



## O uso do Resveratrol na conservação do sêmen suíno sob refrigeração

*The use of Resveratrol in the preservation of boar semen under refrigeration*

Victor Henrique Bittar Rigo<sup>1</sup>, Simone Maria Massami Kitamura Martins<sup>2</sup>, Marcílio Nichi<sup>1</sup>,  
Flávia Vieira de Freitas<sup>2</sup>, André Furugen Cesar de Andrade<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Correspondência: [andrefc@usp.br](mailto:andrefc@usp.br)

### Resumo

A formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) é uma situação inevitável em organismos aeróbicos e são fundamentais em algumas funções do espermatozoide suíno quando em níveis fisiológicos, controlados pelo sistema antioxidante celular. Porém, um desequilíbrio entre a formação de EROs e antioxidantes endógenos, pode potencializar a ação daqueles agentes e acarretar danos em estruturas celulares levando à peroxidação da membrana plasmática, fragmentação de DNA, queda da função mitocondrial e reação acrossomal precoce. O uso de antioxidantes exógenos no sêmen tem apresentado resultados favoráveis, como a redução da concentração de malondialdeído (MDA) nas amostras seminais em decorrência da redução da peroxidação lipídica e, em virtude disto, menores danos espermáticos e melhor conservação destes gametas. À exemplo de antioxidantes não enzimáticos exógenos adicionados aos diluentes, encontram-se os compostos fenólicos, sendo o resveratrol, um antioxidante deste grupo com destaque em pesquisas na área de reprodução devido à sua ação benéfica para o espermatozoide contra as EROs. Por este motivo, a presença do antioxidante resveratrol no meio diluente do sêmen suíno pode se tornar uma realidade para auxiliar na redução dos efeitos do estresse oxidativo decorrente da ação das EROs produzidas e liberadas no ambiente espermático, sobre as ultraestruturas do espermatozoide durante o período de refrigeração, podendo proporcionar uma maior população de células viáveis funcional e estruturalmente por mais tempo.

**Palavras-chave:** antioxidante, aditivos, cachaço, preservação, refrigeração.

### Abstract

*The formation of reactive oxygen species (ROS) is an unavoidable situation in aerobic organisms and it is essential in some boar sperm functions when at physiological levels, controlled by the cellular antioxidant system. However, an imbalance between the production of ROS and endogenous antioxidants, may potentiate the action of those agents and result in damage to cell structures leading to peroxidation of the cell membrane, DNA fragmentation, loss of mitochondrial function and early acrosome reaction. The use of exogenous antioxidants in semen has presented favorable results, such as reducing the concentration of malondialdehyde (MDA) in semen samples due to the reduction of lipid peroxidation and, because of this, less sperm damage and better preservation of the gametes. As an example of non-enzymatic exogenous antioxidant added to diluents, the phenolic compound resveratrol has been played an interesting role on reproduction area due to its beneficial action for the spermatozoa against ROS. Therefore, the presence of antioxidant resveratrol in boar extender medium might become a reality to help decreasing the oxidative stress effects induced by the action of ROS produced and released in sperm environment during the liquid storage. It might provide a greater amount of viable cells for a longer time of cooling.*

**Keywords:** antioxidant, additives, boar, preservation, liquid storage.

### Introdução

A inseminação artificial (IA) vêm sendo utilizada de forma crescente na produção de suínos e atualmente, é inquestionável sua importância como ferramenta visando o aumento da eficiência reprodutiva dentro da suinocultura moderna (Johnson et al., 2000; Gadea, 2003; Rodríguez-Martínez et al., 2005).

Há duas formas já utilizadas de conservação seminal para utilização na IA: a refrigeração e a congelamento. A redução da temperatura tem sido um método utilizado para prolongar a viabilidade dos espermatozoides ejaculados, devido a seu efeito de desaceleração dos processos metabólicos celulares (Almond et al., 1994).

É importante destacar que a membrana plasmática do espermatozoide suíno possui uma grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados e colesterol, que o torna muito suscetível à peroxidação lipídica durante a sua estocagem sob refrigeração (Cerolini et al., 2001; Fleisch et al., 2001; Kumaresan et al., 2009).



Neste sentido, a suplementação com moléculas antioxidantes pode reduzir o impacto do estresse oxidativo durante o processo de armazenamento do espermatozoide e assim melhorar a qualidade do sêmen refrigerado ou criopreservado.

