



Dissertação - Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina

IMPACTO DA IDADE NA FERTILIDADE MASCULINA

Maria Amoedo Luís Amorim Pinto

Orientador: Dr. Nuno Rossano Monteiro Louro

Porto, Junho de 2017

Maria Amoedo Luís Amorim Pinto

IMPACTO DA IDADE NA FERTILIDADE MASCULINA

Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

Ano Letivo 2016/2017

Dr. Nuno Rossano Monteiro Louro

Categoria: Especialista em Urologia, Assistente Hospitalar

Assistente Convidado da Unidade Curricular de Urologia do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

Afiliação: Centro Hospitalar do Porto e Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar
Largo do Professor Abel Salazar, 4099-001 Porto – Portugal

Resumo

Introdução: A prevalência da Infertilidade a nível mundial tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, afectando actualmente cerca de 15% dos casais, sendo os factores masculinos responsáveis por 50% destes casos. Devido a várias condicionantes socioeconómicas, os casais tendem a adiar cada vez mais a parentalidade, o que leva a que a idade paterna em que ocorre o nascimento do primeiro filho tenha vindo a aumentar nos últimos anos. Apesar das implicações da idade materna na fertilidade serem bastante claras, o mesmo não acontece com a idade paterna.

Objectivos: Esta revisão bibliográfica pretende reunir a informação mais recente de modo a esclarecer os mecanismos inerentes ao impacto da idade paterna na fertilidade.

Métodos: Através da base de dados *Pubmed*, realizou-se uma pesquisa de artigos científicos originais, revisões bibliográficas e meta-análises que abordassem o tema.

Desenvolvimento: Diversos estudos têm constatado que o aumento da idade paterna se relaciona com alterações que comprometem a fertilidade masculina. Apesar de algumas incongruências entre estudos, a diminuição dos níveis de testosterona, a presença de disfunção sexual, a influência de comorbilidades próprias da idade e o surgimento de modificações genéticas das células germinativas têm sido apontadas como causas de infertilidade masculina em indivíduos mais velhos. Estes factores reflectem-se em resultados mais precários das técnicas de Procriação Medicamente Assistida e, na vigência de gravidez, na possibilidade de danos na descendência.

Conclusões: A idade paterna parece ter um papel preponderante na fertilidade masculina, constatando-se uma relação inversa entre a idade paterna e a fertilidade masculina. Embora sejam cada vez mais os investigadores interessados nesta área, ainda são necessários estudos que demonstrem com maior exactidão os mecanismos moleculares subjacentes a esta associação. É importante, por isso, assegurar um aconselhamento pré-natal apropriado para casais com mais idade, alertando para esta problemática.

Palavras-chave: Fertilidade masculina, idade paterna, infertilidade, espermograma

Abstract

Introduction: The prevalence of Infertility worldwide has increased considerably in recent years, currently affecting about 15% of couples, with male factors accounting for 50% of these cases. Due to various socioeconomic constraints, couples tend to start their family at a later age, which means that the average paternal age at first childbirth has increased in recent years. Although the implications of maternal age on fertility are quite clear, the same does not happen with paternal age.

Objectives: This literature review intends to gather the latest information in order to clarify the mechanisms inherent to the paternal age that may have an impact on fertility.

Methods: Through the Pubmed database, a research was carried out on original scientific articles, bibliographic reviews and meta-analysis that approached the theme.

Development: Several studies have found that increased paternal age is related to changes that compromise male fertility. Despite some incongruities between studies, decreased testosterone levels, the presence of sexual dysfunction, the influence of age-specific comorbidities, and the emergence of germ cell genetic modifications have been identified as causes of male infertility in older men. These factors result in poorer results of the Medically Assisted Procreation techniques and, after a pregnancy, can cause disorders to the offspring.

Conclusions: Paternal age seems to play a major role in male fertility, with an inverse relationship between paternal age and male fertility. Although researchers are increasingly interested in this area, further studies are needed to demonstrate more accurately the molecular mechanisms underlying this association. It is important, therefore, to ensure appropriate prenatal counseling for older couples, alerting to this problem.

Key words: Male fertility, paternal age, infertility, spermogram

Agradecimentos

Ao Dr. Nuno Louro, pela disponibilidade, amabilidade e partilha de conhecimentos ao longo de todo o trabalho.

À minha família e amigos, que me apoiam todos os dias incondicionalmente e me motivam sempre para dar o meu melhor.

Índice

Lista de Abreviaturas	6
Introdução	7
Objectivos	9
Métodos	10
Desenvolvimento	11
<i>Alterações nos Parâmetros do Espermograma</i>	<i>11</i>
<i>Alterações da função testicular e hormonas reprodutivas</i>	<i>14</i>
<i>Disfunção Sexual</i>	<i>16</i>
<i>Comorbilidades associadas</i>	<i>17</i>
<i>Alterações genéticas</i>	<i>19</i>
<i>Repercussões na Descendência</i>	<i>22</i>
<i>Impacto no resultado das técnicas de PMA</i>	<i>25</i>
Conclusões	27
Referências Bibliográficas	28

Lista de Abreviaturas

ADN- Ácido desoxirribonucleico

DE- Disfunção Erétil

IST's- Infecções Sexualmente Transmissíveis

FGFR2- Receptor 2 do Factor de Crescimento dos Fibroblastos (do inglês *Fibroblast Growth Factor Receptor 2*)

FGFR3- Receptor 3 do Factor de Crescimento dos Fibroblastos (do inglês *Fibroblast Growth Factor Receptor 3*)

FIV- Fertilização *in vitro*

FSH- Hormona Folículo Estimulante (do inglês *Follicle-stimulating hormone*)

ICSI- Injeção Intra-citoplasmática de Espermatozóides (do inglês *Intracytoplasmatic Sperm Injection*)

LOH- Hipogonadismo de Início Tardio (do inglês *Late-onset Hypogonadism*)

LUTS- Sintomas do Trato Urinário Inferior (do inglês *Lower Urinary Tract Symptoms*)

MEN2A- Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 2A (do inglês *Multiple Endocrine Neoplasia type 2A*)

MEN2B- Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 2B (do inglês *Multiple Endocrine Neoplasia type 2B*)

MicroRNAs- Ácido Ribonucleico micro (do inglês *micro Ribonucleic Acid*)

OMS- Organização Mundial de Saúde

PARP-1- Poli [ADP-ribose] Polimerase 1 (do inglês *Poly ADP-ribose Polymerase 1*)

PMA- Procriação Medicamente Assistida

STL- Comprimento dos Telómeros dos Espermatozóides (do inglês *Sperm Telomere Length*)

Introdução

A Organização Mundial de Saúde (OMS)¹ define infertilidade como a impossibilidade de ocorrer uma gravidez num casal após um ano de relações sexuais frequentes e desprotegidas. Por sua vez, o termo Fecundabilidade refere-se à taxa de concepção de uma população num determinado período de tempo. Por cada 100 casais que tentam a concepção naturalmente, 84 conseguem engravidar após 1 ano e 92 dentro de 2 anos.² Se o casal não for bem sucedido após 3 anos, a probabilidade de ocorrência de gravidez no ano seguinte é de 25% ou menos. A procura de ajuda médica é aconselhável após um ano de tentativas. Contudo, se a mulher tiver 36 anos ou mais ou se o casal souber que há problemas de fertilidade, recomenda-se uma visita médica mais precoce.³ A comparação das prevalências de infertilidade entre os diferentes estudos epidemiológicos é bastante difícil devido à utilização de diferentes definições de infertilidade e métodos de selecção. Estima-se que a infertilidade conjugal atinja, na população mundial, cerca de 15% dos casais em idade fértil⁴, o que corresponde a cerca de 48.5 milhões de casais⁵, com uma incidência crescente em função da idade dos casais, sendo cerca de 30 milhões os homens inférteis.⁶ Um estudo recente, baseado em 25 amostras populacionais, determinou taxas de infertilidade de 3.5% a 16.7% em países mais desenvolvidos e de 6.9% a 9.3% em países com menor grau de desenvolvimento, tendo sido a prevalência média global cerca de 9%. Dos casais considerados inférteis, apenas 56,1% recorreram a ajuda médica.⁷ Em Portugal, foi realizado um estudo que concluiu que a prevalência de infertilidade ao longo da vida ronda os 9%.⁸ O aumento da infertilidade ao longo dos anos parece ser justificado pelo adiamento da maternidade possivelmente devido à difusão dos métodos contraceptivos eficazes, ao desenvolvimento das técnicas de reprodução medicamente assistida, ao investimento na formação académica e no mercado de trabalho, à instabilidade profissional e económica, a alteração dos padrões conjugais e dos valores familiares.⁹

Infertilidade Primária refere-se a um casal com problemas de fertilidade que não tenha experienciado nenhuma gravidez anterior, enquanto o termo Infertilidade Secundária é utilizado para definir um casal que já tenha história de uma ou mais gravidezes mas que esteja com problemas de concepção. Existem muitas causas que podem contribuir para a infertilidade de um casal, podendo estas advir da mulher, do homem ou de ambos. Estima-se que 35% dos casais considerados inférteis sejam afectados apenas por factores femininos, 20% sejam resultado de factores masculinos isoladamente, enquanto que em cerca de 30% a 40% dos casos os problemas são resultado de uma combinação de factores masculinos e femininos.¹⁰ O factor

masculino está envolvido, então, em cerca de 50% dos casos de infertilidade. Restam assim 15% das pessoas, cuja infertilidade não é explicável.

