



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ –
ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑ –
ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ»

Διευθυντής ΠΜΣ : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ COVID-19 ΜΕ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

ΖΗΝΟΒΙΑ-ΑΝΝΕΤΑ ΘΕΟΔΩΡΙΔΟΥ

ΒΙΟΙΑΤΡΟΣ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ

Σεπτέμβριος 2019

"Βεβαιώνω ότι η παρούσα διπλωματική εργασία είναι αποτέλεσμα δικής μου δουλειάς και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά και όπου απαιτείται έχω παραθέσει τις πηγές τους στο τμήμα της βιβλιογραφίας.

Υπογραφή: "

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:

1^{ος} Εξεταστής **Γεώργιος- Σπυρίδων Ανυφαντής**

(Επιβλέπων) Επίκουρος Καθηγητής Εμβρυολόγος , Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

2^{ος} Εξεταστής **Αλέξανδρος Δαπόντε**

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας , Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

3^{ος} Εξεταστής **Χριστίνα Μεσσήνη**

Λέκτορας Μαιευτικής και Γυναικολογίας , Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλλαν στην εκπόνησή της. Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέπων καθηγητή μου, κύριο Γεώργιο-Σπυρίδων Ανυφαντή , για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε εξ' αρχής, αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο θέμα, την επιστημονική του καθοδήγηση, τις υποδείξεις του, τη συμπαράστασή του, τη συνεχή του υποστήριξη και το αμείωτο ενδιαφέρον που έδειξε από την αρχή μέχρι το τέλος. Επίσης, ευχαριστώ τον καθηγητή, κύριο Αλέξανδρο Δαπόντε ο οποίος με επέλεξε και κατάφερα να παρακολουθήσω αυτο το μεταπτυχιακό πρόγραμμα το οποίο μου προσέφερε γνώσεις και ερεθίσματα .

«Η συσχέτιση του COVID-19 με τις παραμέτρους του σπέρματος»

Ζηνοβία – Αννέτα Θεοδορίδου

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2018

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: **Γεώργιος – Σπυρίδων Ανυφαντής**

Επίκουρος Καθηγητής Εμβρυολόγος , Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Σύμβουλος : **Αλέξανδρος Δαπόντε**

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας , Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μέλος : **Χριστίνα Μεσσήνη**

Λέκτορας Μαιευτικής και Γυναικολογίας , Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Η συσχέτιση του COVID-19 με τις παραμέτρους του σπέρματος

Περιεχόμενα

Περίληψη	9
Abstract	10
1. Εισαγωγή	11
2. Ιστορικό και χαρακτηριστικά του ιού «Covid-19».....	15
2.1. Ιστορικό και χαρακτηριστικά	15
2.2. Τρόποι εισαγωγής του ιού στον οργανισμό και τα κύτταρα και οι λειτουργίες του	19
2.2.1. Ο ιός SARS-CoV-2.....	19
2.2.2. Πρωτεΐνη S (Spike = ακίδα)	22
2.2.3. Πρωτεΐνη M (Membrane = μεμβράνη).....	23
2.2.4. Πρωτεΐνη E (Envelope = φάκελος).....	23
2.2.5. Πρωτεΐνη N (Nucleocapsid = νουκλεοκαψίδιο)	24
2.2.6. NSP's και βοηθητικές πρωτεΐνες	24
2.3. Τρόποι εξέτασης και διάγνωσης (τεστ)	25
2.3.1. Μοριακός έλεγχος με βάση εργαστηριακές έρευνες	25
2.3.2. Μοριακά διαγνωστικά σημεία φροντίδας.....	26
2.3.3. Δοκιμές ανίχνευσης αντιγόνων	27
2.3.4. Ορολογία.....	28
2.3.5. Ακτινογραφικές δοκιμές	28
2.3.6. Βιοδείκτες που σχετίζονται με ασθενείς με COVID-19	29
3. Δεδομένα από τις μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα	30

3.1. Εισαγωγή	30
3.2. Δειγματοληψία και προετοιμασία σπέρματος	31
Ανίχνευση SARS-CoV-2 στο σπέρμα	31
Ανίχνευση αντισωμάτων SARS-CoV-2	32
3.3. Παρατηρήσεις για επίδραση στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα	33
3.4. Έρευνες και τεστ μέχρι σήμερα για την αίχνευση και τις επιπτώσεις στο σπέρμα	36
4. Ανίχνευση του ιού στο σπέρμα και συμπεράσματα των μελετών μέχρι σήμερα	42
4.1. ACE2 στη μήτρα και τον κόλπο	46
5. Συμπεράσματα	47
6. Βιβλιογραφία	49

Περίληψη

Η ιογενής πανδημία της νόσου του κορονοϊού 2019 (COVID-19), που δημιουργήθηκε από ένα νέο μεταλλαγμένο οξύ αναπνευστικό σύνδρομο κορονοϊού (SARS-CoV-2), έχει γίνει μια σοβαρή παγκόσμια κατάσταση έκτακτης ανάγκης για τη δημόσια υγεία, η οποία βρίσκεται σε εκθετική εξέλιξη πλήττοντας όλες τις χώρες του κόσμου. Ενώ το κύριο όργανο που στοχεύεται σε αυτήν την ασθένεια είναι οι πνεύμονες, άλλα ζωτικά όργανα, όπως η καρδιά και τα νεφρά, μπορεί να προσβληθούν και να παρουσιάσουν επιπλοκές. Ο κύριος υποδοχέας ξενιστή του SARS-CoV-2 είναι το ένζυμο μετατροπής αγγειοτενσίνης 2 (ACE2), ένα κύριο συστατικό του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης (RAAS). Το ACE2 συμμετέχει επίσης στην αρσενική ρύθμιση της στερογένεσης και της σπερματογένεσης των όρχεων. Καθώς το SARS-CoV-2 μπορεί να έχει τη δυνατότητα να μολύνει τους όρχεις μέσω του ACE2 και να επηρεάσει αρνητικά το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, είναι σημαντικό να γίνουν στοχευμένες μελέτες για παρθούν συμπεράσματα από την τρέχουσα πανδημία, με τη δυνατότητα προληπτικής παρέμβασης, ανάλογα με τα ευρήματα και τη χρονική πορεία της συνεχιζόμενης αυτής πανδημίας. Η παρούσα εργασία εξετάζει τους ρόλους που διαδραματίζουν αυτά τα διάφορα κυτταρικά συστατικά στη διατήρηση της ζωτικότητας των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων και της ικανότητάς τους για γονιμοποίηση σύμφωνα με τις μελέτες που έχουν γίνει επί του παρόντος. Οι αναπαραγωγικές συνέπειες μιας ιογενούς επίθεσης σε αυτά τα συστήματα, όσον αφορά τη γονιμότητα και τον κίνδυνο σεξουαλικής μετάδοσης, είναι άγνωστες για την ώρα. Στο κεφάλαιο 2 γίνεται μία παρουσίαση του ιού SARS-CoV-19 αναλυτικά για την προέλευσή του, τον τρόπο επίδρασης στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς και τις λειτουργίες του και τις περαιτέρω επιπλοκές που μπορεί να δημιουργήσει. Έπειτα στο κεφάλαιο 3 και 4 γίνεται επισκόπηση και ανάλυση των αποτελεσμάτων των μέχρι σήμερα ερευνών που εξετάζουν τις επιπτώσεις που έχει ο συγκεκριμένος ιός στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα.

Λέξεις κλειδιά: Κορονοϊός, Ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, Σπέρμα, Πανδημία

Abstract

The 2019 Coronavirus viral pandemic (COVID-19), formed by a new mutated acute coronavirus syndrome (SARS-CoV-2), has become a serious global public health emergency, which is on the verge of evolution affecting every country in the world. While the main organ targeted in this disease is the lungs, other vital organs, such as the heart and kidneys, can be affected and have complications. The major host receptor for SARS-CoV-2 is the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), a major component of the renin-angiotensin-aldosterone (RAAS) system. ACE2 is also involved in the male regulation of testicular estrogen and spermatogenesis. As SARS-CoV-2 may have the potential to infect testes via ACE2 and adversely affect the male reproductive system, it is important to conduct targeted studies to draw conclusions from the current pandemic, with the possibility of preventive intervention, depending on the findings and the course of this ongoing pandemic. The present study examines the roles played by these various cellular components in maintaining the vitality of human sperm and their ability to fertilize according to current studies. The reproductive consequences of a viral attack on these systems, in terms of fertility and the risk of sexual transmission, are unknown at this time. In the second chapter there is a familiarization SARS-CoV-19 virus in detail about its origin, how it affects the human body as well as its functions and the further complications it could cause. Within the 3rd and 4th chapter there has been a review and analysis of the results of global researches up to date that analyze and examine the effects of this virus on the male reproductive system.

Keywords: Coronavirus, Male reproductive system, Sperm, Pandemic

1. Εισαγωγή

Από τον Δεκέμβριο του 2019, υπήρξε ένα ξέσπασμα πνευμονίας άγνωστης αιτιολογίας που αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη Γουχάν, στην επαρχία Χουμπέι, της Κίνας. Μετά το ξέσπασμα, ένας νέος ιός (coronavirus) ή κοινός γνωστός ως κορονοϊός, ο SARS-CoV-19, αναγνωρίστηκε ως ο αιτιολογικός ιός για την πανδημία στην Κίνα και σε άλλα μέρη του κόσμου από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) (Mehta et al., 2020). Έως τις 12 Φεβρουαρίου 2020, υπήρχαν 43.103 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις του ιού COVID-19 και από αυτές, 42.708 οι περιπτώσεις (99.1%) προέρχονταν από την Κίνα. Όπως δείχνουν αυτά τα δεδομένα, η Κίνα είχε πληγεί έως τότε σοβαρά από τον ιό COVID-19, το οποίο ήταν μια μεγάλη καταστροφή για τη δημόσια υγεία. Ο ιός COVID-19 έχει θεωρηθεί συγγενής του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου (SARS), το οποίο έχει τη δυνατότητα μετάδοσης από τα ζώα στους ανθρώπους. Επί του παρόντος, δεν είναι ακόμη σαφές πότε η πανδημία θα φτάσει στο αποκορύφωμά της (Hollander & Carr, 2020). Μέχρι σήμερα, η πηγή του SARS-CoV-2 παραμένει άγνωστη. Ωστόσο, η μόλυνση από το SARS-CoV-2 έχει συσχετιστεί με επαφή με έναν τοπικό πωλητή θαλασσινών στη Γουχάν που πούλησε παράνομα ορισμένα ζώα άγριας ζωής, συμπεριλαμβανομένων των νυχτερίδων. Κατά τη διάρκεια της πανδημίας του ιού COVID-19, είναι επιτακτική ανάγκη να γίνει κατανοητό πώς ο πληθυσμός, ιδιαίτερα οι χώρες που έχουν πληγεί σοβαρά, όπως η Κίνα, αντιμετώπισε μια τεράστια καταστροφή και συνεχίζει να αντιμετωπίζει αυτή την απειλή ως προς τη δημόσια υγεία (Nishiura et al., 2019).

Η πανδημία της νέας νόσου του κορονοϊού 2019 (COVID-19), με τη μεσολάβηση της ιογενούς λοίμωξης του κοροναϊού του οξέος αναπνευστικού συνδρόμου (SARS-CoV-2), είναι μια σοβαρή, γεωμετρικά επεκτεινόμενη, παγκόσμια κατάσταση έκτακτης ανάγκης για τη δημόσια υγεία, με συνεχείς εκδηλώσεις και αναφέρονται καθημερινά νέα κρούσματα. Η πολύ υψηλή μεταδοτικότητα του COVID-19 οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην ταχεία κοινοτική μετάδοσή του, στην υψηλή μολυσματικότητα και στην παρατεταμένη επιφανειακή βιωσιμότητα (Fauci, Lane & Redfield, 2020). Η παρουσίαση του ιού COVID-19 ποικίλλει σημαντικά από σπάνιες ασυμπτωματικές περιπτώσεις, έως ήπια συμπτώματα που μοιάζουν με γρίπη, συμπεριλαμβανομένου του υψηλού πυρετού, έως και σοβαρή αναπνευστική νόσο. Το παθογόνο SARS-CoV-2 είναι ένας μονόκλωνος ιός RNA, με τη σοβαρότερη κλινική παθοφυσιολογία, να είναι ένα σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (SARS). Ο πρόσφατα εξελιγμένος ιός έχει

εκτιμώμενο ποσοστό θνησιμότητας 10 έως 15 φορές μεγαλύτερο από το συνηθισμένο εποχιακό αναπνευστικό νόσημα που προκαλείται από τον ιό *Haemophilus influenzae* ο οποίος είναι ευρέως γνωστό ως κοινή γρίπη. Οι κρίσιμες περιπτώσεις χαρακτηρίζονται από ταχεία αναπνευστική επιδείνωση, σηπτικό σοκ και / ή δυσλειτουργία ή αποτυχία πολλαπλών οργάνων. Τα τρέχοντα ποσοστά μόλυνσης και οι συνεχώς ανανεωμένες ενημερώσεις εμφανίζονται συνεχώς στον ιστότοπο του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) (Zhengetal., 2020).