Dentre os antioxidantes já estudados, existe, ainda, o Resveratrol (RVT), um potente antioxidante pertencente ao grupo dos compostos fenólicos (Kovacic e Somanathan, 2010). Diante do exposto, a presente revisão tem como intuito discutir sobre: 1 – a produção de EROs e a peroxidação lipídica; 2 – as características e mecanismos de ação do resveratrol; 3 – resveratrol no sêmen de cachorros. Desta forma, será permitindo ao leitor uma maior compreensão sobre a importância deste antioxidante, na reprodução da espécie suína.

### **Produção de EROs e a Peroxidação lipídica**

As principais fontes de EROs no ejaculado são os espermatozoides imaturos (Gil-Guzman et al., 2001), morfológica ou funcionalmente anormais e os leucócitos, que podem estar presentes no ejaculado (Aitken et al., 1995; Sikka, 1996; Aitken, 1997; Sanočka e Kurpisz, 2004; Zini e Libman, 2006; Marchesi e Feng, 2007; Maia e Bicudo, 2009). A geração de radicais livres ocorre, normalmente, na membrana plasmática pelo sistema NADPH-oxidase, nas mitocôndrias pelo NADH-oxireductase dependente (Agarwal e Saleh, 2002; Guerra et al., 2004) e citoplasma (Barbosa et al., 2010), e pode ser favorecida pela presença de íons ferro e cobre (Koury e Donangelo, 2003), sendo a mitocôndria a principal fonte geradora de radicais livres por meio da cadeia de transporte de elétrons (Green et al., 2004), responsável pela produção de mais de 90% de EROs na célula (Skulachev, 2012).

As EROs podem desempenhar funções fisiológicas, como a capacitação e hiperativação espermáticas, reação acrossomal e interação espermato-ocitária (De Lamirande et al., 1997; Burnaugh et al., 2007), ou ações deletérias ao sêmen de acordo com as suas concentrações. Portanto, o funcionamento ideal do sistema aeróbico depende de um equilíbrio gerado entre as quantidades de EROs produzidas e removidas pelo sistema antioxidante celular (Halliwell e Gutteridge, 2001; Maia e Bicudo, 2009).

Os espermatozoides recém-formados dependem, basicamente, da proteção dos antioxidantes presentes no plasma seminal (Carvalho et al., 2002; Alvarez e Moraes, 2006), que se torna a mais importante forma de proteção utilizada por estas células no combate às EROs (Sikka, 2004), uma vez que a síntese de proteínas nos espermatozoides é limitada (Zini et al., 1993) e portanto incapaz de gerar novas enzimas antioxidantes intracelulares.

No sêmen de reprodutores suínos, devido à baixa capacidade antioxidante de seu plasma seminal (Brezczynska-Slevbodsinska et al., 1995), observa-se importante ação dos peróxidos sobre as células espermáticas, interagindo de forma deletéria sobre os ácidos graxos poliinsaturados (AGP) em fosfolípidios presentes em sua membrana plasmática (Cerolini et al., 2001), induzindo o processo de lipoperoxidação (LPO), danos ao DNA e apoptose de espermatozoides (Kothari et al., 2010)

O ponto chave na iniciação da LPO é a remoção de uma molécula de hidrogênio da ligação com o carbono do AGP. Os AGPs (ácidos graxos poliinsaturados) são excelentes alvos para ataques das EROs por possuírem uma ou mais duplas ligações em sua longa cadeia de carbonos (Aitken et al., 1995; Lima e Abdalla, 2001; Nordberg e Arnér, 2001). Esse tipo de reação pode ser catalisada por metais de transição, especialmente o ferro e o cobre (Aitken et al., 2007), e comumente está dividida nas etapas de iniciação, propagação e terminação. A LPO altera a estrutura e permeabilidade da membrana, assim como sua fluidez, podendo prejudicar a fertilidade dos espermatozoides da amostra (Ferreira e Matsubara, 1997; Maia e Bicudo, 2009; Ball, 2011).

O radical hidroxila (OH<sup>•</sup>) é a molécula mais eficiente na retirada do hidrogênio, culminando no início da reação em cadeia da peroxidação lipídica (Benedet e Shibamoto, 2008). O processo é propagado por radicais peróxido e resulta na formação de hidroperóxidos lipídicos e aldeídos citotóxicos, tais como o malondialdeído (MDA), o 4-hidroxi-nonenal e os isoprostanos (Aitken et al., 1995; Lima e Abdalla, 2001; Nordberg e Arnér, 2001).

