



Revisión monográfica

Impacto de las especies reactivas del oxígeno sobre la fertilidad masculina

Yanet Hernández-Matos,* Livan Delgado-Roche,* Rodolfo López-Pérez,**
Gregorio Martínez-Sánchez,* Akel Mallok*

Resumen

Durante la pasada década, las especies reactivas del oxígeno han emergido como importantes reguladores de una multitud de procesos fisiológicos y fisiopatológicos; tal es el caso del papel que ejercen sobre la fertilidad masculina. En concentraciones moderadas y controladas, las especies reactivas del oxígeno son indispensables para que se lleve a cabo el proceso de capacitación del espermatozoide. Pero al aumentar su generación y disminuir su eliminación, por parte de los antioxidantes, impactan negativamente sobre los gametos masculinos y causan daños al ADN e inducen procesos de peroxidación lipídica en la membrana celular, con lo cual comprometen la viabilidad de los mismos. En el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica actualizada acerca del papel del estrés oxidativo y las especies reactivas de oxígeno sobre la fertilidad masculina.

Palabras clave: Especies reactivas del oxígeno, fertilidad masculina, capacitación, estrés oxidativo.

Abstract

During the past decade, reactive oxygen species have emerged as important regulators of many physiological and pathophysiological processes, including the role they play in male fertility. At low and normal concentrations, they are essential in the spermatozoid capacitation process. While high levels caused by an increase in its generation or dysfunctional antioxidant systems, reactive oxygen species cause DNA damages and induce peroxidative process on cellular membranes. Under these conditions the sperm viability is affected and consequently the male fertility. The aim of the present work was to investigate the role of reactive oxygen species and oxidative stress on male to fertility.

Key words: Reactive oxygen species, male fertility, capacitation, oxidative stress.

Introducción

La adquisición de la capacidad fértil del espermatozoide eyaculado es un proceso complejo que aún no está del todo esclarecido y que se conoce con el nombre de capacitación.¹ En él intervienen las células de Sertoli y el epitelio del epidídimo, los cuales se encargan de secretar hormonas y enzimas que son necesarias para que este proceso tenga lugar.² En la capacitación espermática también juegan un papel decisivo las especies reactivas del oxígeno (ERO). Recientemente, se ha podido comprobar que su producción,

bajo condiciones fisiológicas y de forma controlada, es de vital importancia para que se produzca la adquisición de la capacidad fértil del espermatozoide.³ En este proceso también intervienen otros mecanismos que están regulados por ERO como es el influjo de calcio a través de la membrana, el aumento del adenosin monofosfato cíclico (AMPC) y la fosforilación de proteínas, entre otros.⁴

Por otra parte, se conoce que las ERO pueden incidir negativamente sobre la fertilidad masculina a través de dos mecanismos fundamentales. El primero de ellos es el daño que provocan a la membrana espermática, lo cual

* Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas.

** Departamento de Farmacia.

Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana

Fecha de recepción: 01-Junio-2010
Fecha de aceptación: 08-Agosto-2010

da lugar a una reducción de la motilidad y habilidad del espermatozoide de fusionarse con el óvulo. En tanto, el daño que las ERO ejercen directamente sobre el ADN espermático, es otro de los mecanismos a través del cual afectan la genómica paternal del embrión.⁵

La incidencia mundial de la infertilidad masculina se ha incrementado notablemente en los últimos años, debido a diversas causas, algunas de origen genético y otras asociadas a la exposición a agentes nocivos. A nivel mundial, 1 de cada 20 hombres es infértil. De ahí que el estudio de los mecanismos fisiopatológicos que están involucrados en la infertilidad masculina será de vital importancia para la aplicación de estrategias terapéuticas, ya que es conocido que la población mundial envejece al mismo tiempo que disminuye cada vez más la natalidad.⁵

Espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso continuo que se inicia en la pubertad, y tiene como finalidad la formación de una estructura capaz de proteger y transportar el material genético del espermatozoide hasta el sitio de su unión con el material genético contenido en el óvulo.⁶ Este proceso se lleva a cabo a través de tres etapas: la primera se conoce como espermatocitogénesis o mitosis, en la cual se producen las células madre y los espermatocitos primarios a través de un proceso de división mitótica. La segunda etapa es la meiosis, paso en el que ocurre la duplicación celular con cambios en el material genético, por medio de dos divisiones celulares que reducen el número de cromosomas de un estado diploide a haploide y da origen a las espermátidas. Como la última de las etapas se encuentra la espermatogénesis en la que se produce la diferenciación de la espermátida esférica a madura, que es finalmente liberada a la luz del túbulo seminífero como espermatozoides; en esta etapa es donde culmina la formación de una superestructura capaz de proteger la información genética de daños externos y que a la vez garantiza la energía necesaria para su transporte hasta el sitio de la fecundación.²

