

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Júlia Magalhães Costa Almeida

**ESTRESSE OXIDATIVO E INFERTILIDADE MASCULINA: CAUSAS,
CONSEQUÊNCIAS E O USO DE ANTIOXIDANTES**

**São Paulo
2023**

Júlia Magalhães Costa Almeida – RA: 012296

**Estresse oxidativo e infertilidade masculina: Causas,
consequências e o uso de antioxidantes.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Renato Borges Tesser, requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Almeida, Júlia Magalhães Costa

Estresse oxidativo e infertilidade masculina: Causas, consequências e o uso de antioxidantes. / Júlia Magalhães Costa Almeida. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

32 p.

Orientação de Renato Borges Tesser.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Antioxidantes - terapia 2. Espermatozoides 3. Estresse oxidativo 4. Infertilidade masculina I. Tesser, Renato Borges II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.6

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço imensamente aos meus pais, José Antônio e Vanessa. Não tenho palavras para descrever a gratidão por tudo que já fizeram e fazem por mim. Agradeço por todo amor, apoio, carinho e força que me dão em todas as fases da minha vida.

Agradeço também ao meu irmão, Pedro, por me ajudar e apoiar sempre.

Ao Gustavo, meu namorado, que me motiva todos os dias.

Ao Centro Universitário São Camilo e a todo corpo docente. Foram 4 anos intensos, mas extremamente especiais e de muita aprendizagem. Agradeço por todas as oportunidades que me foram oferecidas, todas foram de suma importância para meu desenvolvimento profissional e pessoal. Um agradecimento especial ao professor Renato Tesser, por me ajudar nessa etapa tão importante da conclusão do curso.

RESUMO

A infertilidade é um problema que afeta milhões de pessoas no mundo inteiro, sendo definida como a não ocorrência da gravidez após o período de 12 meses de relações sexuais sem o uso de método contraceptivo. A dificuldade ou incapacidade de gestação pode ter relação com fator masculino, feminino ou ambos. Com relação ao fator masculino, o estresse oxidativo apresenta-se como uma das principais causas associadas à infertilidade masculina. Estudos mostram que o estresse oxidativo interfere negativamente na qualidade espermática e, por consequência, afeta a fertilidade masculina. O estresse oxidativo ocorre quando temos desequilíbrio na quantidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) e antioxidantes do organismo, sendo que o aumento de EROs pode ser causado tanto por fatores endógenos como exógenos. Com isso, esse trabalho analisou os efeitos do estresse oxidativo em espermatozoides, relacionando-os com as principais causas e as consequências sobre a fertilidade masculina. Além de abordar e analisar o papel da terapia antioxidante com a melhoria da qualidade espermática. Este trabalho foi desenvolvido por meio de uma revisão bibliográfica exploratória, utilizando estudos encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Scholar, publicados em português e inglês, entre os anos de 2000 a 2023. A partir dos estudos utilizados nessa revisão bibliográfica, foi evidenciado que a fertilidade masculina é afetada a partir dos danos induzidos pelos EROs nos espermatozoides por meio das vias de peroxidação lipídica, fragmentação do DNA e apoptose. Além disso, foi evidenciado que a terapia antioxidante melhora os principais parâmetros do espermatozoide.

Palavras chaves: estresse oxidativo; espermatozoide; fertilidade masculina; terapia antioxidante.

ABSTRACT

Infertility is a problem that affects millions of people around the world, being defined as the non-occurrence of pregnancy after 12 months of sexual intercourse without using a contraceptive method. Difficulty or incapacity for pregnancy may be related to male, female factors or both. Regarding the male factor, oxidative stress is one of the main causes associated with male infertility. Studies show that oxidative stress negatively interferes with sperm quality and, consequently, affects male fertility. Oxidative stress occurs when we have an imbalance in the amount of reactive oxygen species (ROS) and antioxidants in the body, and the increase in ROS can be caused by both endogenous and exogenous factors. Therefore, this work analyzed the effects of oxidative stress on sperm, relating them to the main causes and consequences on male fertility. In addition to addressing and analyzing the role of antioxidant therapy in improving sperm quality. This work was developed through an exploratory bibliographic review, using studies found in the Pubmed, Scielo and Google Scholar databases, published in Portuguese and English, between the years 2000 and 2023. Based on the studies used in this bibliographic review, it was evidenced that male fertility is affected by damage induced by ROS in sperm through the pathways of lipid peroxidation, DNA fragmentation and apoptosis. Furthermore, it has been shown that antioxidant therapy improves the main sperm parameters.

Keywords: oxidative stress; sperm; male infertility; antioxidant therapy.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADH: Álcool desidrogenase

ALDH: Aldeído desidrogenase

ATP: Adenosina Trifosfato

CAT: Catalase

EROs: Espécies reativas de oxigênio

GPx: Glutathiona peroxidase

G6PD: Glicose-6-fosfato desidrogenase

PUFA: Ácidos graxos poliinsaturados

MDA: Malondialdeído

NADH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

SOD: Superóxido dismutase

O₂: Oxigênio

O₂⁻: Ânion superóxido

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

OH⁻: Radical hidroxila

Fe²⁺: Íon ferroso

4-HNE: 4-hidroxinonenal

8-OHdG: 8-hidroxi-2-deoxiguanosina

COQ10: Coenzima Q10

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3. METODOLOGIA	12
4. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	13
5. SISTEMA ANTIOXIDANTE ENDÓGENO	15
6. FONTES ENDÓGENAS E EXÓGENAS DE EROs	16
6.1 FONTES ENDÓGENAS.....	17
6.1.1 Espermatozoide imaturo.....	17
6.1.2 Leucocitoespermia.....	18
6.2 FONTES EXÓGENAS.....	19
6.2.1 Tabagismo.....	19
6.2.2 Etilismo.....	19
7. MECANISMOS DE DANOS E CONSEQUÊNCIAS DO ESTRESSE OXIDATIVO.	20
7.1 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	20
7.2 FRAGMENTAÇÃO DO DNA ESPERMÁTICO E APOPTOSE.....	22
8. TERAPIA ANTIOXIDANTE	24
9. CONCLUSÃO	28
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1. INTRODUÇÃO

A infertilidade masculina é um problema enfrentado por muitos casais que desejam ter filhos. Define-se como infertilidade a não ocorrência da gravidez após o período de 12 meses de relações sexuais sem o uso de método contraceptivo (OMS, 2009).

