

CENTRO UNIVERSITÁRIO CATÓLICO DE VITÓRIA

ANDRÉ KLIGER SALES

EFEITO DO ESTRESSE OXIDATIVO NA QUALIDADE DO SÊMEN EM HOMENS

VITÓRIA
2016

ANDRÉ KLIGER SALES

EFEITO DO ESTRESSE OXIDATIVO NA QUALIDADE DO SÊMEN EM HOMENS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Universitário Católico de Vitória, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. Luciene Rabelo Pereira Nogueira De Oliveira.

VITÓRIA

2016

ANDRÉ KLIGER SALES

EFEITO DO ESTRESSE OXIDATIVO NA QUALIDADE DO SÊMEN EM HOMENS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Universitário Católico de Vitória, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Aprovado em _____ de _____ de _____, por:

Prof. Luciene Rabelo Pereira Nogueira De Oliveira - Orientador

Marisa Barbosa Lyra

Danielly Serrano Rocha Cassoli

Este trabalho foi inspirado em minha família, sendo que o nascimento do nosso filho Cauã inspirou minha esposa Fabiana, também nutricionista, a mudar o foco do atendimento de adultos para grávidas e crianças, levando-nos para um caminho que nunca pensei em seguir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha esposa por ter me apoiado durante toda essa trajetória que escolhemos juntos trilhar. Ao meu filho por ter me tornado uma pessoa melhor e mais forte.

Meu pai e minha mãe sempre estiveram presentes, e minha irmã também, todos sempre ajudando nos momentos em que eu precisava.

Agradeço também a minha orientadora por apoiar o meu trabalho e confiar em mim.

Agradeço ao universo por me proporcionar as experiências que eu vivencio a cada momento, e que me tornam cada vez mais confiante e apto para desempenhar as funções que me comprometo a fazer.

A saúde do homem é tão importante quanto da mulher durante o processo reprodutivo. Cuidar de si próprio é cuidar dos seus descendentes.

1 INTRODUÇÃO

Aproximadamente 15% dos casais apresentam alguma forma de infertilidade, sendo que em torno de 50% das vezes, o homem pode ser a causa (NAKADA et al., 2006). De acordo com os dados de uma meta-análise realizada pela World Health Organization (WHO) em 2010, aproximadamente 50 milhões de casais sofreram com infertilidade ao redor do mundo no período da análise (MASCARENHAS; FLAXMAN; BOERMA, 2012).

Os disruptores endócrinos (DE) são substâncias que podem exercer efeito estrogênico e anti-androgênico no sistema endócrino atrapalhando a sinalização hormonal, podendo desencadear problemas de infertilidade ou sub-fertilidade em homens e mulheres expostos à essas substâncias, principalmente no início do desenvolvimento embrionário (ANWAY; SKINNER 2008; MORAL, 2008 ;HEINDEL; NEWBOLD, 2009).

Pesticidas, agentes plastificantes e outros poluentes ambientais como metais pesados têm sido relacionados a malefícios sobre a saúde reprodutiva em humanos, aparentemente diminuindo a qualidade do fluido seminal, e até danificando o DNA espermático (GIACCO et al., 2012; SAIYED et al., 2003).

Cerca de 2300 genes estão relacionados à espermatogênese (CARRELL et al., 2016), demonstrando a importância da integridade dos genes. Alguns polimorfismos parecem estar relacionados à infertilidade masculina, podendo afetar diretamente a qualidade dos espermatozoides. O gene CATSPER1 de uma família de 4 transportadores de cálcio, por exemplo, se mostrou extremamente importante para que a fertilização ocorra com sucesso, sendo demonstrado em um estudo a relação entre astenoespermia idiopática e polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) neste gene (SHU et al., 2015)

A causa da infertilidade masculina pode ser de difícil diagnóstico, levando em consideração os diferentes fatores que podem contribuir para o problema. O estresse oxidativo, aparenta ser responsável por grande parte dos efeitos negativos sobre os espermatozoides, e está presente em diferentes condições e patologias. (FERRAMOSCA et al., 2013; AGARWAL; GUPTA; SIKKA, 2006).

Por diminuir o dano tecidual causado pelos radicais livres produzidos em excesso durante o estresse oxidativo, dietas com alimentos e suplementos antioxidantes têm sido associadas à melhora nos parâmetros do espermograma, podendo em tese promover melhora no status de fertilidade (ALARCÓN et al., 2012). Isto se dá devido uma ação mais eficiente na redução de moléculas oxidadas à moléculas menos tóxicas, que podem ser eliminadas pelo organismo sem causar danos significativos, conservando também em tese, a integridade dos espermatozoides. Antioxidantes como a vitamina C, vitamina E, glutathione, carotenoides, flavonoides, proantocianidinas, ômega-3, em conjunto com as defesas enzimáticas do organismo que incluem a superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST) e catalase (CAT), ajudam a manter a hormese e evitar danos por estresse oxidativo (VALKO et al., 2007; SAFARINEJAD et al., 2010).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do estresse oxidativo na qualidade do sêmen em homens, e foi estruturado através de uma revisão de literatura utilizando bancos de dados MEDLINE/PubMed, Scopus (Elsevier), ScienceDirect Journals (Elsevier), Web of Science, entre os anos de 2000 e 2016, sendo a maioria a partir de 2006. Os artigos usados foram selecionados a partir das seguintes palavras chave: spermatozoa; oxidative stress; male infertility; spermatogenesis; spermatozoon motility; spermatozoa maturation; human spermiogenesis; spermatozoa motility; sertoli cells; nrf2 pathway; nrf2 sperm; genetic mutations sperm; spermatogenesis testosterone; environmental pollutants sperm; human astenoteratozoospermia; teratozoospermia; asthenozoospermia; oligozoospermia

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 INFERTILIDADE MASCULINA

2.1.1 Definição e prevalência da infertilidade

No mundo, aproximadamente 15% dos casais possuem algum tipo de desordem que causa infertilidade, sendo que na metade das vezes, o homem pode ser a causa (NAKADA et al., 2006). De acordo com os dados de uma meta-análise realizada pela World Health Organization (WHO) em 2010, aproximadamente 50 milhões de casais sofreram com infertilidade ao redor do mundo (MASCARENHAS; FLAXMAN; BOERMA, 2012). Infertilidade, pela definição clínica da World Health Organization (WHO), é algum problema do sistema reprodutivo, no qual o casal não consegue engravidar após um ano ou mais de intercurso desprotegido (ZEGERS-HOCHSCHILD et al., 2009), enquanto a definição epidemiológica define infertilidade quando mulheres em idade reprodutiva sob risco de gravidez, relatam tentativa sem sucesso por mais de 2 (dois) anos (World Health Organization, 2006).

2.1.2 Espermatogênese

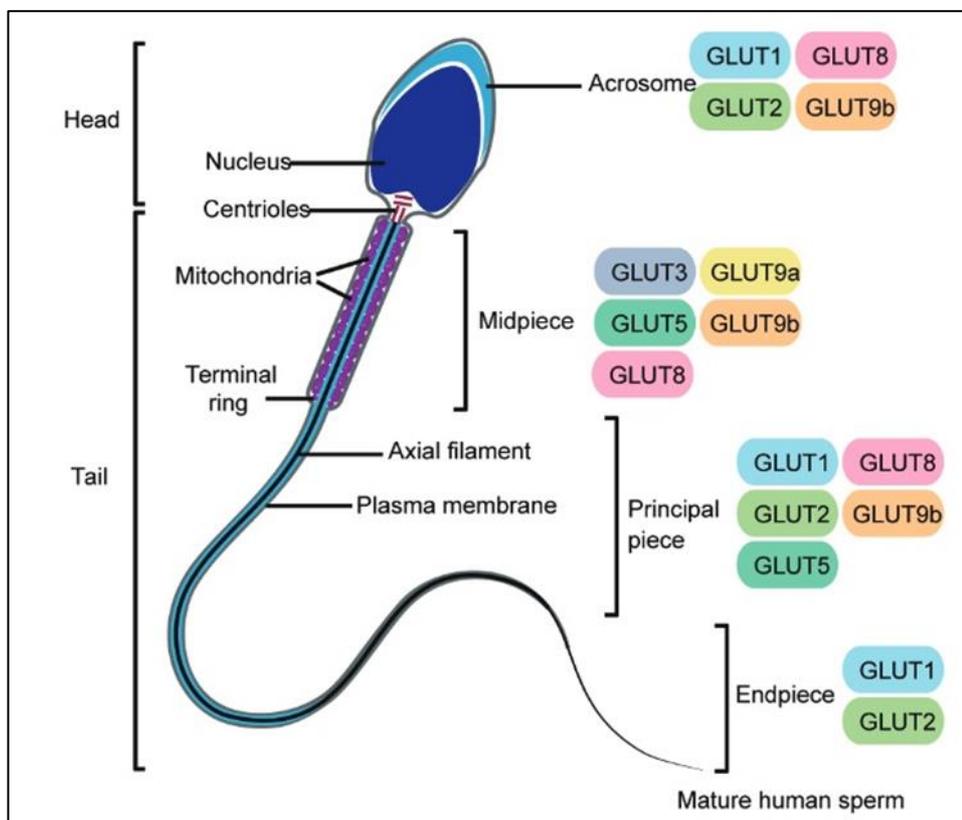
A espermatogênese é um processo onde ocorrem diversas reações a fim de produzir uma célula espermática diferenciada, que será capaz de fertilizar o óvulo e contribuir para o crescimento do embrião de forma saudável, sendo necessário a regulação de mais de 2300 genes para que o processo ocorra em toda sua magnitude (CARRELL, et al. 2016).

A espermatogênese é o processo pelo qual o organismo produz os espermatozóides a partir das espermátides, as quais são provenientes de duas divisões meióticas dos espermatócitos tipo 1. As espermátides são células redondas, aflageladas, com atividades de transcrição e tradução que, no processo de espermatogênese, tornam-se células flageladas, com núcleo compactado e inativo, denominadas de espermatozóides maduros (AUSIO; EIRIN-LOPEZ; FREHLICK, 2007). Este processo ocorre no epitélio seminífero dos testículos, sendo caracterizada pela

maturação contínua de células germinativas, para o centro dos túbulos seminíferos (SHAHA; CHENG, 2008).

Os espermatozoides maduros são compostos por uma cabeça e uma cauda. A cabeça possui um acrossoma, e um núcleo, e a cauda é dividida em parte mediana, onde estão localizadas as mitocôndrias, parte principal e parte final. Existem diversos receptores GLUT expressos em todas as regiões, sendo que o GLUT-3 e GLUT-9a são exclusivos da parte mediana. A figura 1 demonstra a localização de diversas isoformas de transportadores de glicose, nas partes distintas dos espermatozoides denominadas cabeça (que inclui o acrossoma e núcleo) e cauda (dividida em parte mediana, principal e final). GLUT1: transportador de glicose 1; GLUT2: transportador de glicose 2; GLUT3: transportador de glicose 3; GLUT5: transportador de glicose 5; GLUT8: transportador de glicose 8; GLUT9a: transportador de glicose 9a; GLUT9b: transportador de glicose 9b. Devido a perda do citoplasma, os espermatozoides necessitam das defesas antioxidantes presentes no meio extracelular e nas mitocôndrias (DING et al., 2015).

Figura 1. Representação esquemática de espermatozoides humanos.



Fonte: Ding et al., 2015, p. 950

Os hormônios andrógenos produzidos pelos testículos e pela glândula adrenal são fundamentais para o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos masculinos, para a puberdade, para função sexual e, também para fertilidade. Estima-se que cerca de 20 a 30% dos homens inférteis apresentem baixa testosterona ou aumento do hormônio luteinizante (LH) (DOHLE; SMIT; WEBER, 2003).

O papel da testosterona na espermatogênese é bem conhecido, além do efeito do LH na espermatogênese ser mediado pela testosterona intratesticular, onde a concentração de testosterona intratesticular já foi encontrada cerca de 25 a 100 vezes a mais do que no plasma (PAGE, 2011). A administração de testosterona exógena, por outro lado, tem efeito negativo na espermatogênese, pois inibe a GnRH e o LH a nível de hipotálamo e glândula pituitária, suprimindo a produção de testosterona intratesticular, conseqüentemente diminuindo a espermatogênese (SAMPLASKI et al., 2014).

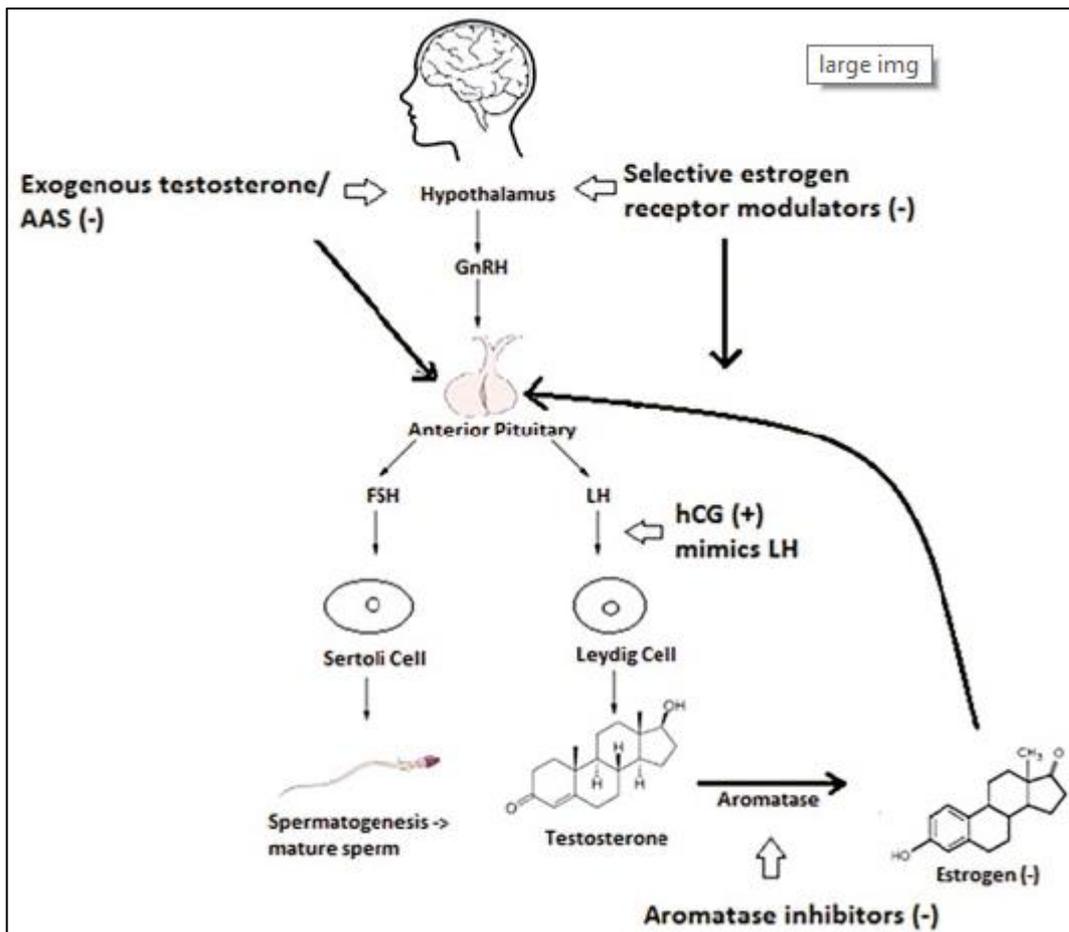
Outros estudos confirmam a ação negativa da testosterona exógena pelo mesmo mecanismo de feed-back negativo. A administração de testosterona exógena em homens tem o efeito de suprimir a espermatogênese, tendo ação contraceptiva. O mecanismo responsável está relacionado a um feed-back negativo no eixo hipotalâmico – pituitário – gonadal (HPG), que inibe a liberação de GnRH (hormônio liberador de gonadotropinas), e conseqüentemente de FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante), diminuindo a concentração intratesticular de testosterona e afetando drasticamente a espermatogênese. Esse efeito é reversível após cessar o tratamento, mas pode ter desfechos desconhecidos, não sendo recomendado para homens que ainda querem reproduzir futuramente (MOSS; CROSNOE; KIM, 2013).

A obesidade é um problema mundial, e está associada a níveis mais baixos de testosterona e LH, além de redução na qualidade dos parâmetros espermáticos e outras alterações hormonais. O tecido adiposo em quantidade excessiva resulta em uma maior conversão de testosterona para estradiol, devido a uma atividade aumentada da aromatase, podendo levar ao hipogonadismo secundário, através da supressão do eixo hipotalâmico pituitário gonadal (AL-ALI et al., 2014; EISENBERG et al., 2014; MICHALAKIS et al., 2013; SERMONDADE et al., 2013).

A figura 2 demonstra claramente que a administração de testosterona exógena e esteróides anabólicos androgênicos afetam negativamente o eixo hipotalâmico-

pituitário-gonadal (HPA). Moduladores seletivos de estrógenos bloqueiam o feedback negativo do estrogênio no eixo HPA. Gonadotropina coriônica humana (hCG) estimula as células de Leydig. Inibidores da aromatase previnem a conversão de testosterona para estrogênio. (MOSS; CROSNOE; KIM, 2013).

Figura 2. Hormônios rejuvenescedores e mecanismos de ação.



Fonte: Moss, Crosnoe, Kim, 2013, p. 1816.

Um estudo com 26 homens que realizavam terapia de reposição hormonal (TRH) com testosterona, mostrou que a administração concomitante de baixas doses de bHCG (gonadotropina coriônica humana beta), em torno de 500 UI dia sim, dia não, durante o tratamento, parece conservar a espermatogênese, evitando a infertilidade causada pela TRH tanto via injetável quanto dérmica (HSIEH et al., 2013). Este mecanismo pode ser devido a ação do hCG sobre as células de Leydig por estimular a produção de testosterona mimetizando a ação do LH, já que o último se encontra suprimido devido ao feedback negativo causado no eixo HPA pela administração exógena de testosterona (MOSS; CROSNOE; KIM, 2013).

Os níveis de FSH parecem estar diretamente relacionados à taxa de espermatogênese. Um estudo avaliou os níveis de FSH, LH, testosterona total e estradiol, em homens diagnosticados com câncer que foram submetidos a orquiectomia unilateral, na momento do diagnóstico a até 3 anos depois da cirurgia. Os resultados demonstraram um aumento nos níveis de FSH plasmático principalmente no primeiro ano, que continuou mais elevado que antes da cirurgia mesmo após 3 anos, com consequente aumento no volume testicular, aumentando a espermatogênese. Este mecanismo ocorreu de forma compensatória, mostrando que a liberação fisiológica de FSH em condições normais não é suficiente para elevar a espermatogênese ao potencial máximo, e que o aumento gradual endógeno ou exógeno de FSH pode controlar essa função (SELICE et al., 2011).

Em um estudo in vivo e in vitro com células de Sertoli, a supressão de FSH e andrógenos teve efeito direto sobre a transcrição de 23 miRNAs (micro-RNAs), sendo que a super-expressão de um deles, o miR-23b in vitro, resultou em diminuição na tradução de dois genes (PTEN e EPS15) responsáveis pelo controle coordenado dos caminhos de adesão celular. Foi concluído que o FSH age provavelmente nas células de Sertoli na etapa VIII, controlando a expressão de miRNAs que agem de maneira coordenada controlando os caminhos de adesão celular e da fertilidade masculina, podendo explicar em parte o mecanismo de ação dos hormônios durante a espermição, que é o processo de liberação dos espermatozoides maduros (NICHOLLS et al., 2011).

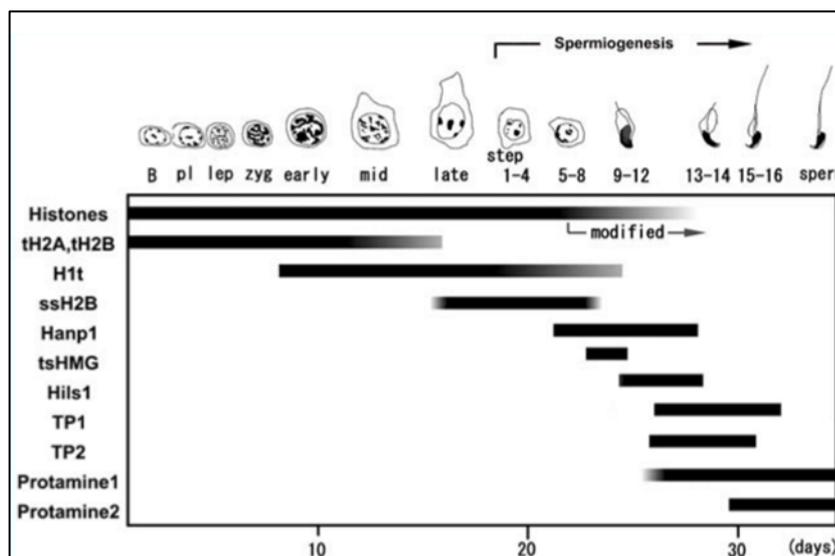
A barreira hematotesticular é responsável pela permeabilidade do epitélio testicular, evitando com que as defesas imunológicas do plasma entrem em contato com os espermatozoides, para que não haja destruição dos mesmos pelo próprio organismo, e para evitar reações de defesa sistêmicas. A integridade da barreira hematotesticular é crucial, sendo modulada por diversas proteínas. A terapia de reposição de testosterona com objetivo contraceptivo por 9 semanas não causou nenhuma alteração na integridade da barreira, porém, como os tratamentos de reposição são geralmente longos, são necessários estudos mais longos para confirmar este achado (ILANI et al., 2012).

As células de Sertoli são responsáveis pela barreira hematotesticular, além da liberação de diversos fatores necessários para que ocorra a espermatogênese. Elas estão diretamente relacionadas ao número de espermatozoides, sendo que cada

célula de Sertoli consegue aguentar cerca de 50 células germinativas em diferentes fases de desenvolvimento (CHENG et al., 2010). Um estudo in vitro realizado com células de Sertoli de ratos, mostrou que a deidrotestosterona (DHT) e o 17 β -estradiol (E2) exercem influência sobre a espermatogênese, especialmente por meios pré e pró-apoptóticos, e que o equilíbrio entre esses hormônios é importante para estabelecer o grau de produção de espermatozoides, e o nível de fertilidade (SIMÕES et al., 2013).