Με την ταχεία εμφάνιση της παγκόσμιας πανδημίας του ιού COVID - 19, είναι επιτακτική ανάγκη να κατανοήσουμε όλες τις οδούς μετάδοσης του αιτιολογικού παράγοντα, SARS - CoV - 2 μέσω σωματικών υγρών. Για τα περισσότερα αναδυόμενα παθογόνα, ο ρόλος του σπέρματος ως πηγής μετάδοσης έχει εξεταστεί σε μεγάλο βαθμό, αν όχι καθόλου. Μπορεί να υπάρχει σκεπτικισμός σχετικά με τη μελέτη του SARS CoV - 2 στο σπέρμα, όταν η κύρια οδός μετάδοσης μέσω εξάπλωσης σταγονιδίων μπορεί επίσης να συμβεί κατά τη σεξουαλική δραστηριότητα, αλλά η μετάδοση μέσω σπέρματος ή σπερματοζωαρίων μπορεί επίσης να σχετίζεται με μεγάλο αριθμό ασθενών υπογονιμότητας που υποβάλλονται σε υποβοηθούμενες αναπαραγωγικές τεχνολογίες (Perryetal., 2020). Η γνώση άλλων ιών που υπάρχουν στο σπέρμα δίνει προτεραιότητα στην εξέταση του σπέρματος και της σεξουαλικής μετάδοσης. Πάνω από 25 ιοί έχουν βρεθεί στο ανθρώπινο σπέρμα και η σεξουαλική μετάδοση έχει επιβεβαιωθεί σε αρκετούς ιούς που παραδοσιακά θεωρούνται μη σεξουαλικά μεταδιδόμενοι. Το ευρύ φάσμα από οικογένειες ιών που εντοπίζονται στο ανθρώπινο σπέρμα αποδεικνύει ότι το SARS - CoV - 2 θα μπορούσε να ανιχνευθεί είτε στους όρχεις είτε στο σπέρμα. Το SARS - CoV - 2 βρίσκεται στο αίμα και στο πλάσμα αν και ο βαθμός της ιομίας είναι ακόμα άγνωστος και θα μπορούσε να περιοριστεί στις πιο σοβαρές λοιμώξεις (Aitken, 2020). Οι ιοί που μπορούν να προκαλέσουν ιομία μπορούν να περάσουν το φράγμα των όρχεων μέσω του αίματος με την παρουσία συστηματικής ή τοπικής φλεγμονής, ή σε άνδρες με αλλοιωμένους φραγμούς όρχεων αίματος (π.χ. αντισώματα κατά των σπέρματος). Όταν παρουσιαστούν, οι ιοί μπορούν να παραμείνουν στο αρσενικό αναπαραγωγικό σύστημα επειδή η ανοσοαπόκριση των όρχεων περιορίζεται με αποτέλεσμα να επιτρέψει την επιβίωση του σπέρματος, καθιστώντας τους όρχεις μια ανοσολογικά προνομιακή τοποθεσία (Mehtaetal., 2020). Η σεξουαλική μεταδοτικότητα αυτών των επίμονων ιών δεν έχει μελετηθεί, αλλά η έρευνα δείχνει την πιθανότητα της σεξουαλικής μετάδοσης να προκαλέσει καθυστερημένα κρούσματα. Τα ιογενή φορτία που οδηγούν σε ιομία πρέπει να γίνουν κατανοητά, μαζί με τον βαθμό της ιομίας που θα μπορούσε να προκαλέσει το

SARS - CoV - 2 και να φτάσει στους όρχεις σε επίπεδα που θα μπορούσαν να μεταδοθούν μέσω του σπερματικού υγρού (Maetal., 2020).

Όπως δείχνουν τα υπάρχοντα δεδομένα, η Κίνα έχει πληγεί σοβαρά από τον ιό COVID-19, το οποίο αποτελεί μια μεγάλη καταστροφή για τη δημόσια υγεία [4]. Ο ιός COVID-19 έχει αναγνωριστεί ως συγγενής του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου (SARS), το οποίο έχει τη δυνατότητα μετάδοσης από τα ζώα στους ανθρώπους. Επί του παρόντος, δεν είναι ακόμη σαφές πότε η πανδημία θα φτάσει στο αποκορύφωμά της. Μέχρι σήμερα, η πηγή και προέλευση του SARS-CoV-2 παραμένει άγνωστη. Ωστόσο, η μόλυνση SARS-CoV-2 έχει συσχετιστεί με επαφή με έναν τοπικό πωλητή θαλασσινών στο Γουχάν που πώλησε παράνομα ορισμένα άγρια ζώα τα οποία είναι απαγορευμένα, συμπεριλαμβανομένων νυχτερίδων. Κατά τη διάρκεια της πανδημίας COVID-19, είναι επιτακτική ανάγκη να γίνει κατανοητό πώς ο πληθυσμός, ιδίως οι χώρες που έχουν πληγεί σοβαρά, όπως η Κίνα, αντιμετωπίζουν μια καταστροφή τεραστίων διαστάσεων (Ashouretal., 2020).

Οι λίγες μελέτες για το SARS - CoV - 2 και το σπέρμα μέχρι στιγμής έχουν δείξει αντικρουόμενα αποτελέσματα. Οι Pan et al (2020) ανέλυσαν δείγματα που συλλέχθηκαν από άντρες ένα μήνα μετά τη διάγνωση που παρουσίαζαν πιο ήπια συμπτώματα, ενώ οι Song et al (2020) περιελάμβαναν συμπτωματικούς και ασυμπτωματικούς άνδρες καθώς και δείγματα από ιστούς όρχεων από έναν νεκρό ασθενή. Μια επιπλέον μελέτη ανέλυσε το σπέρμα ενός ασθενούς με ήπια συμπτώματα και δεν ανίχνευσε τον ιό οκτώ ημέρες μετά τη λήψη θετικού τεστ. Ωστόσο, μια μελέτη 38 ανδρών ασθενών με COVID - 19 διαπίστωσε ότι 4 από τους 15 ασθενείς (26,7%) στο οξύ στάδιο της λοίμωξης και 2 από τους 23 ασθενείς (8,7%) σε ανάρρωση είχαν ανιχνεύσιμο SARS - CoV - 2 στα δείγματα σπέρματος. Εκτός από τις μελέτες σπέρματος, μία μελέτη 48 ανδρών και 20 θηλυκών συνέκρινε τον χρόνο κάθαρσης του ιού του SARS - CoV - 2 μεταξύ των φύλων και παρατήρησε ότι οι γυναίκες πέτυχαν ένα αρνητικό αποτέλεσμα PCR δύο ημέρες νωρίτερα από τους άνδρες. Αυτές οι μελέτες χρησιμοποίησαν μικρά μεγέθη δείγματος και εξέτασαν επιβεβαιωμένα κρούσματα COVID - 19 κατά τη διάρκεια της ανάρρωσης (Chenetal., 2020). Δεδομένου του υψηλού αριθμού ασυμπτωματικών και μη δοκιμασμένων ατόμων που μπορεί να έχουν υψηλό ιικό φορτίο, υπάρχει πιθανότητα παρουσίας SARS - CoV - 2 στο σπέρμα ανδρών που έχουν τον ιό χωρίς να το γνωρίζουν. Οι κοινοτικοί έλεγχοι και η ανάλυση σπέρματος σε συμπτωματικούς και ασυμπτωματικούς άνδρες είναι απαραίτητοι για τον

προσδιορισμό της παρουσίας του ιού στο σπέρμα για αυτούς με διάφορους βαθμούς ασθένειας. Μεταξύ του πλήθους επιπτώσεων της πανδημίας COVID - 19 είναι πιθανός ο κίνδυνος για τις επιπτώσεις στη γονιμότητα των ανδρών. Οι ιογενείς λοιμώξεις του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων της παρωτίτιδας, των σεξουαλικά μεταδιδόμενων λοιμώξεων και της φυματίωσης, είναι γνωστό ότι προκαλούν μόνιμη βλάβη στους όρχεις (Dongetal., 2020). Οι Xu et al (2016) διαπίστωσαν ορχίτιδα σε νεκρούς ασθενείς που πιστεύεται ότι προκαλούνται από τον ιό SARS. Μια πρόσφατη μελέτη ανδρών με επιβεβαιωμένο τεστ του ιού COVID - 19 ανέφερε ότι το 19% των συμμετεχόντων εμφάνισαν δυσφορία στο όσχεο συγκρίσιμο με αυτό κατά την ορχίτιδα. Δυστυχώς, καμία τρέχουσα μελέτη ανακτημένων ασθενών δεν εξέτασε την ποιότητα του σπέρματος. Δεδομένης της μεταβλητής φύσης της ποιότητας του σπέρματος και της χαμηλής γονιμότητας της προγνωστικής ισχύος στην ανάλυση του σπέρματος, οι μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να είναι καλά σχεδιασμένες και στατιστικά ισχυρές ώστε να είναι χρήσιμες, συμπεριλαμβανομένης της ανάλυσης συγκυτικών παραγόντων, όπως φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της λοίμωξης (Stanleyetal., 2020).

2. Ιστορικό και χαρακτηριστικά του ιού «Covid-19»

2.1. Ιστορικό και χαρακτηριστικά

Ο κορονοϊός (Coronaviruses- CoVs) ανήκει στην οικογένεια των Coronaviridae, που ονομάζεται με βάση την παρουσία αντιγόνων στη μεμβράνη του ιού, το οποίο τους δίνει τη χαρακτηριστική εμφάνιση «στεφάνης» σε ηλεκτρονικά μικροσκόπια(από τα λατινικάcorona[στέμμα]). Από την πρώτη ταυτοποίηση του το 1965, πολλοίCoVs έχουν εντοπιστεί τόσο στα ζώα όσο και στους ανθρώπους και επί του παρόντος ταξινομούνται σε 46 διαφορετικά είδη. Ορισμένοι εκ των CoVs μπορούν να προκαλέσουν δευτερεύουσα συμπτωματολογία που μοιάζει με γρίπη στους ανθρώπους (δηλαδή, ανθρώπινα CoVs229E και OC43), ενώ άλλα, μπορούν να προκαλέσουν σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (SARS) -CoV-1 και αναπνευστικό σύνδρομο Μέσης Ανατολής (MERS)(Liuetal., 2017). OCoV, έχει λάβει σημαντική προσοχή λόγω του υψηλού ποσοστού μολύνσεων και θνησιμότητας. Με βάση τα δεδομένα που αναφέρονται από τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (Disease Controland Prevention- CDC), τόσο ο SARS-CoV-1 όσο και ο MERS-CoV μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις, πυρετό και βήχα και να συσχετιστούν με την ανάπτυξη άλλων σοβαρών επιπλοκών, όπως διάρροια και πνευμονία. Ο βήτα-κορονοϊός που φέρει την ασθένεια, περιλαμβάνει τουςHCoV-HKU1, HCoV-OC43, το σύνδρομο αναπνευστικού κορονοϊού της Μέσης Ανατολής (MERSCoVs), το σοβαρό σύνδρομο οξείας αναπνευστικής κορονοϊκής (SARS-CoV) και SARS-CoV-2(Bishtetal., 2017). Η γονιδιωματική και φυλογενική έρευνα έδειξε ότι ο COVID-19 είναι ένα βCoV-2, CoV του ίδιου υπογονιδίου με τον ιό SARS, αλλά σε διαφορετική κατηγορία. Η σύσταση της γονιδιακής περιοχής δέσμωσης του υποδοχέα μοιάζει πολύ με εκείνη του SARS-CoV και ο ιός έχει αποδειχθεί ότι χρησιμοποιεί τον ίδιο υποδοχέα, το ένζυμο μετατροπής αγγειοτενσίνης 2 (angiotensin-convertingenzyme 2 - ACE2), για την είσοδό του στα αναπνευστικά κύτταρα. Ένα άλλο χαρακτηριστικό του γονιδιώματος είναι ότι περιέχει τέσσερις δομικές πρωτεΐνες: **πρωτεΐνη S** (Spike=ακίδα), **πρωτεΐνη E** (Envelope=φάκελος), **πρωτεΐνη M** (Membrane=μεμβράνη) και **πρωτεΐνη N** (Nucleocapsid=νουκλεοκαψίδιο) (ή αλλιώς, «αγκαθωτές» πρωτεΐνες (S), πρωτεΐνης του μεμβρανοειδούς φακέλου (E),πρωτεΐνες του πυρηνικού καψιδίου (N)), και μερικές άλλες βοηθητικές πρωτεΐνες(Liuetal., 2017). Η S πρωτεΐνη παίζει σημαντικό ρόλο στην είσοδο ιού

στον ξενιστή. Εδώ εμφανίζονται οι αρχικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του τομέα S και του υποδοχέα ξενιστή του (ACE2) στην περίπτωση SARS-CoV&SARS-CoV-2. Η πρωτεΐνη E είναι η μικρότερη (8,4-12 kDaσε μέγεθος) και αποτελεί τη δομική πρωτεΐνη του CoVs. Η πρωτεΐνη παίζει καθοριστικό ρόλο στη μορφογένεση των ιών, ιδίως κατά την είσοδο καθώς και την έξοδο. Η διατήρηση του σχήματος του ιικού φακέλου είναι η πιο σημαντική λειτουργία της πρωτεΐνης M και η πρωτεΐνη M εκτελεί αυτή τη δουλειά αλληλοεπιδρώντας με άλλες πρωτεΐνες του CoVs(Segarsetal., 2020). Η πρωτεΐνη M συμμετέχει επίσης στην ευαισθητοποίηση του ξενιστή από τον ιό. Ο σχηματισμός και η συντήρηση του συμπλόκου του RNA είναι οι σημαντικότερες λειτουργίες της πρωτεΐνης N, όπου συχνά ελέγχει την αντιγραφή και μεταγραφή του ιού RNA και στον ξενιστή αναστέλλει τη μετάφραση πρωτεϊνών μέσω EF1α μεσολαβούμενο από την ένταση. Η εστεράση της αιμοσυγκολλητίνης υπάρχει στο φάκελο του CoVs, πιο συγκεκριμένα μεταξύ των β-Coronaviridae. Το HE είναι δείκτης της εξέλιξης του ιού CoV και της γρίπης. Η E-πρωτεΐνη παίζει καθοριστικό ρόλο στη συγκέντρωση και απελευθέρωση ιών. Επιπλέον, οι E-πρωτεΐνες έχουν αρκετούς άλλους ρόλους, όπως η ενεργοποίηση του καναλιού των ιόντων που είναι απαραίτητα για την παθογένεση του SARS-CoV και πιθανώς το SARS-CoV-2. Η παρουσία αυτή, σε παρόμοια περιοχή διάσπασης στο SARS-CoV-2, προάγει την έναρξη των πρωτεϊνών S και μπορεί να βελτιώσει την απόδοση της διάδοσης SARS-CoV-2(Alviggiatal., 2020).