Pensando nos fatores que podem levar o homem à infertilidade, temos o estresse oxidativo como uma das principais causas relacionadas à infertilidade masculina. O estresse oxidativo é estabelecido quando temos um desequilíbrio na quantidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) e antioxidantes do organismo. Dentre os fatores relacionados ao aumento de EROs no organismo, o tabagismo e o consumo excessivo de álcool são exemplos (Barati et al., 2020).

É sabido que as espécies reativas de oxigênio, quando em níveis fisiológicos, desempenham papel essencial na fertilidade masculina. Nos espermatozoides, as mitocôndrias são responsáveis pela produção fisiológica de EROs. O principal envolvimento fisiológico das espécies reativas de oxigênio nos espermatozoides ocorre na capacitação espermática e na reação acrossomal. Ambas as ações parecem ter relação com fosforilação de tirosina pelas espécies reativas de oxigênio (Barbosa et al., 2010).

Quando temos estabelecido o desequilíbrio nos níveis de EROs em relação aos compostos antioxidantes presentes no plasma seminal, eventos relacionados à danos ao espermatozoide são desencadeados. Dentre os principais mecanismos de danos ao espermatozoide pelo estresse oxidativo, tem-se a peroxidação lipídica e os danos ao DNA (Barati et al., 2020).

Os espermatozoides são muito suscetíveis a lesões por EROs, isso se deve ao fato da membrana plasmática espermática ser composta por ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) e pela baixa quantidade de enzimas antioxidantes no plasma seminal. Com o aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio nos espermatozoides, temos a indução de cascatas de peroxidação lipídica, e, por consequência, alteração na estrutura da membrana espermática (Aitken et al., 2016).

Os EROs também são responsáveis por induzir a degradação do DNA por meio, principalmente, da indução na quebra de fitas simples e duplas de DNA, criação de bases livres e alterações nas bases nitrogenadas. A fragmentação é o estágio final do dano ao DNA por EROs e, como consequência, temos a degeneração e absorção desses espermatozoides afetados (Alahmar et al., 2021).

Neste panorama, cada vez mais verifica-se a necessidade da compreensão do papel de EROs na infertilidade masculina e identificação e padronização de tratamentos eficientes que auxiliem na diminuição do estresse oxidativo. Atualmente, a terapia com antioxidantes é utilizada na prática clínica, porém, algumas variáveis como dosagem e tipo ainda são discutíveis.

2. OBJETIVOS

Analisar os efeitos do estresse oxidativo em espermatozoides, relacionando-os com as principais causas e as consequências sobre a fertilidade masculina.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as principais causas do aumento do estresse oxidativo, considerando fatores endógenas e exógenas.
- Descrever os mecanismos de dano das espécies reativas de oxigênio e correlacionar com as consequências sobre a fertilidade masculina.
- Relacionar o papel da terapia antioxidante com a melhoria da qualidade espermática

3. METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido por meio de uma revisão bibliográfica exploratória. Para a revisão bibliográfica, foram utilizadas referências publicadas em português e inglês, utilizando as seguintes palavras-chave: estresse oxidativo, espermatozoide, infertilidade masculina, terapia antioxidante (*oxidative stress, sperm, male infertility, antioxidant therapy*).

Os estudos encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Scholar foram filtrados de acordo com artigos que englobam a temática de Estresse Oxidativo, infertilidade masculina e uso de antioxidantes. As datas de publicação são dos anos de 2000 a 2023.

4. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

As espécies reativas de oxigênio são substâncias altamente reativas que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados, produzidas a partir da redução do oxigênio. Os radicais livres são gerados em mitocôndrias, membranas celulares e citoplasma, sendo que na mitocôndria é o local onde temos a maior produção desses radicais, a partir da cadeia transportadora de elétrons (Barbosa et al., 2010).

Na cadeia transportadora de elétrons, ocorre a metabolização do oxigênio (O_2). Nesse processo, temos a redução tetravalente do O_2 , resultando em formação de água, mediado pela enzima catalisadora citocromo oxidase. Tal enzima também é responsável por impedir a geração excessiva de radicais livres na mitocôndria (Barbosa et al., 2010).

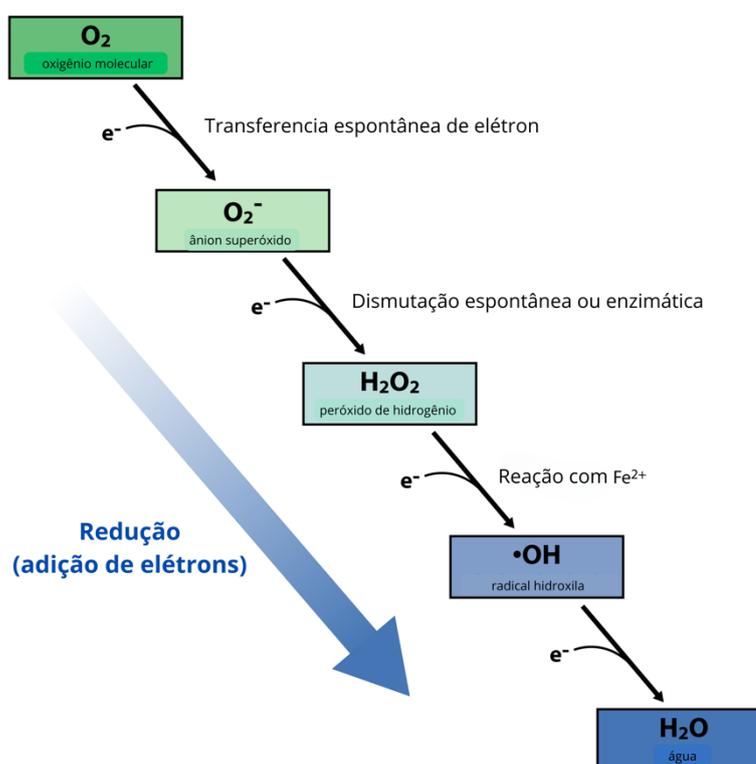
Porém, uma parte do oxigênio metabolizado pode ser direcionado para uma via metabólica de redução univalente (**Figura 1**), gerando radicais livres. Os principais envolvidos são o radical superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio (Silva e Gonçalves, 2010).

O ânion superóxido (O_2^-) é um radical livre também classificado como Espécie Reativa de Oxigênio, formado pela redução do O_2 com um elétron. Tal é produzido principalmente nas mitocôndrias em decorrência de grande ativação de neutrófilos, monócitos e macrófagos. Uma vez que o radical superóxido dificilmente atravessa membrana, este não gera peroxidação lipídica, porém, pode dar origem a outros radicais livres mais reativos (Silva e Gonçalves, 2010).

O Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um metabólito do oxigênio, formado a partir da redução de dois elétrons de oxigênio, porém tal não é considerado um radical livre, uma vez que não apresenta elétrons desemparelhados em sua última camada. A dismutação espontânea ou enzimática do ânion superóxido também produz peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Silva e Gonçalves, 2010). Este é um oxidante endógeno capaz de penetrar membrana plasmática e pode gerar radical hidroxila (OH^-). Os oxidantes capturam elétrons das estruturas celulares próximas com intuito de ficar no estado fundamental. Nesse processo, as moléculas próximas funcionam como doadoras e assim, são transformadas em radicais livres por meio da ação dos oxidantes (Dutta et al., 2020).

O radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$) apresenta alta reatividade e pode ser formado a partir de duas reações. A primeira é chamada de reação de Haber-Weiss, onde há a interação do peróxido de hidrogênio com o ânion superóxido para formar radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$). Já na reação de Fenton, o peróxido de hidrogênio reage com o íon ferroso (Fe^{2+}). Este radical pode interagir com diversas moléculas, além de possuir a capacidade de induzir lesões oxidativas no DNA e peroxidação lipídica (Cadet et al., 2017).

Figura 1 – Esquema simplificado de redução do oxigênio molecular e formação das espécies reativas de oxigênio



Fonte: Adaptado de Kiley e Storz, 2004

5. SISTEMA ANTIOXIDANTE ENDÓGENO

O sistema antioxidante endógeno consiste em um conjunto de processos biológicos do organismo que ocorrem com o intuito de proteger as células dos danos causados pelos radicais livres a partir da neutralização desses radicais e de oxidantes. O sistema é formado por antioxidantes enzimáticos e os não enzimáticos (Kowalczyk, 2021).

Tratando da classe dos antioxidantes enzimáticos (**Quadro 1**), os principais envolvidos são superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), e tais podem catalisar direta ou indiretamente EROs (Kowalczyk, 2021).

As enzimas superóxido dismutases são responsáveis por catalisar a dismutação de ânions superóxido e tais enzimas podem ser encontradas tanto no meio intra como extracelular. No citoplasma, encontramos a cobre-zinco SOD (SOD-1), enzima com um centro ativo formado por cobre e zinco. Na matriz mitocondrial, temos principalmente a SOD manganês (SOD-2). Já no espaço extracelular, encontra-se majoritariamente a SOD-3, formada por centro ativo de zinco e cobre (Kowalczyk, 2021). O sistema SOD possui grande atividade no plasma do sêmen e a presença dessas enzimas no sêmen é graças à provável produção na próstata (He et al., 2017).

Entre umas das enzimas produzidas na próstata e presentes no líquido seminal, a catalase possui um sistema heme com um átomo de ferro central. Além da função de neutralização do peróxido de hidrogênio a partir da decomposição deste em oxigênio molecular e água, a enzima também está envolvida na ativação da capacitação espermática (Kowalczyk, 2021).

A enzima glutathione peroxidase também está presente no líquido seminal. Tal enzima catalisa a redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peróxidos orgânicos usando glutathione como agente redutor. Nessa reação, há a transferência de elétrons da glutathione, resultando em água ou álcool. A glutathione peroxidase é encontrada principalmente na matriz mitocondrial dos espermatozoides, mas também já foi observada uma forma nuclear, tal qual protege o DNA espermático dos danos pelo estresse oxidativo além de participar do processo de condensação da cromatina (He et al., 2017).

Quadro 1 – Localização e função das enzimas antioxidantes

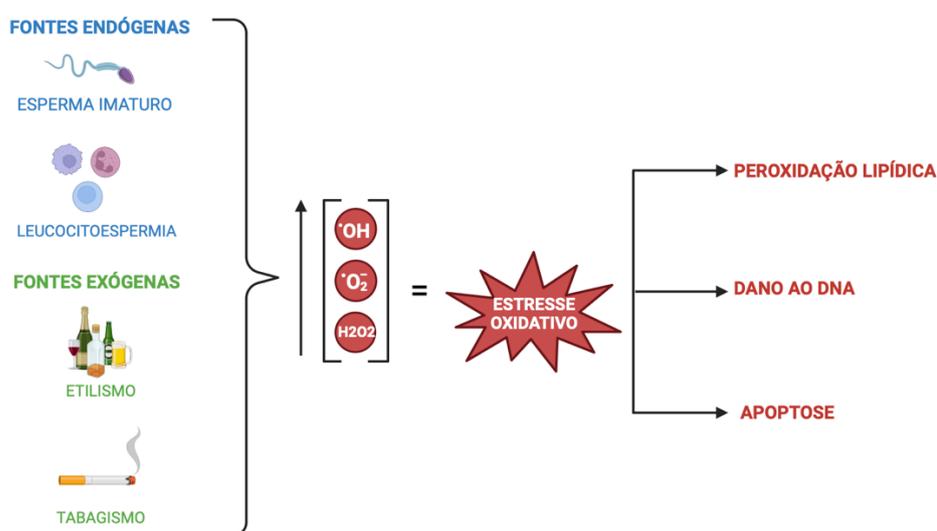
Antioxidante	Localização	Função
SOD	Todas as células eucarióticas	Diminuir os níveis de O_2^-
CAT	Organelas intracelulares, Peroxisomos.	Diminuir os níveis de H_2O_2
GPx	Citoplasma, Matriz mitochondrial.	Diminuir os níveis de H_2O_2

Fonte: Adaptado de Kowalczyk, 2021

6. FATORES ENDÓGENAS E EXÓGENAS DE EROs

O estresse oxidativo ocorre devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) e tal aumento pode ser decorrente de fatores endógenos e exógenos, como mostra a **Figura 2**.

Figura 2 - Fatores endógenos e exógenos relacionadas ao aumento do estresse oxidativo.



Fonte: Imagem autoral

O aumento de EROs no sêmen está relacionado à anormalidades na cabeça, peça intermediária, acrossoma, gotículas citoplasmáticas e cauda dos espermatozoides, fatores estes que podem levar à infertilidade (Kobayashi e Suda, 2012). Portanto, o entendimento dos principais fatores de estresse oxidativo no espermatozoide é crucial.

