

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Vitória Manenti Martins

O papel do fator masculino nos programas de reprodução assistida: uma revisão narrativa
da literatura

Florianópolis

2022

Vitória Manenti Martins

O papel do fator masculino nos programas de reprodução assistida: uma revisão narrativa da literatura

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.
Orientador: Prof. Dr. Alexandre Sherley Casimiro Onofre

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Martins, Vitória Manenti

O papel do fator masculino nos programas de reprodução assistida : uma revisão narrativa da literatura / Vitória Manenti Martins ; orientador, Alexandre Sherlley Casimiro Onofre, 2022.

64 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Infertilidade masculina. 3. Análise seminal. 4. Espermograma. 5. Reprodução assistida. I. Sherlley Casimiro Onofre, Alexandre . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Vitória Manenti Martins

O papel do fator masculino nos programas de reprodução assistida: uma revisão narrativa da literatura

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Farmácia” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Farmácia.

Florianópolis, 28 de Julho de 2022.

Profª Dra. Liliete Canes Souza Cordeiro
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alexandre Sherlley Casimiro Onofre
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dra. Ziliani da Silva Buss
Membro titular
Universidade Federal de Santa Catarina

Ane Francyne Costa
Membro titular
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, especialmente aos meus pais, pelo amor incondicional, por me fazerem acreditar que tudo daria certo e por toda a confiança, apoio e incentivo para que eu sempre siga meus sonhos.

Aos meus amigos de infância, que mesmo distantes fisicamente continuaram presentes na minha vida.

Aos meus amigos da faculdade, Bruna, Hanna, Thais, Victoria, Virgínia, Yasmim, João e Robson, por todo o companheirismo e por terem tornado esta jornada mais leve e divertida, mesmo nos momentos difíceis, e um agradecimento especial à Bruna, por todas as histórias (e lares) compartilhados nesses últimos anos.

A todos os professores que fizeram parte da minha caminhada como estudante, pelo conhecimento compartilhado e por terem dedicado suas vidas ao ensino e à missão de formarem um mundo melhor através da educação.

Ao professor Alexandre Sherlley Casimiro Onofre, pela orientação, pelos conselhos e pela confiança no meu trabalho.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por ter me acolhido e proporcionado tantas oportunidades e experiências incríveis, além de uma educação pública e de qualidade.

E por fim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

São as nossas escolhas, mais do que as nossas
capacidades, que mostram quem realmente somos.

ROWLING, J. K., 1998

RESUMO

A infertilidade é uma condição prevalente que afeta cerca de 15% dos casais em idade reprodutiva em todo o mundo. Aproximadamente 30% da infertilidade do casal pode ser atribuída exclusivamente ao homem, e, um fator masculino pode contribuir, pelo menos parcialmente, para as dificuldades de engravidar em até 50% dos casais inférteis. Uma variedade de fatores incluindo estilo de vida e questões genéticas têm sido relacionadas a essa condição. A análise do sêmen recomendada pela Organização Mundial da Saúde é a base para a avaliação da fertilidade masculina. Nela, através de avaliações macro e microscópicas, são realizados testes de contagem, morfologia, motilidade e função espermática que contribuem para o diagnóstico e o tratamento dos casos de infertilidade. Evidências na área de reprodução sugerem que a qualidade do sêmen humano está em declínio, e, nesse contexto, as técnicas em reprodução assistida entram com o objetivo de auxiliar no manejo do casal infértil e facilitar o processo reprodutivo natural. O presente trabalho apresentará, através de uma revisão narrativa e descritiva da literatura, as principais causas envolvidas na infertilidade masculina e as técnicas utilizadas para o diagnóstico desta condição, bem como, apresentará as principais técnicas em reprodução assistida utilizadas na atualidade.

Palavras-chave: Análise seminal; Infertilidade; Infertilidade masculina; Parâmetros seminais; Reprodução assistida; Reprodução humana.

ABSTRACT

Infertility is a prevalent condition affecting about 15% of couples of reproductive age worldwide. Approximately 30% of couple infertility can be attributed solely to men, and a malefactor may contribute, at least partially, to the difficulties of pregnancy in up to 50% of infertile couples. A variety of factors including lifestyle and genetic issues have been linked to this condition. The semen analysis recommended by the World Health Organization is the basis for the evaluation of male fertility. In it, through macro and microscopic evaluations, sperm count, morphology, motility and function tests are performed, contributing to the diagnosis and treatment of infertility cases. Evidence in the area of reproduction suggests that the quality of human semen is declining. In this context, assisted reproduction techniques come in to help in the management of the infertile couple and facilitate the natural reproductive process. The present literature will show, through a narrative and descriptive literature review, the main causes involved in male infertility and the techniques used for its diagnosis, as well as show the main techniques used in assisted reproduction.

Keywords: Seminal analysis; Infertility; Male infertility; Seminal parameters; Assisted reproduction; Human reproduction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Testes de função espermática.....	17
Figura 2 - Principais componentes do sistema reprodutor masculino.....	24
Figura 3 – Teste de vitalidade pela coloração eosina-nigrosina.....	35
Figura 4 – Esfregaço de sêmen corado pela Coloração de Papanicolaou.....	37
Figura 5 - Células redondas coradas pela coloração de Papanicolaou.....	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Causas e fatores de risco para infertilidade masculina	28
Quadro 2 - Classificação da morfologia espermática.....	38
Quadro 3 - Evolução comparativa entre os valores de referência da OMS para os parâmetros do sêmen.....	42
Quadro 4 – Técnicas de reprodução assistida recomendadas em casos de infertilidade masculina.....	52

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Registro mundial de ciclos de Reprodução Assistida entre 2000 e 2017.....	23
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	ANÁLISE SEMINAL	16
2	JUSTIFICATIVA	19
3.1	OBJETIVO GERAL.....	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4	METODOLOGIA.....	20
5	DESENVOLVIMENTO E DISCUSSÃO	21
5.1	HISTÓRICO	21
5.2	EPIDEMIOLOGIA.....	22
5.3	SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E A FORMAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES	23
5.4	SÊMEN.....	26
5.5	CAUSAS DE INFERTILIDADE MASCULINA	27
5.5.1	Fatores congênitos	28
5.5.2	Fatores adquiridos	29
5.5.3	Fatores de risco idiopático	31
5.6	ESPERMOGRAMA	31
5.6.1	Exame básico.....	32
5.6.1.1	<i>Aparência macroscópica</i>	32
5.6.1.2	<i>Volume</i>	32
5.6.1.3	<i>Liquefação e viscosidade.....</i>	33
5.6.1.4	<i>pH</i>	33
5.6.1.5	<i>Investigação microscópica inicial</i>	33
5.6.1.5.1	<i>Aglutinação.....</i>	33
5.6.1.5.2	<i>Motilidade espermática.....</i>	34
5.6.1.5.3	<i>Vitalidade.....</i>	34
5.6.1.5.4	<i>Concentração e contagem de espermatozoides e outras células</i>	35

5.6.1.5.5	Morfologia	36
5.7	MANUAL DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE.....	39
5.8	INTERVALOS DE REFERÊNCIA	41
5.9	ANÁLISE ESTENDIDA.....	43
5.9.1	Detecção de células redondas.....	43
5.9.2	Anticorpos antiespermatozoides.....	44
5.9.3	Testes genéticos	45
5.9.4	Fragmentação do DNA.....	45
5.9.5	Testes bioquímicos para a função das glândulas sexuais acessórias	46
5.10	EXAMES AVANÇADOS.....	47
5.10.1	Avaliação do estresse oxidativo seminal e espécies reativas de oxigênio	47
5.10.2	Avaliação da reação acrossômica	48
5.10.3	Análise do sêmen assistida por computador (CASA).....	48
5.11	DECLÍNIO NA QUALIDADE DO SÊMEN.....	48
5.12	TÉCNICAS EM REPRODUÇÃO ASSISTIDA	49
5.12.1	Inseminação artificial intrauterina (IIU).....	49
5.12.2	Fertilização <i>in vitro</i> (FIV).....	50
5.12.3	Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).....	51
5.13	USO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA POR DIFERENTES GRUPOS SOCIAIS	52
6	CONCLUSÃO.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

A cada ano, mais de sete milhões de casais no mundo procuram avaliação médica para a sua incapacidade de gerar um bebê (PAN *et al.*, 2018). De acordo com o Comitê Internacional para Monitoramento de Reprodução Assistida (ICMART, 2019), a infertilidade é uma doença caracterizada pela falha em estabelecer uma gravidez clínica após 12 meses de relações sexuais regulares e desprotegidas. A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022) estima que 15% dos casais em idade reprodutiva em todo o mundo sofrem com problemas de fertilidade. Nesse contexto, as técnicas de reprodução assistida surgem como uma forma de esperança e tratamento para aqueles que não conseguem engravidar de forma natural.

Em uma perspectiva histórica, as evidências de tentativas de controle da fertilidade e do processo de reprodução têm início na Grécia Antiga, com crenças em métodos de tratamento baseados na religião, magia e superstição (SHARMA; SAXENA; SINGH, 2018). Com os avanços da ciência moderna, a infertilidade foi reconhecida como um problema médico que requer diagnóstico e tratamento. A partir da elucidação dos conceitos de reprodução e fertilização, o desenvolvimento de técnicas de coleta e preservação de gametas e de inseminação artificial tornou possível a formação de embriões em ambiente de laboratório. Desde o nascimento de Louise Joy Brown, o primeiro “bebê de proveta”, em julho de 1978, até o ano de 2019 mais de 8 milhões de bebês vieram ao mundo através da fertilização *in vitro* (FAUSER, 2019).

O aperfeiçoamento das técnicas em reprodução assistida possibilita também o diagnóstico precoce e o tratamento de casos de infertilidade. Apesar de o fator feminino ter sido culturalmente considerado o ponto principal na avaliação de fertilidade (FARIA; GRIECO; BARROS, 2012), estima-se que cerca de 20 a 30% da infertilidade do casal pode ser atribuída exclusivamente ao homem, e ainda, que um fator masculino pode contribuir, pelo menos parcialmente, para as dificuldades de engravidar em até 50% dos casais inférteis (HANSON; KASER; FRANASIAK, 2020).

A fertilidade masculina normal depende da produção e do transporte de sêmen, um processo altamente complexo que envolve os sistemas endócrino, imunológico e neural. Alterações mínimas em algum desses sistemas podem provocar uma série de condições que afetam a capacidade e a funcionalidade dos espermatozoides. Uma variedade de fatores de risco estão associados à infertilidade masculina, porém, apesar da ampla gama de condições

associadas, em 30 a 40% dos casos nenhuma causa é identificada, sendo caracterizada como infertilidade masculina idiopática (KATZ; TELOKEN; SHOSHANY, 2017).

1.1 ANÁLISE SEMINAL

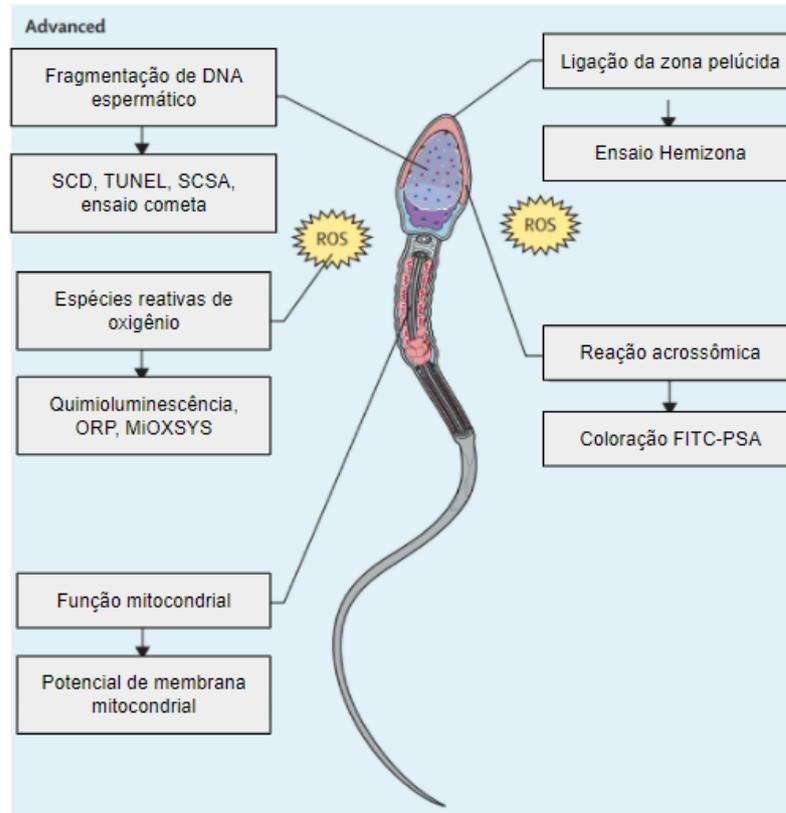
Uma das bases da avaliação inicial da infertilidade masculina é a análise do sêmen. O sêmen é um fluido heterogêneo composto por frações celulares (espermatozoides maduros, leucócitos, células germinativas imaturas e células epiteliais) e não celulares (secreções do epidídimo, vesículas seminais, glândulas bulbouretrais e próstata) (OWEN, 2005).

Através dos exames macro e microscópico do ejaculado é possível avaliar a formação, a maturidade e a qualidade dos espermatozoides no fluido seminal. No exame macroscópico são avaliados aparência, cor, viscosidade, volume e pH do material, enquanto a análise microscópica avalia o grau de aglutinação, a presença de células redondas e a concentração, motilidade e morfologia dos espermatozoides (AGARWAL; GUPTA; SHARMA, 2016). Alterações em algum desses parâmetros podem ser resultado de disfunções nas glândulas acessórias, infecção e/ou inflamação, obstrução do ducto ejaculatório, ejaculação retrógrada, hipogonadismo, doenças em outros órgãos ou consumo de certas drogas (BASKARAN *et al.*, 2020).

Na análise seminal, os parâmetros mais significativos para o diagnóstico da infertilidade são a baixa concentração (oligospermia) ou ausência (azoospermia) de espermatozoides, a baixa motilidade espermática (astenospermia) e a morfologia anormal das células (teratospermia) (KUMAR; SINGH, 2015).

Outros testes complementares e de maior complexidade auxiliam na avaliação do status da fertilidade masculina. Um teste avançado de função espermática compreende a determinação de espécies reativas de oxigênio, fragmentação do DNA espermático, reação acrossômica e potencial de membrana mitocondrial usando diferentes técnicas (AITKEN, 2006). A Figura 1 retrata os principais testes de função espermática realizados em laboratório e as técnicas utilizadas para cada um deles.

Figura 1 – Testes de função espermática.



Fonte: Adaptado de AGARWAL *et al.*, 2021

Notas: FITC-PSA = aglutinina *Pisum sativum* marcada com isotiocianato de fluoresceína. MIOXSYS = sistema oxidativo da infertilidade masculina. ORP = potencial de oxidação-redução. ROS = espécies reativas de oxigênio. SCD = teste de dispersão da cromatina espermática. SCSA = ensaio da estrutura da cromatina espermática. TUNEL = marcação de nick-end dUTP mediada por deoxinucleotidil transferase terminal.

Embora a análise do sêmen seja o teste mais importante na avaliação de um paciente do sexo masculino, ela não é definitiva na determinação da fertilidade de um homem. Indivíduos com resultados anormais ainda podem ser capazes de conceber, assim como, indivíduos com resultados dentro do intervalo de referência podem ser incapazes (KATZ; TELOKEN; SHOSHANY, 2017). Esses resultados devem ser interpretados dentro do contexto clínico de cada paciente, pois influenciam na tomada de decisões sobre tratamentos e outras intervenções a serem realizadas, como a escolha dos procedimentos em reprodução assistida mais adequados.