Também a idade paterna em que ocorre o nascimento do primeiro filho tem vindo a aumentar de modo significativo nos últimos dez anos. Isto parece dever-se a alguns factores socioeconómicos como o aumento da esperança média de vida, o uso crescente de métodos contraceptivos e a estabilização tardia das relações conjugais.¹¹ Já desde há muito tempo se constata que a média de idade das mulheres que recorrem a técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA) é superior em relação à das que engravidam espontaneamente, sendo que a associação entre idade materna avançada e infertilidade é apoiada por vários estudos. Um estudo demonstrou que a idade materna em casais subférteis e que se submeteram a técnicas de PMA foi superior em 5 a 6 anos em relação à dos casais férteis. A idade paterna, nas mesmas condições, foi superior em 4 a 5 anos, sendo que os homens com idade superior a 37 anos eram o dobro das mulheres.¹² Para além do seu incontestável efeito na fertilidade, a idade materna avançada tem sido igualmente associada a complicações durante a gravidez, ao aumento do parto pré termo e baixo peso à nascença,¹³ assim como a malformações congénitas¹⁴ e autismo.¹⁵

Por outro lado, as condições que afectam a fertilidade no homem ainda se encontram subdiagnosticadas e subtratadas, sendo que a relação entre a fertilidade masculina e a idade paterna é, até à data, um tema pouco estudado. Apesar da existência de alguns estudos epidemiológicos realizados na área que sugerem uma diminuição da fertilidade masculina com o avançar da idade paterna, os mecanismos fisiológicos subjacentes a esta alteração ainda permanecem pouco claros, havendo algumas questões que geram controvérsia na literatura.

Objectivos

Esta dissertação tem como objectivo a realização de uma revisão bibliográfica acerca do impacto da idade na fertilidade masculina, explorando os artigos científicos mais recentemente publicados nesta área, que abordem as alterações conhecidas e os mecanismos fisiopatológicos das mesmas.

Métodos

A pesquisa para a revisão literária foi realizada mediante a consulta de artigos de revisão e artigos científicos publicados maioritariamente entre 2010 e 2017 recorrendo à base de dados da *Pubmed* e algumas revistas do ramo da Urologia, utilizando os seguintes termos de pesquisa: *“Male fertility”, “Male fertility age”, “Male infertility”, “Paternal age” e “ Aging male”*.

Foram consultados artigos com informação epidemiológica sobre infertilidade e sobre a idade paterna de concepção do primeiro filho, seguindo-se a seleção de estudos sobre as alterações específicas da fertilidade masculina com o avançar da idade.

Foram também consultadas outras fontes de informação tais como os documentos: *“Programa Nacional de Saúde Reprodutiva Infertilidade” e “International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009”*.

Desenvolvimento

Alterações nos Parâmetros do Espermograma

A análise do espermograma constitui um dos primeiros passos essenciais na abordagem a um casal infértil e inclui a avaliação do volume de ejaculado, concentração, motilidade e morfologia dos espermatozóides segundo os critérios da OMS.¹⁶

Volume espermático

A maioria da literatura revista mostra-se concordante em relação à diminuição do volume de esperma com o aumento da idade paterna. Um estudo¹⁷, ajustado para o factor confundidor de duração do período de abstinência, constatou que existe uma relação estatisticamente significativa entre a diminuição do volume de esperma e a idade avançada, com um decréscimo de cerca de 0.15–0.5% por cada ano de idade acrescido. Uma revisão mais recente também demonstrou uma redução do volume espermático de 3%–22% quando se compararam indivíduos com 30 e 50 anos de idade nos 33 anos precedentes.¹⁸

Concentração de espermatozóides

Em contrapartida, a relação entre a idade paterna aumentada e a concentração de espermatozóides permanece pouco clara. Nenhum dos estudos examinados foi capaz de documentar uma associação clara entre estes dois parâmetros. No trabalho de revisão já citado¹⁸ é sugerida uma diminuição da concentração e da contagem de espermatozóides com a idade. É o caso, por exemplo, de um estudo que teve em conta o tempo de abstinência e o ano de nascimento como potenciais confundidores, e que, no decorrer de um período de 20 anos, detectou um decréscimo na concentração de espermatozóides de 3.7% por ano de idade.¹⁹ Por outro lado, ao contrário do que se expectava, uma meta-análise recente que engloba 93839 homens de 90 estudos documentou um aumento linear da concentração de espermatozóides com a idade paterna.²⁰ Os dados que sugerem que a concentração dos espermatozóides aumenta com a idade paterna podem dever-se, em parte, à acentuada diminuição do volume de esperma já discutido anteriormente, apesar da diminuição da contagem total de espermatozóides concomitante. Devido à incongruência dos dados referentes a este parâmetro e à presença de importantes factores confundidores, não é possível concluir acerca de uma relação consistente entre estas duas variáveis.

Motilidade dos espermatozóides

A associação entre a idade paterna avançada e a diminuição da motilidade dos espermatozóides é elucidada de forma bastante evidente na literatura.²⁰ A maioria dos estudos analisados demonstrou esta relação, sendo que, quando comparados homens com 50 ou mais anos com indivíduos com idade inferior a 30 anos encontrou-se um declínio de cerca de 3– 37% na motilidade.²¹ Outro estudo realizado em indivíduos saudáveis demonstrou que, a cada ano, ocorre um decréscimo de cerca de 3.1% no que concerne à motilidade progressiva dos espermatozóides.²²

Morfologia dos espermatozóides

Relativamente à morfologia dos espermatozóides, vários estudos apontam para que exista uma relação direta entre o aumento da idade masculina e a percentagem de espermatozóides com morfologia anormal presentes no espermograma. Tendo em consideração os potenciais confundidores, duração de abstinência e ano de nascimento, dois estudos demonstraram taxas de redução das percentagens de espermatozóides com morfologia normal de 0,2% e 0,9% por ano de idade.^{17,19} Um estudo de revisão, que comparou indivíduos com 30 e 50 anos de idade, revelou 4-18% de diminuição na percentagem de espermatozóides com morfologia normal.²¹ Nessa mesma revisão, nos casos em que não foi relatada esta associação, os resultados não foram estatisticamente significativos. Tendo em conta os dados supracitados, e apesar da discrepância entre critérios morfológicos considerados nos diferentes estudos, parecem existir evidências suficientes para associar o avançar da idade à diminuição da percentagem de espermatozóides normais.

Embora se tenham constatado estas alterações do espermograma com a idade, os mecanismos subjacentes ainda não se encontram totalmente esclarecidos. Alguns factores têm sido apontados como potenciais influenciadores de determinadas variações. É o caso da disfunção das vesículas seminais, que poderá explicar a redução do volume de esperma ou mesmo alterações prostáticas que podem levar à diminuição da quantidade de água e do conteúdo proteico com implicações na motilidade e volume.^{21,23} A disfunção mitocondrial associada ao aumento das espécies reactivas de Oxigénio foi relacionada com a diminuição da motilidade espermática.²⁴ Nesse estudo, as amostras de esperma com menor percentagem de espermatozóides com preservação da motilidade mostraram maior quantidade de modificações de proteínas nitro-oxidativas em relação às amostras com mais quantidade de espermatozóides móveis.²⁴

As alterações da morfologia espermática poderão ser causadas por alterações degenerativas do epitélio germinal.²⁵

Constata-se então que a maioria dos estudos relata uma associação da idade paterna com uma diminuição do volume do ejaculado, da percentagem de espermatozóides com morfologia e motilidade normais mas não com a concentração de espermatozóides no espermograma.

Um estudo recente concluiu que as proporções, os níveis totais e os padrões de localização de PLC ζ , uma proteína essencial na activação do ovócito que se encontra normalmente presente no esperma, apesar de apresentarem alterações em indivíduos inférteis, são independentes da idade paterna.²⁶ Isto vem demonstrar que, embora a associação entre idade paterna avançada e a diminuição da qualidade espermática seja evidente, a idade não exerce influência sobre todas as proteínas que compõem o esperma, parecendo actuar em parâmetros específicos.