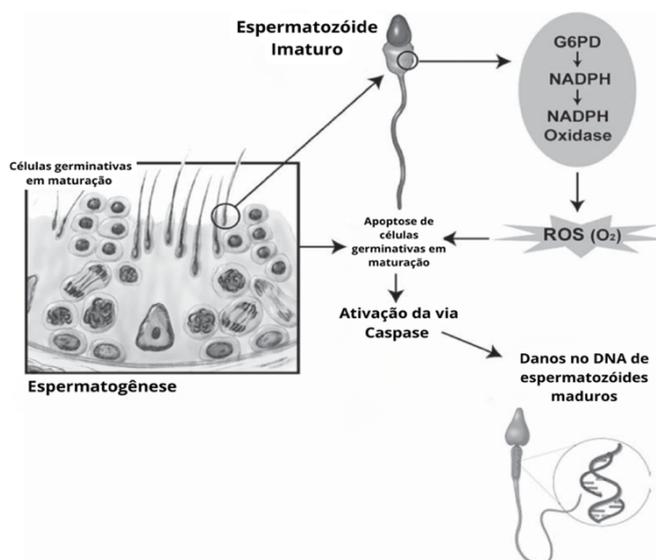
6.1. FATORES ENDÓGENOS

6.1.1. Espermatozoide imaturo

O primeiro fator endógeno de aumento de EROs no plasma seminal é o espermatozoide maturo. Durante a maturação espermática normal, há a expulsão do excesso de citoplasma do espermatozoide. Porém, caso haja citoplasma residual, pode haver a formação de gotículas citoplasmáticas na região intermediária do espermatozoide, fazendo com que este seja considerado imaturo e apresente problemas funcionais (Barati et al., 2020).

O citoplasma em excesso do espermatozoide imaturo apresenta níveis elevados da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), tal qual medeia a geração de altos níveis de EROs por meio de duas vias principais (Agarwal et al., 2008). Essa enzima é responsável pelo controle da taxa de glicose, além de controlar a produção e disponibilidade intracelular de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). Por sua vez, NADPH é usado como fonte de elétrons pelos espermatozoides para alimentar a geração de EROs via enzima NADPH oxidase (NOX 5), que se encontra na membrana espermática (**Figura 3**) (Chen et al., 2013).

Figura 3 –Influência dos níveis elevados de enzima G6PD em espermatozoides imaturos na geração de EROs e danos ao espermatozoide.



Fonte: Adaptado de Cocuzza et al., 2007

Além disso, há uma grande quantidade de mitocôndrias na peça intermediária cuja função é de fornecimento de energia para motilidade espermática. Para manter a proporção entre a forma oxidada e reduzida de NADH, é necessária uma enzima oxirredutase integrada à cadeia respiratória mitocondrial, a enzima diaforase. Entretanto, tal enzima produz ânions superóxido, que aumentam os níveis de EROs e causam um desequilíbrio no nível de espécies reativas, afetando a integridade da membrana mitocondrial do espermatozoide (Golas et al., 2010).

Somado a isso, como consequência dos danos causados na membrana mitocondrial, temos a produção de ainda mais espécies reativas (Golas et al., 2010). Logo, tem-se as mitocôndrias e a membrana plasmática como principais fontes de geração de EROs nas células espermáticas (Sabeti et al., 2016).

6.1.2 Leucocitoespermia

Outro fator endógeno de destaque que gera um aumento em EROs é a leucocitospermia. Tal ocorre, de acordo com critérios da OMS, quando temos mais de 1 milhão de leucócitos por mL de sêmen.

A presença de leucócitos no plasma seminal pode ocorrer em decorrência de uma infecção, inflamação ou lesão em algum outro componente do trato reprodutivo

masculino. O aumento de leucócitos ativados no plasma seminal resulta em aumento expressivo de ERO no sêmen, uma vez que os leucócitos ativados podem produzir até 100 vezes mais EROs que os leucócitos não ativados (Agarwal et al., 2018).

Além disso, há diminuição na concentração de antioxidantes, acarretando dano ao DNA espermático (Agarwal et al., 2018). Logo, a presença excessiva de leucócitos ativados no sêmen pode gerar estresse oxidativo devido à liberação de EROs e outras moléculas pró-inflamatórias pelos leucócitos (Agarwal et al., 2008).

O estudo de Athayde *et al.* (2013) demonstrou que níveis aumentados de EROs foram verificados mesmo em pacientes com contagem de leucócitos seminais baixas e tais níveis aumentaram de acordo com o aumento dos leucócitos presentes. No mesmo estudo citado, observou-se uma diminuição significativa em motilidade e contagem de espermatozoides conforme o aumento na quantidade de EROs.

6.2. FATORES EXÓGENOS

Além dos fatores endógenos que aumentam EROs e causam um desbalanço na homeostase entre agentes oxidantes e antioxidantes, fatores ambientais e estilo de vida também podem contribuir com a instalação do estresse oxidativo.

6.2.1 Tabagismo

Dentre os diversos prejuízos que o tabagismo traz à saúde, temos também a infertilidade masculina como consequência desse hábito. Partículas da fumaça do cigarro contêm radicais livres e EROs e, o acúmulo destes interfere na produção dos espermatozoides a partir do dano ao DNA espermático. Além disso, a motilidade espermática também é afetada em razão da diminuição de ATP, decorrente do dano ao DNA mitocondrial (Ghaffari e Rostami, 2013).

O alcatrão, substância inalada com a fumaça do cigarro, possui um complexo quinona/hidroquinona em sua composição que atua como um sistema redox ativo, reduzindo o oxigênio à ânion superóxido no organismo do fumante. Na fumaça do cigarro também estão presentes vestígios de metais pesados como ferro e cobre, tais

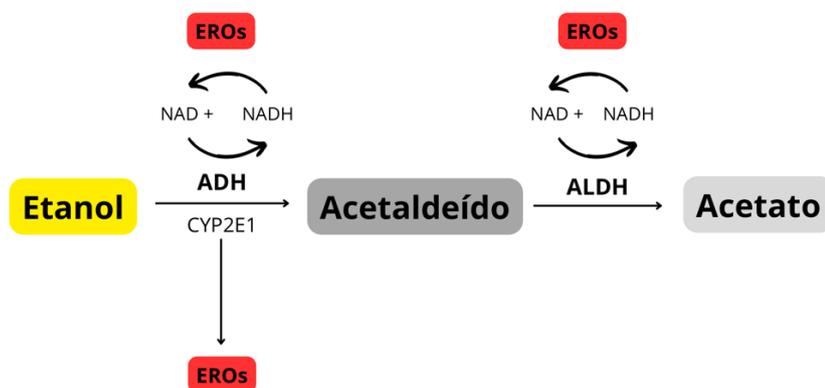
participam de reações redox que produzem EROs, estimulando ainda mais o estabelecimento de um estado de estresse oxidativo (Caliri et al., 2021).