2 JUSTIFICATIVA

A pesquisa em reprodução humana sempre foi repleta de limitações e desafios científicos. Os avanços no campo da reprodução assistida abrem oportunidades para encontrar soluções para problemas de fertilidade em uma população cada vez mais ampla, e dessa forma, a possibilidade de gerar uma criança sem ser pelo método convencional permitiu que casais inférteis, mães ou pais falecidos, casais homoafetivos ou mesmo mulheres e homens solteiros pudessem usufruir das técnicas em RA para gerarem descendentes genéticos.

A procura por procedimentos na área de reprodução humana vem crescendo no Brasil e no mundo (SILVA JUNIOR *et al*, 2021). Análises de dados retrospectivos indicam que a contagem de espermatozoides e a qualidade do sêmen podem ter diminuído em algumas partes do mundo (KUMAR; SINGH, 2015), justificando o aumento da busca por tratamentos em reprodução assistida. Tendo em vista a contribuição significativa dos fatores masculinos para a infertilidade em casais, o entendimento das causas associadas a esse problema é de extrema importância para a individualização dos tratamentos e otimização dos resultados das técnicas em reprodução assistida.

O aprimoramento da avaliação do fator masculino representa um passo fundamental não apenas no manejo do casal infértil, mas também na melhora da saúde geral, uma vez que a infertilidade masculina está associada a outras comorbidades, como diabetes *mellitus*, doença cardiovascular, malignidade geniturinária, anormalidades genéticas, entre outras (PAN *et al*, 2018).

Nesse contexto, este projeto teve como justificativa atrair maior atenção ao tema e reunir informações relevantes que facilitem a compreensão dos fatores-chave impactantes na fertilidade masculina e sua relação com os desfechos clínicos nas técnicas de reprodução assistida.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Realizar uma revisão narrativa da literatura e reunir informações acerca das principais alterações nos parâmetros seminais, sua relação clínica com a infertilidade masculina, e apresentar as principais técnicas em reprodução assistida.

3.2 ESPECÍFICOS

- a) Exibir um breve histórico sobre infertilidade e o desenvolvimento das técnicas em reprodução assistida;
- b) Apresentar o aparelho reprodutor masculino e sua fisiologia;
- c) Retratar as principais causas de infertilidade masculina;
- d) Descrever os parâmetros seminais, o exame de espermograma e seus valores de referência;
- e) Fazer um comparativo entre as edições dos manuais da OMS para exame e processamento do sêmen;
- f) Apresentar as inovações no campo da reprodução assistida; e
- g) Apresentar a legislação por trás do uso de técnicas de reprodução assistida por pais e/ou mães falecidos, casais homoafetivos e indivíduos solteiros.

4 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo de revisão narrativa da literatura a partir da busca de artigos científicos nas bases de dados *PubMed*, *SciELO*, *Google Acadêmico* e *ScienceDirect*, assim como publicações em livros e *sites* de organizações nacionais e internacionais. Foram utilizados os seguintes termos e palavras-chaves para a pesquisa: infertilidade masculina, espermograma, parâmetros seminais, reprodução assistida, *male infertility*, *semen parameters*, e *assisted reproduction*.

A estratégia de pesquisa para delimitar o estudo incluiu artigos relacionados ao tema “infertilidade masculina”, nas línguas portuguesa e inglesa e que corresponderam aos descritores padronizados relacionados à temática. A fim de reunir informações recentes e atualizadas, foram priorizados os artigos publicados entre 2017 e 2022. Foram utilizados, também, conteúdos adicionais disponibilizados em livros, *sites* e outras fontes de caráter científico.

Foram excluídos os artigos que não atenderam aos critérios citados ou que não possuíam informações relevantes para o estudo.

5 DESENVOLVIMENTO E DISCUSSÃO

5.1 HISTÓRICO

A infertilidade é um dos problemas de saúde mais antigos que atinge a humanidade. Os primeiros indícios de modelos teóricos a respeito de concepção e infertilidade tratavam sobre a necessidade do contato das “sementes masculinas e femininas” para a reprodução (ANDRADE-ROCHA, 2017). As primeiras evidências de tentativas de controle do processo de reprodução datam do tempo dos gregos antigos, com crenças em métodos de tratamento baseados em religião, mitos, sonhos, magia e superstição. Durante o período medieval e a idade média, o discurso sobre a infertilidade concentrou-se principalmente na necessidade de gerar herdeiros e dar continuidade à linhagem da nobreza, ainda baseando-se em orações e chás “mágicos” que auxiliavam na fertilidade (SHARMA; SAXENA; SINGH, 2018).

Os avanços científicos durante o período moderno proporcionaram descobertas que revolucionaram o conhecimento médico a respeito da fisiologia reprodutiva e do processo de interação dos gametas. A descoberta da essencialidade do espermatozoide para a fertilização, por Lazzaro Spallanzani em 1789, impulsionou a realização do processo de inseminação artificial (IA), dando início ao uso das técnicas de reprodução assistida (ORLAND, 2017).

O progresso contínuo no campo da IA incentivou a busca por métodos aprimorados de coleta de gametas e sua preservação. Experimentos envolvendo espermatozoides congelados revelaram que, ao descongelar a amostra, o esperma retinha seu potencial fertilizante e induzia o desenvolvimento normal do embrião, possibilitando uma gravidez humana bem-sucedida. Neste contexto, foram criados os conceitos de banco de esperma e criopreservação (BUNGE; SHERMAN, 1953).

O desenvolvimento das técnicas de preparo do sêmen e de estimulação hormonal ovariana proporcionaram também o advento do processo de fertilização *in vitro*, com a formação de embriões em laboratório. Steptoe e Edwards (1978), realizaram a primeira fertilização *in vitro* bem-sucedida em humanos, que levou ao nascimento de Louise Joy Brown, o primeiro bebê de proveta do mundo.

A popularização das técnicas de reprodução assistida e o avanço da biotecnologia revolucionaram o tratamento da infertilidade. Tecnologias atuais permitem a avaliação e a seleção das melhores células através de ensaios de função celular, testes genéticos pré-implantacionais e biópsias embrionárias que ajudam a prevenir a transmissão de defeitos

genéticos e doenças hereditárias, além de aumentarem as chances de uma gravidez clínica bem-sucedida (ESKEW; JUNGHEIM, 2017).

De acordo com Campbell *et al.* (2021), o futuro da reprodução assistida será repleto de avanços tecnológicos e automatização de processos, minimizando o número de etapas e o manuseio de gametas e embriões por cientistas em laboratório. Robótica, sistemas computadorizados e inteligência artificial poderão fornecer as ferramentas necessárias para alcançar a automação total dos processos e otimizar as tentativas de gravidez. Além disso, testes para avaliação de ciclo menstrual e parâmetros seminais poderão ser realizados em casa com o uso de aplicativos de smartphones, facilitando a jornada dos pacientes.

5.2 EPIDEMIOLOGIA

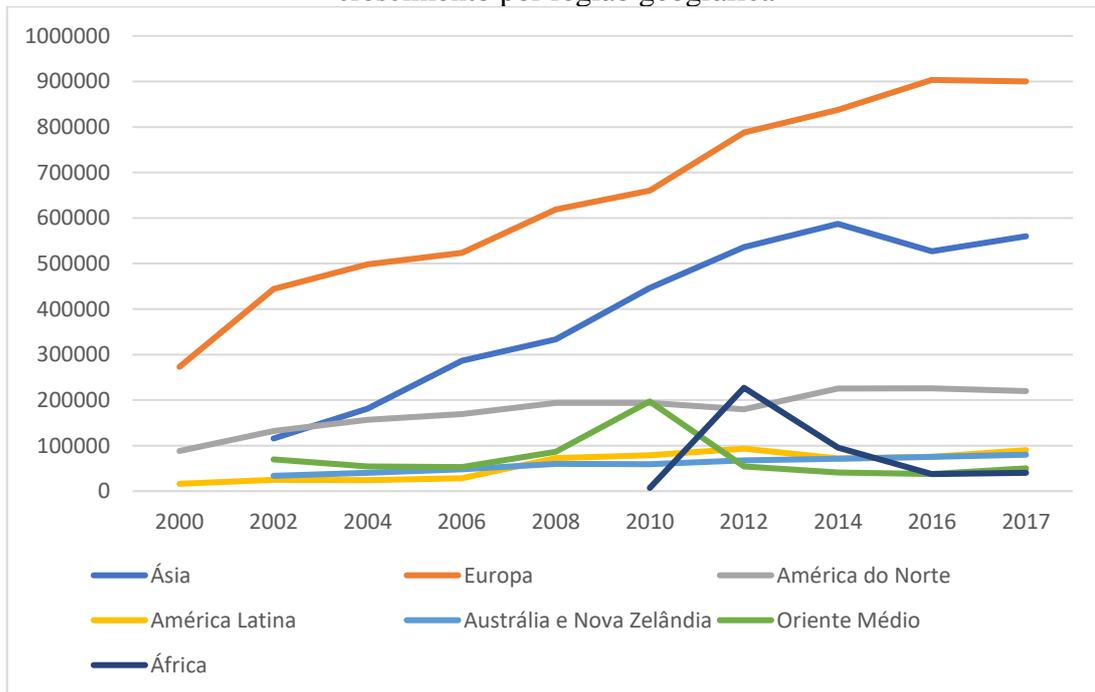
A infertilidade é um problema de saúde que afeta milhões de pessoas em idade reprodutiva em todo o mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2022), cerca de 48 milhões de casais no mundo sofrem com esta condição. Entre estes casais, aproximadamente 20 – 30% dos casos de infertilidade podem ser atribuídos exclusivamente à mulher, 20 – 30% ao homem, 20 – 30% a uma combinação de ambos os parceiros e cerca de 10% dos casos apresentam uma causa desconhecida (SBRA, 2019).

Como alternativa ao processo de reprodução natural, casais inférteis recorrem às clínicas de reprodução assistida em busca de tratamento ou solução para seus problemas de fertilidade. Conforme o último relatório mundial disponibilizado pelo Comitê Internacional para Monitoramento de Tecnologias de Reprodução Assistida (ICMART, 2021), em 2017 foram reportados 1.955.908 ciclos¹ em 79 países, um aumento de mais de 20% em relação ao ano de 2014. Entre os países com maiores números de ciclos reportados, estão o Japão, com 445.380 ciclos, os Estados Unidos da América com 180.462 ciclos e a Rússia, com 135.068 ciclos.

O relatório destaca também a participação da Europa no que diz respeito ao número de ciclos realizados desde 2000, como pode ser observado no Gráfico 1. Em relação ao tipo de técnica realizada, há uma distribuição heterogênea dos procedimentos, com as técnicas de fertilização *in vitro* e injeção intracitoplasmática de espermatozoides representando mais da metade dos ciclos reportados (ICMART, 2021).

¹ Considera-se um ciclo os procedimentos médicos nos quais a mulher é submetida à produção (estímulo ovariano) e retirada de oócitos para realização de uma técnica em reprodução assistida (ANVISA, 2019).

Gráfico 1 - Registro mundial de ciclos de Reprodução Assistida entre 2000 e 2017 - crescimento por região geográfica



Fonte: Adaptado de ICMART, 2021

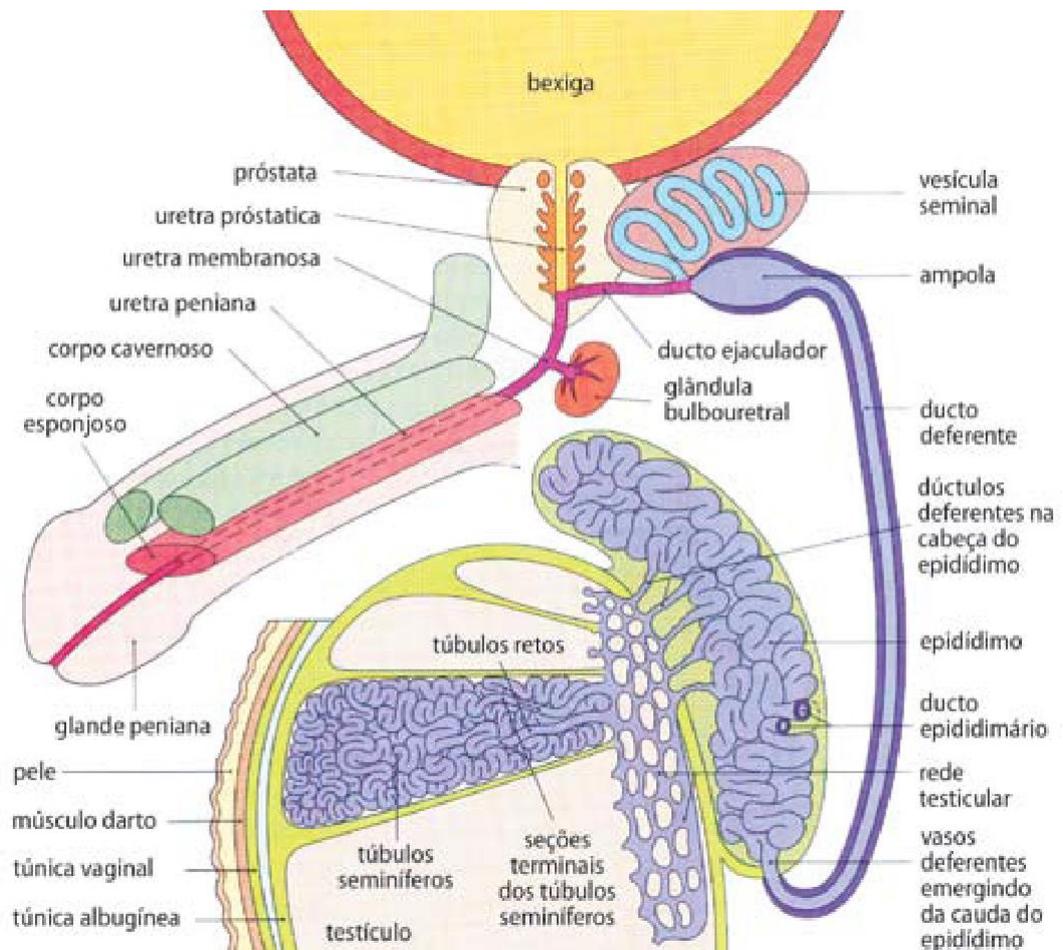
Na América Latina, segundo dados divulgados em 2019 pela Rede Latino-Americana de Reprodução Assistida (REDLARA), o Brasil lidera o ranking dos países que mais realizaram fertilização *in vitro*, inseminação artificial e transferência de embriões, somando cerca de 83 mil bebês nascidos por reprodução assistida em 25 anos. O 13º relatório do SisEmbryo – Sistema Nacional de Produção de Embriões, publicado em 2020 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2020), relata que no ano de 2019 foram realizados 43.956 ciclos de fertilização *in vitro* no país. O estado de São Paulo foi o que mais realizou ciclos, chegando a 21.162 (48% do total do País), seguido pelos estados de Minas Gerais (4.312 ciclos) e do Rio de Janeiro (4.095 ciclos).

5.3 SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E A FORMAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES

O sistema reprodutor humano é formado por órgãos primários, como as gônadas, responsáveis pela produção de gametas e hormônios, e secundários, como os ductos e as glândulas que atuam no crescimento, maturação e transmissão dos gametas (BABAKHANZADEH *et al.*, 2020).

Nos homens, o sistema reprodutor é constituído por um grupo de órgãos que compõem os sistemas reprodutivo e urinário. Estes órgãos podem ser subdivididos em órgãos internos (testículos, epidídimos, ductos deferentes, glândulas seminais, ductos ejaculatórios, próstata e glândulas bulbouretrais) e externos (pênis e o escroto) (MEDICINE, 2022). Um esquema representando o sistema reprodutor masculino pode ser visto na Figura 2.

Figura 2 – Principais componentes do sistema reprodutor masculino.