Barranco et al. (2015) demonstraram através de um método de determinação da capacidade total de antioxidantes presentes no plasma seminal (CTA-PS) desenvolvido por Erel (2004), que amostras de sêmen com baixa CTA-PS apresentam maior declínio na motilidade e viabilidade em comparação à amostras com alta CTA-PS. Estes autores concluíram portanto que o CTA-PS poderia proteger o espermatozoide de cachorros durante o armazenamento da dose inseminante sob refrigeração, especialmente se a amostra de sêmen fosse armazenada em condições inadequadas de temperatura e tempo de estocagem ou obtida de cachorros com espermatozoides menos criotolerantes.

A prática do uso de substâncias antioxidantes adicionadas a diluentes de sêmen, tem sido utilizada em várias espécies de forma a diminuir os efeitos deletérios causados pelos metabólitos reativos do oxigênio às células espermáticas. Apesar disto é de conhecimento que estes radicais livres também podem estar presentes em meios com ausência de células, por isto um maior estudo sobre a minimização dos efeitos tóxicos desses compostos sobre o espermatozoide pode ajudar a formulação de melhores diluentes (Maia et al., 2007).

### **Características e mecanismo de ação do resveratrol**

O RVT (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) é um composto polifenólico presente em uvas, amendoim,



frutas vermelhas e vinho (Kovacic e Somanathan, 2010). Este polifenol é um estilbeno formado através de uma reação de condensação entre 3 moléculas de malonil- CoA e uma molécula de 4 – cumaroil- CoA. É uma fitoalexina cuja função biológica é proteger a planta em resposta a ambientes estressantes, como infecções microbianas, radiação ultravioleta e flutuações de temperatura. Pode ser encontrado nas configurações *cis* ou *trans* (HAO e HE, 2004), sendo a forma *trans* mais estável e biodisponível. O precursor do RVT é a fenilalanina e a enzima estilbeno sintase catalisa a conversão desta em resveratrol (Jeandet et al., 2002).

A literatura contém numerosos relatos sobre as propriedades do RVT, incluindo anti-inflamatória, cardioprotetora, anticancerígena, antimicrobiana, antienvhecimento e antioxidante (Cottart et al., 2010), sendo o poder antioxidante, através da eliminação de radicais livres, a atividade biológica mais importantes (Xia et al., 2010).

O RVT tem a habilidade de inibir a formação de EROs pelas enzimas NADPH-oxidase (Li, 2011) e NADH-dependente oxireductase (Delmas et al., 2005) localizadas na membrana plasmática e mitocôndria do espermatozoide (Turens, 2003; Guerra et al., 2004).

### Resveratrol no sêmen de cachacos

Um amplo número de estudos demonstra que o RVT pode ser benéfico em vários aspectos da função celular e saúde animal, porém este composto apresenta uma dicotomia onde baixas doses melhoram a função celular enquanto altas doses aumentam a morte celular com concomitante redução da função da membrana mitocondrial (Zini et al., 1999; Sareen et al., 2006; Zunino e Storms, 2006; Pervais e Holme, 2009; Fulda et al., 2010; Low et al., 2010). Em relação ao sistema reprodutor do macho, pesquisas que focaram na ação do resveratrol apresentam resultados divergentes (Juan et al., 2005; Branco et al., 2010; Garcez et al., 2010; Collodel et al., 2011; Silva et al., 2012; Ourique et al., 2013).

Martin-Hidalgo et al. (2013) realizaram experimento com amostras de sêmen suíno suplementadas com diferentes concentrações de RVT (10, 33, 66 e 100  $\mu$ M) para avaliarem parâmetros convencionais ligados à qualidade seminal como viabilidade espermática, fluidez de membrana plasmática, integridade de membrana acrossomal e potencial de membrana mitocondrial. Os resultados obtidos não permitiram concluir se a adição do RVT melhorou ou se houve efeito adverso na preservação do sêmen armazenado a 17°C, entretanto estes autores constataram que o resultado mais evidente foi a redução do potencial de membrana mitocondrial observado em espermatozoides tratados com qualquer concentração de RVT (10-100  $\mu$ M).