Μια έρευνα για τον CoVid 19 εμφανίστηκε τον Δεκέμβριο του 2019, που ονομάστηκε SARS-CoV-2 από τη Διεθνή Επιτροπή Ταξινόμησης ιών, λόγω της γενετικής ομοιότητάς του με τον ιό SARS-CoV-1 (79,5%). Η λοίμωξη έχει ονομαστεί «COVID-19» (νόσος κορονοϊού-19), καθώς πρόκειται για νόσο που σχετίζεται με το CoV που ανακαλύφθηκε αρχικά το 2019. Αυτός ο ιός έχει ξεπεράσει άλλους CoVs στο ποσοστό μόλυνσης και έχει εξαπλωθεί γρήγορα, με αρχική προέλευσή την πόλη του Γουχάν, στην Κίνα. Ο SARS-CoV-2 έχει ταυτοποιηθεί ως μέλος της υποομάδας του β-κορονοϊού, με ένα μονόκλωνο RNA θετικής φοράς, που βρίσκεται εντός ενός νουκλεοκαψιδίου που περιέχεται σε ένα φάκελο(Aitken, 2020). Η ιική δομή περιλαμβάνει χαρακτηριστικές πρωτεΐνες ακίδας (S) που προβάλλονται από την επιφάνεια του ιού και βοηθούν την είσοδό του στα κύτταρα, τις πρωτεΐνες μεμβράνης (M) και φακέλου (E) που βοηθούν στην ιική συναρμολόγηση και την πρωτεΐνη N που σχηματίζει το νουκλεοκαψίδιο. Η πρωτεΐνη S μεσολαβεί στη μεταφορά του ιού σε κύτταρα ξενιστές και αποτελείται από δύο μοναδικές υπομονάδες, S1 και S2. Ο τομέας S1 εκτελεί τη σύνδεση του ιού με την μεμβράνη

του κυττάρου ξενιστή, ενώ ο τομέας του S2 είναι υπεύθυνος για τη σύντηξη του ιού προς τις κυτταρικές μεμβράνες του ξενιστή για να διευκολύνει την είσοδο του ιικού γονιδιώματος στο κύτταρο ξενιστή. Οι ιικές πρωτεΐνες S υφίστανται πρωτεολυτική εκκίνηση από τη διαμεμβρανική πρωτεάση, σερίνη 2 (TMPRSS2). Πολλοί υποδοχείς στην ανθρώπινη κυτταρική μεμβράνη αναγνωρίζεται ότι εμπλέκονται στη σύνδεση πρωτεΐνης S1 σε κύτταρα ξενιστές(Yangetal., 2020).

Ο SARS-CoV-2 μπορεί να αποκτήσει πρόσβαση σε κύτταρα ξενιστές μέσω του υποδοχέα ενζύμου μετατροπής αγγειοτενσίνης 2 (ACE2), με υψηλότερη συγγένεια από αυτή που αναφέρεται στο SARS-CoV-1. Αυτοί οι υποδοχείς εκφράζονται ευρέως στους πνεύμονες (ιδιαίτερα πνευμονοκύτταρα τύπου II και μακροφάγοι), στο καρδιαγγειακό σύστημα, στο γαστρεντερικό σύστημα, στα νεφρά, στους νευρολογικούς ιστούς και στους όρχεις. Εδώ, οι ιοί αναπαράγονται εντός των κυττάρων, απελευθερώνοντας ώριμα ιοσωμάτια, τα οποία με τη σειρά τους μολύνουν νέα κύτταρα στόχους(Guoetal., 2020).

Ωστόσο, κατά την εμφάνιση του COVID-19 παρατηρούνται ορισμένες διαφορές μεταξύ των δύο φύλων και είναι ένα ανεξήγητο φαινόμενο γιατί οι άνδρες φαίνονται πιο ευαίσθητοι σε λοίμωξη SARS-CoV-2 σε σύγκριση με τις γυναίκες, με ακόμη υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας. Ο υποδοχέας ενζύμων μετατροπής αγγειοτασίνης 2 (ACE2) παίζει βασικό ρόλο στην παθογένεση COVID-19 βοηθώντας την άμεση βλάβη των κυττάρων ξενιστών. Η δέσμευση του ιού SARS-CoV-2 με τους υποδοχείς ACE2 επιτρέπει την κυτταρική είσοδο και αντιγραφή του. Κατά συνέπεια, μπορεί να γίνει αντιληπτό ότι τα κύτταρα με υψηλότερη έκφραση ACE2 είναι περισσότερο ευαίσθητα προς τη λοίμωξη και πιο ευπαθή στο SAR-CoV 2(Stanleyetal., 2020).

Έχοντας εξετάσει αυτές τις αναφορές, είναι μια σημαντική αποκάλυψη στην έρευνα για τη γονιμότητα των ανδρών ότι οι όρχεις δείχνουν σχεδόν τις υψηλότερες εκφράσεις ACE2 στο mRNA και στη πρωτεΐνη μεταξύ των διαφόρων ιστών του σώματος. Οι τέσσερις κύριοι τύποι κυττάρων των όρχεων που δείχνουν έκφραση του ACE2 mRNA είναι τα κύτταρα του αγωγού, τα σπερματογονία, τα κύτταρα Leydig και τα κύτταρα Sertoli. Επιπλέον, παρατηρείται η σαφώς υψηλή έκφραση ACE2 στα κύτταρα των όρχεων, ενώ αντίστοιχα τα συγκριτικά χαμηλά επίπεδα έκφρασης του ACE2 στα κύτταρα των ωοθηκών, μπορεί να υποστηρίξουν την υψηλότερη ευπάθεια της μεσολαβούμενης από SARS-CoV-2 βλάβης στις αρσενικές γοναδικές λειτουργίες(Perryetal., 2020).

Τα στοιχεία δείχνουν έντονα τη μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο μέσω της διασποράς των σταγονιδίων. Η μέση περίοδος επώασης εκτιμάται ότι είναι 5 ημέρες μετά την έκθεση, με αναφερόμενο εύρος 2 έως 14 ημερών. Η τυπικά περιγραφόμενη παρουσίαση περιλαμβάνει πυρετό (88%), ξηρό βήχα (67%), κόπωση (38,1%), παραγωγικό βήχα (33%), δύσπνοια (18%), φαρυγγίτιδα (13%) και πονοκέφαλο (13%). Οι πιο σοβαρές περιπτώσεις αναπτύσσουν πνευμονία. Οι επιπλοκές περιλαμβάνουν σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, σοκ, ηπατική δυσλειτουργία και δευτερογενή λοίμωξη. Έχουν επίσης αναφερθεί συμπτώματα στο γαστρεντερικό σύστημα, όπως κοιλιακό άλγος, κακή όρεξη, ναυτία, έμετος και διάρροια(CardonaMaya, DuPlessis&Velilla, 2020).

Τα εργαστηριακά αποτελέσματα υποδηλώνουν λευκοπενία και λεμφοκυτταροπενία. Αν και το ποσοστό θνησιμότητας αναφέρεται στο 2% έως 3%, το οποίο είναι σημαντικά χαμηλότερο από το MERS, το SARS-CoV-2 αναμένεται να οδηγήσει σε πολύ περισσότερους θανάτους λόγω των εκτεταμένων λοιμώξεων. Επί του παρόντος, η διάγνωση βασίζεται στην ταυτοποίηση νουκλεϊκών οξέων σε στοματοφαρυγγικά επιχρίσματα μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο και αλληλουχίας επόμενης γενιάς. Οι παράγοντες κινδύνου για νοσηλεία περιλαμβάνουν εκείνους που είναι ηλικίας άνω των 60 ετών, τους άντρες, το σεξ, τη παχυσαρκία, τους καπνιστές και υποκείμενες καταστάσεις όπως υπέρταση, καρδιαγγειακές παθήσεις, διαβήτης και χρόνιες αναπνευστικές ασθένειες(Hallaketal., 2020).

2.2. Τρόποι εισαγωγής του ιού στον οργανισμό και τα κύτταρα και οι λειτουργίες του

2.2.1. Ο ιός SARS-CoV-2

Ο κορονοϊός είναι ιός RNA, με ένα εκτεταμένο και ευδιάκριτο ευρύ φάσμα φυσικών ξενιστών και επηρεάζει πολλαπλά συστήματα. Η οικογένεια των κορονοϊών μπορεί να προκαλέσει κλινικές ασθένειες στον άνθρωπο οι οποίες μπορεί να εκτείνονται από ένα κοινό κρυολόγημα σε πιο σοβαρές αναπνευστικές ασθένειες όπως το SARS και το MERS. Το πρόσφατα αναδυόμενο SARS-CoV-2 προκάλεσε όλεθρο στην Κίνα και πανδημική κατάσταση στον παγκόσμιο πληθυσμό, οδηγώντας στα τρέχοντα κρούσματα της νόσου που δεν έχουν ελεγχθεί μέχρι σήμερα, ενώ καταβάλλονται υψηλές προσπάθειες για την αντιμετώπιση αυτού του ιού. Πιο πρόσφατα, η ΠΟΥ ανακοίνωσε ένα επίσημο όνομα για αυτήν την ασθένεια ως COVID-19 (Vishvkarma&Rajender, 2020). Προς το παρόν, ο ΠΟΥ ονόμασε αυτόν τον τρέχοντα αναδυόμενο ιό ως κορονοϊό 2019- (2019-nCoV) και αργότερα την ασθένεια ως COVID-19. Αργότερα, αυτός ο ιός έχει προταθεί να χαρακτηριστεί / ονομαστεί ως «σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο coronavirus 2» (SARS-CoV-2) από τη Διεθνή Επιτροπή για την Ταξινόμηση των ιών (ICTV) Coronaviridae Study Group που διαπίστωσε ότι ο ιός ανήκει στο υπάρχον είδος, κορονοϊός, που σχετίζεται με σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο και βρήκε αυτόν τον ιό που σχετίζεται με τον SARS-CoVs. Το SARS-CoV-2 είναι μέλος της τάξης Nidoviridae, οικογένεια Coronaviridae, υποοικογένεια Orthocoronaviridae, η οποία υποδιαιρείται σε τέσσερα γένη, δηλαδή. Ιός Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus και Deltacoronavirus (Efremov et al., 2020). Τα γένη Alphacoronavirus και Betacoronavirus προέρχονται από τις νυχτερίδες, ενώ ο Gammacoronavirus και Deltacoronavirus έχουν εξελιχθεί από ομάδες γονιδίων των πουλιών και των χοίρων (24, 28, 29, 28) Οι κοροναϊοί διαθέτουν ένα μη τεκμηριωμένο, μονόκλωνο (Ss) RNA γονιδιώματος περίπου 30 kb, που περικλείεται από 5'-cap and 3'-poly-A ουρά και το γονιδίωμα του SARS-CoV-2 μήκους 29,891 kb, με περιεκτικότητα G + C 38%. Αυτοί οι ιοί περικυκλώνονται με ένα περίβλημα που περιέχει ιικό νουκλεοκαψίδιο. Τα νουκλεοκαψίδια στα CoV είναι διατεταγμένα σε ελικοειδή συμμετρία, η οποία αντικατοπτρίζει ένα άτυπο χαρακτηριστικό με θετικούς όρους ιούς RNA (Ben-Kimhy et al., 2020).

Στις ηλεκτρονικές μικρογραφίες του SARS-CoV-2 αποκαλύφθηκε το σφαιρικό περίγραμμα τους με κάποιο βαθμό πλειομορφισμού, διάμετρος ισομάτων που κυμαίνεται από 60 έως 140 nm και διακριτές αιχμές 9 έως 12 nm, δίνοντας στον ιό την εμφάνιση μιας ηλιακής κορώνας. Το CoV σγονιδιώμα είναι διατεταγμένο γραμμικά ως 5'-leader-UTR-replicase-structural genes-(S-E-M-N)-3' UTR-poly (A). Βοηθητικά γονίδια όπως 3a / b, 4a / b, γονίδιο αιμοσυγκολλητίνης-εστεράσης (hemagglutinin-esterase gene- HE) φαίνεται επίσης να αναμιγνύονται εντός των δομικών γονιδίων (Esteves et al., 2020). Ο SARS-CoV-2 έχει επίσης βρεθεί ότι είναι διατεταγμένος με παρόμοιο τρόπο και κωδικοποιεί αρκετές βοηθητικές πρωτεΐνες, αν και δεν διαθέτει το HE, το οποίο είναι χαρακτηριστικό ορισμένων Betacoronavirus. Το θετικό νόημα του γονιδιώματος των CoVs χρησιμεύει ως mRNA και μεταφράζεται σε πολυπρωτεΐνη 1a / 1a. Ένα σύμπλοκο αντιγραφής-μεταγραφής (RTC) σχηματίζεται σε κυστίδια διπλής μεμβράνης (DMVs) από μη δομικές πρωτεΐνες (nsps), που κωδικοποιούνται από την πολυπρωτεΐνη. Στη συνέχεια, το RTC συνθέτει ένα ένθετο σύνολο υπο-γονιδιωματικών RNAs (sgRNAs) μέσω ασυνεχούς μεταγραφής (Segar et al., 2020).

