

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/04/2020.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS OBESOS E
DIABÉTICOS**

MARCOS GOMIDES CARVALHO

Botucatu - SP

Abril/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS OBESOS E
DIABÉTICOS**

MARCOS GOMIDES CARVALHO

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para o Exame Geral de Defesa do curso de Mestrado em Biotecnologia Animal.

Orientador: Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Botucatu – SP
Abril/2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Carvalho, Marcos Gomides.

Aspectos reprodutivos de ratos obesos e diabéticos /
Marcos Gomides Carvalho. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza
Capes: 50504002

1. Diabetes mellitus. 2. Obesidade. 3. Proteômica. 4.
Reprodução animal.

Palavras-chave: Diabetes; Fisiologia espermática ;
Obesidade; Proteômica; Reprodução .

Nome do autor (a): Marcos Gomides Carvalho

Título: ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS OBESOS E DIABÉTICOS

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Presidente e Orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária- FMVZ- UNESP,
Botucatu/SP.

Profa. Dra. Alessandra Melchert

Membro

Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ - UNESP, Botucatu/SP.

Profa. Dra. Lucilene Delazari dos Santos

Membro

Departamento de Doenças Tropicais – CEVAP - UNESP, Botucatu/SP.

Data da defesa:

25 de abril 2019

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza, pela paciência e competência na minha orientação, por quem tenho grande admiração por ser um exemplo profissional, pessoal, tendo papel fundamental em meu amadurecimento durante esse percurso. Obrigado por ter acreditado na minha capacidade, pelo carinho e amizade. Obrigado por muitas vezes ter soltado minha mão, para poder aprender a solucionar problemas, mesmo falhando algumas vezes, quando na verdade você estava só esperando para entrar em ação.

A Profa. Dra. Cláudia Valéria Seullner Brandão, por ceder o Biotério local da FMVZ UNESP onde foi realizado todo o experimento. Obrigado pela paciência e compreensão por longos 10 meses. A Profa. Dra. Alessandra Melchert por ter contribuído com o delineamento experimental, ajudando a estender o estudo até outros profissionais possibilitando análise de mais materiais melhorando a qualidade do estudo. Também quero agrace-lá por ter disponibilizado todo o material para adaptação correta dos animais ao biotério. Muito obrigado pelo bom humor, pela amizade e pelo crédito atribuído a pesquisa, e por estar presente no momento da coleta ajudando e auxiliando a todos que estavam presentes, graças o seu incentivo acadêmico, montamos uma bela equipe, onde todos nós aprendemos muito.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Fonseca Alves Departamento de Clínica Veterinária- Setor de Patologia Clínica-FMVZ- UNESP, por toda prontidão em escutar e esclarecer minhas dúvidas sempre com muita preocupação, ajudando a melhorar o processamento e análise do material de histologia.

Ao Prof. Dr. João Luiz Amaro e Prof. Dr. Paulo Roberto Kawano do Departamento de Urologia da FMB UNESP por estarem presente no momento da coleta do material, somando aprendizado e por terem possibilitado os imunoensaios realizado pela Maria Regina Moretto Assistente de Suporte Acadêmico FMB-Unesp/Unipex, a todos o meu muito obrigado.

Aos servidores do Biotério Central da Unesp, os quais sempre me atenderam com muito carinho fornecendo os animais dentro dos princípios éticos experimentais. Em especial a Sislaine Aparecida Balestrim Alquati, também bióloga, pelo carinho e amizade, que sempre esteve disposta a ajudar, a quem muitas vezes em momento de sufocos recorri, creio que foi a época que mais tocou seu telefone, muito obrigado por tudo.

A Profa. Dra. Wilma de Grava Kempinas do Departamento de Morfologia, IBB-UNESP por ceder gentilmente os laboratórios para a realização da pesquisa. Em especial sua orientada de doutorado Josiane de Lima Rosa, pelos momentos de desespero e correria juntos terminando em alegria e amizade, obrigado por ter feito do meu experimento o seu, admiro todo seu comprometimento e profissionalismo.

A todos os profissionais e alunos que compõem o Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária- FMVZ- UNESP, Botucatu/SP. Em especial A Profa. Dra. Fernanda Landim, Prof. Dr. Frederico Ozanam Papa e a Profa. Dra Eunice Oba por ceder gentilmente os laboratórios para a realização do projeto e estar sempre dispostos a contribuir. A Dra. Camila Paula Freitas-Dell'Aqua pelo bom humor e entusiasmo com a pesquisa, durante meses de piloto em busca de aprimorar os resultados do experimento, obrigado pela paciência, carinho e pela dedicação. Gostaria de agradecer ao Felipe, Dona

Raquel, Dona Lurdes e Evandro, pelos momentos de descontração, por tornarem os momentos de descansos em total alegria, obrigado por toda o exemplo de humildade e simplicidade, são pessoas indispensáveis e que cuidam e auxiliam para o bom funcionamento do departamento, também sempre dispostos a ajudar.

A todos os colegas do laboratório REPAS e Eletroforese, Otávio, Michele, Laura, por todos os momentos compartilhados de desespero ou alegria, por todas as horas de conversas, pois também é necessário. Obrigado por tornarem a convivência tranquila e harmoniosa fazendo com que me sentisse em “casa”, por contribuírem de forma única e de acordo com suas áreas de apresetizado específicas engrandecendo muito o projeto de pesquisa. E queria desculpar por minha alegria demasiada e euforia, risos.

A Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, por tornar possível a realização do curso de mestrado, e a cada um dos professores que me permitiram participar das aulas e pelos ensinamentos acadêmicos em diferentes institutos.