Gadani et al. (2017) avaliaram o efeito da suplementação do diluente de congelamento suíno com diferentes concentrações de RVT (0,5, 1 e 2 mM) quanto à viabilidade celular, integridade acrossomal e fertilização *in vitro*. A utilização do RVT, nas concentrações utilizadas, não influenciou a viabilidade celular e integridade acrossomal. No entanto, aumentou significativamente a eficiência da fertilização em todas as concentrações estudadas, representada por uma maior taxa de penetração do espermatozoide.

Os resultados obtidos por estes autores deixam abertas possibilidades de mais estudos acerca deste composto, sobre a função e qualidade das ultraestruturas da célula espermática, bem como avaliações que envolvam concentrações variadas além das existentes na literatura.

### Considerações finais

A adição do antioxidante polifenólico resveratrol, ao meio diluente durante o processamento da dose inseminante suína, visando sua conservação sob refrigeração, é uma alternativa que pode auxiliar na proteção do espermatozoide contra a ação de produtos tóxicos resultantes do metabolismo celular. Desta forma, durante o período de armazenamento, seriam minimizados os efeitos negativos causados às células. Entretanto, é primordial a execução de mais pesquisas que verifiquem a melhor concentração do resveratrol para o sêmen suíno em geral, justificando assim a possível utilização comercial.

### Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP-2014/18573-0 por concessão de bolsa de estudos e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Universal – CNPQ-445597/2014-30) por auxílio com materiais e equipamentos laboratoriais.

### Referências

- Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Amer*, v.29, n.4, p.1-12, 2002.
- Aitken RJ, Wingate JK, Iulius GND, McLaughlin EA. Analysis of lipid peroxidation in human spermatozoa using BODIPY C11. *Mol Hum Reprod*, v.13, n.4, p.203-211, 2007.
- Aitken RJ. Molecular mechanisms regulating human sperm function. *Mol Hum Reprod*, v.3, n.3, p.169-173, 1997.
- Aitken RJ, Buckingham DW, Brindle J, Gomez E, Baker HW, Irvine DS. Analysis of sperm movement in



