

La contaminación ambiental y ocupacional por plomo y sus efectos en la salud reproductiva masculina, evidencia de daño al ADN

Contaminação por chumbo ambiental e ocupacional e seus efeitos sobre a saúde reprodutiva masculina, a evidência de dano ao DNA

JAVIER MORÁN MARTÍNEZ

Universidad Autónoma de Coahuila

jvmoran@yahoo.com

RESUMEN

La relación que existe entre los factores ambientales y la salud nos conduce a considerar dentro de la problemática del medio ambiente a aquellos trastornos que provienen de la contaminación del aire, el suelo y el agua, así como los resultados del abuso de drogas, productos químicos y agentes físicos potencialmente dañinos. Se multiplican las amenazas a la salud cuando ciertos agentes habitualmente presentes en el medio ambiente llegan a alcanzar concentraciones superiores a las permisibles por las normas de salubridad internacionales; o bien, se afecta el equilibrio natural cuando el hombre produce masivamente diversos compuestos químicos, derivados del creciente desarrollo de la tecnología, dando lugar a una constante acumulación de contaminantes.

En dicho contexto, la actividad industrial del hombre también produce sustancias cuyas aplicaciones repercuten benéficamente en su calidad de vida, pero, infortunadamente, muchas veces traen consigo gran cantidad de residuos dañinos que ponen en riesgo el medio ambiente.

Palabras Clave: contaminación ambiental, plomo, salud, adn.

Resumo

A relação entre fatores ambientais e de saúde nos leva a considerar a questão dentro do ambiente voltado para essas doenças que vêm de poluição do ar, do solo e da água, bem como os resultados de abuso de drogas, produtos químicos e agentes físicos potencialmente nocivos. As ameaças à saúde multiplicam quando certos agentes normalmente presentes no ambiente alcançam até a concentrações acima permitido pelas normas internacionais de saúde; ou, o equilíbrio natural é afectada quando o homem massivamente produzir vários produtos químicos, derivados crescente desenvolvimento da tecnologia, levando a uma acumulação constante de contaminantes.

Neste contexto, a actividade industrial do homem também produz substâncias cujos pedidos afetam benéficamente sua qualidade de vida, mas, infelizmente, muitas vezes trazem grande quantidade de resíduos nocivos que ameaçam o meio ambiente.

Palavras-chave: poluição ambiental, de chumbo, de saúde, de DNA.

Fecha recepción: Enero 2012

Fecha aceptación: Marzo 2012

Introdução

Os efeitos adversos destes poluentes está danos ao material genético, constituindo risco toxicológico que não foi valorizado o suficiente apesar do seu impacto sobre a saúde dos indivíduos afetados e seus descendentes. O dano induzido por estes agentes pode ser ao nível de células somáticas e / ou germinativas. Quando o efeito mutagénico ocorre em células somáticas produz alterações na informação genética, com o aparecimento de células potencialmente malignas no indivíduo. Alternativamente, se o dano genético ocorre em células germinativas, isto se manifesta em malformações e disfunção fisiológica, alterando a capacidade e / ou qualidade de reprodução das espécies. O mais agressivo ao meio ambiente, de acordo com a Agência de Proteção Ambiental (EPA) e da Comunidade Económica Europeia, são resíduos de metais pesados, aparecendo chumbo (Pb) e seus compostos, no topo nove desta classificação . Outros metais, como o arsênio (As) eo cádmio (Cd) também estão entre os mais agressivos, como zinco (Zn), considerado altamente agressivo em situações especiais (De Blas, 1991). Tem sido observado que os níveis elevados de chumbo, estão associados com perturbações sanguíneas nefrotóxicos, neurotóxicos e efeitos função reprodutiva.

Na região de Laguna, desenvolvimento industrial e agrícola se deteriorou significativamente o meio ambiente da região. A qualidade de vida foi afetada nos aspectos acima referidos, e nosso interesse principal para estabelecer a possível relação entre os poluentes, principalmente Pb, e infertilidade em homens expostos pelas suas actividades para este ambiente.

La Laguna região, localizada no México central e do norte compreende 11 municípios (áreas urbanas, suburbanas e rurais), dividido entre os estados de Durango e Coahuila. Embora esta região se desenvolveu de forma muito significativa nos setores agrícolas e industriais; suas condições orográficas ter diminuído a qualidade de vida de seus habitantes. Os factores associados com a origem destes problemas não foram completamente descritos, e muito menos analisar os processos a nível celular e molecular. Algumas causas de degradação ambiental da

região já são conhecidos; por exemplo, a produção de leite e carne e forragens, que estão entre os maiores do país. Ambos mataram águas subterrâneas na parte inferior da bacia fechada do lago, mesmo contaminando a água potável com arsênio; Além disso, a localização do quarto maior no centro de Torreón, Coahuila, principal produtor de prata do mundo e na América Latina ouro, chumbo e zinco fundição causou uma contaminação impressionante do mundo, que tem sido gravemente acentuadas nos últimos meses pela alta emissão de metais pesados como chumbo no ambiente. Esses fatores têm causado muitos problemas na saúde e qualidade de vida dos habitantes desta região.

Um problema de interesse primário é a capacidade de reprodução humana. O sistema reprodutivo em seres humanos é especificamente vulneráveis aos graves problemas ambientais que afetam o meio ambiente, decorrentes do crescimento e do desenvolvimento dos povos. No entanto, danos reprodutivos muitos em seres humanos são devidos a causas endêmicas de ordem no ambiente, e que geralmente influenciam político e socioeconômico cultural, religiosa.

Para justificar este tipo de trabalho mostra que os indivíduos que tenham sido expostos a metais pesados tais como chumbo, têm danos ao seu ADN, que têm a qualidade do esperma pobre, com um número de anomalias na avaliação da qualidade do sémen ou uma combinação de vários destes. Portanto, é imperativo e uma prioridade para estabelecer pela primeira vez o efeito da associação de Pb com células espermatogênicas que iniciam o processo e os parâmetros de qualidade reprodutiva.

Por outro lado, é urgente fornecer dados que ligam fatores de exposição com dano genético, já que esta região apresenta um alto índice de malformações congênitas e genéticas. A integridade do DNA de esperma é essencial para a transmissão de informação genética precisos e, por conseguinte, para a boa saúde das futuras gerações. Também é importante incluir o ensaio de um cometa spermatobioscopy como parâmetro adicional. O objetivo deste artigo é mostrar os resultados das pesquisas realizadas no Departamento de Biologia Celular e Ultra-estrutura do Centro de Pesquisa Biomédica da Faculdade de Medicina da Universidade Autônoma de Coahuila, Unidade de Torreón, em colaboração com outros danos departamentos relacionados DNA teste do cometa usando células de esperma e qualidade dos espermatozoides de indivíduos expostos ao chumbo.

FUNDO

Espermatogênese. O sistema reprodutor masculino é composto, basicamente, os testículos, ductos (epidídimo e ducto deferente), as glândulas acessórias (vesículas seminais, próstata e glândulas bulbo uretrais) e pênis (Guyton e Hall, 1996). Em células de Leydig dos testículos, que são estimulados pela hormona luteinizante (LH) (segregadas pela pituitária) para a síntese de testosterona (T), eles estão localizados. Células de Sertoli, células que segregam factores de crescimento e fornecer o suporte físico para as células germinativas para desenvolver, em adição, as células de Sertoli são estimulados pela hormona folículo-estimulante (FSH) para sintetizar e fornecer elementos nutricionais também estão localizados que eles são necessários para o desenvolvimento do esperma. Em células germinativas testiculares também estão localizados, que através do processo de clivagem espermatogênese e diferenciam-se em espermatozóides (Guyton e Hall, 1996). Espermatogênese é um processo cíclico que tem uma duração de 74 dias no homem.

Este processo consiste em 3 fases:

Divisões mitóticas de espermatogônias sucessivas para produzir espermatócitos (espermacitogénese).

Meiose de espermatócitos de dar origem a haplóides (meiose) espermátides.

Diferenciação morfológica de espermátides em espermatozóides (spermiogenesis).

Durante spermiogenesis, espermátides arredondadas realizar alterações morfológicas incluem a perda de citoplasma, formação de acrossoma, o crescimento da cauda e desenvolvimento de um núcleo condensado com atividade replicational, transcricional diminuiu e reparação (Guyton e Hall, 1996).

Na fase final de spermiogenesis é realizada a condensação da cromatina, processo esse no qual as protaminas básicos ricos em cisteína e arginina, embalados de ADN do núcleo do esperma (Balhorn, 1982). Substituindo as protaminas histonas somáticas 85-90%, de modo que o esperma maduro permanece histonas mínima (10-15%) (Gatewood et ai, 1987). Cromatina, além de ser condensado, que é estabilizada pela formação de pontes dissulfureto entre os resíduos cisteína das protaminas, quando passa através do esperma no epidídimo (Bedford e Calvin, 1971). Com condensação da cromatina e estabilização da mesma, adquire o potencial de fertilização do esperma (Saowaros e Panyim, 1979; Manfredi et al, 1986). Quando o processo de ejaculação ocorre, os espermatozóides são expulsos do epidídimo e vasos deferentes e imediatamente a próstata e as vesículas seminais excretar os seus conteúdos para contribuir para o volume de fluido seminal (Setchell e Brooks, 1988). O fluido seminal secretada pela próstata é rico em zinco

(Zn), ácido cítrico e ácido fosfatase, enquanto que o fluido que é segregado pelas vesículas seminais e frutose contendo proteínas de elevado peso molecular (MPAP) (Arver, 1982; Bjorndahl et al, 1991). Um aspecto muito importante que o zinco de próstata é incorporada núcleo esperma e mantém reduzida a grupos tiol de protaminas não façam pontes dissulfeto estado; Assim, este ion mantém condensação da cromatina normal (Kvist, 1980^a).

A função testicular. O testículo ou macho gónada é estimulada pela síntese e estimulação de LH e FSH gonotrofinas ter um ritmo de secreção todas as noites, relacionados com o sono inicialmente. Esses hormônios estimulam o testículo para iniciar suas duas funções: ESTEROIDIOGÊNESIS: predomínio na produção de andrógenos, favorecendo o aparecimento de características sexuais secundárias, como o crescimento e desenvolvimento do pênis e testículos, a pigmentação ea aparência de rugosidade na escroto, o crescimento de pêlos pubianos e auxiliar de várias regiões do corpo, incluindo o rosto, iniciar a movimentação de sexo, engrossamento da voz, crescimento da laringe, o desenvolvimento muscular, o início da linha de frente calvície, capacidade de ereção peniana, ejaculação etc, e a contribuição da hormona de crescimento (GH) que estimula a produção hepática principalmente tipo I do factor de crescimento de insulina, esta actuação das placas de crescimento, fazendo com que o pico característico de crescimento na puberdade; a outra função é GERMINAL: multiplicação e maturação das células germinativas começa, conhecido como ciclo de espermatogênese. Durante o evento da ejaculação, que é dependente de testosterona, o sémen é ejectado para ser colocado no tracto genital feminino, de modo que ocorre a fertilização e, assim, conservar as espécies (Ayala, 1995).