Durante a espermatogênese em ratos, ocorrem diversas mudanças como alongamento do núcleo e condensamento de cromatina, além da troca de histonas no DNA por outras proteínas. A troca de histonas ocorre gradualmente, sendo que as proteínas de transição (TP) antecedem as protaminas, que são as proteínas definitivas. Essas mudanças ocorrem para que os cromossomos fiquem bem compactados para caberem na pequena cabeça dos espermatozoides, formando uma sólida estrutura de cromatina, necessária para a maturação dos mesmos, como mostrado na figura 3. As barras indicam as nucleoproteínas que são supostamente envolvidas na estruturação da cromatina. O início da expressão das variantes das histonas específicas dos testículos tH2A, tH2B, H1t e ssH2B também está sendo mostrado. tsHMG, proteína caixa do grupo de alta mobilidade específica dos testículos. TP1 e 2, proteínas de transição 1 e 2.3 (TANAKA; BABA, 2005).

Figura 3. Representação esquemática da expressão de nucleoproteínas nas células germinativas durante a espermatogênese em ratos.



Fonte: Tanaka; Baba, 2005, p. 346.

Os espermatozoides são os produtos finais da espermatogênese, processo que ocorre nas células de Sertoli, nos tubos seminíferos localizados nos testículos. Na primeira etapa, as espermatogônias passam por uma série de divisões mitóticas, mantendo-se diploides, e são denominadas de espermatócitos. Na segunda etapa, os espermatócitos sofrem duas divisões meióticas, dando origem a quatro células haploides, denominadas de espermátides. Na terceira etapa, as espermátides se diferenciam em espermatozoides em um processo chamado de espermiogênese. Os espermatozoides são estruturas alongadas, porém com um espaço interno muito pequeno para armazenar o material genético da mesma forma que ocorre nas células somáticas do organismo. Nas células somáticas, as histonas fazem todo o papel de compactar a cromatina para proteger e armazenar o material genético, nos espermatozoides, porém, o pequeno espaço interno requer uma mudança da maior parte das histonas para protaminas, pelo fato de serem capazes de manter a cromatina até 10 vezes mais condensada do que as histonas (NOBLANC; KOCER; DREVET, 2014).

Um estudo avaliou o efeito do tabagismo na razão de troca das histonas para protaminas nos espermatozoides, levando em consideração a importância desse processo no condensamento da cromatina nos espermatozoides maduros, produzindo espermatozoides viáveis reprodutivamente. Os resultados demonstraram que, em homens que fumavam, havia uma alta proporção de espermatozoides que tinham uma baixa razão de troca de histonas para protaminas, concomitante com baixa contagem, baixa motilidade, baixa vitalidade e integridade de membrana, confirmando os efeitos adversos do tabagismo na qualidade seminal (HAMAD et al., 2014).

Além da testosterona, os estrógenos também são necessários para manter a função reprodutiva em homens. Receptores de estrógenos (ESR1 e ESR2) e um receptor -1 de estrógenos acoplado a proteína G (GPER) estão presentes no sistema reprodutivo masculino. Um estudo feito com ratos demonstrou que os ESR1 regulam a reabsorção de fluidos e estão presentes em maior quantidade nos ductos deferentes, mas também desempenham papel no epidídimo, controlando o pH e a osmolaridade (HESS et al., 2011).

2.1.3 Capacitação dos espermatozoides e fertilização

A fertilização é o processo pelo qual o gameta masculino e o feminino se unem, formando um indivíduo geneticamente distinto. Após o intercurso sexual em humanos, os espermatozoides móveis seguem pelas trompas de falópio no trato reprodutivo feminino, em direção ao óvulo. O meio ácido favorece o processo de hiperativação, no qual o espermatozoide se torna mais rápido para penetrar a camada externa do óvulo. A camada interna do óvulo, denominada zona pelúcida, só é penetrada na segunda etapa da capacitação, quando ocorre a reação do acrossoma e consequente liberação de enzimas digestivas que rompem a membrana da zona pelúcida, possibilitando a entrada do material genético do gameta masculino. Durante este processo, simultaneamente, o óvulo libera enzimas que reorganizam as glicoproteínas da zona pelúcida, tornando-a impenetrável, evitando assim a fertilização por múltiplos espermatozoides (KRAUCHUNAS; MARCELLO; SINGSON, 2016).

Para conseguir fertilizar o óvulo, o espermatozoide após entrar no trato reprodutivo feminino, deve antes passar por uma série de reações bioquímicas e fisiológicas, chamadas coletivamente de capacitação, um processo que envolve a polimerização da actina e a hiperativação da motilidade (HAM) (BUFFONE et al., 2014).

A capacitação do espermatozoide ocorre através de diversas mudanças, necessárias para que ocorra a fertilização. As mudanças bioquímicas incluem mudanças na fosforilação de proteínas, e na atividade da proteína quinase, efluxo de colesterol da membrana plasmática para aumentar a fluidez e permeabilidade da membrana, aumento da concentração de bicarbonato (HCO_3^-) e do pH intracelular, aumento dos níveis de Ca^{2+} e cAMP (ICKOWICZ; FINKELSTEIN; BREITBART, 2012; VISCONTI, 2009).

O bicarbonato entra no espermatozoide através no cotransportador $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$, e estimula uma rápida mudança na membrana plasmática, ativando enzimas relacionadas à translocação de fosfolípidos como a fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina (GADELLA; HARRISON, 2000), que aumentam a disponibilidade de colesterol para os receptores externos (VISCONTI, 2009).

Após o processo de capacitação, o espermatozoide está preparado para fertilizar o gameta feminino. Com seu movimento hiperativado, ele se liga à zona pelúcida, mantendo intacta sua membrana plasmática, e deve então realizar o processo excitatório, denominado de reação do acrossoma, onde seu conteúdo interno é passado para o interior do óvulo (ROLDAN; SHI, 2007).

O processo de reação do acrossoma é estimulado por glicoproteínas da zona pelúcida, sofrendo efeito sinérgico de outras substâncias como prostaglandinas, peptídeo natriurético atrial, fator de crescimento epidermal (EGF) e progesterona, entre outros, em testes *in vitro*, porém não se sabe o grau de sinergismo *in vivo* (BREITBART; ETKOVITZ, 2011). Um estudo em ratos demonstrou que os espermatozoides podem utilizar corpos cetônicos como fonte de energia para se locomover, mas não durante a reação do acrossoma (TANAKA et al., 2004).

Diversas moléculas são necessárias para que o processo ocorra com sucesso, incluindo Ca^{2+} , bicarbonato e albumina sérica. O Ca^{2+} parece estar envolvido nos estágios iniciais da capacitação, estimulando a proteína adenilato ciclase solúvel (sAC), que é uma enzima amplificadora que aumenta os níveis de cAMP, ativando a proteína quinase (PKA) dependente de cAMP (SIGNORELLI; DIAZ; MORALES, 2012; BURTON; MCKNIGHT, 2007).

Um estudo avaliou a influência dos hormônios do oviducto sobre a hiperativação dos espermatozoides *in vitro*, mostrando que a progesterona, melatonina e serotonina favorecem a hiperativação através de receptores de membrana específicos, e que o 17 β -estradiol suprime esse efeito através do receptor de estrógeno. Além disso, o ácido γ -aminobutírico (GABA) suprime o efeito da progesterona sobre a hiperativação, através do receptor do GABA (FUJINOKI; TAKEI; KON, 2016).

O íon cálcio (Ca^{2+}), é um segundo mensageiro responsável pela regulação de diversos mecanismos nos espermatozoides e em células somáticas. O cálcio intracelular regula diversos processos, como a reação do acrossoma, hiperativação flagelar, quimiotaxia e capacitação (PUBLICOVER; HARPER; BARRATT, 2007).

A mitocôndria recebe o cálcio através do uniportador de cálcio (mCU). A membrana plasmática e o acrossoma, também são locais onde os espermatozoides controlam os íons Ca^{2+} (RODRIGUEZ; SATORRE; BECONI, 2012; CARAFOLI, 2010). O mCU

é o principal mecanismo de transporte de Ca^{2+} do citosol para a matriz mitocondrial, com a finalidade de aumentar os níveis intracelulares de Ca^{2+} (ZHANG et al., 2006).

Bravo e outros (2015) avaliaram a motilidade e níveis de ATP de espermatozoides humanos de homens aparentemente saudáveis, após o bloqueio dos canais uniportadores de Ca^{2+} (mCU). Os resultados mostraram uma redução significativa na motilidade total e dos níveis de ATP, sem afetar a viabilidade, potencial de membrana ou produção de ROS. Demonstrando que os uniportadores mCU contribuem para a manutenção da motilidade e dos níveis de ATP em espermatozoides humanos.

O íon zinco (Zn^{2+}) extracelular está envolvido na proliferação celular através do caminho da MAP1 quinase em diversos tipos celulares. Nos espermatozoides, o Zn^{2+} se liga aos receptores de Zn^{2+} (ZnR) ativando os receptores do fator de crescimento epidérmico (EGFR), contribuindo para a reação do acrossoma, mediado pela adenil ciclase trans-membrana (tmAC), proteína quinase A (PKA), EGFR, fosfolipase C (PLC) e proteína quinase C (PKC). Na ausência de Ca^{2+} , o Zn^{2+} também causou estímulo para a reação do acrossoma (MICHAILOV; ICKOWICKZ; BREITBART, 2014).

2.1.4 Espermograma

O espermograma é uma forma de avaliar diversos parâmetros do fluido seminal, incluindo motilidade, concentração e morfologia dos espermatozoides, como uma forma de prever o grau de fertilidade (SHAMSI; KUMAR; DADA, 2008). Atualmente, o método de análise do sêmen mais aceito no mundo é de acordo com os critérios preconizados pela World Health Organization (WHO) (2010), que mede a concentração, motilidade, morfologia e vitalidade dos espermatozoides, assim como a capacidade secretora das glândulas acessórias associadas à ejaculação, pelo volume do sêmen. Os parâmetros da quinta edição da tabela da WHO de 2010 servem como referência para avaliar a qualidade do sêmen, e facilitar o diagnóstico em casos de infertilidade (tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição de valores para análise seminal de homens cujas parceiras engravidaram até no máximo 12 meses de intercurso desprotegido, World Health Organization, 2010.

PARÂMETROS (UNIDADES)	N	PERCENTIS								
		2,5	5	10	25	50	75	90	95	97,5
Volume seminal (mL)	1941	1,2	1,5	2,0	2,7	3,7	4,8	6,0	6,8	7,6
Número total de espermatozoides (10 ⁶ por ejaculado)	1859	23	39	69	142	255	422	647	802	928
Concentração de espermatozoides (10 ⁶ por mL)	1859	9	15	22	41	73	116	169	213	259
Motilidade total (PR + NP, %)	1781	34	40	45	53	61	69	75	78	81
Motilidade progressiva (PR, %)	1780	28	32	39	47	55	62	69	72	75
Motilidade não-progressiva (NP, %)	1778	1	1	2	3	5	9	15	18	22
Espermatozoides imóveis (IM, %)	1863	19	22	25	31	39	46	54	59	65
Vitalidade	428	53	58	64	72	79	84	88	91	92
Formas normais	1851	3	4	5,5	9	15	24,5	36	44	48

Fonte: Cooper et al., 2010.

Geralmente a análise do fluido seminal é indicada quando há suspeita de infertilidade, ou subfertilidade em homens (CHRISTMAN et al., 2013).

2.2 FATORES QUE CONTRIBUEM PARA A INFERTILIDADE MASCULINA

2.2.1 Disruptores endócrinos

Os disruptores endócrinos (DE) são substâncias que exercem efeito sobre o sistema endócrino do organismo, sendo mais impactante quando há exposição no início do

desenvolvimento embrionário, podendo acarretar em susceptibilidade para doenças na vida adulta, incluindo problemas reprodutivos, neurológicos, metabólicos e de desenvolvimento, devido ao efeito sobre os genes e o impacto epigenético causado (ANWAY; SKINNER, 2008; MORAL, 2008 ;HEINDEL; NEWBOLD, 2009).

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), disruptores endócrinos são agentes exógenos que exercem efeito sobre a síntese, transporte, secreção, metabolismo, ou eliminação de hormônios naturalmente presentes no sangue, que são responsáveis pela homeostase, reprodução e desenvolvimento. Os disruptores endócrinos podem ser sintéticos, e são utilizados na indústria, como pesticidas, plásticos, plastificantes, solventes, lubrificantes, fungicidas, e agentes farmacológicos, ou podem ser naturais, como os fitoestrógenos presentes em diversas espécies de plantas utilizadas na alimentação humana. (DIAMANTI-KANDARAKIS et. al., 2009).

Os disruptores endócrinos podem alterar a diferenciação das células germinativas que inicia-se durante a embriogênese com as células germinativas primordiais (PGC). A diferenciação de células germinativas primordiais, assim como a gametogênese, são processos regulados por fatores genéticos, que sofrem influencia pós-transcricional pelos miRNAs. Os disruptores endócrinos, principalmente quando expostos durante a janela de desenvolvimento embrionário, podem alterar a homeostase do sistema reprodutivo, transmitindo características de disfunção reprodutiva transgeracionalmente por mecanismos epigenéticos relacionados ao padrão de liberação de miRNAs expresso nas células germinativas (BRIÑO-ENRÍQUEZ; LARRIBA; MAZO, 2016).

Os mecanismos epigenéticos aos quais os DE têm sido associados, envolvem interrupções na metilação do DNA, modificações pós-transcricionais de histonas, e interferência nos RNAs não codificantes (ncRNA), as quais não alteram a sequência do DNA, mas sim a expressão e regulação de genes, mostrando uma mudança no fenótipo sem alterar o genótipo (ANWAY et al., 2005).

Os fitoestrógenos têm sido associados a mudanças hormonais, porém seus efeitos sobre a fertilidade masculina são pouco conhecidos. Um estudo realizado com 502 homens nos Estados Unidos avaliou a relação entre fitoestrógenos na urina e qualidade dos espermatozoides, notando uma pequena interferência, sem afetar a fecundidade dos casais (MUMFORD et al., 2015).

Os DE têm sido alvo de estudo devido ao aumento na incidência de infertilidade masculina e feminina, e seus efeitos estrogênicos e anti-androgênicos conhecidos. Bisfenol A, ftalatos, bisfenilos policlorados, pesticidas como DDT (diclorodifeniltricloroetano), PDBE (Éteres de difenilo polibromado), entre outros DE, possuem efeito agonista pelos receptores de estrogênio, e uma parte possui efeito antagonista pelos receptores andrógenos (PINTO; CARVALHO, 2013).

O bisfenol A (BPA) é um componente sintético semelhante ao 17 β -estradiol amplamente utilizado pela indústria, na produção de policarbonato em plásticos, resinas epóxi presentes no revestimento de latas de alumínio, brinquedos, papel térmico, garrafas plásticas, etc. O BPA está amplamente distribuído no ambiente, tornando alta a exposição humana, que ocorre principalmente através da alimentação, e em menor grau por vias não alimentares como exposição a poeira, materiais dentários, papéis térmicos, e equipamentos médicos (GEENS et al., 2012).

Os efeitos endócrinos do BPA têm sido amplamente estudados em modelos animais e humanos. Em um estudo feito com ratos, a exposição ao BPA através da amamentação, demonstrou efeitos negativos nos espermatozoides na idade adulta (8 meses), afetando a funcionalidade mitocondrial, a membrana do acromossoma, e a integridade do DNA. Além disso, também foi observado dano oxidativo nos testículos, e baixa capacidade antioxidante, comprovando o efeito a longo prazo da exposição ao BPA durante a lactação sobre a qualidade dos espermatozoides da prole na vida adulta (KALB et al., 2016).

O BPA se mostrou altamente nocivo em um teste de exposição in vitro utilizando sêmen humano. A exposição causou uma perda do potencial de membrana nas mitocôndrias, e conseqüente aumento na produção do ânion superóxido e ativação das caspases-3 e 9, gerando estresse oxidativo que aumentou de acordo com a concentração de BPA, chegando a causar imobilidade total dos espermatozoides no final do teste. Na dose mais baixa, foi identificado dano oxidativo no DNA, que foi revelado pela presença de um aducto de base oxidado (8-hidroxy-2'-deoxyguanosine), chegando a conclusão que o BPA reduz a viabilidade dos espermatozoides por dano oxidativo e pró-apoptótico às mitocôndrias, causando disfunção mitocondrial (BARBONETTI et al., 2016).

2.2.2 Pesticidas

Para atender a competitividade no agronegócio, o meio rural vem sofrendo alterações na sua cadeia produtiva. Passando a mecanização e técnicas para aumento de produção além do uso de agentes químicos para controle de pragas (SCHMIDT; GODINHO, 2006). Em 1989, a lei que aprova o uso dos agrotóxicos foi regida no Brasil, sendo validada em 2002. Tendo a definição para agrotóxicos como:

[...] os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos (BRASIL, 2002).

Porém, um grave problema do uso dos agrotóxicos em sua utilização, é que uma parte das névoas atingem diretamente o objeto, mas o restante é perdido no ar, solo, plantas ou pela chuva, atingindo outros locais que não são desejados (GREGOLIS; PINTO; PERES, 2012).

Um artigo de revisão realizado por Sthele e Schulz (2016), avaliou a presença de pesticidas na água e revelou um numero crescente de contaminação nos períodos de 1995 até os dias atuais. Devido ao uso extensivo dos recursos naturais disponíveis, grandes impactos nosso ecossistema local vem sofrendo para conseguir manter a demanda do comercio internacional, o que gera um debate sobre a sustentabilidade ambiental e social em que vivenciamos (PORTO; SOARES, 2012).

Garcia e colaboradores (2005), destacaram a importância de uma melhor fiscalização pelo nosso órgão regulamentador nos produtos comercializados para garantir que a margem toxicológica não exceda ao limite máximo permitido, pois segundo suas análises, pesticidas já proibidos anteriormente continuavam a serem consumidos. Além disso, é necessário uma maior regulamentação principalmente em casos de intoxicação pelos próprios agricultores, que em sua maioria resolvem os sintomas adversos sem buscar ajuda deixando de fazerem suas notificações de envenenamento, deixando o dado de intoxicação sem o valor real dos trabalhadores são acometidos. (SCHMIDT; GODINHO, 2006).

É necessário preocupação com as mulheres gestantes, um trabalho realizado por Dordevic e colaboradores, (2010) estudou um grupo com 18 recém-nascidos cujas mães tinham pesticidas organofosforados isolado no sangue e leite materno no terceiro dia após o parto contra o grupo controle que era composto por 84 recém nascidos cujas mães não tinham pesticidas organofosforados isolados no sangue e leite materno, onde encontraram marcadores negativos importantes para alteração do sistema nervoso central no grupo de mães contaminadas, aumentando a chance de morbidade e alteração sistema imunológico.

Caspersen e colaboradores (2016) na Noruega, avaliaram a presença de pesticidas nas amostras de sangue de mulheres grávidas e crianças de até 3 anos. As concentrações plasmáticas demonstraram que a contaminação era 40% maior em crianças em comparação com mulheres grávidas, demonstrando assim a transferência pelo período gestacional, amamentação e dieta ser um marcador importante de exposição e à toxicocinética desses produtos. Sebastian e Raghavan, 2015, expôs um estudo realizado em ratos verificando os efeitos do Endosulfan na fisiologia celular de órgãos e tecidos, demonstrando que dentre todos os órgãos, os testículos foram os que mais sofreram alterações, resultando em defeitos qualitativos e quantitativo, reduzindo a motilidade e o número de espermatozoides, enquanto nas ratas fêmeas não houve alteração significativa. Em concordância, Roeleveld e Bretveld, 2008 demonstraram que a presença de disruptores endócrinos alteram a qualidade do sêmen masculino, deixando os espermatozoides mais lentos e em menor contagem.

Saiyed e colaboradores (2003) analisaram amostras de soro, urina e sêmen de um grupo masculino visando associar metabólitos derivados de pesticidas e parâmetros reprodutivos, apontando em seu resultado final que a exposição a pesticidas pode ser associada com motilidade e contagem de espermatozóides reduzida, o que levaria a um problema de infertilidade masculina.

2.2.3 Flúor

O flúor é um elemento halógeno que existe na natureza em diversas formas, incluindo o ácido fluorossilícico (H_2SiF_6), silicofluoreto de sódio (Na_2SiF_6), e o fluoreto de sódio (NaF) (JHA et al., 2011). O flúor é um poluente natural, cuja

toxicidade sobre os espermatozoides de ratos vem sendo estudada. Um estudo realizado com ratos, avaliou a influência do fluoreto de sódio na água potável, em concentrações de 50, 100 e 150mg/L por 8 semanas, sobre a quimiotaxia dos espermatozoides, demonstrando uma relação dose-dependente onde as maiores concentrações afetaram negativamente o processo de quimiotaxia (LU et al., 2014).

Outro estudo realizado com ratos, também investigou o efeito do fluoreto de sódio na água potável, em concentrações de 30, 70 e 150mg/L por 7 semanas, sobre a estrutura da cromatina de espermatozoides, chegando a conclusão de que nas doses média e alta, houve dano na integridade do DNA, que pode estar relacionado à diminuição na expressão de protaminas 1 (P1) e 2 (P2) e na razão P1/P2, com aumento das histonas espermáticas por compensação da queda de protaminas (SUN et al., 2014).

Um outro estudo utilizou 30 coelhos, os quais foram divididos em três grupos, sendo um grupo controle, o segundo exposto a fluoreto de sódio (NaF) (20mg/kg de peso) por trinta dias, e o terceiro exposto a NaF (20mg/kg de peso) por sessenta dias. Fatores como contagem de espermatozoides, motilidade, motilidade progressiva, peso dos testículos e epidídimo foram avaliados e comparados ao grupo controle. Os resultados mostraram que os coelhos expostos por trinta dias, tiveram todos os parâmetros comprometidos, exceto o peso dos testículos, e no grupo exposto por 60 dias todos os parâmetros foram comprometidos, mostrando que o tempo prolongado de exposição pode exercer efeitos cumulativos (KUMAR et al., 2010).

Para diminuir a toxicidade causada pelo flúor, antioxidantes podem ser possíveis medidas, devido ao estresse oxidativo gerado na toxicidade pelo fluor. Um estudo com ratos avaliou o efeito da administração de epigallocatequina galato sobre o estresse oxidativo causado pelo flúor, mostrando um efeito protetor, devido aos seus efeitos antioxidantes e antiinflamatórios conhecidos, pela ativação de um fator de transcrição denominado fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), o qual é responsável pela ativação de genes relacionados a destoxificação e ao sistema antioxidante enzimático (THANGAPANDIYAN; MILTONPRABU, 2015).