- relation to the oxidative stress created by leukocytes in washed sperm preparations and seminal plasma. *Hum Reprod*, v.10, n.8, p.2061-2071, 1995.
- Almond GW, Britt JH, Carr J, Flower W, Glossop C, Morrow M, See T.** The AI book. A field and laboratory technician's guide to artificial insemination en swine, 1994, 180p.
- Alvarez CA, Moraes GV.** Efeitos da Selenometionina e vitamina C sobre o sêmen. *Rev Sau Biol*, v.1, n.1, p.42-51, 2006.
- Ball BA.** Oxidative stress in sperm. In: **Mckinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD.** *Equine Reprod*. 2. ed. West Sussex: Wiley-Blackwell, cap.98, v.1, p.991-995, 2011.
- Barbosa KBF, Costa NMB, Alfnas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J.** Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr*, v.23, n.4, p.629-643, 2010.
- Barranco I, Tvarijonaviciute A, Perez-Patiño C, Parrilla I, Ceron JJ, Martinez EA, Rodriguez-Martinez H, Roca J.** High total antioxidant capacity of the porcine seminal plasma (SP-TAC) relates to sperm survival and fertility. *Nature*, v.5, p.18538, 2015.
- Benedet JA, Shibamoto T.** Role of transition metals, Fe(II), Cr(II), Pb(II) and Cd(II) in lipid peroxidation. *Food Chem*, v.107, p.165-168, 2008.
- Branco CS, Garcez ME, Pasqualotto FF, Erdtman B, Salvador M.** Resveratrol and ascorbic acid prevent DNA damage induced by cryopreservation in human semen. *Cryobiol*, v.60, n.2, p.235-237, 2010.
- Brezezinska-Stevbodzinska F, Slebodzinski AB, Pietras B, Wiecezorek G.** Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. *Biol Trac Elem Res*, v.47, p.69-74, 1995.
- Burnaugh L, Sabeur K, Ball BA.** Generation of superoxide anion by equine spermatozoa as detected by dihydroethidium. *Theriogenology*, v.67, p.580-589, 2007.
- Carvalho OF, Ferreira JDJ, Silveira NA, Freneau GE.** Efeito oxidativo do óxido nítrico e infertilidade no macho. *J Bras Patol Med Lab*, v.38, n.1, p.33-38, 2002.
- Cerolini S, Maldjian A, Pizzi F, Gliozzi TM.** Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Reproduction*, v.121, p.395-401, 2001.
- Collodel G, Federico MG, Geminiani M, Martini S, Bonechi C, Rossi C, Figura N, Moretti E.** Effect of trans-resveratrol on induced oxidative stress in human sperm and in rat germinal cells. *Reprod Toxicol*, v.31, p.239-246, 2011.
- Cottart C, Antoine V, Morizot C, Beaudeau J.** Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol. Nut. Food Res.*, v. 54, n.1, p. 7-16, 2010.
- De Lamirande E, Jiang H, Zini A, Kodama H, Gagnon C.** Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev Reprod*, v.2, p.48-54, 1997.
- Delmas D, Jannin B, Latruffe N.** Resveratrol: natural properties against atherosclerosis, associated proinflammatory effects and aging. *Mol Nutr Food Res*, v.49, p.377-395, 2005.
- Erel O.** A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, v.37, p.277-285, 2004.
- Ferreira ALA, Matsubara LS.** Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Méd Bras*, v.43, n.1, p.61-68, 1997.
- Flesch FM, Brouwers JF, Nievelein PF, Verkleij AJ, Van Golde LM, Colenbrander B, Gadella BM.** Bicarbonate stimulated phospholipid scrambling induces cholesterol redistribution and enables cholesterol depletion in the sperm plasma membrane. *J Cell Sci*, v.114, p.3543-3555, 2001.
- Fulda S, Galluzzi L, Kroemer G.** Targeting mitochondria for cancer therapy. *Nat Rev Drug Disc*, v.9, p.447-464, 2010.
- Gadani B, Bucci D, Spinaci M, Tamanini C, Galeati G.** Resveratrol and Epigallocatechin-3-gallate addition to thawed boar sperm improves in vitro fertilization. *Theriogenology*, v.90, p.88-93, 2017.
- Gadea J.** Semen extenders used in the artificial insemination of swine. A review. *Span J Agricul Res*, v.1, p.17-27, 2003.
- Garcez ME, Dos Santos BC, Lara LV, Pasqualotto FF, Salvador M.** Effects of resveratrol supplementation on cryopreservation medium of human semen. *Fertil Steril*, v.94, p.2118-2121, 2010.
- Gil-Guzman E, Ollero M, Lopez MC, Sharma RK, Alvarez JG, Thomas AJ Jr, Agarwal A.** Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum Reprod*, v.16, n.9, p.1922-1930, 2001.
- Green K, Brand MD, Murphy MP.** Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*, v.53, suppl.1, p.110-118, 2004.
- Guerra MMP, Evan SG, Maxwell WMC.** Papel de oxidantes e antioxidantes na andrologia. *Rev Bras Reprod, Anim*, v.28, n.4, p.187-195, 2004.
- Halliwell B, Gutteridge JMC.** *Free radicals in biology and medicine*. 3.ed. UK: Oxford University Press, 2001. 936p.
- Hao HD, He LR.** Mechanisms of cardiovascular protection by resveratrol. *J Med Food*, v.7, p.290-298, 2004.
- Jehandet P, Douillet AC, Debord S, Sbaghi M, Bessis R, Adrian M.** Phytoalexins from the Vitaceae: Biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity and metabolism. *J Agricul*



Food Chem, v.50, p.2731-2741, 2002.

**Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WMC.** Storage of boar semen. *Anim. Reprod. Sci.*, Amsterdam, v. 62, n. 1/3, p. 143-172, 2000.

**Juan ME, González-Pons E, Munuera T, Ballerter, J, Rodríguez-Gil JE, Plana JM.** Trans-resveratrol, a natural antioxidant from grapes, increases sperm output in healthy rats. *J Nutr*, v.135, p.757-760, 2005.

**Kothari S, Thompson A, Agarwal A, Plesses SS.** Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm functions. *Indian J Exp Biol*, v.48, p.425-435, 2010.

**Koury JC, Donangelo CM.** Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Rev Nutr*, v.16, n.4, p.433-441, 2003.

**Kovacic P, Somanathan R.** Multifaceted approach to resveratrol bioactivity: Focus on antioxidant action, cell signaling and safety. *Oxid Med Cell Longev*, v.3, p.86-100, 2010.