Biologia do esperma. A formação de esperma começa na espermatogênese, que é hormonalmente regulamentado; Luteinizante (LH) hormona actua nas células de Leydig e regula a produção de androgénios, hormona folículo-estimulante (FSH) age sobre a célula de Sertoli e o seu papel na espermatogênese (diferenciação dos espermátides) durante o primeiro evento, para manutenção da espermatogênese não é essencial testosterona. (Bujan, 1988).

Maturação do esperma. Espermatozóides de mamífero adquirir a capacidade de fertilizar o ovo e motilidade de passar através do epidídimo, eles experimentam mudanças na forma de vias metabólicas através da ligação à zona pelúcida. Avanços na pesquisa mostraram que a motilidade dos espermatozóides maduros é regulada por íons de cálcio, AMP cíclico, adenosina e pH intracelular e que esses fatores interagem (Ayala, 1995).

LEAD

Distribuição e acumulação. O chumbo não é homogeneamente distribuído no organismo, mas é distribuído em vários compartimentos inter-relacionados: 1) de chumbo no sangue (PBS), que contribui com 1% da carga corporal com uma elevada percentagem de glóbulos vermelhos, representa uma exposição recente uma vez que a vida média de PBS é de apenas 36 dias, 2) ligação em tecidos moles, tais como o rim e sistema nervoso, que é responsável pela maioria dos efeitos tóxicos do chumbo e 3) ligação do osso, que é o principal componente da carga corporal, o que representa 95% dos adultos e 70% em crianças. O chumbo no osso representa a diferença entre a absorção cumulativa de todas as fontes de exposição ao chumbo e a excreção total do mesmo, isto é, representa uma exposição crónica. (ATSDR, 1999). A distribuição de Pb nos órgãos sexuais ainda é desconhecida, mas tem sido observado que o chumbo se acumula em vesículas seminais, na próstata, testículos e epidídimo (Johansson e largo, 198;. Oldereid 1993, Batra et ai, 1998).

Os efeitos tóxicos da exposição ao chumbo. O chumbo é o metal mais ubíqua e é detectável em praticamente todos os ecossistemas e em todos os sistemas biológicos; de acordo com um estudo realizado na América Latina e no Caribe, a exposição ao chumbo ainda é um problema de saúde na região, infelizmente, há muito pouca literatura disponível para avaliar a extensão do problema da exposição ao chumbo em nosso país relacionado ao problema reprodutiva.

A principal preocupação é erradicar a exposição da população infantil a este metal, embora tenha sido reconhecida como um problema de saúde também para os adultos, particularmente na indústria. A exposição ao chumbo na América Latina inclui mineração, fundição e refino, produção e utilização de cerâmica vidrada, reutilização e reciclagem de baterias e em países onde a gasolina com chumbo ainda é utilizada, esta é uma fonte de exposição ambiental.

América Latina (em especial México e Peru) responde por 14% da produção mundial de chumbo. No México existem alguns grandes minas e uma das maiores fundições primárias localizadas no nordeste do país (mais de 100 000 toneladas), além de algumas fundições secundárias (Romieu et al., 1997).

Os efeitos tóxicos do chumbo são observados em quase todos os órgãos e muitos processos bioquímicos, dentre os quais podemos citar o sistema nervoso central e periférico, rim, síntese do heme, cardiovascular, sistema reprodutivo e gástrica (Goyer, 1996). Apesar da falta de estudos

sobre humanos, estudos com animais mostram que alguns compostos de chumbo inorgânicos são potentes carcinogênicos para humanos, especialmente ao rim. Efeitos críticos ou sensíveis ocorrer em populações pediátricas e envolve o sistema nervoso central, enquanto que em adultos com excesso de neuropatias de exposição profissional e / ou doença renal crônica são apresentados, embora o efeito pode ser mais crítico hipertensão. As primeiras alterações bioquímicas foram demonstradas no sistema hematopoiético.

Chumbo inibe enzimas da via biossintética do heme, a desidratase de ácido delta-aminolevulínico (ALAD) e ferroquelatase; os efeitos na síntese do heme fornecer indicadores bioquímicos da exposição ao chumbo na ausência de efeitos detectáveis. A biodisponibilidade e actividade tóxica parecem conduzir regulada pela sua interacção com proteínas com afinidade elevada para a mesma, ambos ricos em grupo de hidrogénio, tais como grupo carboxilo (Goering, 1993).

A actividade de muitas enzimas incluindo enzimas rota biossintética do heme (Quintanilla-Vega et al., 1995), constituindo como proteínas nucleares de protaminas esperma (Quintanilla-Vega et al., 1999a) e enzimas calmodulina-dependente (Goering, 1993), são inibidos por afinidade de ligação para os grupos sulfidriolo e carboxilo dos resíduos de cisteína e ácido aspártico e glutâmico, respectivamente. A afinidade da proteína também parece levar a determinar a susceptibilidade por exposição. Pode mencionar a proteína de eritrócitos descrita participar no "protecção" para levar a toxicidade (Raghavan et al, 1980;.. Calderon-Salinas et al, 1991), o ALAD (Wetmur et al enzima. 1998) e as proteínas do cérebro (Quintanilla-Vega et al., 1995b) e do rim (Smith et al., 1998) que podem desempenhar um papel na susceptibilidade individual para levar. O chumbo é o principal contaminante no próximo relacionadas com as indústrias de refino e fundição nas mesmas áreas, mas outros metais também estão presentes como contaminantes, incluindo o cádmio, arsênico e zinco.

Efeitos tóxicos sobre a reprodução masculina pela exposição ao chumbo. O sistema reprodutor masculino é muito vulnerável a riscos físicos e químicos, mas o papel específico de fatores ambientais e ocupacionais na etiologia da infertilidade masculina não está bem estabelecida. A associação entre exposição ocupacional ao chumbo e falhas reprodutivas foi a primeira observação associada efeitos reprodutivos adversos de exposições ocupacionais (Lancranjan et al., 1975). No entanto, não foi até o início dos anos noventa que paterna potencial exposição no desenvolvimento da progênie recebeu atenção. O chumbo é conhecida para alterar tanto do sexo masculino e função reprodutora feminina, embora os mecanismos não são completamente claros. Os efeitos do chumbo sobre a reprodução e desenvolvimento são dependentes de sexo e parecem envolver múltiplos locais do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, causando níveis alterados de

hormônios (Sokol, 1987) e alterações nas características e funções dos espermatozoides, mesmo uma concentração de chumbo no sangue abaixo do limite aceito para ambientes de trabalho (Lerda, 1992, Hernández-Ochoa et al., 2001, Morán-Martínez et al., 2004; Hernández-Ochoa et al., 2005).

Tabela 1. Os estudos mostram a associação de chumbo e seus efeitos na qualidade do esperma

Estudio	Resultado	Referencia
Trabajadores de fábrica de baterías, técnicos, oficinistas (23 vs 74µg/dl)	↓ motilidad ↓ concentración	Lancranjan <i>et al.</i> , 1975
Trabajadores de fábrica de baterías (23 vs 49 µg/dl)	↓ volumen y motilidad ↓ concentración	Lerda <i>et al.</i> , 1992
Trabajadores de fábrica de baterías (22vs79 µg/dl)	↓ concentración de espermatozoides sin daño endócrino	Assenato <i>et al.</i> , 1987
Trabajadores industriales (10-37 µg/dl)	↓ motilidad, viabilidad y concentración sin daño endócrino	Telisman <i>et al.</i> , 2000
Trabajadores de una fundidora de Pb (17 vs 73µg/dl)	↓ Testosterona ↑ LH	Rodamilans <i>et al.</i> , 1988
No específica (17-77µg/dl)	↓ LH ↑ FSH	McGregor <i>et al.</i> , 1990
Trabajadores de una fábrica de baterías (9.6-77µg/dl)	↑ LH-FSH ↓ Testosterona/ años de ocupación	Ng <i>et al.</i> , 1991
Trabajadores de fábrica de baterías	↓ motilidad	Viskum S. et al 1999
Trabajadores de una fundidora de Pb (15-40 µg/dl)	↓ Motilidad ↓ Concentración total	Alexandre BH et al 1996

Embora os efeitos prejudiciais de chumbo sobre a reprodução macho já são conhecidos há décadas (Winder, 1993), os seus mecanismos de acção permanecem contraditórias. Enquanto alguns estudos sugerem um efeito direto sobre os testículos, causando uma diminuição e prejudicou a produção de espermatozoides, motilidade e morfologia (Assenato et al, 1987;. El-Zohairy et al, 1996;. Lerda, 1992), outros estudos mostram evidências de efeitos sobre a área central no eixo hipotálamo-hipófise, causando uma doença hormonal (Gustafson et al., 1989). Há também controvérsia em estudos com animais para avaliar os efeitos adversos de chumbo. Enquanto os parâmetros de rotina para avaliar a qualidade do sêmen (concentração, motilidade e alterações morfológicas) são afetadas na maioria dos casos, alguns autores apresentam resultados apóiam a hipótese de que liderar tem efeitos tóxicos no eixo hipotálamo -pituitaria (Sokol, 1987). Embora não haja uma associação consistente entre a incidência de abortos espontâneos e

exposição paterna a vantagem tem sido demonstrado em alguns estudos, um risco aumentado de abortos quando o progenitor é exposto antes da concepção (Lindbohom et al., 1991). Embora seja claro no envolvimento dos pais os problemas de reprodução nos animais resultados mostram claramente uma diminuição na capacidade dos espermatozoides tratados com chumbo para fertilizar o óvulo (Sokol et al., 1994) e / ou perda de implantação o óvulo fertilizado (Wide L. Johansson, 1986).

Danos genéticos. Os estudos publicados indicam que a exposição aos xenobióticos podem causar mudanças no comportamento sexual e contribuir para a incidência de infertilidade, infertilidade, nados-mortos, retardo do crescimento fetal, dano fetal intra-uterina, defeitos de nascimento e de ovário ou insuficiência testicular. A extensão em que a atmosfera afecta adversamente a saúde reprodutiva humana (;. Giorlandino et al, 1998 Jacobs, 1992) é conhecido. Nos últimos anos, uma grande atenção tem sido focada sobre o potencial de uma ampla variedade de xenobióticos para interagir e alterar a homeostase genética (Lahdetie et al., 1999). Além disso, na fase final da espermatogénese tem lugar a condensação da cromatina, processo esse no qual as proteínas de arginina e ricas em cisteína básicos embalados de ADN do núcleo do esperma (Balhorn, 1982), substituindo o somática em 85-90%, deixando uma quantidade mínima de histonas (10-15%) (Gatewood et al., 1987). Com a condensação da cromatina e a estabilização das mesmas pela formação de pontes dissulfureto entre os resíduos cisteína das protaminas, potencial de fertilização do esperma adquirida durante a passagem através do epidídimo (Saowaros e Panyim, 1979; Manfredi et al., 1986). Por outro lado, no processo de ejaculação, o esperma é expelido a partir do epidídimo e vasos deferentes; e da próstata e das vesículas seminais secretam os seus conteúdos contribuir para o volume de fluido seminal (Stachell e Brooks, 1988). A próstata é líquido rico em zinco, que está incorporado dentro do núcleo do esperma, reduzindo os grupos tiol dos resíduos de cisteína dos protaminas não formam pontes dissulfureto e, por conseguinte, mantém a condensação da cromatina normal (Kvist, 1980^a). Portanto, a quantidade de Zn ligado a estas protaminas é considerado como o índice da capacidade quelante do líquido seminal e, como uma medida da biodisponibilidade do Zn livre que pode ser incorporada esperma (Bjorndahl et al, 1991).