Fonte: adaptado de STEVENS; LOWE, 2002

Os testículos são os principais órgãos reprodutores masculinos. Eles estão localizados no escroto e são envolvidos pela túnica albugínea, uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso que se estende para dentro para formar septos que dividem o órgão em lóbulos (NCI, 2022). Existem aproximadamente 250 lóbulos em cada testículo, e cada um deles contém cerca de 4 túbulos seminíferos altamente enrolados. Estes túbulos são as unidades funcionais dos testículos, responsáveis pelo processo de desenvolvimento dos gametas masculinos através da

espermatogênese, com uma produção diária estimada de 150 a 275 milhões de espermatozoides (BABAKHANZADEH *et al.*, 2020).

A espermatogênese engloba uma série de processos complexos envolvendo divisões meióticas e mitóticas que resultam na formação dos espermatozoides maduros, e está ligada à ação de duas principais células: as células de Leydig e as células de Sertoli. As células de Leydig, localizadas no interstício testicular, são alvos do hormônio luteinizante (LH) e servem como fontes de testosterona, um hormônio essencial para a espermatogênese e a diferenciação celular (SUÁREZ *et al.*, 2018). As células de Sertoli, localizadas dentro dos túbulos seminíferos, têm como função nutrir, dar suporte mecânico e desenvolver os espermatozoides durante o processo de gametogênese. Essas células produzem dois tipos de hormônios, inibina e ativina, e são reguladas pelo hormônio folículo estimulante (FSH). Além disso, as células de Sertoli participam também da fagocitose das células germinativas degradadas e do controle dos estágios de liberação dos espermatozoides no lúmen (LEISEGANG *et al.*, 2020).

No primeiro estágio da espermatogênese ocorre a proliferação mitótica de espermatogônias diploides (células germinativas) em espermatócitos primários, um processo que dura de dois a três dias. Esses espermatócitos passam por dois estágios de meiose e produzem as espermátides redondas (COLE, 2016). Através da redução citoplasmática, um processo lento de citodiferenciação (45 a 50 dias) transforma espermátides redondas em espermatozoides imaturos e imóveis, os quais são liberados dos túbulos seminíferos, passam pela rede testicular e os vasos eferentes, e seguem até o epidídimo para completar sua maturação (GURUNG; YETISKUL; JIALAL, 2022).

O epidídimo é formado por um tubo único e emaranhado que mede de 4 a 6 metros, e é classicamente dividido em três partes: cabeça, corpo e cauda. Sua função está relacionada ao armazenamento, maturação e condução dos espermatozoides. À medida que os espermatozoides progridem ao longo do epidídimo, eles adquirem a habilidade de nadar progressivamente e desenvolvem a capacidade de reconhecer e fertilizar um óvulo (AVELLAR; HINTON, 2019). A maturação espermática leva aproximadamente 12 dias e está completa quando atingem a região da cauda do epidídimo, onde podem ficar armazenados por até três dias caso não ocorra uma ejaculação (COLE, 2016).

Prolongando-se continuamente a partir da cauda do epidídimo, está o ducto deferente, um tubo fibromuscular que conecta o epidídimo aos ductos ejaculatórios. Além de servir como um reservatório de espermatozoides, os ductos deferentes participam também do transporte dos espermatozoides durante sua emissão, da produção de fluidos e da reabsorção de

espermatozoides mortos e restos celulares (FLANNIGAN; GOLDSTEIN, 2018). Cada ducto deferente une-se ao ducto da vesícula seminal para formar um ducto ejaculatório que passa pela próstata e atinge a uretra, a qual estende-se da bexiga urinária até o orifício uretral externo na ponta do pênis (NCI, 2022). As vesículas seminais estão localizadas entre a bexiga e o reto, e têm a função de secretar a maior parte do fluido encontrado no ejaculado. Essa secreção inclui frutose, que fornece energia para a motilidade dos espermatozoides, semenogelina I, responsável pela coagulação do líquido seminal, captadores de espécies reativas de oxigênio e receptores de imunoglobulinas. Essas substâncias são responsáveis pela capacidade de liquefação e a alcalinização do sêmen, o que possibilita a motilidade e sobrevivência dos espermatozoides dentro do sistema reprodutor feminino. (LIU; VELDHUIS, 2019).

Ao chegar aos ductos ejaculatórios, o sêmen passa pela próstata, uma glândula sexual acessória que contribui com secreções que auxiliam na nutrição, transporte e capacidade de fertilização dos espermatozoides. O fluido secretado pela próstata compreende cerca de um terço do volume do ejaculado, e contém altas concentrações de zinco, ácido cítrico, colina, fosfatase ácida, seminina, ativadores de plasminogênio e antígeno específico da próstata (GAUNTNER; PRINS, 2018).

A eliminação do sêmen para o meio externo se dá através da uretra. Durante a pré-ejaculação, três glândulas acessórias são ativadas para umidificar a uretra: as glândulas de Littre, as glândulas de Cowper e as glândulas de Morgani, e cada uma delas está localizada em uma porção diferente da uretra (PEREIRA, 2021).

5.4 SÊMEN

O sêmen é um fluido heterogêneo liberado no momento da ejaculação, composto por frações celulares e não celulares. A fração não celular é formada por um plasma seminal à base de água, constituído pelas secreções do epidídimo (5% do volume final), vesículas seminais (50 – 65% do volume), vesículas bulbouretrais e próstata (20 – 30%). A fração celular inclui os espermatozoides maduros, leucócitos, células germinativas imaturas e células epiteliais (BASKARAN *et al.*, 2020).

Os espermatozoides maduros são células altamente especializadas em suas estruturas e funções, e suas características bioquímicas e morfológicas complexas permitem o cumprimento de sua função fisiológica de mover-se progressivamente para transportar uma

cópia do material genético masculino até o oócito feminino e realizar o processo de fertilização (AUGER, 2018).

Um espermatozoide maduro é formado por uma cabeça oval, uma peça intermediária e uma cauda. A maior parte do volume da cabeça corresponde ao núcleo, onde está condensado o material genético, e o volume restante é ocupado pelo acrossoma (vesícula que armazena enzimas hidrolíticas essenciais para o processo de penetração do espermatozoide no óvulo durante a fertilização), elementos do citoesqueleto e um citoplasma residual. (AUGER, 2018). O pescoço, ou peça intermediária, forma a junção entre a cabeça e a cauda da célula. A cauda é a parte mais longa do espermatozoide. Um núcleo axial composto por fibrilas e microtúbulos percorrem o comprimento da cauda e armazena organelas essenciais para o movimento celular, como o axonema, mitocôndrias e moléculas de ATP (OEHNINGER; KRUGER, 2021).

Alterações morfológicas ou quantitativas em um ou mais componentes seminais podem dificultar ou impossibilitar a capacidade de fertilização dos espermatozoides, caracterizando uma das causas de infertilidade masculina (GATIMEL *et al.*, 2017).

5.5 CAUSAS DE INFERTILIDADE MASCULINA

A infertilidade masculina pode ser resultado de uma vasta série de condições que envolvem déficits hormonais, anormalidades anatômicas ou genéticas, doenças sistêmicas, infecções, traumas, lesões, presença de toxinas, desenvolvimento de anticorpos espermáticos, meio ambiente ou estilo de vida (KATZ *et al.*, 2017). Essas condições podem ser estratificadas e subdivididas em fatores congênitos, fatores adquiridos ou fatores de risco idiopático (quando o homem apresenta características do sêmen alteradas sem causa identificável), como pode ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 – Causas e fatores de risco para infertilidade masculina.

Fatores congênitos	Fatores adquiridos	Fatores de risco idiopático
Anorquia	Varicocele	Tabagismo
Ausência congênita de ducto deferente	Trauma ou torção testicular	Alcoolismo
Criptorquidia	Tumores de células germinativas	Uso de drogas recreacionais
Microdeleções do cromossomo Y	Anticorpos antiespermatozoides	Obesidade
Anormalidades cromossômicas ou genéticas	Infecções urogenitais recorrentes	Estresse psicológico
Síndrome de Klinefelter e suas variantes	Cirurgias	Idade paterna avançada
Síndrome de Kallmann	Doenças sistêmicas	Fatores dietéticos
Translocação robertsoniana	Obstrução do trato urogenital	Exercício físico intenso
Síndrome de insensibilidade androgênica leve	Hipogonadismo hipogonadotrófico adquirido	Fatores químicos exógenos (quimioterapia, medicamentos)
Endocrinopatia genética	Disfunção sexual	Exposição ambiental ou ocupacional (radiação, calor)
Obstrução congênita	Ejaculação retrógrada	Variação sazonal

Fonte: Adaptado de AGARWAL *et al.*, 2021

5.5.1 Fatores congênitos

Como destaque entre os fatores congênitos de infertilidade masculina está a ausência bilateral congênita do ducto deferente associada a mutações no gene da fibrose cística. Apesar de haver função testicular normal, a ausência do ducto deferente impede a liberação dos espermatozoides durante a ejaculação, caracterizando-se como uma causa importante de oligospermia e azoospermia (RESOLVE, 2019).

Fatores congênitos de infertilidade masculina também podem estar correlacionados a déficits hormonais. O eixo hormonal masculino responsável pela regulação do sistema

reprodutor é o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, constituído pelas glândulas hipotalâmicas, pituitárias e testiculares (ZHOU *et al.*, 2017). Defeitos na liberação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) ou a incapacidade da hipófise de produzir quantidades adequadas de hormônio luteinizante (LH) ou hormônio folículo estimulante (FSH) resultam em uma falha na estimulação dos testículos e na produção de testosterona e espermatozoides (BABAKHANZADEH *et al.*, 2020).

Anormalidades genéticas são detectadas em 15% dos casos de infertilidade masculina. A síndrome de Klinefelter, que afeta cerca de 1 em cada 600 recém-nascidos do sexo masculino, é a anomalia cromossômica congênita mais comum. Ela é caracterizada pela presença de um ou mais cromossomos “X” extras nos indivíduos masculinos, o que resulta em hipogonadismo masculino, mau funcionamento testicular, azoospermia e infertilidade (DEEBEL *et al.*, 2020). A síndrome de Kallmann, transmitida geneticamente de forma recessiva ligada ao cromossomo X ou como um caráter autossômico dominante limitado ao sexo masculino, é uma condição relacionada a um defeito no hipotálamo que resulta na falta do hormônio GnRH e impossibilita a espermatogênese (NAVARRO *et al.*, 2019).

Outra condição importante relacionada a um fator congênito de infertilidade é a interrupção da descida dos testículos, conhecida como criptorquidia. É uma condição que atinge entre 1,6 a 9,0% dos recém-nascidos do sexo masculino, e sua etiologia está relacionada a fatores genéticos, ambientais, e, principalmente, à função do eixo hipotálamo-hipófise-testicular e dos hormônios testiculares (ELAMO *et al.*, 2022).

5.5.2 Fatores adquiridos

A varicocele é a causa adquirida e corrigível mais comum de infertilidade em homens, com prevalência de 40% (AGARWAL *et al.*, 2021). Ela é definida como a presença de veias anormalmente dilatadas e tortuosas no plexo pampiniforme do cordão espermático (ABHYANKAR; OHLANDER, 2018). A patogênese dessa condição apresenta causa multifatorial, com diversos mecanismos envolvidos atuando de forma conjunta ou isolada. Apesar de ter base multifatorial, o estresse oxidativo representa um papel central no processo, uma vez que o aumento da pressão nas paredes venosas pode resultar na liberação de espécies reativas de oxigênio (NAUGHTON *et al.*, 2001). Outros mecanismos envolvidos na infertilidade induzida pela varicocele incluem hipertermia escrotal, hipóxia, refluxo de metabólitos renais e adrenais, desequilíbrios hormonais e formação de anticorpos

antiespermatozoides. Esses mecanismos podem causar efeitos testiculares negativos diretos ou influenciar o nível de estresse oxidativo (JENSEN *et al.*, 2017).

Uma variedade de comorbidades médicas podem afetar a fertilidade masculina. Fainberg e Kashanian (2019) citam a doença renal, a insuficiência hepática, a hemocromatose, a doença pulmonar obstrutiva crônica, a esclerose múltipla e, principalmente, a síndrome metabólica como as principais condições clínicas médicas associadas a alterações nos parâmetros seminais e ao acometimento da fertilidade masculina. As alterações fisiológicas induzidas por essas doenças afetam negativamente o sistema endócrino reprodutor masculino e estão correlacionadas com desregulação metabólica, reduções na concentração, motilidade e vitalidade dos espermatozoides, aumento nos danos no DNA das células espermáticas, apoptose e alterações epigenéticas que podem ser transferidas para a prole (LEISEGANG *et al.*, 2020; MURSHIDI *et al.*, 2020).

Infecções crônicas e agudas do trato genital também podem ser causas comuns de infertilidade em homens. Infecções causadas por bactérias, vírus ou protozoários estão associadas a 10% a 15% dos casos de infertilidade masculina, e afetam negativamente a função espermática através da obstrução anatômica ou da ativação de uma resposta inflamatória e leucocitária intensa (HENKEL *et al.*, 2020). Essas infecções são causadas principalmente por patógenos sexualmente transmissíveis, como *Chlamydia trachomatis*, *Escherichia coli* e *Neisseria gonorrhoea*, ou através da disseminação hematogênica de infecções sistêmicas, principalmente as virais (SCHUPPE *et al.*, 2017).

Como exemplo de infecção viral capaz de afetar a fertilidade masculina, pode-se citar a infecção pelo SARS-CoV-2, responsável pela pandemia de COVID-19. Esse vírus infecta as células hospedeiras através de receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), uma classe de receptores presentes em grande quantidade nas espermatogônias e nas células de Leydig e Sertoli (GOÉS *et al.*, 2021). O mecanismo relacionado à infertilidade envolve a apoptose celular, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e citocinas pró-inflamatórias, o aumento da resposta autoimune e a infiltração de leucócitos no testículo. Um estudo realizado por PAZIR *et al.* (2021) relata que os parâmetros do sêmen de homens com histórico de COVID-19 leve foram afetados negativamente, com diminuição significativa da motilidade dos espermatozoides e a contagem total de espermatozoides.

Fatores externos, como traumas físicos e torções, podem causar alterações nos parâmetros seminais e afetar a fertilidade masculina através de danos permanentes e encolhimento do testículo, e ainda, ativar a produção de anticorpos antiespermatozoides que

afetam o outro testículo saudável e dificultam a função da célula espermática (RAHEEM; RALPH, 2011).

5.5.3 Fatores de risco idiopático

A infertilidade masculina idiopática pode ocorrer entre 30 e 40% dos casos de infertilidade (KATZ; TELOKEN; SHOSHANY, 2017). Os fatores de risco mais comuns associados a esse tipo de infertilidade estão relacionados ao estilo de vida do paciente, como tabagismo, consumo de álcool, uso de drogas recreativas, obesidade, estresse psicológico, atividade física em excesso, exposição ambiental, ocupacional ou química, quimioterapia, uso de medicamentos, radiação, calor excessivo, ou à idade paterna avançada (DURAIRAJANAYAGAM, 2018).

A consequência da maioria desses fatores é o estresse oxidativo. Esse, é causado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a ação protetora do sistema antioxidante responsável pela sua neutralização e remoção (LEISEGANG, 2019). Em níveis baixos, as EROs são essenciais para a capacitação e a hiperativação espermática, a reação acrossômica e a fusão espermatozoide-oócito, porém, o excesso de EROs supera a capacidade de neutralização dos antioxidantes no plasma seminal, causando estresse oxidativo e, conseqüentemente, perda da integridade da membrana celular, aumento da permeabilidade, inativação de enzimas celulares, danos ao DNA e às mitocôndrias e apoptose (BUI *et al.*, 2018). Como consequência final, pode ocorrer a redução da contagem de espermatozoides, a diminuição da motilidade e a alteração da morfologia normal das células (AGARWAL *et al.*, 2019).