2.2.4 Outros poluentes ambientais

Na vida moderna atual, a alimentação tem se tornado mais artificial e menos natural, contribuindo com o aumento de diversas doenças crônicas além de outras complicações orgânicas. Os aditivos químicos utilizados pela indústria de alimentos para melhorar o sabor, aparência e aumentar o tempo de prateleira dos alimentos, não possuem valor nutricional, e podem causar complicações de saúde ainda pouco esclarecidas (NELTNER et al., 2013). Além dos aditivos diretos, as embalagens para empacotamento também podem contribuir com mais substâncias químicas com efeitos desconhecidos sobre a saúde humana (SIMMONS; SCHLEZINGER; CORKEY, 2014).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são poluentes ambientais gerados a partir da queima incompleta de substâncias orgânicas. Hábitos alimentares, como o consumo de alimentos fritos, assados e grelhados, assim como emissão de veículos e indústrias, aumenta a exposição ambiental aos HPA. Os HPA se ligam covalentemente ao DNA, formando aductos de DNA, que indicam dano ao DNA (BOSETTI; BOFFETTA; VECCHIA, 2007). Um estudo realizado na China, com um total de 433 homens de um clínica de infertilidade, analisou, através de imunofluorescência, se havia havia aductos de DNA-HPA no sêmen, mostrando uma relação inversa entre a concentração de aductos de DNA-HPA e a qualidade dos espermatozoides, o que mostra uma das poucas evidências epidemiológicas de um efeito adverso de aductos de DNA-HPA na integridade do DNA espermático (JI et al., 2013).

Diversas enzimas estão envolvidas no metabolismo dos HPA no organismo, podendo modular a atividade dessas substâncias, incluindo a CYP1A1, CYP1B1, GSTM e GSTT. O potencial genotóxico e carcinogênico das HPA as tornam um poluente de importância significativa, principalmente em grupos de risco nas populações, e depende da atividade dessas enzimas para serem eliminadas pelo organismo (HECHT, 2002; BENCHMARK; JONGENELEN, 2001; SHIMADA, 2006; SHIMADA; FUJII-KURIYAMA, 2004). Polimorfismos nessas enzimas em crianças no México foram associados a níveis urinários mais elevados de metabólitos como o 1-hidroxipireno (1-OHP), que é um indicador de exposição ambiental a HPA. As crianças que apresentaram polimorfismo da enzima GSTM1, tinham risco 5 vezes maior de apresentar níveis elevados de 1-OHP. Além disso, os dados obtidos no estudo indicam que as crianças analisadas que vivem nas proximidades de áreas

industriais petroquímicas, estão expostas a altos níveis de HPA, causando dano no DNA e aumentando o risco à saúde (GUERRA et al.,2012).

O benzopireno, um HPA de alto peso molecular, foi classificado no grupo dos agentes mais carcinogênicos pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 2012). Um estudo avaliou a influência da exposição ao HPA no câncer de pulmão, chegando a conclusão de que o risco de desenvolver o câncer depende das fontes de emissões, e também da susceptibilidade de cada indivíduo. As principais fontes foram tidas como combustíveis de biomassa (40%) e fósseis (17%) nos setores residencial e comercial, fábrica da coca cola (13%), produção de alumínio (12%) e automóveis (9%) (SHEN et al., 2014).

O Alumínio é um metal abundante no ambiente, podendo ser ingerido ou inalado, e em menor proporção absorvido pela pele, com potencial pró-oxidante, imunogênico, mutagênico e pró-inflamatório (EXLEY, 2016).

A alimentação é uma das fontes de contaminação, que pode ser proveniente de utensílios de alumínio utilizados para preparar o alimento, água, conservantes e aditivos químicos, além de fontes não alimentares como desodorantes (WILLHITE et al., 2014). O Cádmio é outro metal com efeito sobre a motilidade dos espermatozoides, principalmente em fumantes, que recebem diariamente doses deste metal via inalação da fumaça. Foi avaliado em um estudo, a relação entre a concentração de Cádmio e motilidade dos espermatozoides, demonstrando uma relação positiva entre maior concentração do metal e menor atividade das ATPases de membrana dependentes de Cálcio, e conseqüentemente menor motilidade dos espermatozoides (COSTA et al., 2016).

Um estudo realizado na Itália mediu a qualidade do fluido seminal de 600 homens que eram regularmente examinados em um laboratório da universidade de Nápoles "Frederico II", e relacionou os dados geograficamente de acordo com a concentração de metais do solo, encontrando uma forte relação entre chumbo (Pb) e antimônio (Sb) em quantidade elevadas e baixa qualidade do fluido seminal. Os outros metais avaliados incluíram arsênico (AS), cromo (Cr), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), alumínio (Al), molibdênio (Mo), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e tálio (Tl) e não mostraram relação com a qualidade do fluido seminal (GIACCO et al., 2012).

As áreas urbanas em grandes cidades, devido ao rápido crescimento e desenvolvimento, têm sido grandes centros de poluição, afetando fortemente a qualidade do ar. A matéria particulada pode trazer consigo diversos elementos, incluindo os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HAP), que podem ter efeitos deletérios sobre a saúde. O sêmen de indivíduos que vivem em áreas rurais na China, com menos poluição, apresenta qualidade superior quando comparado ao de homens de áreas urbanas, onde o nível de poluição é alto (ZHOU et al., 2014). Um outro estudo também realizado na China, relaciona a exposição aos HAP com dano no DNA espermático, sem afetar os outros parâmetros do espermograma (HAN et al., 2011).

O sêmen parece responder aos poluentes ambientais de forma negativa. Em um estudo feito na Itália, devido a crise de descarte ilegal de lixo tóxico, onde os níveis de poluição encontram-se bastante elevados, foi avaliado o sêmen de 110 homens de áreas diferentes, classificadas como de “alto” ou “baixo” impacto, de acordo com o grau de poluição. O sêmen das áreas de “alto impacto”, apresentou níveis elevados de cobre, zinco, cromo, e níveis reduzidos de ferro, associados à baixa motilidade e maior fragmentação do DNA. A capacidade antioxidante total (TAC), os níveis de glutathiona (GSH) e a atividade das enzimas antioxidantes também foram menores nas áreas de “alto impacto”. Este estudo pode servir como referência para uma análise maior de marcadores primários de poluição ambiental, sendo que provou a sensibilidade do fluido seminal aos poluentes ambientais. Isso também demonstra como os espermatozoides são afetados por xenobióticos, e que o aumento do estresse oxidativo é concomitante com a diminuição da atividade antioxidante da célula, mostrando um desequilíbrio que gera danos e reduz a vitalidade dos espermatozoides (BERGAMO et al. 2016).

Os estudos associando a poluição do ar com os parâmetros do fluido seminal, geralmente evidenciam a redução de pelo menos um parâmetro, porém, nenhum estudo in vivo é completamente confiável, devido a diversidade de poluentes diferentes existentes, sendo necessário a padronização de poluentes aerossóis e análises do sêmen para que os resultados tenham maior credibilidade, como concluído por uma meta-análise realizada sobre o assunto (LAFUENTE et al. 2016).

2.2.5 Fatores genéticos

Mais de 2300 genes são necessários para que a espermatogênese ocorra com sucesso (CARRELL et al., 2016). Fatores genéticos como mutações e processos epigenéticos, podem ocorrer nos espermatozoides e, afetar mecanismos envolvidos na formação, locomoção e capacidade de fecundação dos espermatozoides, além do impacto sobre o crescimento do embrião, que antes era subestimado (BOISSONNAS, et al., 2013).

Em ratos, sabe-se que o gene CATSPER1, membro de uma família de 4 canais de cálcio CATSPER, é essencial para a fertilidade. Em um estudo com humanos, os resultados também sugeriram a importância de CATSPER1 na fertilidade dos espermatozoides humanos (AVENARIUS et al., 2009).

Um outro estudo avaliou o efeito de anormalidades na função de CATSPER, com a funcionalidade dos espermatozoides e se isso afetava a taxa de sucesso de fertilização in vitro. Foi concluído que, os espermatozoides parcialmente deficientes em CATSPER, não responderam à progesterona e falharam na fertilização in vitro, comprovando a importância de CATSPER na fertilização em humanos (WILLIAMS et al., 2015).

Uma análise de 192 pacientes com astenoespermia idiopática, que não conseguiam engravidar suas parceiras por mais de um ano, e 288 controles saudáveis, encontrou uma relação positiva entre polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) no gene do CATSPER1, nos pacientes com astenoespermia, demonstrando ser um importante fator para determinar o risco individual genético para astenoespermia idiopática (SHU et al., 2015).

Um estudo feito com 315 homens saudáveis, com inexplicável baixa contagem de espermatozoides, utilizando bases genéticas de homens comprovadamente férteis como controle, encontrou uma mutação monogênica no NR5A1 em 4% dos homens inférteis, sendo completamente ausente nos controles, indicando uma forte relação entre esta mutação com a infertilidade masculina (BASHAMBOO et al., 2010).

Alguns homens apresentam uma condição rara de infertilidade devido a polimorfismos no gene AURKC (Aurora Quinase C), o que leva a produção de espermatozoides tetraploides de cabeça grande, sendo esse gene necessário para

que a meiose ocorra com sucesso. Mutações nesse gene afetam a espermatogênese fazendo com que todos os espermatozoides tenham seus cromossomos anormais, sendo contraindicada a fertilização por injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Nesses homens, aproximadamente 100% dos espermatozoides apresentam o fenótipo da cabeça grande, sendo este um bom sinal para investigar possíveis mutações nesse gene. A mutação mais conhecida nessa condição é homozigótica no sítio c.144delC no gene AURKC, mas também foi identificada um outra mutação heterozigótica em c.436-2A>G em dois irmãos gêmeos que apresentavam infertilidade e o mesmo fenótipo defeituoso (KHELIFA et al., 2011). Este diagnóstico é extremamente importante para excluir tentativas de tratamentos, já que nesse caso não há cura.

Um total de 24 homens de 24 a 39 anos de idade, sendo 12 oligoastenoespérmicos subférteis e 12 normoespérmicos, doaram amostras de sêmen para uma pesquisa que avaliou a expressão de miRNAs em microvesículas extracelulares encontradas no plasma seminal. Foram analisados um total de 1205 (mil e duzentos e cinco) miRNAs, onde 36 estavam com níveis alterados nos homens oligoastenoespérmico quando comparados aos normoespérmicos. Dos 36 miRNAs, 7 demonstraram expressão aumentada, e 29 diminuída. Posteriormente foi realizado a técnica de reação em cadeia da polimerase, que identificou 3 miRNAs específicos, dos quais o miR-15a teve uma expressão diminuída e ambos miR-765 e miR-1275 demonstraram uma expressão aumentada. O estudo de miRNAs pode ajudar na compreensão dos mecanismos moleculares pertinentes á infertilidade masculina (ABU-HALIMA et al., 2016).

2.2.6 Varicocele

Varicocele é a dilatação excessiva das veias do sistema venoso do saco escrotal, responsável pela drenagem nos testículos. Aproximadamente entre 35-75% dos homens com infertilidade e 10-15% dos homens em geral, apresentam esta condição (GAT; MADGAR, 2015).

O processo pelo qual a varicocele afeta a capacidade fertilizante dos espermatozoides ainda não foi completamente elucidado. Atualmente, os estudos apontam o estresse oxidativo como principal fator comprometedor da função dos

espermatozóides, porém os mecanismos exatos ainda são desconhecidos. Os testículos respondem ao calor excessivo, a produção excessiva de óxido nítrico e a isquemia, estímulos comuns em pacientes com varicocele, gerando radicais livres em excesso, que levam ao estresse oxidativo e conseqüentemente à infertilidade (AGARWAL; HAMADA; ESTEVES, 2012).

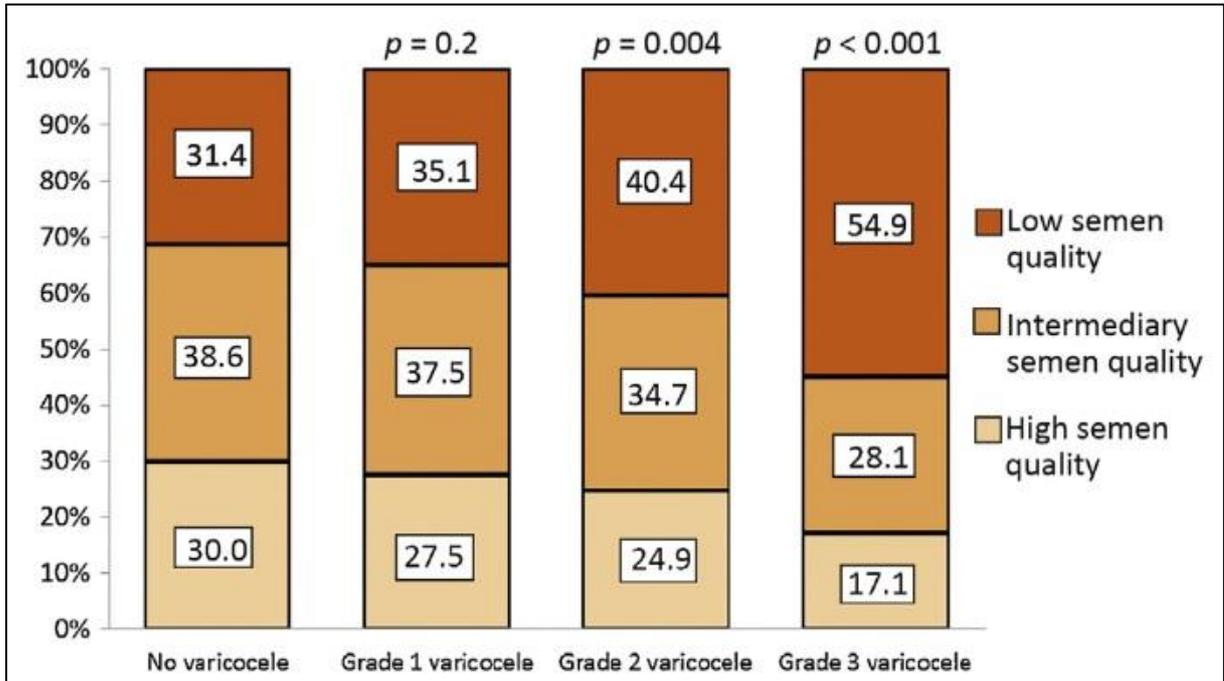
A varicocele está associada à espermatozóides que apresentam níveis baixos de ácidos graxos ômega-3, e aumento nos danos por estresse oxidativo. A razão ômega-6:ômega-3 se mostrou maior em homens inférteis com varicocele, associada a níveis mais elevados de oxidação do DNA espermático, quando comparados aos indivíduos normais do grupo controle, sugerindo que a deficiência de ácidos graxos ômega-3 pode estar associada a infertilidade relacionada a varicocele (TANG et al., 2014).

Um estudo avaliou a relação entre um marcador da função epididimal (a-glicosidase neutra ou NAG) e a fragmentação do núcleo espermático e a integridade e maturidade da membrana espermática em pacientes com ou sem varicocele, chegando a conclusão de que a varicocele causa uma redução na atividade de NAG pelo epididimio, que está associada à dano tanto na membrana quanto no núcleo espermático, mostrando portanto dano nos testículos e no epididimio (ACEVEDO; HERNANDEZ; CAMEJO, 2014).

Em um estudo seccional-cruzado com 7035 jovens adultos do sexo masculino, realizado na Europa em 6 países distintos (Dinamarca, Finlândia, Alemanha, Estônia, Letônia, e Lituânia), entre o ano de 1996 a 2010, onde 1102 (15,7%) dos homens apresentavam varicocele em graus entre 1 a 3, foi analisado a relação entre os graus de varicocele e a qualidade espermática. Os resultados demonstraram que desde o grau 1, uma alta porcentagem de homens com varicocele apresentaram baixa qualidade do sêmen, que mesmo não sendo estatisticamente relevante, já mostra os efeitos negativos da varicocele no sêmen. A porcentagem de homens com varicocele e baixa qualidade seminal foi relacionada positivamente com o grau da varicocele, sendo que no grau 3, acima de 50% dos homens tinham baixa qualidade seminal, enquanto somente 17% tinham alta qualidade. Nos homens sem varicocele, cerca de 30% apresentou baixa qualidade seminal, e 30% alta qualidade, enquanto o restante ficou na faixa intermediária (DAMSGAARD et al., 2016). Devido ao alto número de participantes, o estudo torna-se relevante demonstrando uma relação

entre o grau da varicocele e a qualidade seminal, sendo que quanto maior o grau, menor é a qualidade seminal, como demonstrado na figura 4.

Figura 4. Comparação da qualidade seminal de 1102 homens com varicocele (grau 1, 2, e 3) e 5933 homens sem varicocele.



Fonte: Damsgaard et al., 2016, p. 1024.

Um estudo utilizou o ginseng vermelho Koreano na dose de 1,5g/dia em pacientes que apresentavam varicocele e infertilidade associada, devido as suas características antioxidantes observadas in vitro, demonstrando que a suplementação nesta dose durante 12 semanas, melhorou a concentração, motilidade, morfologia e viabilidade dos espermatozoides, apesar do mecanismo ainda ser desconhecido (PARK, H.; CHOE; PARK, N., 2015),

Outro estudo avaliou a eficácia do tratamento com escina na qualidade dos espermatozoides em pacientes chineses, com infertilidade associada a varicocele. A dose oral administrada foi de 60mg/dia, sendo 30mg a cada 12hs, durante dois meses, sendo um grupo controle, e outro grupo realizou cirurgia. Após os tratamentos, o grupo que realizou cirurgia teve a maior porcentagem de melhora nos parâmetros espermáticos, seguido do grupo da escina, sendo que ambos apresentaram diferença significativa comparados ao grupo controle, demonstrando eficácia no tratamento com escina em pacientes com infertilidade associada a varicocele (FANG et al., 2010).

As concentrações de selênio (Se), zinco (Zn) e cobre (Cu) são indispensáveis para o funcionamento normal dos espermatozoides. Um estudo onde foi avaliada a concentração destes elementos em homens com varicocele, notou uma relação entre os níveis de selênio e os parâmetros do espermograma, e não dos outros elementos. Uma baixa concentração de selênio foi associada a baixa concentração, motilidade e defeitos na morfologia dos espermatozoides (CAMEJO et al., 2011).

2.2.7 Infecções

Infecções do trato urinário de homens são responsáveis por 15% dos casos de infertilidade (PELLATI et al., 2008). Segundo um estudo, o principal microrganismo isolado de pacientes do sexo masculino que apresentam infecção do trato urinário ou no sêmen, é a *Escherichia coli*, influenciando a motilidade (DIEMER et al., 2003). Os TLR (toll-like receptors) são receptores de reconhecimento, expressos em células imunes como neutrófilos e macrófagos, responsáveis pela detecção de patógenos e pelo início da cascata da resposta imune inata. A ação bactericida dos macrófagos depende em parte, da formação de espécies reativas de oxigênio, que são produzidos principalmente pela ação das mitocôndrias próximas aos fagócitos (WEST et al., 2011).

Os TLR iniciam uma cascata de transcrição de genes pró-inflamatórios, a fim de proteger o organismo contra os patógenos, podendo em contrapartida diminuir a motilidade dos espermatozoides via sinalização através do MyD88 (fator mielóide de diferenciação 88), PI3K (fosfatidilinositol-3-kinase) e GSK-3^{alfa} (glicogênio sintase kinase-3^{alfa}) (ZHU; XIAO; LIN, 2015), estimulando fatores de transcrição como NF- κ B, o qual estimula a produção de diversas citocinas pró-inflamatórias incluindo TNF (fator de necrose tumoral), IL-1 (interleucina-1) e IL-6 (interleucina-6). Os TLR são ativados por lipopolissacarídeos (LPS) de microrganismos, e quando ativados desordenadamente, pode causar dano tecidual devido as citocinas pró-inflamatórias liberadas, as quais têm a função de matar o microrganismo, mas acaba atingindo os tecidos do próprio organismo (WAN; LENARDO, 2010).

Em um estudo realizado por Moretti e colaboradores (2009) onde 1256 homens tiveram amostras de sêmen avaliadas, primariamente devido a desordens de fertilidade, além de 20 indivíduos controle comprovadamente férteis, as principais

bactérias encontradas foram *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus anginosus* e *Morganella morganii*, mostrando que a presença de bactérias no sêmen é frequente, e pode estar associada à leucocitoespermia e consequentemente à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, gerando estresse oxidativo que acaba afetando a integridade dos espermatozoides.

Além de bactérias, outros microrganismos como vírus e protozoários também parecem ter efeito deletério sobre qualidade dos espermatozoides. Um estudo de caso controle utilizou dados de casais que frequentaram um centro de fertilidade na tentativa de realizar uma fertilização in vitro, cujos parceiros do sexo masculino eram positivos para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B, demonstrando que nesses casos, a taxa de fertilização era baixa, quando comparado aos homens que eram negativos para o vírus (OGER et al., 2011).

Outro trabalho avaliou a integridade e função da membrana dos espermatozoides, através dos níveis de ROS, peroxidação lipídica pelos níveis de malondialdeído (MDA), capacidade antioxidante total (TAC), e a externalização de fosfatidilserina, na presença da proteína S do vírus da hepatite B (HBs). Os resultados demonstraram que exposição a HBs pode gerar ROS, peroxidação lipídica redução da TAC, externalização da fosfatidilserina, ativação das caspases e fragmentação do DNA, resultando em um aumento da apoptose e perda da integridade da membrana, causando disfunções nos espermatozoides (KANG et al, 2012).

As caspases (proteases específicas de citeinil-aspartato), são expressas como proenzimas que participam de uma cascata de reações, em resposta a sinais próapoptóticos., sendo importantes para que a espermatogênese ocorra de forma correta (SAID et al, 2004).

Outro problema são as doenças parasitárias provocadas por protozoários, que ocorrem endemicamente em diversas áreas do mundo, com potencial de diminuir a contagem de espermatozoides, além de causar lesões nos órgãos genitais femininos, podendo estar relacionado à uma parte dos casos de infertilidade principalmente em países em desenvolvimento (SHIADEH et al., 2016).

2.2.8 Produção de energia e estresse oxidativo

Todas as células sob condição aeróbia, produzem espécies reativas de oxigênio (ROS), que estimulam as defesas antioxidantes do organismo quando produzidas em quantidade controlada (FREIN et al., 2005; AGARWAL; SALEH; BEDAIWY, 2003). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção excessiva de ROS e as defesas anti-oxidantes do organismo, resultando em danos teciduais em lipídios, proteínas, DNA e carboidratos, podendo também causar apoptose de células germinativas em ratos (ERKEKOGLU et al., 2012).

O estresse oxidativo é um dos principais fatores associados à disfunção espermática, presente em diversas patologias e condições adversas de saúde. As substâncias oxidantes interferem na função espermática através da peroxidação lipídica da membrana celular, além da fragmentação do DNA, que acaba culminando em disfunção espermática e conseqüentemente, em infertilidade (ATIG et al., 2012; AITKEN; DE IULLIS, 2010).