Durante la espermatogénesis se desencadenan procesos biológicos importantes como son: los cambios lipídicos de la membrana plasmática del espermatozoide, la peroxidación lipídica (POL) y la apoptosis de las células germinales no competentes.²

Durante el paso del espermatozoide por el epidídimo se incorporan lípidos a la estructura de su membrana, particularmente fosfatidilcolina y ácidos grasos insaturados. Estos cambios se relacionan con un aumento de la actividad flagelar y de la movilidad del espermatozoide. Simultáneamente, se produce una disminución de la

fosfatidiletanolamida y de la esfingomielina, lo que hace suponer que estos últimos compuestos químicos tienen una relación inversa con la movilidad del espermatozoide. Por otra parte, la distribución de los ácidos grasos se modifica, con predominio de los insaturados en la cola y de los saturados en la cabeza del espermatozoide, lo que produce una anisometría en la polarización fluorescente. Todas estas modificaciones determinan una disminución de la relación colesterol/fosfolípidos en la membrana espermática.²

Por su parte, el fenómeno de la apoptosis tiene lugar en varias etapas de la espermatogénesis y es un mecanismo de control y regulación en el cual, de forma indirecta, se desenlaza un proceso de selección que determina que sólo los espermatozoides más aptos tengan la oportunidad de sobrevivir y fecundar las células sexuales femeninas.⁷

Especies reactivas del oxígeno y su relación con el proceso de capacitación

Las ERO pueden tener efectos perjudiciales o beneficiosos sobre las funciones espermáticas, lo cual depende de la naturaleza y la concentración de la especie involucrada, así como del momento y el sitio de exposición.⁸ Ellas pueden clasificarse desde el punto de vista químico en radicalarias y no radicalarias, de las cuales las más importantes son el radical anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($OH^\cdot$) y el óxido nítrico (NO) y se conocen como no radicalarias el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el ácido hipocloroso (HOCl) y el oxígeno singlete (1O_2). Estas especies químicas se producen como consecuencia del metabolismo celular del oxígeno durante procesos fisiológicos o en respuesta a factores exógenos. Durante la respiración celular los electrones se transfieren del NADH al oxígeno a través de una cadena de tres grandes complejos proteicos llamados NADH-Q reductasa, citocromo reductasa y citocromo oxidasa. Existen dos fuentes de generación de O_2^- en la cadena transportadora de electrones: a través de la reducción de la ubiquinona se forma un radical libre (RL) parcialmente reducido a ubisemiquinona (QH), la cual interactúa con el O_2 para producir O_2^- . Este mecanismo es el principal responsable de la producción de ERO en la mitocondria. El otro mecanismo de producción de O_2^- en la mitocondria es el que involucra la flavoproteína NADH deshidrogenada. El grupo flavina de esta enzima es reducido durante el transporte electrónico al radical flavina semiquinona que al reaccionar con el O_2 produce O_2^- en una reacción similar a la de la ubiquinona.⁹

En la literatura se reportan otras vías por las cuales ocurre la formación de ERO, como es la reacción de éstas

con los metales de transición.⁹ Los iones metálicos tienen un fuerte efecto en la química del O_2 y sus productos de reducción. Al producirse la reacción entre el Fe^{2+} con el H_2O_2 puede iniciarse la reacción de Fenton en la que se forma el radical $OH^\cdot$. En el caso de iones como el cobre (Cu), níquel (Ni) y cobalto (Co) pueden reaccionar de forma similar. El $OH^\cdot$ se puede formar también a través de la reacción de Haber-Weiss, donde el $O_2^\cdot$ reacciona con el H_2O_2 en presencia de Fe^{2+} . Esta especie radicalaria es altamente reactiva y puede reaccionar prácticamente con cualquier molécula presente en la célula, lo cual se debe a su elevada inestabilidad química.¹⁰

A través del complejo enzimático xantina deshidrogenasa/xantina oxidasa ocurre la formación de ERO, lo cual se conoce como la principal fuente de generación de $O_2^\cdot$ y de H_2O_2 . La xantina oxidasa cataliza la conversión de hipoxantina a xantina y ácido úrico en la vía catabólica de las purinas y además cataliza la oxidación de gran variedad de sustratos.¹⁰