Με βάση τον μοριακό χαρακτηρισμό, ο SARS-CoV-2 θεωρείται ως νέος ιός Betacoronavirus που ανήκει στο υπογονίδιο Sarbecovirus. Λίγοι άλλοι κρίσιμοι ζωνοσογόνοι ιοί (σχετικοί με MERS-CoV και SARS-σχετικοί-CoV) ανήκουν επίσης στο ίδιο γένος. Ωστόσο, το SARS-CoV-2 αναγνωρίστηκε ως ένας ξεχωριστός ιός με βάση το ποσοστό ταυτότητας με έναν άλλο Betacoronavirus, με διατηρημένο ORF 1ab παρακάτω από 90%. Παρατηρήθηκε συνολική 80% νουκλεοτιδική ταυτότητα μεταξύ SARS-CoV-2 και πρωτότυπου SARS-CoV μαζί με 89% ταυτότητα με ZC45 και ZXC21 SARS σχετιζόμενες με το CoV των νυχτερίδων (Ma et al., 2020). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί 82% ταυτότητα μεταξύ SARS-CoV-2 και ανθρώπινου SARS-CoV Tor2 και ανθρώπινου SARS-CoV BJ01 το 2003. Παρατηρήθηκε ταυτότητα αλληλουχίας μόνο 51,8% μεταξύ του MERS που σχετίζεται με το CoV και του πρόσφατα εμφανιζόμενου SARS-CoV-2. Η φυλογενετική ανάλυση των δομικών γονιδίων γνωστοποίησε επίσης ότι το SARS-CoV-2 είναι πιο κοντά στο ραβδί που σχετίζεται με το SARS-CoV. Επομένως, το SARS-CoV-2 μπορεί να προήλθε από τις νυχτερίδες, ενώ άλλοι ξενιστές ενισχυτή θα μπορούσαν να έχουν παίξει έναν πιθανό ρόλο για τη μετάδοση αυτής της νόσου στον άνθρωπο. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα άλλα δύο ζωνοσογόνα CoV (MERS που σχετίζονται με CoV και SARS που σχετίζονται με CoV) προέρχονται επίσης από τις νυχτερίδες. Παρ' όλα αυτά, για τους SARS και

MERS, η γάτα και οι καμήλες λειτουργούν ως ξενιστές ενισχυτή, αντίστοιχα (Sengupta&Dutta, 2020).

Το γονιδίωμα και το υπογονιδίωμα Coronavirus κωδικοποιούν έξι ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs). Η πλειοψηφία του άκρου 5' καταλαμβάνεται από το ORF1a / b, το οποίο παράγει 16 nsps. Οι δύο πολυπρωτεΐνες, pp1a και pp1ab, παράγονται αρχικά από ORF1a / b με μετάτοπιση - 1 πλαισίου μεταξύ ORF1a και ORF1b. Οι ιογενείς κωδικοποιημένες πρωτεάσες διασπώνουν τις πολυπρωτεΐνες σε ξεχωριστές nsps [Κύρια πρωτεάση (Mpro), πρωτεάση παρόμοια με χυμοθρυψίνη (3CLpro) και πρωτεάση που μοιάζει με παπαΐνη (PLPs)]. OSARS-CoV-2 επίσης κωδικοποιεί αυτά τα nsps και οι λειτουργίες τους διευκρινίστηκαν πρόσφατα. Είναι αξιοσημείωτο ότι μια διαφορά μεταξύ SARS-CoV-2 και άλλων CoVs είναι η ταυτοποίηση μιας νέας υποτιθέμενης βραχείας πρωτεΐνης εντός της πρωτεΐνης που εκκρίνεται από ORF3 με τον άλφα έλικα και βήτα-φύλλο με έξι κλώνους που κωδικοποιούνται από το ORF8. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, ένα χαρακτηριστικό του γονιδιώματος είναι ότι περιέχει τέσσερις δομικές πρωτεΐνες: **πρωτεΐνη S** (Spike=ακίδα), **πρωτεΐνη E** (Envelope=φάκελος), **πρωτεΐνη M** (Membrane=μεμβράνη) και **πρωτεΐνη N** (Nucleocapsid=νουκλεοκαψίδιο), οι οποίες αναλύονται παρακάτω (Kashi, 2020).

2.2.2. Πρωτεΐνη S (Spike = ακίδα)

Η πρωτεΐνη S Coronavirus είναι μια μεγάλη πολυλειτουργική διαμεμβρανική πρωτεΐνη κατηγορίας I. Το μέγεθος αυτής της άφθονης πρωτεΐνης S κυμαίνεται από τα 1160 αμινοξέα (IBV, Ιός μολυσματικής βρογχίτιδας στα πουλερικά) έως τα 1400 αμινοξέα (FCoV, Feline Coronavirus). Βρίσκεται ως κοπτικό στην επιφάνεια του βιριονίου, δίνοντας στο βιρίον μια «κορώνα» ως όψη. Λειτουργικά απαιτείται για την είσοδο των μολυσματικών σωματιδίων ιοσωμάτων μέσα στο κύτταρο μέσω αλληλεπίδρασης με διάφορους κυτταρικούς υποδοχείς ξενιστές. Επιπλέον, δρα ως κρίσιμος παράγοντας για τον τροπισμό των ιστών και τον προσδιορισμό του εύρους του ξενιστή (Mehtaetal., 2020).

Συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη S είναι μία από τις ζωτικές ανοσοεξαρτώμενες πρωτεΐνες των CoV, ικανών να προκαλούν ανοσοαπόκριση ξενιστή. Ο εκτομέας σε όλες τις πρωτεΐνες CoVs S δείχνει μια παρόμοια οργάνωση τομέα, χωρισμένη σε δύο τομείς. Ο πρώτος, το S1, βοηθά στη δέσμευση του υποδοχέα του ξενιστή, ενώ ο δεύτερος, S2, ευθύνεται για τη σύντηξη. Ο πρώτος (S1) διαιρείται περαιτέρω σε δύο υποτομείς, συγκεκριμένα τον N-τερματικό τομέα (NTD) και τον O-τερματικό τομέα (CTD). Και οι δύο αυτοί υποτομείς δρουν ως περιοχές δέσμευσης του υποδοχέα που αλληλοεπιδρούν αποτελεσματικά με διάφορους υποδοχείς ξενιστές. OS1 CTD περιέχει το μοτίβο δέσμευσης υποδοχέα (RBM). Σε κάθε πρωτεΐνη ακίδας κορονοϊού, το τριμερές S1 τοποθετείται στην κορυφή του τριμερούς στελέχους S2 (Hollander&Carr, 2020).

Πρόσφατα, οι δομικές αναλύσεις των S πρωτεϊνών του COVID-19 έχουν αποκαλύψει 27 υποκαταστάσεις αμινοξέων σε μήκος 1273 τμημάτων αμινοξέων. Αυτό εντοπίζεται μεταξύ των έξι υποκαταστάσεων, που βρίσκονται στο RBD (aa 357-528) ενώ τέσσερις υποκαταστάσεις στο RBM στο CTD του τομέα S1. Προς σημείωση, δεν παρατηρείται αλλαγή αλληλουχίας αμινοξέων στο RBM, το οποίο συνδέεται απευθείας με τον υποδοχέα του ενζύμου-2 μετατροπής της αγγειοτασίνης (ACE2) στο SARS-CoV. Προς το παρόν, η κύρια έμφαση είναι να γνωστοποιηθούν πόσες διαφορές θα απαιτηθούν για την αλλαγή του τροπικού ξενιστή (Nishiuraetal., 2019).

Η σύγκριση ακολουθιών αποκάλυψε 17 μη συνώνυμες αλλαγές στην πρώιμη ακολουθία του SARS-CoV-2 από τις μεταγενέστερες απομονώσεις SARS-CoV. Οι αλλαγές βρέθηκαν διασκορπισμένες στο γονιδίωμα του ιού με εννέα υποκαταστάσεις στο ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης (ORF) 1ab, ORF8 (4 υποκαταστάσεις), γονίδιο αιχμής (3 υποκαταστάσεις) και

ORF7a (απλή υποκατάσταση). Συγκεκριμένα, οι ίδιες μη συνώνυμες αλλαγές βρέθηκαν σε ένα οικογενειακό σύμπλεγμα, υποδεικνύοντας ότι η ιογενής εξέλιξη μπορεί να είχε συμβεί κατά τη μετάδοση από άτομο σε άτομο. Τέτοιες προσαρμοστικές εξελίξεις είναι συχνές και αποτελούν μια συνεχή διαδικασία μόλις ο ιός εξαπλωθεί μεταξύ νέων ξενιστών. Παρ' όλο που δεν συμβαίνουν λειτουργικές αλλαγές στον ιό που σχετίζεται με αυτήν την προσαρμοστική εξέλιξη, απαιτείται στενή παρακολούθηση των ιογενών μεταλλάξεων που συμβαίνουν κατά την επόμενη μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο (Fauci, Lane & Redfield, 2020).

2.2.3. Πρωτεΐνη M (Membrane = μεμβράνη)

Η πρωτεΐνη M είναι η πιο άφθονη ιική πρωτεΐνη που υπάρχει στο σωματίδιο του ιού και δίνει ένα συγκεκριμένο σχήμα στον ιικό φάκελο. Συνδέεται με το νουκλεοκαψίδιο και δρα ως κεντρικός διοργανωτής του συγκροτήματος του κορονοϊού. Οι πρωτεΐνες M Coronaviruses είναι πολύ διαφορετικές όσον αφορά στην περιεκτικότητα σε αμινοξέα, αλλά διατηρούν τη συνολική δομική ομοιότητα. Η M πρωτεΐνη έχει τρεις διαμεμβρανικές περιοχές, πλαισιωμένες από κοντό αμινο-τερματικό έξω από το βιρίον και ένα μακρύ καρβοξυ-τερματικό μέσα στο βιρίον. Συνολικά, το ιικό κρίωμα διατηρείται από την αλληλεπίδραση M-M. Προς σημείωση, η πρωτεΐνη M του SARS-CoV-2 δεν έχει υποκατάσταση αμινοξέος σε σύγκριση με το SARS-CoV (Zhengetal., 2020).

2.2.4. Πρωτεΐνη E (Envelope = φάκελος)

Η πρωτεΐνη E coronavirus είναι η πιο αιγιματική και η μικρότερη από τις κύριες δομικές πρωτεΐνες. Παίζει πολυλειτουργικό ρόλο στην παθογένεση, τη συναρμολόγηση και την απελευθέρωση του ιού. Είναι ένα μικρό ολοκληρωμένο πολυπεπτίδιο μεμβράνης που δρα ως ιοπορίνη (κανάλι ιόντων). Η απενεργοποίηση ή η απουσία αυτής της πρωτεΐνης σχετίζεται με την αλλοιωμένη μολυσματικότητα των κοροναϊών λόγω αλλαγών στη μορφολογία και τον τροπισμό. Η πρωτεΐνη E αποτελείται από τρεις τομείς, δηλαδή βραχύ υδρόφιλο αμινο-

τερματικό, μεγάλο υδρόφοβο διαμεμβρανικό πεδίο, και εξαιρετικό C τερματικό πεδίο. Η πρωτεΐνη SARS-CoV-2E αποκαλύπτει μια παρόμοια σύνθεση αμινοξέων χωρίς καμία υποκατάσταση (Perry et al., 2020).

2.2.5. Πρωτεΐνη N (Nucleocapsid = νουκλεοκαψίδιο)

Η N πρωτεΐνη του κορονοϊού είναι πολλαπλών χρήσεων. Μεταξύ πολλών λειτουργιών, παίζει ρόλο στον σχηματισμό πολύπλοκων δεσμών με το ιικό γονιδίωμα, καθώς διευκολύνει την αλληλεπίδραση της M πρωτεΐνης που απαιτείται κατά τη συναρμολόγηση του ιού, και ενισχύει την αποτελεσματικότητα της μεταγραφής του ιού. Περιέχει τρεις εξαιρετικά διατηρημένους και διακριτούς τομείς, συγκεκριμένα έναν N-τερματικό τομέα (NTD), έναν RNA-δεσμευτικό τομέα ή μια περιοχή σύνδεσης (LKR) και έναν O-τερματικό τομέα (CTD). Ο NTD συνδέεται με το 3' άκρο του ιικού γονιδιώματος, ίσως μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, και αποκλίνει σε μεγάλο βαθμό τόσο σε μήκος όσο και σε αλληλουχία (Aitken, 2020). Το φορτισμένο LKR είναι πλούσιο σε σερίνη και αργινίνη και επίσης γνωστό ως SR (Serine και Arginine domain). Η περιοχή LKR είναι ικανή άμεσης αλληλεπίδρασης εντός της *in vitro* αλληλεπίδρασης RNA και είναι επίσης υπεύθυνη για την κυτταρική σηματοδότηση. Διαμορφώνει επίσης την αντιακτική απόκριση του ξενιστή δουλεύοντας ως ανταγωνιστής για παρεμβολές ιντερφερόνης και RNA. Σε σύγκριση με το SARS-CoV, η N πρωτεΐνη του SARS-CoV-2 διαθέτει πέντε μεταλλάξεις αμινοξέων, όπου οι δύο βρίσκονται στην εγγενώς διεσπαρμένη περιοχή (θέσεις IDR, 25 και 26), η καθεμία στην NTD (θέση 103), LKR (θέση 217) και CTD (θέση 334) (Ma et al., 2020).

