

Uso de ácidos grasos esenciales para mejorar parámetros reproductivos en el macho

Essential Fatty Acids Use to Improve Male Reproductive Parameters

Risso A, Pellegrino FJ, Relling A, Corrada Y

Laboratorio de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.
E-mail: arisso@fcv.unlp.edu.ar

Resumen: En las últimas décadas, las propiedades nutracéuticas de los ácidos grasos esenciales omega 3 y omega 6 han incrementado su uso como suplementos tanto en el hombre como en las especies domésticas. El mejoramiento de características reproductivas en machos se ha convertido en objeto de estudio para distintas líneas de investigación. El objetivo del presente artículo fue hacer una revisión de las características más relevantes de estos compuestos y de la aplicación de los omega 3 como suplemento para mejorar parámetros reproductivos en el macho. Aunque la mayoría de los reportes coincide con los beneficios que otorga la ingesta de omega 3 sobre parámetros reproductivos, algunos informes indican efectos controvertidos. Existe un lugar beneficioso para los ácidos grasos esenciales en el mejoramiento de la reproducción. La efectividad y seguridad de sus efectos se han reportado para enfermedades clínicas, pero en el área de reproducción esta información es aún escasa. Queda aún trabajo por hacer en cuanto a estandarización de dosis, efectos endocrinológicos, clínicos y bioquímicos de estos compuestos para imponer su uso con el fin de mejorar parámetros reproductivos.

Palabras clave: omega 3, omega 6, macho, reproducción.

Abstract: Over the last decades, the nutraceutical properties of omega-3 and omega-6 essential fatty acids have been increasingly used as supplements both in humans and in domestic species. The improvement in reproductive characteristics in males has become an object of study for various lines of research. The purpose of this work is to review the most relevant characteristics of these compounds, and the application of omega 3 as a supplement for improving reproductive parameters in males. While most reports agree on the benefits derived from omega-3 intake in reproductive parameters, some reports suggest controversial effects. There is a promising role for essential fatty acids in improving reproduction. The efficacy and safety of their effects have been reported for clinical conditions, but this information is still limited in the area of reproduction. So much more remains to be done concerning dose standardization, endocrinological and clinical effects of these compounds in order to establish their use for improving reproductive parameters.

Key words: omega 3, omega 6, male, reproduction

Introducción

En las últimas décadas, las grasas y aceites han adquirido una importancia considerable como materias primas en la alimentación animal debido a su capacidad para proporcionar energía y también aumentar la palatabilidad de la dieta. Las grasas y aceites de la dieta incluyen, entre otros nutrientes, a los ácidos grasos esenciales. Las propiedades nutraceuticas de estos últimos han incrementado su uso como suplementos tanto en el hombre como en las especies domésticas (1). El efecto de los ácidos grasos omega 3 y 6 sobre parámetros reproductivos se ha descrito en conejos (2), cerdos (3, 4), pavos (5), pollos (6), caballos (7), carneros (8, 9), gatos (10) y perros (11), entre otros. Los hallazgos encontrados en estos estudios fueron: aumento en la motilidad espermática, reducción en el número de morfoanomalías, incremento en la fertilidad, atenuación en el efecto de los cambios estacionales sobre la calidad espermática e incremento en el número total de espermatozoides por eyaculado. Por otra parte, estudios realizados en cerdos reportaron que la suplementación con omega 3, proveniente de aceite de pescado, no tuvo efecto sobre la calidad espermática pos eyaculación (4, 12). Asimismo, en pavos, el tratamiento con aceite de pescado como fuente de omega 3 no tuvo efecto sobre la motilidad y viabilidad de los espermatozoides comparado con un grupo control (5).

Por lo expuesto, el objetivo del presente artículo fue hacer una revisión sobre las características más relevantes de los ácidos grasos omega 3 y 6, y la aplicación de los omega 3 como suplemento para mejorar parámetros reproductivos en el macho.

Clasificación de los ácidos grasos

Los ácidos grasos son compuestos ácidos carboxílicos saturados o insaturados, con cadenas carbonadas que varían entre 2 y 36 átomos de carbono. Estas últimas contienen un grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el extremo opuesto (n u omega) (13). Los ácidos grasos insaturados se

dividen en monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA). Los PUFA tienen más de un doble enlace en su molécula y sobre la base de su estructura química se diferencian tres grupos, los omega 3 (n-3), los omega 6 (n-6) y los omega 9 (n-9), en los que el primer doble enlace se encuentra a 3, 6 ó 9 carbonos del extremo metilo de la molécula, respectivamente (14). El ácido oleico (C18:1 n-9) es MUFA por contener solamente una doble ligadura en el carbono 9 a partir del extremo metilo terminal de la molécula. Los tejidos animales pueden sintetizar el ácido oleico (C18:1 n-9) (15). Sin embargo, tanto los animales como el hombre no pueden realizar la síntesis de novo de los ácidos grasos n-3 o n-6 ya que carecen de las enzimas desaturasas apropiadas para cada uno de ellos (14, 16). Estos ácidos grasos se denominan esenciales (AGE) y se deben obtener a partir de una fuente dietética (9, 17). El ácido linoleico (LA C18:2 n-6), y los ácidos α -linolénico (ALA C18:3 n-3), docosahexaenoico (DHA C22:6 n-3) y eicosapentaenoico (EPA C20:5 n-3), son los representantes principales en las dietas de las familias 6 y 3 respectivamente (18) (Tabla 1).