Danos no ADN de esperma. Cada vez mais, a integridade do ADN de esperma é reconhecida como uma medida independente da sua qualidade. A integridade do DNA do esperma é vital para iniciar e manter uma gravidez a termo in vivo e in vitro. Análise do sêmen de rotina não identificar

defeitos na arquitetura da cromatina de espermatozoides. A avaliação da integridade do ADN no esperma, além do estudo sistemático dos parâmetros seminais, poderia fornecer informações adicionais sobre a qualidade do esperma. Isso pode aliviar os problemas sociais e emocionais associados com tentativas falhadas de técnicas de reprodução assistida. A infertilidade afeta 15-20% dos casais, e em cerca de metade dos casos, é de origem masculina. O espermograma em que a concentração, pH, volume, motilidade e morfologia espermática normal são medidos, e continua a ser o teste clínico mais importante para prever a infertilidade, não revelou defeitos espermáticos que afetam a integridade do genoma masculino. Muitas provas indicam uma correlação negativa entre as alterações em ambos in vivo e in vitro organização do material de ADN genómico e potencial de fertilização do esperma. Isto sublinha o facto de que a estabilidade do ADN, que seja capaz de descondensar-se no ponto certo, no processo de fertilização, é um dos critérios que devem ser levados em conta, quando se considera um esperma é fértil ou não. (Lopes S, et al, 1998;. Aitken R, Krausz C, 2001). Os pacientes podem ter seminal normal e permanecer estéril, uma vez que a fonte de infertilidade pode ser devido à presença de um ADN de esperma anormal, este factor não é medida sistematicamente. Integridade do DNA em esperma pode ser considerada como um parâmetro indicativo e independente da sua qualidade. (Sun JG et al., 1997).

2.3.2 O que é o DNA de esperma normal? ADN de esperma é organizado de modo a manter a cromatina compacta estável. Esta organização do ADN não só permite que o material genético é muito bem embalados para serem transferidos para os ovos, mas também assegura que o DNA é entregue em tal aptidão química e contribuindo para o desenvolvimento do embrião pela informação genética mais acessível. O esperma fértil tem um ADN estável, que é capaz, no momento apropriado descondensar-se o processo de fertilização e transmitir o ADN impecável. (WS Ward et al., 1991).

Origem de danos no ADN do esperma. A origem das lesões no DNA de esperma pode ser devido a várias causas, tais como a presença de uma doença, o uso de drogas, febre elevada, a temperatura elevada, testicular, poluição do ar, fumo, Varicoceles, os factores hormonais, ou idosos. Os mecanismos moleculares envolvidos nestas lesões ainda está sob intensa investigação. Os principais mecanismos considerados são: espermatozoides anormais embalagem DNA durante a espermatogênese. (Carrell DT L. e Liu, 2001) (C. Cho et al., 2003)

Embalagem anormal de ADN de esperma. Isto pode resultar em defeitos de embalagem anormais na conformação da cromatina e fragmentação de ADN no esperma. Para a embalagem da cromatina espermática ocorre, a actividade de nucleases endógenas que cortam o ADN e Liguén

durante protaminación é necessário (Sakkas D., et al., 1999). Estes cortes fornecer uma liberação de tensão de torção que ajuda a embalagem cromatina durante a mudança de histonas por protaminas. Anormalidades no controle desse processo poderia resultar em lacunas DNA não reparada. Estas mudanças ocorrem antes spermiation.

Fragmentação de ADN no esperma. Entre todos os parâmetros que são avaliados para determinação da qualidade do esperma, há um que tem atraído um interesse considerável em anos recentes: a fragmentação da molécula de ADN nas gâmetas masculinos (FAG). Este parâmetro tem um interesse significativo uma vez que a transferência de todo o ADN intacto molécula do esperma ao óvulo, que é essencial para obter a gestação de um indivíduo normal. As células de organismos eucarióticos têm no seu núcleo de uma molécula de ADN de comprimento, em que toda a informação necessária para o desenvolvimento do indivíduo é recolhido. Qualquer erro na sua estrutura, por exemplo, a perda de continuidade nas presentes quebras de ADN, irá conduzir a problemas difíceis. No seu estado natural, esta molécula de ADN longa é quebrado porque, no núcleo de cada célula, a informação genética é compartimentada em elementos discretos é conhecido como cromossomas. Portanto, o DNA nuclear tem um número equivalente ao dobro das rupturas dos filamentos, ou descontinuidades "quebra biologicamente correto". As extremidades de quebra são selados por estruturas de DNA e proteínas que atendam missão específica para capacitar cada cromossomo, os telômeros. Isto é, um núcleo diplóide, onde o DNA foi replicada para gerar duas novas células, em seguida, deve mostrar $4Xn$ "quebra biologicamente corretos", onde n = número de cromossomos da espécie em questão. Um exemplo, no caso dos seres humanos, onde cada núcleo tem 46 cromossomos, se estes são replicadas 184 existe "breaks biologicamente corretos" ou telômeros 184 por célula. Somente uma ruptura de fita dupla extra, não estabilizada por mecanismos de reparo do DNA cromossômico em qualquer lugar, pode envolver problemas para a célula de apresentá-lo. Em outras palavras, as quebras de cadeias duplas que ocorrem e persistem no DNA são fortes determinantes da estabilidade do cromossoma em divisões celulares subsequentes e, se estes estão presentes no esperma, podem ser transmitidos no momento da fertilização. (Gonsalvez J. et al., 2007)

Avaliação de alterações genéticas. A este respeito, algumas estratégias para a medição da exposição de metal e dano genético para as células do esperma, são por avaliar o aparecimento de problemas de esperma descondensação da cromatina e a percentagem de teratospermia nas amostras de estudo. A condensação da cromatina durante a espermatogênese é dada ao

resultado das características morfológicas da cabeça do espermatozóide e isto sugere que o esperma morfologia nuclear é também um indicador ou associado com a organização da cromatina, parece estreitamente ligada à fertilidade (Ward e Coffey, 1999). A susceptibilidade de esperma de indução de desnaturação de DNA nuclear tóxico ou ácido está inversamente relacionada com a integridade estrutural da cromatina (Evenson et al., 1980).

FUNDO REGIONAL. Estudos preliminares pelo grupo da Universidade Autônoma de Coahuila (Moran Martinez. 1998) em indivíduos que residem nas imediações da área metalúrgica de Torreón, Coahuila, descobriu que essas pessoas têm níveis de chumbo superiores no líquido seminal e menor porcentagem de motilidade e viabilidade do esperma em um grupo de controle. Do mesmo modo, os níveis de zinco no líquido seminal eram significativamente mais elevadas, o que sugere que um aumento na concentração de zinco no sémen também podem alterar a sua qualidade (Moran Martinez et ai, 1999a ;. Moran Martinez et ai. 1999b). Por outro lado, no estudo piloto em áreas com hidroarsenicismo regionais endêmica na região de Laguna, descrito por Martinez Moran et al., (1999, 1993), verificou-se que as concentrações de arsênio na urina foram significativamente mais elevados quando comparados com grupo controle. Os sujeitos deste grupo exposto ao arsênio foram de qualidade pobre em concentração, motilidade e viabilidade do esperma (Moran Martinez et al., 1993). Também medindo cerca de enzimas como a fosfatase ácida no líquido seminal desses assuntos foi significativamente modificados no grupo exposto quando comparado com o grupo controle (Moran Martinez et al., 1999). Existem outros fatores importantes estudo ou análise em nossa região, que contribuem significativamente para a deterioração da saúde reprodutiva, tais como: a) a gravidez em adolescentes (10-23 anos de idade), b) as doenças sexualmente transmissíveis, c) prevalência de doenças congênitas. No México, 2,4 de cada 100 nascimentos estão associados com malformações congênitas. No estado de Coahuila é superior à média nacional, com 3,4 a 100. As malformações mais comuns são os defeitos do tubo neural, d) alta incidência de malformações geniturinário e) infertilidade (Leke et al., 1993). Isso é indicativo da necessidade de desenvolver uma estratégia de estudo abrangente para fornecer soluções e orientações de prevenção para os problemas apresentados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

Um primeiro grupo de estudo (GNE), não foi exposto ao chumbo. Para isso, foi realizado um estudo epidemiológico transversal onde os participantes eram aqueles indivíduos que vivem nas três principais cidades de Laguna Região (em Torreon Coahuila, Gomez Palacio e Lerdo no Estado de Durango). Os indivíduos incluídos eram moradores das colônias que são consideradas áreas de exposição baixas, de acordo com a sua localização em favor ou contra os ventos predominantes na região. Para determinar o número de amostras a estudar os resultados do estudo preliminar na mesma região por Moran-Martinez et al foram tidas em conta., Em 1998, em que 21 indivíduos de exposição elevada e baixa exposição parte 27 com a motilidade espermática 49% e 67%, respectivamente. De acordo com a diferença média encontrada neste parâmetro de qualidade de sêmen, o número de amostra calculado foi de 76 indivíduos, dos quais tomaram 15 amostras de congelados para a determinação do dano ao DNA no esperma. A escolha de participantes para este primeiro grupo foi por convite, fazendo visitas domiciliares em colônias selecionadas. Dentro da inclusão critérios foram considerados: a concessão de consentimento livre e esclarecido para participar do estudo consentimento, um mínimo de 2 anos de residência no local, negando hábitos de fumar ou beber álcool e não ter atividades em áreas de potencial exposição outros poluentes, como a agricultura ou indústrias de cimento ou cromadoras.

Um segundo grupo de estudo (GE), foi formada pelos trabalhadores da Peñoles planta metalúrgica; Considerando que existem disposições para evitar a participação em qualquer estudo pelo empregador aos trabalhadores da planta, o número de machos foi sujeito ao trabalho de persuasão e destacando a importância dos resultados obtidos com a participação de trabalhadores na investigação. Os trabalhadores foram convidados pessoalmente por visitas domiciliares; Eles devem ter pelo menos 2 anos de trabalho dentro da planta, a autorização por escrito e negando hábitos de fumar ou beber álcool. O número de amostra calculado foi de 67, dos quais 22 foram levados para determinar o dano ao DNA.