Ao programa da CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Esse parágrafo gostaria de agradecer em especial a equipe que esteve comigo do início ao fim garantindo que tudo fosse possível, com muitas horas de estudo individual posteriormente sendo somado em um objetivo só. Por abraçarem esse projeto com tanta dedicação e profissionalismo, sinceramente tudo que foi realizado só aconteceu porque tinham vocês, pois sozinho ninguém consegue chegar a lugar nenhum. Em momentos de desespero vocês tornavam tudo mais simples. Esse trabalho é tanto meu quanto de vocês, e não tenho palavras suficientes ou mesmo vocabulário para agradecer o quanto gostaria. Essa parceria foi formada por: Kelly, Cristiane, Viviana, Pablo.

Aos meus amigos Carol Scott, Kelynya meu amor, Kite, Rubia, Laiza princesa, Vivi fartura, Vivi mama, Pablo papa, Lauuuu, Lu, Jaque, Gaibe,IVALDO, Lais xerox, Alice, Dona Cleusa. Também as pessoas que me acompanharam desde a graduação Lais e Suzane. As amizades internacionais temporárias e duradoras, Cristian, Javier, John, Andrés, Santi, Alejo, Diego, Tiago portuga. Amo vocês obrigado por todo apoio emocional e profissional, por toda alegria e lembranças que carrego em meu coração, momentos inesquecíveis que levo para onde for, contem comigo sempre. Nossa vivemos muitas coisas, e cada um sabe a importância que tem. Agradeço e me desculpa todas as pessoas que possa ter esquecido, mas que passaram pela minha vida acrescentando e me tornando uma pessoa melhor. Obrigado por todos os momentos bons e ruins compartilhados. Vocês são minha mais “nova” família. E ao mais recente chegado Juan Pablo, por ter trazido paz e tranquilidade em momentos difíceis.

Aos meus amigos de longe e de infância, pois, “melhor que fazer novas amizades é manter as velhas”, também sempre apoiando e torcendo, Luiza, Soraya, Aline, Jema, Paula, Vanila, Betânia, Gruppi, Tarley, Carol, Joãozinho. Me desculpa se mais uma vez esqueço pessoas importantes. Obrigado por todos os momentos bons e ruins compartilhados, mesmo distantes estiveram sempre presentes. Amo vocês velha família.

A minha família, pais: Ginaldo Inácio e Maria Terezinha, aos meus irmãos: Ricardina, Mariana e Ginaldo Jr. e avó Candida, por sempre acreditarem na minha capacidade e por apoiarem meus sonhos, tanto emocionalmente como financeiramente, foram as pessoas mais importantes para conclusão dessa fase. Amo vocês

inconcionalmente, que nada possa abalar nossa união e fé, obrigado pelos exemplos de simplicidade e humildade, e por me ensinarem que o mais importante é ver o lado positivo das situações e seguir sorrindo e acreditando, semeando esperança e alegria no coração de cada um que cruza nossos caminhos. Essa é a missão da nossa família, afinal “tirando as coisas ruins ficam só as boas” certo paizão. Aos demais familiares que de certa forma apoiaram e ajudaram, que também são muito importantes.

A Deus e Nossa Senhora, a quem nos momentos de total desespero eu recorria, e com um suspiro retirava minha maior força.

A vida dos animais, pois, graças a esses estudos experimentais conseguimos descobrir melhorias importantes para saúde animal e humana.

A todos que ajudaram e apoiaram de alguma maneira para a realização deste trabalho e para meu crescimento profissional e pessoal, muito obrigado!

*" Perfer et obdura;
dolor hic tibi proderit olim"*

Ovid

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Tecido adiposo, leptina e obesidade	3
2.2. Diabetes	5
2.4. Implicações da diabetes e obesidade na proteomica reprodutiva	10
2.5. Citocinas	12
REFERÊNCIAS.....	16
HIPÓTESE.....	25
OBJETIVO GERAL.....	27
ARTIGO 1.....	2

RESUMO

ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS OBESOS E DIABÉTICOS. Botucatu - SP. 2018, p.120. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

A obesidade e o diabetes têm alto índice mundial, ambas ligadas a infertilidade em diferentes espécies e em humanos. Pretende-se investigar os efeitos dessas doenças sobre a capacidade reprodutiva e o perfil proteico de células espermáticas. Foram utilizados 30 ratos *Rattus norvegicus* (Wistar) com ~50 dias de idade, separados em 3 grupos: controle (n=10), diabéticos (n=10) e (obesos (n=10). O grupo obeso recebeu dieta de cafeteria e água *ad libitum* com 5% de sacarose, por 38 semanas. Os animais foram pesados uma vez por semana, para avaliação da evolução do peso para cálculo do índice de Lee. Foi induzida diabetes, com aplicação de 35 mg/kg de estreptozotocina, dose única, e foram considerados diabéticos animais com perda de peso corporal e níveis de glicemia maiores ou iguais a 120 mg/dL. Houve aumento e diminuição do peso corporal nos grupos obesos e diabéticos respectivamente. Os animais diabéticos apresentam aumento significativo no índice glicêmico. Quanto às alterações sistêmicas houve aumento da leptina no grupo obeso e redução da adiponectina nos diabéticos. Na citologia testicular houve aumento na concentração de das linhagens finais da espermatogênese, aumento das células de Sertoli, e na morfologia houve redução de células normais nos grupos diabéticos e obesos. As variáveis foram normalizadas e analisadas pelo ANOVA *one way*, e comparações múltiplas pelo teste Newman-Keuls, os resultados foram apresentados como médias $\pm$ erro padrão (SEM), com $P \leq 0,05$. Na análise proteômica, foram identificadas 15 proteínas como importantes na separação dos grupos, 14 encontravam-se menos expressas no grupo diabético e 7 obeso. Apenas 1 proteína foi mais expressa no grupo diabético e 8 no obeso. A maioria dessas proteínas foram relacionadas com a produção de ATP e função estrutural. Quanto as avaliações das concentrações de IL-8, testosterona, histologia testicular e peroxidação lipídica, não apresentaram diferenças estatísticas. Há poucos trabalhos com proteômica de espermatozoide frente a obesidade e diabetes. Foram relatadas proteínas não identificadas em estudos anteriores. Assim, essas descobertas podem tornar-se marcadores úteis da fertilidade.