Fuentes

El LA es abundante en aceites vegetales tales como aceite de maíz, girasol, cártamo y canola (19), y es el precursor del ácido araquidónico (AA C20:4 n-6) (Fig. 1). Por su parte, el ALA se encuentra principalmente en los cloroplastos de los vegetales verdes y hierbas. El aceite de linaza y el de chía son algunos de los pocos aceites vegetales que contienen altos niveles de ALA, además de cantidades significativas de LA (20). Por otro lado, el EPA y el DHA son provistos directamente de la dieta o producidos en el organismo a partir del ALA (21) (Fig. 1). En la naturaleza las algas son los productores primarios de EPA y DHA. En consecuencia, los peces consumen las algas convirtiéndose de esta manera en ricas fuentes de n-3. Así, los aceites de pescado ofrecen en la actualidad un suplemento dietético de fácil disponibilidad de EPA y DHA (4, 19, 21).

Tabla 1. Resumen de los ácidos grasos mencionados en este artículo.

	Nomenclatura	Abreviatura
Ácido graso		FA
Ácido graso monoinsaturado		MUFA
Ácido graso poliinsaturado		PUFA
Ácido linoleico	18:2 n-6	LA
Ácido araquidónico	20:4 n-6	AA
Ácido alfa-linolénico	18:3 n-3	ALA
Ácido eicosapentaenoico	20:5 n-3	EPA
Ácido docosahexaenoico	22:6 n-3	DHA
Ácido oleico	18:1 n-9	
Ácido palmítico	16:0	

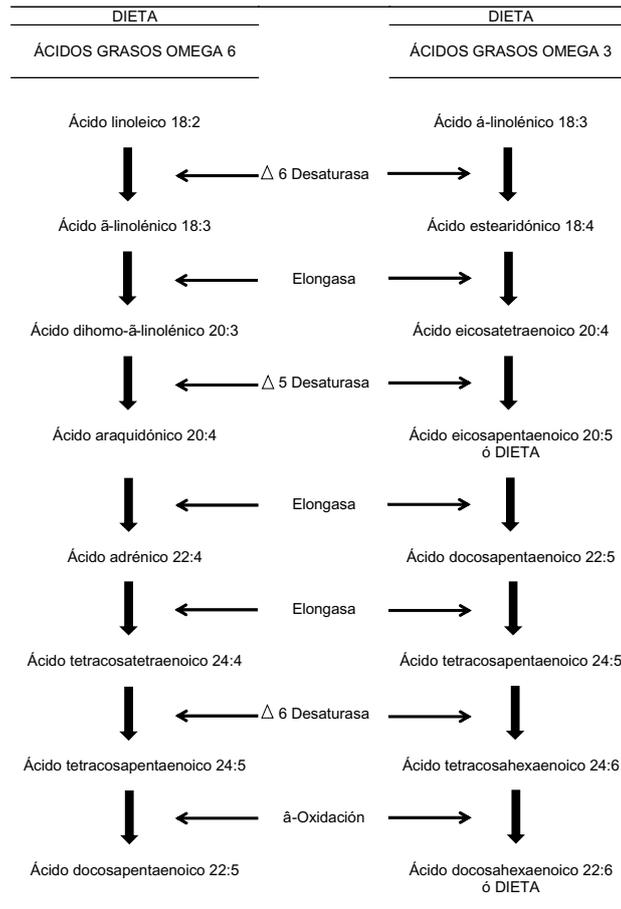


Figura 1. Metabolismo de los ácidos grasos esenciales.

Funciones generales de los ácidos grasos

La composición de ácidos grasos en los animales es especie y tejido específico. Los ácidos grasos se encuentran en el organismo formando cadenas largas de 12 a 24 átomos de carbono. Aproximadamente, la mitad son insaturados y contienen de 1 a 6 dobles enlaces. En humanos, el tejido adiposo es el principal reservorio de ácidos grasos y es considerado el patrón estándar para representar los ácidos grasos de la dieta. Los triacilglicérolos en el tejido adiposo contienen como ácido graso predominante al ácido oleico (C18:1 n-9), seguido por el ácido palmítico (C16:0) y el LA (22).

El LA es el PUFA más abundante, representando entre el 12 al 16 % del total (23). Dentro de los n-3, el ALA es el predominante, constituyendo alrededor del 1 %. Sólo pequeñas cantidades de EPA y DHA están presentes en el tejido adiposo, lo que sugiere una capacidad de almacenamiento limitada de estos ácidos grasos n-3 de cadena larga e implica la necesidad de una continua suplementación a través de la dieta (24, 25, 26).