De amostragem e armazenamento de amostras biológicas. Cada participante individual fornecida uma amostra de sangue e uma amostra de sêmen dentro de um período de tempo não superior a uma semana. As amostras de sangue, tiradas por punção venosa (aproximadamente 5 mL) e a obtenção de soro foram armazenadas a 20C até ser usado para a determinação de metais pesados. Amostras de sêmen obtidas por masturbação (com 3 a 7 dias de abstinência sexual ou não ejaculação) e mantida a 37 ° C para análise. Subsequentemente, 1 milhão de células de cada amostra foi feita por centrifugação fluido seminal foi separada a partir de células e armazenadas a

-70 até a sua utilização para a determinação de metais pesados nestes dois compartimentos, a amostra restante foi armazenado a -70 ° C.

O espermograma. Foi realizada na primeira hora após a ejaculação seguindo as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS, 1992), avaliando vários parâmetros, incluindo liquefação, consistência (viscosidade), o volume ejaculado, pH, concentração espermática, motilidade, morfologia espermática e viabilidade.

Liquefação. Primeiro determinar liquefacção, a aspiração da amostra com uma pipeta de Pasteur, observando-se o comprimento do filamento. Em sémen normais amostra entra em pequenas gotículas, no caso de uma liquefacção retardada (em 20 min.), A queda de uma forma de filamento maior do que 2 cm de comprimento ou permanece coagulado.

Volume e Ph. Quando a amostra completamente seca, o volume é medido em tubos de 15 ml Falcon. O pH é medido com uma tira de teste de pH.

Concentração. A concentração de espermatozóides foi determinada pelo método hematocytometer. Uma diluição de 1:20 é preparado por mistura de 50 uL de esperma com 950 ml de uma solução de NaHCO₃ a 5% em 35% de formaldeído. Para amostras que contêm menos do que 20 x 10⁶ espermatozóides / mL, uma diluição de 1:10 foi utilizado, enquanto que para as amostras que contêm mais do que 100 X 10⁶ espermatozóides / mL, uma diluição de 1:50 foi usada. Em cada lado do hemacitómetro (Neubauer 0,1 mm, Hausser Scientific, Gaithersburg, MD, EUA) foram colocados 10 ml da mistura previamente homogeneizado foi deixada em repouso durante 7 min para assegurar a sedimentação do esperma e, em seguida, foi realizada contagem de células por microscopia de contraste de fase (modelo Olympus BX40 microscópio). Concentração dos espermatozóides foi realizada em duplicado com coeficiente de variação (CV) <7%.

Motilidade. Ele é avaliado por um analisador de motilidade (Motion Analysis Corporation, Pista celular Mod. VP 110, Sta. Rosa, CA, EUA) equipe. A amostra é colocada sob um microscópio (Olympus BH-2, contraste de fase, Japão) ligado ao computador e a imagem irá ser detectado pelo analisador de imagem. Eles serão avaliadas 5-10 campos para fazer a leitura final. A determinação foi realizada no Departamento de Biologia Celular e ultra-estrutura do Centro de Pesquisa Biomédica da Faculdade de Medicina da Universidade Autônoma de Coahuila.

Viabilidade. por exclusão método Eosina e 0,5% em solução fisiológica, que se baseia nas células mortas cujas membranas de plasma são danificados permitir a entrada do corante é avaliada fresco. 100 espermatozóides foram avaliadas por microscopia de luz e espermatozóides vivos (uncolored) dos mortos (colorido), dividiram-se.

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO

Determinação do Pb no sangue. Determinando sangue Pb voltammetry foi realizada utilizando um ânodo coulometer (Anodic Stripping Voltammetry, Mod. B 3010, ESA Inc. Chelmsford, MA, EUA).

Determinação de Pb em fluido seminal. A avaliação quantitativa das concentrações de Pb em fluido seminal foi realizada em um espectrofotômetro de absorção atômica Pequim-Elmer 5100 (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, EUA) equipado com forno de grafite (HGA-600), a correção de fundo de Zeeman (Perkin-Elmer 5100), uma lâmpada oco (Perkin-Elmer, Mod. Lumina) cátodo e um amostrador automático (Perkin-Elmer AS-60).

Avaliação de danos (teste do cometa)

Preparação de lamelas. Prepare agarose ponto de fusão normal a 5%, somando-se o slide 175 ul de agarose de ponto de fusão normal, por lâmina, e cubri-lo imediatamente com o dedo e deixe secar.

Fix células. Adicionar 75 ul por slide LMP agarose num tubo Eppendorf com uma amostra de células, (sêmen) 100.000 células, mistura e coloque as lâminas previamente já regulam agarose a 5%, e aplicar uma lamela de arrefecimento para 5 min., Remover cuidadosamente lamela e imergindo a folha em solução de lise a 4 ° C.

Celular.2.5 lise MNaCl, 100 mM de EDTA dissódico, 10 mM de base Tris, 8% de DMSO, Triton X-100 a 0,8%) a 4 ° C, pelo menos, 2 horas. Os passos seguintes são realizados sob luz amarela: Retire cuidadosamente a folha a partir da solução de lise

Eletroforese. Colocá-lo numa câmara de electroforese horizontal, a 4 ° C, cobrindo o diapositivo com NaOH 300 mM de tampão de electroforese de EDTA 1 mM (pH 10) e deixar durante 20 minutos em desenrolamento (desenrolamento). Após 20 minutos ligar a câmara de electroforese com 23 miliampères 300 volts durante 20 minutos. Uma vez que a fonte de alimentação, retire cuidadosamente as lâminas da câmara de eletroforese.

A neutralização. Escorra o excesso de tampão de electroforese papel alumínio e coloque as lâminas em um buffer de neutralização Koplín com 0,4 M Tris pH 7,5, deixe por 5 minutos, escorra e mergulhar o slide no Koplín com álcool absoluto por 5 minutos, retire cuidadosamente e deixar seco.

Subsequentemente, a coloração com brometo de etídio e observadas ao microscópio de fluorescência.

RESULTADOS**Grupo não exposto (GNE)**

Características da população do estudo. As características gerais da população estudada são apresentados na Tabela 1. gamas de massa corporal estabelecidos pela Perez de Gallo e Marvan Laborde (1996) (perda: <20 normais: 20-25 sobrepeso e> 25), indicou que 76,5% da população estava com sobrepeso. Quanto aos hábitos de fumo, drogas e álcool, 72% eram fumantes e 28% para não-fumantes e apenas 65% dos fumantes manteve o hábito no momento da entrevista; 91% consumiam bebidas alcoólicas, principalmente cerveja. Finalmente, para determinar o consumo de cafeína foi assumido que uma parte do refrigerante ou café que contém a mesma quantidade de cafeína.

Tabela 2. Características gerais GNE

Característica	Sujetos estudiados
Edad (años) ^a	34 ± 8 (21-54)
Peso (kg) ^a	81.6 ± 16.7 (52-125)
Talla (m) ^a	1.71 ± 0.062 (1.55-1.93)
Índice de Quetelet ^a	27.8 ± 5.4 (17.6-57.4)
Emaciación (%)	2.9
Normal (%)	20.6
Sobrepeso (%)	76.5
Fumadores (%)	72.0
Fumadores actuales (%)	65.3
Consumidores de bebidas alcohólicas (%)	91.2
Consumidores de drogas (%)	5.9
Consumo de cafeína ^b	2.07 ± 1.98 (0 - 12)

^a Media aritmética ± desviación estándar. ^b Indica promedio de consumo por día de una porción de bebidas de refresco de cola y/o refresco de sabor y/o refresco dietético y/o de café. Los rangos se muestran entre paréntesis. n=15.

A qualidade do sêmen. A Tabela 2 mostra os parâmetros da qualidade do sêmen é. Ao comparar as médias de cada parâmetro de qualidade do sêmen com aqueles estabelecidos pela OMS (1992) mostra que estão dentro do normal; No entanto, uma parte da população teve alguns parâmetros tais como a motilidade alterada com a maior percentagem de indivíduos com anormalidades (44%), seguido pela morfologia (35%), o pH foi a menos afectada (1%).

Tabela 3. parâmetros de qualidade do sêmen em indivíduos GNE

Parâmetro	Media ± DE	Rango	% Anormalidad ^a
Motilidad (%)	51.8 ± 21.3	4-87	44
Viscosidad*	-	-	35
Morfología (%)	62.6 ± 17	13-87	32
Volumen (mL)	2.7 ± 1.3	0.7-6.4	21
Viabilidad (%)	67.4 ± 16.5	17-94	12
Concentración (X10 ⁶ células/mL)	104.6 ± 78.5	10-360	11
PH	8.2 ± 0.3	7.5-9	1

^a Muestra el porcentaje de la población que presentó parámetros de calidad de semen por debajo de lo normal. Valores normales de acuerdo a la OMS (1992): Motilidad > 50 % móviles; morfología > 50% formas normales; volumen > 1.5 mL; viabilidad > 50 % vivos; concentración de espermatozoides > 20 x 10⁶ células/mL; pH 7.2-8.5. * Este parámetro no presenta valor de medias y rango por la forma en la cual se evalúa.

Avaliação da exposição ao Pb. Os níveis médios PBS foi 9,21 ± 3,22 mg / dl com uma gama de 1,9-24,4 mg / dl. A média foi de dentro do limite permitido (10 ug / dl) de acordo com o CDC (1991); no entanto, uma vasta gama de concentrações, onde 40% dos sujeitos apresentaram concentrações de PbS > 10 mg / dL, foi observada.

Associação entre os níveis de PBS e indicadores de impacto. Para analisar as associações entre indicadores de exposição (variáveis independentes) e efeito (variáveis dependentes), a análise bivariada ou regressão linear simples. Níveis de PbS não foram significativamente associados com os parâmetros de qualidade do sêmen, como mostrado na Tabela 3. Da mesma forma, não houve correlação entre a concentração de PBS (9,21 mg / dL) e Pb encontradas no fluido seminal (4,13 µgPb / dL), p > 0,05; r = 0,2148.

Tabela 4. Análise bivariada entre a qualidade do sêmen e PBS no GNE

Parámetro	β	P	r^2
Motilidad (%)	-0.633	0.271	0.0183
Morfología (%)	0.1125	0.808	0.0009
Viscosidad	-0.0101	0.437	0.0092
Volumen (mL)	-0.0428	0.227	0.0220
Viabilidad (%)	-854.87*	0.882	0.0003
Concentración (10^6 células/mL)	-0.0264 ^a	0.238	0.0210

El valor de β se presenta * al cubo y ^a en logaritmo.