Palavra-chave: Obesidade, diabetes, reprodução, citocina, proteômica.

ABSTRACT

GOMIDES, M.C. REPRODUCTIVE ASPECTS OF OBESE AND DIABETIC RATS. Botucatu - SP. 2019, p.120. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Obesity and diabetes have a high worldwide index, both linked to infertility in different species and in humans. It is intended to investigate the effects of these diseases on the reproductive capacity and protein profile of sperm cells. A total of 30 *Rattus norvegicus* (Wistar) rats at ~50 days of age were divided into three groups: control (n = 10), diabetics (n = 10) and obese (n = 10) and water ad libitum with 5% sucrose for 38 weeks. The animals were weighed once a week to evaluate the evolution of the weight for the Lee's index calculation. Diabetes was induced with application of 35 mg / kg streptozotocin, and diabetic animals with a loss of body weight and glycemia levels greater than or equal to 120 mg / dL were observed to be diabetic, with increased and decreased body weight in the obese and diabetic groups, respectively. As for the systemic alterations, there was an increase in leptin in the obese group and reduction of adiponectin in diabetics. In the testicular cytology there was an increase in the concentration of the final spermatogenesis lines, increase of Sertoli cells, and in the morphology there was reduction of normal cells in the diabetic and obese groups. The variances were normalized and analyzed by ANOVA one way, and multiple comparisons by the Newman-Keuls test, the results were presented as means $\pm$ standard error (SEM), with $P \leq 0.05$. In the proteomic analysis, 15 proteins were identified as important in the separation of the groups, 14 were less expressed in the diabetic and 7 obese groups. Only 1 protein was more expressed in the diabetic group and 8 in the obese group. Most of these proteins were related to the production of ATP and structural function. Regarding the concentrations of IL-8, testosterone, testicular histology and lipid peroxidation, there were no statistical differences. There are few works with sperm proteomics against obesity and diabetes. Unidentified proteins have been reported in previous studies. Thus, these findings can become useful markers of fertility.

Key words: Obesity, diabetes, reproduction, cytokine, proteomics.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Atualmente, em humanos estima-se que a infertilidade atinja 10% a 20% dos casais em idade reprodutiva, e em aproximadamente 30% dos casos a infertilidade é causada apenas por fatores masculinos, enquanto que em 20% têm causas masculinas e femininas combinadas. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2010) estima-se que aproximadamente 80 milhões de pessoas ao redor do mundo apresentam o problema, sendo a obesidade, uma das doenças que predispõem a infertilidade no homem.

Segundo a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), a obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal no indivíduo, causada pela predisposição genética, maus hábitos alimentares ou disfunção endócrina. O diagnóstico da obesidade é realizado pelo índice de massa corporal (IMC), parâmetro utilizado pela OMS. A obesidade é caracterizada por ser um importante fator de risco para outras doenças, entre estas hipertensão, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus (PEDERSEN, 2013).

A OMS aponta a obesidade como um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. A projeção é que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso, e mais de 700 milhões obesos, sendo esses índices maiores entre homens. No Brasil, a obesidade vem crescendo a cada dia e segundo a Associação para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO, 2009), alguns levantamentos apontam que mais de 50% da população está acima do peso normal, ou seja, na faixa de sobrepeso e obesidade.

As implicações genéticas na ocorrência de obesidade são raras, sendo originada por diversos fatores, como alterações ambientais e comportamentais (MALIK, HU, 2012; NASCIMENTO et al., 2008). Por esse motivo modelos experimentais poligênicos de obesidade induzida por dietas, são, preferencialmente utilizados, mimetizando a fisiopatologia da doença em humanos e outros animais, levando a melhor compreensão da síndrome metabólica e potenciais tratamentos (BROWN, PANCHAL, 2011; NILSSON et al., 2012).

Em vista da importância da obesidade e das comorbidades associadas, incluindo a síndrome metabólica, sobre a fertilidade masculina, este estudo tem como objetivo identificar os efeitos da doença sobre a capacidade reprodutiva de ratos obesos ou diabéticos e no perfil proteômico.

os parâmetros reprodutivos. É importante, em conjunto com o estudo da reprodução, entender a nível sistêmico, como a síndrome metabólica está ligada a fisiologia e funcionalidade do órgão reprodutor, no intuito de melhor compreendermos o impacto das alterações proteômicas associadas à obesidade e ao diabetes na função espermática.