Los ácidos grasos en forma de fosfolípidos son componentes estructurales de las membranas celulares. Su perfil influye en la fluidez y espesor de las

mismas, y por lo tanto, en la actividad de las proteínas asociadas a la membrana (enzimas, canales iónicos, transportadores, receptores) (27). Las moléculas fosfolípídicas están compuestas por una molécula de glicerol unida a una parte hidrofóbica (dos moléculas de ácido graso) y conectada a través del ácido fosfórico a una cabeza hidrofílica (colina, etanolamina, serina, inositol). Esto permite la disposición especial de la bicapa lipídica que incorpora moléculas hidrofóbicas en su parte interna e hidrofílicas en la externa. La estabilidad de la membrana se incrementa por la presencia de determinadas moléculas como el colesterol y proteínas específicas. Mientras mayor contenido haya de dichas moléculas, menor será la fluidez de la membrana. Por otro lado, el grado de insaturación del ácido graso también influye en la fluidez. La mayor fluidez de la membrana está dada por un aumento en la poliinsaturación de los lípidos (mayor número de dobles enlaces), que puede promover un incremento en la actividad metabólica de las células, tejidos y animales como consecuencia de una mayor actividad de las proteínas de membrana (28). Además, los ácidos grasos que tienen doble unión en configuración cis, llevan al plegamiento de la cadena hidrocarbonada en aproximadamente 60° por cada doble enlace. En consecuencia, las cadenas ocupan un lugar mayor en

la membrana que produce el incremento de la fluidez. Contrariamente, los ácidos grasos saturados o insaturados pero en configuración trans, cuyas cadenas son rectas y ocupan menos espacio, disminuyen la fluidez de la membrana (29).

Los AGE intervienen en diversos procesos fisiológicos como el crecimiento, la reproducción, la visión y el desarrollo cerebral (19). Dentro de las funciones más importantes para destacar tenemos que los PUFA de 20 y 22 átomos de carbono (que incluyen el AA, EPA y DHA) son precursores de moléculas con actividad biológica tales como prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, lipoxinas, resolvinas y neuroprotectinas. Asimismo, son elementos fundamentales para la formación de hormonas esteroideas y para el transporte de las vitaminas liposolubles A, D, E y K (19, 30).

Los ácidos grasos actúan como ligandos de receptores nucleares involucrados en el control subcelular de vías metabólicas. Los grupos hidroxilos son activadores de algunos factores nucleares y responsables de la expresión de citoquinas proinflamatorias como las interleuquinas 1, 6 y 8, factor de necrosis tumoral, moléculas de adhesión intracelular y moléculas de adhesión celular vascular. La modificación covalente de proteínas por la acilación del ácido graso permite su incorporación en las membranas celulares (29).

Otra función importante descrita para los ácidos grasos y sus metabolitos es su efecto sobre la transcripción de genes a través de receptores nucleares como los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs), receptores del ácido retinoico, receptor de la hormona tiroidea, receptor X hepático, receptores de la vitamina D3 y receptores de esteroides (31). Dentro de los PPAR hay 3 isoformas: PPAR α , PPAR β/δ y PPAR γ , que presentan diferentes especificidades de ligando, funciones y distribución en los tejidos. Por ejemplo, el PPAR α se expresa en el hígado, tejido adiposo y placenta, donde regula el metabolismo lipídico y las vías antiinflamatorias (32).

Los ácidos grasos n-3 y n-6 activan las 3 isoformas de PPAR, variando su afinidad por el receptor. Así, el EPA es más potente que el AA como activador del subtipo PPAR α (33).

Funciones específicas en la fertilidad del macho

Los ácidos grasos n-3, particularmente los de cadena larga, son nutrientes esenciales a lo largo de toda la vida. Tanto en machos como hembras la deficiencia de AGE causa infertilidad y, entre otras consecuencias, resulta en bajo contenido de AA, fundamental para la formación de eicosanoides (23, 29). En todas las especies, los fosfolípidos son el mayor componente lipídico de las membranas espermáticas,

y contienen grandes cantidades de PUFA (34, 35, 36). Las aves, por ejemplo, se caracterizan por contener altas cantidades de PUFA de la serie n-6 (37), mientras que en la mayoría de los mamíferos los predominantes son los de la serie n-3 (más del 60 % del total de ácidos grasos) (38-39). Así, el DHA se encuentra en altas cantidades en el espermatozoide de primates, toros y carneros. (40). La composición de lípidos en la membrana del espermatozoide juega un rol muy importante en las modificaciones fisicoquímicas que ocurren durante la fertilización (41). En humanos, el DHA se considera esencial para la fertilidad, ya que reducciones en la cantidad de este ácido graso en los espermatozoides se han asociado con alteraciones en la motilidad, capacidad fertilizante y número total de espermatozoides (42). Se requieren altos contenidos de PUFA en la membrana espermática con el fin de brindarle al espermatozoide la fluidez necesaria para fertilizar (43). Sin embargo, los PUFA son vulnerables al ataque de las especies reactivas del oxígeno (ROS), iniciando una cascada de peroxidación de lípidos con formación de radicales libres, que se conoce como estrés oxidativo. Los ácidos grasos de cadena larga altamente insaturados como el EPA, DHA, y AA poseen alto riesgo de ser oxidados. La peroxidación lipídica puede comprometer seriamente la integridad funcional de las células, en los espermatozoides este daño se asocia con reducción de la fertilidad (44, 45, 46). Los fluidos que bañan al espermatozoide en su paso por el tracto reproductivo masculino están formados por una gran cantidad de enzimas antioxidantes altamente especializadas (47, 48), que protegen a los espermatozoides de mamíferos contra el estrés oxidativo. A pesar de la correlación existente entre el daño oxidativo y los PUFA, se ha mencionado que la incorporación de estos últimos en los fosfolípidos conduce a cambios conformacionales y reduce la disponibilidad de dobles enlaces para la lipoperoxidación (29). Sin embargo, faltan aún más estudios que soporten esta función de los ácidos grasos insaturados. Finalmente, el aumento en la ingesta de n-3 produce una mayor transcripción de enzimas antioxidantes tales como proteína de desacoplamiento, glutatión transferasa y superóxido dismutasa, e inhibe la transcripción de enzimas que participan en la producción de ROS y especies reactivas de nitrógeno (29).