Por otra parte, no se puede dejar de mencionar otro mecanismo importante que es la del metabolismo del ácido araquidónico por las ciclooxigenasas y lipooxigenasas para formar metabolitos activos biológicamente. Estos metabolitos denominados eicosanoides son potentes mensajeros que modulan la función celular y están involucrados en numerosos procesos fisiopatológicos como la inflamación.⁹ El radical NO es una importante ERO el cual es vasodilatador endógeno que es sintetizado por una familia de enzimas denominadas óxido nítrico sintetasas (NOS) a través de la oxidación enzimática del grupo guanidino de la L-arginina para formar L-citrulina y NO. Los procesos fisiológicos del NO están mediados por la activación de una isoforma soluble de la guanilato ciclasa (GC); sin embargo, la explicación de sus modos de acción durante los procesos fisiopatológicos es mucho más compleja.¹¹

Generación de ERO en el semen

La producción de ERO se ha relacionado con el proceso de maduración del espermatozoide y los cambios de fluidez de la membrana del mismo, lo cual es importante a la hora de su fusión con el óvulo. Varias observaciones experimentales sugieren la existencia de una asociación negativa entre la capacidad de fusión espermatozoide-óvulo y los niveles de ERO.¹²

En el semen existen fundamentalmente dos fuentes generadoras de ERO: los espermatozoides y los leucocitos presentes en el líquido espermático. La población fundamental de leucocitos en el semen son los neutrófilos,¹² los cuales destruyen a los patógenos a través del

mecanismo de producción de ERO; por lo cual no resulta sorprendente que sean estos leucocitos causa de ERO en el semen, el cual puede ser controlado, temporal o llegar a ser crónico y conducir a daño celular.¹³ En la actualidad aún se debate sobre el papel que juegan los espermatozoides y los leucocitos en la etiología del ERO en el semen.⁵ Se ha reportado que la generación de ERO es 1,000 veces mayor en leucocitos que en espermatozoides durante la capacitación,¹⁴ lo cual sugiere que los leucocitos son la principal fuente generadora de ERO en el semen.

Se conoce que la fisiología del espermatozoide humano es más compleja de lo que se pensaba al inicio, particularmente si se tiene en cuenta que estas células son muy compartimentalizadas y no sintetizan proteínas. Sin embargo, se ha comprobado que la generación moderada y controlada de $O_2^\cdot$, NO y H_2O_2 por espermatozoides, humanos y bovinos, es necesaria para que se produzca la capacitación de estas células.^{15,16}

En la literatura se plantea que las proteínas de la envoltura fibrosa (la estructura que rodea el axonema en el centro del flagelo) están sujetas a la fosforilación de sus residuos de tirosina (P-Tyr). Estas modificaciones proteicas son muy importantes para la función espermática porque los espermatozoides son incapaces de sintetizar proteínas. La P-Tyr es dependiente de cAMP, proteína quinasa A (PKA) y de la acción de las ERO. Estos eventos tienen lugar de forma tardía en la capacitación de los espermatozoides, ya que se ha comprobado que ocurren pocas horas (2-4 h) después de la incubación.¹⁷

También es conocido que los espermatozoides humanos incubados bajo condiciones de capacitación comienzan inmediatamente a producir $O_2^\cdot$. Se ha planteado que las ERO tienen un papel central en los procesos de transducción de señales asociados a la adquisición de la habilidad fértil. A través de evidencias experimentales se ha demostrado que la adición al medio de superóxido dismutasa (SOD) 30 min después de haber comenzado el proceso no impide que se produzca la capacitación espermática, lo cual sugiere que las ERO inducen la iniciación de una cascada de señales que permiten que este proceso tenga lugar.¹⁶ Por otra parte, se ha podido reproducir experimentalmente el aumento de la generación de AMPc a través de la adición de $O_2^\cdot$ o donores de NO, lo cual ocurre al comienzo de la capacitación y refuerza el criterio sobre la importancia de la participación de estas ERO en la adquisición de la capacidad fértil del espermatozoide.¹⁸ Se ha demostrado que los inhibidores de la óxido nítrico sintasa (NOS) y de la SOD bloquean el incremento del $O_2^\cdot$ y NO y con ello el proceso de capacitación.¹