1. Pedersen SD. Metabolic complications of obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet] 2013;27(2):179–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2013.02.004>
2. Petroianu A, Alberti LR, Antonio M, Melo B De. Relação entre diabetes mellitus e fertilidade masculina. *Einstein* [Internet] 2009;7(31):407–10. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/238738244>
3. Singla P, Bardoloi A, Parkash A. Metabolic effects of obesity: A review. *World J Diabetes* [Internet] 2010;1(3):76–88. Available from: <http://www.wjgnet.com/1948-9358/full/v1/i3/76.htm>
4. Pontes DA, Fernandes GSA, Piffer RC, Gerardin DCC, Pereira OCM, Kempinas WG. Ejaculatory dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: The role of testosterone. *Pharmacol Reports* [Internet] 2011;63(1):130–8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1734-1140\(11\)70407-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1734-1140(11)70407-8)
5. Rato L, Alves MG, Socorro S, Duarte AI, Cavaco JE, Oliveira PF. Metabolic regulation is important for spermatogenesis. *Nat Rev Urol* [Internet] 2012;9(6):330–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2012.77>
6. Kashou AH, du Plessis SS, Agarwal A. The Role of Obesity in ROS Generation and Male Infertility [Internet]. In: Springer Science & Business Media. 2012. p. 670. Available from: <http://ejh.it/index.php/ejh/article/view/ejh.2012.br9>
7. Kraemer RR, Acevedo EO, Synovitz LB, Hebert EP, Gimpel T, Castracane VD. Leptin and steroid hormone responses to exercise in adolescent female runners over a 7-week season. *Eur J Appl Physiol* 2001;86(1):85–91.
8. Dudas B, Merchenthaler I. Three-dimensional representation of the neurotransmitter systems of the human hypothalamus: Inputs of the gonadotrophin hormone-releasing hormone neuronal system. *J Neuroendocrinol* 2006;18(2):79–95.
9. Fernandez CDB, Bellentani FF, Fernandes GSA, Perobelli JE, Favareto APA, Nascimento AF, et al. Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;9(32):1–10.

10. Barbosa KBF, Costa NMB, De Cássia Gonçalves Alfenas R, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr* 2010;23(4):629–43.
11. Karimi J, Goodarzi MT, Tavalani H, Khodadadi I, Amiri I. Relationship between advanced glycation end products and increased lipid peroxidation in semen of diabetic men. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet] 2011;91(1):61–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2010.09.024>
12. Houseknecht KL, Portocarrero CP. Leptin and its receptors: Regulators of whole-body energy homeostasis. *Domest Anim Endocrinol* 1998;15(6):457–75.
13. Ehrhardt RA, Slepatis RM, Bell AW, Boisclair YR. Maternal leptin is elevated during pregnancy in sheep. *Domest Anim Endocrinol* 2001;21(2):85–96.
14. Andreollo NA, Freitas E, Araújo MR, Lopes LR. Artigo de Revisão IDADE DOS RATOS VERSUS IDADE HUMANA: QUAL É A RELAÇÃO? *Arq Bras Cir Dig* 2012;25(1):49–51.
15. SANTOS JH DOS. DIETA DE CAFETERIA E SEU IMPACTO EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS PREDITIVOS DA SÍNDROME METABÓLICA EM MODELO EXPERIMENTAL. 2016;
16. Delfino V, Figueiredo J, Matsuo T, Favero M. Streptozotocin-induced diabetes mellitus : long-term comparison of two drug administration routes. *J Bras Nefrol* 2002;24(1):31–6.
17. SILVA RF DA. Efeitos da estimulação ultra-sônica sobre a espermatogênese de ratos pré-púberes e adultos . Estudo experimental . 2007;110.
18. BERNARDIS LL, PATTERSON BD. CORRELATION BETWEEN “LEE INDEX” AND CARCASS FAT CONTENT IN WEANLING AND ADULT FEMALE RATS WITH HYPOTHALAMIC LESIONS. *J Endocr* 1967;40:527–8.
19. Angéloco LRN, Deminice R, Leme IDA, Lataro RC, Jordão AA. Bioelectrical impedance analysis and anthropometry for the determination of body composition in rats: Effects of high-fat and high-sucrose diets. *Rev Nutr* 2012;25(3):331–9.
20. Malafaia AB, Afonso P, Nassif N, Marcondes P, Ariede BL, Sue KN, et al. OBESITY INDUCTION WITH HIGH FAT SUCROSE IN RATS. *ABCD Arq Bras Cir Dig* 2013;26(Suplemento 1):17–21.
21. Kanazawa MY, Scott C, Wilges CH de M, Dias LGGG, de Souza FF. CORRELAÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL, CITOLOGIA TESTICULAR E PARÂMETROS DO SÊMEN DO EPIDÍDIMO DE TOUROS.

- Enciclopédia Biosf 2012;8(15):517–27.
22. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on toll-like receptors. *Nat Immunol* [Internet] 2010;11(5):373–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ni.1863>
 23. Guasti PN, Freitas-Dell'Aqua CP, Maziero RRD, Hartwig FP, Monteiro GA, Lisboa FP, et al. Validation of flow cytometry for assessment of membrane lipid peroxidation of equine spermatozoa. *Anim Reprod* [Internet] 2012;9(4):929. Available from: papers3://publication/uuid/7ED164B7-6003-4B4F-B939-1B55DD9E6494
 24. Souza FF, Chirinéa VH, Martins MIM, Lopes MD. Osteopontin in seminal plasma and sperm membrane of dogs. *Reprod Domest Anim* 2009;44(SUPPL. 2):283–6.
 25. Xia J, Wishart DS. Using metaboanalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. *Curr Protoc Bioinforma* 2016;14(10):1–14.
 26. Checa A, Bedia C, Jaumot J. Lipidomic data analysis: Tutorial, practical guidelines and applications. *Anal Chim Acta* 2015;885:1–16.
 27. Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim* 2007;41(1):111–9.
 28. Navarro-Casado L, Juncos-Tobarra MA, Cháfer-Rudilla M, Íñiguez De Onzoño L, Blázquez-Cabrera JA, Miralles-García JM. Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. *J Androl* 2010;31(6):584–92.
 29. Holland WL, Brozinick JT, Wang LP, Hawkins ED, Sargent KM, Liu Y, et al. Inhibition of Ceramide Synthesis Ameliorates Glucocorticoid-, Saturated-Fat-, and Obesity-Induced Insulin Resistance. *Cell Metab* 2007;5(3):167–79.
 30. Ferraz ASM, de Moraes RCM, de Sá NAR, Andrade FT, Martins M do CDC e, Ceccatto VM. **Use of murinometrics indices and bioelectrical impedance (BIA) in the determination of experimental obesity in oophorectomized rats.** *Acta Sci Biol Sci* [Internet] 2016;38(4):451. Available from: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/31714>
 31. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006;444(14):860–7.
 32. Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes* 2003;27:S53–5.
 33. Dallak MA. Suppression of High Fat Diet-Induced Liver Cell Injury by Swim