Devido à existência de espécies reativas de oxigênio, os humanos evoluíram com um sistema antioxidante altamente eficaz e desenvolvido, capaz de proteger o organismo contra estas moléculas altamente reativas. Este sistema é composto por diversos componentes, endógenos e exógenos, que funcionam em sinergia para neutralizar os radicais livres. Os de origem exógena incluem antioxidantes derivados de nutrientes como os polifenóis, o beta caroteno, vitamina C e E, e fitonutrientes presentes em uma ampla variedade de plantas. Os de origem endógena incluem enzimas antioxidantes como a bilirrubina, tióis, ubiquinonas, e ácido úrico, além de proteínas ligadoras de ferro como a albumina, ferritina, ceruloplasmina e mioglobina (SAINI R.; SAINI S.; SHARMA, 2010) e enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase dependente de Zn/Cu (SOD1), superóxido dismutase dependente de manganês (SOD2), superóxido dismutase extracelular (SOD3), catalase (CAT), glutathiona peroxidase dependente de selênio (GPx), entre outras (MIAO; ST CLAIR, 2009; AMES; ATAMMA; KILLILEA, 2005).

Em baixas quantidades, porém, a produção de ROS é necessária para que os espermatozoides consigam realizar a fertilização do óvulo (FERRAMOSCA et al., 2013). Em aproximadamente metade dos homens com infertilidade, o estresse oxidativo ocorre de maneira exacerbada, demonstrando uma possível relação com o quadro (TREMELLEN, 2008; AGARWAL; MAKKER; SHARMA, 2008).

A membrana plasmática dos espermatozoides é composta por uma alta concentração de ácidos graxos polinsaturados (PUFA), tornando-a mais suscetível peroxidação lipídica. Uma forma de avaliar o grau de peroxidação lipídica é através dos níveis de peróxidos lipídicos, principalmente o malondialdeído (MDA). Segundo um estudo realizado com homens com astenozoospermia, os níveis de MDA no plasma seminal eram muito maiores nestes indivíduos, quando comparados aos homens normozoospermicos, servindo como uma ferramenta diagnóstica para avaliar danos por peroxidação lipídica em homens com astenozoospermia (TAVILANIA; MAHMOUD; HOJATOLLAH, 2005).

As mitocôndrias são consideradas as usinas elétricas das células, produzindo ATP através da força próton motriz, gerada pela redução de elétrons que ocorre na cadeia transportadora de elétrons. A energia obtida na cadeia transportadora de elétrons é utilizada para lançar os prótons H^+ contra o gradiente de concentração, do citoplasma para o espaço intermembrana, os quais retornam para o citoplasma através da ATP-sintase, gerando ATP e finalizando a cadeia transportadora de elétrons (PERRY et al., 2011).

É na mitocôndria onde a maior parte do ATP do organismo é produzido, dando origem a uma grande quantidade de radicais livres e moléculas antioxidantes (KOPPERS; DE IULIIS; FINNIE, 2008). Através da fosforilação oxidativa (OXPHOS) que ocorre na mitocôndria, reações enzimáticas com moléculas de oxigênio e hidrogênio, reduzem o oxigênio para produzir energia, gerando radicais livres (VALKO et al., 2007).

Um estudo avaliou o consumo de oxigênio pelas mitocôndrias em espermatozoides humanos, identificando uma relação com a motilidade. O consumo de oxigênio pelas mitocôndrias está relacionado a maior atividade das mesmas, sendo necessário para que os espermatozoides tenham uma motilidade eficiente. Uma baixa atividade mitocondrial foi encontrada em amostras cuja motilidade estava comprometida. Além disso, espermatozoides que apresentavam alterações morfológicas na região mediana, onde se localizam as mitocôndrias, também tiveram a motilidade progressiva comprometida. Estes dados apontam para a importância das mitocôndrias na motilidade, devido ao suprimento de ATP através da fosforilação oxidativa (FERRAMOSCA et al., 2012).

As mitocôndrias necessitam de ter suas defesas funcionando corretamente, a fim de neutralizar os radicais livres produzidos pela sua atividade normal. Para que isso aconteça de forma eficiente, as enzimas antioxidantes utilizam minerais como catalizadores de suas reações, como o manganês, necessário para a superóxido dismutase mitocondrial (SOD2), e selênio para a glutatona peroxidase (GPx), os quais devem ser ingeridos em quantidade adequada, evitando deficiências que podem alterar o funcionamento dessas enzimas, e diminuir suas atividades protetoras. Além desses metais, diversos outros nutrientes são necessários para que as mitocôndrias funcionem de forma eficiente, como o ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), piridoxina (B6), cobalamina (B12), biotina (B7), ácido pantotênico (B5), ácido alfa lipóico, riboflavina (B2), tiamina (B1), niacina (B3), folato (B9), magnésio, sódio, potássio, cálcio, sendo importante uma ingestão adequada para evitar deficiências que podem vir a comprometer as reações necessárias para produção de ATP (AMES; ATAMMA; KILLILEA, 2005). As vitaminas no complexo B em especial, são essenciais para a atividade das enzimas mitocondriais, tendo efeito direto sobre a respiração aeróbia e produção de energia, caso deficientes na dieta, a suplementação pode ser indicada como uma alternativa eficaz para otimizar os níveis dessas vitaminas (DEPEINT et al., 2006).

O estresse oxidativo pode afetar a respiração mitocondrial, e conseqüentemente diminuir a capacidade de locomoção dos espermatozóides. Este mecanismo pode ser um dos fatores responsáveis pelo comprometimento da capacidade de fertilização dos espermatozoides, por diminuir a síntese de ATP mitocondrial, sendo que a motilidade está positivamente correlacionada com a respiração mitocondrial, e negativamente correlacionada com o estresse oxidativo e a fragmentação do DNA. (FERRAMOSCA et al., 2013).

Os efeitos deletérios do estresse oxidativo nos espermatozoides são responsáveis por cerca de 30 a 80% dos casos de subfertilidade masculina (SHOWELL et al., 2011). A composição da membrana plasmática dos espermatozoides é composta por altos níveis de PUFA, que contribuem para a fluidez essencial durante a fertilização, mas que acabam sendo o principal alvo para a peroxidação lipídica causada por ROS (WATHES; ABAYASEKARA; AITKEN, 2007).

As mitocôndrias paternas presentes nos espermatozóides, apesar de serem degradadas dentro do zigoto, parecem desempenhar um papel muito importante

durante o processo de fertilização do óvulo, devido tanto ao suprimento de ATP, quanto à produção de espécies reativas de oxigênio em níveis controlados, que favorecem os espermatozoides (AMARAL et al., 2013).

Níveis excessivos de ROS no fluido seminal como superóxido, peróxido de hidrogênio, óxido nítrico, peroxinitrito e radical hidroxila, produzidos principalmente pelas mitocôndrias dos espermatozoides (KOPPERS; DE IULIIS; FINNIE, 2008), podem comprometer as defesas antioxidantes do organismo, e causar lesão celular ou até mesmo apoptose (HALLIWELL, 2006).

Outra fonte importante de radicais livres são os leucócitos, quando em grande quantidade no fluido seminal (leucocitoespermia), geralmente a motilidade dos espermatozoides é comprometida. Um estudo realizado por Lackner e colaboradores (2006) demonstraram que a inibição de produção de prostaglandinas E2 pró-inflamatórias, através da inibição farmacológica da ciclooxigenase-2 (COX-2), resultou em uma diminuição da leucocitoespermia, com aumento concomitante na contagem de espermatozóides no fluido seminal.

Além de lesar a membrana plasmática dos espermatozóides, comprometendo a motilidade e a habilidade de se fundir ao oócito, a produção excessiva de ROS pode causar lesão a nível de DNA, resultando na transmissão de DNA paterno defeituoso para o feto (TREMELLEN, 2008).

A motilidade dos espermatozoides também parece ser altamente dependente da glicólise (MIKI et al., 2004). Uma das enzimas da glicólise é a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), responsável pela catalização da oxidação do gliceraldeído-3-fosfato para gerar 1,3-difosfoglicerato, que ocorre na primeira etapa da fase de pagamento da glicólise (NELSON; COX, 2014). Nos espermatozoides, existe uma isoforma distinta da GAPDH denominada de gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase S (GAPDHS) (SEXTON et al., 2011). Foi demonstrado que a baixa motilidade de espermatozoides pode ocorrer devido à oxidação dos grupos-SH da GAPDHS, resultando em perda da função e redução da motilidade, sendo que nos espermatozoides avaliados, os mais lentos apresentavam entre 2,5 a 3 vezes menos expressão de GAPDH do que os mais rápidos, fortalecendo a hipótese (ELKINA et al., 2011).

Um estudo avaliou a resposta da adição de piruvato exógeno em espermatozoides

humanos incubados, mostrando que aumentou significativamente a produção de ATP intracelular, a motilidade progressiva e a hiperativação. Foi utilizado um bloqueador da cadeia transportadora de elétrons para avaliar o grau de contribuição do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), notando que não afetou a produção de ATP. Uma segunda análise utilizando um bloqueador da enzima lactato desidrogenase (LDH), gerou um efeito que reduziu drasticamente os níveis de ATP. Outros marcadores bioquímicos analisados demonstraram que o aumento na produção de ATP era concomitante com a utilização da via glicolítica anaeróbica, e não do ciclo do ácido tricarboxílico, sendo que praticamente todo o piruvato adicionado foi convertido em lactato. De acordo com os dados desse estudo, a idéia de que os espermatozoides utilizam primariamente a energia produzida pelos processos oxidativos é errônea, e a glicólise é a principal via para fornecer energia para a motilidade e capacitação. O trato reprodutivo feminino contém quantidades significativas de piruvato, condizentes com as utilizadas no estudo, contribuindo com a motilidade e capacidade de fertilização dos espermatozoides em humanos (HERENG et al., 2011).

A progesterona possui efeitos estimuladores da atividade dos espermatozoides, e já se mostrou altamente importante durante o processo de fertilização. Um dos mecanismos conhecido é a indução da entrada de cálcio nos espermatozoides através dos canais de cálcio CATSPER, que aumenta o potencial de membrana mitocondrial e conseqüentemente a produção de energia e mobilização. A presença de progesterona no trato reprodutivo feminino é de grande importância levando em consideração esta contribuição para a produção de energia nos espermatozoides (TANTIBHEDHYANGKUL et al., 2014).

O Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) é um fator de risco para a saúde reprodutiva, e já foi encontrado que cerca de 35% de homens com DM2 apresentavam alguma forma de infertilidade ou subfertilidade. Levando em consideração que a glicose é altamente requerida para as funções energéticas e anabólicas, e depende de um bom funcionamento do metabolismo para ser utilizada pelas células, os indivíduos que apresentam DM2 têm uma baixa eficiência na sua utilização, podendo acarretar em problemas por todo o organismo incluindo o sistema reprodutivo (VIGNERA et al., 2012).

Em um estudo experimental, baixas concentrações de peróxido de hidrogênio (10-

100uM) foram adicionadas à amostras de fluido seminal de humanos, demonstrando uma resposta de ativação da defesa anti-oxidante dos espermatozoides. O mecanismo suposto é que o peróxido de hidrogênio ative o caminho da pentose-fosfato, resultando na síntese de NADPH com redução da glutathiona oxidada pela glutathiona redutase, formando glutathiona reduzida (GSH). A GSH ajuda a reduzir os resíduos de cisteína do sítio ativo da GAPDS, aumentando a capacidade anti-oxidante da enzima (EVDOKIMOV et al., 2015).

Uma análise com 300 homens, que participavam de um programa de fertilização in vitro dosou a atividade da glutathiona peroxidase (GPX) no plasma seminal através de espectrofotometria, demonstrando uma diminuição significativa nos níveis de GPX nas amostras que apresentavam astenozoospermia, oligozoospermia e teratozoospermia, quando comparadas com as amostras normais, porém não houve relação com as taxas fertilização in vitro (CRISOL et al, 2012).

Diversos mecanismos sinalizadores são necessários para que as células regulem seus processos e mantenham-se viáveis durante o funcionamento normal, e principalmente durante as divisões celulares. Os espermatozoides possuem uma proteína denominada fucosiltransferase-5 (sFUT-5), localizada na região do acrossoma. A sFUT-5 é uma proteína de membrana ligadora de carboidratos, que se mostrou importante na interação com as células epiteliais do oviducto, sendo que esta interação favorece a sobrevivência dos espermatozoides, e consequentemente a capacidade de fertilização. Este estudo foi realizado com o objetivo de criar alguma alternativa para proteger os espermatozoides contra os danos gerados durante a criopreservação de sêmen, sendo que esta técnica reduz o número de espermatozoides viáveis, quando comparados com antes do congelamento. Neste estudo, foram utilizadas culturas de células imortalizadas do oviducto (OE-E6/E7), as quais apresentam características bastante similares às células epiteliais normais do oviducto. As proteínas destas células foram extraídas e adicionadas em um meio com espermatozoides humanos, a fim de identificar o grau de interação com a sFUT-5. Outros testes foram realizados avaliando o grau de peroxidação lipídica dos espermatozoides, fragmentação do DNA, produção intracelular de espécies reativas de oxigênio, além da atividade da SOD e GPx espermáticas, chegando a conclusão que a interação do sFUT-5 com as proteínas de membrana das células epiteliais do oviducto protegem os espermatozoides contra o dano oxidativo, aumentando a

viabilidade reprodutiva. Seguindo esta lógica, o estudo testou se a adição de um substrato da sFUT-5, a asialofetúina, exerceria efeitos protetores, mostrando que também reduziu a produção de espécies reativas de oxigênio, conferindo proteção aos espermatozoides (HUANG et al., 2015).

A acroleína está presente em alimentos aquecidos e no meio ambiente. Reações químicas como a desidratação do glicerol pelo calor, quebra de carboidratos desidratados, peroxidação lipídica de ácidos graxos polinsaturados (PUFA), e degradação metionina e treonina, são responsáveis pela formação de acroleína. A queima de combustíveis fósseis, e de biodiesel também é uma importante fonte de acroleína no ambiente, sendo que a prática de fumar tabaco pode aumentar em até duas vezes a exposição a acroleína, podendo superar todas as outras fontes, demonstrando um significativo fator de risco para os efeitos adversos da acroleína no organismo (STEVENS; MAIER, 2008).

Um estudo realizado com ratos testou o efeito da acroleína na função mitocondrial, chegando a conclusão de que a mesma age como uma toxina, com efeito inibitório dose-dependente na cadeia respiratória, ligado a NADH, além de causar mudança na transição da permeabilidade mitocondrial, aumento de carbonilas e inibição seletiva de enzimas do complexo I, II, piruvato desidrogenase, alfa-cetoglutarato desidrogenase, levando a disfunção mitocondrial (SUN et al., 2006). A Acroleína demonstrou efeito oxidativo sobre as células, inibindo o caminho do Nrf2, além de diminuir diretamente as defesas antioxidantes (LIU et al., 2007). Estes efeitos são desastrosos sendo que a acroleína está presente em diversas fontes, e a falta de informação a respeito da mesma acaba deixando a população vulnerável, principalmente os fumantes que se expõem a todo momento a doses altas de acroleína via inalação da fumaça. A inibição do Nrf2 é um fator preocupante sendo que grande parte das defesas antioxidantes e enzimas detoxificantes do organismo são mediadas por esta via (OSBURN; KENSLER, 2008; STEVENS; MAIER, 2008).

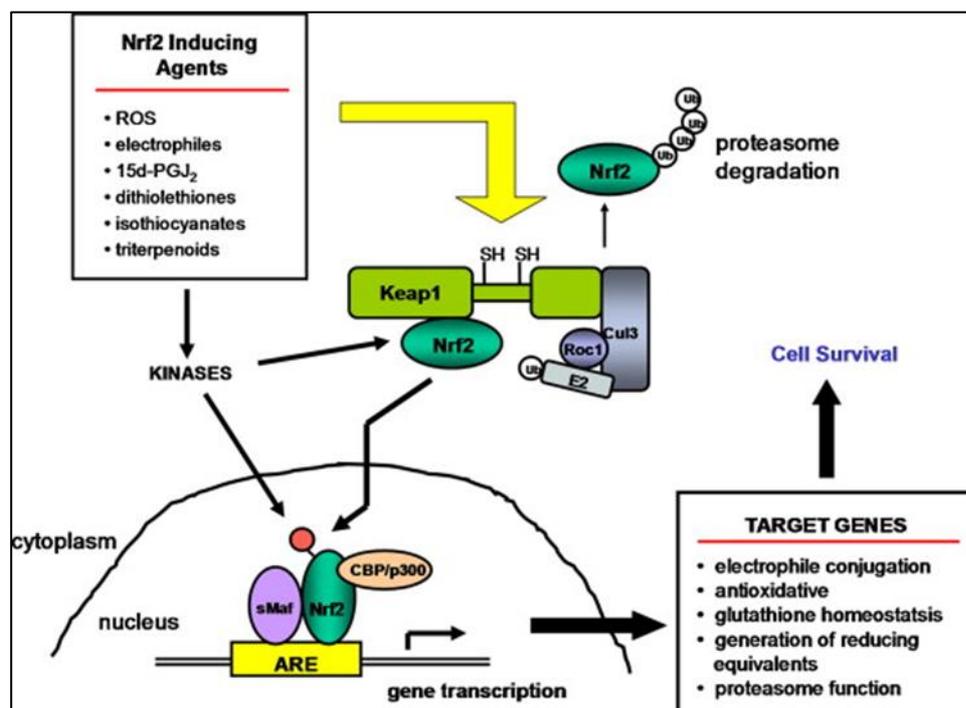
2.2.8.1 Fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2)

O Nrf2 é um fator de transcrição que reconhece o elemento de resposta antioxidante (ARE) na região promotora dos genes alvo, ativando uma cascata de enzimas antioxidantes e desintoxicantes (Glutathione-S-transferase, epóxido hidroxilase,

NADPH-quinona óxidoreductase, UDP-glucoronil-transferase, aldéido desidrogenase, aldo-ceto-redutase, glutationa redutase, peroxiredoxina, tioredoxina, tioredoxina redutase, catalase, superóxido dismutase dependente de Zn/Cu e glutationa peroxidase) (KWAK et al., 2003),.

O Nrf2 permanece no citoplasma da célula, ligado a uma proteína chamada Keap-1, e para ser ativado, deve ser dissociado da mesma para conseguir entrar no núcleo, e realizar sua atividade de indução da transcrição de genes na região promotora do elemento de resposta antioxidante (ARE). A via do Nrf2 pode ser ativada por diversos estímulos endógenos e exógenos, incluindo os glicosinolatos, encontrados nas crucíferas, que devem antes sofrer a ação da mirosinase, uma enzima que metaboliza os glicosinolatos em isotiocianatos (sulfurofanos), os quais ativam diretamente a via do Nrf2. Outros estímulos incluem espécies reativas de oxigênio (ROS), eletrófilos, prostaglandinas, triterpenóides, além de metais pesados, xenobióticos eletrofílicos, e outros compostos, como a epigallatocatequina galato, encontrada no chá verde (OSBURN; KENSLER, 2008; THANGAPANDIYAN; MILTONPRABU, 2015). Alguns mecanismos para ativação do Nrf2 estão demonstrados na figura 5.

Figura 5. Ativação do Nrf2 e ação no elemento de resposta antioxidante.



Fonte: Osburn; Kensler, 2008, p. 33.

O Nrf2 regula a transcrição de genes que codificam enzimas antioxidantes, as quais são importantes para evitar danos por estresse oxidativo. Um trabalho feito com homens astenoespérmicos e oligoespérmicos, identificou 3 polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em regiões promotoras do gene para Nrf2, e foram relacionados a uma menor expressão do mRNA - Nrf2, com consequente queda da expressão dos mRNAs para GSTM1 e SOD2. Foi também relacionado a ocorrência de oligoastenoespermia com uma menor atividade da SOD no plasma seminal. Todos os dados do estudo demonstraram uma relação entre SNPs no gene do Nrf2 e oligoastenoespermia, mostrando a importância desta via na espermatogênese (YU et al., 2012).

Um estudo recente identificou um novo caminho para explicar a ação antiinflamatória resultante da ativação do Nrf2. Nos ensaios realizados, foi identificado que o Nrf2 se ligou a regiões próximas aos genes responsáveis pela liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-1b), nos macrófagos, impedindo o recrutamento da RNA-polimerase 2, e consequentemente inibindo a liberação destas citocinas. Este mecanismo abre um novo caminho para a ação antiinflamatória resultante da ativação dessa via, contribuindo com uma base molecular para o desenvolvimento de novos estudos e estratégias antiinflamatórias, sendo que, além do mecanismo previamente conhecido, onde o Nrf2 se liga aos elementos de resposta antioxidante do gene, ativando as enzimas de fase 2, destoxicantes e antioxidantes, agora existe um novo mecanismo, com interferência direta na transcrição de citocinas pró-inflamatórias, exercendo efeito antiinflamatório independente do seu efeito antioxidante (KOBAYASHI et al., 2016).

Outro estudo realizado com células epiteliais pigmentadas da retina (RPE), avaliou o efeito do licopeno sobre estresse oxidativo e inflamação, que são as principais injúrias associadas a degeneração macular relacionada a idade. As RPE foram cultivadas e expostas a estresse oxidativo, sendo que foi adicionado licopeno em algumas culturas, para medir o grau do seu poder antioxidante. Os resultados demonstraram que o licopeno atenuou o estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio (H₂O₂), além de inibir a adesão e transmigração de leucócitos por inibir o fator de adesão ICAM-1 induzido pelo TNF- α , provavelmente devido a inibição do NF- κ B. O licopeno demonstrou ativar a via do Nrf2, confirmado pela alta atividade

transcricional encontrada. A atividade antiinflamatória do composto deve-se ao mecanismo de ativação do Nrf2 (YANG et al., 2016).

Culturas de células humanas do epitélio pigmentar da retina (EPR), ARPR19 e feitos (hf)RPE foram tratadas com acroleína para testar a toxicidade, mostrando que doses agudas excedendo 50 μ M em 24 horas, causou toxicidade, incluindo diminuição na viabilidade das células, potencial mitocondrial, GSH, na capacidade antioxidante, expressão de Nrf2, atividade enzimática mitocondrial, além de aumentar os níveis de oxidantes, carbonilas, e cálcio. O pré-tratamento das ARPR19 e (hf)RPE com ácido R- α -lipoico, se mostrou efetivo na proteção da toxicidade causada pela acroleína, demonstrando uma melhora na disfunção mitocondrial. Esses experimentos indicam que antioxidantes alvo para a mitocôndria, como o ácido lipóico, podem ser uma estratégia efetiva na redução e prevenção da degeneração crônica por oxidação das células do EPR. (JIA et al., 2007).