2.2.6. NSP's και βοηθητικές πρωτεΐνες

Εκτός από τις σημαντικές δομικές πρωτεΐνες, το SARS-CoV-2 genome περιέχει 15 nsps, nsp1-nsp10 και nsp12-16 και 8 βοηθητικές πρωτεΐνες (3a, 3b, p6, 7a, 7b, 8b, 9b και orf14). Όλες αυτές οι πρωτεΐνες παίζουν ειδικό ρόλο στην αντιγραφή του ιού. Η διαφορά σε σχέση με τις βοηθητικές πρωτεΐνες με τους SARS-CoV, SARS-CoV-2 δεν περιέχει 8α πρωτεΐνη και

μεγαλύτερες 8b και μικρότερες πρωτεΐνες 3b. Οι πρωτεΐνες nsr7, nsr13, φάκελος, μήτρα ή βοηθητικές πρωτεΐνες ρb και 8b δεν έχουν ανιχνευθεί με υποκαταστάσεις αμινοξέων σε σύγκριση με τους κορονοϊούς(Ashouretal., 2020).

2.3. Τρόποι εξέτασης και διάγνωσης (τεστ)

2.3.1. Μοριακός έλεγχος με βάση εργαστηριακές έρευνες

Η τρέχουσα διαγνωστική στρατηγική που συνιστά το CDC για την ταυτοποίηση ασθενών με COVID-19 είναι η δοκιμή δειγμάτων που λαμβάνονται από την αναπνευστική οδό για να εκτιμηθεί η παρουσία 1 ή περισσότερων στόχων νουκλεϊκών οξέων ειδικά για το SARS-CoV-2. Ένα ρινοφαρυγγικό δείγμα είναι η προτιμώμενη επιλογή για τη δοκιμή SARS – CoV-2 που βασίζεται σε στυλεό, αλλά είναι επίσης αποδεκτά δείγματα είναι αυτά του στοματοφαρυγγικού, μεσαίου στροβίλου ή πρόσθιου νάρθηκα (Aitken, 2020). Τα δείγματα πρέπει να λαμβάνονται χρησιμοποιώντας ένα στρογγυλό στυλεό, εάν υπάρχει, για την ενίσχυση της συλλογής και της απελευθέρωσης του κυτταρικού υλικού. Προτιμώνται τα ταμπόν με αλουμίνιο ή πλαστικό άξονα. Τα επιχρίσματα που περιέχουν αλγινικό ασβέστιο, ξύλο ή βαμβάκι πρέπει να αποφεύγονται, επειδή μπορεί να περιέχουν ουσίες που αναστέλλουν τον έλεγχο PCR. Στην ιδανική περίπτωση, τα επιχρίσματα θα πρέπει να μεταφέρονται σε καθολικό μέσο μεταφοράς αμέσως μετά τη συλλογή του δείγματος για να διατηρηθεί το ιικό νουκλεϊκό οξύ (Guoetal., 2020). Δείγματα που λαμβάνονται από πτύελα, ενδοτραχειακές αναρροφήσεις και βρογχοκυψελιδική πλύση μπορούν επίσης να σταλούν απευθείας στο εργαστήριο μικροβιολογίας για επεξεργασία και μπορεί να έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία από τα δείγματα της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Η ανεπαρκής συλλογή δειγμάτων μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητική δοκιμή. Μετά τη συλλογή δειγμάτων, τα δείγματα υποβάλλονται σε εκχύλιση RNA ακολουθούμενη από ποιοτική RT-PCR για την ανίχνευση του στόχου (Stanleyetal., 2020). Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το CDC ανέπτυξε την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη ανάλυση SARS-CoV-2. Το κιτ περιέχει σετ εκκινητών PCR εναρκτήρα για 2 περιοχές του ιού γονιδίου νουκλεοκαψιδίου (N1 και N2), και για το ανθρώπινο γονίδιο RNaseP για να διασφαλιστεί ότι η εκχύλιση RNA ήταν επιτυχής. Αυτός ο προσδιορισμός διαφέρει από τα σετ εναρκτήρων - διερευνητών του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, τα οποία στοχεύουν τα γονίδια που

εξαρτώνται από το SARS-CoV-2 RNA πολυμεράση RNA (RdRP) και τα περιβλήματα (E). Και οι δύο αναλύσεις έχουν υψηλή αναλυτική ευαισθησία και ειδικότητα για το SARS-CoV-2, με ελάχιστη διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με άλλα κυκλοφορούντα στελέχη κορονοϊών και οι δύο χρησιμοποιούν εμβέλεια μικρότερη από 40 ως κριτήριο θετικότητας (Perryetal., 2020). Το kit CDC μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τα κρατικά εργαστήρια δημόσιας υγείας, άλλα εργαστήρια που καθορίζονται από το κράτος για να είναι κατάλληλα και από κλινικά εργαστήρια που πληρούν τις κανονιστικές απαιτήσεις της τροποποίησης βελτίωσης των κλινικών εργαστηρίων (CLIA) για την εκτέλεση δοκιμών υψηλής πολυπλοκότητας. Δεκάδες εργαστήρια έχουν υποβάλει αίτηση για άδεια έκτακτης ανάγκης (EUA) από το FDA για τις δικές τους εργαστηριακές δοκιμές (CardonaMaya, DuPlessis&Velilla, 2020). Το FDA έχει επίσης χορηγήσει άδειες έκτακτης ανάγκης για αρκετές εμπορικές δοκιμασίες, επεκτείνοντας περαιτέρω την ικανότητα των κλινικών εργαστηρίων να χρησιμοποιούν αυτές τις πλατφόρμες. Η έλλειψη καθιερωμένου προτύπου αναφοράς, η χρήση διαφορετικών μεθόδων συλλογής και προετοιμασίας δειγμάτων και η ελλιπής κατανόηση της δυναμικής του ιού καθ' όλη τη διάρκεια της λοίμωξης παρεμποδίζουν την αυστηρή αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των πολλών πρόσφατα εισαχθέντων προσδιορισμών SARS-CoV-2 (Vishvkarma&Rajender, 2020). Ο ορός και τα ούρα είναι συνήθως αρνητικά για την παρουσία ιικού νουκλεϊκού οξέος, ανεξάρτητα από τη σοβαρότητα της ασθένειας. Είναι σημαντικό, η ικανότητα των προσδιορισμών RT-PCR να αποκλείσουν το COVID-19 με βάση τα δείγματα της ανώτερης αναπνευστικής οδού που λαμβάνονται καθώς σε ένα μόνο χρονικό σημείο παραμένουν ασαφείς. Αντίθετα, αφού ένας ασθενής είχε θετικό αποτέλεσμα εξέτασης, αρκετές αρχές συνέστησαν τη λήψη τουλάχιστον 2 αρνητικών δειγμάτων ανώτερης αναπνευστικής οδού, που συλλέχθηκαν σε διαστήματα 24 ωρών ή περισσότερο, για να τεκμηριωθεί η κάθαρση SARS-CoV-2 (Efremovetal., 2020).

2.3.2. Μοριακά διαγνωστικά σημεία φροντίδας

Οι χαμηλής πολυπλοκότητας, ταχείες (αποτελέσματα εντός 1 ώρας) μοριακές διαγνωστικές εξετάσεις για ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος που εγκαταλείπονται από το CLIA (το FDA έχει εγκριθεί για χρήση εκτός εργαστηρίου από μη συνεργαζόμενο προσωπικό)

περιλαμβάνουν δοκιμασίες με βάση φυσίγγια σε πλατφόρμες που περιλαμβάνουν το AbbottIDNOW(AbbottLaboratories),BioFireFilmArray(bioMérieux),cobasLiat(RocheDiagnostic s) και GeneXpert (Cepheid) (Chenetal., 2020).

Ταχείες δοκιμές σημείου φροντίδας για SARS – CoV-2 σε όργανα όπως αυτά θα είναι κρίσιμες για την επέκταση των δοκιμών σημείου φροντίδας. Η δοκιμή XpertXpressSARS – CoV-2 (Cepheid) έλαβε ένα FDA EUA και εκτελείται στην πλατφόρμα GeneXpert, η οποία χρησιμοποιείται ήδη ευρέως για δοκιμές φυματίωσης και HIV, ειδικά σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος. Αυτή η ικανότητα μπορεί να είναι χρήσιμη για την κλιμάκωση των δοκιμών σε όλο τον κόσμο, καθώς και σε ρυθμίσεις όπου τα γρήγορα αποτελέσματα στο σημείο της περίθαλψης θα επιτρέψουν κλινικές αποφάσεις, αν και η απόδοση των δοκιμών μπορεί να αποτελεί περιοριστικό παράγοντα (Panetal., 2020).

2.3.3. Δοκιμές ανίχνευσης αντιγόνων

Οι δοκιμές που ανιχνεύουν τα αντιγόνα του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού ή του ιού της γρίπης με ανοσοπροσδιορισμό απευθείας από κλινικά δείγματα, διατίθενται στο εμπόριο εδώ και δεκαετίες. Είναι χαμηλής πολυπλοκότητας και ενδέχεται να παρέχουν αποτελέσματα μέσα σε λίγα λεπτά στο σημείο φροντίδας. Τα τρέχοντα εργαλεία για τη γρίπη και τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό υποφέρουν από βέλτιστη ευαισθησία για να αποκλείσουν τη νόσο. Η ίδια πρόκληση θα υπήρχε πιθανώς για το SARS – CoV-2 και οι δοκιμές θα έπρεπε να εφαρμοστούν με σαφή καθοδήγηση για τη σωστή ερμηνεία. Τα πρωτότυπα τέτοιων δοκιμών για άλλους νέους κορονοϊούς δεν έχουν λάβει κανονιστική έγκριση αλλά είναι υπό ανάπτυξη. Έχουν δημιουργηθεί μονοκλωνικά αντισώματα κατά της πρωτεΐνης νουκλεοκασιιδίου του SARS-CoV-2, τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν τη βάση μιας μελλοντικής δοκιμής ταχείας ανίχνευσης αντιγόνων (Fauci, Lane&Redfield, 2020).

2.3.4. Ορολογία

Οι ορολογικές δοκιμές που ταυτοποιούν αντισώματα (όπως IgA, IgM και IgG) στο SARS-CoV-2 από κλινικά δείγματα (όπως αίμα ή σάλιο), όπως ανοσοπροσροφητικές δοκιμασίες που συνδέονται με ένζυμα, μπορεί να είναι λιγότερο περίπλοκες από τις μοριακές δοκιμές και να έχουν πιθανή χρήση για διάγνωση σε ορισμένες καταστάσεις. Ωστόσο, η χρησιμότητά τους για τη διάγνωση οξέων λοιμώξεων είναι πιθανώς περιορισμένη κατά την έναρξη των συμπτωμάτων, όταν ο ιός απόρριψης και ο κίνδυνος μετάδοσης φαίνεται να είναι υψηλότερος. Οι αποκρίσεις αντισωμάτων στη μόλυνση χρειάζονται ημέρες έως εβδομάδες για να είναι αξιόπιστα ανιχνεύσιμες (Zhengetal., 2020). Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν τη λοίμωξη SARS – CoV-2, ιδιαίτερα μεταξύ εκείνων με πρόσφατη έκθεση στον ιό. Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του αντισώματος έναντι των πρωτεϊνών κορονοϊού που δεν είναι SARS-CoV-2 είναι επίσης ένα πιθανό πρόβλημα, όπου θετικά αποτελέσματα μπορεί να είναι το αποτέλεσμα προηγούμενης ή παρούσας μόλυνσης με άλλους ανθρώπινους κορονοϊούς. Οι ορολογικές δοκιμασίες μπορεί να είναι πιο σχετικές σε σενάρια στα οποία οι ασθενείς παρουσιάζουν ιατρική περίθαλψη με καθυστερημένες επιπλοκές της νόσου, όταν το RT-PCR μπορεί να είναι ψευδώς αρνητικό, επειδή η ιική απόρριψη μειώνεται με την πάροδο του χρόνου (Perryetal., 2020).

Η ανάπτυξη ορολογικών δοκιμασιών που αξιολογούν με ακρίβεια την προηγούμενη λοίμωξη και την ανοσία στο SARS-CoV-2 θα είναι απαραίτητη για επιδημιολογικές μελέτες, συνεχή παρακολούθηση, μελέτες εμβολίων και ενδεχομένως για αξιολόγηση κινδύνου των εργαζομένων στον τομέα της υγείας. Οι ανοσοδοκιμασίες διατίθενται ήδη στην αγορά σε ορισμένες χώρες, αλλά η ακρίβεια και η βέλτιστη χρήση των διαγνωστικών τους παραμένουν απροσδιόριστες (Maetal., 2020).