- Exercise Supresión de Lesión en Células de Hígado Inducida por Dieta Alta en Grasas con Ejercicio de Natación. *Int J Morphol* [Internet] 2018;36(1):327–32. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v36n1/0717-9502-ijmorphol-36-01-00327.pdf>
34. Garolla A, Torino M, Miola P, Caretta N, Pizzol D, Menegazzo M, et al. Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function. *Hum Reprod* 2015;30(5):1006–13.
 35. Ding G-L, Liu Y, Liu M-E, Pan J-X, Guo M-X, Sheng J-Z, et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian J Androl* 2015;17(6):948–53.
 36. Griffeth RJ, Carretero J, Burks DJ. Insulin Receptor Substrate 2 Is Required for Testicular Development. *PLoS One* 2013;8(5):1–11.
 37. Aquila S, Gentile M, Middea E, Catalano S, Andò S. Autocrine regulation of insulin secretion in human ejaculated spermatozoa. *Endocrinology* 2005;146(2):552–7.
 38. Dallak MA. Suppression of High Fat Diet-Induced Liver Cell Injury by Swim Exercise Supresión de Lesión en Células de Hígado Inducida por Dieta Alta en Grasas con Ejercicio de Natación. *Int J Morphol* [Internet] 2018;36(1):327–32. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v36n1/0717-9502-ijmorphol-36-01-00327.pdf>
 39. Nery C da S, Pinheiro IL, Muniz G de S, de Vasconcelos DAA, de França SP, do Nascimento E. Murinometric evaluations and feed efficiency in rats from reduced litter during lactation and submitted or not to swimming exercise. *Rev Bras Med do Esporte* 2011;17(1):49–55.
 40. Sinzato YK, Lima PHO, Campos KE de, Kiss ACI, Rudge MVC, Damasceno DC. Neonatally-induced diabetes: lipid profile outcomes and oxidative stress status in adult rats. *Rev Assoc Med Bras* 2009;55(4):384–8.
 41. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008;51(2):216–26.
 42. Manfredi-Lozano M, Roa J, Tena-Sempere M. Connecting metabolism and gonadal function: Novel central neuropeptide pathways involved in the metabolic control of puberty and fertility. *Front Neuroendocrinol* [Internet] 2017;(May):0–1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2017.07.008>

43. Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: The new endocrine organ? a review article. *Dig Dis Sci* 2009;54(9):1847–56.
44. Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc [Internet]* 2001;60(03):329–39. Available from: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0029665101000362
45. Sahu A. Leptin signaling in the hypothalamus: Emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Front Neuroendocrinol* 2003;24(4):225–53.
46. Sindelar DK, Havel PJ, Seeley RJ, Wilkinson CW, Woods SC, Schwartz MW. Low plasma leptin levels contribute to diabetic hyperphagia in rats. *Diabetes* 2000;48(6):1275–80.
47. Wallach EE, Moschos S, Chan JL, Mantzoros CS, Sc D. Goleman What Makes. 2002;77(3).
48. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol [Internet]* 2011;11(2):85–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri2921>
49. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Borone M, Leopold L, Firedman J. positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425–32.
50. Isidori AM, Caprio M, Strollo F, Moretti C, Frajese G, Isidori A, et al. Leptin and androgens in male obesity: Evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(10):3673–80.
51. Jope T, Lammert A, Kratzsch J, Paasch U, Glander HJ. Leptin and leptin receptor in human seminal plasma and in human spermatozoa. *Int J Androl* 2003;26(6):335–41.
52. Hofny ERM, Ali ME, Abdel-Hafez HZ, Kamal EED, Mohamed EE, Abd El-Azeem HG, et al. Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *Fertil Steril [Internet]* 2010;94(2):581–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.03.085>
53. Herder C, Carstensen M, Ouwens DM. Anti-inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes. *Diabetes, Obes Metab* 2013;15(S3):39–50.
54. Xita N, Tsatsoulis A. Adiponectin in Diabetes Mellitus. *Curr Med Chem [Internet]* 2012;19(32):5451–8. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929->