Foi realizado um estudo com 55 homens que apresentavam astenoespermia e oligoespermia, e 65 no grupo controle, onde avaliou-se os níveis de mRNAs de 4 genes importantes para o sistema antioxidante do organismo, e também para a espermatogênese. Os genes avaliados foram Nrf2 (fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2), CAT (catalase), GSTM1 (glutathione-S-transferase Mu 1) e SOD2 (superóxido dismutase isoenzima 2). Os resultados obtidos demonstraram baixa concentração de mRNAs do gene Nrf2, sem diferença significativa nos outros. Foi notada uma relação significativa entre os níveis de expressão de mRNAs de Nrf2 e os parâmetros dos espermatozoides, incluindo concentração, motilidade progressiva, imotilidade, vitalidade e morfologia, além de estar relacionado a níveis baixos de CAT e SOD2. Esses dados mostram a importância do Nrf2 na espermatogênese, podendo servir como um biomarcador para infertilidade. Isso demonstra que a formação de radicais livres durante a espermatogênese deve ser controlada, e que as enzimas antioxidantes contribuem para a integridade do processo, por ajudarem a neutralizar os radicais livres produzidos. (CHEN et al., 2012).

2.3 INTERVENÇÃO NUTRICIONAL NA INFERTILIDADE MASCULINA

Terapias empíricas como a suplementação com multivitaminas são seguras e têm respaldo científico. Terapias farmacológicas como inibidores de aromatase, terapia de hCG (gonadotrofina coriônica humana) e moduladores de receptores de estrógenos, geralmente são utilizados efetivamente para modular os níveis de testosterona e, potencialmente exercer efeito benéfico sobre a qualidade do fluido seminal (RING; LWIN; KOHLER, 2016).

O estilo da dieta parece ter efeito direto nos espermatozoides. Um estudo de caso-controle testou se a simples adição de 75 gramas/dia de nozes, na dieta estilo ocidental de jovens do sexo masculino, entre 21 a 35 anos de idade, melhoraria os parâmetros do espermograma. Após 12 semanas, níveis séricos de ômega-3 e 6 aumentaram no grupo que consumiu as nozes, assim como os parâmetros de vitalidade e motilidade dos espermatozoides, melhorando até a morfologia dos mesmos (ROBBINS et al., 2012).

Foi realizado um estudo cruzado e observacional com 188 homens entre 18-22 anos de idade, para avaliar se o padrão alimentar tinha algum impacto no parâmetros do espermograma. O padrão ocidental que incluía pizzas, um alto consumo de carne vermelha e processada, grãos refinados, refrigerantes e doces, não se mostrou associado com nenhum parâmetro, enquanto o padrão alimentar “prudente” caracterizado por alto consumo de peixes, frango, frutas, vegetais e cereais integrais, mostrou uma relação somente com a motilidade dos espermetazóides, ficando 11,4% melhor em homens no quartil superior, quando comparados aos do quartil inferior do padrão dietético “prudente” (GASKINS et al., 2012).

Em um estudo, foram dosados os níveis de zinco (Zn) e ferro (Fe) no fluido seminal de humanos, assim como a atividade da superóxido dismutase (SOD), notando uma maior quantidade de Fe em fluidos seminais de homens que apresentavam teratozoospermia, do que em homens com espermatozoides de morfologia adequada, sugerindo que o Fe possa influenciar na morfologia dos espermatozoides. A atividade da SOD se mostrou relacionada a motilidade e concentração de espermatozoides e volume de sêmen, podendo melhorar o diagnóstico de infertilidade masculina (WRÓBLEWSKA et al., 2011).

Estudos apontam que o consumo de uma dieta mais saudável, está relacionado a melhora de pelo menos um parâmetro do espermograma, e que uma dieta com alta exposição de alimento lipofílicos, isoflavonas da soja a doces, diminui a qualidade

dos espermatozoides, possivelmente por causar estresse oxidativo e também pelos efeitos estrogênicos das isoflavonas e outros fitoestrógenos, afetando a potencial reprodutivo masculino (GIAHI et al., 2016).

Um total 215 estudantes jovens e saudáveis participaram de um estudo cruzado, onde responderam a um questionário de frequência alimentar validado, e doaram uma amostra de sêmen para análise. A motilidade total dos espermatozoides teve relação com o consumo de antioxidantes como criptoxantina, vitamina C, licopeno e b-caroteno, enquanto o volume do sêmen aumentou com as ingestões mais elevadas de vitamina C, mostrando um efeito benéfico dos antioxidantes na dieta (ALARCÓN et al., 2012).

O abacate (*Persea americana*), é uma fruta que contém inúmeros fitoquímicos e antioxidantes, incluindo a glutathione, além de quantidades significativas de diversos nutrientes como, fibras dietéticas, magnésio, potássio, colina, luteína/zeaxantina, vitamina C, vitamina E, vitamina K1, vitamina B9, B6, niacina, riboflavina, ácido pantotênico, e ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) (DREHER; DAVENPORT, 2013).

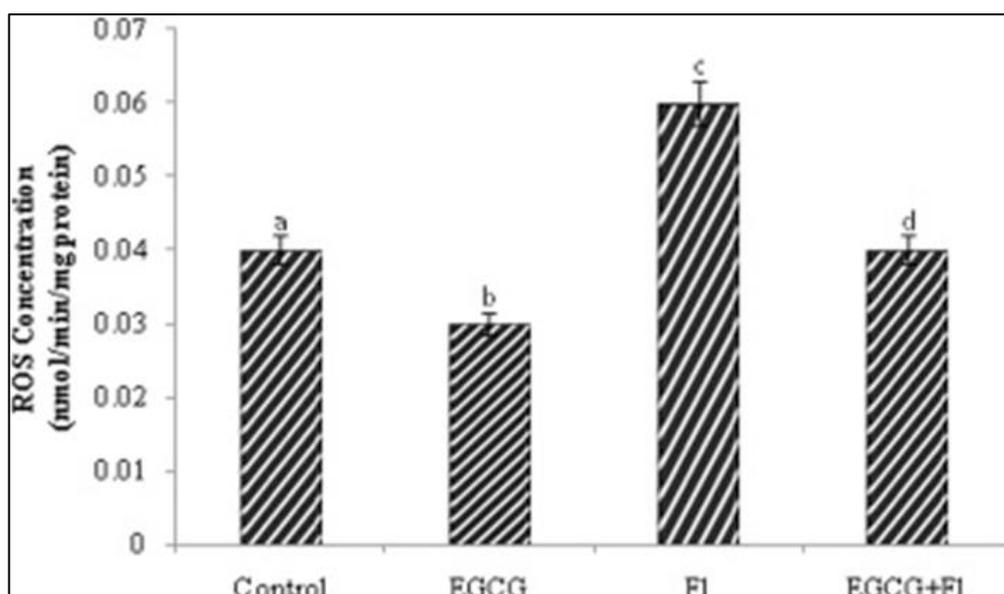
O consumo de alimentos como frutas e vegetais, ricos em nutrientes e componentes bioativos, tem se mostrado mais eficiente na promoção da saúde e bem estar do que suplementos alimentares. Isso se dá devido efeitos sinérgicos que ocorrem entre os diversos componentes presentes nos alimentos, o que não ocorre nos suplementos, onde os compostos são geralmente isolados (LIU, 2013).

Alguns suplementos nutricionais obtiveram resultados positivos na fertilidade masculina quando testados em estudos controle randomizados, os quais incluem a coenzima Q10, glutathione, selênio, zinco e folato combinados, ômega-3, escina (YAO; MILLS, 2016).

Em um estudo feito com ratos tratados com estreptozotocina para desenvolverem pré-diabetes, foi testado se a ingestão de chá branco (*Camellia sinensis* L.) alterava de alguma forma o metabolismo da glicose e conseqüentemente dos espermatozoides, demonstrando que após o consumo de chá branco, os efeitos negativos do pré-diabetes foram melhorados, provavelmente devido ao alto teor de fitoquímicos presentes, como as catequinas e a cafeína, que possuem efeitos antioxidantes e hipoglicemiantes (DIAS et al., 2016).

Um estudo foi feito com 24 ratos do sexo masculino divididos em 4 grupos, onde o grupo 1 era o grupo controle, o grupo 2 foi tratado com epigalocatequina galato (40mg/kg de peso), o grupo 3 foi tratado com um solução de NaF (25mg/kg de peso) por 4 semanas, e o grupo 4 foi tratado com epigalocatequina galato via intravenosa 90 minutos antes de receber a solução com NaF (25mg/kg de peso) durante 4 semanas, para avaliar o efeito da epigalocatequina galato na toxicidade testicular causada pelo flúor. Os resultados demonstraram que a epigalocatequina galato teve efeito protetor, reduzindo os danos causados pelo excesso de flúor, principalmente relacionados ao estresse oxidativo, como mostrado na figura 6. Os cortes histológicos confirmaram os efeitos deletérios da intoxicação pelo flúor, como atrofia dos tubos seminíferos, perda da camada de células espermatogênicas, além da falta de espermatozoides na região central. A administração da epigalocatequina galato, reduziu a toxicidade do flúor, provavelmente devido suas propriedades antioxidantes, além de sua ação antiinflamatória, regulando para baixo a liberação de citocinas pró-inflamatórias mediadas pelo NF-kb, prevenindo também eventos apoptóticos, regulando para cima a expressão de Bcl-2. Sua ação antioxidante foi comprovada pela expressão aumentada da via do Nrf2 e dos elementos de resposta antioxidante (ARE) (THANGAPANDIYAN; MILTONPRABU, 2015).

Figura 6. Efeito da EGCG no estresse oxidativo (ROS) causado por FI nos ratos do grupo controle e do grupo experimental



Fonte: Thangapandiyan; Miltonprabu, 2015, p. 275.

Foi testado o efeito da suplementação de óleo da semente de *Nigella sativa L.* sobre a qualidade do fluido seminal de homens em um estudo randomizado duplo-cego controle com placebo, realizado com iranianos inférteis com baixa motilidade e contagem de espermatozoides. Após 2 meses de suplementação, com uma dose de 2,5mL 2 vezes ao dia por 2 meses, o grupo tratado demonstrou melhora na contagem, motilidade e morfologia, além de aumento do volume do sêmen e melhora no pH, comparado com o grupo controle (KOLAHDOOZ et al., 2014).

O antioxidante Menevit, que contém licopeno, vitamina E, vitamina C, zinco, selênio, folato e alho, foi administrado por 3 meses antes do ciclo de fertilização in vitro das suas parceiras, melhorando a taxa de gravidez comparado com placebo (TREMELLEN et al., 2007)

A L-carnitina suplementada por 2 meses, na dose de 2g/dia em homens inférteis com astenoespermia, causou melhora na motilidade e concentração de espermatozoides, em um estudo randomizado com placebo (LENZI et al., 2003).

A astaxantina é um pigmento vermelho com propriedade fotoprotetora, pertencente a família dos carotenoides, conhecida por diversas propriedades benéficas. Um estudo realizado com voluntários com espermogramas normais, demonstrou uma melhora na atividade espermática com o uso da astaxantina, mostrando que este pigmento pode ser utilizado para diminuir a infertilidade masculina idiopática (ADRISANI et al., 2015).

2.3.1 Selênio

O selênio é um nutriente necessário para o desenvolvimento testicular, espermatogênese e função dos espermatozoides. A principal ação do selênio é agir como um antioxidante, através da glutathione peroxidase selênio dependente, protegendo as membranas celulares e organelas de dano oxidativo. Um estudo avaliou se a suplementação diária de 200 ug selênio e 400UI de vitamina E, em 690 homens com astenoteratoespermia idiopática, por pelo menos 100 dias consecutivos, causava alguma mudança nos parâmetros do espermograma e na taxa de gravidez dos casais. Houve uma melhora nos parâmetros em 52,6% dos casos, e ocorrência de gravidez espontânea em 10,8%, mostrando que a suplementação combinada desses dois nutrientes foi efetiva e pode ser usada em

homens diagnosticados com astenoteratoespermia e astenoespermia idiopática (MOSLEMI; TAVANBAKHSI, 2011).

2.3.2 Zinco (Zn)

Os níveis de Zn no plasma seminal são maiores do que nos outros tecidos do organismo. O Zn desenvolve um papel importante no desenvolvimento dos testículos, e níveis baixo têm sido associados a hipogonadismo, diminuição do volume testicular, atrofia dos túbulos seminíferos e desenvolvimento inadequado de características sexuais secundárias. Além disso, o Zn é necessário para o funcionamento da SOD citoplasmática dependente de Cu/Zn (EBISCH et al., 2007).

Um estudo analisou as concentrações de Zn no plasma seminal de homens férteis e inférteis, notando uma relação positiva entre a concentração e a qualidade dos espermatozoides. Foi concluído que uma dieta pobre em Zn, pode ser um fator de risco importante para baixa qualidade de espermatozoides na infertilidade masculina idiopática (COLAGAR; MARZONY; CHAICHI, 2009).

O Zn presente em alimentos de origem animal, geralmente possui uma biodisponibilidade melhor do que os de origem vegetal, devido a possível presença de fitatos, que inibem a absorção de Zn no intestino (JOUNG et al., 2004).

2.3.3 Ácidos graxos trans

Os ácidos graxos trans são ácidos graxos insaturados com pelo menos uma ligação dupla na parte trans, ao invés da ligação cis que geralmente ocorre (NELSON; COX, 2014). As fontes dietéticas são primariamente alimentos que contém óleos vegetais parcialmente hidrogenados, e produtos alimentícios industrializados, além de estarem naturalmente presentes em pequenas quantidades em carnes de ruminantes e leite. Um estudo realizado com um número reduzido de participantes notou que, a presença de ácidos graxos trans no fluido seminal estava inversamente relacionada à concentração de espermatozoides, chamando atenção para este tipo de gordura na dieta (CHAVARRO et al., 2011).

Um grupo de 209 jovens entre 18 a 23 anos de idade, estudantes de uma universidade na Espanha, responderam a um questionário de frequência alimentar e

doaram uma amostra de sêmen, e após a análise, foi vista uma relação inversa entre o consumo de ácidos graxos trans, provenientes principalmente de batatas fritas e produtos comercialmente preparados, com a contagem de espermatozoides, mostrando os efeitos negativos da gordura trans na saúde reprodutiva masculina (CHAVARRO et al., 2014).

2.3.4 Ômega-3

Um estudo avaliou a composição da ácidos graxos no sangue e espermatozoides de homens inférteis que apresentavam oligoastenoespermia, notando que os níveis de ácidos graxos ômega-3 eram mais baixos nesses indivíduos, quando comparados com homens férteis (SAFARINEJAD et al., 2010).

Os ácidos graxos ômega-3 são ácidos graxos polinsaturados (PUFA) essenciais, obtidos através da dieta. Os principais ômega-3 PUFA são o ácido docosahexaenóico (DHA), ácido eicosapentanóico (EPA), e ácido α -linolênico (ALA), e fazem parte de todas as membranas celulares, mantendo as propriedades das bicamadas lipídicas (FAROOQUI, A.; HORROCKS; FAROOQUI, T., 2000). Os ácidos graxos ômega-3 também são reconhecidos como antioxidantes (HODGE et al., 2006).

Em um estudo de caso preliminar cruzado, a ingestão de gordura saturada foi negativamente relacionada à concentração de espermatozoides, enquanto a ingestão mais alta de ômega-3 se relacionou positivamente com a morfologia (ATTAMAN et al., 2012).

Alguns trabalhos demonstram que uma insuficiência de DHA pode gerar astenoespermia, comprometendo a motilidade dos espermatozoides (FURIMSKY et al., 2005), mostrando a importância de uma ingestão adequada de ácidos graxos polinsaturados ômega-3.

Um estudo avaliou a relação entre ômega-6/ômega-3 no plasma seminal de homens inférteis e férteis como grupo controle, além dos níveis de enzimas antioxidantes como catalase e superóxido dismutase (SOD). A relação ômega-6/ômega-3 foi significativamente mais alta nos homens inférteis do que no grupo controle, mostrando uma alta relação de ácido araquidônico/ácido docosahexaenóico que deixa a membrana mais suscetível à inflamação, e liberação de prostaglandinas E2,

além do estresse oxidativo (DENNIS et al, 2011). Além disso, as enzimas antioxidantes avaliadas foram mais baixas nos pacientes inférteis, mostrando uma relação significativa entre os níveis de SOD e catalase, e os parâmetros dos espermatozoides como concentração, motilidade e morfologia. Houve também uma relação significativa entre os ácidos graxos ômega-3 e as atividades da SOD e catalase, demonstrando que uma alta proporção de ácidos graxos ômega-6 no plasma seminal é uma característica distinta de homens inférteis (DENNIS et al, 2011; SAFARINEJAD et al., 2010).

A composição de ácidos graxos da membrana de espermatozóides de homens apresentando subfertilidade foi avaliada em um estudo. Os resultados revelaram que na astenozoospermia, oligozoospermia e oligoastenozoospermia, os níveis de DHA eram menores do que na normozoospermia. Além disso, também foi notado que a razão ômega-6:ômega-3 era significativamente mais alta na astenozoospermia. Os ácidos graxos saturados (SFA), se mostraram aumentados na astenozoospermia e na oligozoospermia, e os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) foram mais altos na oligozoospermia. Estes resultados sugerem que a diminuição de DHA e PUFA em geral, além do aumento da razão ômega-6:ômega-3 nos espermatozoides pode estar relacionados a infertilidade em homens que apresentam oligo e/ou astenozoospermia (AKSOY et al., 2006).

238 homens com oligoastenoteratoespermia idiopática foram recrutados para um estudo onde receberam uma suplementação de 1,84g de ácidos graxos ômega-3 (EPA e DHA) ao dia ou placebo por 32 semanas, sendo que no final do tratamento, houve melhora significativa nos parâmetros do espermograma no grupo do ômega-3, como contagem total, concentração e motilidade, além de aumento das enzimas antioxidantes no plasma seminal, mostrando um benefício na suplementação de ômega-3 em homens com oliastenoteratoespermia (SAFARINEJAD, 2011).

Um estudo realizado com pacientes com câncer, mostrou que a suplementação de óleo de peixe como fonte de ácidos graxos ômega-3, aumentou as enzimas antioxidantes do plasma e das células vermelhas, como a catalase, glutathione redutase, e SOD, melhorando a recuperação pós quimioterapia (MANSARA et al., 2015).

A inflamação é uma importante resposta celular, podendo porém, causar dano tecidual associado a diversas doenças inflamatórias. Metabólitos provenientes dos

PUFA são de grande importância metabólica, uma vez que alguns são mediadores do início da resposta inflamatória aguda, e outros da resolução da inflamação. Os PUFA são ácidos graxos com múltiplas duplas ligações, com cadeias de 18 a 22 carbonos, e estão presentes nas membranas celulares, controlados por diversas enzimas (ROBICHAUD; SURETTE, 2015).

O ômega-3 e ômega-6 são considerados essenciais pois não podem ser sintetizados *de novo*. O ácido araquidônico (ômega-6) é precursor de inúmeros lipídios bioativos como os leucotrienos, prostaglandinas, tromboxanos e ácidos epoxyeicotrienóicos, que são geralmente próinflamatórios, mas também podem dar origem a lipoxinas que agem na resolução da inflamação (SMITH; URADE; JAKOBSSON, 2011).

Os ácidos graxos ômega-3, DHA e EPA, são precursores de mediadores lipídicos que incluem as resolvinas, protectinas e maresinas, sendo que a transformação desses precursores em lipídios bioativos, envolve a sua liberação dos fosfolipídios da membrana, seguido por uma oxigenação controladas pelas lipooxigenases, ciclooxigenases e enzimas do citocromo p450, e ainda transformações enzimáticas por transferases, isomerases e hidrolases (BUCKLEY; GILROY; SERHAN, 2014).

Enzimas da família da fosfolipase A2 (PLA₂), que podem ser intra ou extracelulares, catalisam a hidrólise de glicerofosfolipídios para liberar ácidos graxos livres e lisofosfolipídios das membranas celulares, e são dependentes de Ca²⁺. As PLA₂ estão relacionadas a processos bioquímicos como o metabolismo do ácido araquidônico e remodelamento da membrana. O ácido araquidônico acaba sendo precursor de prostaglandinas (PG) bioativas e leucotrienos (LT) nas membranas celulares (MURAKAMI et al, 2011).

2.3.5 Ácido alfa lipoico (ALA)

O ácido alfa lipoico (ALA) funciona como uma coenzima para as enzimas piruvato desidrogenase e a-cetoglutarato desidrogenase na mitocôndria (STUART et al., 2014), e age como antioxidante, sendo reduzido a ácido dihidrolipóico (DHLA), com propriedade ainda mais antioxidante. Ambas moléculas participam de diversas atividades no organismo, como quelação de metais de transição, prevenção de peroxidação lipídica da membrana e danos a proteínas, através de interações com a glutathione (GRASSO et al., 2014; ALI et al., 2015).

Um estudo triplo cego randomizado controle com placebo, realizado em uma clínica de infertilidade, testou a suplementação de 600mg de ALA ou placebo por 12 semanas, demonstrando ao final do estudo, que os parâmetros como contagem, concentração e motilidade dos espermatozoides no grupo da intervenção, foram significativamente maiores do que no grupo controle. Além disso, os níveis seminais de antioxidantes e malondialdeído obtiveram uma melhora significativa no grupo suplementado. No entanto, não houve mudança significativa no volume de ejaculação, morfologia e espermatozóides vivos (HAGHIGHIAN, et al. 2015).

2.3.6 Coenzima Q10

A Coenzima Q10 (ubiquinona) é reconhecida como co-fator fundamental para o funcionamento das proteínas desacopladoras na mitocôndria, e também pela sua ação antioxidante abrangente. Na sua forma reduzida, o ubiquinol (CoQH₂), inibe a peroxidação lipídica, além de reduzir a oxidação de proteínas e DNA (LITTARRU; TIANO, 2007).

A principal ação bioquímica da ubiquinona é servir como cofator na cadeia transportadora de elétrons em uma série de reações de redução, necessárias para a síntese eficaz de trifosfato de adenosina (ATP), tornando a ubiquinona essencial para os órgãos e tecidos, e está presente abundantemente em órgãos como o coração, pulmão, fígado, rins, pâncreas, baço e glândulas adrenais. Além disso, é um dos mais importantes antioxidantes de lipídeos, evitando o estresse oxidativo de forma bem eficiente (SAINI, 2011).

Em dois estudos distintos, realizados com pacientes que apresentavam astenozoospermia idiopática, foi demonstrado que a administração exógena de CoQ10 aumentou significativamente os níveis na forma CoQ10 e ubiquinol no fluido seminal e nos espermatozoides, além de melhorar a motilidade, principalmente nos pacientes que apresentavam níveis de CoQ10 e de motilidade em valores mais inferiores (BALERCIA et al., 2009).