Por otro lado, la suplementación dietaria con PUFA puede influenciar la función reproductiva a través de una variedad de mecanismos. Por ejemplo, proveen los precursores para la biosíntesis de prostaglandinas o esteroides que participan en la regulación de dicha función (49).

Se sabe que la conducta sexual y la espermatogénesis están directamente relacionadas con una función normal de las células de Leydig, que se

encuentran reguladas por la síntesis y liberación de la hormona luteinizante (LH) (11). La LH regula la esteroideogénesis en las células de Leydig vía segundo mensajero AMPc o a través de otros sistemas que involucran al AA y sus metabolitos (50, 51, 52). Estudios previos han revelado que la LH produce una rápida liberación de AA desde las células de Leydig (53), y que el AA por sí mismo tiene un rol intermedio en la producción de testosterona inducida por la acción de la hormona liberadora de gonadotrofinas (54). Esmaeili y col. (2012) y Castellano y col. (2011) han reportado el efecto de los AGE sobre hormonas esteroideas en carneros y cerdos, respectivamente (55, 56). Los ácidos grasos n-6 estimulan a las células de Leydig a través de efectos directos sobre la maquinaria esteroideogénica o indirectos por medio de las prostaglandinas (57), provocando un aumento en la síntesis de testosterona (58). Sin embargo, se han descrito efectos opuestos de los PUFA con respecto a la esteroideogénesis y aún es incierto el mecanismo de acción específico de los n-3 sobre las hormonas reproductivas en las distintas especies domésticas.

Las distintas proporciones de PUFA en las membranas celulares y en los tejidos del tracto reproductivo en las especies no rumiantes, están determinadas por las cantidades consumidas en la dieta (49). En rumiantes, la biohidrogenación de PUFA es parte de la digestión de lípidos en el rumen. Así, los lípidos son ampliamente alterados, lo que resulta en marcadas diferencias entre el perfil de ácidos grasos de los lípidos de la dieta (en su mayoría PUFA) y los lípidos que salen del rumen (principalmente ácidos grasos saturados) (59). No obstante, Childs y col. (2008), demostraron que la suplementación con n-3 en vaquillonas con el rumen semi protegido aumentó significativamente la concentración de n-3 en varios tejidos del tracto reproductivo comparado con animales control, sugiriendo una transferencia exitosa de ácidos grasos desde la dieta (60).

La suplementación de AGE en la dieta para mejorar las características reproductivas en los machos ha sido bien estudiada en varias especies domésticas, obteniendo resultados favorables tales como: aumento en la proporción de espermatozoides con motilidad progresiva y acrosomas normales, reducción de la cantidad de morfoanomalías espermáticas, aumento de la fertilidad, viabilidad de embriones tempranos y porcentaje de nacimientos (3, 10, 18).

Así, por ejemplo, en aves alimentadas con dietas a distintas proporciones de n-3 y n-6, se observaron cambios en la composición de los lípidos en las membranas espermáticas (37, 61). Esto sugiere que la transferencia de AGE desde la dieta hacia los espermatozoides es efectiva. Altos niveles de n-3 en la dieta produjeron un incremento de los mismos en

las membranas espermáticas, lo que se relacionó con un mejoramiento de las cualidades seminales y una mayor habilidad para fertilizar (37, 61).

En carneros el consumo de n-3 proveniente de aceite de pescado durante 70 días tuvo un efecto significativamente positivo en parámetros seminales tanto cuantitativa como cualitativamente (62). Además, los efectos beneficiosos del aceite de pescado se observaron luego de uno a dos meses de terminada la suplementación. También se encontró que el aceite de pescado produjo un aumento de DHA en los espermatozoides durante el periodo de suplementación (62).

Otro trabajo realizado en carneros en el año 2012 describió respuestas positivas a la suplementación con aceite de pescado en el semen de carneros luego de cuatro semanas de tratamiento. En ese estudio no solo se observaron mejoras en la calidad seminal de semen fresco sino también en el proceso de congelado-descongelado (59). Recientemente, se reportó que la suplementación con aceite de pescado como fuente de n-3 aumentó la concentración espermática sin afectar el volumen, el total de espermatozoides y la motilidad en masa. Las diferencias en la concentración espermática indican que la tasa de espermatogénesis puede ser acelerada en los carneros suplementados con aceite de pescado. Al respecto, se ha sugerido que los n-3, especialmente el DHA, desarrollan un papel importante en la formación de espermatozoides funcionales (9).