Alterações da função testicular e hormonas reprodutivas

A testosterona assume um papel imprescindível tanto no desenvolvimento dos órgãos sexuais masculinos, como na função sexual e na fertilidade masculinas. Para que ocorra a espermatogénese, são necessários altos níveis de testosterona intratesticular uma vez que a activação do receptor de androgénio vai ser responsável por iniciar e manter este processo, assim como por inibir a apoptose das células germinativas.²⁷ Alguns estudos sugerem que haja uma diminuição do volume testicular à medida que a idade avança,^{28,29} estimando uma diminuição de 31% do volume testicular em homens com mais de 75 anos quando comparados com indivíduos com idades entre 18 e 40 (explicado por um decréscimo no número de células de Sertoli).²⁹ A nível hormonal, ocorre um aumento dos níveis séricos de hormona folículo estimulante (FSH) e diminuição dos níveis de testosterona, sendo estas consideradas as alterações clínicas mais comuns associadas à idade.³⁰ As células de Leydig, responsáveis pela produção de testosterona, também diminuem o seu número com o aumento da idade paterna, sendo que experimentam uma redução para cerca de metade em grupos etários dos 50 aos 76 anos, quando comparados com grupos dos 20 aos 48 anos.³¹ Esta alteração vai contribuir para a redução dos níveis séricos de testosterona total e livre em homens com idade avançada, o que poderá influenciar as alterações da fertilidade nesta faixa etária. Também se coloca a hipótese da atrofia testicular advir de uma desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-testículo.³²

Diferentemente do que acontece na menopausa nas mulheres, apesar dos níveis de testosterona serem menores em homens com idade avançada, este processo ocorre paulatinamente, não existindo uma idade base a partir da qual se dá uma diminuição abrupta da sua produção.³³ Os níveis de testosterona encontrados em homens com mais de 40 anos podem diminuir a uma taxa de 1,6% ao ano.³⁴ Estudos mostram que mais de 50% dos homens com 80 anos de idade possuem níveis de testosterona consistentes com hipogonadismo.³⁵ O Hipogonadismo de início tardio – LOH do inglês *Late-onset Hypogonadism* define-se como uma síndrome clínica e bioquímica associada a idade avançada que se caracteriza por deficiência dos níveis de testosterona séricos associados a sintomas típicos.³⁶ Os sintomas subjacentes a esta síndrome podem ser diminuição da libido, disfunção eréctil, diminuição da massa muscular e aumento da massa adiposa, osteoporose, humor depressivo, défices cognitivos, redução da sensação de vitalidade e bem-estar, aumento de fadiga e infertilidade.³⁷ Para além disso, o hipogonadismo encontra-se associado a outras comorbilidades como diabetes tipo II, doenças cardiovasculares e síndrome metabólico.³⁸

O *Massachusetts Male Aging Study*, um estudo coorte baseado numa ampla amostra randomizada, concluiu que num coorte de 1709 homens saudáveis com idades compreendidas entre 40 e 70 anos com média de idades nos 55.2 anos, a média do valor de testosterona total era de 520 ng/mL. Nos dados de follow-up, aproximadamente uma década após, 1156 homens saudáveis com média de idades de 62.7 anos possuíam como valor médio de testosterona total 450 ng/ mL. Constatou-se também que o ritmo de declínio da testosterona era o mesmo em homens aparentemente saudáveis e em homens portadores de doenças crónicas, obesidade, alcoolismo, a realizar farmacoterapia ou com problemas prostáticos. ³⁹

Disfunção Sexual

A infertilidade experienciada por muitos homens com idade avançada pode dever-se também à diminuição da frequência de relações sexuais e à disfunção eréctil (DE).^{40,41} São diversos os estudos que estabelecem uma forte associação entre a idade masculina e a disfunção eréctil, sendo que um deles documenta prevalências de 3% em homens com 50 a 54 anos e 26% em indivíduos com idades entre 70 e 78 anos.⁴² Os sintomas do LOH e a presença de disfunção eréctil são comuns entre os homens inférteis, afectando cerca de 38% e 28% destes, respectivamente.⁴³ Para além do facto da diminuição da frequência das relações sexuais ter implicações directas na concepção natural, o aumento do período de abstinência ejaculatória aumenta a fragmentação do ADN, o que pode levar a um maior compromisso da fertilidade.⁴⁴

Um estudo realizado em homens de casais inférteis concluiu que há um aumento da disfunção eréctil que se relaciona com o grau de gravidade de alterações na qualidade espermática, de modo independente de outros factores físicos, bioquímicos e vasculares. Os indivíduos que apresentavam piores resultados no espermograma também revelaram distúrbios psicopatológicos e eram menos saudáveis.⁴⁵ Os distúrbios psicológicos, nomeadamente a ansiedade, constituem um problema que influencia a função sexual e que se pode agravar durante todo o processo de PMA, comprometendo ainda mais a fertilidade. Com a excepção da administração da testosterona que pode causar oligospermia ou até azoospermia,⁴⁶ em geral as alterações do estilo de vida ou tratamentos mais específicos que diminuem a disfunção eréctil associam-se a melhoria da fertilidade masculina.⁴⁷

Comorbilidades associadas

Obesidade

A Obesidade é considerada uma epidemia nos dias de hoje e sabe-se que a idade se associa a um aumento do índice de massa corporal. Esta condição pode resultar em hipogonadismo, aumento da temperatura escrotal, espermatogénese imperfeita e aumento do dano do ADN dos espermatozoides.⁴⁸

Diabetes Melito tipo II

A Diabetes Melito tipo II associada a insulinoresistência também pode produzir efeitos semelhantes aos da obesidade ou agravá-los.⁴⁸ A prevalência de disfunção sexual vasculogénica entre homens diabéticos aproxima-se de 50% e relaciona-se com disfunção testicular, diminuição da motilidade e concentração e alterações morfológicas espermáticas, o que reduz a fertilidade.⁴⁹ Entre os indivíduos diabéticos é frequente a presença de ejaculação retrógrada como consequência da neuropatia autonómica, o que poderá igualmente comprometer a fertilidade.⁵⁰ A diabetes também aumenta o dano oxidativo, o que pode constituir um factor predisponente à disfunção sexual e contribuir para uma diminuição da função mitocondrial testicular.⁵¹

Dislipidemia

A Dislipidemia, mais prevalente em indivíduos mais velhos, pode aumentar o stress oxidativo testicular com consequente diminuição da fertilidade.⁴⁸ Embora os lípidos séricos não tenham mostrado relação com os parâmetros do espermograma, os níveis de lípidos do plasma seminal influenciam o volume, a motilidade, a concentração bem como a contagem de espermatozoides.⁵²

Coronariopatia

A Coronariopatia também se correlaciona com a disfunção eréctil, sendo que um estudo constatou que a prevalência de DE era significativamente superior em indivíduos com coronariopatia comparados com os que não tinham a doença. Essa prevalência aumentava igualmente com a idade.⁵³ A evidência desta associação leva inclusive a uma suspeita maior de doença cardiovascular subjacente ou futura na presença de um homem jovem com DE.

Neoplasias Malignas

As Neoplasias Malignas também têm vindo a ser associadas a infertilidade. A maioria dos problemas sexuais surgem como consequência dos tratamentos quimioterápicos, radioterápicos ou mesmo cirúrgicos e também são influenciados pelos sintomas psicológicos negativos que daí advêm.⁵⁴ Estes efeitos são ainda mais evidentes quando se tratam de neoplasias da cavidade pélvica pois lesões nos nervos, vasos e outras estruturas orgânicas pélvicas podem induzir altos níveis de disfunção sexual. Por exemplo, no caso da prostatectomia radical para tratamento do Carcinoma Prostático remove-se a próstata, as vesículas seminais e as ampolas dos ductos deferentes, o que pressupõe que após a intervenção não ocorra ejaculação, o que impossibilita uma gravidez natural futura.