6.2.2 Etilismo

O metabolismo do etanol possui relação com a geração de radicais livres, independente da via metabólica. Além da contribuição direta do metabolismo do etanol para o aumento do estresse oxidativo, há também uma interferência negativa do etanol nos níveis de antioxidantes, corroborando com a instalação do estresse oxidativo (Guthauser et al., 2014).

Na via metabólica catalisada pela enzima álcool desidrogenase (ADH) (**Figura 4**), onde temos a formação do acetaldeído. O acetaldeído é bastante tóxico e pode interagir com lipídios e proteínas, levando à geração de radicais livres. Depois, na via da enzima aldeído desidrogenase (ALDH), o acetaldeído é convertido em acetato. Ao final, tem-se a formação de uma molécula de NADH em cada reação, favorecendo então maior geração de EROs (Das e Vasudevan, 2007).

Figura 4 – Metabolismo do etanol e geração de EROs



Fonte: Imagem Autoral.

As enzimas do citocromo P450 estão envolvidas no processo de desintoxicação do álcool e as reações catalisadas por esta enzima utilizam oxigênio molecular, o que resulta na produção de ERO durante o processo. O excesso de álcool consumido aumenta a atividade de uma enzima específica do complexo P450, a citocromo P450 2E1 (CYP2E1) e esta particularmente possui grande relação com aumento de EROs (Wu e Cederbaum, 2003).

Outra enzima afetada pelo consumo excessivo de álcool é a xantina desidrogenase. Esta enzima atua, normalmente, removendo hidrogênio da xantina e transferindo para NAD, originando NADH. Porém, em condições de abuso de álcool, ocorre a conversão da xantina desidrogenase em xantina oxidase, sendo esta uma importante fonte produtora de espécies reativas (Wu e Cederbaum, 2003).

7. MECANISMOS DE DANOS E CONSEQUÊNCIAS DO ESTRESSE OXIDATIVO

7.1. PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

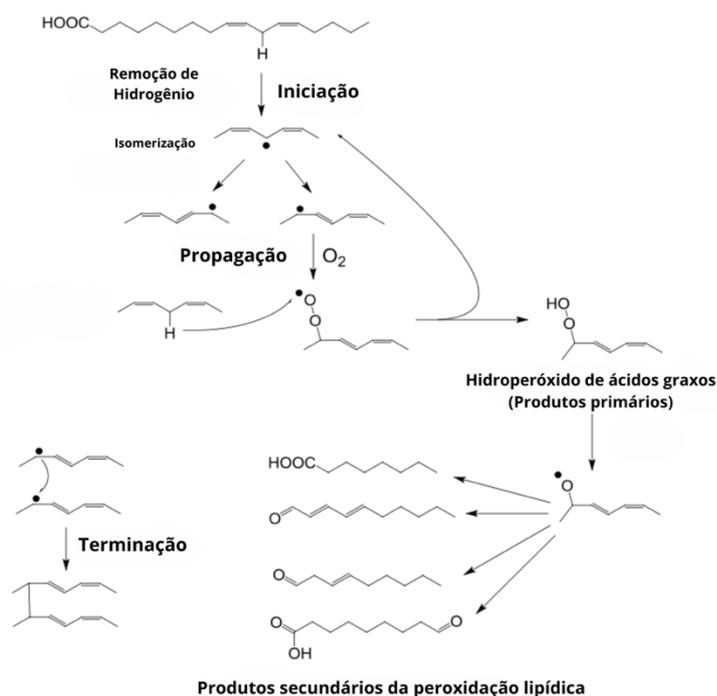
As membranas espermáticas são formadas por uma grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) que, em condições de elevado aumento de EROs, sofrem peroxidação lipídica, comprometendo a fluidez e integridade das membranas. Uma vez que é instalada a peroxidação lipídica nas membranas espermáticas, a reação acrossomal e a fusão oócito-espermatozoide também são comprometidos (Aitken et al., 2016).

A peroxidação lipídica é um processo no qual há a oxidação de PUFAs presentes nas membranas celulares, levando à formação de radicais livres e peróxidos de lipídios, que podem ser danosos. A peroxidação lipídica possui três fases (**Figura 5**). A primeira, é a de iniciação, na qual ocorre a interação de um radical livre com um PUFA, resultando na remoção um átomo de hidrogênio de ligações duplas de um ácido graxo insaturado, criando radical lipídico. Tal radical lipídico pode reagir com oxigênio molecular, formando então radical lipídico peroxila (Dutta et al., 2021).

Depois, na fase de propagação, pode haver a interação do radical lipídico peroxila com outra molécula de ácido graxo, originando radical lipídico e hidroperóxidos. Novamente, podemos ter mais interações e abstração de hidrogênio, resultando em mais radicais lipídicos e hidroperóxidos (Dutta et al., 2021).

A fase de terminação pode iniciar quando tivermos uma grande diminuição na quantidade de radicais livres e de PUFAs ou também com a ação de antioxidantes, como glutatona e vitamina E, atuando na neutralização de radicais livres (Dutta et al., 2021).

Figura 5 – Esquema simplificado do processo de peroxidação lipídica



Fonte: Adaptado de Wang et al., 2017

Durante a peroxidação lipídica, PUFA's presentes nas membranas celulares são oxidados e geram uma subprodutos de oxidação, incluindo aldeídos. Os principais aldeídos formados são malondialdeído (MDA), 4-hidroxinonenal (4-HNE) e acroleína. Tais componentes gerados são eletrófilos que podem se ligar por meio de ligação covalente às proteínas, formando adutos proteicos e prejudicando a função espermática. Os subprodutos aldeídos gerados também são capazes de interagir com proteínas mitocondriais, acarretando o vazamento de elétrons e geração de EROs (Wang et al., 2017).

A disfunção proteica somada ao estresse oxidativo no espermatozoide leva à ativação de uma cascata apoptótica, cuja qual pode gerar a morte celular (Aitken et al., 2016).

7.2. FRAGMENTAÇÃO DO DNA ESPERMÁTICO E APOPTOSE

A fragmentação do DNA espermático é um processo no qual ocorre a danificação e/ou fragmentação do material genético do espermatozoide, causando comprometimento estrutural do mesmo. Tal processo pode ocorrer em decorrência do desequilíbrio na capacidade redox. A presença de grandes quantidades de EROs

durante a espermiacção e migração dos espermatozoides pode acarretar dano ao DNA e produção de 8-OH-guanina e 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8-OHdG) e estes produtos aumentados possuem relação com fragmentação do DNA (Noblanc et al., 2013).