8673&volume=19&issue=32&spage=5451

55. Saraheimo M, Forsblom C, Thorn L, Wadén J, Rosengård-Bärlund M, Heikkilä O, et al. Serum adiponectin and progression of diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* [Internet] 2008;31(6):1165--1169 5p. Available from:
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=c8h&AN=105767289&%5Cnlang=ja&site=ehost-live>
56. Kadowaki T, Kohjiro U, Kazuyuki T. Neonatal and child male circumcision: a global review. *J Clin Invest* [Internet] 2006;116(7):1784–92. Available from:
http://www.who.int/hiv/pub/malecircumcision/neonatal_child_MC_UNAIDS.pdf
57. Jia T, Carrero JJ, Lindholm B, Stenvinkel P. The complex role of adiponectin in chronic kidney disease. *Biochimie* [Internet] 2012;94(10):2150–6. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2012.02.024>
58. Tavridou A, Georgoulidou A, Roumeliotis A, Roumeliotis S, Giannakopoulou E, Papanas N, et al. Association of plasma adiponectin and oxidized low-density lipoprotein with carotid intima-media thickness in diabetic nephropathy. *J Diabetes Res* 2015;2015:1–8.
59. Yilmaz MI, Saglam M, Qureshi AR, Carrero JJ, Caglar K, Eyileten T, et al. Endothelial dysfunction in type-2 diabetics with early diabetic nephropathy is associated with low circulating adiponectin. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(5):1621–7.
60. Bjursell M, Ahnmark A, Bohlooly-Y M, William-Olsson L, Rhedin M, Peng XR, et al. Opposing effects of adiponectin receptors 1 and 2 on energy metabolism. *Diabetes* 2007;56(3):583–93.
61. Kasimanickam VR, Kasimanickam RK, Kastelic JP, Stevenson JS. Associations of adiponectin and fertility estimates in Holstein bulls. *Theriogenology* [Internet] 2013;79(5):766–77. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.12.001>
62. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation , stress , and diabetes. *J Clin Invest* [Internet] 2005;115(5):1111–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1007/s00125-016-3970-](http://dx.doi.org/10.1007/s00125-016-3970-z)
<http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2011.193><http://www.hindawi.com/journals/jdr/2008/230837/><http://advances.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/sciadv.aao1617><http://www.impactjournals.com/oncotarget><http://www.impactjournals.com/oncotarget>

63. Pickup J, Frerking D. Inflammation and Activated Innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(3):813–23.
64. Weisberg S, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel R, Ferrante A. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112(12):1796–808.
65. WAJCHENBERG BL. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue : Endocrine 2000;21(6):697–738.
66. Wu L, Xu B, Fan W, Zhu X, Wang G, Zhang A. Adiponectin protects Leydig cells against proinflammatory cytokines by suppressing the nuclear factor- κ B signaling pathway. *FEBS J* 2013;280(16):3920–7.
67. Yudkin JS, Stehouwer CDA, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: Associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: A potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(4):972–8.
68. Pilatz A, Hudemann C, Wolf J, Halefeld I, Paradowska-Dogan A, Schuppe HC, et al. Metabolic syndrome and the seminal cytokine network in morbidly obese males. *Andrology* 2017;5(1):23–30.
69. Esposito K, Giugliano F, Di Palo C, Giugliano G, Marfella R, D’Andrea F, et al. Effect of Lifestyle Changes on Erectile Dysfunction in Obese Men. *Jama* 2004;291(24):2978–84.
70. GLASS AR, SWERDLOFF RS, BRAY GA, DAHMS WT, ATKINSON RL. Low Serum Testosterone and Sex-Hormone-Binding-Globulin in Massively Obese Men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet] 1977;45(6):1211–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/338622>0Ahttps://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-45-6-1211
71. Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology* 2005;146(9):3686–92.
72. Caprio M, Isidori AM, Carta AR, Moretti C, Dufau ML, Fabbri A. Expression of functional leptin receptors in rodent Leydig cells. *Endocrinology* 1999;140(11):4939–47.
73. Pozza C, Isidori AM. What’s Behind the Obesity Epidemic. *Imaging Bariatric Surg* [Internet] 2018;88(10):1–8. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-49299-5>

74. Mizutani T, Enomoto T, Nomura T, Nishikawa Y, Adachi H, Ikegami H, et al. Identification of Estrogen Tissue and Adipocytes Adipose. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78(8):950–4.
75. Yan SF, Yan S Du, Ramasamy R, Schmidt AM. Tempering the wrath of RAGE: An emerging therapeutic strategy against diabetic complications, neurodegeneration, and inflammation. *Ann Med* 2009;41(6):408–22.
76. Talebi AR, Mangoli E, Nahangi H, Anvari M, Pourentezari M, Halvaei I. Vitamin C attenuates detrimental effects of diabetes mellitus on sperm parameters, chromatin quality and rate of apoptosis in mice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* [Internet] 2014;181:32–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.07.007>
77. Magnusdottir E V., Thorsteinsson T, Thorsteinsdottir S, Heimisdottir M, Olafsdottir K. Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Hum Reprod* 2005;20(1):208–15.
78. Liu Y, Guo Y, Song N, Fan Y, Li K, Teng X, et al. Proteomic pattern changes associated with obesity-induced asthenozoospermia. *Andrology* 2014;3(2):247–59.
79. Hammerstedt H, Hd- G. Transport and Phosphorylation by Bovine Sperm ' inhibited studies ' Supported of Child Health and Human. *Biol Reprod* 1978;19:368–79.
80. Silflow CD. Assembly and Motility of Eukaryotic Cilia and Flagella. Lessons from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol* 2002;127(4):1500–7.
81. Baltz JM, Williams PO, Cone RA. Dense Fibers Protect Mammalian Sperm against Damage. *Biol Reprod* 1990;43:485–91.
82. Liao TT, Xiang Z, Zhu WB, Fan LQ. Proteome analysis of round-headed and normal spermatozoa by 2-D fluorescence difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Asian J Androl* [Internet] 2009;11(6):683–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/aja.2009.59>
83. Olson GE, Winfrey VP, Hill KE, Burk RF. Sequential development of flagellar defects in spermatids and epididymal spermatozoa of selenium-deficient rats. *Reproduction* 2004;127(3):335–42.
84. Pixton KL, Deeks ED, Flesch FM, Moseley FLC, Björndahl L, Ashton PR, et al. Sperm proteome mapping of a patient who experienced failed fertilization at IVF reveals altered expression of at least 20 proteins compared with fertile donors: Case

