, la vasectomía se revierte quirúrgicamente en hasta el 85 % de los casos, sin embargo, en muchos casos, los hombres siguen siendo infecundos incluso después de una intervención con éxito. En casos en los que la infecundidad masculina se debe a una baja producción de testosterona, puede administrarse tratamiento hormonal para restablecer la fecundidad (hormona luteinizante, LH, y hormona foliculoestimulante, FSH). Sin embargo, se requiere un largo periodo de tratamiento para que la producción de espermatozoides alcance niveles
40 asociados con la fecundidad masculina.

A menudo, a las parejas en las que al sujeto masculino se le ha diagnosticado infecundidad masculina se les aconseja seguir diferentes métodos de reproducción asistida. Dichos métodos invasivos incluyen inseminación intrauterina (IUI), fecundación *in vitro* (IVF) o IVF con inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI).
45

Wang Pei-Tzu *et al.*, Biomedicine and Pharmacotherapy, 2020, 125 enseña que un polvo enriquecido en fucoxantina de *Sargassum glaucescens* afecta a la movilidad y al recuento de los espermatozoides.

Alireza Sobhani *et al.*, Medicine 2015, 94(52): e1938 muestra el efecto protector de un extracto del alga parda *Sargassum angustifolium* sobre espermatozoides humanos congelados durante la crioconservación.
50

Por tanto, existe la necesidad en la técnica de tratamientos no invasivos y eficaces de la infecundidad masculina, independientemente de la causa del trastorno.

55 **Sumario de la invención**

Los autores de la presente invención han observado que la administración de microalgas de la especie *Tetraselmis chuii* (*T. chuii*) a sujetos masculinos con trastornos asociados con infecundidad masculina y caracterizados por una
60 alteración en un parámetro específico del semen, tal como oligozoospermia, astenozoospermia y/o teratozoospermia idiopática, da como resultado la normalización del correspondiente parámetro del semen y, por tanto, contribuye al tratamiento del trastorno.

En particular, tal como se muestra en los ejemplos 1-4 y en las figuras 1-8, han observado que los niveles de los parámetros del semen volumen, concentración de espermatozoides, número total de espermatozoides por eyaculado y motilidad progresiva en muestras de semen de sujetos con oligozoospermia, astenozoospermia y/o teratozoospermia
65 idiopática aumentan tras la administración de *T. chuii*, desde niveles inferiores al límite de referencia inferior (LRI)

correspondiente hasta niveles superiores a dicho LRI. Además, tal como se muestra en el ejemplo 5 y en la figura 10, han observado que, después de la administración de *T. chuii*, el porcentaje de sujetos analizados que mostraban teratozoospermia disminuyó desde el 35 % hasta el 10 %, lo que indica que el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en las muestras de semen de dichos pacientes aumentó hasta un valor superior al LRI correspondiente. Finalmente, tal como se muestra en el ejemplo 6 y en la figura 11, los autores de la presente invención han observado que, después de la administración de *T. chuii*, el 30 % de los pacientes a los que originalmente se les diagnosticó oligozoospermia, astenozoospermia y/o teratozoospermia idiopática tienen normozoospermia.

Por tanto, la invención se refiere a una biomasa de *T. chuii* o a una composición farmacéutica que comprende la biomasa de *T. chuii* para su uso en el tratamiento de la infertilidad en un paciente masculino.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra valores medios (+ EEM) del parámetro volumen de semen (VOL) justo al comienzo del ensayo y después de 3 meses de complementación con *T. chuii*. La línea discontinua indica el límite de referencia inferior (LRI) establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen" (quinta edición, 2010). ****: $p < 0,0001$.

La figura 2 muestra el porcentaje de participantes en el ensayo que presentan valores para el parámetro VOL mayores que el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición) tanto al comienzo del ensayo como después de 3 meses de complementación con *T. chuii*.

La figura 3 muestra valores medios (+ EEM) del parámetro concentración de espermatozoides (CONC) justo al comienzo del ensayo y después de 3 meses de complementación con *T. chuii*. La línea discontinua indica el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen" 2010, quinta edición). ****: $p < 0,0001$.

La figura 4 muestra el porcentaje de participantes en el ensayo que presentan valores para el parámetro CONC mayores que el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen" 2010, quinta edición) tanto al comienzo del ensayo como después de 3 meses de complementación con *T. chuii*.

La figura 5 muestra valores medios (+ EEM) del parámetro número de espermatozoides por eyaculado (NUM) justo al comienzo del ensayo y después de 3 meses de complementación con *T. chuii*. La línea discontinua indica el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición). ****: $p < 0,0001$.

La figura 6 muestra el porcentaje de participantes en el ensayo que presentan valores para el parámetro NUM mayores que el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición) tanto al comienzo del ensayo como después de 3 meses de complementación con *T. chuii*.

La figura 7 muestra valores medios (+ EEM) del parámetro motilidad progresiva (PR) justo al comienzo del ensayo y después de 3 meses de complementación con *T. chuii*. La línea discontinua indica el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen" 2010, quinta edición). ***: $p < 0,001$.

La figura 8 muestra el porcentaje de participantes en el ensayo que presentan valores para el parámetro PR mayores que el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición) tanto al comienzo del ensayo como después de 3 meses de complementación con *T. chuii*.

La figura 9 muestra valores medios (+ EEM) del parámetro morfología normal (MORF) justo al comienzo del ensayo y después de 3 meses de complementación con *T. chuii*. La línea discontinua indica el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición).

La figura 10 muestra el porcentaje de participantes en el ensayo que presentan valores para el parámetro MORF mayores que el LRI establecido por la OMS ("WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición) tanto al comienzo del ensayo como después de 3 meses de complementación con *T. chuii*.

La figura 11 muestra el porcentaje de participantes en el ensayo con normozoospermia (según los criterios proporcionados por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen" 2010, quinta edición) tanto al comienzo del ensayo como después de 3 meses de complementación con *T. chuii*.

Descripción detallada de la invención

I- Uso médico de la invención

En un primer aspecto, la invención se refiere a una biomasa de *Tetraselmis chuii* (*T. chuii*) o a una composición farmacéutica que comprende la biomasa de *T. chuii* para su uso en el tratamiento de infertilidad en un paciente masculino.

El término "*Tetraselmis chuii*", más habitualmente escrito "*Tetraselmis chuii*" o "*T. chuii*", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un alga unicelular marina (microalga) perteneciente a la clase Chlorodendrophyceae, orden Chlorodendinales, familia Chlorodendraceae; que es verde, presenta motilidad y habitualmente crece 10 µm de largo x 14 µm de ancho. En una realización particular, *T. chuii* corresponde al organismo identificado en la base de datos del NCBI por el ID taxonómico: 63592 (NCBI:txid63592).

El término "biomasa", tal como se usa en el presente documento, se refiere a material biológico que comprende organismos vivos o recientemente vivos. Por extensión, el término incluye no sólo el material biológico o la materia orgánica que constituye un organismo, sino también el material biológico o la materia orgánica generada en un proceso biológico, espontáneo o no espontáneo (es decir, provocado). Tal como entiende un experto, una biomasa de *T. chuii* es una biomasa tal como acaba de definirse, en donde el organismo es el alga *T. chuii*. Generalmente, dicha biomasa se obtiene a partir de una muestra de *T. chuii*.

En una realización particular, la biomasa de *T. chuii* se obtiene a partir de una célula de *T. chuii*. En otra realización particular, la biomasa de *T. chuii* se obtiene a partir de varias células de *T. chuii*. Por tanto, en una realización preferida, la biomasa de *T. chuii* se obtiene a partir de un cultivo celular de *T. chuii*.

En una realización particular, el cultivo celular de *T. chuii* a partir del cual se obtiene la biomasa de *T. chuii* se realiza en condiciones adecuadas para el crecimiento de la microalga *T. chuii*, bien conocidas por un experto en el campo. Dichas condiciones se caracterizan por el uso de un medio adecuado, tal como, por ejemplo, medio de cultivo F/2 [Guillard R. R. L. y Ryther, J. H. 1962. "Studies of marine planktonic diatoms. I. Cyclotella nana Hustedt and Detonula confervacea (Cleve) Gran". Can. J. Microbiol. 8, 229-239], y rendimiento en condiciones solares o de iluminación apropiada (intensidad de luz) y condiciones controladas de pH, temperatura y dióxido de carbono (CO₂) de alimentación, tal como conoce bien el experto en la técnica. El medio de cultivo F/2 comprende una fuente de nitrógeno, una fuente de fósforo, oligoelementos tales como, por ejemplo, sodio, hierro, cobre, zinc, cobalto, manganeso y molibdeno, así como una mezcla de vitaminas tales como, por ejemplo, cianocobalamina (vitamina B12), tiamina (vitamina B1) y biotina en un medio acuoso.

La intensidad de luz se regula de modo que se permita la fotosíntesis; por tanto, aunque puede variar dentro de un amplio intervalo, en una realización particular, la intensidad de luz aplicada al medio de cultivo está comprendida entre 1 y 2000 µmol de fotones m⁻² s⁻¹ de radiación fotosintéticamente activa (RFA) en condiciones de exterior, en interior normalmente es de aproximadamente 150 µmol de fotones m⁻² s⁻¹. El pH puede variar habitualmente entre aproximadamente 7 y aproximadamente 8,5, normalmente es de aproximadamente 7,5.

Se selecciona una temperatura que fomenta el crecimiento de *T. chuii* habitualmente comprendida entre aproximadamente 17 °C y aproximadamente 28 °C, normalmente entre aproximadamente 24 °C y 26 °C.

El cultivo se realiza con o sin aireación, normalmente con aireación, por ejemplo, con de aproximadamente el 0,5 al 5, preferiblemente de aproximadamente el 1-2 % de CO₂ en aire atmosférico.

En una realización preferida, dicho cultivo de *T. chuii* se realiza en condiciones convencionales, se realiza con un medio de cultivo F/2 a 150 µmol de fotones m⁻² s⁻¹ (RFA), a una temperatura de entre 24 °C y 26 °C, preferiblemente a 25 °C, a un pH de 7,5 y con aire atmosférico enriquecido con el 1-2 % de CO₂.

En una realización preferida adicional, el cultivo celular de *T. chuii* a partir de la biomasa de *T. chuii* se realiza con medio de cultivo F/2, en fotobiorreactores tubulares de exterior, bajo fotoperiodo natural, a temperatura ambiental y bajo pH controlado con inyección de CO₂. Específicamente, dicho cultivo celular se realizó con medio de cultivo F/2, con una intensidad de luz de entre 1 y 2000 µmol de fotones m⁻² s⁻¹ (RFA), a una temperatura de entre 10 y 35 °C, a un pH de entre 7 y 8,5 y a una salinidad de 35 unidades prácticas de salinidad (UPS). Además, se realizó con un fotoperiodo de 12:12 (es decir, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad).

En otra realización particular, el cultivo celular de *T. chuii* a partir del cual se obtiene la biomasa de *T. chuii* se realiza en condiciones de estrés abiótico.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "estrés abiótico" se refiere al impacto negativo de factores no vivos sobre los organismos vivos en un entorno específico. La variable no viva debe influir en el entorno más allá de su intervalo normal de variación para afectar de manera adversa al rendimiento de la población o a la fisiología individual del organismo de manera significativa.

Existen varios factores de estrés abiótico que pueden afectar al crecimiento de microalgas, por ejemplo, *T. chuii*, y a la producción de compuestos y metabolitos de los mismos. Sin embargo, en una realización particular, el estrés

abiótico aplicado al cultivo celular a partir del cual se obtiene la biomasa de *T. chuii* del uso médico de la invención se selecciona del grupo que consiste en alto potencial redox, alta temperatura, alta salinidad y falta de nitrógeno.

Según la invención, un estrés abiótico basado en un alto potencial redox comprende mantener el medio de cultivo con un potencial redox de al menos 100 mv, al menos 200 mv, al menos 300 mv, al menos 400 mv, al menos 500 mv, al menos 600 mv, al menos 700 mv, al menos 800 mv al menos 900 mv, al menos 1000 mv; dicho estrés abiótico puede obtenerse mediante métodos convencionales para obtener condiciones de alto potencial redox en medios de cultivo, tal como, por ejemplo, mediante la adición de ozono que normalmente se genera usando un generador de ozono mediante la reacción del aire con UV. La cantidad de ozono que va a añadirse es la necesaria para lograr y mantener el medio de cultivo con un potencial redox de al menos 100 mv, al menos 200 mv, al menos 300 mv, al menos 400 mv, al menos 500 mv, al menos 600 mv, al menos 700 mv, al menos 800 mV, al menos 900 mv, al menos 1000 mv.

Un estrés abiótico basado en alta temperatura, según la invención, comprende mantener el medio de cultivo a una temperatura de al menos 28 °C, al menos 30 °C, al menos 35 °C, al menos 40 °C, al menos 45 °C, al menos 50 °C; dicha temperatura en el medio de cultivo puede obtenerse mediante métodos convencionales. Puesto que el cultivo puede ser interior o exterior, para cultivos de interior, la temperatura de la sala de cultivo debe establecerse por encima de 28 °C; mientras que para cultivos de exterior, el cultivo debe realizarse en ubicaciones apropiadas en donde la temperatura ambiental alcance de manera natural dicha temperatura, por ejemplo, durante la primavera y el verano en el sur de España, por ejemplo, Cádiz, Málaga, Sevilla, etc.

Según la invención, un estrés abiótico basado en condiciones de alta salinidad comprende mantener el medio de cultivo con una salinidad de al menos 35 UPS (unidades prácticas de salinidad), al menos 40 UPS, al menos 45 UPS, al menos 50 UPS, al menos 100, al menos 200, al menos 300. El experto sabe cómo determinar la salinidad del medio de cultivo usando técnicas convencionales (UNESCO, 1981, "Background papers and supporting data on the practical salinity scale 1978" Unesco Technical papers in marine science, 37). Un estrés abiótico basado en condiciones de alta salinidad puede obtenerse fácilmente mediante la adición de sales a dicho medio de cultivo hasta alcanzar dichas condiciones de salinidad, por ejemplo, mediante la evaporación de agua marina natural hasta alcanzar la salinidad objetivo o mediante la adición de sales marinas disponibles comercialmente.

Un estrés abiótico basado en falta de nitrógeno, según la invención, comprende hacer crecer *T. chuii* en condiciones de deficiencia, limitación o privación de nitrógeno; dicho estrés abiótico puede lograrse fácilmente deteniendo el suministro de nitrógeno al medio de cultivo (es decir, absteniéndose de añadir nitrógeno al medio de cultivo).

En una realización preferida, el estrés abiótico comprende falta de nitrógeno. El término "falta de nitrógeno", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una condición en la que el suministro de nitrógeno es de tal manera que la concentración de nitrato en el medio de cultivo es de menos de 200 µM, menos de 100 µM, menos de 10 µM, menos de 0,1 µM, menos de 0,001 µM.

Un experto en la técnica conoce bien métodos para obtener la biomasa de *T. chuii*. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen filtración o centrifugación de un cultivo celular, o un grupo de células de *T. chuii*, a partir del cual se obtiene la biomasa. Luego, de manera preferible y ventajosa, la biomasa recogida se lava para eliminar el material no biológico (por ejemplo, precipitados de sales minerales y similares).

En una realización preferida, la biomasa a la que se hace referencia en el primer aspecto de la invención o comprendida en la composición farmacéutica a la que se hace referencia en dicho aspecto de la invención es fresca o deshidratada. En otra realización preferida, dicha biomasa está deshidratada. En una realización determinada, dicha biomasa es fresca.

La expresión "biomasa deshidratada" o "biomasa liofilizada", tal como se usa en el presente documento, se refiere a biomasa tal como se define en el presente documento, en donde el agua se ha eliminado de manera completa o parcial. En una realización preferida, el agua se ha eliminado de manera completa. En otra realización particular, el contenido de agua eliminado corresponde a al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 88,5 %, al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 %, al menos el 99,5 %, preferiblemente a al menos el 70 %, más preferiblemente al menos el 75 % del peso de la biomasa fresca. Un experto en la técnica conoce bien métodos para determinar el porcentaje de agua eliminado en una biomasa deshidratada, y comprenden determinar el peso de la biomasa dada antes y después de deshidratar dicha biomasa, en donde la diferencia es el peso de la cantidad agua eliminada durante la deshidratación. Un experto en la técnica también conoce bien métodos para deshidratar una biomasa, e incluyen secado solar, secado por convección, secado por pulverización, secado por congelación, secado con rodillo/tambor, secado en lecho fluidizado, secado en bandeja a vacío y/o secado por conducción solar (Chen *et al.*, 2015. Dewatering and drying methods for microalgae. Drying Technology 33(4):443-454; Bheda *et al.*, 2018. Drying of algae by various drying methods. IDS'2018 – 21st International Drying Symposium, págs. 1791-1797. Valencia, España, 11-14 de septiembre de 2018, Editorial Universitat Politècnica de Valencia).

La expresión "biomasa fresca", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la biomasa que no se ha

deshidratado, es decir, una biomasa en la que el agua comprendida en la biomasa no se ha eliminado de manera parcial o completa. En una realización preferida, una biomasa fresca es aquella obtenida directamente mediante cualquiera de los métodos proporcionados anteriormente para obtener una biomasa.

- 5 El término "composición farmacéutica", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la biomasa de *T. chuii* y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 Pueden prepararse composiciones farmacéuticas según la invención, por ejemplo, como inyectables tales como disoluciones, suspensiones y emulsiones líquidas. Los términos "excipiente farmacéuticamente aceptable", o "portador farmacéuticamente aceptable", "diluyente farmacéuticamente aceptable" o "vehículo farmacéuticamente aceptable", que se usan indistintamente en el presente documento, se refieren a una carga, diluyente, material de encapsulación o auxiliar de formulación sólido, semisólido o líquido no tóxico de cualquier tipo convencional. Un portador farmacéuticamente aceptable es esencialmente no tóxico para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, y es compatible con otros componentes de la formulación. Los portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, agua, dextrosa, glicerol, solución salina, etanol, y combinaciones de los mismos. El portador puede contener agentes adicionales tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponantes del pH o adyuvantes que potencian la eficacia de la formulación. Los adyuvantes podrían seleccionarse del grupo que consiste en líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluidos los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, y similares. Como vehículos se usan preferiblemente agua o soluciones salinas acuosas y disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol, particularmente para disoluciones inyectables. Se describen vehículos farmacéuticos adecuados en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E.W. Martin, 21ª edición, 2005.

25 El término "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se usa en el presente documento, en relación con la biomasa de *T. chuii*, se refiere a la cantidad suficiente de la misma para proporcionar el efecto deseado, es decir, para lograr una prevención, una cura, un retardo, una reducción de la gravedad o una mejora apreciable de uno o más síntomas derivados de una enfermedad, y generalmente vendrá determinada, entre otras causas, por las características del propio agente (es decir, la biomasa de *T. chuii*) y el efecto terapéutico que va a lograrse. También dependerá del sujeto que va a tratarse, la gravedad de la enfermedad que padece dicho sujeto, la forma de dosificación elegida, etc. Por este motivo, las dosis que pueden mencionarse en esta invención deben considerarse únicamente como orientativas para el experto en la técnica, quien debe ajustar las dosis dependiendo de las variables anteriormente mencionadas. En una realización, la cantidad eficaz produce la mejora de uno o más síntomas de la enfermedad que está tratándose. Aunque las necesidades individuales varían, la determinación de intervalos óptimos para cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos según la invención pertenece a la experiencia habitual de los expertos en la técnica. En general, la dosificación necesaria para proporcionar un tratamiento eficaz, que puede ajustar un experto en la técnica, variará dependiendo de la edad, la salud, el estado físico, el sexo, la dieta, el peso, el grado de alteración del receptor, la frecuencia de tratamiento, la naturaleza y el estado de la lesión, la naturaleza y el grado de la afectación o enfermedad, el estado clínico del sujeto, la vía de administración, consideraciones farmacológicas tales como la actividad, la eficacia, la farmacocinética y el perfil de toxicología del compuesto particular usado, si se usa un sistema de administración de fármacos y si el compuesto se administra como parte de una combinación de fármacos.

45 En una realización particular, la composición farmacéutica del uso médico de la invención comprende la biomasa de *T. chuii* previamente descrita.