5.6 ESPERMOGRAMA

Um dos pilares da avaliação inicial para a infertilidade do fator masculino é a análise do sêmen recomendada pela Organização Mundial da Saúde. A análise consiste em exames básicos, análises estendidas e exames avançados que avaliam a formação, produção, maturidade e qualidade dos espermatozoides, bem como, o potencial de fertilidade, a presença de infecções no trato genital masculino e a avaliação do controle de vasectomia (PEREIRA, 2021). A Sociedade Americana de Reprodução Assistida (ASRM, 2020) e a Associação Europeia de Urologia (EAU, 2020) recomendam uma avaliação inicial que consiste em um histórico médico e reprodutivo, exame físico, avaliação endócrina e pelo menos uma análise de sêmen.

Para a realização do espermograma, recomenda-se fazer a coleta de duas amostras de sêmen, com cerca de um mês de intervalo para descartar flutuações transitórias nos parâmetros seminais. As amostras devem ser coletadas após dois a sete dias de abstinência de ejaculação para garantir a qualidade ideal do sêmen para análise (PAN *et al.*, 2018). O ejaculado precisa ser completamente coletado, e a perda de qualquer fração da amostra deve ser relatada, pois, durante a ejaculação, as primeiras frações expelidas são constituídas principalmente por fluidos prostáticos ricos em espermatozoides (essencial para uma avaliação fidedigna).

5.6.1 Exame básico

O exame básico deve ser iniciado entre 30 e 60 minutos após a coleta. Consiste na avaliação da aparência, volume e características físico-químicas da amostra, e do número, motilidade e morfologia dos espermatozoides. A Organização Mundial da Saúde (2021) recomenda a realização das seguintes análises:

5.6.1.1 Aparência macroscópica

Uma amostra normal apresenta uma coloração cinza-opalescente homogênea. Ela pode parecer mais clara se a concentração de espermatozoides for muito baixa, ligeiramente amarelada após longos períodos de abstinência ou marrom-avermelhada se houver glóbulos vermelhos presentes na ejaculação.

5.6.1.2 Volume

O volume da amostra deve ser medido com uma pipeta ou tubo estéril graduados, ou através da sua densidade (1 g/ml), pesando-se o frasco coletor antes e depois da coleta. Uma ejaculação de baixo volume (hipospermia) ou ausente (aspermia) pode ser resultado de coleta incompleta, intervalo de abstinência curto, obstrução do ducto ejaculatório, presença de hipogonadismo ou ausência bilateral congênita do ducto deferente. Pacientes com volume ejaculado menor que 1,0 ml, sem explicação alternativa, devem realizar um exame de urina pós-ejaculatória para a exclusão do diagnóstico de ejaculação retrógrada (KATZ; TELOKEN; SHOSHANY, 2017).

5.6.1.3 *Liquefação e viscosidade*

O processo de liquefação normal (tornar-se homogêneo e menos viscoso) ocorre entre 15 e 30 minutos à temperatura ambiente.

Após a liquefação, a viscosidade da amostra pode ser determinada a partir de sua aspiração com uma pipeta descartável. Depois de aspirada, a amostra deve ser liberada da pipeta pela ação da gravidade, observando o comprimento do fio formado. Um ejaculado liquefeito normal cai como pequenas gotas. Se a viscosidade for aumentada, a gota formará um fio com mais de 2 cm de comprimento.

A liquefação prejudicada do sêmen é um sinal que acomete aproximadamente 12% dos pacientes com infertilidade. A hiperviscosidade afeta negativamente a qualidade do sêmen e a motilidade dos espermatozoides devido ao efeito de aprisionamento das células, e está frequentemente associada a infecções das glândulas acessórias masculinas ou a processos inflamatórios (ANAMTHATHMAKULA; WINUTHAYANON, 2020).

5.6.1.4 *pH*

O pH da amostra depende da contribuição relativa da secreção prostática ácida e da secreção vesicular seminal alcalina. Se o pH exceder 7,8, pode-se suspeitar de uma infecção, e, abaixo de 7,2, pode ser indicativo de obstrução dos ductos ejaculatórios ou de contaminação com urina (DHUMAL *et al.*, 2021).

5.6.1.5 *Investigação microscópica inicial*

A avaliação microscópica inicial fornece uma visão geral da amostra e permite a observação da distribuição dos espermatozoides (homogênea ou aglutinada), a avaliação da motilidade, vitalidade e morfologia espermática, a observação da presença de células redondas e a determinação da diluição para a avaliação da concentração de espermatozoides (WHO, 2021).

5.6.1.5.1 *Aglutinação*

A aglutinação refere-se especificamente a espermatozoides móveis grudados uns aos outros (cabeça a cabeça, cauda a cauda ou de forma mista), e deve sempre ser reportada, pois é sugestiva de causa imunológica de infertilidade. A aderência de espermatozoides imóveis uns

aos outros, a filamentos de muco, a células não espermáticas ou a detritos é definida como agregação não específica, e não precisa ser reportada (WHO, 2021).

5.6.1.5.2 Motilidade espermática

A avaliação da motilidade é um parâmetro de relevância biológica para a concepção natural e assistida, uma vez que, para alcançar e penetrar no oócito, os espermatozoides devem possuir motilidade progressiva (DCUNHA *et al.*, 2020).

A porcentagem de motilidade pode ser determinada utilizando-se uma câmara de contagem de espermatozoides, com grades, a partir da avaliação de pelo menos cinco campos diferentes e aproximadamente 200 espermatozoides. A contagem deve ser sistemática, iniciando com espermatozoides de progressão rápida e lenta para evitar superestimar o número de espermatozoides progressivos, e em seguida, os espermatozoides não progressivos e imóveis.

Um sistema de quatro categorias é recomendado para graduar a motilidade:

- A. Progressivos rápidos ($25 \mu\text{m/s}$): movem-se ativamente de forma linear;
- B. Progressivos lentos ($5 \text{ a } < 25 \mu\text{m/s}$): movem-se ativamente de forma linear ou em grande círculo, porém, de forma mais lenta;
- C. Não progressivos ($< 5 \mu\text{m/s}$): apresentam padrões de movimentos aleatórios, não lineares e com ausência de progressão; e
- D. Imóveis: sem movimentos ativos;

O cálculo é feito a partir da proporção (%) das quatro categorias de motilidade em relação ao número total de espermatozoides contados nos cinco campos.

5.6.1.5.3 Vitalidade

A vitalidade dos espermatozoides é estimada pela integridade de suas membranas celulares, a partir da penetração ou não do corante utilizado na preparação do esfregaço. O teste recomendado é o teste de eosina-nigrosina (Figura 3), no qual a eosina tem a função de corar de rosa os espermatozoides mortos e a nigrosina tem como função aumentar o contraste entre o fundo e as cabeças dos espermatozoides. As células não coradas representam os espermatozoides vivos.

Figura 3 – Teste de vitalidade pela coloração eosina-nigrosina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Em amostras com baixa motilidade, o teste de vitalidade é importante para a diferenciação entre espermatozoides imóveis mortos e vivos. A presença de uma grande proporção de células vivas, mas imóveis, pode ser indicativa de defeitos estruturais no flagelo, e uma alta porcentagem de células imóveis e mortas pode indicar patologia no epidídimo ou uma reação imunológica devido a uma infecção (CORREA-PÉREZ *et al.*, 2004).

5.6.1.5.4 Concentração e contagem de espermatozoides e outras células

O número total de espermatozoides na amostra é calculado a partir da multiplicação da concentração de espermatozoides pelo volume total do ejaculado.

A concentração de espermatozoides é avaliada a partir da contagem de espermatozoides em uma câmara de contagem com grades, como a câmara de Neubauer, e do fator de diluição utilizado. Devem ser contados apenas os espermatozoides completos, contendo cabeça e cauda. O cálculo final da concentração é realizado multiplicando o número de células contadas pelos fatores de diluição e de multiplicação da câmara (WHO, 2021).

Uma contagem de espermatozoides significativamente diminuída pode ser dividida em duas grandes categorias: oligospermia e azoospermia (obstrutivas ou não). Condições não obstrutivas são normalmente derivadas de uma produção hormonal anormal, na qual são observadas aplasia de células germinativas, parada de maturação ou hipoespermatogênese, e os pacientes podem sofrer de algum tipo de hipogonadismo ou anormalidades genéticas (ESTEVEZ *et al.*, 2018; PAN *et al.*, 2018). Nas condições obstrutivas, por sua vez, a espermatogênese completa é confirmada por exame histopatológico, e a ausência de

espermatozoides pode resultar de infecções, anomalias congênitas, lesões ou vasectomia, que podem ser revertidas através de reconstrução vascular microcirúrgica (BAKER; SABANEH, 2013).

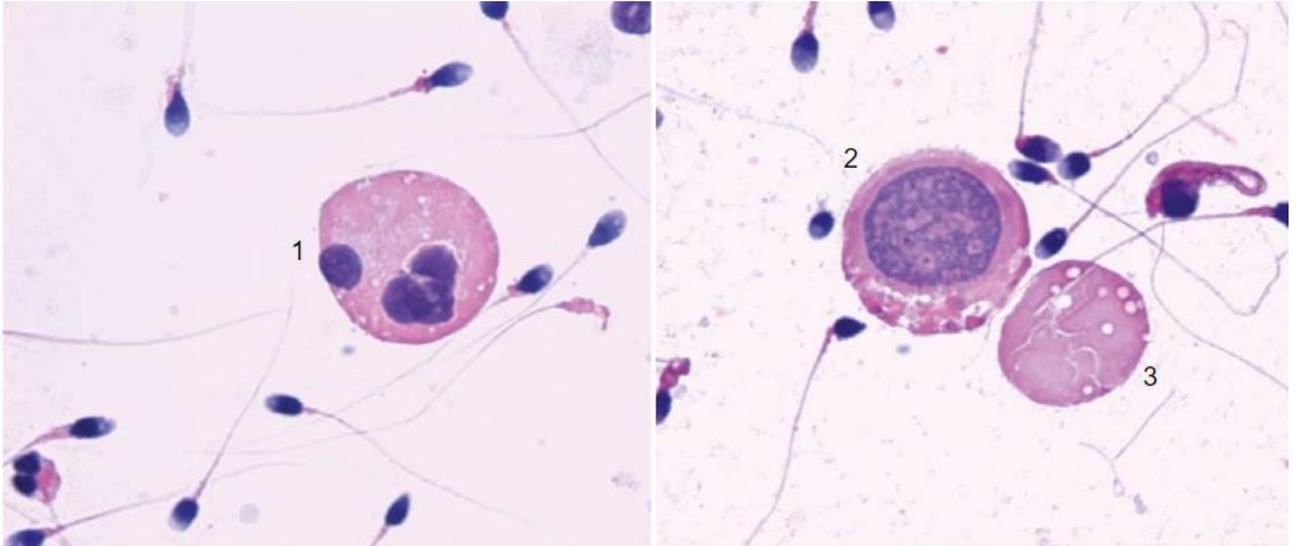
5.6.1.5.5 Morfologia

Todos os ejaculados humanos contêm espermatozoides com uma ampla variação de aparências morfológicas. As anormalidades na morfologia dos espermatozoides refletem principalmente a complexidade da diferenciação final da célula após as alterações bioquímicas e morfológicas sofridas durante a espermatogênese, e a influência de fatores genéticos ou ambientais que modulam ou interrompem esse processo (AUGER; JOUANNET; EUSTACHE, 2016).

Os espermatozoides anormais geralmente têm um potencial fertilizante menor, dependendo do tipo de anomalia. Alterações morfológicas espermáticas podem estar associadas a anormalidades funcionais, defeitos na reação acrossômica, problemas de motilidade, aumento da fragmentação do DNA, aumento da incidência de aberrações cromossômicas estruturais e aumento de fenômenos de apoptose e necrose (GATIMEL *et al.*, 2017).

A avaliação prática da morfologia dos espermatozoides é feita em lâmina, a partir de um esfregaço corado preferencialmente com a coloração de Papanicolaou. Nessas condições, a cabeça é corada em azul claro na região acrossomal e azul escuro na região pós-acrossomal, a peça intermediária apresenta coloração vermelha e a cauda, azul. A coloração de Papanicolaou também pode auxiliar na diferenciação entre células germinativas imaturas e células não espermáticas, como é mostrado na Figura 4.

Figura 4 – Esfregaço de sêmen corado pela Coloração de Papanicolaou.



1: Espermátide; 2: Macrófago; 3: Citoplasma residual
Fonte: adaptado de WHO, 2021

A contagem deve ser realizada seguindo as seguintes classificações: normal, alteração de cabeça, alteração de peça intermediária, alteração de cauda e presença de citoplasma residual. A avaliação deve ser feita em pelo menos 200 espermatozoides intactos (contendo cabeça e cauda). Cabeças sem cauda devem ser relatadas se houver mais de 20 por 100 espermatozoides. O cálculo final é feito a partir da proporção (%) de cada categoria em relação ao número total de espermatozoides contados.

Para que um espermatozoide seja considerado normal, a cabeça, a peça intermediária e a cauda não podem apresentar anormalidades morfológicas. Qualquer mínima alteração em uma ou mais partes da célula já a define como anormal, como pode ser visto no Quadro 2.

Quadro 2 - Classificação da morfologia espermática

Localização	Normal	Anormal	Exemplo de espermatozoide anormal
Cabeça	<p>Cabeça de formato oval, medindo de 4,0 a 5,5 μm de comprimento e de 2,5 a 3,5 μm de largura;</p> <p>Acrossoma ocupando 40 a 70% do espaço;</p> <p>Ausência de vacúolos;</p>	<p>Formato piriforme, amorfo, assimétrico, não oval ou cabeça dupla;</p> <p>Acrossoma ocupando menos que 40% ou mais que 70% do espaço;</p> <p>Presença de vacúolos;</p>	
Peça intermediária	<p>Medida aproximada à da cabeça;</p> <p>Alinhada no meio da cabeça;</p>	<p>Formato irregular;</p> <p>Angulada em relação à cabeça;</p>	
Cauda	<p>Calibre uniforme;</p> <p>Aproximadamente 45 μm de comprimento;</p> <p>Pode ser enrolado sem angulação sugestiva de quebra;</p>	<p>Largura irregular;</p> <p>Curto ou quebrado;</p> <p>Caudas múltiplas;</p> <p>Curvas anguladas;</p>	

Fonte: adaptado de WHO, 2021

Kovac *et al.* (2016) realizaram uma revisão retrospectiva a fim de investigar a probabilidade de homens com teratozoospermia grave (0% de espermatozoides com morfologia normal) engravidarem suas parceiras de forma natural. Os resultados mostraram que, apesar de a taxa de concepção natural ter sido maior entre o grupo de homens que apresentaram mais de

4% de espermatozoides normais, aqueles com 0% de formas normais ainda foram capazes de conceber naturalmente em 25% dos casos.

À exceção de alguns defeitos espermáticos específicos e frequentemente ligados a distúrbios genéticos, como a globozoospermia (espermatozoides anormais com uma cabeça redonda em vez de oval e sem acrossoma) e a síndrome do esperma decapitado, a avaliação da morfologia espermática apresenta baixa sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de infertilidade e baixo valor preditivo para uma fertilização bem sucedida, tornando necessária a sua avaliação em conjunto com outros parâmetros seminais (GATIMEL *et al.*, 2017).

5.7 MANUAL DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE

Desde a década de 1980, o Departamento de Saúde Reprodutiva e Pesquisa da Organização Mundial da Saúde publica diretrizes sobre como a avaliação do sêmen humano deve ser realizada em laboratório, a fim de padronizar procedimentos, evitar variações de análises entre laboratórios e estabelecer padrões de controle de qualidade. Essas diretrizes são atualizadas periodicamente e incorporam as evidências mais recentes encontradas em estudos e pesquisas globais.