Grupo exposto (Y)

Características da população de estudo. O tempo médio de trabalho nos trabalhadores fundição foi de $13,05 \pm 6,80$ anos (variação 2-27 anos). As características gerais da população para este grupo de estudo estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. As características gerais da população estudada no GE

Característica	Sujetos estudiados
Edad (años) ^a	37.51 ± 92 (19-61)
Peso (kg) ^a	84.1 ± 20.2 (51.9-104)
Talla (m) ^a	1.76± 0.058 (1.59-1.98)
Índice de Quetelet ^a	29.5 ± 4.8 (19.3-61.1)
Emaciación (%)	3.0
Normal (%)	22.3
Sobrepeso (%)	64.8
Fumadores (%)	64.8
Fumadores actuales (%)	52.6
Consumidores de bebidas alcohólicas (%)	88.3
Consumidores de drogas (%)	6.6
Consumo de cafeína ^b	3.13 ± 1.77 (0 - 14)

^a Media aritmética ± desviación estándar. ^b Indica promedio de consumo por día de una porción de bebidas de refresco de cola y/o refresco de sabor y/o refresco dietético y/o de café. Los rangos se muestran entre paréntesis. n=22.

A qualidade do sêmen. Na Tabela 7 os parâmetros de qualidade de sêmen são mostrados. Ao comparar as médias de cada qualidade do sêmen de parâmetros com os estabelecidos pela OMS (1992), notamos que alguns dos parâmetros avaliados apresentaram valores anormais. Por exemplo, uma redução significativa foi observada entre o número de células de espermatozoides de todos os trabalhadores (média 46.74X10⁶ células / ml). Além disso, a 8,57% e 17,14% dos participantes tinham azoospermia e oligospermia respectivamente. O 31,42% dos indivíduos tiveram um decréscimo na avaliação de viabilidade espermática. Motilidade total apresentou redução de 37,42%. Um resultado importante foi encontrado na motilidade progressiva. Na verdade, 71,42% dos trabalhadores apresentaram este tipo de problema, a média de motilidade progressiva nestes

trabalhadores foi 20.24 ± 17.17 u / s (de normalidade 25μ / s) (Tabela 8). Outro parâmetro que foi apresentada dados morfologia anormal (64%), o pH foi a menos afectada (5% de anomalia).

Tabela 7. parâmetros de qualidade do sêmen em indivíduos expostos

Parámetro	Media \pm DE	Rango	% Anormalidad ^a
Motilidad (%)	62.58 ± 32.4	8 – 95	62
Viscosidad*	-	-	49
Morfología (%)	48.3 ± 12	13 – 87	64
Volumen (mL)	2.7 ± 1.3	0.7 - 6.4	26
Viabilidad (%)	68.58 ± 18.2	17 – 94	28
Concentración (10^6 células/mL)	46.74 ± 41.2	10 – 360	38
PH	8.3 ± 0.3	7.5 – 9.5	5

^a Muestra el porcentaje de la población que presentó parámetros de calidad de semen por debajo de lo normal. Valores normales de acuerdo a la OMS (1992): Motilidad > 50 % móviles; morfología > 50 % formas normales; volumen > 1.5 mL; viabilidad > 50 % vivos; concentración de espermatozoides > 20×10^6 células/mL; pH 7.2-8.5. * Este parámetro no presenta valor de medias y rango por la forma en la cual se evalúa.

Motilidade espermática. A avaliação da motilidade celular e a velocidade realizado no analisador de multi-motilidade do espermatozoide, mostrou diferença estatística quando se compara o GE e GNE (Tabela 8). Com efeito, a velocidade linear na GNE foi de $69,3 \pm 10,4$ e $12,9 \pm 38,7$ e na GE ($p < 0,01$). Motilidade progressiva foi de $29,1 \pm 6,2 \mu$ / s em GNE e $17,3 \pm 4,8$ u / s no GE ($p < 0,05$).

Tabela 8. A comparação das taxas de motilidade espermática em
o GNE e GE.

TIPO DE MOTILIDAD	GNE (μ/s)	GE (μ/s)	VALORES NORMALES*	P
VSL (Progresión)	29.1 \pm 6.2	17.3 \pm 4.8	25.0 μ/s	<0.001
VCL (Velocidad de trayectoria)	62.4 \pm 15.4	58.7 \pm 18.2	40.0 μ/s	>0.05
LIN (Linearidad)	69.3 \pm 10.4	38.7 \pm 12.9	40 μ/s	<0.001
ALH (Movimiento lateral de cabeza)	4.3 \pm 1.3	4.1 \pm 2.0	3.0 μ/s	>0.05
VAP (promedio de trayectoria)	42.8 \pm 9.2	18.3 \pm 3.9	35.0 μ/s	<0.001

* valores estandarizados Motion Analysis.

Avaliação da exposição ao Pb. Os níveis médios de PBS foi de 40,64 \pm 15,75 mg / dl com uma gama de 12,8 \pm 73 mg / dL. Em nosso país não há nenhuma regra que rege este tipo de metal no corpo humano em exposição ocupacional. Nos Estados Unidos, o padrão estabelece um limite máximo para a PBS 40 mg / dL (CDC (1991)). Com base nestes dados, 57,14% dos trabalhadores tinham níveis de mercúrio acima de 40 mg / dL. Por outro lado, as concentrações de Pb em PBS e sêmen mostrou estatisticamente significativa quando comparado com o GNE e GE, como mostra a Tabela 9 diferenças.

Tabela 9. A concentração de chumbo no sangue e sêmen em indivíduos expostos e não expostos ao Pb

MUESTRA	GNE	GE
SEMEN	2.76 ± .7734 µg/dL	4.13 ± 0.7015 µg/dL*
SANGRE	9.21 ± 3.22 µg/dL	40.64 ± 15.75 µg/dL**

*p< 0.05; **p< 0.001

Associação entre os níveis de PBS e indicadores de impacto. Para analisar as associações entre indicadores de exposição (variáveis independentes) e efeito (variáveis dependentes), a análise bivariada ou regressão linear simples. Níveis PBS foram significativamente associados com alguns dos parâmetros de qualidade de sêmen como mostra a Tabela 10. Foi encontrada uma correlação significativa entre a concentração GE PBS (40,64 ± 15,75 mg / dL) e concentração Pb no fluido seminal (4,13 ± 0,7015 mg / dL) (p <0,001; r = 0,924) (Figura 1).

Tabela 10. análise bivariada entre a qualidade do sêmen e os níveis de chumbo no GE

Parámetro	β	P	r^2
Motilidad (%)	-0.128	0.017	0.0281
Morfología (%)	0.0924	0.020	0.0113
Viscosidad	-0.1132	0.518	0.0213
Volumen (mL)	-0.0352	0.149	0.0380
Viabilidad (%)	-432.61*	0.349	0.0112
Concentración (10 ⁶ células/mL)	-0.0301 ^a	0.043	0.0112

El valor de β se presenta * al cubo y ^a en logaritmo. P<0.05

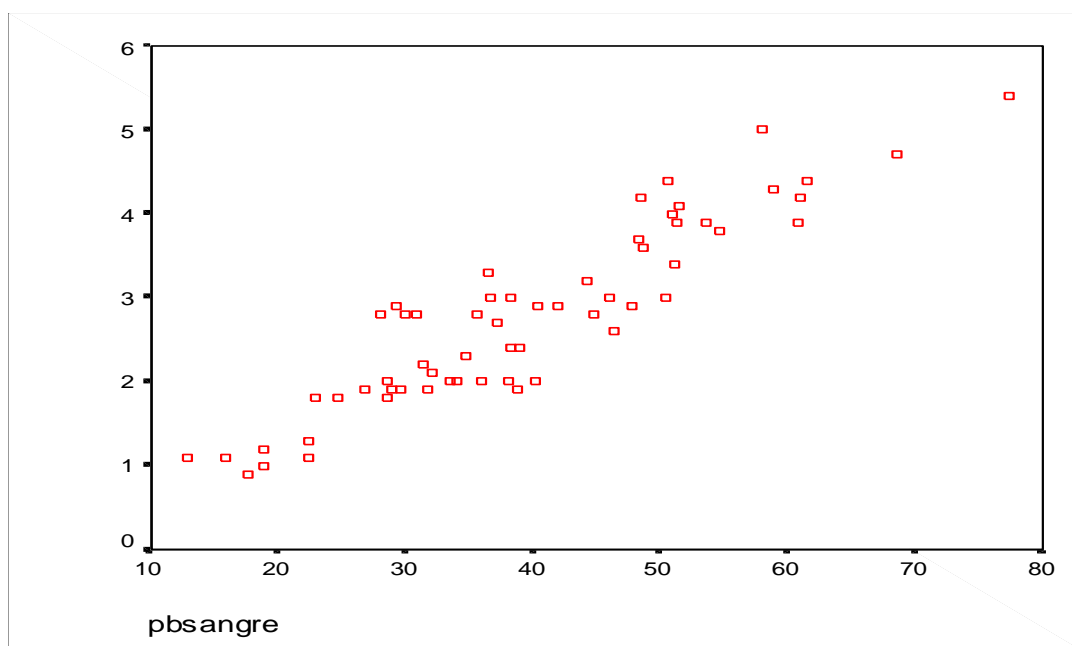


Figura 1. Relação entre concentração de chumbo no sangue e no fluido seminal Pb (mg / dL) em indivíduos expostos ($p < 0.05$; $r = 0.573$).

Morfología espermática. A média encontrada para a determinação da teratospermia nos grupos de estudo estão apresentados na Tabela 11. A característica morfológica determinado deficiente na avaliação estava na parte média do espermatozóide (média defeitos celulares parte) diferenças significativas nas comparações entre os grupos. O recurso conhecido como gota citoplasmática foi o defeito mais predominante. GE GNE = 28,7% e 20% ($p < 0,05$). Outros resultados importantes foi encontrado para caracterizar macrocéfalas espermatozóides reuniões uma diferença significativa entre o GNE = 11,2% e = 15% ($p < 0,5$).

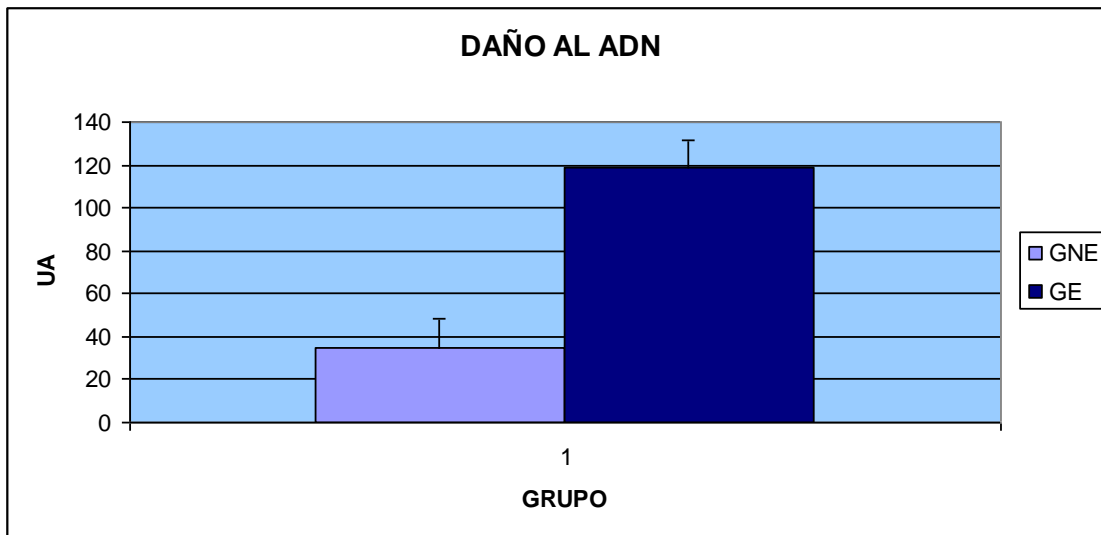
Tabela 11. Comparação de morfologia espermática dos grupos de estudo

FORMA CELULAR	GNE	GE
NORMAL	62.6±17	48.3±12*
MACROCÉFALO	11.2%	15%
MICROCÉFALO	5 %	7%
DEFECTOS DE LA PARTE MEDIA	20 %	28.7%*
DOBLE CABEZA	1 %	1%
DOBLE COLA	0 %	0%

* $p < 0.05$

Associação entre os níveis de PBS e danos ao DNA nos grupos estudados.