En una realización preferida, el paciente masculino del primer aspecto de la invención se caracteriza porque dicho sujeto muestra infecundidad masculina.

50 El término "infecundidad", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una enfermedad del aparato reproductor definida por la imposibilidad de lograr un embarazo clínico después de 12 meses o más de relaciones sexuales regulares sin protección. La expresión "infecundidad masculina", tal como se usa en el presente documento, se refiere a infecundidad cuando se diagnostica en un sujeto masculino. La infecundidad masculina puede deberse a causas muy diferentes. Las causas comunes de infecundidad masculina son alteraciones en uno o varios parámetros del semen, tales como el volumen de la muestra de semen, el número aproximado de células espermáticas totales, la motilidad o la progresión hacia delante de los espermatozoides, el porcentaje de espermatozoides con fragmentación del ADN, el número de células espermáticas muertas en el semen o la concentración de leucocitos en el semen. Las alteraciones o deficiencias en uno o varios parámetros del semen pueden conducir a diferentes trastornos, que pueden clasificarse como oligozoospermia, aspermia, hipospermia, azoospermia, teratozoospermia, astenozoospermia, necrozoospermia, leucospermia, alto SDF o alto estrés oxidativo en el semen (que puede conducir a un aumento de la oxidación de ADN y, por tanto, del porcentaje de espermatozoides con 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina, y que se asocia con altos niveles de potencial de oxidación-reducción estático). Adicionalmente, también pueden producirse trastornos caracterizados por la combinación de dos o más de dichos trastornos, tal como en el caso de oligoastenozoospermia, oligoastenoteratozoospermia, oligoteratozoospermia o astenoteratozoospermia. La alteración de los parámetros del semen observada en dichos trastornos puede deberse a una causa conocida; sin embargo, en un alto porcentaje de los casos, se desconoce la causa de dichas alteraciones y, por tanto, se consideran trastornos idiopáticos.

La expresión “idiopático”, tal como se usa en el presente documento, para hacer referencia a una enfermedad o a un trastorno, se entiende como cualquier enfermedad o trastorno con causa desconocida, o con origen espontáneo aparente. Por tanto, el término “idiopático” cuando se aplica a cualquiera de las enfermedades o los trastornos descritos en el presente documento, tales como infertilidad masculina, oligozoospermia, astenoospermia, teratoospermia o alto SDF, se refiere a la enfermedad o al trastorno correspondiente cuando se desconoce la causa que lo origina.

En una realización particular, la infertilidad es una infertilidad idiopática.

El término “semen” o “fluido seminal”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al fluido que, en un sujeto sano, comprende las células espermáticas, producidas por y liberadas a partir del órgano reproductor masculino. En seres humanos, el semen comprende diversas enzimas y fructosa además de las células espermáticas. Estos elementos fomentan la supervivencia de las células espermáticas, además de proporcionarles un medio para nadar. El proceso que da como resultado la liberación de semen se denomina “eyaculación”, y el semen liberado se conoce como “eyaculado”. A medida que las células espermáticas pasan a través de los conductos eyaculadores, se mezclan con fluidos procedentes principalmente de las vesículas seminales, la próstata y las glándulas bulbouretrales. Los componentes típicos del semen son los siguientes: espermatozoides (2-5 %) producidos por y liberados a partir de los testículos, secreciones de las vesículas seminales (65-75 %, es decir, compuestas por aminoácidos, citrato, flavinas, fructosa y determinadas enzimas), secreciones de la próstata (25-30 %, es decir, compuestas por fosfatasa ácida, ácido cítrico, fibrinolisisina, enzimas proteolíticas, zinc, etc.) y secreciones de las glándulas bulbouretrales (<1 %, es decir, contienen galactosa y moco).

El término “esperma” se refiere a la pluralidad de células espermáticas o espermatozoides comprendidos en el semen.

El término “célula espermática” o “espermatozoide”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a la célula germinal masculina madura que puede fecundar un óvulo maduro (ovocito secundario) en la reproducción sexual. El espermatozoide se desarrolla en los túbulos seminíferos de los testículos. Está formado por una cabeza y una cola, en donde la cola está compuesta por una parte central, una parte principal y una parte final. La cabeza comprende el núcleo con fibras de cromatina densamente enrolladas rodeadas por un saco aplanado denominado acrosoma, que contiene las enzimas implicadas en la penetración en el ovocito. La cola o flagelo proporciona el movimiento a los espermatozoides. El cuello o parte central contiene las mitocondrias que, tras la producción de ATP, proporciona energía para el movimiento del espermatozoide. Las características de la cabeza, la parte central y la parte principal morfológicamente normales de un espermatozoide se proporcionan en la definición de “espermatozoides morfológicamente normales” a continuación. Las fases de desarrollo del espermatozoide son el espermatogonio, el espermatocito, la espermátida y, finalmente, el espermatozoide.

La expresión “muestra de semen”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una muestra que comprende o que consiste en semen de un paciente masculino. En una realización preferida, dicha muestra comprende el semen de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 eyaculados de un paciente masculino, preferiblemente de 2 eyaculados del paciente masculino, más preferiblemente de 1 eyaculado del paciente masculino. En una realización más preferida, la muestra de semen consiste en el semen de cualquier número de eyaculados que acaban de indicarse, preferiblemente en el semen de 1 eyaculado de un paciente masculino. Por tanto, en una realización preferida, el volumen de semen en una muestra de semen de un paciente o sujeto es igual al volumen de un eyaculado de dicho paciente o sujeto. En otra realización preferida, el volumen de una muestra de semen de un paciente o sujeto es el volumen de un eyaculado de dicho paciente o sujeto. Además, un parámetro del semen en una muestra de semen de un paciente o sujeto corresponde a dicho parámetro del semen en un eyaculado de semen de dicho paciente o sujeto. Dicho eyaculado es el comprendido en dicha muestra de semen. Dichos parámetros del semen incluyen el número total de espermatozoides, la concentración de espermatozoides, el volumen de semen, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva, el porcentaje de espermatozoides vivos, el porcentaje de espermatozoides sin motilidad. En una realización determinada, una muestra de semen de un paciente o sujeto se refiere al semen de un eyaculado de dicho paciente o sujeto, y viceversa. El valor de referencia para los parámetros del semen se proporciona en el presente documento con respecto al semen de un eyaculado. Por tanto, en una realización particular, el valor de referencia de un parámetro del semen corresponde al valor de referencia para el parámetro del semen en una muestra de semen. Un experto en el campo conoce bien métodos para obtener y conservar una muestra de semen, e incluyen los métodos para la recogida de muestras de semen descritos en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición.

En una realización preferida, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 1 día, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30 días de abstinencia sexual. En una realización más preferida, cualquiera de dichas muestras se obtiene después de al menos 2 días de abstinencia sexual.

En otra realización preferida, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de menos de 5, menos de 6, menos

de 7, menos de 8, menos de 9, menos de 10, menos de 11, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30 días de abstinencia sexual. En una realización más preferida, cualquiera de dichas muestras se obtiene después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

5 En una realización particular, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 2 días pero después de menos de 5, menos de 6, menos de 7, menos de 8, menos de 9, menos de 10, menos de 11, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30 días de abstinencia sexual, preferiblemente después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

10 En otra realización particular, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 3 días pero después de menos de 5, menos de 6, menos de 7, menos de 8, menos de 9, menos de 10, menos de 11, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30 días de abstinencia sexual, preferiblemente después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

15 En otra realización particular, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 4 días pero después de menos de 5, menos de 6, menos de 7, menos de 8, menos de 9, menos de 10, menos de 11, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30 días de abstinencia sexual, preferiblemente después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

20 En otra realización particular, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 5 días pero después de menos de 6, menos de 7, menos de 8, menos de 9, menos de 10, menos de 11, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30 días de abstinencia sexual, preferiblemente después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

25 En otra realización particular, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 6 días pero después de menos de 7, menos de 8, menos de 9, menos de 10, menos de 11, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30 días de abstinencia sexual, preferiblemente después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

30 En otra realización particular, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 7 días pero después de menos de 8, menos de 9, menos de 10, menos de 11, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30 días de abstinencia sexual, preferiblemente después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

35 En una realización preferida, cualquiera de las muestras de semen a las que se hace referencia en cualquiera de las realizaciones de cualquiera de los aspectos de la invención se obtiene después de al menos 2 días pero después de menos de 7 días de abstinencia sexual.

40 La expresión "abstinencia sexual", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la ausencia de eyaculación por parte del sujeto masculino durante un determinado periodo de tiempo. En una realización preferida, las muestras de semen de cualquiera de los aspectos de la invención se obtienen a partir de uno o más eyaculados del sujeto masculino, preferiblemente a partir de un eyaculado del sujeto masculino. Por tanto, en otra realización preferida, abstinencia sexual, tal como se usa en el presente documento, también se refiere a la ausencia de obtención (es decir, recogida) de una muestra de semen a partir de dicho paciente masculino.

45 El término "tratamiento", tal como se usa en el primer aspecto de la invención, se refiere a cualquier tipo de terapia, que tiene como objetivo terminar, prevenir, mejorar o reducir la susceptibilidad a un estado clínico tal como se describe en el presente documento. En una realización preferida, el término tratamiento se refiere a tratamiento profiláctico (es decir, una terapia para reducir la susceptibilidad a un estado clínico) de un trastorno o una afección tal como se define en el presente documento. Por tanto, "tratamiento", "tratar" y sus términos equivalentes se refieren a obtener un efecto farmacológico o fisiológico deseado, cubriendo cualquier tratamiento de un estado patológico o trastorno en un mamífero, incluido un ser humano. El efecto puede ser profiláctico en cuanto a prevenir de manera completa o parcial un trastorno o un síntoma del mismo y/o puede ser terapéutico en cuanto a una cura parcial o completa de un trastorno y/o efecto adverso atribuible al trastorno. Es decir, "tratamiento" incluye (1) prevenir que se produzca o reaparezca un trastorno en un sujeto, (2) inhibir el trastorno, tal como detener su desarrollo, (3) detener o terminar el trastorno o, al menos, los síntomas asociados con el mismo, de modo que el huésped ya no padezca el trastorno o sus síntomas, tal como producir la regresión del trastorno o sus síntomas, por ejemplo, restaurando o reparando una función perdida, ausente o defectuosa, o estimulando un proceso ineficiente, o (4) mitigar, aliviar o mejorar el trastorno, o los síntomas asociados con el mismo, donde mejorar se usa en un sentido amplio para referirse a al menos una reducción en la magnitud de la alteración de un parámetro asociado con dicho trastorno.

60 En una realización particular, el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención comprende la administración de la biomasa de *T. chuii* o de la composición farmacéutica tal como se define en el presente

documento. La biomasa de *T. chuii* o la composición farmacéutica para su uso según la invención puede administrarse a un sujeto por cualquier vía de administración adecuada, por ejemplo, parenteral (por ejemplo intramuscular, intravenosa, subcutánea, nasal, etc.), enteral (es decir, oral, rectal, etc.), tópica, etc. En una realización preferida, la biomasa de *T. chuii* o la composición farmacéutica a la que se hace referencia en el primer aspecto de la invención se administra por vía oral.

Los términos “sujeto”, “paciente” o “individuo” se usan indistintamente en el presente documento para referirse a cualquier miembro del reino animal y puede ser un vertebrado, tal como un pez, un ave, un reptil, un anfibio o un mamífero, incluido un ser humano, primate no humano, caballo, cerdo, conejo, perro, oveja, cabra, vaca, ave, gato, cobaya o roedor. Preferiblemente, el sujeto es un mamífero, más preferiblemente un ser humano.

En una realización particular, el sujeto padece oligozoospermia. En una realización más particular, el sujeto padece oligozoospermia idiopática.

El término “oligozoospermia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un trastorno de un sujeto masculino o paciente masculino, caracterizado porque el semen del paciente masculino muestra un número total de espermatozoides por eyaculado, o una concentración de espermatozoides, inferior al LRI establecido por la OMS (“WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición).

El término “número total de espermatozoides” o “número espermático total”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al número total de espermatozoides por eyaculado.

El término “concentración de espermatozoides” o “concentración espermática”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al número total de espermatozoides por eyaculado dividido entre el volumen del eyaculado.

En una realización preferida, cuando un sujeto masculino padece oligozoospermia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de un sujeto masculino deben mostrar un número total de espermatozoides por eyaculado y/o una concentración de espermatozoides inferior a un valor de referencia.

El término “valor de referencia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un criterio predeterminado usado como referencia para evaluar los valores o datos obtenidos de las muestras recogidas de un sujeto. El valor de referencia o nivel de referencia puede ser un valor absoluto, un valor relativo, un valor que tiene un límite superior o inferior, un intervalo de valores, un valor promedio, una mediana de valores, un valor medio o un valor en comparación con un valor de nivel inicial o de control particular. Un valor de referencia puede basarse en un valor de muestra individual, tal como, por ejemplo, un valor obtenido de una muestra del sujeto que está sometiéndose a prueba, pero en un punto de tiempo anterior. El valor de referencia puede basarse en un gran número de muestras, tal como de una población de sujetos del grupo de edad cronológica coincidente, o basarse en un conjunto de muestras que incluye o excluye la muestra que va a someterse a prueba. En una realización particular, el valor de referencia se obtiene de uno o más sujetos masculinos, preferiblemente sujetos sanos, más preferiblemente sujetos masculinos considerados fecundos.

En una realización particular, el valor de referencia para oligozoospermia es el LRI establecido por la OMS (“WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición). La OMS establece en dicho manual que el LRI para el número total de espermatozoides es de 39×10^6 por eyaculado y que el LRI para la concentración de espermatozoides es de 15×10^6 por ml de semen. Un experto en la técnica conoce bien métodos para determinar el número total de espermatozoides por eyaculado, o la concentración de espermatozoides en el semen de un sujeto masculino o en una muestra de semen de un sujeto masculino. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen los métodos para contar espermatozoides en muestras de semen, o para determinar el número de espermatozoides en una muestra de semen, descritos en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición, en particular, los métodos descritos en las secciones 2.7-2.8 de dicho documento.

En una realización particular, el sujeto padece aspermia. En una realización más particular, el sujeto padece aspermia idiopática.

El término “aspermia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al trastorno caracterizado porque un sujeto masculino no libera semen. Este trastorno puede deberse a la ausencia de eyaculación o a una eyaculación retrógrada. Un experto en el campo conoce bien métodos para determinar si un sujeto masculino muestra aspermia, e incluyen métodos que forman parte del conocimiento general común, para determinar la incapacidad de un sujeto de eyacular semen en cualquier condición. Se describen métodos para determinar una eyaculación retrógrada en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen” 2010, quinta edición.

En una realización particular, el sujeto padece hipospermia. En una realización más particular, el sujeto padece hipospermia idiopática.

El término “hipospermia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al trastorno caracterizado porque el volumen de semen por eyaculado en un sujeto masculino es inusualmente bajo, es decir, inferior al LRI.

El término “volumen de semen”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al volumen de semen por eyaculado.

En una realización preferida, cuando un sujeto masculino padece hipospermia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 eyaculados del sujeto masculino deben mostrar un volumen de semen inferior a un valor de referencia. En una realización particular, dicho valor de referencia es el LRI establecido por la OMS en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición. En una realización particular, cuando un sujeto masculino padece hipospermia y una muestra de semen de dicho sujeto masculino comprende el semen de tan sólo un eyaculado, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino deben mostrar un volumen de semen por eyaculado inferior a un valor de referencia, en donde el valor de referencia es preferiblemente el LRI establecido por la OMS en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición. El LRI para el volumen de semen de un eyaculado establecido por la OMS en dicho manual es de 1,5 ml. Un experto en la técnica conoce bien métodos para determinar el volumen de semen de un eyaculado, o el volumen de semen por eyaculado de una muestra de semen. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen los métodos para la recogida de muestras y para medir el volumen de muestras de semen descritos en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición, en particular en la sección 2.2 y 2.3.4 en dicho documento.

En una realización particular, el sujeto padece azoospermia. En una realización más particular, el sujeto padece azoospermia idiopática.

El término “azoospermia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al trastorno caracterizado porque el semen de un sujeto masculino muestra ausencia de espermatozoides, en el semen testicular y/o en el semen del eyaculado, proporcionada como un número de espermatozoides inferior al límite de cuantificación para el método de evaluación empleado. En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece azoospermia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino deben mostrar ausencia de espermatozoides, proporcionada como un número de espermatozoides inferior al límite de cuantificación para el método de evaluación empleado. Un experto en la técnica conoce bien métodos para determinar la ausencia de espermatozoides en el semen de un paciente masculino o en una muestra de semen de un paciente masculino. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen los métodos para determinar el número de espermatozoides en una muestra de semen y los métodos para determinar el número de espermatozoides en una muestra de semen con bajo número de espermatozoides descritos en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición, en particular, los métodos descritos en las secciones 2.7-2.11.

En una realización particular, el sujeto padece teratozoospermia. En una realización más particular, el sujeto padece teratozoospermia idiopática.

El término “teratozoospermia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un trastorno caracterizado porque el semen de un sujeto masculino muestra un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales inferior al LRI.

El término “porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales con respecto al número total de espermatozoides por eyaculado.

En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece teratozoospermia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales inferior a un valor de referencia. En una realización particular, el valor de referencia es el LRI establecido por la OMS en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen” 2010, quinta edición. La OMS establece en dicho manual que el LRI para el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es del 4 %. Un experto en la técnica conoce bien métodos para determinar el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en el semen de un sujeto masculino o en una muestra de semen de un sujeto masculino. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen los métodos descritos en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición, para determinar el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en muestras de semen, en particular, los métodos descritos en las secciones 2.13-2.17 de dicho documento.

La expresión “espermatozoides morfológicamente normales”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a espermatozoides en los que:

i) la cabeza es lisa, con contornos regulares y de forma generalmente ovalada. Comprende una región acrosómica bien definida que comprende el 40-70 % del área de cabeza. La región acrosómica no contiene vacuolas grandes ni más de dos vacuolas pequeñas, que no ocupan más del 20 % de la cabeza del espermatozoide. La región posacrosómica no contiene ninguna vacuola;

ii) la parte central es delgada, regular y de aproximadamente la misma longitud que la cabeza del espermatozoide. El eje principal de la parte central está alineado con el eje principal de la cabeza del espermatozoide. El citoplasma residual se considera una anomalía sólo cuando está en exceso, es decir, cuando supera un tercio del tamaño de la cabeza del espermatozoide;

iii) la parte principal tiene un calibre uniforme a lo largo de su longitud, es más delgada que la parte central y es de aproximadamente 45 µm de longitud (aproximadamente 10 veces la longitud de la cabeza). Puede enrollarse sobre sí misma, siempre que no haya ningún ángulo agudo indicativo de una rotura flagelar.

En una realización particular, el sujeto padece astenozoospermia. En una realización más particular, el sujeto padece astenozoospermia idiopática.

El término "astenozoospermia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un trastorno caracterizado porque el semen de un sujeto masculino muestra un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (PR) inferior al LRI.

El término "porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva", tal como se usa en el presente documento, se refiere al porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva con respecto al número total de espermatozoides por eyaculado.

En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece astenozoospermia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (PR) inferior a un valor de referencia. En una realización particular, el valor de referencia es el LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición. La OMS establece en dicho manual que el LRI para la PR es del 32 %. Un experto en el campo conoce bien métodos para determinar el porcentaje de espermatozoides con PR en el semen de un sujeto masculino o en una muestra de semen de un sujeto masculino. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen los métodos descritos en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, para determinar el porcentaje de espermatozoides con PR en muestras de semen, en particular, los métodos descritos en la sección 2.5 de dicho documento. La expresión "espermatozoides con motilidad progresiva", tal como se usa en el presente documento, se refiere a espermatozoides que se mueven activamente, o bien de manera lineal o bien en un gran círculo, independientemente de la velocidad.

En una realización particular, el sujeto padece necrozoospermia. En una realización más particular, el sujeto padece necrozoospermia idiopática. El término "necrozoospermia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un trastorno caracterizado porque el semen de un sujeto masculino muestra un bajo porcentaje de espermatozoides vivos en el eyaculado.