Em outro estudo, a suplementação de Coenzima Q10, na dose de 200mg/dia, dividido em duas doses durante 6 meses, em homens inférteis com astenozoospermia idiopática, aumentou significativamente os níveis de CoQ₁₀ no plasma seminal, e também nas células espermáticas, além de melhorar

significativamente a motilidade, sem alterar a concentração ou morfologia (LITTARRU; TIANO, 2007). Não existe evidência de que a suplementação oral de CoQ10 aumente o número de nascidos vivos ou a taxa de gravidez, porém está associada à melhora nos parâmetros do fluido seminal (LAFUENTE et al, 2013).

Porém em outro estudo duplo cego controle com placebo, um total de 47 homens inférteis que apresentavam oligoastenoteratozoospermia foram aleatoriamente escolhidos para receber 200mg de CoQ10/dia ou placebo durante um período de 12 semanas, chegando a conclusão que houve melhora no estresse oxidativo, mas sem afetar significativamente os parâmetros do espermograma (NADJARZADEH et al., 2011).

2.3.7 Hidroxitirosol (HTS)

O azeite de oliva contém diversos polifenóis com propriedades terapêuticas. O hidroxitirosol (HTS) é um dos polifenóis encontrados abundantemente, e têm recebido atenção devido a crescentes evidências dos seus efeitos benéficos no organismo. Um estudo investigou os efeitos protetores do HTS na toxicidade causada pela acroleína nas células epiteliais de pigmento da retina, mostrando que o HTS é também um antioxidante mitocondrial, e que a administração dietética de HTS pode prevenir a degeneração nessa linha de células, induzida por tabagismo ou envelhecimento, como a degeneração macular associada à idade (LIU et al., 2007).

A concentração plasmática de HTS em sua forma livre ainda é de difícil detecção pelas técnicas atuais. Uma única técnica foi desenvolvida recentemente por Pastor e colaboradores (2016) e é a única até o momento que se diz ser capaz de detectar os níveis plasmáticos de HTS livre de forma eficiente, abrindo as portas para estudos futuros relacionarem os níveis plasmáticos aos efeitos benéficos à saúde.

Um estudo com 21 voluntários analisou a urina de 24 horas, após a administração de HTS, para avaliar sua biodisponibilidade e excreção. Os indivíduos tiveram que se abster de azeite de oliva e etanol por 7 dias antes do início do estudo. Os resultados mostraram que o HTS em forma de nutracêutico, tem uma boa biodisponibilidade, e que seu principal metabólito excretado é o hidroxitirosol-3-sulfato (HTS-S-3). Foi recuperado na urina entre 21 a 28% da dose administrada via oral (KHYMENETS et al., 2016).

A ingestão de etanol parece estar relacionada a produção endógena de HTS. Um total 24 homens saudáveis foram incluídos em um estudo, onde o objetivo era avaliar níveis urinários de HTS e tirosol após a administração de etanol. Os participantes receberam doses entre 6 a 42g de etanol, e foram avaliados durante um período de 6 horas. A excreção de HTS e tirosol aumentou de acordo com a dose de etanol administrada, comprovando a ocorrência de síntese endógena destes polifenóis (MAÑÁ et al., 2015).

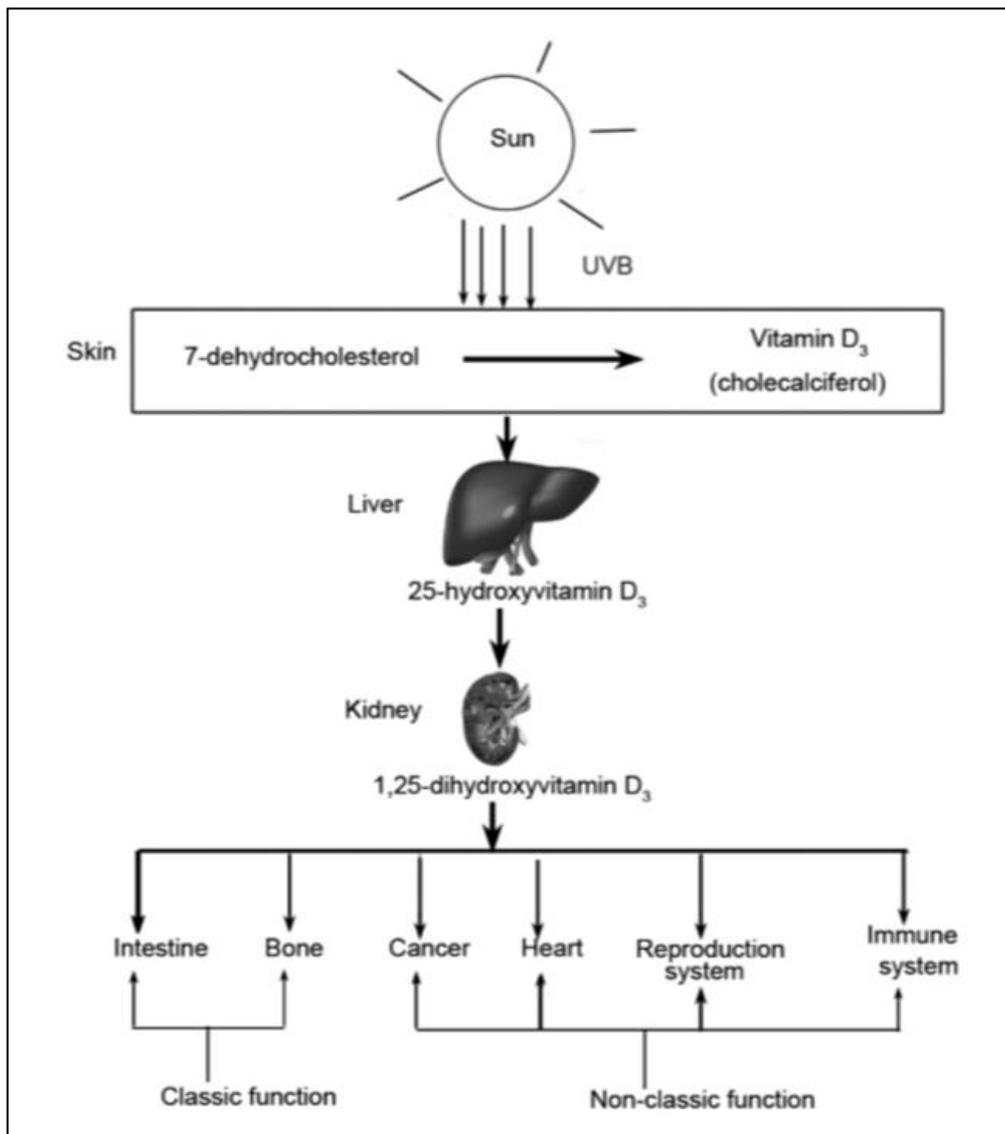
2.3.8 Vitamina D

Em um estudo piloto com o sêmen coletado de 10 homens férteis, foi realizada a técnica de imuno-histoquímica com anticorpos monoclonais para o receptor de vitamina D (VDR) humano, com o objetivo de identificar a presença de VDR. Os resultados demonstraram claramente e possivelmente pela primeira vez a presença destes receptores nos espermatozoides. A cabeça e a parte mediana foram os locais predominantes (CORBETT; HILL; NANGIA, 2006).

No sistema reprodutivo masculino, a vitamina D foi demonstrada ser responsável por diversas ações mediadas pelo receptor de vitamina D (VDR), incluindo a regulação da transcrição de vários genes envolvidos na atividade mitótica do núcleo das espermatogônias, afetando o metabolismo dos espermatozoides, controlando a síntese de estrogênio pelas gônadas, além de aumentar o cálcio intracelular e ativar diversas vias de sinalização. Portanto, a insuficiência de vitamina D, em homens que apresentam oligoespermia e astenoespermia, pode ser um fator a ser levado em consideração, sendo a suplementação recomendada nesses casos. A síntese endógena de vitamina D depende da exposição da pele ao sol (raios UVB), onde o 7-deidrocolesterol é convertido em vitamina D₃, que pode também ser obtida através da dieta. A vitamina D₃ é então convertida pela 25-a-hidroxilase, enzima presente principalmente no fígado, em 25(OH)D₃, a qual sofre outra conversão nos rins pela ação da 1-a-hidroxilase, gerando a 1,25(OH)₂D₃, a forma ativa da vitamina D, como mostrado na figura 7. Para exercer seu efeito, a vitamina D depende da heterodimerização do VDR com o receptor retinoide X (RXR), o qual necessita de vitamina A (YAN, et al. 2015).

Um outro estudo avaliou a relação entre o status de vitamina D sérica e a fragmentação do DNA espermático, chegando a conclusão de que não houve diferença significativa ao comparar os grupos dos deficientes, dos insuficientes e dos repletos de vitamina D. Outro dado obtido mostrou uma relação positiva entre os níveis séricos de vitamina D e defeitos na cabeça dos espermatozoides, sendo que, na medida em que aumentavam-se os níveis séricos, aumentavam-se também os defeitos nas cabeças (RUBAL et al., 2012).

Figura 7. O caminho metabólico da vitamina D e suas funções.



Fonte: Yan, et al, 2015, p. 165

No mundo ocidental, a prevalência de insuficiência de vitamina D (<50 nM) em adultos é bastante alta. Um estudo feito com o fluido seminal de 300 homens, avaliou a relação entre os níveis séricos de vitamina D (25(OH)D) e os parâmetros

do sêmen, estratificando os homens em deficientes (<25 nmol/L), insuficientes (25 até 50 nmol/L), suficientes (>50 nmol/L) e com nível alto (>75 nmol/L). Um total de 44% dos homens foram classificados como insuficientes para vitamina D, e tiveram mais defeitos e menor motilidade progressiva e total, quando comparados aos homens que apresentavam níveis séricos mais altos de vitamina D. Além deste teste in vivo, também foi realizado um teste in vitro com 40 amostras, onde foi adicionado a vitamina D em sua forma ativa (1,25 (OH)₂ D₃), notando que a adição aumentou entre 5 a 10 vezes os níveis de cálcio intracelular, além de aumentar a motilidade e estimular a reação do acrossoma. Os investigadores avaliaram os níveis séricos de vitamina D nestes homens ao longo do ano, notando uma variação de acordo com a estação, sendo que no inverno foram obtidos os menores valores quando comparado com as outras estações do ano (JENSEN et al., 2011).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo buscou informações na literatura científica sobre o efeito do estresse oxidativo na qualidade do sêmen em homens. A infertilidade e subfertilidade masculina podem contribuir com até 50% dos casos de infertilidade de casais, sendo importante um correto diagnóstico para nortear o tratamento e evitar frustrações em casais que lutam contra este problema.

A espermatogênese é o processo no qual são produzidos espermatozoides maduros que são divididos em cabeça e cauda. A cabeça contém o acrossoma e o núcleo com a cromatina altamente condensada. A cauda possui uma grande quantidade de mitocôndrias na parte mediana, as quais estão reacionadas a geração de ATP através da respiração aeróbia e cadeia transportadora de elétrons, gerando grandes quantidades de radicais livres. Além disso, o alto teor de PUFA nas membranas dos espermatozoides os deixa mais susceptíveis a danos por estresse oxidativo.

Diversos fatores como disruptores endócrinos, pesticidas, poluentes ambientais, tabagismo, polimorfismos genéticos, varicocele, infecções, hábitos alimentares e, estado nutricional são responsáveis pela perda da viabilidade dos espermatozoides em homens, sendo quase sempre associado a níveis elevados de radicais livres e diminuição nas defesas antioxidantes de acordo com resultados laboratoriais dos trabalhos analisados. Enzimas antioxidantes e destoxicantes como a Glutathione-S-transferase, epóxido hidroxilase, NADPH-quinona óxidoreductase, UDP-glucuronil-transferase, aldéido desidrogenase, aldo-ceto-redutase, glutathione redutase, peroxiredoxina, tioredoxina, tioredoxina redutase, catalase, superóxido dismutase dependente de Zn/Cu e glutathione peroxidase são ativadas pelo fator de transcrição Nrf2 (fator nuclear 2 relacionado ao fator eritróide 2), mostrando a importância dessa via. Os estudos demonstraram que indivíduos com polimorfismos relacionados ao Nrf2 ou a alguma enzima antioxidante tinham diminuição em algum parâmetro do espermograma.

Diversos nutrientes estão relacionados a atividade mitocondrial e as defesas antioxidantes, e devem estar em níveis adequados no organismo. O selênio é necessário para a GPx, o zinco e o cobre são necessários para a SOD1 citoplasmática, enquanto manganês é necessário para a SOD2. As mitocôndrias necessitam das vitaminas do complexo B e ácido alfa lipóico para funcionarem de

forma correta, além da CoQ10 que é essencial na cadeia transportadora de elétrons para produzir ATP, o qual é ligado ao magnésio. A vitamina D está ligada a diversas funções incluindo o metabolismo de cálcio nos espermatozoides, já que foram encontrados receptores VDR nos mesmos. Níveis insuficientes de vitamina D ou muito acima foram associados à baixa qualidade do sêmen.

Padrões alimentares com alimentos industrializados e ricos em gordura trans foram associados a diminuição nos parâmetros do espermograma, enquanto dietas mais saudáveis, com níveis mais elevados de nutrientes e fitoquímicos, foram associadas a parâmetros mais favoráveis. A razão ômega 3/6 da dieta parece ser de grande importância para evitar o estresse oxidativo, tanto pelo efeito antioxidante e na composição das membranas, diminuindo o processo inflamatório agravado pela COX2.

Portanto, de acordo com a literatura pesquisada, o estresse oxidativo parece ser o principal fator, e está presente em praticamente todas as condições que afetam a saúde dos espermatozoides, podendo ser amenizado através de uma intervenção nutricional antioxidante, utilizando alimentos, nutrientes específicos, e compostos bioativos com potencial antioxidante e que dêem suporte para o funcionamento mitocondrial. A redução do consumo de alimentos ricos em gorduras trans e saturadas, aumento no consumo de ômega-3 e ômega-9, além de diminuir a exposição aos disruptores endócrinos, poluentes ambientais e tabaco pode melhorar a qualidade seminal de homens. A ativação da via do Nrf2 se dá através de diversos estímulos endógenos e exógenos, que incluem a ingestão de crucíferas, atividade física, licopeno, epigallocatequina galato, entre outros, sendo extremamente importante para estimular as enzimas detoxificantes e antioxidantes do organismo, e deve ser encorajada. Foi demonstrado que a suplementação com os nutrientes essenciais e compostos bioativos antioxidantes pode melhorar os parâmetros do espermograma, e que uma alimentação equilibrada e antioxidante exerce grande influência, sendo essas intervenções indispensáveis para dar suporte ao tratamento de infertilidade ou subfertilidade masculina, seja por causa definida ou idiopática. Apesar dos trabalhos analisados não terem avaliado a taxa de fertilização após os tratamentos, a melhora na função dos espermatozoides após o uso de estratégias antioxidantes já demonstra os efeitos deletérios do estresse oxidativo na qualidade do sêmen de homens.

REFERÊNCIAS

- ABU-HALIMA M.; LUDWIG N.; HART M. et al. Altered micro-ribonucleic acid expression profiles of extracellular microvesicles in the seminal plasma of patients with oligoasthenozoospermia. **Fertility and Sterility**, v. 106, n. 5, p. 1061-1069.e3, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028216613857>>. Acesso em: 22 ago. 2016.
- ACEVEDO, G. V.; HERNÁNDEZ, R. L.; CAMEJO, M. I. Varicocele decreases epididymal neutral α -glucosidase and is associated with alteration of nuclear DNA and plasma membrane in spermatozoa. **British Journal Of Urology International**, v. 113, p. 642–649, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24148354>>. Acesso em: 16 jun. 2016.
- AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SIKKA, S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. **Current Opinion in Obstetrics & Gynecology**, v. 18, n. 3, p. 325 – 332, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16735834>>. Acesso em: 01 nov. 2016.
- AGARWAL, A.; HAMADA, A.; ESTEVES, S. C. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. **Nature Reviews Urology**, v. 9, p. 678-690, 2012. Disponível em: <[http://androfert.com.br/img/File/nrurol_2012_197%20\(part%201\).pdf](http://androfert.com.br/img/File/nrurol_2012_197%20(part%201).pdf) >. Acesso em: 13 mar. 2016.
- AGARWAL, A.; MAKKER, K.; SHARMA R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. **American Journal Of Reproductive Immunology**, v. 59, p. 2–11, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18154591>>. Acesso em: 22 ago. 2016.
- AGARWAL, R. A.; SALEH, M. A.; BEDAIWY. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. **Fertility and Sterility**, v. 79, p. 829–843, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12749418>>. Acesso em: 22 ago. 2016.
- AITKEN, R. J.; DE IULIIS, G. N. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. **Molecular Human Reproduction**, v. 16, p. 3–13, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19648152>>. Acesso em: 26 jun. 2016.
- AKSOY, Y.; AKSOY, H.; ALTINKAYNAK K. et al. A. Sperm fatty acid composition in subfertile men. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, n.

2, p. 75-79, 2006. Disponível em: <[http://www.plefa.com/article/S0952-3278\(06\)00096-2/abstract?cc=y=>](http://www.plefa.com/article/S0952-3278(06)00096-2/abstract?cc=y=>)>. Acesso em: 08 mar. 2016.

AL-ALI, B. M.; GUTSXHI, T.; PUMMER, K. et al. Body mass index has no impact on sperm quality but on reproductive hormones levels. **Andrologia**, v. 46, p. 106–11, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23176091>>. Acesso em: 20 fev. 2016.

ALARCÓN, M. L.; MENDIOLA, J.; LÓPEZ-ESPÍN, J. J. et al. Dietary intake of antioxidant nutrients is associated with semen quality in young university students. **Human Reproduction**, v. 27, n. 9, p. 2807-1, Sep, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22752607>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

ALI, Y. F.; DESOUKY, O. S.; SELIM, N. S. et al. Assessment of the role of α -lipoic acid against the oxidative stress of induced iron overload. **Journal Of Radiation Research Applied Science**, v. 8, p. 26–35, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687850714001113>>. Acesso em: 27 mar. 2016.

AMARAL, A.; LOURENÇO, B.; MARQUES, M. et al. Mitochondria functionality and sperm quality. **Reproduction**, v. 146, n. 5, p. 163 – 174, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23901129>>. Acesso em: 18 mai. 2016.

AMES, B. N.; ATAMMA, H.; KILLILEA, D. W. Mineral and vitamin deficiencies can accelerate the mitochondrial decay of aging. **Molecular Aspects of Medicine**, v.26, p. 363 – 378, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16102804>>. Acesso em: 03 mar. 2016.

ANDRISANI, A.; DONÀ, G.; TIBALDI, E. et al. Astaxanthin Improves Human Sperm Capacitation by Inducing Lyn Displacement and Activation. **Marine Drugs**, v. 13, n. 9, p. 5533 – 5551, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26308013>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

ANWAY, M. D.; CUPP, A. S.; UZUMCU, M. et al. Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility. **Science**. v. 308, n. 5727, p. 1466-1469, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15933200>>. Acesso em: 14 ago. 2016.

ANWAY, M. D.; SKINNER, M. K. Epigenetic programming of the germ line: effects of endocrine disruptors on the development of transgenerational disease. **Reproductive Biomedicine**, v. 16, n. 1, p. 23–25, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18252044>>. Acesso em: 14 ago. 2016.

ATIG, F.; RAFFA, M.; HABIB, B. A. et al. Impact of seminal trace element and glutathione levels on semen quality of Tunisian infertile men. **BioMed Central Urology**, v. 12, n. 6, 2012. Disponível em: <<http://bmcurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2490-12-6>>. Acesso em: 08 jul. 2016.

ATTAMAN, J. A.; TOTH, T. L.; FURTADO, J. et al. Dietary fat and semen quality among men attending a fertility clinic. **Human Reproduction**, v. 27, n. 5, p. 1466-74, May, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22416013>>. Acesso em: 13 mar. 2016.

AUSIO, J.; EIRIN-LOPEZ, J. M.; FREHLICK, L. J. Evolution of vertebrate chromosomal sperm proteins: implications for fertility and sperm competition. **Society for Reproduction and Fertility**, v. 65, p. 63–79, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17644955>>. Acesso em: 17 jul. 2016

AVENARIUS, M. R. et al. Human male infertility caused by mutations in the CATSPER1 channel protein. **American Journal of Human Genetics**, v. 84, p. 505-510, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2667975/>>. Acesso em: 22 ago. 2016.

BALERCIA, G.; MANCINI, A.; PAGGI, F. et al. Coenzyme Q10 and male infertility. **Journal of endocrinological investigation**, v. 32, n. 7, p. 626-32, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19509475>>. Acesso em: 08 jul. 2016.

BARBONETTI A.; CASTELLINI, C.; GIAMMARCO N. D. et al. In vitro exposure of human spermatozoa to bisphenol A induces pro-oxidative/apoptotic mitochondrial dysfunction. **Reproductive Toxicology**, v. 66, p. 61-67, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623816303483>>. Acesso em: 16 jun. 2016.

BASHAMBOO A.; SOUZA, F. D. B.; LOURENÇO, D. et al. Human male infertility associated with mutations in NR5A1 encoding steroidogenic factor 1. **The American Journal of Human Genetics**, v. 87, p. 505–512, October, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20887963>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

BENCHMARK, F.; JONGENEELLEN, J. guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Annals of Occupational Hygiene**. v. 45, p. 3–13, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11137694>>. Acesso em: 17 mai. 2016.

BERGAMO P.; VOLPE M. G.; LORENZETTI S.; et al. Human semen as an early, sensitive biomarker of highly polluted living environment in healthy men: A pilot biomonitoring study on trace elements in blood and semen and their relationship with sperm quality and RedOx status. **Reproductive Toxicology**, v. 66, p. 1-9, 2016.

Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623816303057>>. Acesso em: 21 mai. 2016.

BOISSONNAS, C. C. et al. Epigenetic disorders and male subfertility. **Fertility and Sterility**, v. 99, n. 3, March, 2013. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23714437>>. Acesso em: 12 abr. 2016.

BOSETTI, C.; BOFFETTA, P.; LA VECCHIA, C. Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons, and respiratory and urinary tract cancers: a quantitative review to 2005. **Annals of Oncology**, v. 18, p. 431–446, 2007.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16936186>>. Acesso em: 01 abr. 2016.

BRASIL, DECRETO Nº 4.074, DE 4 DE JANEIRO DE 2002. Disponível em:

<<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=515>>. Acesso em: 12 abr. 2016.

BRAVO, A.; TREULEN, F.; URIBE, P. et al. Effect of mitochondrial calcium uniporter blocking on human spermatozoa. **Andrologia**, v. 47, n. 6 p. 662 -668, 2015.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25059641>>. Acesso em: 05 mai. 2016.

BREITBART, H.; ETKOVITZ, N. Role and regulation of EGFR in actin remodeling in sperm capacitation and the acrosome reaction. **Asian Journal of Andrology**, v. 1, n. 1, p. 106–110, 2011. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21200378>>. Acesso em: 03 abr. 2016.