Hiperplasia Benigna Prostática

A Hiperplasia Benigna Prostática, um achado comum em homens de idade, associa-se a sintomas do trato urinário inferior (LUTS), podendo assim contribuir para a disfunção sexual uma vez que a prevalência de disfunção ejaculatória aumenta com a idade e com a severidade dos LUTS.⁵⁵ Alguns fármacos frequentemente usados no tratamento desta patologia também podem interferir na fertilidade. É o caso da tansulosina, um antagonista alfa-adrenérgico, que, tal como outros fármacos da sua classe, pode ter como efeitos adversos disfunções sexuais como ejaculação retrógrada e diminuição do volume ejaculado.⁴⁹ De modo semelhante, o finasteride, um inibidor da 5-alfa-redutase, foi associado a disfunção erétil, ejaculação anormal⁴⁹ e a dano do ADN espermático.⁵⁶

Processos Inflamatórios

Os Processos Inflamatórios do sistema reprodutor têm vindo a associar-se à infertilidade masculina. Para além disso, a idade aumenta a susceptibilidade de exposição a infeções como orquite viral ou IST's. Um estudo demonstrou que uma única incubação com *Enterococcus fecalis*, *E. coli* e *S. aureus* é capaz de induzir apoptose dos espermatozóides humanos.⁵⁷

Alterações genéticas

Fragmentação do ADN

A fragmentação do ADN encontra-se intimamente relacionada com a diminuição da fertilidade, afectando a qualidade e função dos espermatozóides. Uma das causas do dano do ADN nos espermatozóides poderá ser uma anormal protaminação ou compactação das protaminas.^{58,59} Isto pode explicar cerca de 15 % dos casos, podendo a deficiência de protaminas dever-se à presença de histonas que não são convertidas nestes compostos.^{60,61} O stress oxidativo, resultante do aumento da produção de espécies reactivas de Oxigénio ou reservas baixas de antioxidantes, é responsável pela maior parte da fragmentação do ADN.⁶² O dano do ADN pode ser também relacionado com mutações e aneuploidias resultantes de alterações na disjunção cromossómica e segregação meiótica.^{63,64,65}

São diversos os estudos que estabelecem uma associação entre a idade paterna e a fragmentação do ADN das células sexuais.^{66,67,68,69,70} O *Poly ADP-ribose polymerase 1* (PARP-1) é activado na presença de fragmentação de ADN com o intuito de o reparar. Quando os mecanismos em que está envolvido o PARP-1 são activados em demasia, ocorre apoptose, o que coincide com o aumento rápido do dano e do reparo do ADN. Nos homens mais velhos, o PARP-1, o PARP-1 clivado e a caspase 3 (os dois últimos são marcadores de apoptose) encontram-se aumentados, o que indica que há uma maior reparação de ADN, pressupondo uma maior fragmentação e apoptose.⁷¹ Um estudo retrospectivo, que envolveu 1974 indivíduos normozoospermicos que se submeteram a avaliação de fertilidade, documentou que o nível de fragmentação de ADN se encontra relacionado de forma positiva com a idade do homem e inversamente associado com a motilidade dos espermatozóides. Cerca de 11% da população estudada possuía altos níveis de fragmentação do ADN espermático.⁶⁸ Outro estudo constatou que os espermatozóides de sujeitos normozoospermicos com idade superior ou igual a 41 anos tinham maior dano do ADN quando comparados com indivíduos com menos de 40 anos (17%±13% vs. 12%±18%, respectivamente).⁶⁹

Tamanho dos Telómeros

Como estruturas cuja função passa por preservar a estrutura genómica e mantê-la estável, os telómeros vão sofrendo um processo de encurtamento com as divisões celulares sucessivas. Com o avançar da idade, as células somáticas sofrem encurtamento dos seus telómeros por ocorrer uma replicação incompleta do ADN. O comprimento dos telómeros é

mantido pela enzima telomerase, que é mais expressa em células proliferativas como as células germinativas e as neoplásicas.⁷²

O papel do comprimento dos telómeros dos espermatozóides (STL) na espermatogénese ou no potencial de fertilidade permanece pouco claro. Existem estudos que relacionam o encurtamento dos telómeros com uma diminuição da fertilidade masculina, manifestado por um aumento da fragmentação do ADN, redução da protaminação e diminuição da motilidade e da contagem de espermatozóides.^{73,74} Um estudo recente também demonstrou que existe uma correlação positiva entre o STL e a contagem de espermatozóides, sendo menor em homens com oligozoospermia quando comparados com os que têm normozoospermia.⁷⁵ Noutro estudo, foram comparados os STL de homens com infertilidade idiopática com controlos e constatou-se que os homens com infertilidade idiopática tinham um maior encurtamento destes telómeros.⁷⁶ Ao contrário do que acontece com as células somáticas, os estudos revistos relatam um aumento no comprimento dos telómeros dos espermatozóides com a idade paterna.^{77,78} Conclui-se, então, que as alterações do tamanho dos telómeros possuem um significado incerto nesta população, sendo necessários estudos adicionais nesta área.

Envelhecimento molecular e instabilidade genómica

Os microRNAs, como importantes reguladores da expressão genética pós-transcricional, têm sido identificados no plasma seminal como potenciais marcadores de infertilidade masculina, sendo que os seus padrões de expressão mudam com a idade ou com outros factores de stress, como a vasectomia ou inflamação.^{79,80,81}

O envelhecimento tem sido relacionado com alterações na expressão de microRNA associadas à instabilidade genómica.⁸² Um estudo comparou a expressão dos padrões de microRNAs no epidídimo, órgão onde se dá a diferenciação final e a maturação dos espermatozóides, de recém nascidos, adultos (25 anos) e idosos (75 anos). Um número total de 251 microRNAs expressos nos recém nascidos (63% dos microRNAs conhecidos) decresceu para 31% no grupo de idosos.⁸³ O mecanismo através do qual esta alteração na expressão de microRNAs afecta a qualidade espermática e a integridade do ADN ainda não é conhecido. É importante que se investigue mais ao nível dos genes envolvidos no controlo do normal desenvolvimento espermático, diferenciação e maturação entre jovens adultos e idosos.

Epigenética do envelhecimento masculino

Epigenética refere-se a um mecanismo de regulação da expressão génica, estável e hereditário, que não envolve mudanças na sequência de ADN. A espermatogénese é marcada por passos sucessivos de reprogramação epigenética, que podem ser influenciados por fatores endógenos e ambientais como nutrição, idade, exposição a fármacos/toxinas e variação fenotípica.⁸⁴ Alguns estudos têm-se debruçado na demonstração de alterações da metilação do ADN com a idade paterna. A análise do genoma de indivíduos inférteis com alterações no espermograma revelou a presença de hiper metilação de ADN.⁸⁵ Estas alterações podem ter implicações nos processos de fertilização, implantação e desenvolvimento embrionário.⁸⁶ Constatou-se que os níveis de 5-mC e 5-hmC (formas metiladas da citosina) sofrem um aumento com a idade paterna de cerca de 1,76% e 5% por ano, respectivamente, o que pode levar a silenciamento de certos genes.⁸⁷ Um estudo prospectivo conduzido para investigar a influência da metilação de ADN espermático nos resultados da FIV demonstrou que estes foram significativamente melhores nos espermatozóides com um nível de metilação global maior. Estas alterações epigenéticas também influenciam o desenvolvimento embrionário, que se encontra comprometido com baixos valores de metilação do ADN.⁸⁸ Apesar das evidências entre alterações epigenéticas do ADN e idade paterna com conseqüente impacto na descendência serem bastante claras, ainda permanece por esclarecer de que forma ocorre a herança epigenética entre gerações.

Repercussões na Descendência

Como já discutido anteriormente, a idade paterna aumenta a susceptibilidade a uma série de alterações como a fragmentação do ADN, instabilidade genética assim como modificações epigenéticas. Todos estes factores, aliados à ocorrência de mutações de novo e anomalias cromossómicas, têm alguma influência na fertilidade, e mesmo que haja uma gravidez bem sucedida, estes podem manifestar-se na descendência.

Implicações Perinatais

Para uma idade paterna igual ou superior a 35 anos, quando comparado com indivíduos de idade inferior, o risco de abortamento espontâneo entre a 6ª e a 20ª semana foi de 1.27, sem modificação com a idade materna. Em casais com idade materna inferior a 30 anos, esse risco para pais com 35 anos ou mais foi de 1.56 no primeiro trimestre e de 0.87 no início do segundo trimestre.⁸⁹ O abortamento espontâneo deve-se provavelmente a anomalias cromossómicas. Alguns estudos associaram a idade paterna a um aumento do risco de parto pré termo,⁹⁰ embora outros não tenham encontrado essa relação.⁹¹ A idade paterna também foi relacionada com o risco aumentado de pré-eclampsia, condição capaz de comprometer a saúde materna e fetal.⁹²

Mutações de ADN

Diferentemente do que ocorre na oogénese, os espermatozóides dividem-se continuamente ao longo da vida reprodutiva acumulando, deste modo, um maior número de divisões celulares, o que os torna mais susceptíveis à aquisição de variantes ou mutações de novo na linha germinativa. Para além disso, com o avançar da idade, o ambiente testicular torna-se mais propício a efeitos tóxicos do stress oxidativo.⁹³ Estima-se que a contribuição paterna para a existência de mutações de novo na descendência seja de 4% por ano.⁹⁴ Um estudo recente, realizado em indivíduos saudáveis, demonstrou que a ocorrência de mutações de novo na linha germinativa de pais com idade igual ou superior a 40 foi quase o dobro das verificadas em pais com menos 20 anos.⁹⁵ Na literatura surgem também dados consistentes com um aumento de anomalias estruturais como deleções e duplicações nos espermatozóides de homens com mais idade.⁹⁶ A ocorrência de mais erros no remodelamento pós meiótico da cromatina e na reparação do ADN também pode resultar em mutações de novo.⁹⁷