Durante a espermiogênese, ocorre a substituição de histonas por protaminas, isso para obter o menor tamanho possível para a cromatina e proteger o genoma paterno contra oxidação. Regiões do DNA com menor compactação são mais suscetíveis aos oxidantes, ou seja, o dano oxidativo atinge regiões do DNA de menor condensação associado à histonas (Noblanc et al., 2013).

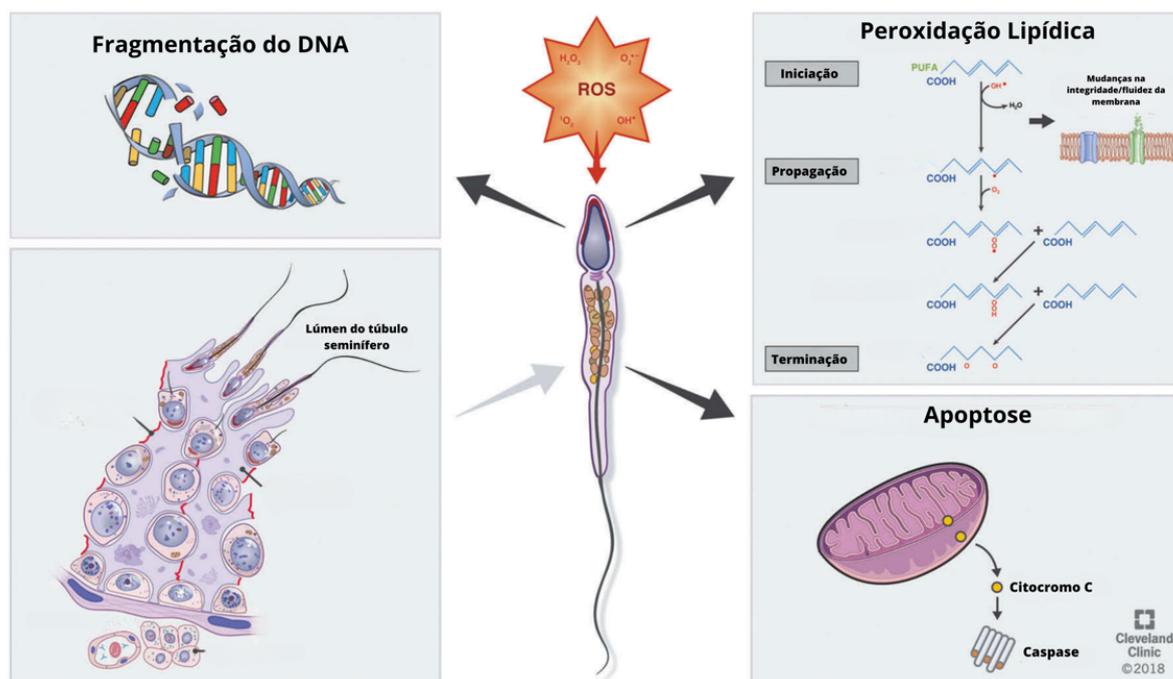
Além disso, após a espermiacção e durante a migração dos espermatozoides para a cauda do epidídimo, o DNA de espermatozoides maduros podem ser afetados por espermatozoides imaturos a partir da alta produção de EROs. Tal pode ocorrer em razão da proximidade dos espermatozoides maduros e imaturos (Ollero et al., 2001).

Tanto o DNA de fita simples como de fita dupla pode sofrer fragmentação e, quando não há o reparo deste, ocorre uma instabilidade no genoma e indução de apoptose, acarretando diminuição na concentração de espermatozoides no sêmen (Dutta et al., 2021).

A apoptose é uma morte celular biologicamente programada na qual ocorrem diversas mudanças na morfologia celular, culminando na desmontagem da célula em corpos apoptóticos. Esse processo de morte celular programada é baseado em mecanismos de cascata, que podem ocorrer por via intrínseca ou extrínseca (Dutta et al., 2021).

Em decorrência de altos níveis de EROs, poros mitocondriais podem ser oxidados e, por consequência, a via intrínseca pode ser ativada. Nessa via, ocorre a liberação de citocromo C presente na membrana interna da mitocôndria, como apontado na **figura 6**. Com isso, citocromo C une-se a outros elementos para formação do chamado apoptossomo que, por sua vez, ativa caspases apoptóticas que promovem a degradação do material celular (Asadi et al., 2021).

Figura 6 – Mecanismos de danos e consequências do estresse oxidativo no espermatozoide: Fragmentação do DNA, Peroxidação Lipídica e Apoptose.



Fonte: Adaptado de Dutta et al., 2019

Em um estudo de Wang *et al.* (2003), níveis elevados de citocromo C foram observados no plasma seminal de homens inférteis, indicando dano à mitocôndria. Além disso, nesse mesmo estudo, foi demonstrada uma correlação positiva entre os níveis de EROs, liberação de citocromo C e ativação de caspases apoptóticas.

8. TERAPIA ANTIOXIDANTE

Como já discutido anteriormente, não há grande quantidade de antioxidantes enzimáticos no espermatozoide e, por isso, quando temos um alto nível de EROs, um desequilíbrio oxidativo é instalado, gerando distúrbios metabólicos e funcionais dos espermatozoides, que podem ser causa de infertilidade. Pensando nessa baixa capacidade de defesa antioxidante, a terapia antioxidante entra como um potencial suporte ao sistema antioxidante natural, uma vez que já foi observado efeito benéfico de tal suplementação em relação aos parâmetros biológicos do espermatozoide (**Quadro 2**) (Cyrus et al., 2015).

A vitamina E, alfa tocoferol, é uma vitamina antioxidante lipossolúvel, dentre seus benefícios, destacam-se a capacidade neutralizante de radicais livres, proteção da membrana celular contra os EROs e relação com diminuição de peroxidação

lipídica. A partir da capacidade de doação de elétrons da vitamina E aos radicais livres do meio, temos a neutralização destes elementos. Com isso, ocorre a diminuição da quantidade de EROs e, por consequência, do ataque oxidativo às células (Alahmar, 2018). Ma L e Sun Y (2022) demonstraram em um estudo que a suplementação concomitante de Vitamina E com Coenzima Q10 resultou na melhora na motilidade e morfologia espermática.

A Vitamina C, ácido ascórbico, é uma vitamina hidrossolúvel que pode ser obtida apenas pela dieta, a partir da ingestão de certos legumes, vegetais e frutas, ou pela suplementação. Sua capacidade antioxidante é observada a partir da eliminação de radicais peróxido, superóxido e hidroxila, protegendo, assim, as moléculas do ataque oxidativo. Em um estudo realizado para monitorar o efeito da suplementação oral de vitamina C nos parâmetros do espermatozoide em homens inférteis, foi observado, em 2 meses de suplementação, um aumento na contagem de espermatozoides e melhoria da motilidade espermática (Akmal et al., 2006).