Com relação à análise estatística dos níveis globais de danos no DNA em células de espermatozóide entre os grupos de estudo com um altamente significativo $p > 0,0001$ (Figura 2) foi encontrado.



Os valores individuais dos níveis de danos de DNA são apresentados por indivíduos expostos ao Pb e GNE respectivamente nos Quadros 12 e 13.

Tabela 12. fragmentação do DNA global e níveis de danos em células de esperma GNE. Mostrado média total de células avaliadas e desvio-padrão do dano total DNA média.

0	I	II	III	IV	TOTAL	FG
70	20	10			100	40
74	20	6			100	32
75	21	4			100	29
77	22	1			100	24
69	24	7			100	38
80	20				100	20
58	23	14	5		100	66
73	17	7	3		100	40
77	20	3			100	26
77	18	5			100	28
78	14	8			100	30
80	15	5			100	25
66	16	10	8		100	60
72	21	7			100	35
71	23	6			100	35
					promedio	35.2
					ds	12.79062156

FG= Fragmentación global de ADN

Tabela 13. fragmentação do DNA global e níveis de danos em células de esperma de GE. Ele mostra o total avaliado as células e média ± desvio padrão do dano total DNA média.

0	I	II	III	IV	TOTAL	FG
28	39	20	10	3	100	121
29	37	19	14	1	100	121
28	32	40			100	112
25	31	35	9		100	128
24	40	22	11	3	100	129
27	39	29	5		100	112
27	37	30	6		100	115
26	26	42	6		100	128
30	37	32	1		100	104
36	30	30	4		100	102
38	30	25	7		100	101
31	33	22	10	4	100	123
33	26	24	10	7	100	132
34	40	16	10		100	102
35	41	15	9		100	98
29	39	21	8	3	100	117
28	35	22	15		100	124
27	33	15	20	5	100	143
29	32	19	16	4	100	134
28	37	33	2		100	109
30	32	15	20	3	100	134
					Media	118.52381
					DS	12.8203707

FG= Fragmentación global de ADN

DISCUSSÃO

O ensaio do cometa de genotoxicidade em um teste bem estabelecida, agora ocorre principalmente com células somáticas de diferentes órgãos para detectar a atividade genotóxica de possíveis carcinógenos. Considera-se útil para os resultados positivos ou inconclusivos teste de monitoramento de testes in vitro e para a avaliação dos testes de genotoxicidade local, no entanto, o teste do cometa também tem o potencial para detecção de genotoxicidade em células germinativas e pode ser utilizado para demonstrar a capacidade de uma substância ou do seu (s) metabolito (s) de interagir directamente com o material genético das células germinativas. Esses resultados são importantes para a classificação de agentes mutagénicos de células germinativas, por exemplo, no contexto do "Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS). A literatura contém os resultados de estudos in vitro, ex vivo e in vivo, no que diz respeito à avaliação de genotoxicidade em células germinativas, somente em estudos in vivo são importantes, mas outros estudos forneceram informações importantes sobre os vários

aspectos da metodologia. Muitos estudos de teste do cometa com esperma humano têm apresentada no contexto de infertilidade masculina e fertilização assistida, são discutidos os vários aspectos de modificações experimentais utilizados.

Medindo os efeitos do DNA pelo ensaio cometa esperma requer passos adicionais para cromatina descondensação, muitas modificações diferentes de alcalina e ensaio do cometa neutro em uso sem um protocolo padrão estabelecido ainda. Altos níveis de variáveis de fundo e os efeitos de DNA foram relatados e há ainda a necessidade de padronização e validação do ensaio do cometa e esperma. Alguns estudos de biomonitoramento humano com esperma humano foram liberados, mas parece prematuro usar esses dados para identificação de perigos e classificação de produtos químicos, no entanto, as condições alcalinas padrão no ensaio in vivo Comet pode ser facilmente adaptado para a investigação sobre células nos órgãos reprodutivos. No entanto, estudos para padronizar e validar esses métodos são necessários antes do ensaio do cometa pode ser utilmente aplicada a avaliação do risco de mutagêneos de células germinativas. Nesta pesquisa, a percentagem de indivíduos que foram incluídos no mesmo estágio de amostragem foi bom porque a taxa de participação foi de 76% no total para os grupos de estudo (GNE = 65%, GE = 71 %). Em algumas referências consultadas, é necessária a taxa de participação para este tipo de estudo, onde a doação da amostra de sêmen é baixa. De fato, em um estudo de populações de trabalhadores, onde a possibilidade de atrair mais participantes é, Robins et al., (1997) relataram uma participação de 64% em uma planta usada baterias em um estudo transversal na África do Sul. . Por outro lado, Viskum et al, (1999) relataram uma taxa de resposta de 18% em um estudo prospectivo empregou uma fábrica de baterias da república da Dinamarca; O Grupo de Alexander et al., (1988) relata uma taxa de participação de 13% de uma fundição de trabalhadores, este estudo foi uma espécie de corte transversal no Canadá.

Avaliação da exposição ao chumbo. Para estudar a parte ambiental, as cidades de Torreón, Coahuila. e Gomez Palacio e Lerdo, Durango. (Grupo de controle) estão localizados no centro da região nordeste do México e são a principal área urbana da região de Laguna, com mais de 800.000 habitantes. Esta zona tem várias fontes de contaminação por chumbo, por exemplo, uma fundição acima do tráfego de veículos pesados. O metal está localizado na cidade de Torreón, Coahuila, que está imerso na área urbana, e inclui uma fundição de chumbo, Pb e refinaria de prata e uma planta de refino eletrolítico Zn, produzindo em 2003 .: 129.712 toneladas de 218.457 toneladas de Pb e Zn (relatório Industrias Penoles, 2004). Vários estudos têm mostrado evidências de poluição Pb na cidade de Torreón por décadas. Albert e García (1977) determinou as

concentrações de Pb no cabelo de crianças de 5 diferentes regiões do México, incluindo: a) ao norte da Cidade do México, b) a cidade de Puebla, Puebla, c) da cidade de Matamoros, Coah., que serviu como controle, d) da cidade de Torreón, Coahuila, e e) a sua cidade gêmea Gomez Palacio, Durango. Concentrações de Pb em amostras da região de controle eram as mais baixas (4,2 mg / g) e Pb concentrações encontradas no cabelo das crianças em cidades do México, Puebla e Gomez Palacio foram de 12,1, 17,7 e 12,8 mg / g, respectivamente. Em contraste, na cidade de Torreón o valor médio foi de 55,1 g / g, com um máximo de 220 mg / g. Além disso, Hernandez-Serrano (1982) avaliaram as concentrações de chumbo no sangue (PBS) de estudantes médicos residentes de Torreón, Coahuila. e relatou que 10% (9/90) dos estudantes PbS apresentaram valores acima de 25 mg / dl. Além disso, Calderón-Salinas et al. (1996) realizaram um estudo em 98 crianças (7-12 anos) que vivem dentro de 1 km de distância do complexo metalúrgico. A concentração média de PBS encontrada era de 17,3 mg / dl. Enquanto isso, Benin et al. (1999) realizaram um estudo em 1 km de raio da área metalúrgica de Torreón, Coahuila. e relatou que os níveis de pó de Pb (17,9-48,84 mg / g), acima dos níveis locais estabelecida de modo a não contaminados, bem como elevadas concentrações de As e Cd. Recentemente, o grupo de Garcia-Vargas et al., (2001) avaliaram os níveis de Pb em pó 3 escolas primárias localizadas em várias distâncias (8100 m, 1750 m e 650 m) da área metalúrgica da cidade de Torreón, Coah., encontrando níveis de Pb superiores aos valores estabelecidos pela EPA (1997). Em nosso estudo, referindo-se à parte da exposição ambiental (GE) o nível médio de PbS encontrada na população masculina adulta residente principalmente nas cidades de Torreón e Gomez Palacio (n = 74) foi de 9,21 mg / dL. Este valor é ligeiramente inferior ao limite definido pelo CDC (10 mg / dL), no entanto, ele encontrou 40% dos participantes indivíduos com valores acima dela. Estes resultados indicam que a poluição ambiental por Pb nesta parte da nossa região tem-se mantido, uma vez que o nível médio de PBS (indicador de exposição ao chumbo) está no limiar do limite permitido máximo; portanto, os riscos em populações suscetíveis aumentar. Da mesma forma, Garcia-Vargas et al., (2001) em seu estudo sobre as crianças da região, mostrou que a área de metal Torreón, Coah., Continua sendo uma grande fonte de risco de poluição ambiental para a saúde das crianças, principalmente. Os efeitos da toxicidade Pb são muito diversas e sua forma ou curso de ação na difícil humano para estabelecer desde este metal entra no corpo e se acumula. Assim, a avaliação da concentração de chumbo no sangue, é considerada uma das melhores biomarcadores para medir a exposição a esse metal (Flegal e Smith, 1995). Eles têm sido relatados em uma variedade de trabalhos que foram concentrações de Pb no sangue associados com um efeito adverso sobre a qualidade do sêmen. Os efeitos mais conhecidos estabelecer um impacto sobre a concentração de