A primeira edição, denominada “Manual de Laboratório para o Exame do Sêmen Humano e Interação Sêmen-Muco Cervical”, foi publicada em 1980. A edição era dividida em seções sobre coleta de sêmen, exame inicial e avaliação da motilidade, concentração, morfologia e viabilidade dos espermatozoides, e incluía uma seção sobre a interação esperma-muco cervical como avaliação da função espermática. Os valores considerados “normais” para os parâmetros avaliados eram baseados na experiência clínica dos analistas e médicos.

A segunda edição foi publicada em 1987. Entre as mudanças em relação à primeira, estava a divisão da análise do sêmen entre testes padrões e testes opcionais, e a inclusão da cultura de sêmen, de testes bioquímicos e do teste de migração de espermatozoides. Os estudos que serviram de base para a definição de valores “normais” para as variáveis do sêmen foram estudos populacionais de larga escala, com homens férteis e inférteis, porém, sem definição do tempo necessário para a obtenção de uma gravidez (WANG *et al.*, 2022).

Publicada em 1992, a terceira edição teve seu nome alterado para “Manual de Laboratório da OMS para o Exame de Sêmen Humano e Interação Esperma-Muco Cervical”. A seção de análise do sêmen foi dividida em três subseções: testes padrões, testes opcionais e testes de pesquisa, esse último incluindo novas análises, como testes de ligação da zona pelúcida

humana, reação acrossômica e análise de esperma assistida por computador. Foram adicionados, também, capítulos sobre técnicas de preparação de sêmen, controle de qualidade laboratorial, diretrizes básicas de segurança e equipamentos mínimos necessários para um laboratório (WANG *et al.*, 2022).

A quarta edição, publicada em 1999, foi lançada frente aos avanços no estudo da genética da infertilidade masculina, ao sucesso das tecnologias em reprodução assistida e a relatórios a respeito do declínio da contagem e qualidade do sêmen humano. À ela, novos testes foram adicionados, como o índice de múltiplos defeitos espermáticos, o teste de inchaço hiposmótico e a medição de espécies reativas de oxigênio. Os valores antes tidos como normais para os parâmetros do sêmen passaram a ser chamados de valores de referência, o que permitiu com que homens com variáveis de sêmen inferiores às indicadas no manual não necessariamente fossem caracterizados como inférteis (WHO, 1999).

A quinta edição, nomeada de “Manual de Laboratório da OMS para o Exame e Processamento de Sêmen Humano”, foi publicada em 2010, e diferentemente das versões anteriores, foi disponibilizada de maneira gratuita em versão impressa e digital. Os testes e procedimentos disponibilizados permaneceram os mesmos, porém, descritos de forma mais detalhada. O destaque foi para o aprimoramento das técnicas a fim de evitar erros de procedimentos laboratoriais. Além disso, um novo capítulo sobre criopreservação de espermatozoides foi adicionado, e, pela primeira vez, os intervalos de referência fornecidos foram baseados em dados *in vivo*, derivados de estudos com aproximadamente 1800 pais recentes (últimos 12 meses), de oito países diferentes (WHO, 2010).

Em 2021 foi lançada a 6ª e mais recente edição, chamada de “Manual de Laboratório da OMS para o Exame e Processamento de Sêmen Humano”. A nova edição fornece o passo a passo detalhado para a realização de todos os procedimentos, e inclui exames básicos, análise estendida, e, substituindo os testes de pesquisa, os exames avançados. Diferentemente dos manuais anteriores, a sexta edição descreveu apenas um método recomendado de avaliação do volume de sêmen, da concentração espermática, da motilidade e da morfologia. Além disso, novas análises e métodos emergentes foram brevemente descritos, e outros, pouco utilizados pelos laboratórios, foram removidos. Os dados de novas publicações de estudos realizados com populações mais diversas foram unidos aos dados anteriores, formando uma amostragem mais robusta, com cerca de 3500 amostras de pais recentes, provenientes de 12 países diferentes (WHO, 2021).

Além de apresentarem novas atualizações de preparo de amostra e avaliação dos parâmetros do sêmen, a cada nova edição, os manuais da OMS abordaram os processos de maneira mais completa, aprofundando as técnicas de processamento das amostras, análise seminal, descrição dos reagentes e soluções de trabalho, cálculos, orientações para interpretação e liberação de resultados, e possíveis diagnósticos.

5.8 INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Nas primeiras versões do manual, os valores de referência eram apresentados como valores consensuais, considerando a experiência dos clínicos e estudos em larga escala que avaliavam tanto homens férteis quanto inférteis. Na quinta edição, estudos envolvendo pais recentes serviram de base para o desenvolvimento de um intervalo de referência mais fiel ao perfil de um homem fértil. Para a última edição, apesar de o número de amostras de pais recentes utilizadas nos estudos ter sido quase duas vezes maior em relação ao manual anterior, o número ainda foi inadequado e pouco representativo, pois certas regiões geográficas não foram representadas, a diversidade étnica dos participantes foi limitada e a alta variação de resultados intra-pacientes e interlaboratorial não foi levada em consideração, assim como os problemas de infertilidade relacionados ao fator feminino.

Uma evolução comparativa entre os valores de referência utilizados em cada uma das versões do manual pode ser vista no Quadro 3.

Quadro 3 - Evolução comparativa entre os valores de referência da OMS para os parâmetros do sêmen

Parâmetro	1ª edição (1980)	2ª edição (1987)	3ª edição (1992)	4ª edição (1999)	5ª edição (2010)	6ª edição (2021)
Volume de sêmen (ml)	-	≥ 2	≥ 2	≥ 2	≥ 1,5	1,3 – 1,5
Concentração de espermatozoides (10 ⁶ por ml)	20 - 200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	≥ 15	15 – 18
Número total de espermatozoides (10 ⁶ por ejaculado)	-	≥ 40	≥ 40	≥ 40	≥ 39	35 – 40
Motilidade total (PR + NP, %)	≥ 60	≥ 50	≥ 50	≥ 50	≥ 40	40 – 43
Motilidade progressiva (PR, %)	≥ 2	≥ 25	≥ 25	≥ 25	≥ 32	29 – 31
Vitalidade (espermatozoides vivos, %)	-	≥ 50	≥ 75	≥ 50	≥ 58	40 – 56
Morfologia espermática (formas normais, %)	80,5	≥ 50	≥ 30	≥ 15	≥ 4	3,9 – 4,0
pH	-	-	-	≥ 7,2	≥ 7,2	≥ 7,2
Leucócitos (10 ⁶ por ml)	< 4,7	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0

Fonte: adaptado de (WHO, 1999; WHO, 2010; WHO 2021).

É possível observar que, com o passar dos anos e o lançamento das novas edições, os parâmetros do sêmen a serem avaliados permaneceram os mesmos e apresentaram poucas alterações em relação aos seus valores de referência. Entre eles, porém, um parâmetro sofreu grandes alterações de valor de referência: a morfologia espermática, com a porcentagem de formas normais passando de 80,5% na primeira edição para 4% na versão mais recente. Essa variação está relacionada aos critérios de avaliação utilizados, que mudou de uma avaliação sem base de definição de espermatozoide normal para uma avaliação criteriosa e rigorosa.

É importante deixar claro que os intervalos de referência não devem ser utilizados como determinantes para a classificação de homens férteis ou inférteis, uma vez que, todos os participantes dos estudos usados como base para a determinação dos intervalos de referência da 5ª e da 6ª edições são pais e foram capazes de engravidar suas parceiras. Análises estendidas e outros testes avançados devem ser realizados para garantir maior qualidade e segurança para o diagnóstico final, além da avaliação do fator feminino.

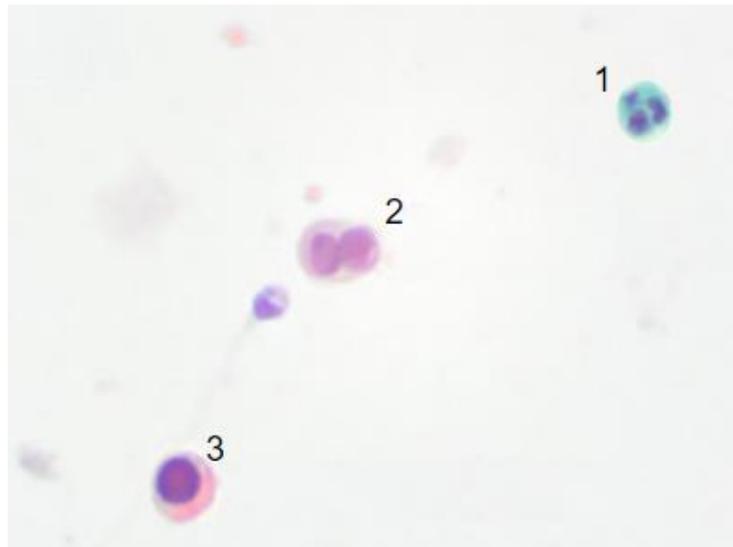
5.9 ANÁLISE ESTENDIDA

Os exames que fazem parte da análise estendida do sêmen podem ser úteis para classificar de maneira mais específica a caracterização clínica de homens férteis ou inférteis. Entre esses exames, estão a detecção de células redondas, a detecção de anticorpos antiespermatozoides, a detecção de aneuploidia e genética espermática, a avaliação da fragmentação do DNA e ensaios bioquímicos para função de órgãos acessórios.

5.9.1 Detecção de células redondas

Rotineiramente chamadas de células redondas, esse grupo de células engloba as células germinativas imaturas, como as espermatídes e os espermatócitos redondos, e os leucócitos. Sua identificação pode ser baseada na coloração de Papanicolaou, através de seus tamanhos, núcleos e cores (Figura 5). Os espermatócitos são caracterizados pelo seu tamanho grande, núcleo esférico e grânulos de cromatina uniformemente distribuídos. As espermatídes, um pouco menores, são células redondas a ovais que apresentam um núcleo escuro e condensado, e os leucócitos, células pequenas que apresentam, na maioria das vezes, núcleos multilobulados (PATIL *et al.*, 2013).

Figura 5 - Células redondas coradas pela coloração de Papanicolaou



1: Neutrófilo; 2: Espermatíde; 3: Espermatócito

Fonte: Adaptado de (LONG; KENWORTHY, 2022)

O aparecimento de leucócitos no trato reprodutor masculino e no ejaculado é comum, uma vez que eles desempenham um papel importante na imunovigilância. No entanto, de acordo com a OMS (2021), a concentração de leucócitos seminiais não deve exceder $1 \times 10^6/\text{ml}$. Concentrações superiores a esse valor (leucocitospermia ou piospermia) podem estar relacionadas a uma infecção do trato genital, resultar de uma resposta imunológica secundária, ou serem reflexo do tabagismo, consumo de álcool ou maconha (HENKEL; OFFOR; FISHER, 2020). O dano espermático induzido pela leucocitospermia é resultado dos altos níveis de EROs derivados de leucócitos e mediadores inflamatórios, o que desencadeia a peroxidação lipídica, danifica a atividade mitocondrial, reduz a motilidade espermática e aumenta a incidência de danos ao DNA e apoptose (CASTELLINI *et al.*, 2019).

A quantificação de leucócitos no sêmen recomendada pela OMS (2021) é feita através de um procedimento histoquímico que avalia a atividade da enzima peroxidase, característica dos granulócitos, e sua contagem em uma câmara de contagem com grades.

5.9.2 Anticorpos antiespermatozoides

A infertilidade autoimune, causada devido à presença de anticorpos antiespermatozoides, é uma condição pouco prevalente que afeta aproximadamente 2% a 6% dos homens inférteis (SILVA *et al.*, 2021). Os anticorpos antiespermatozoides podem causar diminuição na concentração e motilidade dos espermatozoides, aumento do tempo de liquefação do líquido seminal, aglutinação espermática, interação prejudicada do esperma com o óvulo e problemas nos eventos pós-fertilização (CENTOLA, 2018).

A OMS (2021) recomenda dois tipos de testes para a detecção de anticorpos antiespermáticos:

- a) Testes para presença de anticorpos em espermatozoides; e
- b) Testes para presença de anticorpos em plasma seminal, soro sanguíneo e muco cervical;

Apenas a presença de anticorpos antiespermáticos é insuficiente para o diagnóstico de autoimunidade espermática. Para o diagnóstico dessa condição, é necessário demonstrar que os anticorpos interferem significativamente na função espermática - através de um teste de penetração de muco (A BARBONETTI *et al.*, 2019).

5.9.3 Testes genéticos

Homens com anormalidades genéticas geralmente apresentam espermatogênese defeituosa, o que pode resultar em oligozoospermia ou azoospermia grave e aumento de aneuploidias (AGARWAL *et al*, 2021).

A análise de cariótipo é o primeiro teste genético que deve ser realizado em pacientes com distúrbios quantitativos dos parâmetros seminais ou com histórico familiar de abortos recorrentes, malformações, comprometimento do desenvolvimento cognitivo ou infertilidade (KRAUSZ; RIERA-ESCAMILLA, 2018). A hibridização fluorescente *in situ* é o ensaio citogenético de diagnóstico clínico recomendado pela OMS (2021) para a avaliação das frequências de anormalidades cromossômicas, incluindo a detecção de defeitos cromossômicos numéricos ou estruturais.

5.9.4 Fragmentação do DNA

A fragmentação do DNA é um dos distúrbios mais frequentes que afetam o material genético espermático (ZEQIRAJ *et al.*, 2018). A patogênese desta condição está relacionada a fatores intrínsecos e extrínsecos ao organismo masculino, como o estresse oxidativo, a falta de um mecanismo reparador de DNA, a apoptose abortiva e a maturação defeituosa (CHO; AGARWAL, 2018). Os diferentes danos causados ao DNA dos espermatozoides podem influenciar a capacidade preditiva do seu potencial de fertilização, a depender, por exemplo, do tipo de dano, da porcentagem de espermatozoides danificados, da extensão do dano em cada célula e da capacidade do oócito para reparar os danos durante a fertilização (SAKKAS; ALVAREZ, 2010).

Os ensaios mais comumente utilizados e recomendados pela OMS avaliam aspectos distintos dos danos causados ao DNA através de diferentes técnicas:

- a) TUNEL *assay* (ensaio de rotulagem de extremidade de corte dUTP de transferase terminal): baseado na marcação de quebras presentes no DNA com desoxinucleotídeos que podem ser conjugados diretamente com um marcador fluorescente (SHARMA; MASAKI; AGARWAL, 2012);
- b) COMET *assay* (ensaio de eletroforese em gel de célula única): baseado na avaliação eletroforética de fragmentos de DNA lisados (CHO; AGARWAL, 2018); e,

- c) SCD (teste de dispersão de cromatina): avalia a capacidade da cromatina espermática em formar halos de dispersão baseado no princípio de que as tiras de DNA intactas se expandem após a desnaturação e extração de proteínas nucleares (formando halos), enquanto que no DNA fragmentado não há o desenvolvimento de dispersão significativa (sem halos) (RIBAS-MAYNOU *et al.*, 2013).

Apesar de os resultados dos diferentes ensaios de fragmentação do DNA geralmente não serem comparáveis devido aos diferentes aspectos avaliados, os testes podem ser inter-relacionados por refletirem as propriedades do DNA dos espermatozoides e podem, também, indicar uma origem comum de dano (CHO; AGARWAL, 2018).

Uma revisão sistemática e meta-análise elaborada por Santi *et al.* (2018) indicou que, um limiar de 20% de fragmentação do DNA (considerando os ensaios TUNEL, COMET e SCD) apresenta alta sensibilidade e especificidade para indicar a presença de infertilidade masculina. Além disso, evidências indicam que a probabilidade de sucesso da gravidez (natural e assistida) é influenciada pelo nível de fragmentação do DNA espermático (ESTEVES *et al.*, 2020).

5.9.5 Testes bioquímicos para a função das glândulas sexuais acessórias

As secreções das glândulas acessórias podem ser analisadas através de testes bioquímicos que avaliam a função e atividade secretória de cada glândula. Uma infecção em qualquer uma das glândulas pode causar dano temporário ou irreversível ao epitélio secretor e provocar uma diminuição na secreção de marcadores (SRIVASTAVA; PANDE, 2017).