BRIEÑO-ENRÍQUEZ M. A.; LARRIBA E.; MAZO J. D. Endocrine disrupters, microRNAs, and primordial germ cells: a dangerous cocktail. **Fertility and Sterility**, v. 106, n. 4, p. 871-879, 2016. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001502821662530X>>. Acesso em: 07 abr. 2016.

BUCKLEY, C. D.; GILROY, D. W.; SERHAN. C. N. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. **Immunity**, v. 40, p. 315–327, 2014. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24656045>>. Acesso em: 17 set. 2016.

BUFFONE, M. G.; WERTHEIMER, E. V.; VISCONTI, P. E. et al. Central role of soluble adenylyl cyclase and cAMP in sperm physiology. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 12, p. 2610–2620, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25066614>>. Acesso em: 25 set. 2016.

BURTON, K. A.; MCKNIGHT, G. S. PKA, germ cells, and fertility. **Physiology**, v. 22, p. 40–46, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17289929>>. Acesso em: 01 set. 2016.

CAMEJO, M. I.; ABDALA, L.; VIVAS-ACEVEDO, G. et al. Selenium, copper and zinc in seminal plasma of men with varicocele, relationship with seminal parameters. **Biological Trace Elements Research**, v. 143, p. 1247–1254, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21240565>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

CARAFOLI, E. The fateful encounter of mitochondria with calcium: how did it happen? **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 595–606, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20385096>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

CARRELL, D. T.; ASTON, K. I.; OLIVA, R. et al. The “omics” of human male infertility: integrating big data in a systems biology approach. **Cell and Tissue Research**, v. 363, p. 295–312, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26661835>>. Acesso em: 29 out. 2016.

CASPERSEN, I. H.; AASE, H.; BIELE, G. et al. The influence of maternal dietary exposure to dioxins and PCBs during pregnancy on ADHD symptoms and cognitive functions in Norwegian preschool children. **Environment International**, v. 94, p. 649 – 660, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27424260>>. Acesso em: 19 abr. 2016.

CHAVARRO, J. E.; FURTADO, J.; TOTH TL, F. J. et al. Trans-fatty acid levels in sperm are associated with sperm concentration among men from an infertility clinic. **Fertility and Sterility**, v. 95, n. 5, p.1794-1797, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21071027>>. Acesso em: 21 abr. 2016.

CHAVARRO, J. E.; MÍNGUEZ-ALARCÓN, L.; MENDIOLA, J. et al. “Trans fatty acid intake is inversely related to total sperm count in young healthy men,” **Human Reproduction**, v. 29, n. 3, p. 429–440, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24419496>>. Acesso em: 29 set. 2016.

CHEN, K.; MAI, Z.; ZHOU, Y. et al. Low NRF2 mRNA Expression in Spermatozoa from Men with Low Sperm Motility. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 228, n. 3, p. 259-266, 2012. Disponível em:

<https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem/228/3/228_259/_article>. Acesso em: 29 out. 2016.

CHENG, C. Y.; WONG, E. W. P.; YAN, H. H. N. et al. Regulation of Spermatogenesis in the Microenvironment of the Seminiferous Epithelium: New Insights and Advances. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 315, n.1-2, p. 49–56, 2010. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3516447/>>. Acesso em: 29 abr. 2016.

CHRISTMAN, M. S.; KRAFT, K. H.; TASIAN, G. E. et al. Reproducibility and reliability of sêmen analysisi in youths at risk of infertility. **Journal Of Urology**. v. 190, p. 683-688, August, 2013. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3712861/>>. Acesso em: 12 nov. 2016.

COLAGAR, A. H.; MARZONY, E. T.; CHAICHI, M. J. Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. **Nutrition Research**, v. 29, p. 82-88, 2009. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285597>>. Acesso em: 22 nov. 2016.

COOPER, T. G. et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. **Human Reproduction Update**, v. 16, p. 231-245, 2010. Disponível em: < http://www.cnrha.msssi.gob.es/bioetica/pdf/Valores_semen_humano.pdf>. Acesso em: 14 set. 2016.

CORBETT, S. T.; HILL, O.; NANGIA, A. K. Vitamin D receptor found in human sperm. **Urology**. v, 68, n. 6, p.1345-1349, 2006. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0090429506021339>>. Acesso em: 21 abr. 2016.

CRISOL, L.; MATORRAS, R.; ASPICHUETA, F. et al. Glutathione peroxidase activity in seminal plasma and its relationship to classical sperm parameters and in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection outcome. **Fertility and Sterility**. v. 97, n. 4, p. 852–857, 2012. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22296823> >. Acesso em: 25 out. 2016.

COSTA, D, R.; BOTANA, D.; PIÑERO, S. et al. Cadmium inhibits motility, activities of plasma membrane Ca(2+)-ATPase and axonemal dynein-ATPase of human spermatozoa. **Andrologia**, v. 48, n. 4, p. 464 – 469, 2016. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26259968>>. Acesso em: 12 mai. 2016.

DAMSGAARD, J.; JOENSEN, U. N.; CARLSEN, E. et al. Varicocele Is Associated with Impaired Semen Quality and Reproductive Hormone Levels: A Study of 7035 Healthy Young Men from Six European Countries. **European Urology**, v. 70, n. 6, p. 1019-1029, 2016. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283816303967>>. Acesso em: 21 fev. 2016.

DENNIS, E. A.; CAO, J.; HSU, Y. H. et al. Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p. 6130-85, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21910409>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

DEPEINT, R.; BRUCE, W. R.; SHANGARI, N.; et al. Mitochondrial function and toxicity: Role of the B vitamin family on mitochondrial energy metabolism. **Chemico-Biological Interactions**, v. 163, p. 94 – 112, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16765926>>. Acesso em: 19 jun. 2016.

DIAMANTI-KANDARAKIS, E.; BOURGUIGNON, J. P.; GIUDICE, L. C. et al.. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. **Endocrine Reviews**, v. 30, n. 4, p. 293–342, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19502515>>. Acesso em: 02 abr. 2016.

DIAS, T. R.; ALVES, M. G.; RATO, L. et al. White tea intake prevents prediabetes-induced metabolic dysfunctions in testis and in the epididymis preserving sperm quality. **Journal Of Nutritional Biochemistry**, v. 37, p. 83-93, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27637002>>. Acesso em: 01 mai. 2016.

DIEMER, T.; HUWE, P.; LUDWIG, M. et al. Influence of autogenous leucocytes and Escherichia coli on sperm motility parameters in vitro. **Andrologia**, v. 35, p. 100–5, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12653783>>. Acesso em: 21 mai. 2016.

DING, G.-L.; LIU, Y.; LIU, M.-E. et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. **Asian Journal of Andrology**, v. 17, n. 6, p. 948–953, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4814953/>>. Acesso em: 23 out. 2016.

DOHLE, G. R.; SMIT, M.; WEBER, R. F. Androgens and male fertility. **World Journal of Urology**. v. 21, n. 5, p. 341-5, Nov, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14566423>>. Acesso em: 19 set. 2016.

DORDEVIC M.; SAZDANOVIĆ, P.; DORDEVIC, G. et al. Morbidity in newborns exposed to organophosphorus pesticides. **Medicinski pregled**, v. 63, n. 5-6, p. 414-417, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21186557>>. Acesso em: 09 set. 2016.

DREHER, M. L.; DAVENPORT, A. J. Hass Avocado Composition and Potential Health Effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 7, p. 738–750, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23638933>>. Acesso em: 15 jul. 2016.

EBISCH, I. M. W.; THOMAS, C. M. G.; PETERS, W. H. M. et al. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. **Human Reproduction Update**, v. 13, p. 163–174, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17099205>>. Acesso em: 10 out. 2016.

EISENBERG, M. L.; KIM, S.; CHEN, Z. et al. The relationship between BMI and waist circumference on semen quality: data from the LIFE study. **Human Reproduction**, v. 29, p. 193–200, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24306102>>. Acesso em: 10 out. 2016.

ELKINA, Y. L.; ATROSHCHENKO, M. M.; BRAGINA, E. E. et al. Oxidation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase decreases sperm motility. **Biochemistry**, v. 76, n. 2, p. 268-272, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21568861>>. Acesso em: 09 out. 2016.

ERKEKOGLU, P.; ZEYBEK, N. D.; GIRAY, B. et al. The effects of di(2-ethylhexyl)phthalate exposure and selenium nutrition on sertoli cell vimentin structure and germ-cell apoptosis in rat testis. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 62, n. 3, p. 539–547, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22002783>>. Acesso em: 09 out. 2016.

EVDOKIMOV, V. V.; BARINOVA, K. V.; TUROVETSKII, V. B. et al. Low concentrations of hydrogen peroxide activate the antioxidante defense system in human sperm cells, **Biochemistry**, Moscow, v. 80, p. 1178-1185, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26555470>>. Acesso em: 13 out. 2016.

EXLEY, C. The toxicity of aluminium in humans. **Morphologie**, v. 100, n. 329, p. 51 – 55, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26922890>>. Acesso em: 11 out. 2016.

FANG, Y.; ZHAO, L.; YAN, F. et al. Escin improves sperm quality in male patients with varicocele-associated infertility. **Phytomedicine**, v. 3, n. 4, p. 192-6, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19682880>>. Acesso em: 11 out. 2016.

FAROOQUI, A. A.; HORROCKS, L. A.; FAROOQUI, T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 106, n. 1, p. 1-29,

June, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10878232>>. Acesso em: 07 jul. 2016.

FERRAMOSCA, A.; PROVENZANO, S. P.; COPPOLA, L. et al. Mitochondrial respiratory efficiency is positively correlated with human sperm motility. **Journal Of Urology**, v.79, p. 809-814, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22381250>>. Acesso em: 19 abr. 2016.

FERRAMOSCA, A.; PROVENZANO, S. P.; MONTAGNA, D. D. et al. Oxidative Stress Negatively Affects Human Sperm Mitochondrial Respiration. **Journal of Urology**, v. 82, n. 1, p. 78-83, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23806394>>. Acesso em: 17 out. 2016

FREIN, D.; SCHILDKNECHT, S.; BACHSCHMID, M. et al. Redox regulation: A new challenge for pharmacology. **Biochemical Pharmacology**, v. 70, p. 811–823, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15899473>>. Acesso em: 17 out. 2016.

FUJINOKI, M.; TAKEI, G. L.; KON, H. Non-genomic regulation and disruption os spermatozoal in vitro hyperactivation by oviductal hormones. **Journal of Physiological Sciences**, v. 66, p. 207–212, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26541156> >. Acesso em: 17 out. 2016.

FURIMSKY, A.; VUONG, N.; XU, H.; KUMARATHASAN, P. et al. Percoll gradient-centrifuged capacitated mouse sperm have increased fertilizing ability and higher contents of sulfogalactosylglycerolipid and docosaehaenoic acid-containing phosphatidylcholine compared to washed capacitated mouse sperm. **Biology of Reproduction**, v. 72, n. 70, p. 574–583, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15525814>>. Acesso em: 17 out. 2016.

GADELLA, B. M.; HARRISON, R. A. The capacitating agent bicarbonate induces protein kinase A-dependent changes in phospholipid transbilayer behavior in the sperm plasma membrane. **Development**, v. 127, n. 11, p. 2407-20, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10804182>>. Acesso em: 17 out. 2016.

GARCIA, E. G.; BUSSACOS, M. A.; FISCHER, F. M. Impact of legislation on registration of acutely toxic pesticides in Brazil. **Revista Saude Publica**. v. 39, n. 5, p. 832-9. Epub Oct., 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102005000500020>. Acesso em: 17 out. 2016.

GASKINS, A. J.; COLACI, D. S.; MENDIOLA, J. et al. Dietary patterns and semen quality in young men. **Human Reproduction (Oxford, England)**, v. 27, n. 10, p.

2899–2907, 2012. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22888168>>. Acesso em: 17 out. 2016.

GAT, I.; MADGAR I. The varicocele enigma:” background noise” or common male infertility etiology?. **Harefuah**, v. 154, n. 5, p. 312–315, 338–319, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26168642>>. Acesso em: 17 out. 2016.

GEENS, T.; AERTS, D.; BERTHOT, C. et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 10, p. 3725-40, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22889897>>. Acesso em: 17 out. 2016.

GIACCO, L.; CICCHELLAA, D.; VIVOB, B. D. et al. Does heavy metals pollution affects semen quality in men? A case of study in the metropolitan area of Naples (Italy). **Journal of geochemical exploration** vo. 112, p. 218, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375674211001750>>. Acesso em: 29 set. 2016.

GIAHI L.; MOHAMMADMORADI, S.; JAVIDAN, A. et al. Nutritional modifications in male infertility: a systematic review covering 2 decades. **Nutrition reviews**, v. 74, n. 2, p.118-30, February, 2016. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26705308>>. Acesso em: 29

GRASSO, S.; BRAMANTI, V.; TOMASSONI, D. et al. Effect of lipoic acid and α -glyceryl-phosphoryl-choline on astroglial cell proliferation and differentiation in primary culture. **Journal of Neuroscience Research**, v. 92, p. 86–94, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24166560>>. Acesso em: 29 set. 2016.

GREGOLIS, T. B. L.; PINTO, W. D. J.; PERES, F. Percepção de riscos do uso de agrotóxicos por trabalhadores da agricultura familiar do município de Rio Branco, AC. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, n. 125, p. 99-113, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0303-76572012000100013>. Acesso em: 28 out. 2016.

GUERRA, S. M.; MARTÍNEZ, P. N.; BARRIGA, D. F. et al. Environmental polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and DNA damage in Mexican children. **Mutation Research**, v. 742, n. 1-2, p. 66 – 71, 2012. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22198330>>. Acesso em: 05 abr. 2016.

JI, G.; YAN, L.; WU, S. et al. Bulky DNA adducts in human sperm associated with semen parameters and sperm DNA fragmentation in infertile men: A cross-sectional study. **Environmental Health**, v. 12, n. 1, p. 1 – 7, 2013. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/257202261_Bulky_DNA_adducts_in_human_sperm_associated_with_semen_parameters_and_sperm_DNA_fragmentation_in_infertile_men_A_cross-sectional_study>. Acesso em: 22 out. 2016.

HAGHIGHIAN, H. K.; HAIDARI, F.; MOHAMMADI-ASL, J. et al. Randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial examining the effects of alpha-lipoic acid supplement on the spermatogram and seminal oxidative stress in infertile men. **Fertility and Sterility**, v. 104, n. 2, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26051095>>. Acesso em: 02 out. 2016.

HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **Journal of Neurochemistry**, v. 97, p. 1634–1658, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16805774>>. Acesso em: 29 set. 2016.

HAMAD, M. F.; SHELKO, N.; KARTARIUS, S. et al. Impact of cigarette smoking on histone (H2B) to protamine ratio in human spermatozoa and its relation to sperm parameters. **Andrology**, v. 2, p. 666–677, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25044670>>. Acesso em: 29 set. 2016

HAN, X.; ZHOU, N.; CUI, Z. et al. Association between urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites and sperm DNA damage: a population study in Chongqing, China. **Environmental Health Perspective**, v. 119, n. 5, p. 652 – 657, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21147605>>. Acesso em: 28 mar. 2016.

HECHT, S. S. Tobacco smoke carcinogens and breast cancer. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 39, p. 119–126, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11921179>>. Acesso em: 29 set. 2016.

HEINDEL, J. J.; NEWBOLD, R. Developmental origins of health and disease: the importance of environmental exposures. **Early Life Origins of Human Health and Disease**, Karger, Basel, p. 42–51, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2862627/>>. Acesso em: 29 set. 2016.

HERENG, T. H.; ELGSTØEN, K. B. P.; CEDERKVIST, F. H. et al. Exogenous pyruvate accelerates glycolysis and promotes capacitation in human spermatozoa. **Human Reproduction**, v. 26, n. 12, p. 3249-3263, 2011 Disponível em: <<http://humrep-oxfordjournals-org.ez43.periodicos.capes.gov.br/content/26/12/3249>>. Acesso em: 29 set. 2016.

HESS, R. D.; FERNANDES, S. A.; GOMES, G. R. et al. Estrogen and its receptors in efferent ductules and epididymis. **Journal of Andrology**, v. 32, n. 6, p. 600 – 613,

2011. Disponível em:

<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2164/jandrol.110.012872/pdf>>. Acesso em: 29 set. 2016.

HODGE, W. G.; SCHACHTER, H. M.; BARNES, D. et al. Efficacy of omega-3 fatty acids in preventing age-related macular degeneration: a systematic review.

Ophthalmology, v. 113, n. 7, p. 1165–1172, 2006. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16815401>>. Acesso em: 29 set. 2016.

HSIEH, T. C.; PASTUSZAK, A. W.; HWANG, K. et al. Concomitant Intramuscular Human Chorionic Gonadotropin Preserves Spermatogenesis in Men Undergoing Testosterone Replacement Therapy. **The Journal of Urology**, v. 189, n. 2, p. 647 – 650, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23260550>>.

Acesso em: 29 set. 2016.

HUANG, V. W.; LEE, C.-L.; LEE, Y.-L. et al. Sperm fucosyltransferase-5 mediates spermatozoa–oviductal epithelial cell interaction to protect human spermatozoa from oxidative damage. **Molecular Human Reproduction**, v. 21, n. 6, p. 516-526, 2015.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25858480>>. Acesso em: 29 set. 2016.

IARC - International Agency for Research on Cancer. Agents classified by the IARC monographs, volumes 1–109. Disponível em:

<<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

IBRAHIM, S. F.; OSMAN, K.; DAS, S. et al. A study of the antioxidant effect of alpha lipoic acids on sperm quality. **Clinics**, v. 63, p. 545–550, 2008. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18719769>>. Acesso em: 29 set. 2016.

ICKOWICZ, D.; FINKELSTEIN, M.; BREITBART, H. Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: role of protein kinases. **Asian Journal of Andrology**, v. 14, n. 6, p. 816-821, 2012. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23001443>>. Acesso em: 29 set. 2016.

ILANI, N.; ARMANIOUS, N.; LUE, Y.-H. et al. Integrity of the blood–testis barrier in healthy men after suppression of spermatogenesis with testosterone and levonorgestrel. **Human Reproduction**, v. 27, n. 12, p. 3403–3411, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23019303>>. Acesso em: 29 set. 2016.

JENSEN, M. B.; BJERRUM, P. J.; JESSEN, T. E. et al. Vitamin D Is Positively Associated With Sperm Motility and Increases Intracellular Calcium in Human Spermatozoa. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 66, n. 9, p. 556-558, 2011.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21427118>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

JHA, S. K.; MISHRA, V. K.; SHARMA, D. K. et al. Fluoride in the environment and its metabolism in humans. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 211, p. 121–142, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21287392>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

JIA, L.; Z. LIU, L.; SUN, S. S. et al. Acrolein, a toxicant in cigarette smoke, causes oxidative damage and mitochondrial dysfunction in RPE cells: protection by (R)-alpha-lipoic acid. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 48, n. 1, p. 339–348, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17197552?ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum>. Acesso em: 13 ago. 2016.

JOUNG, H.; NAM, G.; YOON, S. et al. Bioavailable zinc intake of Korean adults in relation to the phytate content of Korean foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 713–724, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157503001534>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

KALB, A. C.; KALB, A. L.; CARDOSO, T. F. et al. Maternal transfer of bisphenol A during nursing causes sperm impairment in male offspring. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 70, n. 4, p. 793-801, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26250451>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

KANG, X.; QINGDONG, X.; XIAOLING, Z. et al. Effects of Hepatitis B Virus S Protein Exposure on Sperm Membrane Integrity and Functions. **PLoS One**, v. 7 n. 3 p. e33471, 2012. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0033471>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

KHELIFA, B. M.; ZOUARI, R.; HARBUZ, R. et al. A new AURKC mutation causing macrozoospermia: implications for human spermatogenesis and clinical diagnosis. **Molecular Human Reproduction**, v. 17, n. 12, p. 762–768, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3639514/>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

KHYMENETS, O.; CRESPOB, M. C.; DANGLESC, O. et al. Human hydroxytyrosol's absorption and excretion from a nutraceutical. **Journal of Functional Foods**, v. 23, p. 278–282, 2016. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175646461630010X>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

KOBAYASHI, E. H.; SUZUKI, T.; FUNAYAMA, R. et al. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. **Nature Communications**, v. 7, n. 11624, p. 1 – 14, 2016. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/ncomms11624> >. Acesso em: 13 ago. 2016.

KOLAHDOOZ, M.; NASRI, S.; MODARRES, S. Z. et al. Effects of Nigella sativa L. seed oil on abnormal semen quality in infertile men: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Phytomedicine**, v. 15;21, n. 6, p. 901-5. Epub Mar, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24680621>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

KOPPERS, A. J.; DE IULIIS, G. N.; FINNIE, J. M. Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, p. 3199- 3207, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18492763> >. Acesso em: 13 ago. 2016.

KRAUCHUNAS, A. R.; MARCELLO, M. R.; SINGSON, A. The molecular complexity of fertilization: Introducing the concept of a fertilization synapse. **Molecular Reproduction and Development**, v. 83, p. 376–386, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26970099> >. Acesso em: 13 ago. 2016.

KUMAR, N.; SOOD, S.; ARORA, B. et al.. Effect of duration of fluoride exposure on the reproductive system in male rabbits. **Journal of Human Reproductive Sciences**, v. 3, n. 3, p. 148–152, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21234178> >. Acesso em: 13 ago. 2016.

KWAK, M. K. N. WAKABAYASHI, K. I.; YAMAMOTO, H. M. et al. Modulation of gene expression by cancer chemopreventive dithiolethiones through the Keap1-Nrf2 pathway. Identification of novel gene clusters for cell survival. **Journal Of Biological Chemistry**, v. 278, p. 8135–8145, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12506115>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

LACKNER, J. E.; HERWIG, R.; SCHMIDBAUER, J. et al. Correlation of leukocytospermia with clinical infection and the positive effect of antiinflammatory treatment on semen quality. **Fertility and Sterility**, v. 86, p. 601–5, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16782098>>. Acesso em: 28 set. 2016.

LAFUENTE, R.; GONZÁLEZ-COMADRÁN, M.; SOLÀ, I. et al. Coenzyme Q10 and male infertility: a meta-analysis. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**,

v. 30, n. 9, p. 1147–1156, 2013. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3800531/>>. Acesso em: 09 ago. 2016.

LAFUENTE, R.; GARCÍA-BLÀQUEZ, N.; JACQUEMIN, B. et al. Outdoor air pollution and sperm quality. **Fertility and Sterility**, v. 106, n. 4, p. 880 – 896, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27565259>>. Acesso em: 28 set. 2016.