El término "porcentaje de espermatozoides vivos", tal como se usa en el presente documento, se refiere al porcentaje de espermatozoides vivos con respecto al número total de espermatozoides en un eyaculado.

En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece necrozoospermia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de un sujeto masculino muestran un porcentaje de espermatozoides vivos inferior a un valor de referencia. En una realización particular, el valor de referencia es preferiblemente el LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición. La OMS establece en dicho manual que el LRI para espermatozoides vivos en una muestra de semen es del 58 %. Un experto en la técnica conoce bien métodos para determinar el porcentaje de espermatozoides vivos en el semen de un sujeto masculino o en una muestra de semen de un sujeto masculino. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen aquellos para evaluar la cantidad de espermatozoides con una membrana intacta en una muestra descritos en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, en particular las pruebas de vitalidad dadas a conocer en la sección 2.6 de dicho documento.

En una realización particular, el sujeto padece leucospermia. En una realización más particular, el sujeto padece leucospermia idiopática.

El término "leucospermia", "leucocitospermia" o "piospermia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una afección caracterizada porque el semen de un sujeto masculino muestra una concentración de leucocitos superior al LRI. El término "concentración de leucocitos", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la

concentración total de leucocitos por eyaculado dividido entre el volumen del eyaculado.

En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece leucospermia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran una concentración de leucocitos superior a un valor de referencia. En una realización particular, el valor de referencia es el LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición. La OMS establece en dicho manual que el LRI para la concentración de leucocitos es de 1×10^6 leucocitos por ml cuando se detectan mediante una prueba de peroxidasa, es decir, de leucocitos positivos para peroxidasa por ml. Un experto en la técnica conoce bien dicha prueba y se describe en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición. Un experto en el campo conoce bien métodos para determinar la concentración de leucocitos en el semen de un sujeto masculino o en una muestra de semen de un sujeto masculino. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen el método para determinar la presencia de leucocitos en muestras de semen basándose en la prueba de peroxidasa, y se describen en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, en particular, los métodos descritos en la sección 2.18 de dicho documento.

En una realización particular, el paciente padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF superior a un valor de referencia. En una realización más particular, dicho trastorno es un trastorno idiopático.

La expresión "fragmentación del ADN espermático" o "SDF", tal como se usa en el presente documento, se refiere al daño del ADN, es decir, roturas de ADN individuales y/o dobles, en células espermáticas (del semen liberado tras la eyaculación o del semen testicular). Por tanto, el porcentaje de SDF o el índice de fragmentación del ADN (DFI), tal como se usa en el presente documento, se refiere al porcentaje de células espermáticas que muestran daño del ADN, es decir, roturas de ADN individuales y/o dobles, con respecto al número total de espermatozoides en un eyaculado. Un sujeto masculino con un determinado porcentaje de SDF se entiende como un sujeto caracterizado porque una muestra de semen, o un eyaculado, de dicho sujeto muestra dicho porcentaje de SDF. Se produce reparación del ADN en espermatozoides en desarrollo, pero se termina cuando se detiene la transcripción y traducción después de la espermiogénesis. Como resultado, los espermatozoides no tienen ningún mecanismo para reparar el daño del ADN que se produce durante su tránsito y almacenamiento en el epidídimo o después de la eyaculación, lo que explica la susceptibilidad de los espermatozoides a la fragmentación del ADN y la presencia de fragmentación del ADN en los espermatozoides de cada sujeto masculino. Tal como entiende un experto en la técnica, cuando el semen de un sujeto masculino tiene un alto porcentaje de SDF, la capacidad del semen de dicho sujeto para lograr la fecundación es baja. En términos generales, un semen que muestra un porcentaje de fragmentación del ADN igual o inferior a un porcentaje de alrededor del 15 % se considera de buena calidad, es decir, con una alta capacidad para lograr la fecundación. Sin embargo, si el porcentaje de fragmentación del ADN es igual o superior a un porcentaje, tal como de alrededor del 16 % en algunos casos, se considera que la calidad del semen es mala, es decir, con una baja capacidad para lograr la fecundación. Por tanto, un alto porcentaje de SDF en un sujeto masculino se considera un trastorno. Si se desconoce la causa de dicho trastorno, se considera un trastorno idiopático. La expresión "una muestra de semen muestra el x % de SDF", o "una muestra de semen muestra un índice de fragmentación del ADN (DFI) del x %", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una muestra de semen en la que el x % de las células espermáticas dentro del semen de dicha muestra muestran fragmentación del ADN. Por tanto, tal como entenderá un experto en el campo, una muestra de semen que muestra un porcentaje de SDF igual o inferior al 15 % es una muestra de semen en la que el 15 % o menos de las células espermáticas muestran SDF y generalmente se considera una muestra de semen de buena calidad, es decir, con una alta capacidad para lograr la fecundación. Una muestra de semen que muestra un porcentaje de SDF igual o superior al 16 % es una muestra de semen en la que el 16 % o más de las células espermáticas muestran SDF y, por tanto, en algunos casos, se considera una muestra de semen de mala calidad, es decir, con una baja capacidad para lograr la fecundidad. En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un porcentaje de SDF superior al valor de referencia, en el que dicho valor de referencia es preferiblemente del 16 %. De manera análoga, cuando un paciente masculino no padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un porcentaje de SDF inferior a dicho valor de referencia, en el que dicho valor de referencia es preferiblemente del 16 %.

Un experto en el campo conoce bien métodos para determinar el porcentaje de SDF, o un DFI, en el semen de un sujeto masculino o en una muestra de semen de un sujeto masculino. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen tinción con azul de toluidina, tinción con CMA3, ensayo de naranja de acridina (AO), SCSA, prueba de SCD/Halo, ensayo Comet, ensayo TUNEL, tal como se describe en Manesh Kumar Panner Selvam y Ashok Agarwal, 2018, Arab J Urol. 16(1): 65-76.

En una realización particular, el paciente padece un trastorno caracterizado por un nivel de 8-OHdG, una razón de 8-OHdG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia. En una realización más particular, dicho trastorno es un trastorno idiopático. El término "8-hidroxi-2-desoxiguanosina" u "8-OHdG", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un aducto de base guanosina

oxidado formado cuando un radical OH daña el ADN. Se considera un marcador de la oxidación del ADN. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden dañar el ADN directamente, generando de ese modo aductos de ADN oxidados (tales como 8-OHdG), que luego conducen a sitios abásicos que desestabilizan la estructura del ADN y provocan roturas monocatenarias posteriores. Por tanto, la presencia de 8-OHdG puede relacionarse con la oxidación del ADN y con la posterior aparición de roturas de cadenas de ADN. De hecho, la reparación del ADN está limitada en los espermatozoides y solo se produce durante fases específicas de la espermatogénesis. En particular, los mecanismos de reparación dejan de ser activos durante la condensación nuclear en el epidídimo, aunque los espermatozoides estén expuestos al daño oxidativo en el epidídimo y durante el transporte en el líquido seminal. Los aductos de ADN inducidos por estrés oxidativo pueden repararse por el ovocito, pero no las roturas de ADN monocatenario o bicatenario. Por tanto, la presencia de 8-OHdG en células espermáticas puede conducir a la aparición de fragmentación del ADN, y tiene un impacto significativo sobre la fecundación y el desenlace del embarazo. Por tanto, puede medirse la cantidad de 8-OH-dG en las células espermáticas en el semen para determinar el nivel de daño del ADN en las células espermáticas en el semen resultante del estrés oxidativo. Por tanto, en una realización particular, en todos los aspectos de la presente invención, el trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia se refiere a un trastorno caracterizado por un alto nivel de oxidación del ADN en el semen. En otra realización particular, en todos los aspectos de la presente invención, el trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia se refiere a un trastorno caracterizado por un alto nivel de daño del ADN en el semen, preferiblemente provocado por estrés oxidativo en el semen. En otra realización, en todos los aspectos de la presente invención, el trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia se refiere a un trastorno caracterizado por un alto estrés oxidativo en el semen.

En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece una afección caracterizada por un nivel de 8-OHdG en semen superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un nivel de 8-OHdG superior a un valor de referencia. De manera análoga, cuando un paciente masculino no padece una afección caracterizada por un nivel de 8-OHdG en semen superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un nivel de 8-OH-dG inferior a un valor de referencia.

En otra realización preferida, cuando un paciente masculino padece una afección caracterizada por una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG superior a un valor de referencia. De manera análoga, cuando un paciente masculino no padece una afección caracterizada por una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG inferior a un valor de referencia.

En otra realización preferida, cuando un paciente masculino padece una afección caracterizada por un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG superior a un valor de referencia. De manera análoga, cuando un paciente masculino no padece una afección caracterizada por un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG inferior a un valor de referencia.

La expresión "el nivel de 8-OH-dG en semen", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de 8-OH-dG tal como se definió anteriormente detectada en el semen. En una realización particular, el nivel de 8-OH-dG en semen se refiere al nivel de 8-OH-dG tal como se definió anteriormente en un eyaculado o en una muestra de semen. El nivel de 8-OH-dG en semen o en una muestra de semen puede medirse mediante diferentes métodos. comúnmente se mide usando un método de inmunofluorescencia o un kit comercial, tal como el kit OxyDNA seguido de microscopía óptica, microscopía de fluorescencia o citometría de flujo, preferiblemente un método de inmunofluorescencia seguido de citometría de flujo. Un experto en el campo conoce bien cualquiera de dichos métodos, y pueden llevarse a cabo tal como se describe en Vorilhon *et al.*, 2018, Human reproduction, 33(4): 553-562. En este caso, el nivel de 8-OH-dG puede expresarse como intensidad de fluorescencia media (IFM) de una muestra y medirse en unidades arbitrarias (u.a.). El valor de referencia para el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen es de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 510, 515, 520, 525, 530, 535, 540, 545, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 562, 565, 567, 570, 575, 580, 585, 590, 595, 600, 625, 650, 675, 700, 750, 800, 850, 900 unidades arbitrarias, preferiblemente al menos 552 unidades arbitrarias, cuando el método se basa en inmunofluorescencia seguida de citometría de flujo, tal como se describe en Vorilhon *et al.*, 2018, Human reproduction,

33(4): 553-562. Tal como se indicó anteriormente, el nivel de 8-OH-dG en semen puede referirse al nivel de 8-OH-dG en un eyaculado o en una muestra de semen y, por tanto, en una realización particular, el valor de referencia para el parámetro nivel de 8-OH-dG en semen es cualquiera de los proporcionados en la presente memoria descriptiva para el parámetro nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen.

La expresión “una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de 8-OH-dG tal como se definió anteriormente detectada en el semen, y dividida entre la cantidad de dG detectada en el semen expresada por grupos de 10⁵, en donde dG se refiere a dioxiguanosina. En una realización particular, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen se refiere a la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG, tal como acaba de definirse, en un eyaculado o en una muestra de semen. La razón de 8-OH-dG/10⁵ dG puede medirse mediante diferentes métodos. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen cromatografía de líquidos de alto rendimiento equipada con detección electroquímica (HPLC-EC) o cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM). Un experto en el campo conoce bien dichos métodos, y pueden llevarse a cabo, por ejemplo, siguiendo las indicaciones que se encuentran en Shen y Ong., 2000, *Free Radical Biology and Medicine*, 28(4): 529-536. En este caso, el valor de referencia de una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es de 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,25, 2,5, 2,75, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 90, 100, preferiblemente una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG de 1,5. Tal como se indicó anteriormente, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen puede referirse a la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en un eyaculado o en una muestra de semen y, por tanto, en una realización particular, el valor de referencia para el parámetro 8-OH-dG/10⁵ dG en semen es cualquiera de los proporcionados en la presente memoria descriptiva para el parámetro 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen.

La expresión “un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen” o “el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG” o “el porcentaje de células espermáticas con 8-OH-dG”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al porcentaje de células espermáticas detectadas como positivas para 8-OH-dG con respecto al número total de espermatozoides en el semen. En una realización particular, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen se refiere al porcentaje de 8-OH-dG, tal como acaba de definirse, en un eyaculado o en una muestra de semen. El porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen puede medirse mediante diferentes métodos. Los ejemplos no limitativos de dichos métodos incluyen métodos basados en inmunofluorescencia o un kit comercial, tal como el kit OxyDNA, seguido de microscopía óptica, microscopía de fluorescencia o citometría de flujo, preferiblemente un método basado en inmunofluorescencia seguido de citometría de flujo. Un experto en el campo conoce bien cualquiera de dichos métodos, y pueden llevarse a cabo tal como se describe en Vorilhon *et al.* 2018, *Human reproduction*, 33(4): 553-562. En este caso, el valor de referencia para el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es del 20 %, el 25 %, el 30 %, el 35 %, el 40 %, el 45 %, el 50 %, el 52 %, el 55 %, el 57 %, el 60 %, el 61 %, el 62 %, el 63 %, el 64 %, el 64,5 %, el 65 %, el 65,2 %, el 65,5 %, el 65,6 %, el 65,7 %, el 65,8 %, el 65,9 %, el 66 %, el 66,1 %, el 66,2 %, el 66,3 %, el 66,4 %, el 66,5 %, el 66,7 %, el 67 %, el 67,5 %, el 68 %, el 68,5 %, el 69 %, el 69,5 %, el 70 %, el 71 %, el 72 %, el 73 %, el 74 %, el 75 %, el 77 %, el 80 %, el 82 %, el 87,5 %, el 87 %, el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % de las células espermáticas positivas para 8-OH-dG con respecto al número total de espermatozoides en una muestra de semen, preferiblemente del 65,8 % de las células espermáticas positivas para 8-OH-dG con respecto al número total de espermatozoides en una muestra de semen. Tal como se indicó anteriormente, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen puede referirse al porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en un eyaculado o en una muestra de semen y, por tanto, en una realización particular, el valor de referencia para el parámetro porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen es cualquiera de los proporcionados en la presente memoria descriptiva para el parámetro porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen.

En una realización particular, el paciente padece un trastorno caracterizado por un potencial de oxidación-reducción estático (sORP) superior a un valor de referencia. En una realización más particular, dicho trastorno es un trastorno idiopático.

La expresión “potencial de oxidación-reducción estático” o “sORP”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a la medida del equilibrio entre oxidantes y reductores totales en un sistema biológico que puede considerarse como una medida del estrés oxidativo en dicha muestra. La expresión “potencial de oxidación-reducción estático en semen” o “sORP en semen”, tal como se usa en el presente documento, se refiere al valor del potencial de oxidación-reducción estático tal como se definió anteriormente cuando el sistema biológico es semen. Por tanto, el sORP en semen puede considerarse como una medida del nivel de estrés oxidativo en semen. Por tanto, en una realización particular, el trastorno caracterizado por un sORP en semen superior a un valor de referencia al que se hace referencia en cualquier aspecto de la presente invención es un trastorno caracterizado por un alto estrés oxidativo en semen.

En una realización particular, la expresión “sORP en semen” se refiere al sORP en un eyaculado o en una muestra de semen.

En una realización preferida, cuando un paciente masculino padece un trastorno caracterizado por un sORP en semen superiora un valor de referencia, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino

muestran un sORP superior a un valor de referencia.

El sORP en semen o en una muestra de semen está directamente relacionado con la transferencia de electrones desde los reductores hasta los oxidantes presentes en muestras de dicho semen o con el potencial eléctrico de dichas muestras. Un experto en el campo conoce bien métodos que permiten la medición de dicha transferencia de electrones o del potencial eléctrico en semen o en una muestra de semen. Los ejemplos no limitativos de métodos que permiten la medición del sORP en semen o en una muestra de semen incluyen el sistema MioXSYS, tal como se describe en Agarwal A, Bui AD. Investig. Clin Urol. 2017;58(6):385-399. De manera general, el valor en mV proporcionado por dicho tipo de métodos se divide entre la concentración de espermatozoides de la(s) muestra(s) de semen analizada(s), de modo que el sORP se proporciona generalmente como $\text{mV}/10^6$ espermatozoides/ml de semen. En una realización particular, el valor de referencia para el sORP en una muestra de semen es de 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,25, 0,27, 1,3, 10,31, 1,32, 1,33, 1,34, 1,35, 1,36, 1,37, 1,38, 1,39, 1,4, 1,41, 1,42, 1,43, 1,44, 1,45, 1,46, 1,47, 1,48, 1,49, 1,5, 1,51, 1,52, 1,53, 1,54, 1,55, 1,57, 1,6, 1,62, 1,65, 1,67, 1,7, 1,75, 1,8, 1,85, 1,9, 1,95, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,35, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,25, 6,5, 6,75, 7,0, 7,25, 7,5, 7,75, 8,0, 8,25, 8,5, 8,75, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0 $\text{mV}/10^6$ espermatozoides/ml de semen, preferiblemente de 1,34 $\text{mV}/10^6$ espermatozoides/ml de semen, más preferiblemente de 1,36 $\text{mV}/10^6$ espermatozoides/ml de semen, incluso más preferiblemente de 1,48 $\text{mV}/10^6$ espermatozoides/ml de semen. Tal como se indicó anteriormente, el sORP en semen puede referirse al sORP en un eyaculado o en una muestra de semen y, por tanto, en una realización particular, el valor de referencia para el parámetro sORP en semen es cualquiera de los proporcionados en la presente memoria descriptiva para el parámetro sORP en una muestra de semen.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el número total y/o la concentración de espermatozoides en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, se observa un número total y/o una concentración de espermatozoides igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece oligozoospermia, y el número total y/o la concentración de espermatozoides en una muestra de semen de dicho paciente después del tratamiento al que se hace referencia en dicho uso médico es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el número total de espermatozoides es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención. En otra realización preferida, la concentración de espermatozoides es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece oligozoospermia antes de dicho tratamiento, y el número total y/o la concentración de espermatozoides en una muestra de semen de dicho paciente después de dicho tratamiento es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el número total de espermatozoides es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención. En otra realización preferida, la concentración de espermatozoides es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

Se han proporcionado métodos para determinar el número de espermatozoides y la concentración de espermatozoides en una muestra de semen anteriormente en la definición de "oligozoospermia".

La expresión "número total de espermatozoides en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un número total de espermatozoides en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde al valor de referencia.

La expresión “número total de espermatozoides en una muestra de semen igual a un valor de referencia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un número total de espermatozoides en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a un número total de espermatozoides en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos de 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión “número total de espermatozoides en una muestra de semen inferior a un valor de referencia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un número total de espermatozoides en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización particular, el valor de referencia para el número total de espermatozoides es de 25×10^5 , 30×10^5 , 39×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 10×10^6 , 20×10^6 , 25×10^6 , 30×10^6 , 39×10^6 , 32×10^6 , 35×10^6 , 40×10^6 , 45×10^6 , 50×10^6 , 60×10^6 , 80×10^6 , 1×10^7 o 1×10^8 células espermáticas por eyaculado, preferiblemente 39×10^6 células espermáticas por eyaculado. En otra realización preferida, el valor de referencia para el número total de espermatozoides en una muestra de semen corresponde al LRI establecido por la OMS en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”, 2010, quinta edición, para el número de espermatozoides por eyaculado, que es de 39×10^6 células espermáticas por eyaculado.

La expresión “concentración de espermatozoides en una muestra de semen superior a un valor de referencia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una concentración de espermatozoides en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde al valor de referencia.

La expresión “concentración de espermatozoides en una muestra de semen igual a un valor de referencia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier concentración de espermatozoides en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a cualquier concentración de espermatozoides en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 % aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión “concentración de espermatozoides en una muestra de semen inferior a un valor de referencia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una concentración de espermatozoides en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización particular, el valor de referencia para la concentración de espermatozoides en una muestra de semen es de 5×10^5 , 10×10^5 , 15×10^5 , 50×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 10×10^6 , 15×10^6 , 20×10^6 , 25×10^6 , 50×10^6 , 75×10^6 , 10×10^7 , 25×10^7 , 50×10^7 , 75×10^7 o 10×10^8 espermatozoides por ml de semen, preferiblemente 15×10^6 espermatozoides por ml de semen. En una realización preferida, el valor de referencia para la concentración de espermatozoides en una muestra de semen corresponde al LRI establecido por la OMS en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen” 2010, quinta edición, para la concentración de espermatozoides por ml de semen, que es de 15×10^6 espermatozoides por ml de semen.