- report. *Hum Reprod* 2004;19(6):1438–47.
85. Pêknicová J, Kubátová A, Sulimenko V, Dráberová E, Viklický V, Hozák P, et al. Differential Subcellular Distribution of Tubulin Epitopes in Boar Spermatozoa: Recognition of Class III β -Tubulin Epitope in Sperm Tail1. *Biol Reprod* 2005;65(3):672–9.
 86. Lefièvre L, Chen Y, Conner SJ, Scott JL, Publicover SJ, Ford WCL, et al. Human spermatozoa contain multiple targets for protein S-nitrosylation: An alternative mechanism of the modulation of sperm function by nitric oxide? *Proteomics* 2007;7(17):3066–84.
 87. Padrón RS, Dambay A, Suárez R, Más J. Semen analyses in adolescent diabetic patients. *Acta Diabetol Lat* 1984;21(2):115–21.
 88. Kim ST, Moley KH. Paternal effect on embryo quality in diabetic mice is related to poor sperm quality and associated with decreased glucose transporter expression. *Reproduction* 2008;136(3):313–22.
 89. Seethalakshmi L, Menon M, Diamond D. The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *J Urol* [Internet] 1987;138(1):190–4. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)43042-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(17)43042-4)
 90. Bieniek JM, Kashanian JA, Deibert CM, Grober ED, Lo KC, Brannigan RE, et al. Influence of increasing body mass index on semen and reproductive hormonal parameters in a multi-institutional cohort of subfertile men. *Fertil Steril* [Internet] 2016;106(5):1070–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.06.041>
 91. Amaral A, Castillo J, Estanyol JM, Ballescà JL, Ramalho-Santos J, Oliva R. Human Sperm Tail Proteome Suggests New Endogenous Metabolic Pathways. *Mol Cell Proteomics* 2012;12(2):330–42.
 92. Hashemitabar M, Sabbagh S, Orazizadeh M, Ghadiri A, Bahmanzadeh M. A proteomic analysis on human sperm tail: Comparison between normozoospermia and asthenozoospermia. *J Assist Reprod Genet* 2015;32(6):853–63.
 93. Zhang JJ, Do HL, Chandimali N, Lee SB, Mok YS, Kim N, et al. Non-thermal plasma treatment improves chicken sperm motility via the regulation of demethylation levels. *Sci Rep* [Internet] 2018;8(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-26049-5>
 94. Cross RL, Müller V. The evolution of A-, F-, and V-type ATP synthases and

- ATPases: Reversals in function and changes in the H⁺/ATP coupling ratio. *FEBS Lett* 2004;576(1–2):1–4.
95. Walker JE, Powell SJ, Viñas O, Runswick MJ. ATP Synthase from Bovine Mitochondria: Complementary DNA Sequence of the Import Precursor of a Heart Isoform of the α Subunit. *Biochemistry* 1989;28(11):4702–8.
 96. Kota V, Dhople VM, Shivaji S. Tyrosine phosphoproteome of hamster spermatozoa: Role of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 2 in sperm capacitation. *Proteomics* 2009;9(7):1809–26.
 97. Arcelay E, Salicioni AM, Wertheimer E, Visconti PE. Identification of proteins undergoing tyrosine phosphorylation during mouse sperm capacitation. *Int J Dev Biol* 2008;52(5–6):463–72.
 98. Ficarro S, Chertihin O, Westbrook VA, White F, Jayes F, Kalab P, et al. Phosphoproteome Analysis of Capacitated Human Sperm. *J Biol Chem* 2003;278(13):11579–89.
 99. Collins CM, Malacrida B, Burke C, Kiely PA, Dunleavy EM. ATP synthase F1 subunits recruited to centromeres by CENP-A are required for male meiosis. *Nat Commun* [Internet] 2018;9(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-05093-9>
 100. Huang YL, Fu Q, Yang L, Guan JL, Pan H, Chen FM, et al. Differences between high- and low-motility buffalo sperm identified by comparative proteomics. *Reprod Domest Anim* 2015;50(3):443–51.
 101. Jagan Mohanarao G, Atreja SK. Identification of NO induced and capacitation associated tyrosine phosphoproteins in buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa. *Res Vet Sci* [Internet] 2012;93(2):618–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.09.017>
 102. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiol Rev* 2014;94(3):909–50.
 103. Zhou ZH, McCarthy DB, O'Connor CM, Reed LJ, Stoops JK. The remarkable structural and functional organization of the eukaryotic pyruvate dehydrogenase complexes. *Proc Natl Acad Sci* 2002;98(26):14802–7.
 104. Ghanayem BI, Bai R, Kissling GE, Travlos G, Hoffler U. Diet-Induced Obesity in Male Mice Is Associated with Reduced Fertility and Potentiation of Acrylamide-Induced Reproductive Toxicity¹. *Biol Reprod* 2009;82(1):96–104.
 105. Sevostyanova IA, Kulikova K V., Kuravsky ML, Schmalhausen E V., Muronetz