espermatozoides, motilidade celular na viabilidade espermática em um aumento da ocorrência de problemas teratospermia e volume de sêmen (Lancranjan et al, 1975 ; Wildt et al. 1983; Cullen et al, 1984;. Fisher-Fischbein et ai, 1987;. Lerda, 1992, Chia et ai, 1992;. Alexander et ai, 1996) .. Nestes estudos as variáveis que se qualificam a qualidade do esperma afetado após a exibição de uma concentração média de 40 mg / dL de sangue Pb. No entanto, em outros trabalhos com menores níveis de efeitos adversos Pb sobre qualidade do sêmen é. Na verdade, concentrações de > 25, > 24 e > 10 ug / dl descrever o efeito (Sallmén et ai, 2000;.. GENART et ai, 1992; Selevan et al., 1984). Trabalhadores em uma fundição gama Pb, Pb de sangue foi encontrada 15-69 g / dL, e nenhuma associação estatisticamente significativa com os parâmetros de qualidade de sêmen (Alexander et al., 1996). Da mesma forma, Plechaty et ai, (1977) .; Xu et al., (1993), não encontraram nenhuma diferença estatística entre a concentração de Pb no sangue (média de 15 mg / dL) e parâmetros de qualidade do esperma. Estas referências alude a uma determinada concentração de Pb no sangue, o que não parece afectar directamente a qualidade do esperma, o que sugere que é possível ter uma concentração suficiente acumulado no tracto reprodutor masculino para causar um efeito, para este razão é possível estabelecer que o uso Pb como um elemento de referência e seu mínimo para gerar um efeito biológico da concentração humana é de cerca de debate. A partir de uma outra perspectiva, a avaliação da concentração de Pb em sêmen aparentemente fornece um mais preciso para estabelecer um efeito deste metal no sistema reprodutor masculino e pode representar uma mais precisa neste tipo de exposição (maneira maneira Plechaty et ai. , 1977). Assim, a análise da concentração de Pb em esperma seria uma maneira mais eficaz para avaliar estes efeitos a bioacumulação da corrente sanguínea para o tracto reprodutivo é limitado pela barreira hemato-testicular (Dym e Fawcett, 1970) sangue-epidídimo (Hoffer e Hinton, 1984). No entanto, a maior parte do trabalho no qual Pb é determinado sêmen não encontrou uma associação direta entre o metal e as características de qualidade do esperma (Stachel et al, 1989;. Jockenhövel et al, 1990 ;. A -Zohairy et ai, 1996;.. Robbins et al, 1997;. Alexander et ai, 1998; Viskum et ai, 1999) .. Em outros estudos, e ao contrário do que tem sido dito em trabalhos anteriores, há estudos em que um efeito adverso clara sobre as características do sêmen PB mostrados mesmo em baixas concentrações. Por exemplo, alguns mencionados efeito asthenospermia e teratospermia. Em nosso estudo, comparando a concentração de Pb no sêmen do GNE e GE, uma diferença significativa quando se comparam as respectivas concentrações foi encontrado. Os resultados foram semelhantes aos descritos por Saaranen et al (1987), relataram que o nível de Pb em homens inférteis (3,2 ug / dl) e homens férteis (1,7 ug / dl). Por outro lado, Jockenhövel et al., (1990) relataram uma diferença significativa

no sêmen de indivíduos expostos ao chumbo, resulta em homens férteis de 1,3 ug / dl contra 5,6 ug / dl em homens inférteis. Essas obras servem para dizer que a exposição a baixos níveis de Pb no esperma afetam a qualidade do sêmen; Burimovitz et al., (1989) sugerem que Pb no sêmen é o principal indicador de danos ao nível reprodutivo, ainda mais do que a avaliação da exposição de Pb no sangue. Os nossos resultados são semelhantes aos descritos por Wyrobeck et al., 1983; Butrimovitz et al., 1999; Robbins et al., 1997; Lerda et al., 1992; Chia et ai., 1990), onde as variáveis teratospermia e astenospermia são afectados principalmente, sugerindo que a morfologia do esperma é uma das principais variáveis utilizadas como os problemas de nível de espermatogênese indicador sensível provocados por substâncias tóxicas. O teratospermia é um dos principais parâmetros para avaliar a funcionalidade do epitélio germinativo. Isto pode ser explicado porque o tempo de contacto principal entre o Pb e células germinais ocorre nesta fase. Aqui, os aspectos estruturais de desenvolvimento do esperma, podem sofrer danos irreparáveis e, conseqüentemente, causar deficiências fisiológicas. Células germinais são protegidas pelas células de Sertoli até que o esperma amadureceu (espermição) neste processo é mais difícil do que mal (barreira hemato-testicular) por substâncias tóxicas, no entanto, como mencionado, Pb, por exemplo, ocorre, pode ser transportado através dos túbulos seminíferos, epidídimo e logicamente em secreções da próstata e das vesículas seminais. Comparação de contagem de esperma, porcentagem de formas anormais, viabilidade e motilidade neste estudo, diferenças estatísticas com base nas condições de fertilidade entre os grupos analisados amostra. Em um estudo realizado em animais de laboratório com a exposição ao Pb Chowdhury et al., (1984) observaram efeitos metálicos associando uma atrofia testicular nestes animais. Além disso, Kaushal et al. (1996) observaram uma diminuição significativa de jovens espermátides e espermatozóides em ratos tratados com diferentes concentrações de Pb. Além disso, o grupo de Saxena et ai., (1987) observou alterações na degradação da espermatogênese células de Leydig nos ratos tratados com esta toxina. Além disso, a mobilidade do esperma pode ser alterado como consequência de lesões testiculares, epididimal ou pela presença de um agente no fluido seminal (Iamelas et al., 1997). No nosso estudo sobre o aspecto ambiental, a motilidade não foi associada com a concentração de Pb em fluido seminal, o que sugere que este parâmetro de qualidade de esperma foi afectado antes de as glândulas acessórias secretam o seu conteúdo, isto é, durante desenvolvimento no testículo, ou, durante a sua passagem pelo epidídimo. No entanto, as concentrações de Pb no sangue no grupo de profissionais expostos foram associados com aquelas encontradas no fluido seminal, que nos permite pensar que esta parceria é clara a estes factores de qualidade do esperma em indivíduos que formaram o grupo de trabalhadores metalúrgica. Neste grupo, ao contrário do que

se encontra na parte de exposição ambiental, é claramente observado um efeito de metais pelas diferenças encontradas comparando os valores com o grupo exposto de forma de trabalho. A dismotilidade por chumbo no esperma, podem ser o resultado de a inibição da actividade de mitocôndrias, que está localizada no meio do esperma (Eddy, 1988). Em outro estudo in vitro, por o grupo Kanwar et al., (1988), observaram uma inibição da motilidade do esperma após a exposição ao Pb, como um resultado da inibição de certas enzimas-chave no metabolismo dos hidratos de carbono, como alguns fosforilase de glicogénio, glicose-6-fosfatase, ATPase dependente de Mg²⁺ e desidrogenase láctica e ácido succínico. Na verdade, uma deficiência na motilidade, principalmente do tipo linear no EG foi alterada de forma adversa a ser avaliado através do método proposto no nosso trabalho.

A qualidade do esperma. Recentemente, Bonde et al., (1998) relataram que a probabilidade de gravidez é aumentada com o aumento da concentração acima de 40 milhões / ml, sugerindo que os critérios estabelecidos pela OMS devem ser utilizadas com cautela e alguns homens com contagens de esperma acima do intervalo inferior normal (20 milhões / ml) por subfertilidade OMS pode ser definida. Além disso, a concentração de espermatozoides no GE foi de 46,7 milhões / ml. Além disso, existe evidência de que em algumas partes do hemisfério norte, a qualidade do esperma (a concentração de espermatozoides, tal como o factor principal) é reduzida durante o verão (Gyllenborg et al., 1999). As experiências com macacos rhesus sugerem que tais variações sazonais pode ser induzida pelo relógio biológico endógeno é repostado anualmente por alterações na duração do dia (Levine, 1999). Outro fator ambiental que poderia em parte explicar essa relação sazonal, são flutuações de temperatura (Sood et al., 1993). No entanto, Levine et al., (1992) demonstraram em indivíduos que estavam em condições de clima controlado, o calor do verão não é avesso a capacidade reprodutiva masculina. Por outro lado, há outros relatórios que apoio descrito por Levine et al., (1999), isto é, não há alterações significativas ou tendências observadas nos parâmetros de esperma durante épocas do ano (Mallddis et al., 1991). Em nosso estudo, não houve diminuição significativa na concentração de espermatozoides em GNE foram encontrados, mesmo tendo em conta que esta etapa do estudo foi desenvolvido nos meses de junho a agosto, os meses mais quentes na região de Laguna e onde a média temperatura era de 40,6 ° C (para os meses), assim como, neste momento, os sujeitos estavam sob as variações naturais do fotoperíodo na região, onde o comprimento do horário de verão para o solstício de verão foi 13,36 horas de luz (CENIDs -RASPA-Inifap, 2001). Depois, há as etapas de amostragem para a GE realizados nos meses de outubro a dezembro. Neste grupo, a concentração de esperma

/ mL era mais afectados e deu outros parâmetros de esperma, o que sugere que mais do que a influência de horas / luz ambiente ou temperatura de redução da qualidade do esperma é devida à exposição a metais pesados. Nossos parâmetros afetados (viabilidade, a vida móveis e fixas forma formas de vida e mobilidade do esperma) são características do esperma final adquiridas durante a maturação de espermatozóides nos testículos e sua passagem pelo epidídimo. Portanto, o efeito biológico secundário de exposição ao metal pode ser aguda ou sub-aguda. Também é importante mencionar que a exposição crônica a metais pode marcar o surgimento dessas deficiências na qualidade do esperma destes assuntos (GE), e os resultados sugerem que os danos ao epitélio germinativo é gradual e, possivelmente cumulativos. Além disso, a motilidade espermática talvez secundário ao dano que pode resultar em exposição a metais no sistema músculo-esquelético do esperma colocado em um ponto de análise desta prática essa parceria. Com efeito, uma modificação possível é sugerido tanto axonema mitocondrial disponível no flagelo e metabolismo para a conversão de energia. Para enriquecer os comentários anteriores sobre este aspecto fisiológico causado por metais, é importante notar que não criaram mecanismos claros e específicas que explicam a diminuição da motilidade espermática. Duas situações possíveis foram considerados: um está no processo de produção de ATP, a qual envolve as enzimas que podem ser covalentemente fosforilado em um ou mais resíduos de aminoácidos (Ser, tri, Tyr ou His). Além disso, a fosforilação e desfosforilação de ATP são catalisados por uma variedade de proteína cinases e fosfatases e a desregulação de um destes dois grupos de enzimas podem catalisar a hidrólise de forma incontrolável ATP (Murray et al., 1997). Ambas as alterações enzimáticas reduzir o teor de ATP na célula; no caso de esperma, este vai diminuir a quantidade de energia disponível para a motilidade. A segunda hipótese estabelecida para explicar o declínio na mobilidade do esperma no GE é que quaisquer alterações estruturais no sistema músculo-esquelético, portanto, trazer alterações espermáticas na motilidade do esperma. Em nosso estudo não foram feitas avaliações da ultra-estrutura do meio do esperma, o que deu mais informações a este respeito, como muitas das falhas na motilidade é mitocondrial inadequada disponíveis nesta parte da célula. Além disso, nas deficiências significativas GE tanto no teratospermia foram encontrados (acima do valor normal, 50% ou mais de células morfológicamente normais) e uma diminuição da motilidade total, bem como linear e progressiva (50% ou movendo-se mais células) (WHO, 1992). Isto pode explicar o último caso, como se definido como danos estruturais, a motilidade de células de esperma pode ser devido a lesão associada à baixa eficiência em moléculas do metabolismo de combustível, tais como frutose, manose e glucose, entre outros metais, e pobre morfologia que prevaleceu nesses grupos mais afetados.