En otra realización preferida, el valor de referencia para el número total o la concentración de espermatozoides en una muestra de semen de un sujeto masculino es el número total o la concentración de espermatozoides en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al número total o a la concentración de espermatozoides en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos

10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere al número total o a la concentración de espermatozoides en más de una muestra, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "número total de espermatozoides" o "concentración de espermatozoides" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un momento diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En otra realización particular, el valor de referencia para el número total de espermatozoides en una muestra de semen es menor de 25×10^5 , menor de 10×10^5 , menor de 1×10^5 , menor de 1×10^4 , menor de 1×10^3 , menor de 1×10^2 , menor de 10 espermatozoides por eyaculado, preferiblemente es de alrededor de 0 espermatozoides por eyaculado, más preferiblemente es de 0 espermatozoides por eyaculado. En otra realización particular, el valor de referencia para el número total de espermatozoides en una muestra de semen es el límite de cuantificación de espermatozoides en una muestra de semen para el método de evaluación empleado. En otra realización particular, puesto que dicho valor de referencia es el mínimo para el parámetro "número total de espermatozoides en una muestra de semen", la expresión "número total de espermatozoides en una muestra de semen inferior a un valor de referencia" se refiere a un número total de espermatozoides en una muestra de semen igual a dicho valor de referencia. La expresión "número total de espermatozoides en una muestra de semen igual a un valor de referencia" se refiere a un número total de espermatozoides en una muestra de semen que es, o coincide con, dicho valor de referencia. En otra realización particular, la expresión "número total de espermatozoides en una muestra de semen superior a un valor de referencia" se refiere a cualquier valor mayor que dicho valor de referencia, preferiblemente se refiere a un valor absoluto diferente de 0. En una realización preferida, se refiere a al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 10, al menos 20, al menos 100, al menos 1×10^3 , al menos 1×10^4 , al menos 1×10^5 , al menos 1×10^6 , al menos 20×10^6 , al menos 30×10^6 , al menos 39×10^6 , al menos 40×10^6 , al menos 50×10^6 , al menos 1×10^7 espermatozoides por eyaculado, preferiblemente al menos 39×10^6 espermatozoides por eyaculado.

En otra realización particular, el valor de referencia para la concentración de espermatozoides en una muestra de semen es menor de 5×10^5 , menor de 4×10^5 , menor de 1×10^5 , menor de 1×10^4 , menor de 1×10^3 , menor de 1×10^2 , menor de 10 espermatozoides por ml de semen, preferiblemente es de alrededor de 0 espermatozoides por ml de semen, más preferiblemente es de 0 espermatozoides por ml de semen. En otra realización particular, el valor de referencia para la concentración de espermatozoides en una muestra de semen es el límite de cuantificación de espermatozoides en una muestra de semen para el método de evaluación empleado. En este caso, puesto que dicho valor de referencia es el mínimo para el parámetro "concentración de espermatozoides en una muestra de semen", la expresión "concentración de espermatozoides en una muestra de semen inferior a un valor de referencia" se refiere a una concentración de espermatozoides en una muestra de semen igual a dicho valor de referencia. La expresión "concentración de espermatozoides en una muestra de semen igual a un valor de referencia" se refiere a una concentración de espermatozoides en una muestra de semen que es, o coincide con, dicho valor de referencia. En otra realización particular, la expresión "concentración de espermatozoides en una muestra de semen superior a un valor de referencia" se refiere a cualquier valor mayor que dicho valor de referencia, preferiblemente se refiere a un valor absoluto diferente de 0. En una realización preferida, se refiere a al menos 1 al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 10, al menos 20, al menos 100, al menos 1×10^3 , al menos 1×10^4 , al menos 1×10^5 , al menos 1×10^6 , al menos 15×10^6 , 20×10^6 , 25×10^6 , 50×10^6 , 75×10^6 , 10×10^7 , 50×10^7 espermatozoides por ml de semen, preferiblemente al menos 15×10^6 espermatozoides por ml de semen.

En otra realización particular, el paciente del primer aspecto de la invención padece azoospermia. Se han proporcionado métodos para determinar si un sujeto padece azoospermia anteriormente en la definición de azoospermia. En otra realización particular, también se aplica a todas las realizaciones en las que se usa el término "oligozoospermia" en el presente documento, sustituyendo el término "oligozoospermia" por "azoospermia". La expresión "antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención" o "antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier momento antes del tratamiento del primer aspecto de la invención. En una realización preferida, se refiere a un momento al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 8 horas, al menos 10 horas, al menos 12 horas, al menos 24 horas, al menos 1,5 días, al menos 2 días, al menos 4 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 1 semana, al menos 1,5 semanas, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 1 año, al menos 1,5 años, al menos 2 años, al menos 5 años, al menos 10 años, preferiblemente al menos 1 mes, más preferiblemente al menos 1 semana, incluso más preferiblemente al menos 1 día, aún más preferiblemente al menos 1 hora antes del inicio de dicho tratamiento.

La expresión "después del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención" o "después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier momento después del tratamiento del primer aspecto de la invención. En una realización preferida, se refiere a un momento justo después del final de dicho tratamiento, preferiblemente, al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 8 horas, al menos 10 horas, al menos 12 horas, al menos 24 horas, al menos 1,5 días, al menos 2 días, al menos 4 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 1 semana, al menos 1,5 semanas, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al

menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 1 año, al menos 1,5 años, al menos 2 años, al menos 5 años, al menos 10 años, preferiblemente al menos 1 mes, más preferiblemente al menos 1 semana, incluso más preferiblemente al menos 1 día, aún más preferiblemente al menos 1 hora después del final de dicho tratamiento.

5

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

10

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece astenozoospermia y el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen de dicho paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

15

20

En una realización determinada, el paciente masculino es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece astenozoospermia antes de dicho tratamiento y el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen de dicho paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

25

30

La expresión "motilidad progresiva" se ha definido anteriormente. Se han proporcionado métodos para determinar el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen anteriormente en la definición de astenozoospermia.

35

La expresión "porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

40

45

La expresión "porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

50

55

La expresión "porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

60

En una realización particular, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen es del 10 %, el 15 %, el 20 %, el 25 %, el 30 %, el 31 %, el 31,5 %, el 32 %, el 32,5 %, el

65

33 %, el 33,5 %, el 34 %, el 34,5 %, el 35 %, el 35,5 %, el 36 %, el 37 %, el 38 %, el 39 %, el 40 %, el 41 %, el 42 %, el 43 %, el 44 %, el 45 %, el 47 %, el 50 %, el 52 %, el 55 %, el 60 %, el 65 %, el 70 %, el 80 %, el 90 %, el 95 %, preferiblemente el 30 %, incluso más preferiblemente el 32 %. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen es el LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, para el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen, que es del 32 %.

En otra realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen de un sujeto masculino es el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, más preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere al porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece teratozoospermia y el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen de dicho paciente después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece teratozoospermia antes de dicho tratamiento y el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen de dicho paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

La expresión "espermatozoides morfológicamente normales" se ha proporcionado anteriormente. Se han proporcionado métodos para determinar el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra anteriormente en la definición de teratozoospermia.

La expresión "porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %,

menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión "porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización particular el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra es del 0,5 %, el 1 %, el 1,5 %, el 2 %, el 2,5 %, el 3 %, el 3,5 %, el 4 %, el 4,5 %, el 5 %, el 5,5 %, el 6 %, el 6,5 %, el 7 %, el 8 %, el 9 %, el 10 %, el 12 %, el 15 %, el 17 %, el 20 %, el 22 %, el 25 %, el 30 %, el 35 %, el 40 %, preferiblemente del 4 %. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen es el LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, que es del 4 %.

En otra realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen de un sujeto masculino es el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere al porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen" obtenidos en cada una de dichas muestras. En otra realización, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Tal como se indica en la definición de "muestra de semen", una muestra de semen de un sujeto masculino comprende preferiblemente, o consiste en, el semen de un eyaculado de dicho sujeto. Por tanto, tal como entiende un experto en la técnica, el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen es el volumen de la muestra de semen. Además, tal como entiende un experto en la técnica, el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen es el volumen del eyaculado comprendido en dicha muestra, o en que consiste la muestra.

En el caso de que la muestra de semen de un sujeto comprenda más de un eyaculado del sujeto, el volumen de semen por eyaculado en la muestra de semen es el volumen de uno de dichos eyaculados. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente dicho volumen dividiendo el volumen de la muestra entre el número de eyaculados comprendidos en dicha muestra, o en que consiste la muestra de semen.

Preferiblemente, el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen de un paciente masculino es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece hipospermia y el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen de dicho paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en

dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece hipospermia antes de dicho tratamiento y el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen de dicho paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a dicho valor de referencia. Preferiblemente, el volumen de semen por eyaculado es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

Se han proporcionado métodos para determinar el volumen de semen en un eyaculado de un paciente masculino anteriormente en la definición de hipospermia.

La expresión "un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un volumen de semen por eyaculado que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un volumen de semen por eyaculado que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un volumen de semen por eyaculado que es igual o sustancialmente igual al valor de referencia para el volumen de semen de un eyaculado. Por tanto, el volumen de semen por eyaculado es igual a su valor de referencia si es de menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También es igual a su valor de referencia si es de menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

En otra realización preferida, el valor de referencia para el volumen de semen por eyaculado es de 5 ml, 4,5 ml, 4 ml, 3,5 ml, 3 ml, 2,5 ml, 2 ml, 1,5 ml, 1 ml, 0,5 ml, 0,25 ml, preferiblemente de 1,5 ml. En una realización preferida, el valor de referencia corresponde al LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, y es de 1,5 ml.

En otra realización preferida, el valor de referencia para el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen es el volumen de semen por eyaculado de dicho sujeto masculino obtenido antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al volumen de semen por eyaculado en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere a un volumen de semen por eyaculado en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En otra realización particular, el valor de referencia para el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen es menor de 0,25 ml, menor de 0,2 ml, menor de 0,1 ml, menor de 0,05 ml, menor de 0,01 ml, menor de 0,005 ml, preferiblemente es de alrededor de 0 ml, más preferiblemente es de 0 ml.

En otra realización particular, puesto que dicho valor de referencia es el mínimo para el parámetro "volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen", la expresión "volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen inferior a un valor de referencia" se refiere a un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen igual a dicho valor de referencia. La expresión "un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen igual a un valor de referencia" se refiere a un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen que es, o coincide con, dicho valor de referencia. En otra realización particular, la expresión "volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen superior a un valor de referencia" se refiere a cualquier valor mayor que dicho valor de referencia,

preferiblemente se refiere a un valor absoluto diferente de 0. En una realización preferida, se refiere a un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen de al menos 0,001 ml, al menos 0,005 ml, al menos 0,01 ml, al menos 0,1 ml, al menos 0,2 ml, al menos 0,5 ml, al menos 1 ml, al menos 1,5 ml, al menos 1,75 ml, al menos 2 ml, al menos 2,5 ml, preferiblemente de al menos 1,5 ml.

En otra realización particular, el paciente del primer aspecto de la invención padece aspermia. Se han proporcionado métodos para determinar si un sujeto padece aspermia anteriormente en la definición de aspermia. En otra realización particular, también se aplica a todas las realizaciones en las que se usa el término "hipospermia" en el presente documento, sustituyendo el término "hipospermia" por "aspermia".

Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el porcentaje de SDF en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de SDF es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro porcentaje de SDF. Preferiblemente, el porcentaje de SDF es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF superior a un valor de referencia y el porcentaje de SDF en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de SDF es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro porcentaje de SDF. Preferiblemente, el porcentaje de SDF es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF superior a un valor de referencia antes de dicho tratamiento y el porcentaje de SDF en una muestra de semen del paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o inferior a dicho valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de SDF es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro porcentaje de SDF. En otra realización preferida, el porcentaje de SDF es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención. Se han proporcionado métodos para determinar el porcentaje de SDF anteriormente en la definición de fragmentación del ADN espermático.

La expresión "un porcentaje de SDF en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un porcentaje de SDF en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "un porcentaje de SDF en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de SDF en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a un porcentaje de SDF que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión "un porcentaje de SDF en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un porcentaje de SDF en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos

el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

- 5 En una realización preferida, cualquier valor de referencia al que se hizo referencia anteriormente para un porcentaje de SDF en una muestra de semen es un porcentaje de SDF asociado con una escasa o mala calidad de una muestra de semen. Por tanto, dicho valor de referencia es el 15 %, el 16 %, el 17 %, el 18 %, el 19 %, el 20 %, el 21 %, el 22 %, el 23 %, el 24 %, el 25 %, el 26 %, el 27 %, el 28 %, el 29 %, el 30 %, el 31 %, el 23 %, el 33 %, el 34 %, el 35 %, el 36 %, el 37 %, el 38 %, el 39 %, el 40 %, el 42 %, el 45 %, el 47 %, el 50 %, preferiblemente el 30 %, más
10 preferiblemente el 20 %, incluso más preferiblemente el 18 %, aún más preferiblemente el 16 %, incluso aún más preferiblemente el 15 %.

- 15 En otra realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de SDF en una muestra de semen de un sujeto masculino es el porcentaje de SDF en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al porcentaje de SDF en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere a un porcentaje de SDF en más de una muestra obtenida antes del
20 inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "porcentaje de SDF en una muestra de semen" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

- 25 En otra realización, el valor de referencia para el porcentaje de SDF en una muestra de semen de un sujeto masculino es la SDF en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de un sujeto masculino considerado sano, preferiblemente en un sujeto masculino considerado fecundo. En otra realización, el valor de referencia para el porcentaje de SDF en una muestra de semen de un sujeto masculino es la SDF en al menos 1, al menos 2, al menos
30 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de sujetos masculinos diferentes considerados sanos, preferiblemente de sujetos masculinos diferentes considerados fecundos. La definición del término "fecundo" o "fecundidad" se proporciona en el segundo aspecto de la invención y se aplica al presente aspecto de la invención.

- 35 Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

- En una realización particular del primer aspecto de la invención, el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el nivel de 8-OH-dG en una
40 muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen. Preferiblemente, el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

- 45 En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia y el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro nivel de 8OH-dG en semen. Preferiblemente, el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos
50 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

- 55 En una realización determinada, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia antes de dicho tratamiento y el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen del paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o inferior a dicho valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen. En otra realización preferida, el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2,
60 al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del

tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención. Se han proporcionado métodos para determinar el nivel de 8-OH-dG en semen o en una muestra de semen anteriormente en la definición de "nivel de 8-OH-dG en semen".

La expresión "un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de SDF en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a un nivel de 8-OH-dG que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión "un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización preferida, cualquier valor de referencia al que se hizo referencia anteriormente para un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen es de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 510, 515, 520, 525, 530, 535, 540, 545, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 562, 565, 567, 570, 575, 580, 585, 590, 595, 600, 625, 650, 675, 700, 750, 800, 850, 900 unidades arbitrarias, preferiblemente de al menos 552 unidades arbitrarias, cuando el método se basa en inmunofluorescencia seguida de citometría de flujo, tal como se describe en Vorilhon *et al.*, 2018, Human reproduction, 33(4): 553-562.

En otra realización preferida, el valor de referencia para un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al nivel de 8-OH-dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere a un nivel de 8-OH-dG en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En otra realización, el valor de referencia para el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es el nivel de 8-OH-dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de un sujeto masculino considerado sano, preferiblemente de un sujeto masculino considerado fecundo. En otra realización, el valor de referencia para el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es el nivel de 8-OH-dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de sujetos masculinos diferentes considerados sanos, preferiblemente de sujetos masculinos diferentes considerados fecundos. La definición del término "fecundo" o "fecundidad" se proporciona en el segundo aspecto de la invención y se aplica al presente aspecto de la invención.

En otra realización particular, tal como se indicó anteriormente, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen se refiere al porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en un eyaculado o en una muestra de semen. Por tanto, tal como entiende un experto, el valor de referencia para el parámetro "nivel de 8-OH-dG en semen" es intercambiable con el valor de referencia para el parámetro "nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen". En una realización, el valor de referencia para el parámetro "nivel de 8-OH-dG en semen" es cualquiera de los proporcionados anteriormente para el parámetro "nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen".

Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen. Preferiblemente, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen superior a un valor de referencia y la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen. Preferiblemente, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen superior a un valor de referencia antes de dicho tratamiento y la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen del paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o inferior a dicho valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen. En otra realización preferida, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención. Se han proporcionado métodos para determinar la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen o en una muestra de semen anteriormente en la definición de "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen".

La expresión "una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de SDF en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión "una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización preferida, cualquier valor de referencia al que se hizo referencia anteriormente para una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen es de 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,25, 2,5, 2,75, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 90, 100, preferiblemente una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG de 1,5.

En otra realización preferida, el valor de referencia para una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere a la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere a una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En otra realización, el valor de referencia para la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de un sujeto masculino considerado sano, preferiblemente de un sujeto masculino considerado fecundo. En otra realización, el valor de referencia para la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de sujetos masculinos diferentes considerados sanos, preferiblemente de sujetos masculinos diferentes considerados fecundos. La definición del término "fecundo" o "fecundidad" se proporciona en el segundo aspecto de la invención y se aplica al presente aspecto de la invención.

En otra realización particular, tal como se indicó anteriormente, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen se refiere a la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en un eyaculado o en muestra de semen. Por tanto, tal como entiende un experto en la técnica, el valor de referencia para el parámetro "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen" es intercambiable con el valor de referencia para el parámetro "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen". En una realización, el valor de referencia para el parámetro "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen" es cualquiera de los proporcionados anteriormente para el parámetro "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen".

Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen. Preferiblemente, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia y el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen. Preferiblemente, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia antes de dicho tratamiento y el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen del paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o inferior a dicho valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro porcentaje de células espermáticas positivas para 8 OH-dG en una

muestra de semen. En otra realización preferida, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención. Se han proporcionado métodos para determinar el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen o en una muestra de semen anteriormente en la definición de "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen".

La expresión "un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de SDF en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión "un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización preferida, cualquier valor de referencia al que se hizo referencia anteriormente para un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen es del 20 %, el 25 %, el 30 %, el 35 %, el 40 %, el 45 %, el 50 %, el 52 %, el 55 %, el 57 %, el 60 %, el 61 %, el 62 %, el 63 %, el 64 %, el 64,5 %, el 65 %, el 65,2 %, el 65,5 %, el 65,6 %, el 65,7 %, el 65,8 %, el 65,9 %, el 66 %, el 66,1 %, el 66,2 %, el 66,3 %, el 66,4 %, el 66,5 %, el 66,7 %, el 67 %, el 67,5 %, el 68 %, el 68,5 %, el 69 %, el 69,5 %, el 70 %, el 71 %, el 72 %, el 73 %, el 74 %, el 75 %, el 77 %, el 80 %, el 82 %, el 87,5 %, el 87 %, el 90 %, el 95 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % de células espermáticas positivas para 8-OH-dG con respecto al número total de espermatozoides en una muestra de semen, preferiblemente del 65,8 % de células espermáticas positivas para 8-OH-dG con respecto al número total de espermatozoides en una muestra de semen.

En otra realización preferida, el valor de referencia para un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere a un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En otra realización, el valor de referencia para el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de un sujeto masculino considerado sano, preferiblemente de un sujeto masculino considerado fecundo. En otra realización, el valor de referencia para el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen de un sujeto masculino es el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al

menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de sujetos masculinos diferentes considerados sanos, preferiblemente de sujetos masculinos diferentes considerados fecundos. La definición del término "fecundo" o "fecundidad" se proporciona en el segundo aspecto de la invención y se aplica al presente aspecto de la invención.

5 En otra realización particular, tal como se indicó anteriormente, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen se refiere al porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en un eyaculado o en muestra de semen. Por tanto, tal como entiende un experto en la técnica, el valor de referencia para el parámetro "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen" es intercambiable con el valor de referencia para el parámetro "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen". En una realización, el valor de referencia para el parámetro "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen" es cualquiera de los proporcionados anteriormente para el parámetro "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen".