A Coenzima Q10 é uma enzima que protege a célula dos danos oxidativos resultantes da peroxidação lipídica e participa da cadeia respiratória mitocondrial. Seu papel protetor se dá a partir da neutralização de compostos como ânion superóxido e peróxidos (Alahmar et al., 2021). Além disso, CoQ10 também é capaz de incrementar a atividade de antioxidantes seminais endógenos, como catalase e superóxido dismutase, segundo o estudo de Nadjarzadeh *et al.* (2011). Esse mesmo estudo também demonstrou que a suplementação de COQ10 por 3 meses em homens inférteis resultou em um aumento significativo na capacidade antioxidante total do plasma seminal.

A L-carnitina é um antioxidante que pode ser obtido pela dieta, mas também é produzido internamente por meio dos aminoácidos lisina e metionina. Tal é um composto da classe das aminas e está envolvido em processos de geração de energia, metabolização de ácidos graxos e proteção de membranas. A partir da diminuição da disponibilidade de lipídios para peroxidação no espermatozoide, a carnitina apresenta parte do seu efeito benéfico. Além disso, tais lipídios podem ser redirecionados para mitocôndria, onde sofrerão beta oxidação resultando, assim, em maior disponibilidade energética no espermatozoide (Kowalczyk, 2021). Em um estudo, Ma L e Sun Y (2022) analisaram os efeitos da suplementação oral de L-

carnitina em homens com infertilidade idiopática. Ao analisarem os parâmetros do espermatozoide, verificou-se melhora significativa na concentração, morfologia e motilidade dos espermatozoides.

O selênio é um mineral essencial que desempenha papel importante na formação de espermatozoides e na síntese de testosterona, além de seu papel antioxidante. O selênio é o principal componente das selenoenzimas e suas propriedades antioxidantes resultam da sua capacidade de aumentar a função da glutathione, componente este que atua como agente redutor no processo de redução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), catalisado pela enzima glutathione peroxidase (GPx) (Alahmar, 2018). Em um estudo, Safarinejad e Safarinejad (2009) analisaram os benefícios da suplementação oral diária de selênio, por um período de 6 meses em homens inférteis. Foram observadas melhorias na motilidade espermática, aumento na concentração média e na porcentagem de morfologia normal dos espermatozoides.

Quadro 2 – Principais antioxidantes envolvidos na melhoria da qualidade espermática

Antioxidante	Ação principal	Resultado
Vitamina E	Neutraliza radicais livres e diminui produtos da peroxidação lipídica.	Melhora na motilidade e morfologia espermática.
Vitamina C	Eliminação de radicais peróxido, superóxido e hidroxila	Aumento na contagem de espermatozoides e melhoria da motilidade espermática
Coenzima Q10	Incrementa a atividade de antioxidantes seminais endógenos	Aumento significativo na capacidade antioxidante total do plasma seminal

L-Carnitina	Diminui disponibilidade de lipídios para peroxidação	Melhora na concentração, morfologia e motilidade dos espermatozoides.
Selênio	Incrementa a atividade da glutathiona	Melhora na concentração, morfologia e motilidade dos espermatozoides.

Fonte: Autoral

9. CONCLUSÃO

A partir dos estudos utilizados nessa revisão bibliográfica, foi evidenciado que o estresse oxidativo afeta negativamente a fertilidade masculina. O aumento de EROs no organismo pode ser de fatores endógenos e/ou exógenos. Em relação aos endógenos, tem-se o espermatozoide imaturo e leucocitoespermia como as principais fontes. Já dos fatores exógenos, os exemplos são o tabagismo e o etilismo.

O principal mecanismo de dano das espécies reativas de oxigênio nos espermatozoides é a peroxidação lipídica, uma vez que estes apresentam uma membrana espermática composta, em grande parte, por PUFA's, sendo então, muito suscetíveis ao ataque oxidativo. Além da peroxidação, a fragmentação do DNA e a apoptose também são processos que podem ser desencadeados pelo aumento de EROs, prejudicando ainda mais a qualidade espermática.

Ao analisar os estudos, verificou-se que a terapia antioxidante parece melhorar os principais parâmetros do espermatozoide como motilidade espermática, aumento na concentração média e na porcentagem de morfologia normal dos espermatozoides. Entretanto, muito se discute ainda em relação ao tipo de suplementação, dosagem e sobre o uso concomitante de dois ou mais antioxidantes distintos. Por isso, mais estudos acerca da terapia antioxidante em pacientes inférteis serão necessários.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol.* janeiro de 2008;59(1):2–11.
- Agarwal A, Rana M, Qiu E, AlBunni H, Bui AD, Henkel R. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility. *Andrologia.* 2018;50(11):e13126.
- Aitken RJ, Gibb Z, Baker MA, Drevet J, Gharagozloo P. Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reprod Fertil Dev.* 2016;28(1–2):1–10.
- Akang E, Oremosu A, Osinubi A, James A, Biose I, Dike S, et al. Alcohol-induced male infertility: Is sperm DNA fragmentation a causative? *Journal of Experimental and Clinical Anatomy.* 1º de janeiro de 2017;16(1):53–53.
- Akmal M, Qadri JQ, Al-Waili NS, Thangal S, Haq A, Saloom KY. Improvement in human semen quality after oral supplementation of vitamin C. *J Med Food.* 2006;9(3):440–2.
- Alahmar AT. The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Clin Exp Reprod Med.* junho de 2018;45(2):57–66.
- Alahmar AT, Calogero AE, Sengupta P, Dutta S. Coenzyme Q10 Improves Sperm Parameters, Oxidative Stress Markers and Sperm DNA Fragmentation in Infertile Patients with Idiopathic Oligoasthenozoospermia. *World J Mens Health.* abril de 2021;39(2):346–51.
- Asadi A, Ghahremani R, Abdolmaleki A, Rajaei F. Role of sperm apoptosis and oxidative stress in male infertility: A narrative review. *International Journal of Reproductive BioMedicine (IJRM).* 27 de julho de 2021;493–504.
- Athayde KS, Cocuzza M, Agarwal A, Krajcir N, Lucon AM, Srougi M, et al. Development of Normal Reference Values for Seminal Reactive Oxygen Species and Their Correlation With Leukocytes and Semen Parameters in a Fertile Population. *Journal of Andrology.* 2007;28(4):613–20.
- Barati E, Nikzad H, Karimian M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. *Cell Mol Life Sci.* janeiro de 2020;77(1):93–113.
- Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas R de CG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr.* agosto de 2010;23:629–43.
- Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quím Nova.* fevereiro de 2006;29(1):113–23.