2.3.5. Ακτινογραφικές δοκιμές

Πολλά κέντρα έχουν αξιολογήσει τη χρησιμότητα της απεικόνισης στο κορμό για τη διάγνωση. Στην ακτινογραφία του θώρακα, η διμερής πνευμονία είναι το πιο συχνά αναφερόμενο χαρακτηριστικό (εύρος, 11,8% έως 100%) και είναι πιο συχνή από μια μονομερή εστίαση. Η υπολογιστική τομογραφία θεωρείται πιο ευαίσθητη από την ακτινογραφία, με αρκετές μελέτες

κοόρτης να αναφέρουν ότι οι περισσότεροι ασθενείς (77,8% έως 100%) είχαν αδιαφάνεια από γυαλί εδάφους. Άλλα χαρακτηριστικά γνωρίσματα που αναφέρονται συνήθως με το COVID-19 σε υπολογιστική τομογραφία στο κορμό περιλαμβάνουν μια περιφερειακή κατανομή, λεπτές αδιαφάνειες των δικτυωτών και το αγγειακό πάχος (Ashouretal., 2020). Σε σύγκριση με τη σειριακή ρινοφαρυγγική δειγματοληψία, η τομογραφία στο στήθος μπορεί να είναι πιο ευαίσθητη από μια δοκιμή RT-PCR σε ένα μόνο χρονικό σημείο για τη διάγνωση του COVID-19. Επιπλέον, η τεχνητή νοημοσύνη μπορεί να βοηθήσει στη διάκριση του COVID-19 από άλλους αιτιολογικούς παράγοντες πνευμονίας που αποκτήθηκε από την κοινότητα. Ωστόσο, αυτά τα ευρήματα δεν είναι απολύτως ειδικά για το COVID-19 και δεν αποκλείουν μια συν-μόλυνση ή μια εναλλακτική διάγνωση (Dongetal., 2020).

2.3.6. Βιοδείκτες που σχετίζονται με ασθενείς με COVID-19

Τα πιο κοινά εργαστηριακά χαρακτηριστικά που αναφέρθηκαν σε ασθενείς με COVID-19 περιλαμβάνουν μειωμένη λευκωματίνη (75,8% [95% CI, 30,5% έως 100%]), αυξημένη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (58,3% [CI, 21,8% έως 94,7%]), και αυξημένα επίπεδα γαλακτικής αφυδρογονάσης (57,0% [CI, 38,0% έως 76,0%]) και λεμφοπενία (43,1% [CI, 18,9% έως 67,3%]). Άλλοι βιοδείκτες που έχουν αναφερθεί περιλαμβάνουν αυξημένα ποσοστά καθίζησης ερυθροκυττάρων. αυξημένα επίπεδα ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης, αμινοτρανσφεράσης αλανίνης και κρεατινίνης κινάσης. λευκοπενία λευκοκυττάρωση και αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης και κρεατινίνης (Yangetal., 2020). Τέτοια ευρήματα δεν προκαλούν έκπληξη, διότι αυτοί οι βιοδείκτες αντιπροσωπεύουν μια φλεγμονώδη απόκριση ενός ξενιστή στο SARS-CoV-2 ή είναι οι πρώτοι δείκτες της δυσλειτουργίας του τελικού οργάνου, παρόμοια με αυτούς που παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με σήψη. Προς το παρόν δεν υπάρχει βιοδείκτης ή συνδυασμός βιοδεικτών που να είναι αρκετά ευαίσθητος ή αρκετά συγκεκριμένος για να διαπιστώσει τη διάγνωση του COVID-19 ή για να προβλέψει ρεαλιστικά την κλινική του πορεία (Guoetal., 2020).

3. Δεδομένα από τις μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα

3.1. Εισαγωγή

Υπήρξε σημαντική αύξηση των δημοσιεύσεων και των προ-δημοσιεύσεων για τα SARS-CoV-2 και COVID-19 με περισσότερα από 6 εκατομμύρια περιστατικά παγκοσμίως μέχρι τον Ιούνιο του 2020. Οι άνδρες ασθενείς έχουν υψηλότερο κίνδυνο μόλυνσης και συμπτωμάτων σε σύγκριση με τις γυναίκες τόσο στο SARS όσο και στο CO-VID-19. Ωστόσο, τυχόν ανεπιθύμητες ενέργειες στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα έχουν γενικά διερευνηθεί. Αυτό είναι σημαντικό, καθώς ο ιός SARS-CoV-1 κατάφερε να προσβάλλει τους όρχεις και να προκαλέσει ιογενή ορχίτιδα (Segarsetal., 2020). Στις 20 Φεβρουαρίου 2020, η Αμερικανική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής (American Society for Reproductive Medicine- ASRM) και η Εταιρεία Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγικής Τεχνολογίας (Society for Assisted Reproductive Technology- SART) συνέστησαν στα ζευγάρια να αποφύγουν ή να αναβάλουν την εγκυμοσύνη και τις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) σε περιπτώσεις υποψίας υποκλινικών ή επιβεβαιωμένων COVID-19 διαγνώσεων. Στην περίπτωση άλλων μολυσματικών ασθενειών, όπως ο ιός του έιτς (HIV), αναφέρθηκαν τεχνικές επεξεργασίας σπέρματος, συμπεριλαμβανομένων των σταδίων πλύσης, που μειώνουν σημαντικά τα σπέρματα του ιού και την πιθανότητα μόλυνσης. Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη στοιχείων σχετικά με την πιθανή δυσμενή επίδραση του SARS-CoV-2 στο αναπαραγωγικό σύστημα (Alviggietal., 2020).

3.2. Δειγματοληψία και προετοιμασία σπέρματος

Ένα δείγμα σπέρματος από κάθε συμμετέχοντα ελήφθη με αυνανισμό και εκσπερμάτωση απευθείας σε μη κυτταροτοξικά αποστειρωμένα δοχεία. Το πρόσφατα συλλεγόμενο σπέρμα υγροποιήθηκε για 30-60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και υποβλήθηκε σε επεξεργασία εντός 1 ώρας από την εκσπερμάτωση για ανάλυση των χαρακτηριστικών του σπέρματος σύμφωνα με τα κριτήρια που δημοσίευσε η ΠΟΥ. Η μορφολογία του σπέρματος δεν αξιολογήθηκε λόγω προβλημάτων ασφάλειας. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν και 500 μL μεταφέρθηκαν στον σωλήνα για ιικό έλεγχο του φυσικού δείγματος (Segarsetal., 2020).

Για να προετοιμαστεί το δείγμα σπέρματος για τον ιικό έλεγχο, το υπόλοιπο σπέρμα προετοιμάστηκε σε μια διαδικασία πλύσης δύο σταδίων που τροποποιήθηκε σύμφωνα με την τυπική διαδικασία του κέντρου για άνδρες με HIV ή ηπατίτιδα C. Κατ' αρχάς, το σπέρμα μετρήθηκε και διηθήθηκε μέσω προθερμασμένης βαθμίδας πυκνότητας κολλοειδούς πυριτίας 90% / 45% στους 30° C σε 1.800 rpm για 20 λεπτά (SpermFilter: Gynotec) και παρασκευάστηκε με μέσο επεξεργασίας σπέρματος GM 501 SpermAir (SPA) (Gynemed). Δεύτερον, το σφαιρίδιο πλύθηκε σε 3 μL προθερμασμένου SPA στις 2.300 rpm για 10 λεπτά και το προκύπτον σφαιρίδιο επαναιωρήθηκε σε 500 mLSPA, μετρήθηκε και μεταφέρθηκε στον ιικό δοκιμαστικό σωλήνα του επεξεργασμένου σπέρματος (Chengetal., 2020).

Ανίχνευση SARS-CoV-2 στο σπέρμα

Το φυσικό και επεξεργασμένο δείγμα σπέρματος φυγοκεντρήθηκε για 1 λεπτό στις 3.500 rpm. Η εκχύλιση RNA πραγματοποιήθηκε από 200 μL υπερκείμενου με τη χρήση του EZ1 VirusMiniKitv2 (Qiagen) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα 60 μL εκλούστηκαν από το αρχικό υλικό των 200 μL και δοκιμάστηκαν 5 μL του προϊόντος έκλουσης με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής (RT-PCR) με τη χρήση της τεχνικής TaqMan. Ενισχύθηκε και ανιχνεύθηκε ένα αμπλικόνιο 113-ζευγών βάσης στο γονίδιο E του SARS-CoV-2, όπως περιγράφηκε προηγουμένως με μικρές τροποποιήσεις. Το RT-PCR πραγματοποιήθηκε

με τη χρήση ενός συστήματος ανιχνευτή ακολουθίας ABI 7500 FAST (PEAppliedBiosystems). Το θερμικό πρωτόκολλο που περιγράφηκε συντομεύτηκε σε 40 κύκλους των 95° C. Χρησιμοποιήθηκε το LightMixModularSARS και το WuhanCoV-E-γονίδιο (αρ. Αρ. 53-0776-96) και το LightMixModularEAVRNAExtractControl. Επιπλέον, χρησιμοποιήσαμε το kit AgPath-IDOne-StepRT-PCR (AppliedBiosystems αρ. 4387391, πρότυπο DNA πλασμίδιο pEX-A128-nCoV2019-E-γονίδιο) (Anifandisetal., 2020).

Ανίχνευση αντισωμάτων SARS-CoV-2

Χρησιμοποιήθηκε ένα εμπορικό anti-SARS-CoV-2 S1 IgG και IgAELISA (IgGcat. No. EI 2606-9601G, IgAcat.No. EI 2606-9601 A; EuroImmunMedizinischeLabordiagnostika) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Μια ποσότητα από τον ορό των 500 μL δοκιμάστηκε με τη χρήση του πλήρως αυτόματου EuroImmunAnalyzerI-2 P (Euro Immun Medizinische Labordiagnostika) . Αυτό το kit δεν περιλαμβάνει αντισώματα IgM, τα οποία δεν αναμένεται να βρεθούν στα άτομα. Σύμφωνα με τον κατασκευαστή (EuroImmun), ενδείκνυται η ακόλουθη ευαισθησία και ειδικότητα των εμπορικών αντι-SARS-CoV-2 S1 IgG και IgAELISA: Η ευαισθησία IgG αυξάνεται από 30,3% <10 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων σε ~94% μετά > 21 ημέρες. Η ειδικότητα IgG είναι υψηλή, στο ~99%. Η ευαισθησία IgA αυξάνεται από 51,5% <10 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων σε 100% μετά από > 21 ημέρες. Η ειδικότητα IgA είναι επίσης υψηλή, στο ~88% (Alviggietal., 2020).

3.3. Παρατηρήσεις για επίδραση στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα

Η απεικόνιση των όρχεων του ACE2 έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με την ηλικία. Έχει αναφερθεί η υψηλότερη έκφραση σε ασθενείς ηλικίας 30 ετών και άνω των 20 ετών, ενώ οι ασθενείς ηλικίας 60 ετών έχουν τα χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης. Αυτό θα μπορούσε να δείξει ότι οι νεαροί άνδρες ασθενείς, είναι πιο πιθανό, από τους ηλικιωμένους ασθενείς να παρουσιάσουν τραυματισμό στους όρχεις λόγω του COVID-19(Chengetal., 2020). Αυτό υποδηλώνει επίσης τον βαθύ παθοφυσιολογικό ρόλο διαφόρων ορμονικών περιοχών στη μόλυνση από SARS-CoV-2 στους άνδρες. Όπως αναφέρθηκε, το πρώτο βήμα που απαιτείται για τη μολυσματικότητα του SARS-CoV-2 είναι η προκαλούμενη από πρωτεάσες, εκκίνηση των πρωτεϊνών με τον υποδοχέα του κυττάρου ξενιστή, κυρίως μέσω της πρωτεάσης trans μεμβράνης, σερίνη 2 (TMPRSS2). Το TMPRSS2 έχει προταθεί να αποκόψει τον υποδοχέα ACE2, βοηθώντας την είσοδο του ιού στο κύτταρο ξενιστή. Στοιχεία από μελέτες σε ανθρώπους ισχυρίζονται ότι απαιτείται ενεργοποίηση υποδοχέα ανδρογόνων για την ενεργοποίηση της μεταγραφής γονιδίου TMPRSS2(Dongetal., 2020).

Δεδομένου ότι οι γονιδιακές θέσεις του υποδοχέα ανδρογόνων και του ACE2 εντοπίζονται στα χρωμοσώματα X, αυξημένη κληρονομικότητα που συνδέεται με X των γενετικών πολυμορφισμών και κατά συνέπεια ενδογενείς δράσεις ανδρογόνων ίσως ένας πιθανός μηχανισμός για την εξήγηση της ευπάθειας των ανδρών στο COVID-19. Ωστόσο, υπάρχουν αντιφατικές αναφορές που δηλώνουν ότι η μόλυνση από SARS-CoV-2 σε άνδρες οδηγεί σε υπογονατίδα οξείας φάσης και προτείνεται ότι η μείωση της ανδρογονικής δράσης μπορεί να οδηγήσει σε ακόμη και θανατηφόρες συνέπειες(Aitken, 2020).

Αρκετές μελέτες σε ανθρώπους καθώς και σε ζώα έχουν συνδέσει τον υπογονατισμό με τα επίπεδα αυξημένων προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, κυρίως IL-1β, IL-6 και TNF-α, οι οποίες με τη σειρά τους είναι σημαντικοί φλεγμονώδεις μεσολαβητές στο SARS-CoV -2 σε παθογένεση. Ωστόσο, μια οξεία κρίσιμη φλεγμονώδης κατάσταση, όπως στην περίπτωση του COVID-19, μπορεί να καταστέλλει τη δραστηριότητα του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-όρχεων (HPT), οδηγώντας σε μειωμένη ορμόνη χαμηλής ωχρινοποίησης (LH), ορμόνη διέγερσης ωοθυλακίων (FSH) και στα επίπεδα τεστοστερόνης(Yangetal., 2020). Αλλά αυτή η θεωρητική αντίληψη αντιστοιχεί σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 81 άντρες ασθενείς με COVID-19, η οποία

ανέφερε χαμηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης στον ορό, υψηλότερα επίπεδα LH και χαμηλότερο λόγο T: LH σε σύγκριση με τα άτομα ελέγχου που αντιστοιχούν στην ηλικία. Αυτά τα ευρήματα μπορεί να υποδηλώνουν άμεσες επιδράσεις της λοίμωξης SARS-CoV-2 στα κύτταρα των όρχεων και όχι μέσω του άξονα HPT. Έτσι, οι συσχετίσεις της λοίμωξης SARS-CoV-2 και της διαμόρφωσης των ορμονών του φύλου στα αρσενικά είναι σημαντικοί σύνδεσμοι που περιμένουν σε βάθος ερευνητικές παρεμβάσεις. OSAR-CoV2 μπορεί να λειτουργήσει μέσω πολλαπλών πιθανών μηχανισμών που μπορεί να οδηγήσουν σε διακοπή των αρσενικών αναπαραγωγικών λειτουργιών(Guoetal., 2020).