15 Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el sORP en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el sORP en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro sORP en una muestra de semen. Preferiblemente, el sORP en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

25 En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un sORP en semen superior a un valor de referencia y el sORP en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para el sORP en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro sORP en semen. Preferiblemente, el sORP en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

35 En una realización determinada, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece un trastorno caracterizado por un sORP en semen superior a un valor de referencia antes de dicho tratamiento y el sORP en una muestra de semen del paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o inferior a dicho valor de referencia. En una realización preferida, el valor de referencia para sORP en una muestra de semen es cualquiera de los definidos a continuación para el parámetro sORP en una muestra de semen. En otra realización preferida, el sORP en una muestra de semen es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención. Se han proporcionado métodos para determinar el sORP en semen o en una muestra de semen anteriormente en la definición de "sORP en semen".

50 La expresión "un sORP en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sORP en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

60 La expresión "un sORP en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de sORP en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a un nivel de sORP que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión “un sORP en una muestra de semen inferior a un valor de referencia”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sORP en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización preferida, cualquier valor de referencia al que se hizo referencia anteriormente para un sORP en una muestra de semen es de 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1, 1,1, 1,2, 1,25, 0,27, 1,3, 10,31, 1,32, 1,33, 1,34, 1,35, 1,36, 1,37, 1,38, 1,39, 1,4, 1,41, 1,42, 1,43, 1,44, 1,45, 1,46, 1,47, 1,48, 1,49, 1,5, 1,51, 1,52, 1,53, 1,54, 1,55, 1,57, 1,6, 1,62, 1,65, 1,67, 1,7, 1,75, 1,8, 1,85, 1,9, 1,95, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,35, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,25, 6,5, 6,75, 7,0, 7,25, 7,5, 7,75, 8,0, 8,25, 8,5, 8,75, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0 mV/10⁶ espermatozoides/ml de semen, preferiblemente de 1,34 mV/10⁶ espermatozoides/ml de semen, más preferiblemente de 1,36 mV/10⁶ espermatozoides/ml de semen, incluso más preferiblemente de 1,48 mV/10⁶ espermatozoides/ml de semen.

En otra realización preferida, el valor de referencia para el sORP en una muestra de semen de un sujeto masculino es el sORP en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al sORP en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere a un sORP en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro “sORP en una muestra de semen” obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En otra realización, el valor de referencia para el sORP en una muestra de semen de un sujeto masculino es el sORP en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de un sujeto masculino considerado sano, preferiblemente de un sujeto masculino considerado fecundo. En otra realización, el valor de referencia para el sORP en una muestra de semen de un sujeto masculino es el sORP en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de sujetos masculinos diferentes considerados sanos, preferiblemente de sujetos masculinos diferentes considerados fecundos. La definición del término “fecundo” o “fecundidad” se proporciona en el segundo aspecto de la invención y se aplica al presente aspecto de la invención.

En otra realización particular, tal como se indicó anteriormente, el sORP en semen se refiere al sORP en un eyaculado o en muestra de semen. Por tanto, tal como entiende un experto en la técnica, el valor de referencia para el parámetro “sORP en semen” es intercambiable con el valor de referencia para el parámetro “sORP en una muestra de semen”. En una realización, el valor de referencia para el parámetro “sORP en semen” es cualquiera de los proporcionados anteriormente para el parámetro “sORP en una muestra de semen”.

Los términos “después del tratamiento” y “antes del tratamiento” se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, el número de espermatozoides vivos en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides vivos es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece necrozoospermia y el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen de dicho paciente después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides vivos es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, más preferiblemente el paciente padece necrozoospermia antes de dicho tratamiento y el porcentaje de espermatozoides

vivos en una muestra de semen de dicho paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o superior a un valor de referencia. Preferiblemente, el porcentaje de espermatozoides vivos es igual o superior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

La expresión "porcentaje de espermatozoides vivos" se ha proporcionado anteriormente. Se han proporcionado métodos para determinar el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra anteriormente en la definición de necrozoospermia.

La expresión "porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides vivos que es de menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a cualquier porcentaje de espermatozoides vivos que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión "porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización particular, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra es del 30 %, el 35 %, el 40 %, el 45 %, el 50 %, el 51 %, el 52 %, el 53 %, el 54 %, el 55 %, el 56 %, el 57 %, el 58 %, el 59 %, el 60 %, el 62 %, el 64 %, el 65 %, el 70 %, el 75 %, preferiblemente del 58 %. En una realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen es el LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, que es del 58 %.

En otra realización preferida, el valor de referencia para el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen de un sujeto masculino es el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere al porcentaje de espermatozoides vivos en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere al porcentaje de espermatozoides vivos en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen" obtenidos en cada una de dichas muestras. En otra realización, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

En una realización particular del primer aspecto de la invención, la concentración de leucocitos en una muestra de semen del paciente masculino después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. Preferiblemente, la concentración de leucocitos es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización preferida, el paciente masculino del uso médico de la invención es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece leucospermia y la concentración de leucocitos en una muestra de semen de dicho paciente masculino después del tratamiento al que se

hace referencia en el uso médico de la invención es igual o inferior a un valor de referencia. Preferiblemente, la concentración de leucocitos es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

En una realización determinada, el paciente masculino es tal como se define en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención antes del tratamiento al que se hace referencia en dicho aspecto de la invención, preferiblemente el paciente padece leucospermia antes de dicho tratamiento y la concentración de leucocitos en una muestra de semen de dicho paciente masculino después de dicho tratamiento es igual o inferior a un valor de referencia. Preferiblemente, la concentración de leucocitos es igual o inferior a un valor de referencia en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20 muestras, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del paciente masculino, después del tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención.

Se han proporcionado métodos para determinar la concentración de leucocitos en una muestra de semen anteriormente en la definición de leucospermia.

La expresión "concentración de leucocitos en una muestra de semen superior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier concentración de leucocitos en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que dicho valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

La expresión "concentración de leucocitos en una muestra de semen igual a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier concentración de leucocitos en muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % mayor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia. También se refiere a cualquier concentración de leucocitos en una muestra de semen que es menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 %, menos del 1 %, menos del 0,5 %, menos del 0,1 %, menos del 0,05 %, menos del 0,01 %, menos del 0,001 %, preferiblemente menos del 5 %, más preferiblemente menos del 2 %, aún más preferiblemente menos del 1 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % representa dicho valor de referencia.

La expresión "concentración de leucocitos en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una concentración de leucocitos en una muestra de semen que es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 90 % menor que su valor de referencia, en donde el 100 % corresponde a dicho valor de referencia.

En una realización particular, el valor de referencia para la concentración de leucocitos en una muestra de semen es de 1×10^5 , $2,5 \times 10^5$, 5×10^5 , $7,5 \times 10^5$, 1×10^6 , $1,25 \times 10^6$, $1,5 \times 10^6$, $1,75 \times 10^6$, 2×10^6 , $1,25 \times 10^6$, $2,5 \times 10^6$, $2,75 \times 10^6$, 3×10^6 , 5×10^6 leucocitos por ml de semen, preferiblemente de 1×10^6 leucocitos por ml de semen. En una realización preferida, el valor de referencia para la concentración de leucocitos en una muestra de semen corresponde al LRI establecido por la OMS en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, para la concentración total de leucocitos por ml de semen que es de 1×10^6 leucocitos por ml de semen o de $1,0 \times 10^6$ leucocitos positivos para peroxidasa por ml de semen.

En otra realización preferida, el valor de referencia para la concentración de leucocitos en una muestra de semen de un sujeto masculino es la concentración de leucocitos en una muestra de semen de dicho paciente masculino obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En otra realización preferida, se refiere a la concentración de leucocitos en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, más preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho paciente masculino, obtenidas antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. En una realización determinada, si el valor de referencia se refiere a la concentración de leucocitos en más de una muestra obtenida antes del inicio del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención, dicho valor de referencia corresponde a la media de los valores del parámetro "concentración de leucocitos" obtenidos en cada una de dichas muestras. En una realización determinada, cada una de dichas muestras se obtiene en un punto de tiempo diferente, antes de iniciar el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

En una realización particular, el tipo de leucocitos analizados en una muestra de semen son leucocitos polimorfonucleares. En este caso, el parámetro analizado es la concentración de leucocitos polimorfonucleares, en

lugar de la concentración de leucocitos en una muestra de semen. En este caso, también se aplica a todas las realizaciones proporcionadas anteriormente donde se usa la expresión "concentración de leucocitos en una muestra semen" sustituyendo la expresión "concentración de leucocitos" por "concentración de leucocitos polimorfonucleares". El valor de referencia para la concentración de leucocitos polimorfonucleares es de $0,5 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^5$, $2,5 \cdot 10^5$, $5 \cdot 10^5$, $7,5 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$, $1,25 \cdot 10^6$, $1,5 \cdot 10^6$, $1,75 \cdot 10^6$, $2 \cdot 10^6$, $1,25 \cdot 10^6$, $2,5 \cdot 10^6$, $2,75 \cdot 10^6$, $3 \cdot 10^6$, $5 \cdot 10^6$ leucocitos polimorfonucleares por ml de semen, preferiblemente de $5 \cdot 10^5$ leucocitos polimorfonucleares por ml de semen.

Los términos "después del tratamiento" y "antes del tratamiento" se han definido previamente.

- 10 En una realización preferida, el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención comprende la administración de la biomasa o de la composición farmacéutica del primer aspecto de la invención durante un determinado periodo de tiempo, a una determinada frecuencia y con una determinada dosis cada vez durante este periodo de tiempo.
- 15 En una realización particular, dicho periodo de tiempo es de al menos 7 días, al menos 15 días, al menos 20 días, al menos 25 días, al menos 30 días, al menos 35 días, al menos 40 días, al menos 50 días, al menos 60 días, al menos 65 días, al menos 70 días, al menos 75 días, al menos 80 días, al menos 85 días, al menos 90 días, al menos 95 días, al menos 100 días, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 1 año, al menos 1,5 años, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 5 años, al menos 10 años, preferiblemente de al menos 30 días (es decir, 1 mes), más preferiblemente de al menos 65 días, incluso más preferiblemente de al menos 70 días, aún más preferiblemente de al menos 90 días. Por tanto, en una realización particular, el tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención comprende la administración de la biomasa o de la composición farmacéutica a la que se hace referencia en el primer aspecto de la invención durante al menos 30 días (es decir, 1 mes). En otra realización particular, el tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención comprende la administración de la biomasa o de la composición farmacéutica a la que se hace referencia en el primer aspecto de la invención durante al menos 65 días. En otra realización particular, el tratamiento al que se hace referencia en el uso médico de la invención comprende la administración de la biomasa o de la composición farmacéutica a la que se hace referencia en el primer aspecto de la invención durante al menos 90 días (es decir, 3 meses).
- 20 En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día, preferiblemente durante cada día a lo largo de dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 2 días, preferiblemente a lo largo de dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 3 días, preferiblemente a lo largo de dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 4 días, preferiblemente a lo largo de dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 5 días, preferiblemente a lo largo de dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 6 días, preferiblemente a lo largo de dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 7 días, preferiblemente durante dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 10 días, preferiblemente durante dicho periodo de tiempo. En otra realización particular, dicha frecuencia es de al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces al día cada 2 semanas, preferiblemente durante dicho periodo de tiempo. En una realización preferida, dicha frecuencia es de una vez al día durante dicho periodo de tiempo. En una realización más preferida, dicha frecuencia es de una vez al día, preferiblemente cada día, durante todo el periodo del tratamiento, que es cualquiera de los periodos indicados anteriormente.
- 25 En una realización particular, cuando el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención comprende la administración de biomasa de *T. chuii* y dicha biomasa es una biomasa deshidratada, la dosis a la que se administra dicha biomasa es de 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1 g, 1,5 g, 2 g, 2,5 g, 3 g, 3,5 g, 4 g, 4,5 g, 5 g de biomasa deshidratada. En otra realización preferida, el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención comprende administrar 10-500 mg de biomasa deshidratada, más preferiblemente 500 mg, incluso más preferiblemente 250 mg de biomasa deshidratada de *T. chuii*. En una realización preferida, el tratamiento del primer aspecto de la invención comprende administrar 10-500 mg de biomasa deshidratada al día, preferiblemente 250 mg de biomasa deshidratada al día.
- 30 En otra realización particular, cuando dicha biomasa es una biomasa fresca, dicha dosis es de 2,5 mg, 3 mg, 4 mg,

5 mg, 6 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg, 200 mg, 210 mg, 220 mg, 230 mg, 240 mg, 250 mg, 260 mg, 270 mg, 280 mg, 290 mg, 290 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 625 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1 g, 1,25 g, 1,5 g, 1,7 g, 2 g, 2,1 g, 2,2 g, 2,3 g, 2,4 g, 2,5 g, 2,6 g, 2,7 g, 2,8 g, 2,9 g, 3 g, 3,25 g, g, 3,75 g, 4 g, 4,5 g, 5 g de biomasa fresca.

En una realización preferida, el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención comprende administrar 30 mg-4 g de biomasa fresca, preferiblemente 4 g, más preferiblemente 3 g, incluso más preferiblemente 40 mg, aún más preferiblemente 30 mg de biomasa fresca. En otra realización preferida, el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención comprende administrar 30 mg-4 g de biomasa fresca al día, preferiblemente 4 g, más preferiblemente 3 g, incluso más preferiblemente 40 mg, aún más preferiblemente 30 mg de biomasa fresca al día.

En una realización particular, cuando el tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención comprende la administración de una composición farmacéutica que comprende una biomasa fresca de *T. chuii*, se administra en una dosis que da como resultado la administración de dicha biomasa fresca en cualquiera de las cantidades indicadas anteriormente para la biomasa fresca. En otra realización particular, cuando dicha composición farmacéutica comprende la biomasa deshidratada de *T. chuii*, se administra en una dosis que da como resultado la administración de dicha biomasa deshidratada en cualquiera de las cantidades indicadas anteriormente para la biomasa deshidratada.

En una realización preferida, la biomasa o la composición farmacéutica a la que se hace referencia en el uso médico de la invención está en forma de comprimidos, cápsulas, suspensiones líquidas, polvo seco o una composición húmeda. Por tanto, en una realización preferida, la biomasa o la composición farmacéutica a la que se hace referencia en el uso médico de la invención se administra en cualquiera de dichas formas.

II- Método (aspecto no cubierto por la invención reivindicada)

La referencia al método del segundo aspecto de esta descripción debe interpretarse como una referencia a los compuestos y a las composiciones farmacéuticas para su uso en dicho método.

En un segundo aspecto, se da a conocer un método no terapéutico para aumentar la calidad del semen de un sujeto masculino que padece normozoospermia, que no padece hipospermia y que no padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de fragmentación del ADN espermático (SDF) superior a un valor de referencia, en el que el sujeto masculino no padece infecundidad, que comprende tratar el sujeto mediante la administración de una biomasa de *T. chuii*. En un aspecto particular, el sujeto masculino del segundo aspecto no padece un trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia. En otro aspecto particular, el sujeto masculino del segundo aspecto no padece un trastorno caracterizado por un sORP en semen superior a un valor de referencia. En un aspecto particular, el sujeto masculino del segundo aspecto no padece aspermia. En otro aspecto particular, el sujeto masculino del segundo aspecto no padece leucospermia. En otro aspecto particular, el sujeto masculino del segundo aspecto no padece necrozoospermia. En otro aspecto particular, el sujeto masculino del segundo aspecto padece normozoospermia, no padece hipospermia, no padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF superior a un valor de referencia, no padece un trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia, no padece un trastorno caracterizado por un sORP en semen superior a un valor de referencia, no padece aspermia, no padece leucospermia y no padece necrozoospermia.

La expresión "calidad del semen de un sujeto masculino", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la caracterización del semen de un sujeto masculino con respecto a cómo de excelente o bueno es para lograr la fecundación. La calidad del semen se determina midiendo diferentes parámetros del semen. Los ejemplos no limitativos de dichos parámetros incluyen: el número total de espermatozoides en una muestra de semen, la concentración de espermatozoides en una muestra de semen, el volumen de semen obtenido de un eyaculado, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen, el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen, la concentración de leucocitos en una muestra de semen, el porcentaje de SDF, el nivel de 8-OH-dG, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen o el sORP en una muestra de semen.

Las definiciones de "aspermia", "hipospermia", "leucospermia", "necrozoospermia", "espermatozoides morfológicamente normales", "espermatozoides con motilidad progresiva" "porcentaje de SDF", "nivel de 8-OH-dG en semen", "la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen", "el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen" así como "el sORP en semen" se han proporcionado en el primer aspecto de la invención y se aplican a este aspecto. Métodos para determinar el número total de espermatozoides en una muestra de semen, la concentración de espermatozoides en una muestra de semen, el volumen de semen obtenido de un eyaculado, el porcentaje de

espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen, el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen, la concentración de leucocitos en una muestra de semen, el porcentaje de SDF, el nivel de 8-OH-dG, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen o el sORP en una muestra de semen también se han proporcionado en el primer aspecto de la invención y se aplican a este aspecto.

La expresión "aumento de la calidad del semen de un sujeto masculino" o "aumentar la calidad del semen de un sujeto masculino" se refiere al aumento en la capacidad del semen de un sujeto masculino para lograr la fecundación en comparación con una muestra de semen de control de dicho sujeto masculino. Dicho aumento puede determinarse midiendo al menos un parámetro del semen en una muestra de semen de dicho sujeto masculino, en el que si al menos un parámetro del semen en dicha muestra de semen muestra una mejora con respecto a la muestra de semen de control, entonces se considera que la calidad del semen del sujeto masculino ha aumentado, es decir, la capacidad del semen del sujeto masculino para lograr la fecundación ha aumentado. Por tanto, "un método para aumentar la calidad del semen de un sujeto masculino", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un método para mejorar al menos un parámetro del semen en el semen de un sujeto masculino con respecto a una muestra de control.

En un aspecto preferido, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10 muestras, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino deben mostrar una mejora en al menos un parámetro del semen con respecto a una muestra de control para considerarse que la calidad del semen de dicho sujeto masculino ha mejorado. Por tanto, en un aspecto preferido, un método para aumentar la calidad del semen de un sujeto masculino, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un método para mejorar al menos un parámetro del semen en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10 muestras de semen, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino, con respecto a una muestra de control.

Se considera que un parámetro del semen en una muestra de semen de un sujeto masculino ha mejorado con respecto a una muestra de semen de control si el parámetro del semen es el número total de espermatozoides en una muestra de semen, el volumen de semen obtenido de un eyaculado, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen o el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen y el valor de dicho parámetro es mayor en la muestra de semen del sujeto masculino que el valor de dicho parámetro en la muestra de semen de control. También se considera que un parámetro del semen en una muestra de semen de un sujeto masculino ha mejorado con respecto a una muestra de semen de control si el parámetro es la concentración de leucocitos en una muestra de semen, el porcentaje de SDF en una muestra de semen, el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen, el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen o el sORP en una muestra de semen y el valor de dicho parámetro es menor en la muestra de semen del sujeto masculino que el valor de dicho parámetro en la muestra de control.

En un aspecto preferido, la expresión "el valor de dicho parámetro es mayor en la muestra de semen del sujeto masculino que el valor de dicho parámetro en la muestra de semen de control", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un valor de dicho parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 % mayor que en la muestra de semen de control. En un aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 25 % mayor que el valor del parámetro en la muestra de control. En otro aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 50 % mayor que el valor del parámetro en la muestra de control. En otro aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 100 % mayor que el valor del parámetro en la muestra de control. En otro aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 150 % mayor que el valor del parámetro en la muestra de control. En otro aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 200 % mayor que el valor del parámetro en la muestra de control.

En otro aspecto preferido, la expresión "el valor de dicho parámetro es menor en la muestra de semen del sujeto masculino que el valor de dicho parámetro en la muestra de control", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un valor de dicho parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 100 % menor que en la muestra de control. En un aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 25 % menor que el valor de dicho parámetro en la muestra de control. En un aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 50 % menor que el valor de dicho parámetro en la muestra de control. En un aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 80 % menor que el valor de dicho parámetro en la muestra de control. En un aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 90 % menor que el valor de dicho parámetro en la muestra de control. En un aspecto preferido, dicha expresión se refiere a un valor del parámetro en la muestra de semen del sujeto masculino al menos el 100 % menor que el valor de dicho parámetro en la muestra de control.

muestra de semen del sujeto masculino al menos el 100 % menor que el valor de dicho parámetro en la muestra de control.