Boguenet M, Bouet PE, Spiers A, Reynier P, May-Panloup P. Mitochondria: their role in spermatozoa and in male infertility. *Hum Reprod Update*. 22 de junho de 2021;27(4):697–719.

Cadet J, Davies KJA, Medeiros MH, Di Mascio P, Wagner JR. Formation and repair of oxidatively generated damage in cellular DNA. *Free Radic Biol Med*. junho de 2017;107:13–34.

Caliri AW, Tommasi S, Besaratinia A. Relationships among smoking, oxidative stress, inflammation, macromolecular damage, and cancer. *Mutat Res*. 2021;787:108365.

Chen SJ, Allam JP, Duan YG, Haidl G. Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches. *Arch Gynecol Obstet*. julho de 2013;288(1):191–9.

Cocuzza M, Sikka SC, Athayde KS, Agarwal A. Clinical relevance of oxidative stress and sperm chromatin damage in male infertility: an evidence based analysis. *Int Braz J Urol*. 2007;33(5):603–21.

Cyrus A, Kabir A, Goodarzi D, Moghimi M. The effect of adjuvant vitamin C after varicocele surgery on sperm quality and quantity in infertile men: a double blind placebo controlled clinical trial. *Int braz j urol*. abril de 2015;41(2):230–8.

Darbandi M, Darbandi S, Agarwal A, Sengupta P, Durairajanayagam D, Henkel R, et al. Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reprod Biol Endocrinol*. 11 de setembro de 2018;16(1):87.

Das SK, Vasudevan DM. Alcohol-induced oxidative stress. *Life Sciences*. 27 de junho de 2007;81(3):177–87.

Dutta S, Henkel R, Sengupta P, Agarwal A. Physiological Role of ROS in Sperm Function. Em: Parekattil SJ, Esteves SC, Agarwal A, organizadores. *Male Infertility: Contemporary Clinical Approaches, Andrology, ART and Antioxidants* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [citado 11 de abril de 2023]. p. 337–45. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-32300-4_27

Dutta S, Majzoub A, Agarwal A. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab J Urol*. 2019;17(2):87–97.

Dutta S, Sengupta P, Slama P, Roychoudhury S. Oxidative Stress, Testicular Inflammatory Pathways, and Male Reproduction. *Int J Mol Sci*. 17 de setembro de 2021;22(18):10043.

Ghaffari MA, Rostami M. The Effect of Cigarette Smoking on Human Sperm Creatine Kinase Activity: As An ATP Buffering System in Sperm. *Int J Fertil Steril*. 2013;6(4):258–65.

Golas A, Malek P, Piasecka M, Styrna J. Sperm mitochondria diaphorase activity – a gene mapping study of recombinant inbred strains of mice. *Int J Dev Biol.* 23 de fevereiro de 2010;54(4):667–73.

Guthauser B, Boitrelle F, Plat A, Thiercelin N, Vialard F. Chronic Excessive Alcohol Consumption and Male Fertility: A Case Report on Reversible Azoospermia and a Literature Review. *Alcohol and Alcoholism.* 1º de janeiro de 2014;49(1):42–4.

He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem.* 2017;44(2):532–53.

Kiley PJ, Storz G. Exploiting Thiol Modifications. *PLOS Biology.* 16 de novembro de 2004;2(11):e400.

Kobayashi CI, Suda T. Regulation of reactive oxygen species in stem cells and cancer stem cells. *J Cell Physiol.* fevereiro de 2012;227(2):421–30.

Kowalczyk A. The Role of the Natural Antioxidant Mechanism in Sperm Cells. *Reprod Sci.* 29 de novembro de 2021;29(5):1387–94.

Ma L, Sun Y. Comparison of L-Carnitine vs. Coq10 and Vitamin E for idiopathic male infertility: a randomized controlled trial.

Muratori M, Tamburrino L, Marchiani S, Cambi M, Olivito B, Azzari C, et al. Investigation on the Origin of Sperm DNA Fragmentation: Role of Apoptosis, Immaturity and Oxidative Stress. *Mol Med.* 30 de janeiro de 2015;21(1):109–22.

Nadjarzadeh A, Sadeghi MR, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, Gohari MR, 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. *J Endocrinol Invest.* setembro de 2011;34(8):e224-228.

Noblanc A, Damon-Soubeyrand C, Karrich B, Henry-Berger J, Cadet R, Saez F, et al. DNA oxidative damage in mammalian spermatozoa: where and why is the male nucleus affected? *Free Radical Biology and Medicine.* 1º de dezembro de 2013;65:719–23.

Ollero M, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agarwal A, Larson K, et al. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Human Reproduction.* 1º de setembro de 2001;16(9):1912–21.

Punab M, Poolamets O, Paju P, Vihljajev V, Pomm K, Ladva R, et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Hum Reprod.* janeiro de 2017;32(1):18–31.

Sabeti P, Pourmasumi S, Rahiminia T, Akyash F, Talebi AR. Etiologies of sperm oxidative stress. *Int J Reprod Biomed.* abril de 2016;14(4):231–40.

Safarinejad MR, Safarinejad S. Efficacy of selenium and/or N-acetyl-cysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol*. fevereiro de 2009;181(2):741–51.

Said TM, Agarwal A, Sharma RK, Mascha E, Sikka SC, Thomas AJ. Human sperm superoxide anion generation and correlation with semen quality in patients with male infertility. *Fertility and Sterility*. outubro de 2004;82(4):871–7.

Sakkas D, Alvarez JG. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertility and Sterility*. março de 2010;93(4):1027–36.

Salas-Huetos A, James ER, Aston KI, Jenkins TG, Carrell DT. Diet and sperm quality: Nutrients, foods and dietary patterns. *Reproductive Biology*. 1º de setembro de 2019;19(3):219–24.

Silva AA da, Gonçalves RC. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. *Cienc Rural*. 26 de março de 2010;40(4):994–1002.

Wang W, Yang H, Johnson D, Gensler C, Decker E, Zhang G. Chemistry and biology of ω -3 PUFA peroxidation-derived compounds. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. setembro de 2017;132:84–91.

Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas AJ, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertility and Sterility*. setembro de 2003;80(3):531–5.

Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res Health*. 2003;27(4):277–84.