Fragmentação do DNA. As alterações no material genético pode ainda incluir aneuploidia cromossomal no esperma descondensação nuclear, tanto como quebras de ADN. Recentemente, a integridade do DNA do esperma está sendo reconhecida como uma medida independente da qualidade; e tem mostrado que isto pode afectar a fertilidade in vivo e in vitro (Muriel et al. 2006a). A causa de infertilidade em homens com parâmetros normais do sêmen pode ser relacionada com a presença de ADN no esperma anormal.

A avaliação da integridade do ADN no esperma, além do estudo sistemático dos parâmetros seminais, poderia fornecer informações adicionais sobre a qualidade do esperma, o que pode ser útil para orientar os casais inférteis. Os resultados deste estudo sobre a fragmentação de ADN no esperma argumentam que existe um aumento significativo na incidência de células de esperma com cadeias de ADN quebradas em homens expostos ao chumbo ocupacional, depois de avaliar as amostras processadas por essa ensaio. Em um estudo com ratos expostos a diferentes metais pesados, como o chumbo, o efeito de metalóides (Pb, As e Cd), na compactação do ADN foi avaliada em espermatócitos primários. Neste estudo espermatócitos danos associados com a concentração de Pb administrada encontrado (Nava-Hernández et al., 2009). Estudos anteriores utilizando estes modelos animais e chumbo demonstraram danos ao nível de testículo e uma diminuição na concentração de células estaminais, ou seja, os danos directos nos túbulos seminíferos, considerada uma parte dinâmica dos testículos, onde ocorre o divisão mitótica (Massanyi et al., 2007). A administração de Pb provoca um declínio significativo na fertilidade, a cinética celular estudos mostram uma diminuição em espermátides e espermatozóides maduros (Batra et al., 2004). Nava Hernández et al., 2009, mencionou que os Pb, Cd e são diretamente tóxicos para espermatócitos primários, causando danos ao DNA. A integridade do DNA é adequada como um mecanismo que assegure o genoma paterno reprodução (Cordelli et al., 2003). O dano ao DNA em células germinativas imaturas pode comprometer a fertilidade e causar resultados anormais, abortos espontâneos, doenças genéticas e aumento da incidência de câncer (Brinkworth de 2000 ;. Spano et al, 2000; Coddington et al. 2004). A origem do dano potencial e o mecanismo de fragmentação do DNA em células germinativas não é clara, ele pode ter lugar diretamente na espermatozóides maduros, como resultado da exposição endógena (espécies reativas de oxigênio) ou exógena aos agentes mutagênicos (substâncias químicas ou radiação) no desenvolvimento d espermatogénes (Aitken et al, 1998;. Ahmadi e Ng, 1999;.. Alvarez et al, 2002, Sakkas et ai, 2002). Sergerie et ai. (2005) descreveu a associação entre tabaco e nenhuma fragmentação do DNA do esperma em amostras de sêmen fresco de homens saudáveis (não

estéreis); enquanto Saleh et al. (2002a) estudaram essa associação em homens inférteis e relatou que as diferenças entre fumantes e não fumantes não foram estatisticamente significativas. No entanto, eles advertiram que as amostras de sêmen de homens fumantes inférteis tinham altos níveis de estresse oxidativo (OS) em comparação com os não-fumantes. Isso fortalece os resultados deste estudo e reforça a hipótese de que o controle exercido por alguns fatores efeito prejudicial que afetam os gametas masculinos poderia ser escondido no ejaculado. Muratori et al, (2000) descreveram que, em certa medida, a fragmentação do DNA foi positivamente associado com morfologia do esperma anormal e associada com defeitos na fila; mas eles encontraram uma correlação negativa entre o DNA quebrado e mobilidade progressiva. É baseado no trabalho anterior, que foi gravado taxas de fertilização e qualidade embrionária alguns indicadores foram relacionados com o grau de fragmentação do DNA do esperma depois de nadar-up (Muriel et al 2006a.); em conjunto com os resultados do presente estudo, pode-se concluir que a forma de determinar a fragmentação do DNA parece evidente que as taxas devem ser avaliadas após processamento por migração ascendente.

Relação entre a fragmentação ea qualidade do sêmen. Nos seres humanos, ele encontrou uma forte associação entre parâmetros seminais anormais e quebras de DNA no esperma ejaculado nucleares. A fragmentação do material genético do esperma é maior em pacientes diagnosticados com oligoteratoastenozoospermia. (Huang et al. 20) avaliou este fenômeno usando o ensaio de TUNEL, apreciando a DFI (índice de fragmentação do DNA) foi significativamente maior em pacientes com parâmetros seminais anormais. Em nosso estudo, esta tendência é claramente observado no grupo exposto a apresentar uma maior proporção de fragmentação do DNA, embora a GE não foi analisada em relação aos blocos com maiores concentrações de Pb, a tendência mostrada na graus pausas e proporção. Gandini et al., No estudo da relação entre a apoptose e parâmetros seminais, também mostraram um aumento na fragmentação foi associada com uma diminuição da concentração de esperma e da motilidade. Essa correlação também foi observada morfologia. Gâmetas que apresentem defeitos em seu DNA tinha pequenas cabeças e amorfo. Em nosso trabalho o grau de apoptose não foi avaliada, mas mostra claramente um grau de inviabilidade esperma acima de 30, o que indica possível associação. Além disso, os dados encontrados no nosso estudo mostraram uma alteração na proporção das formas normais, bem como a encontrada no meio de movimento. No entanto, os dados obtidos por Larson-Cook et al., Mostraram que DFI nem sempre foi relacionado com parâmetros de sêmen. Apenas 30% dos homens com uma DFI maior do que 27% tinham

astenozoospermia e / ou oligozoospermia. Embora na maioria dos casos, a fragmentação por objecto anormalidades seminal, é muito importante notar que 8% dos homens com parâmetros normais de esperma (de infertilidade de origem desconhecida) também presentes na fragmentação de DNA.

Relação entre a fragmentação do DNA do esperma e fertilização de esperma em potencial. Houve diversos estudos que mostram a relação entre a integridade do DNA do esperma e a fertilidade. Esses estudos mostram que homens inférteis têm uma maior fração de espermatozoides com DNA breaks, e destina-se a estabelecer um ponto de corte acima do qual seria prognóstico desfavorável. Na Europa e nos Estados Unidos da América dois estudos extensos sobre a relação entre os resultados obtidos pela técnica ASCE e capacidade fertilizante foram realizados de forma independente. Ambos mostraram que o índice de fragmentação do DNA (DFI) do que 30-40% é incompatível com a fertilidade in vivo. Independentemente da concentração, motilidade e morfologia, que tinha estabelecido uma correlação significativa entre as técnicas SCSA, cometa e TUNEL para esperma humano, por conseguinte, os dados obtidos por uma técnica poderia ser comparados com os obtidos pelos outros dois. Recentemente, Sergerie et al., Utilizando a TUNEL encontrado praticamente os mesmos pontos de corte Evenson et al. Esta mede a fragmentação de ADN de esperma num grupo de 66 homens inférteis ($40,9 \pm 14,3$) e 47 machos férteis ($13,1 \pm 7,3$), estabelecendo um ponto de corte de 20%. Chohan et al., Chegou à mesma conclusão comparando um grupo de 60 homens inférteis com um grupo de sete doadores por meio de três técnicas (SCSA, TUNEL e SCD). Aqui, a relação de fertilidade nos trabalhadores do projeto não foi definido corretamente. No entanto, um atraso foi observado neste fator em alguns dos participantes de 6, 8 ou até 12 meses para atingir a gravidez. Técnicas moleculares Comparando destacados neste papel ou esta comparação é feita, o que é uma boa estratégia porque daria mais informações sobre os mecanismos de formas ou mecanismos de danos no DNA nestas obras potenciais.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram um efeito adverso de metais pesados tais como chumbo, em a secreção de células germinativas imaturas, da qualidade do esperma e defeitos genéticos, este último estimada pelo grau de deficiências morfológicas e nível de fragmentação de ADN de células de esperma . Em resumo, ocupacional e endémica de metais diferentes, tais como a exposição Pb pode alterar o processo de espermatogênese. As concentrações de metais tanto no plasma seminal e no interior da mesma célula podem ser bons indicadores para avaliar os efeitos sobre a

qualidade do esperma. Finalmente, este estudo é o primeiro em que um efeito sobre a qualidade do sêmen, morfologia espermática e fragmentação associada metais pesados (Pb) na região de Laguna descrito. Ambos fragmentação do DNA e morfologia das células representam duas variáveis importantes para determinar possíveis danos genética, ou seja, modificações diretas de exposição ao metal e diferentes fases da gênese e desenvolvimento do esperma humano.

BIBLIOGRAFIA

Assennato G., & Paci, C. (1987). Sperm count suppression without endocrine dysfunction in lead-exposed men. *Arch Environ Health*, 42, 124-127.

Bjorndahl, L. & Kvist, U. (1990). Influence of seminal vesicular fluid on the zinc content of human sperm chromatin. *Int j Androl*, 13, 232-237.

Calderón-Salinas J. V. (1991). Afinidad de proteínas sanguíneas por plomo y participación de estas proteínas en los niveles de plomo libre circulante. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 7, 114-119.

Gatewood, J.M., Cook, G.R., Balhorn, R., Bradbury, E. M., & Schmid, C. W. (1987). Sequence-specific packaging of DNA in human sperm chromatin. *Science*. 236(4804), 962-4.

Goering, P. L. (1993). Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. *Neurotoxicology*, 14, 45-60.

Goyer RA. (1996). Toxic effects of metals. New York: McGraw-Hill.

Hernández-Ochoa, García-Vargas, López-Carrillo, Rubio-Andrade, Morán-Martínez, & Quintanilla-Vega. (2005). Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. *Journal of Reproductive Toxicology*. 20, 221-228.

Morán-Martínez J. (1998). Effects of environmental lead on sperm motility in men. International Conference on Reproductive Health. Mumbai, India. March 15-19. p: 313.

Quintanilla-Vega B., Hernández A., López M.L., García-Vargas G., Cebrián M.E., & Mendoza-Figueroa T. (1995). Porphyrin production and excretion by long-term cultures of adult rat hepatocytes and effect of lead exposure. *Toxicology*, 102, 275-283.

Saowaros W., & Panyim S. (1979). The formation of disulfide bonds in human protamines during sperm maturation. *Experientia*. 15 (35), 191-202.

Sokol R. (1987). Hormonal effects of lead acetate in the male rat: Mechanism of action. *Biol Reprod*, 37, 1135-1138.

Winder C. (1993). Lead, reproduction and development. *Neurotoxicology*, 14, 303-318.