5 En un aspecto determinado, cuando la muestra de control es un conjunto de muestras tal como se indica a continuación, el valor del parámetro del semen en la muestra de control es la media de los valores de dicho parámetro en cada una de las muestras del conjunto.

10 En un aspecto preferido, la muestra de control es una muestra de semen del sujeto masculino de este método, obtenida al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 7 horas, al menos 8 horas, al menos 9 horas, al menos 10 horas, al menos 11 horas, al menos 12 horas, al menos 18 horas, al menos 1 día, al menos 2 días, al menos 3 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 6 meses, al menos 9 meses, al menos 1 año, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años, al menos 5 años antes de llevar a cabo este método. En un aspecto preferido adicional, la muestra de control es una muestra de semen del sujeto masculino de este método obtenida preferiblemente al menos 1 mes, más preferiblemente al menos 1 semana, incluso más preferiblemente al menos 1 día, aún más preferiblemente al menos 1 hora antes de llevar a cabo este método.

20 En un aspecto determinado, la muestra de control es un conjunto de muestras de semen, preferiblemente 2, 3, 4 o 5, más preferiblemente 2 muestras de semen del sujeto masculino de este método. En un aspecto preferido, se obtienen en puntos de tiempo diferentes, seleccionados de los indicados anteriormente para la muestra de control. En este caso, dichas muestras se obtienen tal como se describe en cualquiera de las realizaciones proporcionadas en el primer aspecto de la invención para obtener las muestras de semen.

25 En un aspecto preferido, la muestra de control es de un sujeto que padece normozoospermia. En otro aspecto preferido, la muestra de control es de un sujeto que no padece un trastorno asociado con un porcentaje de SDF mayor que un valor de referencia, es decir, la muestra de control muestra un porcentaje de SDF menor que un valor de referencia. En otro aspecto particular, la muestra de control es de un sujeto que no padece hipospermia. En un aspecto particular, cuando la muestra de control es un conjunto de muestras de semen tal como se indicó anteriormente, cada una de dichas muestras son de un sujeto masculino que padece normozoospermia, que no padece hipospermia y/o que no padece un trastorno asociado con un porcentaje de SDF mayor que un valor de referencia, es decir, las muestras de control muestran un porcentaje de SDF menor que un valor de referencia.

35 En otro aspecto, la muestra de control es de un sujeto que no padece un trastorno asociado con un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia, es decir, la muestra de control muestra un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG menor que un valor de referencia. En otro aspecto particular, la muestra de control es de un sujeto que no padece un trastorno asociado con un sORP en semen superior a un valor de referencia, es decir, la muestra de control muestra un sORP menor que un valor de referencia. En otro aspecto particular, la muestra de control es de un sujeto que no padece necrozoospermia. En otro aspecto particular, la muestra de control es de un sujeto que no padece leucospermia. Tal como entiende un experto, la muestra de control es de un sujeto que no padece aspermia.

45 El término "normozoospermia", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una afección caracterizada porque el número total de espermatozoides y/o la concentración de espermatozoides, el porcentaje de PR y el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en el semen de un sujeto masculino es igual o superior al LRI correspondiente. La OMS establece en "WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen", 2010, quinta edición, que el LRI para:

- 50 - el número total de espermatozoides es de 39*10⁶ por eyaculado,
- la concentración de espermatozoides es de 15*10⁶ por ml,
- el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva es del 32 %, 55
- el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es del 4 %.

60 En un aspecto preferido, un sujeto padece normozoospermia cuando al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino muestran un número total de espermatozoides y/o una concentración de espermatozoides, un porcentaje de PR y un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales igual o superior a un valor de referencia correspondiente. En otro aspecto preferido, el valor de referencia para el número total de espermatozoides y/o la concentración de espermatozoides, el porcentaje de PR y el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es cualquiera de los proporcionados para cada uno de dichos parámetros en el primer aspecto de la invención.

Métodos para determinar el número total de espermatozoides, la concentración de espermatozoides, el porcentaje de PR y el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en el semen de un paciente masculino o en una muestra de semen se proporcionan en el primer aspecto de la invención en la definición de "oligozoospermia" "astenospermia" y "teratozoospermia", y se aplican a este aspecto.

En un aspecto preferido, el valor de referencia del porcentaje de SDF al que se hace referencia en este aspecto es cualquiera de los valores de referencia proporcionados para dicho parámetro en el primer aspecto de la invención. Métodos para determinar el porcentaje de SDF en el semen de un paciente masculino o en una muestra de semen se proporcionan en el primer aspecto de la invención en la definición de "porcentaje de SDF".

En otro aspecto preferido, el valor de referencia para el nivel de 8-OH-dG, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen o en una muestra de semen al que se hace referencia en este aspecto es cualquiera de los valores de referencia proporcionados para dicho parámetro en el primer aspecto de la invención. Métodos para determinar el nivel de 8-OH-dG, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en el semen de un paciente masculino o en una muestra de semen se proporcionan en el primer aspecto de la invención en la definición "nivel de 8-OH-dG en semen", "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen" o "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen", respectivamente.

En un aspecto preferido, el valor de referencia del sORP al que se hace referencia en este aspecto es cualquiera de los valores de referencia proporcionados para dicho parámetro en el primer aspecto de la invención. Métodos para determinar el sORP en el semen de un paciente masculino o en una muestra de semen se proporcionan en el primer aspecto de la invención en relación con la definición de "sORP en semen".

En otro aspecto preferido, el sujeto masculino de este aspecto es fecundo.

El término "fecundidad", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una afección del aparato reproductor definida por la capacidad para lograr un embarazo clínico en el plazo de 12 meses o menos de relaciones sexuales sin protección regular. La expresión "fecundidad masculina", tal como se usa en el presente documento, se refiere a fecundidad de un sujeto masculino. Tal como entiende un experto en la técnica, un sujeto masculino que se muestra que es fecundo está caracterizado preferiblemente por no mostrar ninguna alteración que conduzca a infecundidad, en particular, una deficiencia en cualquier parámetro del semen. Dichos parámetros del semen incluyen el número total de espermatozoides, la concentración de espermatozoides, el volumen de semen de un eyaculado, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva, el porcentaje de espermatozoides vivos, la concentración de leucocitos, el porcentaje de SDF, el nivel de 8-OH-dG, la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG o el nivel de sORP. Tal como entenderá un experto en la técnica, una muestra de semen de un sujeto masculino que se considera que es fecundo muestra preferiblemente un número y/o una concentración de espermatozoides, un volumen de semen por eyaculado, un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales, un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva y un porcentaje de espermatozoides vivos iguales a o mayores que un valor de referencia. Además, una muestra de semen de un sujeto masculino que se considera que es fecundo muestra preferiblemente una concentración de leucocitos, un porcentaje de SDF, un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG, un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG y un nivel de sORP igual a o menor que un valor de referencia. Por tanto, en un aspecto particular, una muestra de semen del sujeto masculino de este método muestra un número total de espermatozoides, una concentración de espermatozoides, un volumen de semen por eyaculado, un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales, un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva y un porcentaje de espermatozoides vivos iguales a o mayores que un valor de referencia. Además, una muestra de semen de un sujeto masculino que se considera que es fecundo muestra preferiblemente una concentración de leucocitos, un porcentaje de SDF, un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG, un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG y un nivel de sORP iguales a o menores que un valor de referencia.

En un aspecto preferido, cuando un sujeto masculino es fecundo, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto muestran un número total de espermatozoides, una concentración de espermatozoides, un volumen de semen por eyaculado, un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales, un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva y un porcentaje de espermatozoides vivos iguales a o mayores que un valor de referencia y una concentración de leucocitos, un porcentaje de SDF, un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8OH-dG/10⁵ dG, un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG y un nivel de sORP iguales a o menores que un valor de referencia.

Las expresiones "un número total de espermatozoides en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "una concentración de espermatozoides en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "un porcentaje de SDF en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen superior a un valor de

referencia", "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "sORP superior a un valor de referencia", "concentración de leucocitos en una muestra de semen superior a un valor de referencia" y "porcentaje de espermatozoides vivos inferior a un valor de referencia en una muestra de semen" se han definido y descrito anteriormente en realizaciones diferentes en el primer aspecto de la invención y dichas definiciones y realizaciones se aplican a este aspecto.

La expresión "un número total de espermatozoides en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "una concentración de espermatozoides en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "un porcentaje de SDF en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen igual a un valor de referencia", "sORP igual a un valor de referencia", "concentración de leucocitos en una muestra de semen igual a un valor de referencia" y "porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen igual a un valor de referencia" se han definido y descrito anteriormente en realizaciones diferentes en el primer aspecto de la invención y dichas definiciones y realizaciones se aplican a este aspecto.

La expresión "un número total de espermatozoides en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "una concentración de espermatozoides en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "un porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "un volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen superior a un valor de referencia", "un porcentaje de SDF en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "un nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen inferior a un valor de referencia", "sORP inferior a un valor de referencia", "concentración de leucocitos en una muestra de semen inferior a un valor de referencia" y "porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen superior a un valor de referencia" se han definido y descrito anteriormente en realizaciones diferentes en el primer aspecto de la invención y dichas definiciones y realizaciones se aplican a este aspecto.

En un aspecto preferido, el valor de referencia para el número total de espermatozoides en una muestra de semen, para la concentración de espermatozoides en una muestra de semen, para el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen, para el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen, para el volumen de semen por eyaculado en una muestra de semen, para el porcentaje de SDF en una muestra de semen, para el nivel de 8-OH-dG en una muestra de semen, para la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en una muestra de semen, para el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en una muestra de semen, para el nivel de sORP en una muestra de semen, para la concentración de leucocitos en una muestra de semen y para el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen son los especificados en el primer aspecto de la invención para el parámetro correspondiente.

El término "tratar", tal como se usa en este aspecto, se refiere a la administración de un tratamiento tal como se define en el primer aspecto de la invención y tal como se describe en cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, en el que dicho tratamiento no es terapéutico. Por tanto, tal como entiende un experto en la técnica, el tratamiento de este aspecto aplicado a un sujeto masculino es el descrito en el primer aspecto de la invención, en el que no está tratándose, ni va a tratarse, ninguna enfermedad ni ningún trastorno en el sujeto masculino con dicho tratamiento, tal como infertilidad o cualquier trastorno del semen.

En un aspecto determinado, el número y/o la concentración de espermatozoides en una muestra de semen del sujeto masculino de este método, obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es mayor que en una muestra de semen de dicho sujeto masculino obtenida antes de dicho tratamiento.

En un aspecto preferido, el número y/o la concentración de espermatozoides en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del sujeto masculino de este método, obtenidas después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es mayor que en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente que en al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino obtenidas antes de dicho tratamiento.

En un aspecto determinado, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen del sujeto masculino de este método, obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es mayor que en una muestra de semen de dicho sujeto masculino obtenida antes de dicho tratamiento.

En un aspecto preferido, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en

al menos 2 muestras de semen del sujeto masculino de este método, obtenidas después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es menor que en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente que en al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino obtenidas antes de dicho tratamiento.

5 En un aspecto determinado, el sORP en una muestra de semen del sujeto masculino de este método, obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es menor que en una muestra de semen de dicho sujeto masculino obtenida antes de dicho tratamiento.

10 En un aspecto preferido, el sORP en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del sujeto masculino de este método, obtenidas después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es menor que en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente que en al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino obtenidas antes de dicho tratamiento.

15 En un aspecto determinado, la concentración de leucocitos en una muestra de semen del sujeto masculino de este método, obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es menor que en una muestra de semen de dicho sujeto masculino obtenida antes de dicho tratamiento.

20 En un aspecto preferido, la concentración de leucocitos en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del sujeto masculino de este método, obtenidas después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es menor que en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente que en al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino obtenidas antes de dicho tratamiento.

25 En un aspecto determinado, el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra de semen del sujeto masculino de este método, obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es mayor que en una muestra de semen de dicho sujeto masculino obtenida antes de dicho tratamiento.

30 En un aspecto preferido, el porcentaje de espermatozoides vivos en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente en al menos 2 muestras de semen del sujeto masculino de este método, obtenidas después del tratamiento al que se hace referencia en dicho método, es mayor que en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, preferiblemente que en al menos 2 muestras de semen de dicho sujeto masculino obtenidas antes de dicho tratamiento.

35 En un aspecto determinado, la expresión "es mayor que en una muestra de semen de dicho sujeto masculino obtenida antes de dicho tratamiento" cuando se hace referencia al parámetro "el número de espermatozoides", "la concentración de espermatozoides", "el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva", "el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales", "el volumen de semen por eyaculado", "el porcentaje de espermatozoides vivos" en una muestra de semen obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en este método se entiende como que el valor del parámetro correspondiente en la muestra de semen más reciente es al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, al menos el 150 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, al menos el 600 %, al menos el 800 % o al menos el 1000 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 %, aún más preferiblemente al menos el 150 % mayor que el valor de dicho parámetro en la(s) muestra(s) de semen obtenida(s) antes del tratamiento.

40 En un aspecto determinado, la expresión "es menor que en una muestra de semen de dicho sujeto masculino obtenida antes de dicho tratamiento" cuando se hace referencia al parámetro "el porcentaje de SDF", "el nivel de 8-OH-dG", "la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG", "el porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG", "el sORP" y "la concentración de leucocitos" en una muestra de semen obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en este método se entiende como que el valor del parámetro correspondiente en la muestra de semen más reciente es al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 100 %, preferiblemente al menos el 25 %, más preferiblemente al menos el 50 %, incluso más preferiblemente al menos el 100 % menor que el valor de dicho parámetro en la(s) muestra(s) de semen obtenida(s) antes de dicho tratamiento.

45 En un aspecto determinado, la muestra obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtiene al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 7 horas, al menos 8 horas, al menos 9 horas, al menos 10 horas, al menos 11 horas, al menos 12 horas, al menos 18 horas, al menos 1 día, al menos 2 días, al menos 3 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 6 meses, al menos 9 meses, al menos 1 año, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años, al menos

5 años después de dicho tratamiento. En un aspecto preferido adicional, la muestra obtenida después del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtiene al menos 1 mes, más preferiblemente al menos 1 semana, incluso más preferiblemente al menos 1 día, aún más preferiblemente al menos 1 hora después de dicho tratamiento.

- 5 En un aspecto determinado, las muestras obtenidas después del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtienen al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 7 horas, al menos 8 horas, al menos 9 horas, al menos 10 horas, al menos 11 horas, al menos 12 horas, al menos 18 horas, al menos 1 día, al menos 2 días, al menos 3 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses,
- 10 al menos 6 meses, al menos 9 meses, al menos 1 año, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años, al menos 5 años después de dicho tratamiento. En un aspecto preferido adicional, las muestras obtenidas después del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtienen al menos 1 mes, más preferiblemente 1 semana, incluso más preferiblemente 1 día, aún más preferiblemente al menos 1 hora después de dicho tratamiento.
- 15 En un aspecto determinado, la muestra obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtiene al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 7 horas, al menos 8 horas, al menos 9 horas, al menos 10 horas, al menos 11 horas, al menos 12 horas, al menos 18 horas, al menos 1 día, al menos 2 días, al menos 3 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses,
- 20 6 meses, al menos 9 meses, al menos 1 año, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años, al menos 5 años antes de dicho tratamiento. En un aspecto preferido adicional, la muestra obtenida antes del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtiene al menos 1 mes, más preferiblemente al menos 1 semana, incluso más preferiblemente al menos 1 día, aún más preferiblemente al menos 1 hora antes de dicho tratamiento.
- 25 En un aspecto determinado, las muestras obtenidas antes del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtienen al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 3 horas, al menos 4 horas, al menos 5 horas, al menos 6 horas, al menos 7 horas, al menos 8 horas, al menos 9 horas, al menos 10 horas, al menos 11 horas, al menos 12 horas, al menos 18 horas, al menos 1 día, al menos 2 días, al menos 3 días, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses,
- 30 al menos 6 meses, al menos 9 meses, al menos 1 año, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años, al menos 5 años antes de dicho tratamiento. En un aspecto preferido adicional, las muestras obtenidas antes del tratamiento al que se hace referencia en este método se obtienen al menos 1 mes, más preferiblemente al menos 1 semana, incluso más preferiblemente al menos 1 día, aún más preferiblemente al menos 1 hora antes de dicho tratamiento.
- 35 En un aspecto particular, la biomasa de *T. chuii* a la que se hace referencia en este método está deshidratada. En otro aspecto particular, la biomasa de *T. chuii* a la que se hace referencia en este método es fresca.

Las definiciones de "biomasa fresca de *T. chuii*" y "biomasa deshidratada de *T. chuii*" se han proporcionado en el primer aspecto de la invención y se aplican a este aspecto.

- 40 Tal como se indicó anteriormente, el tratamiento al que se hace referencia en este método es como el tratamiento del primer aspecto de la invención, aunque no es terapéutico, y las realizaciones proporcionadas en el primer aspecto de la invención en relación con el tratamiento del primer aspecto de la invención se aplican al tratamiento de este aspecto, siempre que dicho tratamiento no sea terapéutico. Por tanto, en un aspecto particular, el tratamiento al que se hace
- 45 referencia en este método comprende administrar 10-500 mg al día, preferiblemente 250 mg al día de biomasa deshidratada. En otro aspecto particular, comprende administrar 30 mg-4 g de biomasa fresca al día, preferiblemente 4 g, más preferiblemente 3 g, incluso más preferiblemente 40 mg, aún más preferiblemente 30 mg de biomasa fresca al día.

- 50 En otro aspecto preferido, el tratamiento al que se hace referencia en este aspecto comprende la administración de la biomasa tal como se define en el presente documento durante al menos 30 días (es decir, 1 mes). En otro aspecto preferido, el tratamiento al que se hace referencia en este aspecto comprende la administración de la biomasa tal como se define en el presente documento durante al menos 65 días. En otro aspecto, el tratamiento al que se hace
- 55 referencia en este aspecto comprende la administración de la biomasa tal como se define en el presente documento durante al menos 70 días. En otro aspecto, el tratamiento al que se hace referencia en este aspecto comprende la administración de la biomasa tal como se define en el presente documento durante al menos 90 días.

Todos los términos y las realizaciones descritos en el primer aspecto de la invención son igualmente aplicables a este aspecto.

60 III- Uso (aspecto no cubierto por la invención reivindicada)

La referencia al uso del tercer aspecto de esta descripción debe interpretarse como una referencia a los compuestos y a las composiciones farmacéuticas para su uso en dicho uso.

- 65 En un tercer aspecto, se da a conocer un uso de una biomasa de *T. chuii* como complemento oral para aumentar la

calidad del semen de un sujeto masculino que padece normozoospermia, que no padece hipospermia y que no padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF en una muestra de semen superior a un valor de referencia, en el que el sujeto masculino no padece infertilidad. En otro aspecto particular, el sujeto de este aspecto no padece un trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia. En otro aspecto particular, el sujeto de este aspecto no padece un trastorno caracterizado por un sORP en semen superior a un valor de referencia. En un aspecto particular, el sujeto de este aspecto no padece aspermia. En un aspecto particular, el sujeto de este aspecto no padece leucospermia. En otro aspecto particular, el sujeto de este aspecto no padece necrozoospermia. En otro aspecto particular, el sujeto de este aspecto padece normozoospermia, no padece hipospermia, no padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de SDF en una muestra de semen superior a un valor de referencia, no padece un trastorno caracterizado por un nivel de 8-OH-dG, una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG o un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia, no padece un trastorno caracterizado por un nivel de sORP en semen superior a un valor de referencia, no padece aspermia, no padece leucospermia y no padece necrozoospermia.