Vários marcadores bioquímicos presentes no plasma seminal foram propostos há mais de três décadas e ainda são utilizados como marcadores da secreção da próstata (zinco, citrato, fosfatase ácida, g-glutamyltranspeptidase), vesículas seminais (frutose) e epidídimo (μ -glicosidase neutra, L-carnitina, glicerofosocolina) para localizar uma obstrução no trato urogenital ou uma disfunção no local de produção (WETTERAUER, 1986).

A OMS (2021) recomenda a mensuração da quantidade de zinco ($\geq 2,4 \mu$ mol/ejaculado) para avaliação da capacidade secretória da próstata, a alfa-glicosidase neutra (≥ 20 mU/ejaculado) para avaliar a condição do epidídimo, e os níveis de frutose (≥ 13 mmol/ejaculado) para avaliação da secreção das vesículas seminais.

5.10 EXAMES AVANÇADOS

As análises básica e estendida do sêmen não fornecem informações específicas sobre disfunções espermáticas a níveis celulares e moleculares, o que dificulta a identificação precisa da etiologia da infertilidade. Para garantir a acurácia da base fisiológica por trás da infertilidade do fator masculino, uma série de testes avançados foi desenvolvida a fim de avaliar a funcionalidade e a competência dos espermatozoides em cumprirem sua função no processo de fertilização.

5.10.1 Avaliação do estresse oxidativo seminal e espécies reativas de oxigênio

O estresse oxidativo é causado pelo desequilíbrio entre EROs e antioxidantes, e é um importante causador de dano ao DNA espermático. Atualmente, a OMS (2021) recomenda os seguintes testes para a determinação dos níveis seminais de EROs:

- a) Quimioluminescência: método sensível e específico projetado para medir espécies reativas de oxigênio intra e extracelulares através de uma sonda luminescente;
- b) Citometria de fluxo: consiste na marcação dos espermatozoides com um corante fluorescente que é excitado por um laser, e a luz emitida é detectada e os sinais de dispersão de luz são medidos; e
- c) Potencial de oxidação-redução: técnica que avalia o equilíbrio entre oxidantes e redutores na amostra de sêmen utilizando o MiOXSYS (sistema oxidativo de infertilidade masculina), um método baseado em técnica galvanostática.

Através de um estudo prospectivo de caso-controle realizado por Alahmar *et al.* (2019), ao comparar os parâmetros seminais, a presença de EROs e os níveis de fragmentação do DNA espermático, os autores concluíram que homens inférteis apresentaram parâmetros de sêmen significativamente mais baixos e níveis mais altos de espécies reativas de oxigênio e fragmentação de DNA quando comparados a homens férteis. Além de causar impacto negativo na funcionalidade dos espermatozoides, a presença de EROs pode afetar também os desfechos das técnicas em reprodução assistida, tanto em relação à saúde do embrião, quanto a sua capacidade de interagir efetivamente com o revestimento uterino (RITCHIE; KO, 2020).

5.10.2 Avaliação reação acrossômica

A reação acrossômica é um processo que ocorre naturalmente após a capacitação espermática e antes da ligação do espermatozoide à zona pelúcida. A integridade da estrutura acrossômica e a capacidade de sofrer exocitose acrossomal são necessárias para o processo de fertilização normal (BARBĂROŞIE; AGARWAL; HENKEL, 2020).

Atualmente, a citometria de fluxo e a microscopia eletrônica são consideradas as melhores técnicas para a avaliação da capacidade de reação acrossômica dos espermatozoides, seja através da avaliação do status acrossômico ou de um ensaio de reação acrossômica induzida (WHO, 2021). Uma amostra na qual 5 a 10% dos espermatozoides apresentam reação acrossomal pode ser indicativa de alta capacidade de fertilização. Esse parâmetro avaliativo pode ser útil para explicar a infertilidade masculina se um casal falhar na fertilização *in vitro*, porém, não é adequado para avaliar a infertilidade masculina como causa primária (KHATUN et al., 2018).

5.10.3 Análise de sêmen assistida por computador (CASA)

A análise de sêmen assistida por computador consiste em um sofisticado sistema de imagens microscópicas eletrônicas utilizado para visualizar a amostra de sêmen, e um programa de software avançado para avaliar os parâmetros individuais de cada espermatozoide e da população celular geral (AMANN; WABERSKI, 2014).

Os sistemas CASA permitem a análise de um grande número de células espermáticas em um curto espaço de tempo, fornecendo uma série de dados quantitativos sobre cinemática (taxas de velocidade e oscilação de movimentos) e morfometria da cabeça espermática, o que permite a otimização dos processos, a maior confiabilidade das análises seminais e a diminuição da subjetividade da avaliação manual, principalmente em amostras com baixas concentrações e número de espermatozoides (VALVERDE *et al.*, 2020).

5.11 DECLÍNIO NA QUALIDADE DO SÊMEN

Nas últimas décadas, uma série de estudos têm sugerido uma tendência de declínio na qualidade do sêmen, principalmente em relação à concentração e à contagem total de espermatozoides (AUGER *et al.*, 1995; CARLSEN *et al.*, 1992; LEVINE, *et al.*, 2017; VIRTANEN *et al.*, 2017).

Tendo em vista o impacto do estresse psicológico (ILACQUA *et al.*, 2018), da obesidade (LEISEGANG *et al.*, 2020), do consumo de álcool (VAN HEERTUM; ROSSI, 2017), do tabagismo (SHARMA *et al.*, 2016), da atividade física (JÓÚKÓW; ROSSATO, 2017), da dieta (SKORACKA *et al.*, 2020) e do uso de aparelhos eletrônicos (OKECHUKWU, 2020) na espermatogênese, a relação entre os parâmetros do sêmen e o estilo de vida moderno tornou-se um tópico sugestivo da causa por trás do declínio na qualidade do sêmen.

É provável que fatores ambientais também tenham contribuído para as tendências de queda da qualidade do sêmen e a ascensão da infertilidade humana. O processo de globalização e a rápida expansão das indústrias incluiu uma série de produtos químicos perigosos no ambiente que podem afetar direta ou indiretamente os fatores masculinos e femininos relacionados à capacidade de fertilização e reprodução (MISHRA *et al.*, 2018).

A deterioração da saúde reprodutiva humana devido à má qualidade do sêmen e à falência oocitária são consideradas um grande problema de saúde global (SKAKKEBÆK *et al.*, 2021). Nas últimas décadas, como consequência da infertilidade generalizada, um número crescente de casais inférteis tem procurado ajuda médica em algum momento de sua vida reprodutiva, e, com o desenvolvimento da tecnologia de reprodução assistida, a demanda por tratamento tem aumentado substancialmente (CHEN *et al.*, 2019).

5.12 TÉCNICAS EM REPRODUÇÃO ASSISTIDA

As Técnicas de Reprodução Assistida são os procedimentos clínicos e laboratoriais que visam obter uma gravidez, substituindo ou facilitando etapas essenciais do processo reprodutivo natural (LEITE, 2019). Os principais procedimentos realizados atualmente são a inseminação artificial intrauterina (IIU), a fertilização *in vitro* (FIV) e a injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).

5.12.1 Inseminação artificial intrauterina (IIU)

A inseminação artificial intrauterina é um procedimento frequentemente utilizado em casos de infertilidade masculina leve, ausência de ovulação, endometriose, fator imunológico, distúrbios ejaculatórios ou infertilidade inexplicada, e apresenta taxas de gravidez clínica por ciclo variando de 10 a 20% (ALLAHBADIA, 2017). A técnica consiste no processamento prévio dos espermatozoides em laboratório, seguido da sua introdução diretamente na cavidade uterina durante o período fértil. O tratamento começa no início do ciclo menstrual da mulher e

envolve a aplicação de hormônios sexuais que estimulam o desenvolvimento e a maturação dos folículos ovarianos, aumentando as chances de fecundação (VAN WELY, 2017).

Uma diversidade de fatores afeta os resultados da IIU, incluindo o nível de infertilidade, a idade do casal, os regimes de estimulação hormonal e os parâmetros de sêmen. Mesmo quando existe a suspeita de outras etiologias de infertilidade, fatores masculinos como a contagem total de espermatozoides móveis, a contagem de espermatozoides pós-lavagem e o índice de fragmentação do DNA são considerações importantes para a previsão das taxas de sucesso da IIU (STAROSTA *et al.*, 2020).

Um limiar de valores para os parâmetros do sêmen que determinam as taxas de gravidez clínica ainda não foi estipulado, porém, uma série de estudos demonstrou que um maior sucesso na IIU ocorreu em casos nos quais a contagem total de espermatozoides móveis foi igual ou superior a dez milhões e a contagem de espermatozoides pós-lavagem foi maior ou igual a um milhão (MUTHIGI *et al.*, 2021; STAROSTA *et al.*, 2020).

Até o momento, a literatura disponível apresenta uma série de dados limitados e divergentes a respeito da capacidade preditiva do nível de fragmentação do DNA espermático nos desfechos clínicos da inseminação artificial intrauterina. Chen *et al.* (2019) e Sugihara *et al.* (2020), através de estudos de meta-análise, investigaram a relação entre o índice de fragmentação do DNA espermático e os resultados de gravidez após a IIU. Os estudos demonstraram que a fragmentação do DNA está correlacionada com as taxas de gravidez, e que, casais com baixos níveis de fragmentação do DNA espermático podem ter até três vezes mais chances de conceber após IIU. Em contrapartida, Yang *et al.* (2019) e Siddhartha *et al.* (2019) não encontraram diferenças significativas nas taxas de gravidez em ciclos de IIU em casais com altos índices de fragmentação de DNA espermático. Os resultados conflitantes exigem investigações adicionais e estudos mais bem desenhados para que o índice de fragmentação do DNA espermático tenha valor preditivo significativo para os desfechos reprodutivos após a IIU.

5.12.2 Fertilização *in vitro* (FIV)

A fertilização *in vitro* é o procedimento que consiste na realização da fecundação do óvulo com o espermatozoide fora do corpo da mulher. O procedimento envolve a estimulação ovariana (geralmente através da injeção de gonadotrofinas exógenas), a recuperação de oócitos, a fertilização dos oócitos com espermatozoides previamente lavados e isolados em um meio de cultura, e a formação de embriões que serão cultivados, selecionados e transferidos para o útero

(FSANZ, 2022). A técnica é recomendada para casos de infertilidade por fator masculino (principalmente por baixa contagem total de espermatozoides e baixa motilidade progressiva), reserva ovariana diminuída, disfunção ovulatória ou infertilidade inexplicada.

Parâmetros de sêmen gravemente anormais podem ser uma indicação para a aplicação da FIV. Harris *et al.* (2018) observaram que baixa concentração e motilidade progressiva total de espermatozoides no ejaculado no dia da coleta do oócito foram preditivos de baixa fertilização em ciclos de FIV. Nesse contexto, os limites recomendados para concentração de espermatozoides, motilidade espermática total e motilidade progressiva são, respectivamente, superiores a 10×10^6 espermatozoides/ml, a 30% e a 15% (DCUNHA *et al.*, 2020). Contudo, o estabelecimento de critérios mínimos para os parâmetros do sêmen para a realização da FIV só é possível de forma limitada, uma vez que diversos fatores estão relacionados aos desfechos do procedimento.

5.12.3 Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI)

Para pacientes com histórico de falha de fertilização pela FIV, a injeção intracitoplasmática de espermatozoide é a opção mais apropriada. A ICSI consiste na seleção do melhor espermatozoide a partir da avaliação da motilidade e morfologia, e sua injeção direta no citoplasma do oócito. Essa técnica aumenta significativamente as taxas de sucesso do tratamento nos casos de infertilidade por fator masculino (ESTEVEZ *et al.*, 2018).

Através de um estudo retrospectivo e observacional, Villani *et al.* (2021) avaliaram a capacidade preditiva dos parâmetros convencionais do sêmen para o sucesso de técnicas em reprodução assistida. As análises estatísticas mostraram que, nos ciclos de ICSI, o parâmetro mais relevante para a taxa de fertilização foi a morfologia espermática, com uma maior taxa de sucesso quando a morfologia normal é superior a 5,5%.

Atualmente, a ICSI é amplamente preferida na prática clínica, em até 65% dos ciclos, independentemente da qualidade do sêmen, além de ser o único método de inseminação que utiliza espermatozoides recuperados cirurgicamente (VILLANI *et al.*, 2021). A abordagem radical de depositar o espermatozoide diretamente no oócito provou ser eficaz em superar parâmetros de sêmen deficientes, uma vez que a técnica ignora algumas etapas do processo normal de fertilização (O'NEILL *et al.*, 2018).

Em geral, cada fator de infertilidade responde melhor a um tratamento específico. O Quadro 4 mostra as principais técnicas de reprodução assistida recomendadas para cada fator de infertilidade masculina.

Quadro 4 – Técnicas de reprodução assistida recomendadas em casos de infertilidade masculina

Condição de infertilidade	Técnica recomendada
Azoospermia	ICSI obrigatória
Oligoastenoteratozoospermia severa	ICSI altamente recomendada
Oligoastenoteratozoospermia moderada	FIV e ICSI igualmente eficazes
Teratozoospermia isolada	FIV e ICSI igualmente eficazes
Astenozoospermia absoluta	ICSI obrigatória
Globozoospermia	ICSI obrigatória
Anticorpos antiespermatozoides	FIV e ICSI igualmente eficazes
Fragmentação de DNA espermático	ICSI recomendada

Fonte: adaptado de ESTEVES *et al.*, 2018

Algumas técnicas de processamento e avaliação genética e molecular ainda podem ser utilizadas para otimização dos resultados nos casos mais críticos. O teste genético pré-implantacional (PGT), por exemplo, é comumente realizado em conjunto com a fertilização *in vitro*. A análise genética permite a detecção de anomalias cromossômicas antes da implantação do embrião, o que ajuda a prevenir riscos de complicações obstétricas e transmissão de defeitos genéticos (ESKEW; JUNGHEIM, 2017). Apesar de o PGT ser classicamente utilizado para a seleção contra aneuploidias e distúrbios genéticos, ele pode ser usado em situações eticamente mais controversas, como na seleção do sexo do bebê ou na decisão de descartar embriões com possíveis distúrbios (FESAHAT *et al.*, 2020).

5.13 USO DA REPRODUÇÃO ASSISTIDA POR DIFERENTES GRUPOS SOCIAIS

A reprodução assistida é um campo relativamente novo da medicina que está evoluindo continuamente em termos de complexidade de equipamentos, tecnologias e processos, a fim de tornar-se mais acessível e segura (CAMPBELL *et al.*, 2021).

Os avanços tecnológicos relacionados à reprodução humana, a legalização do casamento entre pessoas do mesmo sexo e a promoção de políticas de apoio à doação de

gametas possibilitaram o acesso de um público mais abrangente às técnicas de reprodução assistida (CHEON *et al.*, 2019). Tendo em vista as modificações sociais ocorridas nos últimos anos, adequações na legislação e nas resoluções relacionadas às regras relacionadas à reprodução assistida tornaram-se necessárias. Atualmente, casais homoafetivos, mulheres e homens solteiros ou mesmo mães ou pais falecidos podem usufruir das técnicas em reprodução assistida para o controle do processo reprodutivo e a solução de problemas que antigamente seriam considerados impossíveis de superar.

Em 2013, o Conselho Federal de Medicina (2013) aprovou uma resolução que garante aos casais homoafetivos e aos indivíduos solteiros o direito de utilizar as técnicas de reprodução assistida para terem filhos. Para mulheres solteiras e casais homoafetivos femininos, a gestação é possível através das técnicas de inseminação artificial ou fertilização *in vitro*, utilizando o sêmen de um doador anônimo, e, nos casos de gestação compartilhada, o gameta de uma das mulheres e o útero de outra (GALLO; GRACINDO, 2016). Em relação aos homens solteiros e casais homoafetivos masculinos, o método de reprodução assistida recomendado é a fertilização *in vitro*, utilizando óvulos doados e um útero de substituição (barriga solidária) de uma parente de até quarto grau (mãe, irmã, prima, tia) (LOPES *et al.*, 2015).