LENZI, A.; GANDINI, L.; MARESCA, V. et al. Fatty acid composition of spermatozoa and immature germ cells. **Molecular Human Reproduction**, v. 6, p. 226–231, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10694269>>. Acesso em: 28 set. 2016.

LENZI, A.; LOMBARDO, F.; SGRO, P. et al. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial. **Fertility and Sterility**, v. 79, p. 292–300, 2003. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12568837> >. Acesso em: 28 set. 2016.

LITTARRU, G. P.; TIANO, L. Bioenergetic and antioxidant properties of coenzyme Q10: recent developments. **Molecular Biotechnology**, v. 37, n. 1, p. 31-7, Sep, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17914161>>. Acesso em: 28 set. 2016.

LIU, R. H. Dietary bioactive compounds and their health implications. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 1, p. 18-25, 2013. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23789932>>. Acesso em: 28 set. 2016.

LIU, Z.; SUN, L.; ZHU, L. et al. Hydroxytyrosol protects retinal pigment epithelial cells from acrolein-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction. **Journal of Neurochemistry**, v. 103, p. 2690–2700, 2007. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20938484>>. Acesso em: 28 set. 2016.

LU, Z.; WANG, S.; SUN, Z. et al. In vivo influence of sodium fluoride on sperm chemotaxis in male mice. **Archives of Toxicology**, v. 88, p. 533–539, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23881332>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MAÑÁ, C. P.; FARRÉ, M.; PUJADAS, M. et al. Ethanol induces hydroxytyrosol formation in humans. **Pharmacological Research** v. 95, n. 96, p. 27–33, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25801942>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MANSARA, P.; KETKAR, M.; DESHPANDE, R. et al. Improved antioxidant status by omega-3 fatty acid supplementation in breast cancer patients undergoing chemotherapy: a case series. **Journal of Medical Case Reports**, v. 9, n. 148, 2015. Disponível em:

<<https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13256-015-0619-3>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MASCARENHAS, M. N.; FLAXMAN, S. R.; BOERMA, T. et al. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. **PLoS Med**, v. 9, 2012. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23271957>>. Acesso em: 29 abr. 2016.

MIAO, L.; ST CLAIR, D. K. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, p. 344 – 356, 2009.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2731574/>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MICHAILOV, Y.; ICKOWICZ D.; BREITBART, H. Zn²⁺-stimulation of sperm capacitation and of the acrosome reaction is mediated by EGFR activation.

Developmental Biology, v. 396, n. 2, p. 246–255, 2014. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25446533>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MICHALAKIS, K.; MINTZIORI, G.; KAPRARA, A. et al. The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review.

Metabolism, v. 62, p. 457–78, 2013. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22999785>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MIKI, K.; QU, W.; GOULDING, E. H.; WILLIS, W. D. et al. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-S, a sperm-specific glycolytic enzyme, is required for sperm motility and male fertility. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, p. 16501–6, 2004. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15546993>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MORAL, R. R.; WANG, I. H.; RUSSO, C. A. et al. Effect of prenatal exposure to the endocrine disruptor bisphenol A on mammary gland morphology and gene expression signature **Journal of Endocrinology**, v. 196, n. 1, p. 101–112, 2008.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/18180321/>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MORETTI, E.; CAPITANI, S.; FIGURA, N. et al. The presence of bacteria species in semen and sperm quality. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 26, p. 47–56, 2009. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2649329/>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MOSLEMI, M. K.; TAVANBAKHS, S. Selenium–vitamin E supplementation in infertile men: effects on semen parameters and pregnancy rate. **International Journal of General Medicine**, v. 4, p. 99–104, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3048346/>>. Acesso em: 28 set. 2016.

MOSS, J. L.; CROSNOE, L. E.; KIM, E. D. Effect of rejuvenation hormones on spermatogenesis. **Fertility and Sterility**, v. 99, n. 7, p. 1814 – 1820, 2013. Disponível em: <[http://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(13\)00498-6/abstract](http://www.fertstert.org/article/S0015-0282(13)00498-6/abstract)>. Acesso em: 22 set. 2016.

MUMFORD, S. L.; KIM, S.; CHEN, Z. et al. Urinary Phytoestrogens Are Associated with Subtle Indicators of Semen Quality among Male Partners of Couples Desiring Pregnancy. **Journal of Nutrition**, v. 145, n. 11, p. 2535 – 2541, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26423741>>. Acesso em: 13 set. 2016.

MURAKAMI, M.; TAKETOMI, Y.; MIKI, Y. et al. Recent progress in phospholipase A2 research: From cells to animals to humans. **Progress in Lipid Research**, v. 50, p. 152–192, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21185866>>. Acesso em: 17 out. 2016.

NADJARZADEH, A.; SADEGHI, M. R.; AMIRJANNATI, N. et al. Coenzyme Q10 improves seminal oxidative defense but does not affect on semen parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: a randomized double-blind, placebo controlled trial. **Journal of endocrinological investigation**, v. 34, n. 8, p. 224-8, Sep, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21399391>>. Acesso em: 17 out. 2016.

NAKADA, K.; SATO, A.; YOSHIDA, K. et al. Mitochondria-related male infertility. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, p. 15148–15153, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17005726>>. Acesso em: 17 out. 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger / David L. Nelson, Michael M. Cox ; [tradução: Ana Beatriz Gorini da Veiga et al. ; revisão técnica: Carlos Termignoni ...[et al.]. – 6. Ed. – Porto Alegre : **Artmed**, 2014. Pag. 549.

NELTNER, T. G.; ALGER, H. M.; LEONARD, J. E. et al. Data gaps in toxicity testing of chemicals allowed in food in the United States. **Reproductive Toxicology**, v. 42, p. 85–94, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623813003298>>. Acesso em: 17 out. 2016.

NICHOLLS, P. K.; HARRISON, C. A.; WALTON, K. L. et al. Hormonal regulation of sertoli cell micro-RNAs at spermiation. **Endocrinology**, v. 152, p. 1670–1683, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21325043>>. Acesso em: 17 out. 2016.

NOBLANC, A.; KOCER, A.; DREVET, J. R. Recent knowledge concerning mammalian sperm chromatin organization and its potential weakness when facing oxidative damage. **Basic and Clinical Andrology**, v. 24, n. 6, p. 1-12, 2014. Disponível em: <<https://bacandrology.biomedcentral.com/articles/10.1186/2051-4190-24-6>>. Acesso em: 17 out. 2016.

OGER P.; YAZBECK, C.; GERVAIS, A. et al. Adverse effects of hepatites B virus on sperm motility and fertilization ability during IVF. **Reproductive Biomedicine Online**, v. 23, p. 207-212, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21665545>>. Acesso em: 17 out. 2016.

OSBURN, W. O.; KENSLER, T. W. Nrf2 signaling: An adaptive response pathway for protection against environmental toxic insults. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 659, n. 1–2, p. 31-39, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18164232>>. Acesso em: 17 out. 2016.

PAGE, S. T. Physiologic role and regulation of intratesticular sex steroids. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity**, v. 18, p. 217–23, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21478750>>. Acesso em: 02 abr. 2016.

PARK, H. J.; CHOE, S.; PARK, N. C. Effects of Korean red ginseng on semen parameters in male infertility patients: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical study. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 22, n. 7, p. 490 – 495,. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25967606>>. Acesso em: 17 out. 2016.

PASTOR, A.; RODRÍGUEZ-MORATÓ, J.,; OLESTI, E. et al. Analysis of free hydroxytyrosol in human plasma following the administration of olive oil. **Journal of Chromatography**, v. 1437, p. 183 – 190, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26877176>>. Acesso em: 10 out. 2016.

PELLATI, D.; MYLONAKIS, I.; BERTOLONI, G. et al. Genital tract infections and infertility. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 140, p. 3–11, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18456385> >. Acesso em: 17 out. 2016.

PERRY, S. W.; NORMAN, J. P.; BARBIERI, J. et al. Mitochondrial membrane potential probes and the proton gradient: a practical usage guide. **BioTechniques**, v. 50, n. 2, p. 98–115, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21486251>>. Acesso em: 17 out. 2016

PINTO, M. A.; CARVALHO, D. Human infertility: are endocrine disruptors to blame?. **Endocrine Connections**, v. 2, n. 3, p. 15 – 29, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23985363>>. Acesso em: 22 abr. 2016.

PORTO, M. F.; SOARES, W. L. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, São Paulo, v. 37, n. 125 Jan./June, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0303-76572012000100004>. Acesso em: 17 out. 2016.

PUBLICOVER, S.; HARPER, C. V.; BARRATT, C. [Ca²⁺]_i signalling in sperm-making the most of what you've got. **Nature Cell Biology**, v. 9, p. 235–242, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17330112>>. Acesso em: 17 out. 2016.

RING, J. D.; LWIN, A. A.; KÖHLER, T. S. Current medical management of endocrine-related male infertility. **Asian Journal of Andrology**, v. 18, n. 3, p. 357–363, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27072045>>. Acesso em: 17 out. 2016.

ROBBINS W. A.; XUN, L.; FITZGERALD, L. Z.; ESGUERRA, S. et al. "Walnuts improve semen quality in men consuming a western-style diet: randomized control dietary intervention trial," **Biology of Reproduction**, v. 87, n. 4, Article ID Article 101, p. 101–108, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22895856>>. Acesso em: 17 out. 2016.

ROBICHAUD, P. P.; SURETTE, M. E. Polyunsaturated fatty acid–phospholipid remodeling and inflammation. **Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity**, v. 22, n. 2, p. 112 -8, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25692925>>. Acesso em: 17 out. 2016.

RODRIGUEZ, P. C.; SATORRE, M. M.; BECONI, M. T. Effect of two intracellular calcium modulators on sperm motility and heparin-induced capacitation in cryopreserved bovine spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, v. 131, p. 135–142, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432012001042>>. Acesso em: 17 out. 2016.

ROELEVELD, N.; BRETVELD, R. The impact of pesticides on male fertility. **Current Opinion in Obstetrics & Gynecology**, v. 20, p. 229–233, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18460936>>. Acesso em: 17 out. 2016.

ROLDAN, E. R.; SHI, Q. X. Sperm phospholipases and acrosomal exocytosis. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 89–104, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17127285>>. Acesso em: 17 out. 2016.

RUBAL, L.; HERNANDEZ, A. M.; INGLES, S. et al. Do serum vitamin D levels correlate with semen analysis parameters and sperm DNA fragmentation? **Fertility and Sterility**. v.98, n. 3, p. S47-S48, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028212009041>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SAFARINEJAD, M. R. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic anti-oxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a double-blind, placebo-controlled, randomised study. **Andrologia**, v. 43, n. 1, p. 38-47, Feb, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21219381>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SAFARINEJAD, M. R.; HOSSEINI, S. Y.; DADKHAH, F. et al. Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acids with semen characteristics, and anti-oxidant status of seminal plasma: A comparison between fertile and infertile men. **Clinical Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 100–105, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19666200>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SAID, T. M.; PAASCH, U.; GLANDER, H. J. et al. Role of caspases in male infertility. **Human Reproduction Update**, v. 10 p. 39–51, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15005463>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SAINI R, SAINI S, SHARMA S. Antioxidants accelerates cellular health. **International Journal of Green Pharmacy**, v. 3, n. 212, 2010. Disponível em: <<http://search.proquest.com/openview/e1f20cffcdffddf00a019d9cbb7394a/1?pq-origsite=gscholar&cbl=226497>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SAINI R. Coenzyme Q10: The essential nutrient. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, n. 3, p. 466-467, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3178961/>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SAIYED, H.; DEWAN, A.; BHATNAGAR, V. et al. Effect of endosulfan on male reproductive development. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 16, p. 1958-1962, 2003. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1241773/>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SAMPLASKI, M. K.; LOAI, Y.; WONG, K. et al. Testosterone use in the male infertility population: prescribing patterns and effects on semen and hormonal parameters. **Fertility Sterility**, v. 101, p. 64–9, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028213030537>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SCHMIDT, M. L. G.; GODINHO, P. H. Um breve estudo acerca do cotidiano do trabalho de produtores rurais: intoxicações por agrotóxicos e subnotificação. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, São Paulo v. 31, n. 113, Jan./Jun., 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0303-76572006000100004>. Acesso em: 17 out. 2016.

SEBASTIAN, R. E.; RAGHAYAN, S. C. Exposure to Endosulfan can result in male infertility due to testicular atrophy and reduced sperm count. **Cell Death Discovery**, v. 1, n. 15020, 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/cddiscovery201520>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SELICE, R.; FERLIN, A.; GAROLLA, A. et al. Effects of endogenous FSH on normal human spermatogenesis in adults. **International Journal of Andrology**, v. 34, p. e511–e517, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21790654>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SERMONDADE, N.; FAURE, C.; FEZEU, L. et al. BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. **Hum Reprod Update**, v. 19, p. 221–31, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23242914>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SEXTON, J. Z.; DANSHINA, P. V.; LAMSON, D. R. et al. Development and Implementation of a High Throughput Screen for the Human Sperm-Specific Isoform of Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDHS). **Current Chemical Genomics**, v. 5, p. 30–41, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21760877>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SHAHA, C.; CHENG, C.Y. Estrogens and spermatogenesis. Molecular Mechanisms of Spermatogenesis. **Landes Biosciences**, v. 636, p. 42–64, 2008. Disponível em: <http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-0-387-09597-4_3>. Acesso em: 17 out. 2016.

SHAMSI, M. B.; KUMAR, R.; DADA, R. Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction. **Indian Journal of Medical**

Research, v. 127, p. 115–123, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18403788>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SHEN, H.; TAO, S.; LIU, J. et al. Global lung cancer risk from PAH exposure highly depends on emission sources and individual susceptibility. **Scientific Reports**, v. 4, p. 2045-2322, 2014. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/srep06561>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SHIADEH, M. N.; NIYYATI, M.; FALLAHI, S. et al. Human parasitic protozoan infection to infertility: a systematic review. **Parasitology Research**, v. 115, p. 469–477, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26573517>>. Acesso em: 17 out. 2016.

SHIMADA, T. Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 21, p. 257–276, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16946553>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

SHIMADA, T.; FUJII-KURIYAMA, Y. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons to carcinogens by cytochromes P450 1A1 and 1B1. **Cancer Science**, v. 95 p. 1–6, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14720319>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

SHOWELL, M. G.; BROWN, J.; YAZDANI, A. et al. Antioxidants for male subfertility. **Cochrane Database Systematic Reviews**, v. 19, n. 1, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21249690>>. Acesso em: 12 mar. 2016;

SHU, F.; ZHOU, X.; LI, F. et al. Analysis of the correlation of CATSPER single nucleotide polymorphisms (SNPs) with idiopathic asthenospermia. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 32, p. 1643–1649, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26354096>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

SIGNORELLI, J.; DIAZ, E. S.; MORALES, P. Kinases, phosphatases and proteases during sperm capacitation. **Cell and Tissue Research**, v. 349, n. 3, p. 765 -782, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22427115>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

SIMMONS, A. L.; SCHLEZINGER, J. J.; CORKEY, B. E. What are we putting in our food that is making us fat? Food additives, contaminants, and other putative contributors to obesity. **Current Obesity Reports**, v. 3, p. 273–285, 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s13679-014-0094-y>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

SIMÕES, V. L.; ALVES, M. G.; MARTINS, A. D. et al. Regulation of apoptotic signaling pathways by 5 α -dihydrotestosterone and 17 β -estradiol in immature rat Sertoli cells. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 135, p. 15–23, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096007601200252X>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

SMITH, W. L.; URADE, Y.; JAKOBSSON, P. J. Enzymes of the Cyclooxygenase Pathways of Prostanoid Biosynthesis. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p. 5821–5865, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3285496/>>. Acesso em: 10 ago. 2016.

STEHLE, E.; SCHULZ, R. Global Insecticide Surface Water Contamination Assessment: BECT's Contribution in the Last Five Decades Sebastian. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 96, p. 563–564, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedaily.com/releases/2015/04/150414083714.htm>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

STEVENS, J. F.; MAIER, C. S. Acrolein: sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 52, n. 1, p. 7 – 25, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=stevens+2008+acrolein>>. Acesso em: 28 mai. 2016.

STUART, S. D.; SCHAUBLE, A.; GUPTA, S. et al. A strategically designed small molecule attacks alpha-ketoglutarate dehydrogenase in tumor cells through a redox process. **Cancer and Metabolism**, v. 2, n. 4, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4108059/>>. Acesso em: 17 ago. 2016.

SUN, L.; LUO, C.; LONG, J. et al. Acrolein is a mitochondrial toxin: effects on respiratory function and enzyme activities in isolated rat liver mitochondria. **Mitochondrion**, v. 6, n. 3, p. 136–142, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16725382>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

SUN, Z.; NIU, R.; WANG, B. et al. Altered sperm chromatin structure in mice exposed to sodium fluoride through drinking water. **Environmental Toxicology**, v. 29, p. 690–696, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22865829>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

TANAKA, H.; BABA, T. Gene expression in spermiogenesis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 62, n. 3, p. 344–354, 2005. Disponível em:

<<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00018-004-4394-y>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

TANAKA, H.; TAKAHASHI, T.; IGUCHI, N. et al. Ketone bodies could support the motility but not the acrosome reaction of mouse sperm. **International Journal Of Andrology**, v. 27, p. 172–177, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15139973>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

TANG, L. X.; YUAN, D. J.; WANG, Q. L. et al. Association of decreased spermatozoa omega-3 fatty acid levels and increased oxidative DNA damage with varicocele in infertile men: a case control study. **Reproduction, Fertility and Development**, Nov, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25405715>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

TANTIBHEDHYANGKUL, J.; HAWKINS, K. C.; DAI, Q. et al. Expression of a mitochondrial progesterone receptor in human spermatozoa correlates with a progestin-dependent increase in mitochondrial membrane potential. **Andrology**, v. 2, p. 875–883, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4340691/>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

TAVILANIA, H. B.; MAHMOUD, D.; HOJATOLLAH, S. Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters. **Clinica Chimica Acta**, v. 356, n. 1–2, p. 199–203, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898105000707>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

THANGAPANDIYAN, S.; MILTONPRABU, S. Epigallocatechin gallate exacerbates fluoride-induced oxidative stress mediated testicular toxicity in rats through the activation of Nrf2 signaling pathway. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, v. 4, n. 4, p. 272 – 287, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2305050015000238>>. Acesso em: 22 mai. 2016. >

TREMELLEN, K. Oxidative stress and male infertility: a clinical perspective. **Human Reproduction Update**, v. 14, p. 243–58, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18281241>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

TREMELLEN, K.; MIARI, G.; FROILAND, D. et al. A randomised control trial examining the effect of an antioxidant (Menevit) on pregnancy outcome during IVF-ICSI treatment. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**. v. 47, n. 3, p. 216-21, Jun, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17550489>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16978905>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

VIGNERA, S.; CONDORELLI, R.; VICARI, E. et al. Diabetes mellitus and sperm parameters. **Journal Of Andrology**, v. 33, p. 145-153, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21474785>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

VISCONTI, P. E. Understanding the molecular basis of sperm capacitation through kinase design. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 106, n. 3, p. 667-8, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19144927>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

WAN, F.; LENARDO, M. J. The nuclear signaling of NF-kappaB: current knowledge, new insights, and future perspectives. **Cell Research**, v. 20, n. 1, p. 24-33, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19997086>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

WATHES, D. C.; ABAYASEKARA, D. R.; AITKEN, R. J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Reproductive Biology**, v. 77, n. 2, p. 190-201, Aug, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17442851>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

WEST, A. P.; BRODSKY, I. E.; RAHNER, C. et al. TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. **Nature**, v. 472, p. 476-480, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21525932>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

WILLHITE, C. C.; KARYAKINA, N. A.; YOKEL, R. A. et al. Systematic review of potential health risks posed by pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts. **Critical Reviews In Toxicology**, v. 44, n. 4, 2014. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10408444.2014.934439?journalCode=itx20>>. Acesso em: 27 set. 2016.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Reproductive health indicators for global monitoring: guidelines for their generation, interpretation and analysis for global monitoring. Geneva: World Health Organization. 63 p., 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/reproductivehealth/publications/monitoring/924156315x/en/>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

WILLIAMS, H. L.; MANSELL, S.; ALASMARI, W. et al. Specific loss of CatSper function is sufficient to compromise fertilizing capacity of human spermatozoa. **Human Reproduction**, Oxford, England, v. 30, n. 12, p. 2737-2746, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26453676>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

WRÓBLEWSKA, U. M.; KAMIŃSKI, P.; LAKOTA, P. et al. Zinc and iron concentrations and SOD activity in human sêmen and seminal plasma. **Biol Trace Elem Res**, v. 143, p. 167–177, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20924714>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

YAN, W.-J.; YU, N.; YIN, T.-L. et al. Can Vitamin D supplementation be used as adjunctive treatment for oligozoospermia or asthenozoospermia accompanied with Vitamin D deficiency?. **Asian Journal of Andrology**, v. 17, p. 165–167, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4291866/>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

YANG, P.-M.; WU, Z.-Z.; ZHANG, Y.-Q. et al. Lycopene inhibits ICAM-1 expression and NF- κ B activation by Nrf2-regulated cell redox state in human retinal pigment epithelial cells. **Life Sciences**, v. 155, n. 15, p. 94-101, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320516302624>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

YAO, D. F.; MILLS, J. N. Male infertility: lifestyle factors and holistic, complementary, and alternative therapies. **Asian Journal of Andrology**, v. 18, n. 3, p. 410 – 418, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26952957>>. Acesso em: 23 jun. 2016.

YU, B.; LIN, H.; YANG, L. et al. Genetic variation in the Nrf2 promoter associates with defective spermatogenesis in humans. **Journal of Molecular Medicine**, v. 90, n. 11, p. 1333 – 1342, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22648520>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

ZEGERS-HOCHSCHILD, F.; ADAMSON, G. D.; DE MOUZON, J. et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary on ART terminology. **Hum Reprod**, v. 24, p. 2683–2687, 2009. Disponível em: <<http://humrep.oxfordjournals.org/content/24/11/2683.full>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

ZHANG, S. Z.; GAO, Q.; CAO, C. M. et al. Involvement of the mitochondrial calcium uniporter in cardioprotection by ischemic preconditioning. **Life Sci**, v. 78, p. 738–745, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16150463>>. Acesso em: 22 mai. 2016.

ZHOU, N.; CUI, Z.; YANG, S. et al. Air pollution and decreased semen quality: a comparative study of Chongqing urban and rural areas. **Environmental Pollution**, v. 187, p. 145 – 152, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24491300>>. Acesso em: 01 nov. 2016.

ZHU, C.; XIAO, F.; LIN, W. EFTUD2 on innate immunity. **Oncotarget**, v. 6, n. 32, p. 32313–32314, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4741694/>>. Acesso em: 30 set. 2016.