Mecanismo de daño espermático mediado por ERO

Las ERO pueden dañar proteínas, ácidos nucleicos y causar la pérdida de la movilidad espermática y con ello afectar la fertilidad. Debido al alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), los espermatozoides humanos son especialmente sensibles al daño por ERO, y al parecer el H_2O_2 es el más tóxico de estos agentes químicos para estas células.¹⁹ Los lipoperóxidos y sus productos de degradación como el malondialdehído (MDA) y los 4-hidroxi-alquenos (4-HA) son altamente tóxicos para las células sexuales masculinas y provocan daños irreversibles a la motilidad. La POL se correlaciona con la disminución de la motilidad espermática y con los defectos morfológicos del cuerpo de los gametos masculinos.²⁰ Este fenómeno consiste en el daño oxidativo sobre los AGPI, los cuales contienen en su estructura dos dobles enlaces C-C especialmente susceptibles a la sustracción de un electrón por parte de las ERO. Además conduce a un aumento considerable de la permeabilidad de las membranas celulares, y origina alteraciones irreversibles de las propiedades funcionales de la célula que pueden conducir a su lisis total.^{13,21} Durante la fase de iniciación de la POL un radical de elevada reactividad como el OH^- puede extraer un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado para producir el radical lipídico, el cual se reorganiza y forma el dieno conjugado que en su reacción con el O_2 da lugar al radical peroxilo con suficiente reactividad como para atacar otro lípido y conducir a la propagación de la reacción radicalaria.¹⁶ La conjugación rápida de dienos con O_2 favorece la formación de numerosos derivados tóxicos como son los hidroperóxidos (ROOH), los 4-HA y el MDA.¹⁰

Las ERO afectan además la genómica paternal del embrión; es a través del daño que ejercen directamente sobre el ADN espermático,⁵ ya que se conoce que la integridad del ADN constituye un indicador del proceso de espermatogénesis y de la fertilidad masculina. Las ERO pueden causar hipercondensación del núcleo espermático como resultado de una excesiva oxidación de los grupos sulfhidrilos proteicos. Aproximadamente el 10% de los espermatozoides provenientes de hombres fértiles poseen niveles medibles de daño al ADN, mientras que en aquellos que provienen de hombres infértiles, este porcentaje oscila entre 20 y 25%.²² Las ERO son capaces de dañar el ADN a través de la oxidación de las bases de purina y pirimidina, así como del esqueleto carbonado. Normalmente el ADN se encuentra empaquetado y protegido por las protaminas, en la infertilidad masculina se conoce que existe un déficit de estas proteínas.²³ Otro de los daños que provocan es la activación de la apoptosis a

través de la degradación enzimática del ADN por acción de las capasas.²⁴

Aunque la mayor parte del ADN espermático es nuclear, existe una pequeña fracción que es de origen mitocondrial. Este ADN codifica para 37 genes, de los cuales 13 lo hacen para polipéptidos que forman parte de subunidades de los complejos enzimáticos involucrados en el proceso de fosforilación oxidativa. Ésta puede ser una de las causas por las cuales el espectro de mutación del ADN mitocondrial en el espermatozoide puede ser de 10 a 100 veces mayor que el del ADN nuclear.²⁵

Actividad antioxidante y ERO

La producción de energía oxidativa se encuentra asociada con la generación de ERO, aunque a elevadas concentraciones éstas pueden conducir a daño celular. Las células germinales y embrionarias son vulnerables, como otras células, al efecto dañino de las ERO y de este modo requieren de protección antioxidante en los sitios donde se producen los gametos, su maduración y almacenamiento. Se ha demostrado que las ERO pueden participar en mecanismos de señalización y que juegan un papel crucial en los procesos reproductivos. De ahí que sea importante considerar el papel de los antioxidantes sobre la infertilidad masculina.

Los espermatozoides poseen una variedad de mecanismos de defensa antioxidante que incluyen principalmente a la superóxido dismutasa (SOD), a la catalasa (CAT), y la glutatión peroxidasa (GPx), así como antioxidantes de bajo peso molecular como el ácido úrico, tioles y el ácido ascórbico.^{26,27} Dentro de la actividad antioxidante enzimática se destaca principalmente la SOD que comprende un grupo de metaloenzimas que pueden dividirse en dos familias filogenéticas diferentes: la CuZn-SOD y la FeMn-SOD, la primera de ellas se localiza en el interior celular al igual que la manganeso dependiente de localización mitocondrial, mientras que la hierro dependiente se localiza en la membrana de células eucariotas, por lo que sólo existe un isotipo extracelular responsable de la dismutación del radical O_2^- en los fluidos extracelulares. Las SOD catalizan la conversión de O_2^- a H_2O_2 y O_2 y lo hacen con similar eficiencia.²⁸ Otra enzima antioxidante es la CAT, la cual es una metaloproteína tetramérica que contiene 4 subunidades. Y cada una contiene un grupo hemo. Ella se localiza en la membrana de los peroxisomas y en la mitocondria, aunque se ha observado en el citoplasma de algunos tipos celulares como el eritrocito. Es una de las enzimas más eficientes que se conoce y de las más abundantes. Reacciona con el H_2O_2 para generar agua y oxígeno. Existen muchas isoformas de la catalasa,