Casais que congelaram seus gametas para uma gestação futura podem recorrer às técnicas de reprodução assistida mesmo após o falecimento de um dos cônjuges, através da reprodução assistida *post mortem*. De acordo com a Resolução nº 2.168/2017 do Conselho Federal de Medicina (2017), a reprodução assistida *post mortem* é permitida caso exista autorização prévia específica por escrito do falecido para o uso do material biológico (óvulo, sêmen ou embrião) criopreservado.

6 CONCLUSÃO

A infertilidade masculina é um problema de saúde global em ascensão que merece atenção e melhor entendimento. A análise do sêmen é o primeiro passo para a avaliação do potencial de fertilidade masculino, porém, é um indicador pouco significativo para o sucesso reprodutivo de um casal, uma vez que muitos fatores externos à qualidade do sêmen contribuem para a capacidade de um espermatozoide de fertilizar um oócito. Além disso, a análise convencional do sêmen sofre de subjetividade e baixa padronização intra e interlaboratorial pela análise manual humana, a qual, aliada à variação ao longo dos anos dos valores de referência para os parâmetros seminais, contribui significativamente para a formação de um cenário complexo para o diagnóstico e tratamento dessa condição.

Dessa forma, as características tradicionais do sêmen e os testes avançados de capacitação espermática não devem ser utilizados como determinantes da infertilidade masculina, mas sim, como base para fornecer um valor preditivo para a concepção *in vivo* e para o manejo de casais que requerem técnicas de reprodução assistida. O advento da tecnologia de reprodução assistida representou uma das inovações médicas mais relevantes dos últimos tempos, mudando drasticamente a medicina reprodutiva. A rápida evolução das TRAs para o tratamento de casais inférteis contribuiu, também, para mudanças econômicas, sociais e culturais em todo o mundo, dando oportunidades àqueles que se viam sem alternativas para geração de herdeiros genéticos.

Apesar de todo avanço alcançado, devido a muitas limitações e a muitos novos desafios (tendências globais de avaliação seminal, novos padrões para análise de sêmen, baixa representatividade geográfica/social/étnica/cultural, amostras limitadas, falta de padronização e consenso nos testes realizados, exclusão do fator feminino, variabilidade biológica, entre outros), as comparações entre os dados obtidos nos estudos e suas interpretações são difíceis, o que leva a resultados limitados e conflitantes na literatura. Sendo assim, estudos futuros são necessários para explorar questões como o estabelecimento de valores de referência relevantes para a determinação da infertilidade e a predição de uma gravidez clínica, bem como, para o entendimento da magnitude do papel masculino nos desfechos clínicos das técnicas em reprodução assistida.

REFERÊNCIAS

- ABHYANKAR, Nikita; OHLANDER, Samuel. **Varicocele: evaluation and pathophysiology.** *Encyclopedia Of Reproduction*, p. 297-300, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64547-6>.
- AGARWAL, Ashok *et al.* **Male infertility.** *The Lancet*, v. 397, n. 10271, p. 319-333, jan. 2021. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32667-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32667-2).
- AGARWAL, Ashok *et al.* **Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): proposed terminology and clinical practice guidelines for management of idiopathic male infertility.** *The World Journal Of Men'S Health*, v. 37, n. 3, p. 296, 2019. Korean Society for Sexual Medicine and Andrology. <http://dx.doi.org/10.5534/wjmh.190055>.
- AGARWAL, Ashok; GUPTA, Sajal; SHARMA, Rakesh. **Basic Semen Analysis.** *Andrological Evaluation Of Male Infertility*, p. 39-46, 2016. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-26797-5_4.
- AITKEN, R. J.. **Sperm function tests and fertility.** *International Journal Of Andrology*, v. 29, n. 1, p. 69-75, fev. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00630.x>.
- ALAHMAR, Ahmedt *et al.* **Role of oxidative stress in male infertility: an updated review.** *Journal Of Human Reproductive Sciences*, v. 12, n. 1, p. 4-18, 2019. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_150_18.
- ALLAHBADIA, Gautam N.. **Intrauterine Insemination: fundamentals revisited.** *The Journal Of Obstetrics And Gynecology Of India*, v. 67, n. 6, p. 385-392, 25 out. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13224-017-1060-x>.
- AMANN, Rupert P.; WABERSKI, Dagmar. **Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments.** *Theriogenology*, v. 81, n. 1, p. 5-17, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.004>.
- ANAMTHATHMAKULA, Prashanth; WINUTHAYANON, Wipawee. **Mechanism of semen liquefaction and its potential for a novel non-hormonal contraception.** *Biology Of Reproduction*, v. 103, n. 2, p. 411-426, 14 maio 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/biolre/ioaa075>
- ANDRADE ROCHA, Fernando Tadeu. **On the origins of the semen analysis: a close relationship with the history of the reproductive medicine.** *Journal Of Human Reproductive Sciences*, v. 10, n. 4, p. 242, 2017. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_97_17.
- ANTOINE, Jean-Marie; MANDELBAUM, Jacqueline. **Initial Evaluation of the Infertile Couple.** *Encyclopedia Of Endocrine Diseases*, v. 2, n. 2, p. 490-497, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64962-0>.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **SisEmbrião: 13º relatório do sistema nacional de produção de embriões.** 13. ed: Anvisa, 2019. 14 p.

AUGER, Jacques *et al.* **Decline in Semen Quality among Fertile Men in Paris during the Past 20 Years.** *New England Journal Of Medicine*, v. 332, n. 5, p. 281-285, 2 fev. 1995. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm199502023320501>.

AUGER, J.; JOUANNET, P.; EUSTACHE, F.. **Another look at human sperm morphology.** *Human Reproduction*, v. 31, n. 1, p. 10-23, 23 out. 2016. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/dev251>.

AUGER, Jacques. **Spermatozoa and Sperm Structure.** *Encyclopedia Of Reproduction*, v. 1, n. 2, p. 62-67, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64563-4>.

AVELLAR, Maria Christina W.; HINTON, Barry T.. **Epididymis.** *Encyclopedia Of Endocrine Diseases*, p. 807-813, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.65180-2>.

BABAKHANZADEH, Emad; NAZARI, Majid; GHASEMIFAR, Sina; KHODADADIAN, Ali. **Some of the Factors Involved in Male Infertility: a prospective review.** *International Journal Of General Medicine*, v. 13, p. 29-41, fev. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijgm.s241099>.

BAKER, Karen; SABANEH, Edmund. **Obstructive azoospermia: reconstructive techniques and results.** *Clinics*, v. 68, p. 61-73, 2013. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.6061/clinics/2013\(sup01\)07](http://dx.doi.org/10.6061/clinics/2013(sup01)07).

BARBĂROȘIE, Cătălina; AGARWAL, Ashok; HENKEL, Ralf. **Diagnostic value of advanced semen analysis in evaluation of male infertility.** *Andrologia*, v. 53, n. 2, p. 1-18, 26 maio 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13625>.

BARBONETTI, A *et al.* **Prevalence of anti-sperm antibodies and relationship of degree of sperm auto-immunization to semen parameters and post-coital test outcome: a retrospective analysis of over 10 000 men.** *Human Reproduction*, v. 34, n. 5, p. 834-841, 30 mar. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/dez030>.

BASKARAN, Saradha *et al.* **Diagnostic value of routine semen analysis in clinical andrology.** *Andrologia*, v. 53, n. 2, p. 1-12, 12 maio 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13614>.

BARROS, Bianca Maria *et al.* **Infertilidade masculina de origem genética: uma revisão sistemática.** *Revista Científica Funvic, Pindamonhangaba*, v. 2, n. 5, p. 20-27, abr. 2020.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina. **Resolução CFM nº 2.013, de 16 de abril de 2013.** Diário Oficial da União. Brasília; 9 maio 2013. Disponível em: <https://sistemas.cfm.org.br/normas/visualizar/resolucoes/BR/2013/2013>. Acesso em: 04 jul. 2022.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina. **Resolução CFM nº 2.168, de 21 de setembro de 2017.** Diário Oficial da União. Brasília; 10 novembro 2017. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19405123/do1-

2017-11-10-resolucao-n-2-168-de-21-de-setembro-de-2017-19405026 Acesso em: 04 jul. 2022.

BUI, A. D. *et al.* **Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility.** *Andrologia*, v. 50, n. 8, p. 1-10, 11 abr. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13012>.

BUNGE, R. G.; SHERMAN, J. K.. **Fertilizing Capacity of Frozen Human Spermatozoa.** *Nature*, v. 172, n. 4382, p. 767-768, out. 1953. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/172767b0>.

CAMPBELL, Alison *et al.* **In vitro fertilization and andrology laboratory in 2030: expert visions.** *Fertility And Sterility*, v. 116, n. 1, p. 4-12, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.05.088>.

CARLSEN, E. *et al.* **Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years.** *Bmj*, v. 305, n. 6854, p. 609-613, 12 set. 1992. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.305.6854.609>.

CASTELLINI, C. *et al.* **Relationship between leukocytospermia, reproductive potential after assisted reproductive technology, and sperm parameters: a systematic review and meta-analysis of case-control studies.** *Andrology*, v. 8, n. 1, p. 125-135, 28 jun. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/andr.12662>.

CENTOLA, Grace M.. **Laboratory Evaluation of Antisperm Antibodies.** *Encyclopedia Of Reproduction*, p. 76-77, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64840-7>.

CHEN, Qing *et al.* **The association between sperm DNA fragmentation and reproductive outcomes following intrauterine insemination, a meta analysis.** *Reproductive Toxicology*, v. 86, p. 50-55, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.03.004>.

CHEON, Won Hee *et al.* **Validation of a smartphone-based, computer-assisted sperm analysis system compared with laboratory-based manual microscopic semen analysis and computer-assisted semen analysis.** *Investigative And Clinical Urology*, v. 60, n. 5, p. 380, 2019. The Korean Urological Association. <http://dx.doi.org/10.4111/icu.2019.60.5.380>.

CHO, Chak-Lam; AGARWAL, Ashok. **Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: a systematic review.** *Arab Journal Of Urology*, v. 16, n. 1, p. 21-34, mar. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aju.2017.11.002>.

CORREA-PÉREZ, Juan R *et al.* **Clinical management of men producing ejaculates characterized by high levels of dead sperm and altered seminal plasma factors consistent with epididymal necrospermia.** *Fertility And Sterility*, v. 81, n. 4, p. 1148-1150, abr. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.09.047>.

COLE, Laurence A.. **Human Male Spermatogenesis.** *Biology Of Life*, p. 135-141, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-809685-7.00018-6>.

DCUNHA, Reyon *et al.* **Current Insights and Latest Updates in Sperm Motility and Associated Applications in Assisted Reproduction.** *Reproductive Sciences*, v. 29, n. 1, p. 7-

25, 7 dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s43032-020-00408-y>.

DEEBEL, Nicholas A. *et al.* **Infertility considerations in klinefelter syndrome**: from origin to management. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 34, n. 6, p. 101480, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2020.101480>.

DHUMAL, Sanketh Satya *et al.* **Semen pH and its correlation with motility and count** - A study in subfertile men. *Jbra Assisted Reproduction*, v. 25, n. 2, p. 172-175, 2021. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20200080>.

ELAMO, Heidi P. *et al.* **Genetics of cryptorchidism and testicular regression**. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 36, n. 1, p. 101619, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2022.101619>.

ESKEW, Ashley M.; JUNGHEIM, Emily S.. A History of Developments to Improve in vitro Fertilization. *Missouri Medicine*, Missouri, v. 3, n. 114, p. 156-159, jun. 2017.

ESTEVEZ, Sandro C. *et al.* **Intracytoplasmic sperm injection for male infertility and consequences for offspring**. *Nature Reviews Urology*, v. 15, n. 9, p. 535-562, 2 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41585-018-0051-8>.

ESTEVEZ, Sandro C. *et al.* **Sperm DNA fragmentation testing**: summary evidence and clinical practice recommendations. *Andrologia*, v. 53, n. 2, 27 out. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13874>.

EVINE, Hagai *et al.* **Temporal trends in sperm count**: a systematic review and meta-regression analysis. *Human Reproduction Update*, v. 23, n. 6, p. 646-659, 25 jul. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmx022>.

FAINBERG, Jonathan; KASHANIAN, James A.. **Recent advances in understanding and managing male infertility**. *F1000Research*, v. 8, p. 670, 16 maio 2019. F1000 Research Ltd. <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.17076.1>.

FARIA, Dieime Elaine Pereira de; GRIECO, Silvana Chedid; BARROS, Sônia Maria Oliveira de. **Efeitos da infertilidade no relacionamento dos cônjuges**. *Revista da Escola de Enfermagem da Usp, [S.L.]*, v. 46, n. 4, p. 794-801, ago. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0080-62342012000400002>.

FAUSER, Bart CJM. **Towards the global coverage of a unified registry of IVF outcomes**. *Reproductive biomedicine online*, v. 38, n. 2, p. 133-137, 2019.

FESAHAT, Farzaneh *et al.* **Preimplantation genetic testing in assisted reproduction technology**. *Journal Of Gynecology Obstetrics And Human Reproduction*, v. 49, n. 5, p. 101723, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101723>

FLANNIGAN, Ryan; GOLDSTEIN, Marc. **Vas Deferens**. *Encyclopedia Of Reproduction*, p. 305-308, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64371-4>.

FSANZ, Fertility Society Of Australia And New Zealand. In vitro fertilisation. 2022. Disponível em: <https://www.fertilitysociety.com.au/ivf-treatment-australia-new-zealand/>. Acesso em: 21 fev. 2022.

GALLO, José Hiran da Silva; GRACINDO, Giselle Crosara Lettieri. **Reprodução assistida, direito de todos.** E o registro do filho, como proceder? *Revista Bioética*, v. 24, n. 2, p. 250-259, ago. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1983-80422016242125>

GATIMEL, N. et al. **Sperm morphology: assessment, pathophysiology, clinical relevance, and state of the art in 2017.** *Andrology*, v. 5, n. 5, p. 845-862, 10 jul. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/andr.12389>.

GAUNTNER, Timothy D.; PRINS, Gail S.. **Prostate**—Cell Biology and Secretion. *Encyclopedia Of Reproduction*, p. 325-333, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64372-6>.

GOÉS, Alyne Barreto Mesquita de *et al.* **Male infertility and COVID-19: is there a relationship?** *Research, Society And Development*, v. 10, n. 6, p. 1-10, 7 jun. 2021. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i6.16059>.

GURUNG, Purnima; YETISKUL, Ekrem; JIALAL, Ishwarlal. **Physiology, Male Reproductive System.** 2022. Elaborada por National Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538429/>. Acesso em: 21 maio 2022.

HANSON, Brent M.; KASER, Daniel J.; FRANASIAK, Jason M.. **Male Infertility and the Future of In Vitro Fertilization.** *Urologic Clinics Of North America*, [S.L.], v. 47, n. 2, p. 257-270, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2019.12.012>.

HARRIS, A. L. *et al.* **Semen parameters on the day of oocyte retrieval predict low fertilization during conventional insemination IVF cycles.** *Journal Of Assisted Reproduction And Genetics*, v. 36, n. 2, p. 291-298, 10 nov. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1336-9>.

HENKEL, Ralf; OFFOR, Ugochukwu; FISHER, David. **The role of infections and leukocytes in male infertility.** *Andrologia*, v. 53, n. 1, p. 1-19, 21 jul. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13743>.

ICMART, International Committee For Monitoring Assisted Reproductive Technologies. **ICMART Preliminary World Report 2017.** Paris: Icmart, 2021. 26 slides, color.