- VI. Sperm-specific glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is expressed in melanoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet] 2012;427(3):649–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.09.115>
106. Welch J, Brown P, O'Brien DA, Magyar P, Bunch D, Mori C, et al. Human glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-2 gene is expressed specifically in spermatogenic cells. *J Androl* [Internet] 2000;21(2):328–338. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10714828%5Cnpapers2://publication/uuid/C1F2FEDA-0871-434C-8E47-CF9D3530377F
 107. Miki K, Qu W, Goulding EH, Willis WD, Bunch DO, Strader LF, et al. a Sperm-Specific Glycolytic Enzyme , Is Required for Sperm Motility and Male Fertility. *Sci York* 2004;101(47):16501–16506.
 108. Fraser LR, Quinn PJ. A glycolytic product is obligatory for initiation of the sperm acrosome reaction and whiplash motility required for fertilization in the mouse. *J Reprod Fertil* [Internet] 1981;61(1):25–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7452624>
 109. Margaryan H, Dorosh A, Capkova J, Manaskova-Postlerova P, Philimonenko A, Hozak P, et al. Characterization and possible function of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-spermatogenic protein GAPDHS in mammalian sperm. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13(1):1–9.
 110. Liu J, Sun CM, Zhang CL, Wang X, Li JY. Location and characterization of GAPDS in male reproduction. *Urol Int* 2013;90(4):449–54.
 111. Takei GL, Miyashiro D, Mukai C, Okuno M. Glycolysis plays an important role in energy transfer from the base to the distal end of the flagellum in mouse sperm. *J Exp Biol* 2014;217(11):1876–86.
 112. Liu Z, Lin H, Ye S, Liu Q -y., Meng Z, Zhang C -m., et al. Remarkably high activities of testicular cytochrome c in destroying reactive oxygen species and in triggering apoptosis. *Proc Natl Acad Sci* 2006;103(24):8965–70.
 113. Angrimani DSR, Losano JDA, Rui BR, Bicudo LC, Andrade AF., Arruda RP, et al. Ferramentas para avaliação da funcionalidade da mitocôndria espermática. *Rev Bras Reprodução Anim* 2015;39(2):277–83.
 114. Ruiz-Pesini E, Diez C, Lapena AC, Perez-Martos A, Montoya J, Alvarez E, et al. Correlation of sperm motility with mitochondrial enzymatic activities. *Clin Chem* 1998;44(8 I):1616–20.

115. Welch E, Klinefelter R, Roberts L. Fertility Protein From a Highly Conserved Gene Breakthrough in Andrology. *J Androl* 1998;19(4):385–93.
116. Wagenfeld A, Gromoll J, Cooper TG. Molecular cloning and expression of rat contraception associated protein 1 (CAP1), a protein putatively involved in fertilization. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;251(2):545–9.
117. Okada M, Matsumoto K, Niki T, Taira T, Iguchi-Ariga SMM, Ariga H. DJ-1, a Target Protein for an Endocrine Disrupter, Participates in the Fertilization in Mice. *Biol Pharm Bull* 2002;25(7):853–6.
118. Klinefelter GR, Welch JE, Perreault SD, Moore HD, Zucker RM, Suarez JD, et al. Localization of the sperm protein SP22 and inhibition of fertility in vivo and in vitro. *J Androl* [Internet] 2002;23(1):48–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11780923>
119. Veeramachaneni DNR, Palmer JS, Klinefelter GR. Chronic exposure to low levels of dibromoacetic acid, a water disinfection by-product, adversely affects reproductive function in male rabbits. *J Androl* 2007;28(4):565–77.
120. Favareto APA, Rodello L, Taconeli CA, Bicudo SD, Klinefelter GR, Kempinas WG. Identification of the SP22 sperm protein in santa inês and dorper rams. *Reprod Domest Anim* 2010;45(2):323–30.
121. Miller LMJ, Woodward E, Campos JR, Troedsson MHT. Expression of sperm protein at 22 kDa (SP22) on equine spermatozoa prior to and following heat-induced testicular degeneration. *Anim Reprod Sci* 2010;121(1–2):148.
122. An CN, Jiang H, Wang Q, Yuan RP, Liu JM, Shi WL, et al. Down-regulation of DJ-1 protein in the ejaculated spermatozoa from Chinese asthenozoospermia patients. *Fertil Steril* [Internet] 2011;96(1):19–23.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.04.048>
123. Danshina P V., Geyer CB, Dai Q, Goulding EH, Willis WD, Kitto GB, et al. Phosphoglycerate Kinase 2 (PGK2) Is Essential for Sperm Function and Male Fertility in Mice1. *Biol Reprod* 2009;82(1):136–45.
124. Huang Z, Danshina P V., Mohr K, Qu W, Goodson SG, O’Connell TM, et al. Sperm function, protein phosphorylation, and metabolism differ in mice lacking successive sperm-specific glycolytic enzymes. *Biol Reprod* 2017;97(4):586–97.
125. Shen S, Wang J, Liang J, He D. Comparative proteomic study between human normal motility sperm and idiopathic asthenozoospermia. *World J Urol* 2013;31(6):1395–401.

126. Liu B, Wang P, Wang Z, Jia Y, Niu X, Wang W, et al. Analysis and difference of voltage-dependent anion channel mRNA in ejaculated spermatozoa from normozoospermic fertile donors and infertile patients with idiopathic asthenozoospermia. *J Assist Reprod Genet* 2010;27(12):719–24.
127. Herrero MB, Mandal A, Digilio LC, Coonrod SA, Maier B, Herr JC. Mouse SLLP1, a sperm lysozyme-like protein involved in sperm-egg binding and fertilization. *Dev Biol* 2005;284(1):126–42.
128. Short B, Preisinger C, Körner R, Kopajtich R, Byron O, Barr FA. A GRASP55-rab2 effector complex linking Golgi structure to membrane traffic. *J Cell Biol* 2001;155(6):877–83.
129. Rahman MS, Lee J-S, Kwon W-S, Pang M-G. Sperm Proteomics: Road to Male Fertility and Contraception. *Int J Endocrinol* 2013;2013:1–11.
130. Pullar JM, Carr AC, Bozonet SM, Rosengrave P, Kettle AJ, Vissers MCM. Elevated seminal plasma myeloperoxidase is associated with a decreased sperm concentration in young men. *Andrology* 2017;5(3):431–8.
131. Alghamdi AS, Foster DN. Seminal DNase Frees Spermatozoa Entangled in Neutrophil Extracellular Traps. *Biol Reprod* 2005;73(6):1174–81.