la mayoría presentan Fe en su sitio activo (grupo hemo), pero algunas poseen Mn.⁹

Dentro de las sustancias endógenas con capacidad antioxidante se destaca el glutatión (GSH), el cual es un tripéptido, γ -glutamilsil-glicina que se encuentra en todas las células en concentraciones relativamente altas y es el compuesto con grupos -SH más abundante en los tejidos (-SH no proteicos). Dentro de sus principales funciones se encuentran la detoxificación de compuestos electrofílicos, captura radicales libres, y es cofactor de enzimas como la GPx, entre otras.⁹

También existen sustancias exógenas antioxidantes en las cuales se incluyen aquéllas obtenidas a través de la dieta como son: el α -tocoferol y el ácido ascórbico. El α -tocoferol (vitamina E) es el más activo y abundante de los tocoferoles. Su estructura le permite reaccionar con los radicales lipídicos e impedir las reacciones de propagación. La actividad del α -tocoferol se basa en sus propiedades antioxidantes, por lo que es importante en el mantenimiento de la integridad y estabilidad de las membranas biológicas al proteger los AGPI de la peroxidación. Además modula las rutas de señalización relacionadas con la síntesis y distribución de neurotransmisores.²⁹ El ácido ascórbico (vitamina C) también se considera un importante agente antioxidante. La base de su acción está relacionada con la formación de una especie radicalica (radical semidehidroascorbato) menos activa que el radical captado.³⁰

Desde el punto de vista de su modo de acción los antioxidantes pueden clasificarse de la siguiente manera:⁹

- Antioxidantes primarios: Previenen la formación de nuevas ERO actuando sobre ellas antes de que puedan reaccionar, o evitando su producción a partir de otras moléculas. Aquí se destacan las enzimas SOD, GPx, CAT y proteínas de unión a metales como la ferritina y la ceruloplasmina.
- Antioxidantes secundarios: Capturan los RL y evitan las reacciones en cadena. Ejemplo de ellos son la α -tocoferol, ácido ascórbico, β -carotenos, ácido úrico, bilirrubina, albúmina y ubiquinona.
- Antioxidantes terciarios: Son los encargados de la reparación de las biomoléculas dañadas. En este grupo se incluyen las enzimas reparadoras del ADN y la metionina sulfóxido reductasa (MSR).

Teniendo en cuenta la elevada toxicidad y reactividad de las ERO, en la célula se crean una serie de mecanismos de defensa, los cuales le permiten evitar daños en cada uno de sus componentes. Anteriormente se reflejaron las características del sistema antioxidante mediante las cuales se pudo evidenciar que los agentes reductores son de vital

importancia en el organismo, ya que su misión es impedir y frenar la acción de las ERO, para así disminuir sus niveles intracelulares. Por lo que se hace necesario conocer el comportamiento de estas entidades en diversas fisiopatologías en las cuales el estrés oxidativo juega un papel central, como es el caso de la infertilidad masculina.