La expresión “complemento oral”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier producto que se proporciona junto con la dieta de un sujeto y que se administra por vía oral. Un complemento oral puede adoptar formas muy diferentes, incluidos comprimidos, cápsulas, suspensiones líquidas, polvo seco, composición húmeda, alimentación por sonda seca o alimentación por sonda húmeda. En un aspecto preferido, el complemento oral comprende o consiste en la biomasa de *T. chuii* o la composición farmacéutica tal como se define y describe en cualquier realización en el primer aspecto de la invención. En otro aspecto preferido, el complemento oral, la biomasa de *T. chuii* a la que se hace referencia en este uso, se administra tal como se indica en cualquier realización del primer aspecto de la invención para la administración de la biomasa de *T. chuii* o de la composición farmacéutica comprendida dentro del tratamiento al que se hace referencia en el primer aspecto de la invención. Por tanto, en un aspecto particular, el complemento oral, la biomasa de *T. chuii* a la que se hace referencia en este uso, se administra durante el periodo de tiempo, a la frecuencia y a la dosis indicados en cualquier realización del primer aspecto de la invención que especifique el periodo de tiempo, la frecuencia y la dosis de administración de la biomasa o de la composición farmacéutica a la que se hace referencia en el primer aspecto de la invención.

Las expresiones “calidad del semen de un sujeto masculino” y “aumentar la calidad del semen de un sujeto masculino” son tal como se definen y describen en el segundo aspecto.

La definición de los términos “normozoospermia”, “hipospermia”, “porcentaje de SDF”, “aspermia”, “leucospermia”, “necrozoospermia”, “nivel de 8-OH-dG en semen”, “razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen”, “porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG” y “nivel de sORP en semen” también se ha proporcionado en los aspectos primero y segundo y se aplica a este aspecto.

La expresión “un porcentaje de SDF superior a un valor de referencia” es tal como se define y describe en cualquier aspecto de los aspectos primero y segundo.

En un aspecto preferido, el valor de referencia del porcentaje de SDF es cualquiera de los indicados en el primer aspecto de la invención.

La expresión “un nivel de 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia” es tal como se define y describe en cualquier realización de los aspectos primero y segundo.

En un aspecto preferido, el valor de referencia del nivel de 8-OH-dG en semen es cualquiera de los indicados en el primer aspecto de la invención.

La expresión “una razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen superior a un valor de referencia” es tal como se define y describe en cualquier realización de los aspectos primero y segundo.

En un aspecto preferido, el valor de referencia de la razón de 8-OH-dG/10⁵ dG en semen es cualquiera de los indicados en el primer aspecto de la invención.

La expresión “un porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen superior a un valor de referencia” es tal como se define y describe en cualquier realización de los aspectos primero y segundo.

En un aspecto preferido, el valor de referencia del porcentaje de células espermáticas positivas para 8-OH-dG en semen es cualquiera de los indicados en el primer aspecto de la invención.

La expresión “un sORP en semen superior a un valor de referencia” es tal como se define y describe en cualquier realización de los aspectos primero y segundo.

En un aspecto preferido, el valor de referencia del sORP en semen es cualquiera de los indicados en el primer aspecto de la invención.

En un aspecto particular, el sujeto masculino del tercer aspecto es como el sujeto masculino del segundo aspecto. En un aspecto preferido, el sujeto masculino de este aspecto es fecundo.

- 5 La expresión “fecundo” es tal como se define y describe en el segundo aspecto.

En un aspecto determinado, todos los términos y las realizaciones descritos en los aspectos primero y segundo son igualmente aplicables a este aspecto.

- 10 En un aspecto determinado, los términos “que comprende” y “que consiste en” usados en los aspectos primero, segundo y tercero son intercambiables.

La invención se describirá por medio de los siguientes ejemplos que deben considerarse simplemente ilustrativos y no limitativos del alcance de la invención.

15

Ejemplos

Materiales y métodos

- 20 Se reclutaron un total de 20 individuos que padecían oligozoospermia, astenozoospermia y/o teratozoospermia idiopática (según un primer análisis completo de semen). Cada uno de estos estados se definió según los parámetros de la Organización Mundial de la Salud (OMS) descritos en “WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen” (quinta edición, 2010). Más específicamente, la nomenclatura oligozoospermia se refiere a un número total (o una concentración, dependiendo del resultado notificado) de espermatozoides inferior al límite de referencia inferior (LRI), 39×10^6 espermatozoides por eyaculado (o 15×10^6 espermatozoides/ml si se notifica la concentración). Con respecto a la astenozoospermia, se produce cuando el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (PR) es inferior al LRI (32 %). Finalmente, la teratozoospermia se diagnostica cuando el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es inferior al LRI (4 %). En relación con esta nomenclatura, PR se refiere a espermatozoides que se mueven activamente, ya sea linealmente o en un gran círculo, independientemente de la velocidad; y para un espermatozoide que se considera morfológicamente normal: i) cabeza: debe ser lisa, con contornos regulares y de forma generalmente ovalada. Debe haber una región acrosómica bien definida que comprende el 40-70 % del área de cabeza. La región acrosómica no debe contener vacuolas grandes ni más de dos vacuolas pequeñas, que no deben ocupar más del 20 % de la cabeza del espermatozoide. La región posacrosómica no debe contener ninguna vacuola; ii) parte central: debe ser delgada, regular y de aproximadamente la misma longitud que la cabeza del espermatozoide. El eje principal de la parte central debe estar alineado con el eje principal de la cabeza del espermatozoide. El citoplasma residual se considera una anomalía sólo cuando está en exceso, es decir, cuando supera un tercio del tamaño de la cabeza del espermatozoide; iii) parte principal: debe tener un calibre uniforme a lo largo de su longitud, ser más delgada que la parte central y ser de aproximadamente $45 \mu\text{m}$ de longitud (aproximadamente 10 veces la longitud de la cabeza). Puede enrollarse sobre sí misma, siempre que no haya ningún ángulo agudo indicativo de una rotura flagelar.

- 45 Se recogieron muestras de semen justo antes del comienzo del tratamiento ($t = 0$) y después de 3 meses de tratamiento ($t = 3$ meses) con complementación dietética con *Tetraselmis chuii* (250 mg/día), siguiendo el procedimiento convencional descrito por la OMS (2010). Se cuantificaron varios parámetros en esas muestras en ambos puntos de muestreo: i) volumen de semen (VOL; ml), ii) concentración de espermatozoides (CONC; 10^6 por ml), iii) número total de espermatozoides (NUM; 10^6 por eyaculado), iv) PR (%) y v) morfología de espermatozoides (MORF; formas normales, %). Todos estos parámetros se determinaron siguiendo las pautas y los protocolos proporcionados por la OMS (2010).

50 Análisis estadístico

- En primer lugar, se determinaron los parámetros estadísticos descriptivos (media y EEM) para cada parámetro. Luego, se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para datos emparejados con el fin de determinar las diferencias estadísticamente significativas de los datos registrados antes y después de la complementación con *T. chuii*. Se aceptó la significación para $p < 0,05$. Todos los análisis se llevaron a cabo con el software Prism 6.

Resultados

Ejemplo 1

60

Volumen de semen (VOL)

- Tal como se muestra en la figura 1, se observó un aumento estadísticamente muy significativo en VOL después de tres meses de complementación con *T. chuii*. El parámetro VOL alcanzó un valor medio de 3,09 ml, que representa un aumento cercano al 35 % en relación con el valor medio observado al comienzo del ensayo (2,29 ml).

65

Cuando los participantes en el ensayo se clasificaron con respecto al LRI establecido por la OMS para este parámetro (figura 2), se halló que el 90 % de los mismos presentaban valores mayores que el LRI en $t=0$, pero después de completarse el ensayo, todos los valores registrados (100 %) fueron mayores que el LRI.

5 Ejemplo 2

Concentración de espermatozoides (CONC)

10 También se observó un aumento estadísticamente muy significativo en el parámetro CONC después de tres meses de complementación con *T. chuii* (figura 3). En realidad, el valor medio fue de $17,16 \times 10^6$ espermatozoides/ml, que representa un aumento de ~86 % en relación con el valor medio inicial registrado en $t=0$ ($9,22 \times 10^6$ espermatozoides/ml). De manera importante, tal valor medio después de 3 meses de complementación dietética con *T. chuii* fue mayor (14,4 %) que el LRI establecido por la OMS (15×10^6 espermatozoides/ml).

15 En este caso, los efectos de la complementación con *T. chuii* fueron drásticamente positivos al observar la clasificación individual según el LRI proporcionado por la OMS. Ningún participante presentaba un valor > LRI en $t=0$, es decir, el 100 % presentaban oligozoospermia, pero este porcentaje disminuyó hasta el 50 % después de 3 meses de ingesta de *T. chuii*.

20 Ejemplo 3

Número total de espermatozoides en eyaculado (NUM)

25 La figura 5 resume los resultados obtenidos en el ensayo. Se detectó un aumento fuertemente significativo en NUM como consecuencia de la complementación con *T. chuii*. Mientras que en $t=0$ el valor medio fue de $22,20 \times 10^6$ espermatozoides por eyaculado, después de 3 meses de ingesta diaria de *T. chuii*, el valor medio registrado fue de $52,75 \times 10^6$ espermatozoides por eyaculado, que representa un aumento de ~238 % en relación con el valor inicial. Además, con respecto al LRI propuesto por la OMS para este parámetro, el cambio observado fue drástico: en $t=0$, el valor medio fue significativamente menor que el LRI (representaba sólo el 57 % de este valor de referencia), mientras que después de 3 meses de consumo de *T. chuii*, el valor medio fue ~35 % mayor que el LRI.

30 Nuevamente, se observaron resultados impresionantes con respecto a la distribución de participantes en el ensayo según el LRI establecido por la OMS para el parámetro NUM. Tal como se muestra en la figura 6, sólo 1 individuo (5 %) presentaba un valor para NUM > LRI, es decir, el 95 % de los mismos (19 de 20) presentaban oligozoospermia. Pero después del consumo de *T. chuii* durante 3 meses, el porcentaje de participantes con oligozoospermia disminuyó hasta el 35 %.

Ejemplo 4

Motilidad progresiva (PR)

40 Tal como se observa con los parámetros anteriores, también se detectó un aumento estadísticamente significativo en PR después del consumo de *T. chuii* durante 3 meses (figura 7). El valor medio promedio cambió desde el 26,1 % al comienzo del ensayo hasta el 32,85 % al final, que representa un aumento neto del 25,9 % en este parámetro. Además, cabe destacar que el valor medio final después de 3 meses de complementación con *T. chuii* fue incluso ligeramente mayor que el LRI proporcionado por la OMS para PR (32 %).

50 Al abordar la clasificación de participantes en relación con el LRI proporcionado por la OMS para PR (figura 8), el 75 % de los mismos presentaban astenoospermia en $t=0$ (ya que sólo el 25 % presentaban un valor > LRI), pero este porcentaje disminuyó hasta el 55 % como consecuencia de la complementación con *T. chuii* durante 3 meses (45 % de participantes con un valor > LRI).

Ejemplo 5

Formas normales (MORF)

60 Tal como se presenta en la figura 9, a diferencia de todos los parámetros anteriores ya descritos, no se detectaron cambios estadísticamente significativos en los valores medios registrados tanto al comienzo (6,65 %) como al final (6,45 %) del ensayo. Además, ambos valores medios fueron mayores que el LRI proporcionado por la OMS (4 %) para este parámetro.

65 Sin embargo, al abordar la distribución de participantes en relación con el LRI, se observó que el 35 % presentaban teratoospermia en $t=0$ (es decir, el 65 % presentaban un valor > LRI), pero este porcentaje de individuos con teratoospermia disminuyó hasta el 10 % (presentando el 90 % de individuos un valor > LRI) al final del ensayo (figura 10).

Ejemplo 6**Normozoospermia**

- 5 Según la OMS (2010), un individuo con normozoospermia tiene un número total (o una concentración, en función del resultado notificado) de espermatozoides, y porcentajes de espermatozoides con motilidad progresiva (PR) y espermatozoides morfológicamente normales (NF), iguales o superiores a los LRI. Por tanto, se revela que este estado de normozoospermia es relevante para el análisis ya que engloba parámetros importantes de la calidad del semen. Tal como se muestra en la figura 11, ningún individuo incluido en el ensayo presentaba normozoospermia en t=0 (tal como se describe en la introducción, los individuos se incluyeron en el estudio porque presentaban oligozoospermia, astenoospermia y/o teratoospermia). Pero después de 3 meses de consumo de *T. chuii*, el porcentaje de participantes con normozoospermia aumentó hasta el 30 % (6 de 20 individuos).
- 10

Conclusiones

- 15 Todos los datos considerados, los resultados obtenidos con la complementación con *T. chuii* (250 mg/día durante 3 meses) revelaron una respuesta positiva estadísticamente significativa en el valor medio de 4 de los 5 parámetros analizados en las muestras de semen. Al abordar los porcentajes de individuos clasificados según los LRI (proporcionados por la OMS, 2010) en cada uno de esos parámetros, se obtuvo un resultado positivo en todos los casos. Por tanto, la administración de la microalga *T. chuii* mejora la calidad del semen en hombres infecundos que tienen parámetros del semen anómalos.
- 20

REIVINDICACIONES

1. Biomasa de *Tetraselmis chuii* (*T. chuii*) o composición farmacéutica que comprende la biomasa de *T. chuii* para su uso en el tratamiento de infecundidad en un paciente masculino.
2. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en la que el paciente padece oligozoospermia o azoospermia.
3. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que el número total y/o la concentración de espermatozoides en una muestra de semen del paciente después del tratamiento es igual o superior a un valor de referencia.
4. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el paciente padece astenozoospermia.
5. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva en una muestra de semen del paciente después del tratamiento es igual o superior a un valor de referencia.
6. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el paciente padece teratozoospermia.
7. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales en una muestra de semen del paciente después del tratamiento es igual o superior a un valor de referencia.
8. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que el paciente padece un trastorno caracterizado por un porcentaje de fragmentación de ADN espermático (SDF) superior a un valor de referencia.
9. Biomasa o composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que el porcentaje de SDF en una muestra de semen del paciente después del tratamiento es igual o inferior a un valor de referencia.