En cerdos, la suplementación con ácidos grasos n-3 y su influencia en las cualidades seminales tuvo diferentes respuestas en recientes reportes. Por un lado, se encontró variabilidad de respuesta según la raza. Se produjeron efectos beneficiosos en la resistencia osmótica de los espermatozoides de la raza Pietrain y en la morfología espermática tanto en la raza Pietrain como en Large White. Contrariamente, en la raza Duroc no se observaron efectos sobre los mismos parámetros evaluados (4). Por otro lado, Castellano y col. (2010) observaron una transferencia masiva de n-3 desde la dieta hacia los espermatozoides en cerdos luego de 28 semanas de suplementación con aceite de pescado. Sin embargo, no encontraron diferencias significativas en la libido, producción espermática y motilidad espermática entre los animales para las distintas dietas. Ese mismo año, cuando se evaluó la influencia de la suplementación dietaria con n-3 en criopreservación de semen en cerdos, no se observaron mejoras al respecto, resaltando la necesidad de realizar mayores investigaciones (63). En otro estudio, se observaron cambios en la proporción de ácidos grasos en los fosfolípidos espermáticos y mejoras en la calidad del semen en cerdos luego de 5 semanas de suplementación con aceites de pescado. Es importante destacar que en esta especie la esper-

matogénesis y el transporte por el epidídimo requieren 34 y 10 días, respectivamente (59).

En toros Holstein la suplementación con n-3 mejoró las cualidades *in vitro* y los parámetros espermáticos en semen fresco. Sin embargo, no se observaron resultados favorables para el proceso congelado-descongelado (64, 65, 66).

Dentro de los parámetros espermáticos, la motilidad progresiva ha sido relacionada con la incorporación de DHA en la membrana del espermatozoide (67), especialmente dentro del flagelo, donde aumenta la fluidez promoviendo la motilidad del espermatozoide. Se ha reportado que un descenso en el porcentaje de DHA en los lípidos espermáticos está acompañado por una disminución en la motilidad y en el número de espermatozoides en el eyaculado de toros viejos (68). Además de estas funciones estructurales, se ha propuesto que la incorporación de DHA dentro del espermatozoide podría mejorar una serie de mecanismos involucrados en la prevención de la apoptosis celular temprana, como se ha visto en cultivos *in vitro* de neuronas y fotorreceptores de la retina (65). Asimismo, los ácidos grasos pueden proveer un sustrato importante para el metabolismo y la dinámica de la membrana plasmática del espermatozoide (69). Se ha sugerido que el DHA está involucrado en la regulación de la utilización de ácidos grasos en el espermatozoide, mediante la formación de acetil CoA. La acción de esta última es necesaria para que los ácidos grasos libres puedan ser utilizados por las células (70).

En equinos, la incorporación de DHA en la dieta llevó a un incremento de tres veces los niveles de DHA en el espermatozoide, con un aumento en el semen del 50 % en la proporción de DHA en comparación con EPA. El tratamiento no produjo modificaciones en la motilidad de los espermatozoides en el semen fresco. Posteriormente, en el semen refrigerado y luego de 24 h de refrigeración los espermatozoides de los padrillos suplementados mostraron mayor vigor. Asimismo, luego de 48 horas de refrigeración, se observaron mejores porcentajes de motilidad total, motilidad progresiva y vigor en los espermatozoides de aquellos padrillos suplementados con el nutraceutico (71).

En los caninos domésticos, solo existe un trabajo (11) donde se evaluaron las características seminales en 8 caninos suplementados con LA, 2 mg/Kg, ALA 5mg/Kg, ácido oleico 0,1 mg/Kg y vitamina E 1 UI/Kg durante 60 días, obteniendo mejoras en las cualidades espermáticas. Sin embargo, a la fecha no hay estudios que describan los efectos de la suplementación con AGE exclusivamente sobre parámetros reproductivos en perros. De esta manera, los resultados obtenidos en el trabajo de da Rocha y col. (2009) podrían deberse a un efecto en conjunto de la suplementación con AGE n-3, n-6, n-9 y vitamina E, o, al efecto de cada

suplemento en forma separada.

Discusión y conclusiones

El estudio de la reproducción es de gran importancia tanto en animales de producción como de compañía. El manejo de la nutrición resulta esencial para optimizar el potencial genético y, de esta manera, obtener mejoras reproductivas. En las últimas décadas, y más aún en los últimos años, los ácidos grasos han cobrado importancia en el campo de la investigación. Las propiedades nutraceuticas de estos últimos han incrementado su uso como suplementos tanto en el hombre como en las especies domésticas (2). El efecto de los ácidos grasos omega 3 y 6 sobre parámetros reproductivos se ha descrito en machos obteniendo resultados favorables (3, 4, 5, 6, 7, 8, 10). Empero, los resultados obtenidos siguen siendo dispares en algunas especies. Es por ello, que se necesitan futuros estudios que comparen y expliquen la biología de las diferentes respuestas de la suplementación con omega 3 entre especies.