**Kumaresan A, Kadirvel G, Bujarbaruah KM, Bardoloi RK, Das A, Kumar S, Naskar S.** Preservation of boar semen at 18 degrees C induces lipid peroxidation and apoptosis like changes in spermatozoa. *Anim Reprod Sci*, v. 110, p.162-171, 2009.

**Li Y.** Antioxidants in biology and medicine: essentials, advances and clinical applications. *Nov Sci Publ*, 2011.

**Lima ES, Abdalla, DSP.** Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Rev Bras Ciên Farm*, v.37, n.3, p.293-303, 2001.

**Low IC, Chen ZX, Pervaiz S.** Bcl-2 modulates resveratrol-induced ROS production by regulating mitochondrial respiration in tumor cells. *Antioxid Redox Signal*, v.13, p.807-819, 2010.

**Maia MS, Bicudo SD.** Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. *Rev Bras Reprod Anim*, v.33, p.183-193, 2009.

**Maia MS, Bicudo SD, Azevedo HC, Sicherle CC, De Sousa DB, Rodello L.** *Geração de metabólitos reativos do oxigênio (ROS) em diluentes para a criopreservação de sêmen*, Curitiba, PR, 2007. In: XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, BH. Anais..., 2007. v.17, p.195, 2007.

**Marchesi DE, Feng HL.** Sperm DNA integrity from sperm to egg. *J Androl*, v.28, n.4, p.481-489, 2007.

**Martin-Hidalgo D, Hurtado De Llera A, Henning H, Wallner U, Waberski D, Bragado MJ, Gil MC, Garcia-Marin LJ.** The Effect of resveratrol on the quality of extended boar semen during storage at 17°C. *J Agricul Sci*, v.5, n.8, p.231-242, 2013.

**Nordberg J, Arnér ESJ.** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Rad Biol Med*, v.31, n.11, p.1287-1312, 2001.

**Ourique GM, Finamor IA, Saccol EM, Riffel AP, Pes TS, Gutierrez K, Barreto KP.** Resveratrol improves sperm motility, prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defences in the testes of hyperthyroid rats. *Reprod Toxicol*, v.37, p.31-39, 2013.

**Pervaiz S, Holme AL.** Resveratrol: its biologic targets and functional activity. *Antioxid Redox Signal*, v.11, p.2851-2897, 2009.

**Rodríguez-Martínez H, Saravia F, Wallgren M, Tienthai P, Johannisson A, Vázquez JM, Martínez E, Roca J, Sanz L, Calvete JJ.** Boar spermatozoa in the oviduct. *Theriogenology*, v.63, p.514-35, 2005.

**Sanocka D, Kurpisz M.** Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod Biol Endocrinol*, v.2, p.12-18, 2004.

**Sareen D, Van Ginkel PR, Takach JC, Mohiuddin A, Darjatmoko SR, Albert DM, Polans AS.** Mitochondria as the primary target of resveratrol-induced apoptosis in human retinoblastoma cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47, p.3708-3716, 2006.

**Sikka SC.** Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J Androl*, v.25, n.1, p.5-18, 2004.

**Sikka SC.** Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front. Biosci.*, New York, v.1, p. 78-86, 1996.

**Silva EC, Cajueiro JF, Silva SV, Soares PC, Guerra MM.** Effect of antioxidants resveratrol and quercetin on in vitro evaluation of frozen ram sperm. *Theriogenology*, v.77, n.8, p.1722-1726, 2012.

**Skulachev VP.** Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. *J Alzheimers Dis*, v.28, p.283-289, 2012.

**Turrens JF.** Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*, v.552, p.335-344, 2003.

**Xia E, Den G, Guo Y, Li H.** Biological activities of polyphenols from grapes. *Int J Mol Sci*, v.11, p.622-646, 2010.

**Zini A, Libman J.** Sperm DNA damage: Clinical significance in the era of assisted reproduction. *CMAJ*, v.175, n.5, p.494-500, 2006.

**Zini R, Morin C, Bertelli A, Bertelli AA, Tillement JP.** Effects of resveratrol on the rat brain respiratory chain. *Drugs Exp Clin Res*, v.25, p.87-97, 1999.

**Zini A, De Lamirande E, Gagnon C.** Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. *Int J Androl*, v.16, p.183-188, 1993.

**Zunino SJ, Storms DH.** Resveratrol-induced apoptosis is enhanced in acute lymphoblastic leukemia cells by modulation of the mitochondrial permeability transition pore. *Cancer Lett*, v.240, p.123-134, 2006.