Προτείνεται ότι αυτός ο ιός ενεργοποιεί τους οξειδωτικούς ευαίσθητους τρόπους μέσω φλεγμονωδών αποκρίσεων, προκαλώντας έτσι οξειδωτικό στρες (OS), το οποίο παρουσιάζει έναν κοινό παθολογικό μηχανισμό για τη διακοπή αρκετών φυσιολογικών λειτουργιών μέσω οξειδωτικής βλάβης στους ιστούς ξενιστές. Οι μεσολαβούμενοι από το OS μηχανισμοί ανδρικής υπογονιμότητας είναι ευρέως τεκμηριωμένοι, καθώς το λειτουργικό σύστημα μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα του σπέρματος και να διαταράξει τις λειτουργίες και τη μορφολογία του σπέρματος, ενδοκυτταρική οξειδωτική βλάβη στα σπερματοζωάρια από υπεροξείδωση των λιπιδίων της μεμβράνης του σπέρματος, βλάβη στο DNA του σπέρματος, καθώς και την επαγωγή αποπτωτικών οδών στα σπερματοζωάρια(Stanleyetal., 2020). Στις μολύνσεις SARS-CoV, η υπερβολική παραγωγή ειδών αντιδραστικού οξυγόνου (ROS) μπορεί να προκαλέσει κυρίως τον πυρηνικό παράγοντα ενισχυτή της κάππα-ελαφριάς αλυσίδας ενεργοποιημένων κυττάρων B (NF-κB) -τομοειδούς υποδοχέα (κυρίως TLR-4). Αυτό διεγείρει περαιτέρω την απελευθέρωση κυτοκινών προκαλώντας υπερβολή των φλεγμονωδών αποκρίσεων. Όπως ήδη συζητήθηκε, αυτός ο ιός μπορεί δυνητικά να προκαλέσει ορχίτιδα που μπορεί επίσης να οδηγήσει σε επαγωγή OS. Επιπλέον, η λοίμωξη SARS-CoV-2 προκαλεί ψυχολογικό άγχος που είναι η κύρια αιτία του συστηματικού λειτουργικού συστήματος(Perryetal., 2020).

Εκτός από την άμεση σχέση της λοίμωξης και του λειτουργικού συστήματος SARS-CoV-2, η θεραπεία του COVID-19 περιλαμβάνει αντιικά φάρμακα όπως η ριμπαβιρίνη (ribavirin) που έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με επαγωγή OS, μειωμένο επίπεδο τεστοστερόνης, μειωμένη σπερματογένεση και ανωμαλίες σπέρματος, από μελέτες σε ζώα. Επιπλέον, η θεραπεία με ριμπαβιρίνη έδειξε μειωμένο αριθμό σπερματοζωαρίων και κατακερματισμό του DNA του σπέρματος (SDF) έως και 8 μήνες μετά τη διακοπή της θεραπείας(CardonaMaya, DuPlessis&Velilla, 2020). Με βάση αυτές τις ζωτικές αναφορές, μπορεί να υποθεθεί, ότι οι

όρχεις θα μπορούσαν να αποτελέσουν πιθανό στόχο για τον ιό SARS-CoV-2 και τη βλάβη των όρχεων καθώς και την επακόλουθη υπογονιμότητα μετά τη μόλυνση με COVID-19, τα οποία μπορούν προς το παρόν να εξηγηθούν μόνο θεωρητικά. Η άμεση εισβολή του ιού SARS-CoV-2 προκαλείται από υποδοχείς ACE2 που πιθανώς προκαλούν άμεση βλάβη στους όρχεις ή επηρεάζοντας τις λειτουργίες των όρχεων από δευτερογενείς ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις(Hallaketal., 2020). Αυτή η πιθανότητα πρέπει να διερευνηθεί μέσω μελετών παρακολούθησης των αναπαραγωγικών λειτουργιών των ανδρών ασθενών που έχουν ανακτηθεί.Έτσι, δεν μπορεί να αποκλειστεί ότι οCOVID-19 μπορεί να έχει άμεσες ή καθυστερημένες επιπτώσεις στην κατάσταση της γονιμότητας των ανδρών. Μέχρι στιγμής, δεν έχουν ληφθεί οριστικά δεδομένα για την παρακολούθηση των αναπαραγωγικών λειτουργιών σε άντρες που αναρρώνουν από το COVID-19. Δεδομένου ότι η ανδρική υπογονιμότητα δείχνει ήδη μια παγκόσμια πτωτική τάση που αποτελεί μείζονα απειλή για την ανθρωπότητα, είναι ζωτικής σημασίας να διεξαχθεί διεξοδική έρευνα για να αποκαλυφθεί ο ακριβής αντίκτυπος και μηχανισμός με τον οποίο η πανδημία COVID-19 μπορεί να επηρεάσει τις παραμέτρους της γονιμότητας των ανδρών(Vishvkarma&Rajender, 2020).

3.4. Έρευνες και τεστ μέχρι σήμερα για την αίχνευση και τις επιπτώσεις στο σπέρμα

Μια πρόσφατη έκθεση αποκάλυψε ότι σε μια ανάλυση 38 δείγματα σπέρματος από ασθενείς με COVID-19, 6 (τέσσερα στοξυστάδιο της μόλυνσης και δύο που ανέκαμψαν) ήταν θετικά για τον ιό από RT-PCR¹. Είναι σημαντικό να σημειωθεί σε αυτό το σημείο, πως δεν υπάρχουν σαφείς πληροφορίες σχετικά με το εάν ο πραγματικός ιός ήταν βιώσιμος και μολυσματικός. Ωστόσο, η πιθανότητα ότι αυτός ο κοροναϊός θα μπορούσε να έχει παθοφυσιολογικό αντίκτυπο στους όρχεις, προτάθηκε από πρόσθετα δεδομένα που υποδεικνύουν ότι η ενεργή λοίμωξη COVID-19 μείωσε δραματικά την αναλογία τεστοστερόνης προς ωχριντροπίνη (LH), υποδηλώνοντας σημαντική επίδραση στην ανταπόκριση των κυττάρων Leydig στη διέγερση της ωχριντροπίνης (Eftremovetal., 2020).

Οι παρατηρήσεις αυτές δεν προκαλούν την έκπληξη, διότι το φράγμα των όρχεων στο αίμα είναι γνωστό ότι προσφέρει μικρή άμυνα ενάντια στην ιική εισβολή, δεδομένου του ευρέος φάσματος των παθογόνων ιών (HIV, ηπατίτιδα, παρωτίτιδα, θηλώματα) που είναι γνωστό ότι είναι ικανοί βλάβης των όρχεων και καθιστώντας τον ξενιστή στείρο. Επιπλέον, η ακίδα πρωτεΐνη που δίνει στον ιό COVID-19 την κορώνα του είναι γνωστό ότι στοχεύει το ACE2 (ένζυμο μετατροπής αγγειοτενσίνης 2), το οποίο εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους τύπους κυττάρων στους όρχεις, συμπεριλαμβανομένων των κυττάρων Leydig, των κυττάρων Sertoli και της γενετικής σειράς (Ben-Kimhyetal., 2020). Ως αποτέλεσμα αυτών των παραγόντων, έχουν ήδη δημοσιευτεί αρκετά άρθρα γνωμοδότησης, αυξάνοντας την πιθανότητα βλάβης και στειρότητας των όρχεων που οφείλονται στη μόλυνση με COVID-19. Ωστόσο, είναι επίσης πιθανό ο ιός να αποκτήσει πρόσβαση στα αρσενικά γεννητικά κύτταρα μόλις εγκαταλείψουν τους όρχεις, είτε στην επιδιδυμίδα είτε μετά την εκσπερμάτωση. Θα επικεντρωθούμε εδώ σε αυτήν την μετα-όρχεια διαδρομή λοίμωξης επισημαίνοντας, για πρώτη φορά, ότι το ώριμο σπερματοζώαριο έχει όλα τα μηχανήματα που απαιτούνται για τη σύνδεση αυτού του ιού, την τήξη με αυτόν, και ακόμη και την επίτευξη αντίστροφης μεταγραφής το ιικό RNA σε προϊικό DNA. Τέτοιες εκτιμήσεις αυξάνουν την πιθανότητα τα σπερματοζώαρια να λειτουργούν ως πιθανοί φορείς αυτής της εξαιρετικά μολυσματικής ασθένειας (Estevesetal., 2020).

Είναι γνωστό εδώ και πολλά χρόνια ότι η επιφάνεια του ανθρώπινου σπέρματος εκφράζει μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (ACE). Πράγματι, μια εξέταση των υπαρχουσών πρωτεωμικών βάσεων δεδομένων καθώς και έρευνες της επιφάνειας του σπέρματος με

μονοκλωνικά αντισώματα, αποδεικνύει ότι αυτά τα κύτταρα, κυριολεκτικά, κατέχουν όλα τα ACE. Ήταν γνωστό εδώ και αρκετό καιρό για την έκφραση μιας παραλλαγής όρχεων του ACE1, η οποία μετατρέπει την αδρανή ορμόνη δεκαπεπτιδίου, αγγειοτενσίνη I, σε ενεργό οκταπεπτιδίο, αγγειοτενσίνη II. Οι όρχεις ACE αντιστοιχούν στην προγονική μη διπλή μορφή του γονιδίου ACE το οποίο στερείται πολλαπλών εξωνίων 5'και έχει ένα ξεχωριστό τερματικό Ν'. Βιοχημικά, ωστόσο, εκτελεί ακριβώς την ίδια λειτουργία με το σωματικό ACE1. Τα σπερματοζωάρια εκφράζουν επίσης το ACE2, το οποίο μετατρέπει την αγγειοτενσίνη II σε αγγειοτενσίνη (1-7) (Segarsetal., 2020). Η αναφορά στο ανθρώπινο πρωτόωμα του σπέρματος δείχνει επίσης ότι αυτά τα κύτταρα διαθέτουν τους δύο γνωστούς υποδοχείς για αγγειοτενσίνη II: αγγειοτενσίνη II τύπου - 1 υποδοχέα (AT1R) και (αγγειοτενσίνη II τύπου- 2 υποδοχέας) (AT2R). Επιπλέον, μια πρόσφατη δημοσίευση αποκάλυψε ότι τα ανθρώπινα σπερματοζωάρια εκφράζουν επίσης τον υποδοχέα MAS της αγγειοτενσίνης (1-7). Επομένως, αυτά τα κύτταρα διαθέτουν το πλήρες ρεπερτόριο των ενζύμων επεξεργασίας υποκαταστάτη και υποδοχέων που απαιτούνται για την υποστήριξη των οδών σηματοδότησης της αγγειοτενσίνης, δημιουργώντας ερωτήματα σχετικά με τους φυσιολογικούς ρόλους που διαδραματίζουν αυτά τα μονοπάτια και πώς μπορεί να τέμνονται με το COVID- 19 (Maetal., 2020).

Το ACE1 είναι μια πολύ παλιά πρωτεΐνη η εμφάνιση της οποίας προηγείται της εξέλιξης του συστήματος αγγειοτενσίνης. Κατά συνέπεια, είναι πιθανές άλλες λειτουργίες εκτός από την επεξεργασία της αγγειοτενσίνης. Πράγματι, τα σπερματοζωάρια είναι ένα καλό παράδειγμα των πολλαπλών ρόλων του ACE1. Αυτό το ένζυμο είναι αρκετά ανεξάρτητο από το ACE2 (το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17, ενώ το ACE2 μεταγράφεται από το X χρωμόσωμα). Ωστόσο, υπάρχει σημαντική ομολογία αλληλουχίας (~ 41%) μεταξύ αυτών των πεπτιδασών από την άποψη των πρωτογενών αλληλουχιών αμινοξέων τους. Παρά τις ομοιότητες αυτές, η λοίμωξη COVID-19 δεν παρεμβαίνει στις λειτουργίες του ACE1 και, ως εκτούτου, μία από τις συνέπειες της μόλυνσης με αυτόν τον ιό είναι να προκαλέσει αύξηση της διαθεσιμότητας της αγγειοτενσίνης II σε σχέση με την αγγειοτενσίνη (1-7) (Sengupta&Dutta, 2020).