ICMART, International Committee For Monitoring Assisted Reproductive Technologies. **The International Glossary on Infertility and Fertility Care.** 2019. Disponível em: <https://www.icmartivf.org/glossary/a-d/>. Acesso em: 13 fev. 2022.

ILACQUA, Alessandro *et al.* **Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on male fertility.** *Reproductive Biology And Endocrinology*, v. 16, n. 1, 26 nov. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12958-018-0436-9>.

JAIN, Meaghan; SINGH, Manvinder. **Assisted Reproductive Technology (ART) Techniques**. Statpearls Publishing, Treasure Island (FL), jan. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576409/?report=classic>. Acesso em: 29 jun. 2022.

JENSEN, Christian Fuglesang S. *et al.* **Varicocele and male infertility**. Nature Reviews Urology, v. 14, n. 9, p. 523-533, 4 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2017.98>.

JÓŰKÓW, Paweł; ROSSATO, Marco. **The Impact of Intense Exercise on Semen Quality**. American Journal Of Men'S Health, v. 11, n. 3, p. 664-673, 2017.

KATZ, Darren J *et al.* **Male infertility** - The other side of the equation. Aust Fam Physician, s, v. 9, n. 46, p. 641-646, set. 2017.

KHATUN, Amena *et al.* **Clinical assessment of the male fertility**. Obstetrics & Gynecology Science, v. 61, n. 2, p. 179, 2018. Korean Society of Obstetrics and Gynecology. <http://dx.doi.org/10.5468/ogs.2018.61.2.179>.

KOVAC, Jasonr *et al.* **Men with a complete absence of normal sperm morphology exhibit high rates of success without assisted reproduction**. Asian Journal Of Andrology, p. 39-42, 2016. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/1008-682x.189211>.

KRAUSZ, Csilla; RIERA-ESCAMILLA, Antoni. **Genetics of male infertility**. Nature Reviews Urology, v. 15, n. 6, p. 369-384, 5 abr. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41585-018-0003-3>.

KUMAR, Naina; SINGH, Amitkant. **Trends of male factor infertility**, an important cause of infertility: a review of literature. Journal Of Human Reproductive Sciences, v. 8, n. 4, p. 191, 2015. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0974-1208.170370>.

LEISEGANG, Kristian *et al.* **Obesity and male infertility: mechanisms and management**. Andrologia, v. 53, n. 1, p. 1-14, 12 maio 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13617>.

LEISEGANG, Kristian. **Life Under Aerobic Conditions. Oxidants, Antioxidants And Impact Of The Oxidative Status In Male Reproduction**, p. 3-8, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-812501-4.00001-8>.

LEITE, Tatiana Henriques. **Análise crítica sobre a evolução das normas éticas para a utilização das técnicas de reprodução assistida no Brasil**. Ciência & Saúde Coletiva, v. 24, n. 3, p.917-928, mar. 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232018243.30522016>.

LIU, Peter Y.; VELDHUIS, Johannes D.. **Hypothalamo-Pituitary Unit, Testis, and Male Accessory Organs**. Yen And Jaffe'S Reproductive Endocrinology, v. 1, n. 1, p. 285-300, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-47912-7.00012-3>.

LONG, S.; KENWORTHY, S.. **Round Cells in Diagnostic Semen Analysis: a guide for laboratories and clinicians.** British Journal Of Biomedical Science, v. 79, 2 fev. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/bjbs.2021.10129>.

LOPES, Vinicius Medina *et al.* **TRATAMENTO REPRODUTIVO PARA CASAIS HOMOAFETIVOS.** Brasília Médica, v. 52, n. 3-4, 2015. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/2236-5117.2015v52n3/4a10>.

MEDICINE, The Johns Hopkins. Elaborada Por: The Johns Hopkins Medicine. **Overview of the Male Anatomy.** 2022. Disponível em: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/wellness-and-prevention/overview-of-the-male-anatomy>. Acesso em: 21 maio 2022.

MISHRA, Priyanka *et al.* **Decline in seminal quality in Indian men over the last 37 years.** Reproductive Biology And Endocrinology, v. 16, n. 1, p. 103-127, 23 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12958-018-0425-z>.

MOUBASHER, Alaa El Din-Abdel Aal *et al.* **Semen parameters on the intracytoplasmic sperm injection day: predictive values and cutoff thresholds of success.** Clinical And Experimental Reproductive Medicine, v. 48, n. 1, p. 61-68, 1 mar. 2021. The Korean Society for Reproductive Medicine. <http://dx.doi.org/10.5653/cerm.2020.03965>.

MURSHIDI, Mujalli Mhailan *et al.* **Male Infertility and Somatic Health.** Urologic Clinics Of North America, v. 47, n. 2, p. 211-217, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2019.12.008>.

MUTHIGI, Akhil *et al.* **Clarifying the relationship between total motile sperm counts and intrauterine insemination pregnancy rates.** Fertility And Sterility, v. 115, n. 6, p. 1454-1460, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.01.014>.

NAUGHTON, C. K. *et al.* **Varicocele and male infertility: part ii.** Human Reproduction Update, v. 7, n. 5, p. 473-481, 1 set. 2001. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/7.5.473>.

NAVARRO, Nádia *et al.* **An adolescent with Kallmann syndrome: a case report.** Residência Pediátrica, v. 9, n. 2, p. 173-175, 2019. Residencia Pediatrica. <http://dx.doi.org/10.25060/residpediatr-2019.v9n2-18>.

OEHNINGER, Sergio; KRUGER, Thinus F.. **Sperm morphology and its disorders in the context of infertility.** F&S Reviews, v. 2, n. 1, p. 75-92, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.xfnr.2020.09.002>.

OKECHUKWU, Chidiebere Emmanuel. **Does the use of mobile phone affect male fertility? A mini-review.** Journal Of Human Reproductive Sciences, v. 13, n. 3, p. 174-193, 2020. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_126_19.

O'NEILL, C L *et al.* **Development of ICSI.** Reproduction, v. 156, n. 1, p. 51-58, jul. 2018. Bioscientifica. <http://dx.doi.org/10.1530/rep-18-0011>

ORLAND, Barbara. The invention of artificial fertilization in the eighteenth and nineteenth century. **History And Philosophy Of The Life Sciences**, v. 39, n. 2, 18 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40656-017-0136-3>.

OWEN, D. H.. **A Review of the Physical and Chemical Properties of Human Semen and the Formulation of a Semen Simulant**. *Journal Of Andrology*, v. 26, n. 4, p. 459-469, 1 jul.2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.2164/jandrol.04104>.

PAN, Michael M. *et al.* **Male Infertility Diagnosis and Treatment in the Era of In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection**. *Medical Clinics Of North America*, v. 102, n. 2, p. 337-347, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2017.10.008>.

PATIL, Priyas *et al.* **Immature germ cells in semen** - correlation with total sperm count and sperm motility. *Journal Of Cytology*, v. 30, n. 3, p. 185, 2013. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0970-9371.117682>.

PAZIR, Yasar *et al.* **Impaired semen parameters in patients with confirmed SARS-CoV-2 infection: a prospective cohort study**. *Andrologia*, v. 53, n. 9, p. 1-6, 15 jul. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.14157>.

PEREIRA, Orildo dos Santos. Sistema reprodutor masculino. In: PEREIRA, Orildo dos Santos. **Espermograma Manual De Bancada E Atlas**. São Paulo: Red Publicações, 2021. p. 1-108.
RAHEEM, Amr Abdel; RALPH, David. Male infertility: causes and investigations. *Trends In Urology & Men'S Health*, v. 2, n. 5, p. 8-11, set. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/tre.216>.

REDLARA, Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. **Brasil lidera ranking de reprodução assistida**. 2021. Disponível em: https://redlara.com/blog_detalhes.asp?USIM5=664#:~:text=Os%20dados%20foram%20divulgados%20em,%2C%20quase%2040%25%20do%20total.. Acesso em: 25 abr. 2022.

RESOLVE, The National Infertility Association. **Male Factor Infertility: Congenital Abnormalities**. 2019. Disponível em: http://familybuilding.resolve.org/site/PageServer?pagename=lrn_jfm_mfca. Acesso em: 04 jun. 2022.

RIBAS-MAYNOU, J. *et al.* **Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: tunel assay, scsa, scd test and alkaline and neutral comet assay**. *Andrology*, v. 1, n. 5, p. 715-722, 11 jul. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00111.x>.

RITCHIE, Cayde; KO, Edmund Y.. **Oxidative stress in the pathophysiology of male infertility**. *Andrologia*, v. 53, n. 1, p. 1-11, 23 abr. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13581>.

SAKKAS, Denny; ALVAREZ, Juan G.. **Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis**. *Fertility And Sterility*, v. 93, n. 4, p. 1027-1036, mar. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.10.046>.

SANTI, Daniele *et al.* **Sperm DNA fragmentation index as a promising predictive tool for male infertility diagnosis and treatment management – meta-analyses**. *Reproductive*

Biomedicine Online, v. 37, n. 3, p. 315-326, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.06.023>.

SBRA, Associação Brasileira de Reprodução Assistida. **Infertilidade**: como enfrentar o diagnóstico e buscar o tratamento adequado. 2019. Disponível em: <https://sbra.com.br/noticias/infertilidade-como-enfrentar-o-diagnostico-e-buscar-o-tratamento-adequado/>. Acesso em: 25 abr. 2022.

SCHUBERT, Benoit *et al.* **Computer-aided sperm analysis**, the new key player in routine sperm assessment. *Andrologia*, v. 51, n. 10, p. 1-1, 2 set. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/and.13417>.

SCHUPPE, Hans-Christian *et al.* **Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility**. *Deutsches Ärzteblatt International*, p. 114-19, 12 maio 2017. Deutscher Arzte-Verlag GmbH. <http://dx.doi.org/10.3238/arztebl.2017.0339>.

SHARMA, Radhey Shyam; SAXENA, Richa; SINGH, Rajeev. **Infertility & assisted reproduction**: A historical & modern scientific perspective. *Indian Journal Of Medical Research*, v. 148, n. 1, p. 10-14, dez. 2018. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_636_18.

SHARMA, Rakesh; MASAKI, Jayson; AGARWAL, Ashok. **Sperm DNA Fragmentation Analysis Using the TUNEL Assay**. *Methods In Molecular Biology*, p. 121-136, 9 ago. 2012. Humana Press. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-038-0_12.

SHARMA, Reecha *et al.* **Cigarette Smoking and Semen Quality**: a new meta-analysis examining the effect of the 2010 world health organization laboratory methods for the examination of human semen. *European Urology*, v. 70, n. 4, p. 635-645, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.04.010>.

SIDDHARTHA, Nagireddy *et al.* **The effect of sperm DNA fragmentation index on the outcome of intrauterine insemination and intracytoplasmic sperm injection**. *Journal Of Human Reproductive Sciences*, v. 12, n. 3, p. 189, 2019. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_22_19.

SILVA, Andreia Filipa *et al.* **The impact of antisperm antibodies on human male reproductive function**: an update. *Reproduction*, v. 162, n. 4, p. 55-71, 1 out. 2021. Bioscientifica. <http://dx.doi.org/10.1530/rep-21-0123>.

SILVA JUNIOR, Lindemberg *et al.* **Reprodução humana assistida**: uma revisão sistemática sobre os métodos utilizados e fatores associados ao sucesso e fracasso da inseminação artificial e fertilidade in vitro/ reprodução humana assistida. *Brazilian Journal Of Development*, v. 7, n. 11, p. 106682-106693, 20 nov. 2021. South Florida Publishing LLC. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv7n11-349>.

SKAKKEBÆK, Niels E. *et al.* **Environmental factors in declining human fertility**. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 18, n. 3, p. 139-157, 15 dez. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41574-021-00598-8>.

SKORACKA, Kinga *et al.* **Diet and Nutritional Factors in Male (In)fertility—Underestimated Factors.** *Journal Of Clinical Medicine*, v. 9, n. 5, 9 maio 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jcm9051400>.

SRIVASTAVA, N.; PANDE, Megha. **Biochemical Assays in Spermatology.** *Protocols In Semen Biology (Comparing Assays)*, p. 109-122, 2017. Springer Singapore. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-10-5200-2_9.

STAROSTA, Anabel *et al.* **Predictive factors for intrauterine insemination outcomes: a review.** *Fertility Research And Practice*, v. 6, n. 1, dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40738-020-00092-1>.

STEPTOE, P.C.; EDWARDS, R.G.. BIRTH AFTER THE REIMPLANTATION OF A HUMAN EMBRYO. *The Lancet*, v. 312, n. 8085, p. 366, ago. 1978. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(78\)92957-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(78)92957-4).

STEVENS, Alan; LOWE, James. **Histologia humana.** 2. ed. São Paulo: Manole, 2002. 408p.

SUÁREZ, Jenniffer Puerta; DUPLESSIS, Stefan S.; MAYA, Walter D. Cardona. **Spermatozoa: a historical perspective.** *International Journal Of Fertility And Sterility*, v. 12, n. 3, p. 182-190, out. 2018. Royan Institute, Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR). <http://dx.doi.org/10.22074/ijfs.2018.5316>.

SUGIHARA, Alessa *et al.* **The role of sperm DNA fragmentation testing in predicting intra-uterine insemination outcome: a systematic review and meta-analysis.** *European Journal Of Obstetrics & Gynecology And Reproductive Biology*, v. 244, p. 8-15, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.10.005>.

VALVERDE, Anthony *et al.* **The application of computer-assisted semen analysis (CASA) technology to optimise semen evaluation.** A review. *Journal Of Animal And Feed Sciences*, v. 29, n. 3, p. 189-198, 30 set. 2020. The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, PAS. <http://dx.doi.org/10.22358/jafs/127691/2020>.

VAN HEERTUM, Kristin; ROSSI, Brooke. **Alcohol and fertility: how much is too much?.** *Fertility Research And Practice*, v. 3, n. 1, p. 1-27, 10 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40738-017-0037-x>.

VAN WELY, Madelon. **Intrauterine Insemination.** *Infertility In Women With Polycystic Ovary Syndrome*, p. 249-257, 2 jun. 2017. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-45534-1_18.

VILLANI, Maria Teresa *et al.* **Are sperm parameters able to predict the success of assisted reproductive technology?** A retrospective analysis of over 22,000 assisted reproductive technology cycles. *Andrology*, v. 10, n. 2, p. 310-321, 12 nov. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/andr.13123>.

VIRTANEN, Helena E. *et al.* **Semen quality in the 21st century.** *Nature Reviews Urology*, v. 14, n. 2, p. 120-130, 4 jan. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2016.261>.

WANG, Christina *et al.* **Evolution of the WHO “Semen” processing manual from the first (1980) to the sixth edition (2021).** *Fertility And Sterility*, v. 117, n. 2, p. 237-245, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.11.037>.

WETTERAUER, U. **Recommended biochemical parameters for routine semen analysis.** *Urological Research*, v. 14, n. 5, p. 241-246, nov. 1986. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00256566>.

WHO, World Health Organization. **Infertility.** 2022. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/infertility#tab=tab_1. Acesso em: 25 abr. 2022.

WHO, World Health Organization. **WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen.** 2010.

WHO, World Health Organization. **WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction.** 1999.

YANG, Hongyi *et al.* **The effect of sperm DNA fragmentation index on assisted reproductive technology outcomes and its relationship with semen parameters and lifestyle.** *Translational Andrology And Urology*, v. 8, n. 4, p. 356-365, ago. 2019. AME Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.21037/tau.2019.06.22>.

ZEQIRAJ, Afrim *et al.* **Male Infertility and Sperm DNA Fragmentation.** *Open Access Macedonian Journal Of Medical Sciences*, v. 6, n. 8, p. 1342-1345, 14 ago. 2018. Scientific Foundation SPIROSKI. <http://dx.doi.org/10.3889/oamjms.2018.311>.

ZHOU, Changqing *et al.* **Reproductive and Developmental Toxicology: personal care products and cosmetics.** Academic Press, p. 857-899, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-804239-7.00045-7>.