Esta revisión resalta la importancia de la suplementación con n-3 en el futuro de la reproducción en el macho. Queda aún trabajo por hacer en cuanto a estandarización de dosis, efectos endocrinológicos y clínicos de estos compuestos, sobre todo en los animales de compañía donde la información es muy escasa y los reportes existentes son limitados, para imponer su uso con el fin de mejorar parámetros reproductivos en general, antes de que ellos puedan ser ampliamente recomendados.

Agradecimientos

Al CONICET por permitir realizar esta revisión.

Bibliografía

1. Safarinejad MR. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic antioxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a double-blind, placebo-controlled, randomised study. *Andrologia* 2009; 43: 38-47.
2. Gliozzi TM, Zaniboni L, Maldjian A, Luzi F, Maertens L, Cerolini S. Quality and lipid composition of spermatozoa in rabbits fed DHA and vitamin E rich diets. *Theriogenology*. 2009; 71(6): 910-9.
3. Estienne MJ, Harper AF, Crawford RJ. Dietary supplementation with a source of omega-3 fatty acids increases sperm number and the duration of ejaculation in boars. *Theriogenology*. 2008; 70: 70-6.
4. Yeste M, Barrera X, Coll D, Bonet S. The effects on boar sperm quality of dietary supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids differ among porcine breeds. *Theriogenology*. 2011; 76(1): 184-96.
5. Zaniboni L, Cerolini S. Liquid storage of turkey semen:

- changes in quality parameters, lipid composition and susceptibility to induced in vitro peroxidation in control, n-3 fatty acids and alpha-tocopherol rich spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2009; 112(1-2): 51-65.
6. Cerolini S, Surai PF, Speake BK, Sparks NHC. Dietary fish and evening primrose oil with vitamin E effects on semen variables in cockerels. *Br Poult Sci.* 2005; 46(2): 214–22.
 7. Harris MA, Baumgard LH, Arns MJ, Webel SK. Stallion spermatozoa membrane phospholipid dynamics following dietary n-3 supplementation. *Anim Reprod Sci.* 2005; 89(1-4): 234-7.
 9. Samadian F, Towhidi A, Rezayazdi K, Bahreini M. Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid composition of ovine sperm. *Animal* 2012; 4 (12): 2017-22.
 10. Fair S, Doyle DN, Diskin MG, Hennessy AA, Kenny DA. The effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation of rams on semen quality and subsequent quality of liquid stored semen. *Theriogenology* 2014; 81(2): 210-219.
 11. MacDonald ML, Rogers QR, Morris JG, Cupps PT. Effects of linoleate and arachidonate deficiencies on reproduction and spermatogenesis in the cat. *J Nutr.* 1984; 114: 719-26.
 12. da Rocha AA, da Cunha ICN, Ederli B, Albernaz AP, Quirino CR. Effect of daily food supplementation with essential fatty acids on canine semen quality. *Reprod Domest Anim.* 2009; 44(2): 313-5.
 13. Castellano CA, Audet I, Bailey JL, Chouinard PY, Laforest JP, Matte JJ. Effect of dietary n-3 fatty acids (fish oils) on boar reproduction and semen quality. *J Anim Sci.* 2010; 88(7): 2346-55.
 14. Catalá A. Five Decades with Polyunsaturated Fatty Acids: Chemical Synthesis, Enzymatic Formation, Lipid Peroxidation and Its Biological Effects. *J Lipids.* 2013. doi 10.1155/2013/710290.
 15. National Research Council. *Nutrient Requirements of Dogs and Cats.* Washington, DC: National Academy Press. Fats and fatty acid. 2006; pp. 81-82.
 16. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW, Botham KM, Mayes PA. Biosynthesis of fatty acids and eicosanoids. En *Harper's Illustrated Biochemistry*, 27th ed. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. (Eds). pp. 196-208. McGraw Hill, New York, 2006.
 17. Morimoto KC, Van Eenennaam AL, DePeters EJ, Meדרano JF. Hot topic: endogenous production of n-3 and n-6 fatty acids in mammalian cells. *Am Dairy Sci Ass.* 2005; 88: 1142-6.
 18. Beare-Rogers J, Dieffenbacher A, Holm JV. *Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report).* *Pure App Chem.* 2001; 73: 685-744.
 19. Rooke JA, Shao CC, Speake BK. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. *Reproduction* 2001; 121: 315-22.
 20. Gurr MI, Harwood JL, Frayn KN. *Lipid Biochemistry: An Introduction.* 5th ed. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd, 2002.
 21. Sargent JR. Fish oils and human diet. *Br J Nutr.* 1997; 7(1): 5-13.
 22. Venegas-Calderón M, Sayanova O, Napier JA. An alternative to fish oils: Metabolic engineering of oil-seed crops to produce omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids. *Prog Lip Res.* 2010; 49: 108–19.
 23. Hodson L, Murray Skeaff C, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lip Res.* 2008; 47: 348-380.
 24. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n3 fatty acids in humans *American J Clin Nutr.* 2006; 83(suppl): 1467S-76S.
 25. Clifton PM, Keogh JB, Noakes M. Trans fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction. *J Nutr.* 2004; 134: 874-9.
 26. Andersen LF, Solvoll K, Johansson LR, Salminen I, Aro A, Drevon CA. Evaluation of a food frequency questionnaire with weighed records, fatty acids, and alpha-tocopherol in adipose tissue and serum. *Am J Epidem.* 1999; 150: 75-87.
 27. Geerling BJ, van Houwelingen AC, Badart-Smoock A, Stockbrugger RW, Brummer RJ. Fat intake and fatty acid profile in plasma phospholipids and adipose tissue in patients with Crohn's disease, compared with control. *Am J Gastroen.* 1999; 94: 410-7.
 28. Nelson DL, Cox MM. Lipids. En: *Lehninger Principles of Biochemistry.* 6th ed, W.H. Freeman Publishers, New York, 2013; pp 357-380.
 29. Almáida-Pagán PF, De Santis C, Rubio-Mejía OL, Tocher DR. Dietary fatty acids affect mitochondrial phospholipid compositions and mitochondrial gene expression of rainbow trout liver at different ages. *J Comp Physiol B.* 2014; DOI 10.1007/s00360-014-0870-8.
 30. Kremmyda LS, Tvrzicka E, Stankova B, Zak A. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease – a review. part 2: fatty acid physiological roles and applications in human health and disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2011; 155 (3): 195-218.
 31. Needleman P, Turk J, Jakschik BA, Morrison AR, Lefkowitz JB. Arachidonic acid metabolism. *Ann Rev Biochem.* 1986; 55: 69-102.
 32. Fournier T, Guibourdenche J, Handschuh K, Tsatsaris V, Rauwel B, Davrinche C, Evain-Brion D. PPAR γ and human trophoblast differentiation. *J Repr Imm.* 2011; 90: 41-9.
 33. Belfort R, Berria R, Cornell J, Cusi K. Fenofibrate reduces systemic inflammation markers independent of its effects on lipid and glucose metabolism in patients with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metabol.* 2010; 95: 829-36.
 34. Sampath H, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Ann Rev Nutr.* 2005; 25: 317-40.
 35. Scott JW. Lipid metabolism of spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1973; 18(Suppl): 65-76.
 36. Darin-Bennet A, Poulos A, White IG. The phospholipids and phospholipid bound fatty acids and aldehydes of dog and fowl spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1974; 41: 471-4.
 37. Marinero MJ, Colas B, Prieto JC, Lopez Ruiz MP. Different sites of action of arachidonic acid on steroidogenesis in rats Leydig cells. *Molec Cel Endocrin.* 1996; 1: 193-200.
 38. Kelso KA, Cerolini S, Speake BK, Cavalchini LG, Noble RC. Effects of dietary supplementation with α -linolenic acid