As mutações por substituição de uma só base são responsáveis por várias doenças fortemente relacionadas com a idade paterna avançada como é o caso das mutações nos genes *FGFR2* e *FGFR3* que originam Síndrome de Apert e Acondroplasia, respectivamente.^{98,99} Outras

condições associadas, embora menos documentadas, incluem a Síndrome de Pfeiffer e de Crouzon¹⁰⁰, a displasia tanatofórica¹⁰¹ assim como MEN2A e MEN2B.¹⁰²

Aneuploidias Cromossômicas

O processo de aneuploidia cromossômica acontece num espermatozóide que sofre processo de meiose mas os cromossomas não são divididos de igual modo nas células filhas. Os espermatozóides de indivíduos com mais idade podem ser mais susceptíveis à ocorrência de aneuploidia cromossômica.¹⁰³ Esta problemática agrava-se quando processos como a replicação e a reparação do ADN se encontram comprometidos, encontrando-se o número de espermatozóides com material genético danificado associado a um aumento das quebras de ADN e a uma diminuição da apoptose durante a espermatogénese.⁷⁰ A maioria dos embriões com aneuploidia morrem *in utero*, constituindo assim as aneuploidias cromossômicas a principal causa de abortamento.¹⁰⁴ Embora a presença de dissomia por autossoma seja de aproximadamente 0.1% entre os homens saudáveis,¹⁰⁵ este número aumenta consideravelmente com a idade paterna.

Recentemente, um estudo demonstrou altas taxas de aneuploidia embrionária em filhos de pais com idade igual ou superior a 50 anos (73,9%), tendo-se verificado percentagens de aneuploidia de 61.1% e 59.1% em indivíduos com idades entre 40 e 49 e inferior ou igual a 39, respectivamente.¹⁰⁶ Um estudo do tipo caso controlo concluiu que a idade paterna se associa a risco aumentado de desenvolver aneuploidias que envolvem os cromossomas 13, 18, X e Y. Essa associação é particularmente evidente na Síndrome de Klinefelter (XXY) bem como na Síndrome XYY, dada a maior percentagem de contribuição paterna nestas anomalias.¹⁰⁷ Um estudo relativo à Síndrome de Down sugere que a idade paterna tem influência na sua incidência apenas na presença de idade materna avançada concomitante, sendo que a partir dos 40 anos maternos, a influência dos dois progenitores é igual.¹⁰⁸ Esta associação com a idade paterna pode justificar o aumento exponencial de Síndrome de Down em mulheres com mais de 35 anos.

Cancros na Infância

Alguns cancros mais típicos da infância também têm sido apontados como consequência de mutações pontuais devido à idade paterna avançada. Um estudo norte americano associou o aparecimento de retinoblastoma à idade paterna.¹⁰⁹ No entanto, um estudo anterior realizado na Suécia exhibe conclusões contrárias, tendo associado o risco de retinoblastoma sobretudo à idade materna.¹¹⁰ Este último estudo documentou um aumento do

risco de neoplasias do SNC com a idade paterna avançada, com destaque para o astrocitoma.¹¹⁰ As neoplasias hematológicas também podem estar implicadas. Uma meta-análise recente verificou que por cada 5 anos de aumento da idade paterna, o risco de Leucemia Linfoblástica Aguda em crianças aumenta cerca 4%.¹¹¹ Em relação à Leucemia Mieloblástica Aguda, apesar de alguns estudos sugerirem um aumento do seu risco com a idade paterna,¹¹² a mesma meta-análise não conseguiu demonstrar essa associação.¹¹¹

Alterações do Neurodesenvolvimento

As alterações do neurodesenvolvimento têm sido também bastante estudadas. Um estudo reportou um aumento de vários tipos de doenças psiquiátricas em filhos de pais com idade igual ou superior a 45 anos, nomeadamente de esquizofrenia, atraso mental e doenças do espectro do autismo.¹¹³ Outro estudo, ajustado para factores confundidores intrafamiliares, veio reforçar estas relações e demonstrou que a idade paterna se relaciona com aumento do risco de doenças do espectro do autismo, hiperactividade/défice de atenção, psicose, doença bipolar, ideação suicida, abuso de substâncias e ainda se associa a dificuldades no aproveitamento escolar.¹¹⁴ De todas estas patologias, as que se encontram melhor documentadas são a esquizofrenia e as doenças do espectro do autismo. A Esquizofrenia é uma doença de etiologia multifactorial mas a componente genética tem um papel fundamental e estima-se que cerca de 25% de todos os casos se deva a idade paterna avançada.¹¹⁵ A idade paterna constitui assim um factor de risco independente para a esquizofrenia e a evidência de uma associação mais forte na ausência de história familiar realça o papel das mutações de novo na linhagem germinativa paterna como causa da doença. Uma meta-análise comprovou a relação entre a idade paterna e a incidência das doenças do espectro do autismo. Verificou-se que nos grupos de indivíduos com idade superior a 50 anos, o risco é duas vezes maior quando comparados com pais com menos de 29 anos, tendo os dados sido controlados para a idade materna e outros factores de risco.¹¹⁶ Um estudo mais recente revelou que alterações epigenéticas como a metilação do ADN também podem contribuir para um risco acrescido deste espectro de doenças.¹¹⁷ Tendo em consideração a associação estabelecida anteriormente entre as alterações epigenéticas e a idade paterna, surge assim uma possível explicação para a ocorrência de doenças do neurodesenvolvimento na descendência de pais de idade superior.

Impacto no resultado das técnicas de PMA

Uma meta-análise que envolveu 16 estudos documentou uma ligação entre o aumento da fragmentação do ADN e a redução da mobilidade dos espermatozóides com resultados mais precários das técnicas de PMA, com taxas de gravidez inferiores e mais abortamentos espontâneos. Constatou-se também que o dano do ADN estava associado a taxas de gravidez menores com a FIV, mas o mesmo não aconteceu com a ICSI, embora o aumento do número de abortamentos se tenha verificado nas duas técnicas.¹¹⁸ Um outro estudo recente demonstrou que uma redução da motilidade progressiva dos espermatozóides afecta as taxas de fertilização resultantes da FIV e da ICSI. O mesmo estudo concluiu também que a idade paterna superior a 51 anos, quando a idade materna excede os 37 anos, se associa a taxas de gravidez menores por estas técnicas de PMA.¹¹⁹ Tal como referido anteriormente, parece existir uma relação entre a idade paterna mais avançada e a fragmentação do ADN e o mesmo parece suceder com a motilidade dos espermatozóides, pelo que seria de supor que a idade paterna mais avançada teria um impacto negativo no resultado das técnicas de PMA. No entanto, os resultados de vários estudos não são conclusivos em relação a esta temática. Num estudo prospectivo recente, em que 278 pacientes se submeteram a ICSI ou FIV, não foi encontrada influência significativa entre a idade paterna e a capacidade de fertilização.¹²⁰ A presença de estudos com conclusões díspares acerca da influência da idade paterna na eficácia das técnicas de PMA não permite que se estabeleça uma associação clara entre estes dois factores. Em relação aos resultados da técnica de extração testicular microcirúrgica de espermatozoides, um estudo que comparou homens com mais de 50 anos com homens mais novos, constatou que a taxa de recuperação dos espermatozóides não reduziu na população mais velha. Apesar do aumento dos níveis de FSH poderem indicar um aumento da disfunção espermatogénica com a idade paterna, este método parece ser ainda uma forma eficaz de obter espermatozóides nos homens azoospermicos com idade avançada.¹²¹

Nos últimos anos sugeriu-se que a integridade do ADN também se encontra intimamente relacionada com o desenvolvimento embrionário precoce, afectando-o negativamente e reduzindo a taxa de implantação subsequente após a fertilização por técnicas de PMA.^{122,123} Um outro estudo revelou igualmente um forte impacto negativo do dano do ADN espermático nas taxas de gravidez assim como em todas as fases do desenvolvimento embrionário precoce. Na presença de altas percentagens de ADN fragmentado, os embriões derivados de ICSI mostraram ser de melhor qualidade quando comparados aos derivados de FIV, nas mesmas circunstâncias.¹²⁴ No entanto, uma meta-análise de 7 estudos de FIV e FIV/ICSI concluiu que a idade paterna não está associada a um aumento do risco de abortamento

espontâneo após uma gravidez estabelecida.¹²⁵ Similarmente, num estudo realizado recentemente, não foi detectado nenhum efeito da idade paterna avançada na evolução de uma gravidez resultante de PMA até às 8 semanas de gestação.¹²⁶ Apesar da forte evidência do impacto negativo da fragmentação do ADN nos resultados das técnicas de PMA e no desenvolvimento embrionário precoce, a disparidade entre os estudos não permite esclarecer totalmente a influência da idade paterna nestes parâmetros.