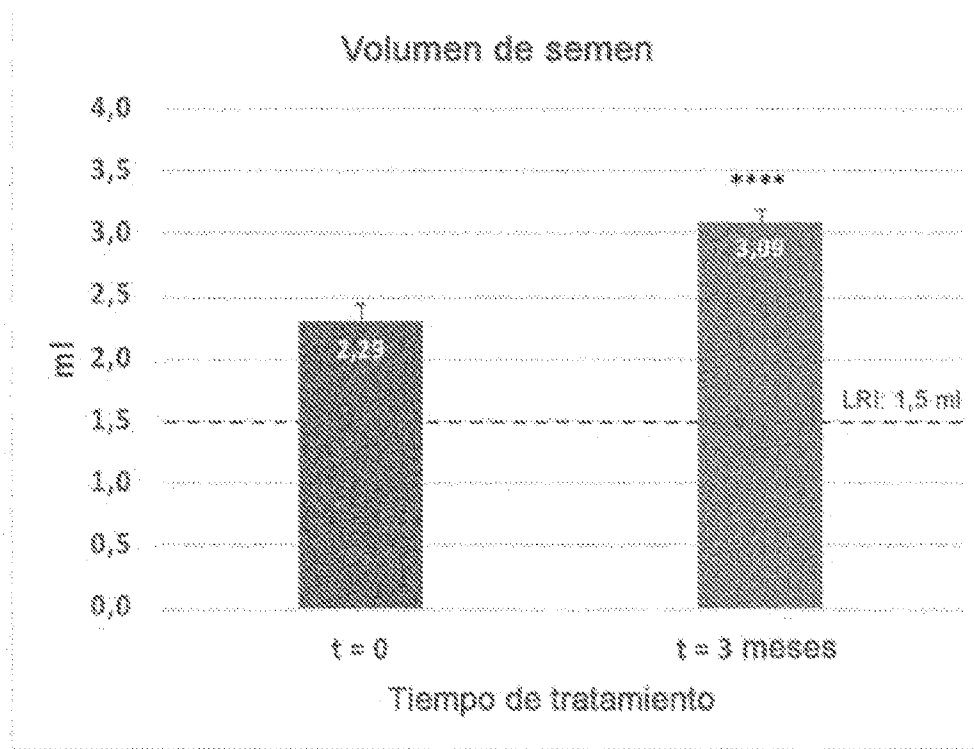


FIG. 1

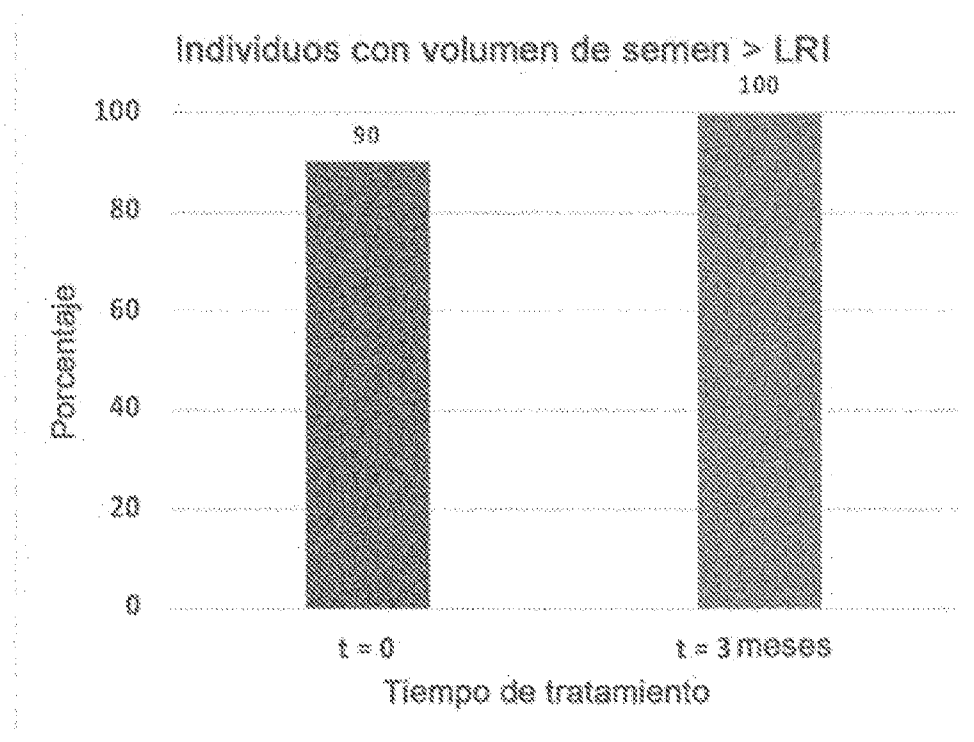


FIG. 2

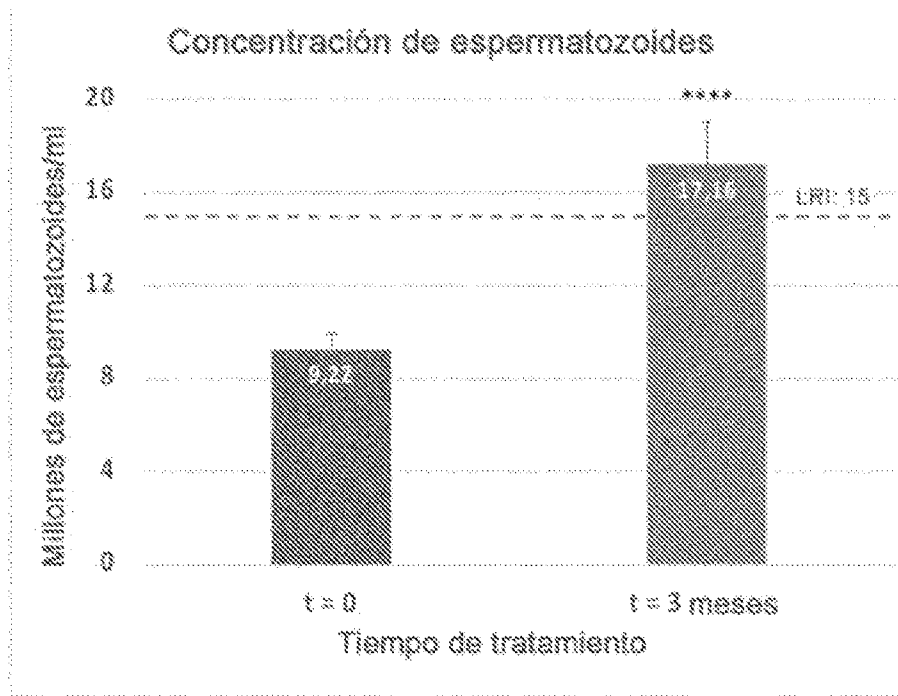


FIG. 3

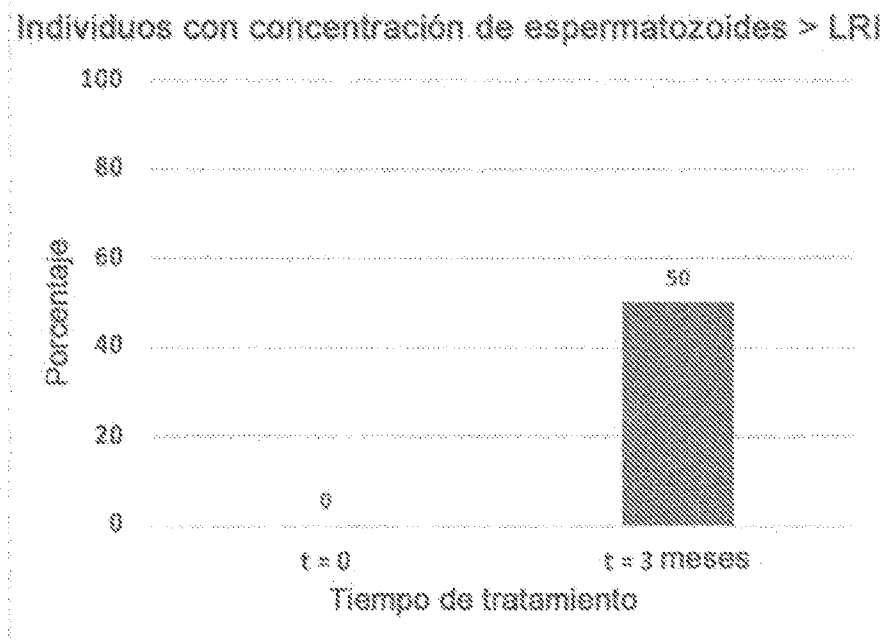


FIG. 4

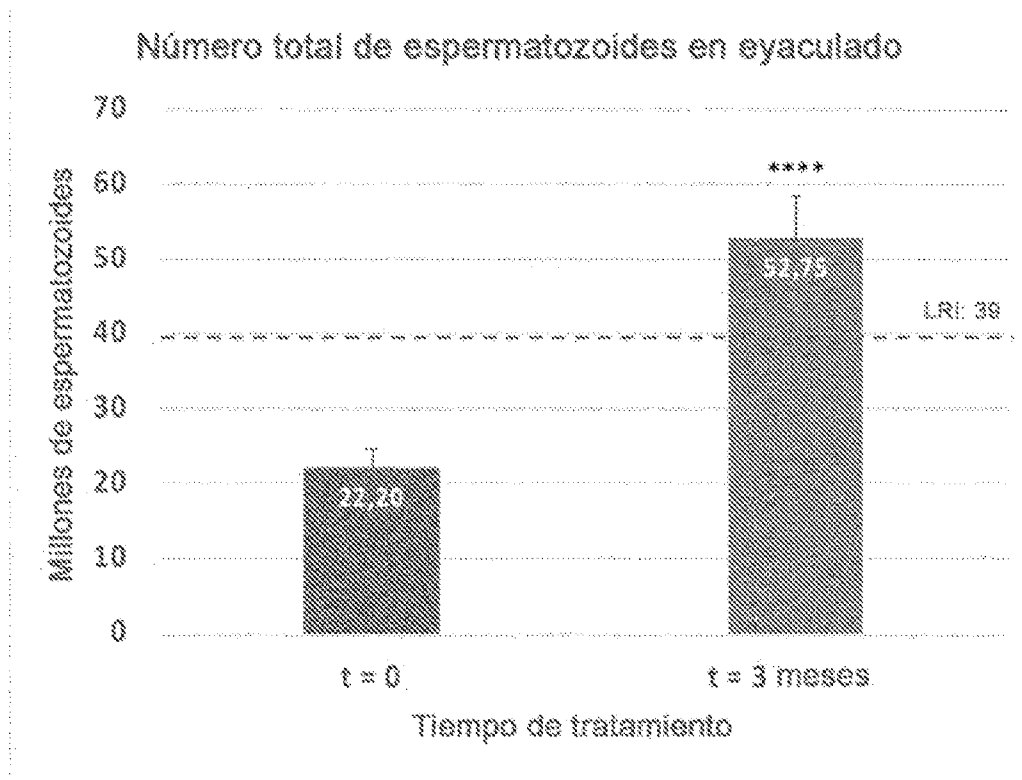


FIG. 5

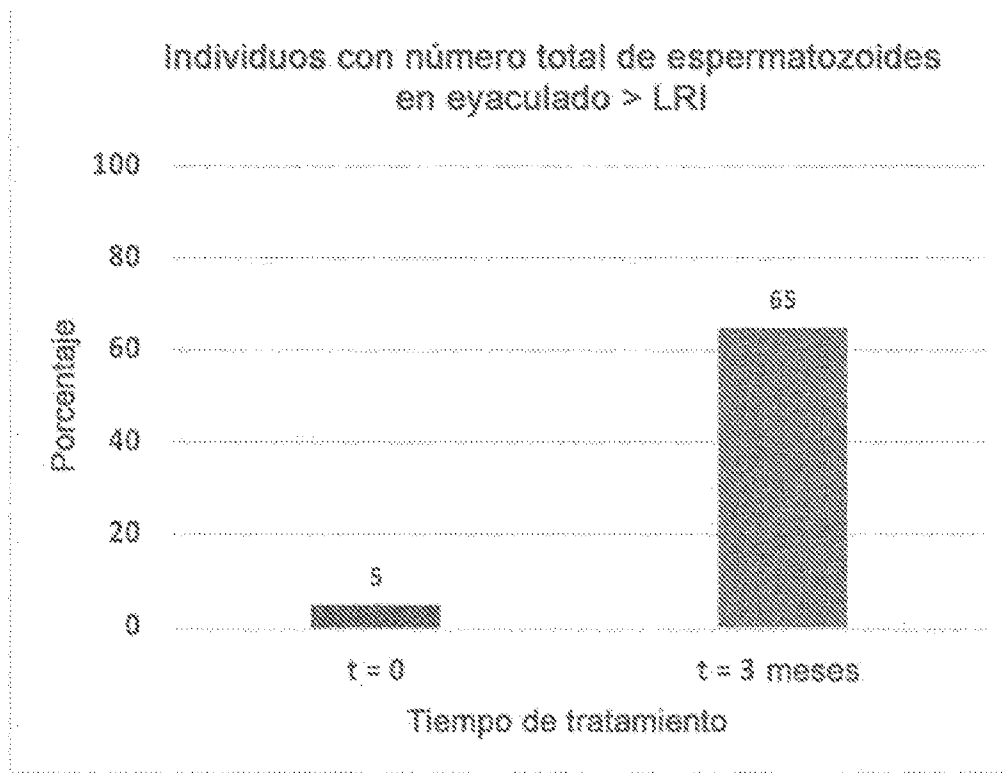


FIG. 6

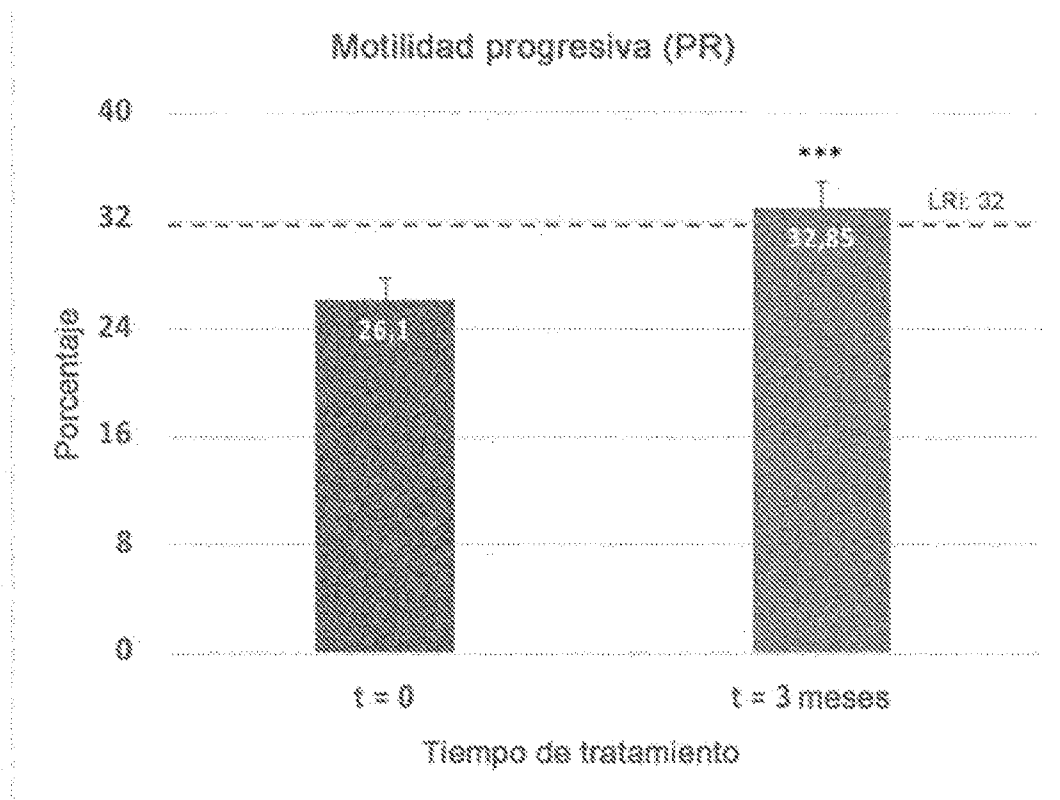


FIG. 7

Individuos con motilidad progresiva de espermatozoides > LRI

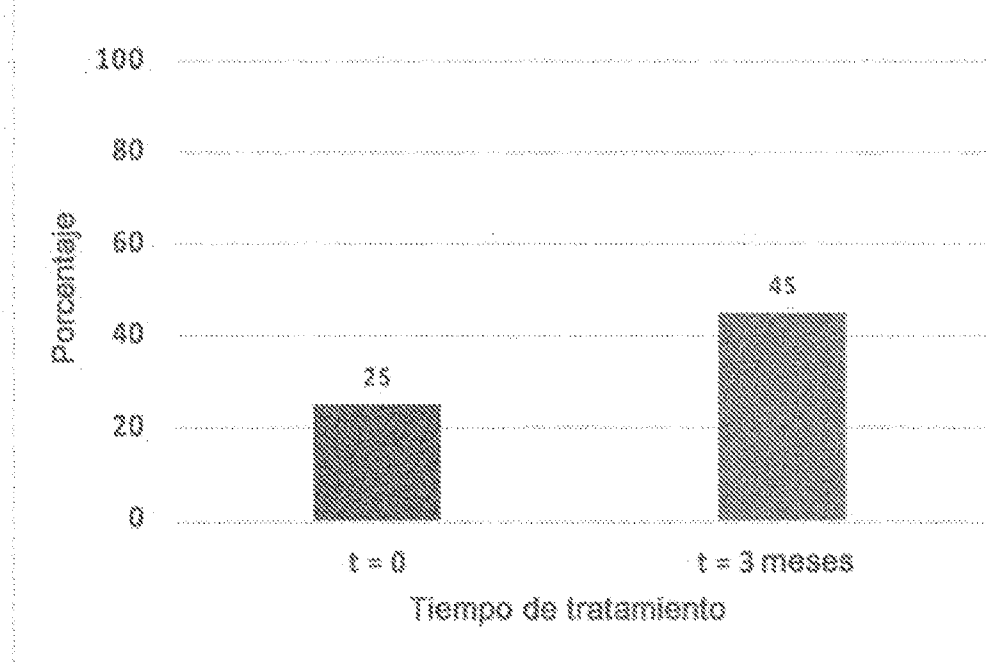


FIG. 8

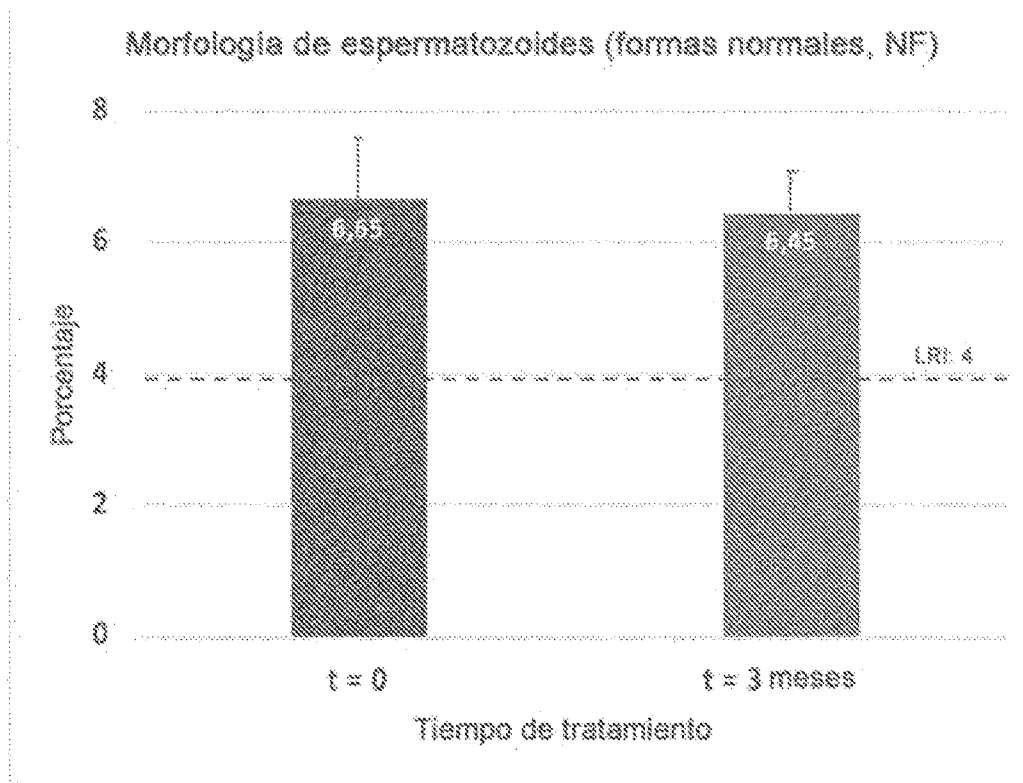


FIG. 9

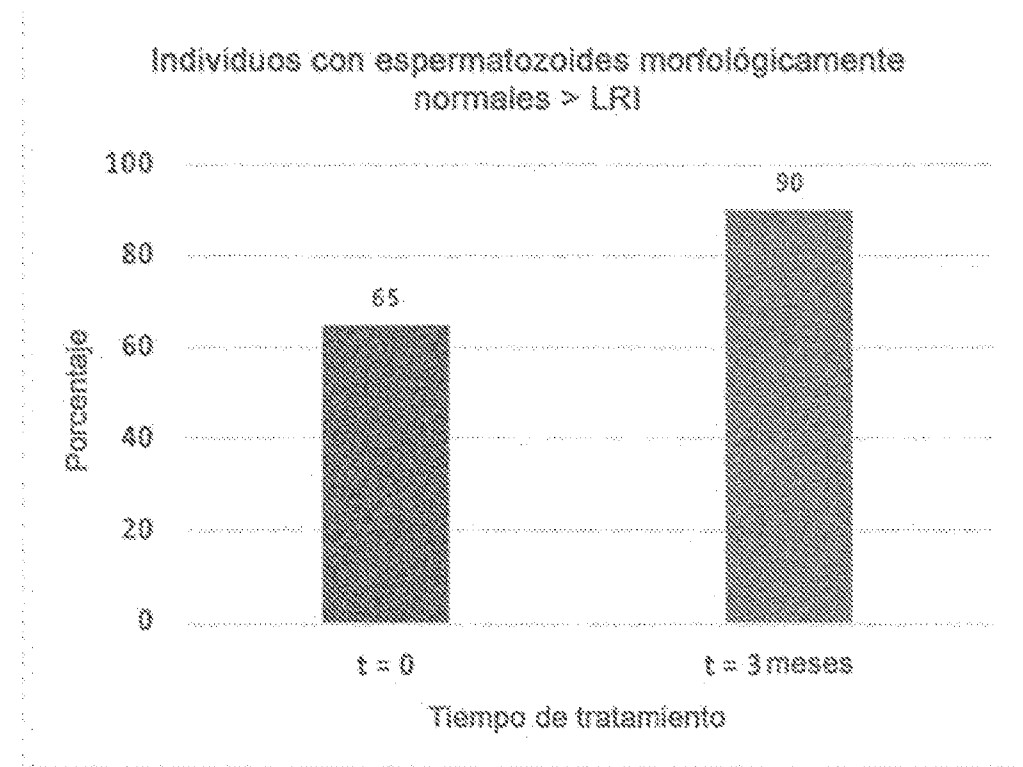


FIG. 10

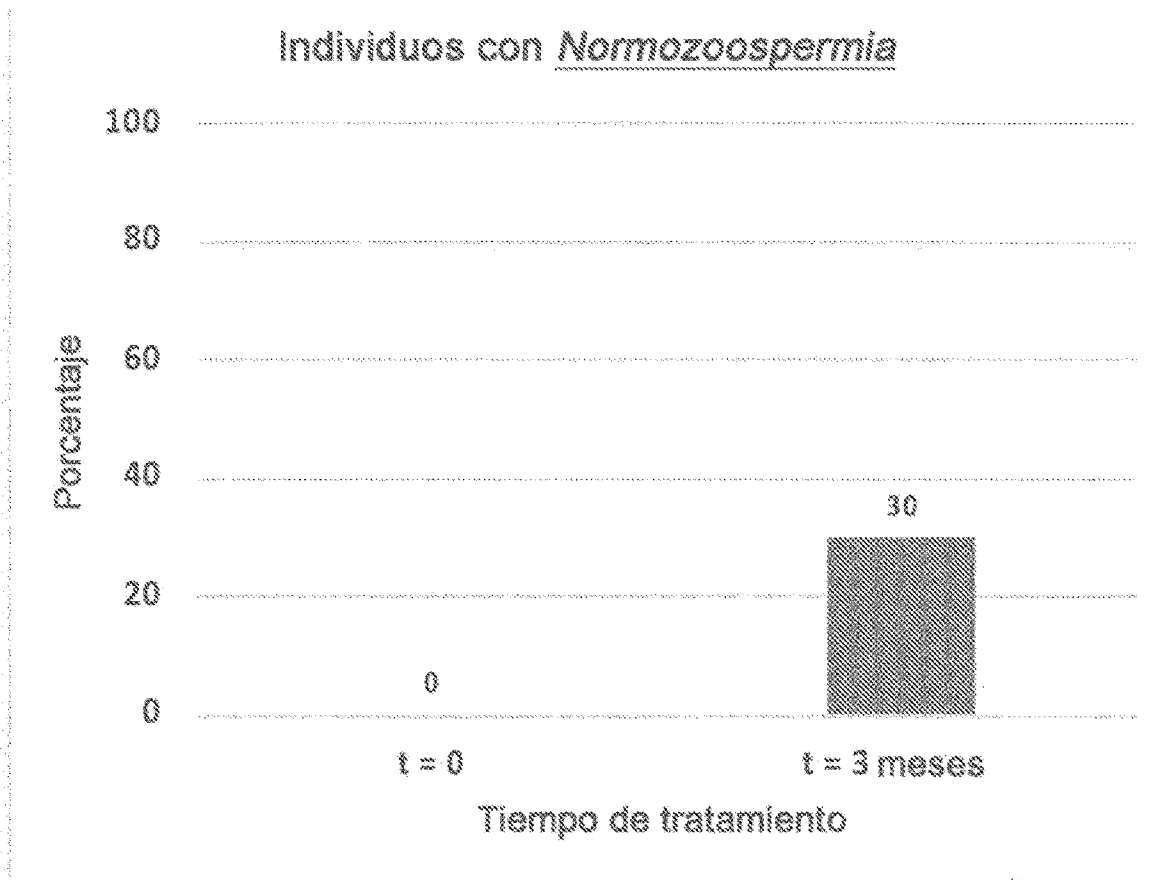


FIG. 11