A. Risso y col.

on the phospholipid fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 weeks on age. *J Reprod Fertil.* 1997; 110: 53-9.

39. Castellini C, Cardinali R, Dal Bosco A, Minelli A, Camici O. Lipid composition of the main fractions of rabbit semen. *Theriogenology* 2006; 65(4): 703-12.

40. Gadella BM, Tsai PS, Boerke A, Brewis IA. Sperm head membrane reorganisation during capacitation. *International J Develop Biol.* 2008; 52(5-6): 473-80.

41. Lin DS, Connor WE, Wolf DP, Neuringer M, Hachey DL. Unique lipids of primate spermatozoa: desmosterol and docosahexaenoic acid. *J Lipid Res.* 1993; 34(3): 491-9.

42. Parks JE, Lynch DV. Lipid composition and thermotropic phase behaviour of boar, bull stallion and rooster sperm membrane. *Cryobiology* 1992; 29: 255-66.

43. Nissen HP, Kreysel HW. Polyunsaturated fatty acids in relation to sperm motility. *Andrologia* 1983; 15 (3): 264-9.

44. Aitken RJ, Baker HW. Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good samaritans? *Human Reprod.* 1995; 10:1736-9.

45. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function. *Biol Reprod.* 1989; 40: 183-7.

46. Aitken RJ, Harkiss D, Buckingham DW. Analysis of lipid peroxidation mechanisms in human spermatozoa. *Molec Reprod Develop.* 1993; 35: 302-15.

47. Alvarez JG, Storey BT. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Molec Reprod Develop.* 1995; 42: 334-6.

48. Van Overveld FW, Haenen GR, Rhemrev J, Vermeiden JP, Bast A. Tyrosine as important contributor to the antioxidant capacity of seminal plasma. *Chemico-Biological Interact.* 2000; 127: 151-61.

49. Rhemrev JP, van Overveld FW, Haenen GR, Teerlink T, Bast A, Vermeiden, JP. Quantification of the nonenzymatic fast and slow TRAP in a post-addition assay in human seminal plasma and the antioxidant contributions of various seminal compounds. *J Androl.* 2000; 21: 913-20.

50. Wathes DC, Abayasekara DR, Aitken RJ. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol Reprod.* 2007; 77 (2): 190-201.

51. Rommerts FFG, Cooke BA. The mechanism of action of luteinizing hormone II. Transducing systems and biological effects. In: *New Comprehensive Biochemistry: Hormones and Their Actions, Volume II* (Cooke BA, King RJB, van der Molen HJ (Eds.). Ed. Elsevier. Amsterdam, 1988; pp.163-80.