Conclusões

A maioria dos estudos revistos sugere que a idade paterna avançada pode associar-se a uma diminuição da fertilidade masculina através de implicações directas como alterações no espermograma ou modificações genéticas, apresentando também repercussões na saúde dos descendentes. Apesar de haver uma quantidade significativa de artigos que se debruçam sobre os efeitos negativos da idade paterna na fertilidade, os mecanismos moleculares subjacentes a esses efeitos continuam por explicar. Seria interessante que no futuro se realizassem mais estudos com o intuito de clarificar esta problemática, dado que a concepção em idades mais tardias é uma realidade cada vez mais prevalente e, como relatado, tem consequências muito importantes. Assim, um conhecimento crescente nesta área possibilitaria o desenvolvimento de programas de aconselhamento pré natal direccionados a homens com idade mais avançada, com o objectivo de os informar acerca de todas as implicações deste factor na fertilidade, ao mesmo tempo que teria benefícios ao nível do diagnóstico bem como da terapêutica dos casais inférteis.

Referências Bibliográficas

1. Adamson GD, Mouzon J De, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART. *Fertil Steril*. 2009;92(5):1520-1524.
2. Direção-Geral da Saúde. Saúde Reprodutiva Infertilidade Cuidados de Saúde Hospitalares. *Orientações DGS*. 2011:5-6.
3. NHS Choices. Infertility. 2014.
<http://www.nhs.uk/conditions/Infertility/Pages/Introduction.aspx>.
4. Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, Lipshultz LI SM, Thomas AJ, Schlegel PN, Howards SS NA, Damewood MD, Overstreet JW, Sadovsky R. Best practice policies for male infertility. *Fertil Steril*. 2002;77(5):873-882.
5. Martinez G, Daniels K, Chandra A. Fertility of men and women aged 15-44 years in the United States: National Survey of Family Growth, 2006-2010. *Natl Heal Stat Rep*. 2012;51:1-28.
6. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;13:37.
7. Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking : potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod*. 2007;22(6):1506-1512.
8. Silva Carvalho JL, Santos A. Estudo AFRODITE. Caracterização Da Infertilidade Em Portugal. Estudo Na Comunidade. 2009:9-73.
9. Mills M, Rindfuss R, McDonald P, Velde E. Why do people postpone parenthood? Reasons and social policy incentives. *Hum Reprod Updat*. 2011;17(6):848-860.
10. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, Lopes P, Tabaste JM, Spira A. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). *Hum Reprod*. 1991;6(6):811-816.
11. Sharma R, Agarwal A, Rohra V, Assidi M, Abu-Elmagd M, Turki RF. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;13(1):35.
12. Stern J E, Luke B H, Mark D C, Howard C, Gopal D, Diop H, Kotelchuck M. The effect of father's age in fertile, subfertile, and assisted reproductive technology pregnancies: A population based cohort study. *J Assist Reprod Genet*. 2014;31(11):1437-1444.

13. Luke B, Brown MB. Elevated risks of pregnancy complications and adverse outcomes with increasing maternal age. *Hum Reprod.* 2007;1264-1272.
14. Reefhuis J, Honein MA. Maternal age and non-chromosomal birth defects, Atlanta–1968–2000: teenager or thirty-something, who is at risk? *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2004;70(9):572-579.
15. Sandin S, Hultman CM, Kolevzon A, Gross R, MacCabe JH, Reichenberg A. Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: a review and meta-analysis. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2012:477-486.
16. World Health Organization. WHO laboratory manual for Examination and processing of human semen. *WHO Press.* 2010;Fifth Edit.
17. Andolz P, Bielsa M, Vila J. Evolution of semen quality in North-eastern Spain: a study in 22,759 infertile men over a 36 year period. *Hum Reprod.* 1999;14:731-735.
18. Sengupta P. Reviewing reports of semen volume and male aging of last 33 years: From 1980 through 2013. *Asian Pacific J Reprod.* 2015;4(3):242-246.
19. Auger J, Kunstmann J, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med.* 1995;332:281-285.
20. Johnson SL, Dunleavy J, Gemmell NJ, Nakagawa S. Consistent age-dependent declines in human semen quality: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2015;19:22-33.
21. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek A. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril.* 2001;75:237-248.
22. Eskenazi B, Wyrobek AJ, Slotter E, Kidd SA, Moore L, Young S, Moore D. The association of age and semen quality in healthy men. *Hum Reprod.* 2003;18:447-454.
23. Schneider E. The aging reproductive system. *Raven Press New York.* 1978.
24. Cassina A, Silveira P, Cantu L, Montes JM, Radi R, Sapiro R. Defective Human Sperm Cells Are Associated with Mitochondrial Dysfunction and Oxidant Production. *Biol Reprod.* 2015;93:119,1-10.
25. Johnson L. Spermatogenesis and aging in the human. *J Androl.* 1986;7:331-354.
26. Yeste M, Jones C, Amdani SN, Yelumalai S, Mounce G. Does advancing male age influence the expression levels and localisation patterns of phospholipase C zeta (PLC ζ) in human sperm ? *Nat Publ Gr.* 2016:1-9.
27. Singh J, O'Neill C, Handelsman DJ. Induction of spermatogenesis by androgens in gonadotropin-deficient (hpg) mice. *Endocrinology.* 1995;136(12):5311-5321.
28. Handelsman DJ, Staraj S. Testicular size: the effects of aging, Malnutrition and illness. *J Androl.* 1985:144-151.

29. Mahmoud AM, Goemaere S, El-Garem Y, Van Pottelbergh I, Comhaire FH, Kaufman JM. Testicular Volume in Relation to Hormonal Indices of Gonadal Function in Community-Dwelling Elderly Men. *J Clin Endocrinol*. 2003;88:179-184.
30. Johnson L, Grumbles JS, Bagheri A, Petty CS. Increased germ cell degeneration during postprophase of meiosis is related to increased serum follicle-stimulating hormone concentrations and reduced daily sperm production in aged men. *Biol Reprod*. 1990;42:281-287.
31. Neaves WB, Johnson L, Porter JC, Parker Jr CR, Petty CS. Leydig cell numbers, daily sperm production, and serum gonadotropin levels in aging men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1984;756-763.
32. Wu FC, Tajar A, Pye SR, Silman AJ, Finn JD, O'Neill TW. Hypothalamic-pituitary-testicular axis disruptions in older men are differentially linked to age and modifiable risk factors: the European Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;2737-2745.
33. Calabrese V, Scapagnini G, Davinelli S, Koverech G, Koverech A, Pasquale C, Trovato Salinaro Genazzani A, Scuto M, Calabrese EJ, Genazzani AR. Sex hormonal regulation and hormesis in aging and longevity : role of vitagenes. *J Cell Commun*. 2014;8:369-384.
34. Mohr BA, Guay AT, O'Donnell AB, McKinlay JB. Normal, bound and nonbound testosterone levels in normally ageing men: results from the Massachusetts Male Ageing Study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62:64-73.
35. Ko YH, Kim JJ. Testosterone replacement therapy for late-onset hypogonadism : current trends in Korea. *Asian J Androl*. 2011;13(4):563-568.
36. Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM GL, Kaufman JM, Legros JJ, Lunenfeld B MJ, Schulman C, Wang C, Weidner W, Wu FCW. Investigation, treatment and monitoring of lateonset hypogonadism in males. *Aging Male*. 2005;8:56-58.
37. Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren LJ, Kaufman JM, Legros J-J, Lunenfeld B, Morales A, Morley JE, Schulman C, Thompson IM, Weidner W, Wu FCW. Investigation , treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA , ISSAM , EAU , EAA and ASA recommendations. *Eur J Endocrinol*. 2008;159(5):507-514.
38. Lambert SM, Masson P, Fisch H. The male biological clock. *World J Urol*. 2006;24:611-617.
39. Feldman HA, Longcope C, Derby CA, Johannes CB, Araujo A, Coviello AD, Bremner WJ, McKinlay JB. Age Trends in the Level of Serum Testosterone and Other Hormones in Middle-Aged Men : Longitudinal Results from the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(2):589-598.