Bibliografía

1. O'Flaherty C, de Lamirande E, Gagnon C. Positive role of reactive oxygen species in mammalian sperm capacitation: triggering and modulation of phosphorylation events. *Free Radic Biol Med* 2006; 41: 528-540. Disponible en: <http://preview.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16863985>
2. Llamas H. Endocrinología en ginecología. Ciudad de la Habana; Ed. Ciencias Médicas 2006: 116-133.
3. De Lamirande E, Lamothe G. Reactive oxygen-induced reactive oxygen formation during human sperm capacitation. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 502-510.
4. De Jonge C. Biological basis for human capacitation. *Hum Reprod* 2005; 11: 205-214.
5. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Hum Reprod Upd* 2008; 14: 243-258. Disponible en: <http://preview.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18281241>
6. Guyton AC, Hall JE. Medical physiology. Philadelphia; Elsevier, 2006: 999-1001.
7. Kierszenbaum AL. Apoptosis during spermatogenesis: the thrill of being alive. *Mol Reprod Dev* 2001; 58: 1.
8. Aitken RJ, Baker HW. Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good samaritans? *Hum Reprod* 1995; 10: 1736-1739.
9. León OS, Martínez G, Candelario EJ, García I, Bilbao T, Ledesma L. Balance antioxidante- prooxidante: salud y enfermedad. *Ciudad de la Habana* 2005: 84.
10. Martín CA. Generación de mediadores lipídicos inducida por Pert- butilhidroperóxido en hepatocitos de rata. *Tesis de Doctorado* 2001: 1-4.
11. Virág L, Szabó E, Gergely P, Szabó C. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol Lett* 2003; 140: 113-124.
12. Alba LE, Monzón G, Peláez LA, Quintero Y. Papel del estrés oxidativo en la infertilidad masculina. *Rev Cubana Invest Biomed* 2000; 19: 202-205. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=0864-030020000003&lng=es&nrm=iso
13. Sevanian A, Ursini F. Lipid peroxidation in membranes and low-density lipoproteins: similarities and differences. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 306-311.
14. Plante M, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species released by activated neutrophils, but not by deficient spermatozoa, are sufficient to affect normal sperm motility. *Fertil Steril* 1994; 62: 387-393.
15. Ford C. Regulation of sperm functions by reactive oxygen species. *Hum Reprod Upd* 2004; 10: 387-399.
16. O'Flaherty C, Beorelgui B, Beconi MT. Participation of superoxide anion in the capacitation of cryopreserved bovine sperm. *Int J Androl* 2003; 26: 109-114.

17. O'Flaherty C, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species modulate independent protein phosphorylation pathways during human sperm capacitation. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 1045-1055.
18. Herrero M, Chatterjee S, Lefièvre L, de Lamirande E, Gagnon C. Nitric oxide interacts with the cAMP pathway to modulate capacitation of human spermatozoa. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 522-536.
19. Fulbert JC, Cals MJ. Free radicals in clinical biology. Origin, pathogenic effect and defense mechanisms. *Pathol Biol* 1992; 40: 66-77.
20. Zaniboni L, Cerolini S. Liquid storage of turkey semen: Changes in quality parameters, lipid composition and susceptibility to induced *in vitro* peroxidation in control, n3-fatty acid and alpha-tocopherol rich spermatozoa. *An Reprod Sci* 2009; 112: 51-65.
21. Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 2002; 347: 576-580.
22. O'Brien J, Zini A. Sperm DNA integrity and male infertility. *Urology* 2005; 65: 16-22.
23. Villegas J, Schulz M, Soto L, Iglesias T, Miska W, Sánchez R. Influence of reactive oxygen species produced by activated leukocytes at the level of apoptosis in mature human spermatozoa. *Fertil Steril* 2005; 83: 808-810.
24. Ford WCL. Reactive oxygen species and sperm. *Hum Fert* 2001; 4: 77-78.
25. Oliva R. Protamines and male infertility. *Hum Reprod Upd* 2006; 12: 417-435.
26. Álvarez JG, Storey BT. Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from the loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gam Res* 1989; 23: 77-90.
27. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the Cu-Zn-SOD (SOD₁), Mn-SOD (SOD₂) and Se-SOD (SOD₃) gene structure evolution and expression. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 337-349.
28. Martínez G, Popov I, Pérez G, Al Dalaen SM, Horwat R, Giuliani A, León OS. Contribution to characterization of oxidative stress in diabetic patients with macroangiopathic complication. *Acta Farm Bonaerense* 2005; 24: 197-203.
29. Chen H, Tappel AL. Protection of vitamin E, selenium, trolox C, ascorbic acid palmitate, acetyl cysteine, coenzyme Q₁₀, coenzyme Q₁₀, β -carotene, canthaxanthine, and (+) catechine against oxidative damage to rat blood and tissues *in vivo*. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 949-953.
30. Fontham ETH. Vitamin C, vitamin C foods and cancer: Epidemiology studies. In: Frei B, ed. *Natural antioxidants in human health and disease*. London; London Academic Press, 1994: 157-197.

Correspondencia:

Lic. Yanet Hernández Matos
Ave 23 Núm. 21425 e/214 y 222,
La Coronela, La Lisa, 13 600,
Ciudad de La Habana, Cuba
E-mail: yanet@cieb.sld.cu