52. Dix CJ, Habberfield AD, Sullivan MHF, Cooke BA. Inhibition of steroid production in Leydig cells by nonsteroidal anti-inflammatory and related compounds: evidence for the involvement of lipoxygenase products in steroidogenesis. *Biochem J.* 1984; 219:529-37.

53. Didolkar AK, Sundaram K. Arachidonic acid is involved in the regulation of hCG induced steroidogenesis in rat Leydig cells. *Life Sci.* 1987; 41: 471-7.

54. Cooke BA, Dirami G, Chaudry L, Choi MSK, Abayasekara DRE, Phipp L. Release of arachidonic acid and the effects of corticosteroids on steroidogenesis in rat testis Leydig cells.

J Steroid Biochem Molec Biol. 1991; 40:465-71.

55. Didolkar AK, Sundaram K. Mechanism of LHRH-stimulated steroidogenesis in rat Leydig cells: lipoxygenase products of arachidonic acid may not be involved. *J Androl.* 1989; 10(6): 449-55.

56. Esmaeili V, Shahverdi AH, Alizadeh AR, Alipour H, Chehrazi M. Saturated, omega-6 and omega-3 dietary fatty acid effects on the characteristics of fresh, frozen-thawed semen and blood parameters in rams. *Andrologia* 2012. doi: 10.1111/and.12040.

57. Castellano CA, Audet I, Laforestc JP, Matteb J, Suhd M. Fish oil diets alter the phospholipid balance, fatty acid composition, and steroid hormone concentrations in testes of adult pigs. *Theriogenology* 2011; 76(6): 1134-45.

58. Lin T. Mechanism of action of gonadotropin-releasing hormone stimulated Leydig cell steroidogenesis III. The role of arachidonic acid and calcium/phospholipid dependent protein kinase. *Life Sci.* 1985; 36(13): 1255-64.

59. Stocco DM, Wang X, Jo Y, Manna PR. Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: more complicated than we thought. *Molec Endocrin.* 2005; 19: 2647-59

60. Esmaeili V, Shahverdi A, Alizadeh AR, Alipour H, Towhidi A, Zarrabi M. Fatty acid profiles of ram's sperm after removing some fatty acid sources from the diets and persistency of fatty acids in sperm. *Int J Fertil Steril.* 2012; 5(4): 211-6.

61. Childs S, Hennessy AA, Sreenan JM, Wathes DC, Cheng Z, Stanton C, Diskin MG, Kenny DA. Effect of level of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on systemic and tissue fatty acid concentrations and on selected reproductive variables in cattle. *Theriogenology* 2008; 70: 595-611.

62. Blesbois E, Lessire M, Grasseau I, Hallouis JM, Hermier D. Effect of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. *Biol Reprod.* 1997; 56: 1216-20.

63. Alizadeh A, Esmaeili V, Shahverdi A, Rashidi L. Dietary Fish Oil Can Change Sperm Parameters and Fatty Acid Profiles of Ram's Sperm during Oil Consumption Period and After Remove Oil Source. *Cell Journal* 2013; 16(3):289-98.

64. Castellano CA, Audet I, Bailey JL, Laforest JP, Matte JJ. Dietary omega-3 fatty acids (fish oils) have limited effects on boar semen stored at 17 °C or cryopreserved. *Theriogenology* 2010; 74(8):1482-90.

65. Gholami H, Chamani M, Towhidi A, Fazeli MH. Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutraceutical on the quality of fresh and frozen-thawed semen in Holstein bulls. *Theriogenology* 2010; 74 (9):1548-58.

66. Gholami H, Chamani M, Towhidi A, Fazeli MH. Improvement of Semen Quality in Holstein Bulls during Heat Stress by Dietary Supplementation of Omega-3 Fatty Acids. *Int J Fertil Steril.* 2011; 4 (4):160-7.

67. Towhid A, Parks JE. Effect of n-3 fatty acids and α -tocopherol on post-thaw parameters and fatty acid composition of bovine sperm. *J Assi Reprod Genetics* 2012; 29(10): 1051-6.

68. Black PN, DiRusso CC. Transmembrane movement of exogenous long-chain fatty acids: proteins, enzymes and vectorial esterification. *Microbiol Molec Biol Rev.* 2003; 67: 454-72.

69. Kelso KA, Redpath A, Noble RC, Speake BK. Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma

throughout the reproductive period of bulls. *Reprod Fertility*. 1997; 109: 1-6.

70. Abdel Aziz MT, El-Hagger S, Tawadrous GA, Hamada T, ShawkyM, Amin KS. Seminal lipids as energy substrate for the spermatozoa. *Andrologia*. 1983; 15: 259-63.

71. Jones RE, Plymate SR. Evidence for the regulation of

fatty acid utilization in human sperm by docosahexaenoic acid. *Biol Reprod*. 1998; 39: 76-80.

72. Brinskoa SP, Varner DD, Loveb CC, Blancharda TL, Dayc BC, Wilson ME. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen.

Theriogenology 2005; 63:1519-1527.