40. Brewis A, Meyer M. Marital coitus across the life course. *J Biosoc Sci.* 2005;37(4):499-518.
41. Leary MPO, Rhodes T, Girman CJ, Jacobson DJ, Roberts RO, Lieber MM, Jacobsen SJ. Distribution of the Brief Male Sexual Inventory in community men. *Int J Impot Res.* 2003:185-191.
42. Blanker MH, Bosch JLHR, Groeneveld FPMJ BA, Prins A, Thomas S, Hop WCJ. Erectile and ejaculatory dysfunction in a community-based sample of men 50 to 78 years old: prevalence, concern, and relation to sexual activity. *Urology.* 2001;57(4):763-768.
43. O'Brien JH, Lazarou S, Deane L, Jarvi K, Zini A. Erectile dysfunction and andropause symptoms in infertile men. *J Urol.* 2005;174:1932-1934.
44. Agarwal A, Gupta S, Plessis SD, Sharma R, Esteves SC, Cirenza C, Eliwa J, Al-Najjar W, Kumaresan D, Haroun N, Philby S, Sabanegh E. Abstinence Time and Its Impact on Basic and Advanced Semen Parameters. *Urology.* 2016;94:102-110.
45. Lotti F, Corona G, Castellini G, Maseroli E, Fino MG, Cozzolino M, Maggi M. Semen quality impairment is associated with sexual dysfunction according to its severity. *Hum Reprod.* 2016;31:2668-2680.
46. Samplaski MK, Nangia AK. Adverse effects of common medications on male fertility. *Nat Rev Urol.* 2015;12:401-413.
47. Eisenberg ML, Meldrum D. Effects of age on fertility and sexual function. *Fertil Steril.* 2017;107(2):301-304.
48. Kasturi SS, Tannir J, Brannigan RE. The metabolic syndrome and male infertility. *J Androl.* 2008;29(3):251-259.
49. Katib AA, Al-Hawsawi K, Motair W, Bawa AM. Secondary infertility and the aging male, overview. *Cent Eur J Urol.* 2014;67(2):184-188.
50. Fedder J, Kaspersen MD, Brandslund I, Højgaard A. Retrograde ejaculation and sexual dysfunction in men with diabetes mellitus: a prospective, controlled study. *Andrology.* 2013;1(4):602-606.
51. Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev.* 2008;4(1):46-54.
52. Lu J-C, Jing J, Yao Q, Fan K, Wang G-H, Feng R-X, Liang Y-J, Chen L, Ge Y-F, Yao B. Relationship between Lipids Levels of Serum and Seminal Plasma and Semen Parameters in 631 Chinese Subfertile Men. *PLoS One.* 2016;11(1):e0146304.

53. Inman BA, Jacobson JLStSDJ, McGree ME, Nehra A, Lieber MM, Roger VL, Jacobsen SJ. A Population-Based, Longitudinal Study of Erectile Dysfunction and Future Coronary Artery Disease. *Mayo Clin Proc.* 2009;84(2):108-113.
54. Sadovsky R, Basson R, Krychman M, Morales AM, Schover L, Wang R, Incrocci L. Cancer and sexual problems. *J Sex Med.* 2010;7:349-373.
55. Li M-K, Garcia LA, Rosen R. Lower urinary tract symptoms and male sexual dysfunction in Asia: a survey of ageing men from five Asian countries. *BJU Int.* 2005;96(9):1339-1354.
56. Tu HY, Zini A. Finasteride-induced secondary infertility associated with sperm DNA damage. *Fertil Steril.* 2011;95:2125.
57. Villegas J, Schulz M, Soto L, Sanchez R. Bacteria induce expression of apoptosis in human spermatozoa. *Apoptosis.* 2005;10:105-110.
58. Aoki VW, Moskovtsev SI, Willis J, Liu L, Mullen JB, Carrell DT. DNA integrity is compromised in protamine-deficient human sperm. *J Androl.* 2005;26:741-748.
59. Aoki VW, Emery BR, Liu L, Carrell DT. Protamine levels vary between individual sperm cells of infertile human males and correlate with viability and DNA integrity. *J Androl.* 2006;27:890-898.
60. Oliva R. Protamines and male infertility. *Hum Reprod Updat.* 2006;12:417-435.
61. Carrell DT, Emery BR, Hammoud S. The aetiology of sperm protamine abnormalities and their potential impact on the sperm epigenome. *Int J Androl.* 2008;31:537-545.
62. Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E A-HM, Thomas AJ, Agarwal A. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum Reprod.* 2004;19:129-138.
63. Moskovtsev SI, Alladin N, Lo KC, Jarvi K, Mullen JB, Librach CL. A comparison of ejaculated and testicular spermatozoa aneuploidy rates in patients with high sperm DNA damage. *Syst Biol Reprod Med.* 2012;58:142-148.
64. Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. Analysis of sperm aneuploidies and DNA fragmentation in patients with globozoospermia or with abnormal acrosomes. *Urology.* 2011;77:1343-1348.
65. Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. Study of aneuploidy rate and sperm DNA fragmentation in large-headed, multiple-tailed spermatozoa. *Andrologia.* 2012;44:130-135.
66. Alshahrani S, Agarwal A, Assidi M, Abuzenadah AM, Durairajanayagam D, Ayaz A, Sharma R, Sabanegh E. Infertile men older than 40 years are at higher risk of sperm DNA damage. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12:103.

67. Belloc S, Benkhalifa M, Junca AM, Dumont M, Bacrie PC, Ménézo Y. Paternal age and sperm DNA decay : discrepancy between chromomycin and aniline blue staining. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(2):264-269.
68. Belloc S, Benkhalifa M, Cohen-bacrie M. Sperm deoxyribonucleic acid damage in normozoospermic men is related to age and sperm progressive motility. *Fertil Steril*. 2014;101(6):1588-1593.
69. Das M, Al-Hathal N, San-Gabriel M, Phillips S, Kadoch IJ, Bissonnette F, Holzer H, Zini A. High prevalence of isolated sperm DNA damage in infertile men with advanced paternal age. *J Assist Reprod Genet*. 2013;30:843-848.
70. Singh N, Muller C, Berger R. Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. *Fertil Steril*. 2003;80:1420-1430.
71. El-Domyati MM, Al-Din AB, Barakat MT, El-Fakahany HM, Xu J, Sakkas D. Deoxyribonucleic acid repair and apoptosis in testicular germ cells of aging fertile men: the role of the poly(adenosine diphosphate-ribosyl)ation pathway. *Fertil Steril*. 2009;91:2221-2229.
72. Dolcetti R, De Rossi A. Telomere/telomerase interplay in virus-driven and virus-independent lymphomagenesis: pathogenetic and clinical implications. *Med Res Rev*. 2012;32:233-253.
73. Rocca MS, Speltra E, Menegazzo M, Garolla A, Foresta C, Ferlin A. Sperm telomere length as a parameter of sperm quality in normozoospermic men. *Hum Reprod*. 2016;31(6):1158-1163.
74. Shuyuan L, Changjun Z, Haiying P, Xiaoqin H, Hao S, Keqin L, Kai H, Jiayou C, Zhaoqing Y. Association study of telomere length with idiopathic male infertility. *Yi Chuan*. 2015;37(11):1137-1142.
75. Ferlin A, Rampazzo E, Rocca MS, Keppel S, Frigo AC, De Rossi A. In young men sperm telomere length is related to sperm number and parental age. *Hum Reprod*. 2013;28:3370-3376.
76. Thilagavathi J, Kumar M, Mishra SS, Venkatesh S, Kumar R, Dada R. Analysis of sperm telomere length in men with idiopathic infertility. *Arch Gynecol Obs*. 2013;287:803-807.
77. Antunes DMF, Kalmbach KH, Wang F, Dracxler RC, Seth-smith ML, Kramer Y, Buldo-licciardi J, Kohlrausch FB, Keefe DL. A single-cell assay for telomere DNA content shows increasing telomere length heterogeneity , as well as increasing mean telomere length in human spermatozoa with advancing age. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32:1685-1690.

78. Aston KI, Hunt SC, Susser E, Kimura M, Factor-Litvak P, Carrell D, Aviv A. Divergence of sperm and leukocyte age-dependent telomere dynamics: implications for male-driven evolution of telomere length in humans. *Mol Hum Reprod.* 2012;18:517-522.
79. Belleannee C, Legare C, Calvo E, Thimon V, Sullivan R. MicroRNA signature is altered in both human epididymis and seminal microvesicles following vasectomy. *Hum Reprod.* 2013;28:1455-1467.
80. Tsatsanis C, Bobjer J, Rastkhani H, Dermitzaki E, Katrinaki M, Margioris AN, Giwercman YL, Giwercman A. Serum miR-155 as a potential biomarker of male fertility. *Hum Reprod.* 2015;30(4):853-860.
81. Kotaja N. MicroRNAs and spermatogenesis. *Fertil Steril.* 2014;101:1552-1562.
82. Harries LW. MicroRNAs as Mediators of the Ageing Process. *Gene.* 2014;5:656-670.
83. Zhang J, Liu Q, Zhang W, Li J, Li Z, Tang Z. Comparative profiling of genes and miRNAs expressed in the newborn, young adult, and aged human epididymides. *Acta Biochim Biophys Sin.* 2010;42:145-153.
84. Feil R, Fraga MF. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nat Rev Genet.* 2012;13:97-109.
85. Houshdaran S, Cortessis VK, Siegmund K, Yang A, Laird PW, Sokol RZ. Widespread Epigenetic Abnormalities Suggest a Broad DNA Methylation Erasure Defect in Abnormal Human Sperm. *PLoS One.* 2007;2(12):e1289.
86. Dada R, Kumar M, Jesudasan R, Fernandez JL, Gosalvez J, Agarwal A. Epigenetics and its role in male infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29:213-223.
87. Jenkins TG, Aston KI, Cairns BR, Carrell DT. Paternal aging and associated intraindividual alterations of global sperm 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine levels. *Fertil Steril.* 2013;100:945-951.
88. Benchaib M, Braun V, Ressnikof D, Lornage J, Durand P, Niveleau A, Guérin JF. Influence of global sperm DNA methylation on IVF results. *Hum Reprod.* 2005;20:768-773.
89. Slama R, Bouyer J, Windham G, Fenster L, Werwatz A, Swan SH. Influence of paternal age on the risk of spontaneous abortion. *Am J Epidemiol.* 2005;161(9):816-823.
90. Astolfi P, De Pasquale A, Zonta LA. Paternal Age and Preterm Birth in Italy, 1990 to 1998. *Epidemiology.* 2006;17(2):218-221.
91. Chen X-K, Wen SW, Krewski D, Fleming N, Yang Q, Walk MC. Paternal age and adverse birth outcomes: teenager or 40+, who is at risk? *Hum Reprod.* 2008;23(6):1290-1296.
92. Harlap S, Paltiel O, Deutsch L, Knaanie A, Masalha S, Tiram E, Caplan LS, Malaspina D, Friedlander Y. Paternal Age and Preeclampsia. *Epidemiology.* 2002;13(6):660-667.

93. Crow JF. The origins, patterns and implications of human spontaneous mutation. *Nat Rev Genet.* 2000;1:40-47.
94. Kong A, Frigge ML, Masson G, Besenbacher S, Sulem P, Magnusson G. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature.* 2012;488:471-475.
95. Girard SL, Bourassa CV, Perreault L-PL, Legault M-A, Barhdadi A, Ambalavanan A, Brendgen M, Vitaro F, Noreau A, Dionne G, Tremblay RE, Dion PA, Boivin M, Pier M, Rouleau GA. Paternal Age Explains a Major Portion of De Novo Germline Mutation Rate Variability in Healthy Individuals. *PLoS One.* 2016;11:e0164212.
96. Templado C, Donate A, Giraldo J, Bosch M, Estop A. Advanced age increases chromosome structural abnormalities in human spermatozoa. *Eur J Hum Genet.* 2011;19:145-151.
97. Grégoire MC, Massonneau J, Simard O, Gouraud A, Brazeau MA, Arguin M, Leduc F, Boissonneault G. Male-driven de novo mutations in haploid germ cells. *Mol Hum Reprod.* 2013;19:495-499.
98. Whelan EC, Nwala AC, Osgood C, Olariu S. Selective mutation accumulation: a computational model of the paternal age effect. *Bioinformatics.* 2016;32:3790-3797.
99. Yoon S-R, Qin J, Glaser RL, Jabs EW, Wexler NS, Sokol R, Arnheim N, Calabrese P. The Ups and Downs of Mutation Frequencies during Aging Can Account for the Apert Syndrome Paternal Age Effect. *PLoS Genet.* 2009;5(7):e1000558.
100. Glaser RL, Jiang W, Boyadjiev SA, Tran AK, Zachary AA, Maldergem LV, Johnson D, Walsh S, Oldridge M, Wall SA, Wilkie AOW, Jabs EW. Paternal origin of FGFR2 mutations in sporadic cases of Crouzon syndrome and Pfeiffer syndrome. *Am J Hum Genet.* 2000;66:768-777.
101. Orioli IM, Castilla EE, Scarano G, Mastroiacovo P. Effect of paternal age in achondroplasia, thanatophoric dysplasia, and osteogenesis imperfecta. *Am J Med Genet.* 1995;59:209-217.
102. Jung A, Schuppe HC, Schill WB. Are children of older fathers at risk for genetic disorders? *Andrologia.* 2003;35:191-199.
103. Lowe X, Eskenazi B, Nelson DO, Kidd S, Alme A, Wyrobek AJ. Frequency of XY sperm increases with age in fathers of boys with Klinefelter syndrome. *Am J Hum Genet.* 2001;69:1046-1054.
104. Jacobs PA. The chromosome complement of human gametes. *Oxf Rev Reprod Biol.* 1992;14:47-72.

105. Templado C, Vidal F, Estop A. Aneuploidy in human spermatozoa. *Cytogenet Genome Res.* 2011;133:91-99.
106. Garcia-Ferreira J, Luna D, Villegas L, Romero R, Zavala P, Hilario R. High aneuploidy rates observed in embryos derived from donated oocytes are related to male aging and high percentages of sperm DNA fragmentation. *Clin Med Insights Reprod Heal.* 2015;9:21-27.
107. De Souza E, Morris JK. Case-control analysis of paternal age and trisomic anomalies. *Arch Dis Child.* 2010;95:893-897.
108. Fisch H, Hyun G, Golden R, Hensle TW, Olsson CA, Liberson GL. The influence of paternal age on down syndrome. *J Urol.* 2003;169(6):2275-2278.
109. Heck JE, Lombardi CA, Meyers TJ, Cockburn M, Wilhelm M, Ritz B. Perinatal characteristics and retinoblastoma. *Cancer Causes Control.* 2012;23:1567-1575.
110. Yip BH, Pawitan Y, Czene K. Parental age and risk of childhood cancers: a population-based cohort study from Sweden. *Int J Epidemiol.* 2006;35(6):1495-1503.
111. Sergentanis TN, Thomopoulos TP, Gialamas SP, Karalexi MA, Biniaris-Georgallis S-I, Kontogeorgi E, Papatoma P, Tsilimidos G, Skalkidou A, Iliadou AN, Petridou ET. Risk for childhood leukemia associated with maternal and paternal age. *Eur J Epidemiol.* 2015;30(12):1229-1261.
112. Larfors G, Hallböök H, Simonsson B. Parental Age, Family Size, and Offspring's Risk of Childhood and Adult Acute Leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(7):1185-1190.
113. McGrath JJ, Petersen L, Agerbo E, Mors O, Mortensen PB, Pedersen CB. A Comprehensive Assessment of Parental Age and Psychiatric Disorders. *JAMA Psychiatry.* 2014;71(3):301-309.
114. D'Onofrio BM, Rickert ME, Frans E, Kuja-Halkola R, Almqvist C, Sjölander A, Larsson H, Lichtenstein P. Paternal Age at Childbearing and Offspring Psychiatric and Academic Morbidity. *JAMA Psychiatry.* 2014;71(4):432-438.
115. Malaspina D, Harlap S, Fennig S, Heiman D, Nahon D, Feldman D, Susser ES. Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2001;58:361-367.
116. Hultman CM, Sandin S, Levine SZ, Lichtenstein P, Reichenberg A. Advancing paternal age and risk of autism: new evidence from a population-based study and a meta-analysis of epidemiological studies. *Mol Psychiatry.* 2011;16:1203-1212.

117. Feinberg JI, Bakulski KM, Jaffe AE, Tryggvadottir R, Brown SC, Goldman LR, Croen LA, Hertz-Picciotto I, Newschaffer CJ, Fallin MD, Feinberg AP. Paternal sperm DNA methylation associated with early signs of autism risk in an autism-enriched cohort. *Int J Epidemiol.* 2015;44(4):1199-1210.
118. Zhao J, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2014;102:998-1005.
119. Chapuis A, Gala A, Ferrières-Hoa A, Mullet T, Bringer-Deutsch S, Vintejou E, Torre A, Hamamah S. Sperm quality and paternal age: effect on blastocyst formation and pregnancy rates. *Basic Clin Androl.* 2017;27:2.
120. Nijs M, De Jonge C, Cox A, Janssen M, Bosmans E, Ombelet W. Correlation between male age, WHO sperm parameters, DNA fragmentation, chromatin packaging and outcome in assisted reproduction technology. *Andrology.* 2011;43:174-179.
121. Schlegel PN. Age Does Not Adversely Affect Sperm Retrieval in Men Undergoing Microdissection Testicular Sperm Extraction. *J Urol.* 2014;193(1):253-255.
122. Morris ID, Ilott S, Dixon L, Brison DR. The spectrum of DNA damage in human sperm assessed by single cell gel electrophoresis (Comet assay) and its relationship to fertilization and embryo development. *Hum Reprod.* 2002;17:990-998.
123. Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, Bonu MA, Fava L, Flamigni C. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Hum Reprod.* 2006;21:2876-2881.
124. Simon L, Murphy K, Shamsi MB, Liu L, Emery B, Aston KI. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. *Hum Reprod.* 2014;29:2402-2412.
125. Dain L, Auslander R, Dirnfeld M. The effect of paternal age on assisted reproduction outcome. *Fertil Steril.* 2011;95:1-8.
126. Marieke A, Ramos L, Fleischer K, Veltman JA, Hendriks JC, Braat DD. Influence of paternal age on ongoing pregnancy rate at eight weeks ' gestation in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2016;32(1):96-103.