Το ACE1 εκφράζεται πιο έντονα στην επιφάνεια των βιώσιμων, λειτουργικών σπερματοζωαρίων και συγκεντρώνεται στον λαιμό και στην περιοχή του κυττάρου. Η έκφραση του ACE1 φαίνεται να είναι σημαντική για τη λειτουργία του σπέρματος επειδή οι ασθενείς που παρουσιάζουν πλήρη απουσία αυτού του ενζύμου είναι ανίκανοι να γονιμοποιηθούν. Ο ακριβής

ρόλος που διαδραματίζει το ACE1 δεν είναι σίγουρος, αλλά μια σύνθεση των δεδομένων υποδηλώνει έναν ρόλο στην αλληλεπίδραση μεταξύ κυττάρων. Το ACE1 είναι σημαντικό για την έκφραση του γονιδίου 101 που εκφράζεται από τους όρχεις (TEX101) το οποίο, με τη σειρά του, συνδέεται με τη σταθεροποίηση της περιοχής αποσαθρίνης και μεταλλοπεπτιδάσης 3 (ADAM3) στη μεμβράνη πλάσματος του σπέρματος (Kashi, 2020). Τα ποντίκια που δεν διαθέτουν ADAM3 διαθέτουν κινητά σπερματοζώαρια που είναι ανίκανα να διαπραγματευτούν τη μήτρα-σωληνοειδή σύνδεση και εμφανίζουν μειωμένη ικανότητα να δεσμεύονται με τη ζώνη της πελκιδίας. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι η σημασία του ACE1 στη μεσολάβηση της μεταφοράς σπέρματος και της αλληλεπίδρασης με το ωοκύτταρο ενδέχεται να μην σχετίζεται απαραίτητα με τη λειτουργία επεξεργασίας της αγγειοτενσίνης, αλλά μάλλον με την ικανότητά του να καταλύει την απελευθέρωση γλυκοσυλοφωσφατιδυλοσινοσιτόλης (GPI) λαμβανόμενων πρωτεϊνών από την επιφάνεια του σπέρματος (Pascoloetal., 2020).

Αυτή η παρατήρηση δεν αποκλείει, ωστόσο, την πιθανότητα ότι το ACE1 παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στα σπερματοζώαρια ως συστατικό του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Αναλογικά με τα σωματικά κύτταρα, μια επίθεση COVID- 19 στα ανθρώπινα σπερματοζώαρια αναμένεται να επηρεάσει τη δραστηριότητα ACE2 που οδηγεί σε συσσώρευση της αγγειοτενσίνης II. Μια αυξημένη τοπική διαθεσιμότητα αγγειοτενσίνης II αναμένεται να ενισχύσει την φαγοκυττάρωση του σπέρματος από ουδετερόφιλα και πιθανώς να αυξήσει την τοπική διαθεσιμότητα αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της φαγοκυτταρικής διαδικασίας (Panetal., 2020). Η υπερβολική διέγερση του AT1R από την αγγειοτενσίνη II μπορεί επίσης να ενισχύσει τη δημιουργία ROS σε συνδυασμό με την πρόκληση απόπτωσης και γήρανσης των κυττάρων, δεδομένου του ρόλου που προκαλεί η απόπτωση σε άλλους τύπους κυττάρων. Περιέργως, το AT1R έχει αναγνωριστεί ως μία από τις λίγες πρωτεΐνες που πιστεύεται ότι παράγονται ενεργά στον ώριμο γαμέτη ως αποτέλεσμα της *denovo* μετάφρασης σε ριβοσώματα μιτοχονδριακού τύπου, υποδηλώνοντας ότι αυτός ο υποδοχέας πρέπει να διαδραματίσει κρίσιμο ρόλο,μέχριτηγονιμοποίηση. Έχει προταθεί ένας ρόλος στην πρόκληση της αντίδρασης ακροσωμάτων με βάση την ικανότητα του ανταγωνιστή AT1R, της λοσαρτάνης, να αναστέλλει την πρόκληση ακροσωμικής εξωκυττάρωσης στα σπερματοζώαρια βοοειδών (Mehtaetal., 2020). Καθώς η αγγειοτασίνη II διεγείρει επίσης την αντίδραση ακροσωμάτων στα ανθρώπινα σπερματοζώαρια, είναι πιθανό ότι η παρατεταμένη έκθεση σε αυξημένα επίπεδα αγγειοτενσίνης II ως συνέπεια της λοίμωξηςCOVID- 19 μπορεί να

οδηγήσει σε πρόωρη ακροσωματική εξωκυττάρωση και γήρανση σπέρματος στο ανθρώπινο είδος. Τέτοιες επιδράσεις μπορεί να σχετίζονται με την ικανότητα της αγγειοτενσίνης II να διεγείρει την παραγωγή νιτρικού οξειδίου μέσω της οδού AT1R με ανασταλτικό τρόπο με λοσαρτάνη (Hollander&Carr, 2020). Αυτή η δραστική ρίζα αζώτου αναμένεται να διεγείρει την χωρητικότητα και την αντίδραση ακροσωμάτων βραχυπρόθεσμα, αλλά θα δημιουργήσει μια κατάσταση οξειδωτικού στρες και γήρανσης εάν η έκθεση παραταθεί. Ο υποδοχέας AT2R, από την άλλη πλευρά, φαίνεται να είναι σημαντικός για τη ρύθμιση της κινητικότητας του σπέρματος σε απόκριση στην αγγειοτενσίνη II που δημιουργείται από το ACE1. Η διεγερτική επίδραση του άξονα της αγγειοτασίνης II / AT2R στην κίνηση του σπέρματος μπορεί, με τη σειρά της, να σχετίζεται με την ικανότητά της να ενισχύει την παραγωγή cAMP και τη φωσφορυλίωση τυροσίνης (Nishiuraetal., 2019).

Η σημασία του ACE2 τονίστηκε πρόσφατα με την ανακάλυψη του υποδοχέα MAS στα ανθρώπινα σπερματοζώαρια. Αυτός ο υποδοχέας εντοπίζεται στο κύριο κομμάτι της ουράς του σπέρματος και στον ακροσωμικό τομέα της κεφαλής του σπέρματος, ακριβώς στο ίδιο σημείο με τη φωσφοϊνοσιτιδία 3-κινάσης (PI3K). Η ενεργοποίηση του υποδοχέα MAS από την αγγειοτενσίνη (1-7) οδηγεί σε φωσφορυλίωση PI3K, η οποία με τη σειρά της οδηγεί στη φωσφορυλίωση του AKT. Ενώ το AKT είναι φωσφορυλιωμένο, οι κατάντη στόχοι φωσφορυλίωσης όπως ο ρυθμιστής απόπτωσης, ο συναγωνιστής BCL2 που σχετίζεται με τον κυτταρικό θάνατο (BAD), φωσφορυλιώνονται επίσης (Fauci, Lane&Redfield, 2020). Το Phospho-BAD σχηματίζει ένα ετεροδιμερές με την πρωτεΐνη 14-3-3, αφήνοντας το Bcl-2 ελεύθερο να αναστέλλει την απόπτωση που προκαλείται από το Bax, διατηρώντας έτσι τα σπερματοζώαρια μια βιώσιμη κινητική κατάσταση. Ωστόσο, εάν διακοπεί η δραστηριότητα του PI3K, το AKT και οι κατάντη στόχοι του αποφωσφορυλιώνονται, ξεκινώντας έτσι έναν περικομμένο αποπτωτικό καταρράκτη που χαρακτηρίζεται από ταχεία απώλεια κινητικότητας, δημιουργία μιτοχονδριακών ROS, ενεργοποίηση κασπάσης στο κυτοσόλιο, σύνδεση αννεξίνης V στην κυτταρική επιφάνεια, κυτοπλασματική κενοποίηση και οξειδωτικό Βλάβη DNA (Zhengetal., 2020). Έτσι, το ACE2 παίζει ουσιαστικό ρόλο στη βιολογία του σπέρματος, διεγείροντας τη φωσφορυλίωση PI3K / AKT, εμποδίζει ενεργά τα σπερματοζώαρια να εμπλέκουν την ενδογενή αποπτωτική οδό.

Η τύχη του ACE2 μετά από αλληλεπίδραση με τον COVID- 19 είναι πολύπλοκη και εξαρτάται από τον τύπο των κυττάρων. Εάν τα κύτταρα είναι ικανά ενδοκυττάρωσης, τότε το ACE μπορεί να ενσωματωθεί εντός του ενδοκυτταρικού κυστιδίου. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα σπερματοζώαρια γενικά θεωρούνται ως μη ενδοκυτταρωτικά, η πιο πιθανή μοίρα του ACE2 είναι η διάσπαση (απόρριψη) του της εκτομής του μέσω της δράσης επιφανειακών πρωτεασών όπως το ADAM17 (Perryetal., 2020). Αυτό μπορεί να είναι μια προστατευτική στρατηγική, επειδή η εκτομή τομέα ACE2 πρέπει να δεσμεύει τον ιό και να αποτρέπει την πρόσβαση στην κυτταρική επιφάνεια. Από την άλλη πλευρά, οι πρωτεάσες που προσλαμβάνονται από τον ιό για τη διευκόλυνση της σύντηξης μεμβράνης, ιδίως TMPRSS2 (μια πρωτεάση διαμεμβρανικής σερίνης τύπου II), μπορούν επίσης να διασπάσουν το ACE2 στα αμινοξέα 697 έως 716, με αποτέλεσμα την απόρριψη θραύσματος 13 kDACE2 από την κυτταρική επιφάνεια και διευκολύνοντας την είσοδο ιών. Η διάσπαση του ACE2 μετά από έκθεση σε COVID- 19 αναμένεται να προκαλέσει μείωση της βιωσιμότητας και της λειτουργίας του σπέρματος, οδηγώντας σε απώλεια γονιμότητας. Επιπλέον, η επεξεργασία του ACE2 στην επιφάνεια των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων μπορεί αποτελεσματικά να μετατρέψει αυτά τα κύτταρα σε ιικούς φορείς, ικανά να μεταδώσουν σεξουαλικά COVID- 19 σε άλλα άτομα στην κοινότητα (Aitken, 2020).

Η πραγματική σύντηξη μεταξύ του ιού και των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων απαιτεί την παρουσία της προαναφερόμενης πρωτεάσης, TMPRSS2, για τη διάσπαση των ιικών ακίδων πρωτεϊνών (S) στο όριο S1 / S2 ή εντός της υπομονάδας S2, αφαιρώντας έτσι τον δομικό περιορισμό του S1 στο S2 και απελευθερώνοντας το πεπτίδιο σύντηξης εσωτερικής μεμβράνης. Αυτή η πρωτεάση είναι γνωστό ότι υπάρχει σε προστασώματα που απελευθερώνονται σε σπερματικό υγρό από τον προστάτη αδένα κατά την εκσπερμάτωση (Maetal., 2020). Καθώς μία από τις κύριες λειτουργίες αυτών των δομών που μοιάζουν με εξωσώματα είναι η μεταφορά του περιεχομένου τους, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, στα σπερματοζώαρια μετά την εκσπερμάτωση, η ενσωμάτωση του TMPRSS2 από αυτήν την πηγή φαίνεται πιθανή. Επιπλέον, μια στενή εξέταση των πρωτεωμικών βάσεων δεδομένων ανθρώπινου σπέρματος αποκαλύπτει την παρουσία σχετικών πρωτεασών TMPRSS11B και TMPRSS12 καθώς και φουρίνης, σε αυτά τα κύτταρα, τα οποία πιστεύεται ότι χρησιμεύουν ως ενεργοποιητικές πρωτεάσες για ιογενή λοίμωξη συμπεριλαμβανομένων των κοροναϊών (Ashouretal., 2020). Η παρουσία αυτών των ενεργοποιητικών πρωτεασών καθώς και του ACE2 στη μεμβράνη του πλάσματος του σπέρματος

αναμένεται να επιτρέψει στον ιό COVID- 19 να συνδεθεί στην κυτταρική επιφάνεια και τελικά να συντήξει, είτε στους όρχεις είτε κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης παραμονής αυτών των κυττάρων στην επιδιδυμία. Αντίθετα, τα ωοκύτταρα φαίνεται να στερούνται εντελώς TMRSS2, καθιστώντας πολύ πιθανή τη μόλυνση της γυναικείας σειράς μικροβίων - εκτός εάν, φυσικά, γονιμοποιούνται από ένα COVID- 19 που φέρει σπερματοζωάρια (Barzon, Lavezzo&Palù, 2017). Σε αυτό το πλαίσιο, πρέπει να τονιστεί ότι τα σπερματοζωάρια έχουν αποδεδειγμένη ικανότητα να μεταφέρουν ιογενείς λοιμώξεις από το αρσενικό στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, όπως συμβαίνει κατά τη σεξουαλική μετάδοση του ιού Zika, για παράδειγμα. Έχουν επίσης αποδεδειγμένη ικανότητα σύντηξης με ιούς με περίβλημα και διαθέτουν δραστηριότητα αντίστροφης μεταγραφάσης ικανή να παράγει προϊκό DNA, όπως φαίνεται προφανώς για τον ιό ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Bishtetal., 2017).

Η επίδραση του SARS-CoV-2 στις ανδρικές αναπαραγωγικές ορμόνες διερευνήθηκε από τρεις μελέτες. Στην πρώτη μελέτη, αναφέρονται τα πρώτα στοιχεία που συνδέουν τη λοίμωξη SARS-CoV-2 με διαταραχές στις ανδρικές σεξουαλικές ορμόνες σε μια μη αξιολογημένη μελέτη. Οι συγγραφείς συνέκριναν τις σεξουαλικές ορμόνες μεταξύ 81 ανδρών ηλικίας αναπαραγωγής με λοίμωξη SARS-CoV-2 και 100 υγιών ανδρών ηλικίας. Παρόλο που η τεστοστερόνη στον ορό δεν ήταν στατιστικά διαφορετική μεταξύ των δύο ομάδων, παρατηρήθηκαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα ωχρινοτρόπου ορμόνης ορού ($L < 0,0001$) και μειωμένων αναλογιών τεστοστερόνης: LH ($p < 0,0001$) και ορμόνης διέγερσης ωοθυλακίων: LH ($p < 0,0001$) ανάρρωσε ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς ομολόγους του (Khalili, 2020). Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης έδειξε ότι ο λόγος τεστοστερόνης: LH σε ασθενείς με COVID-19 συσχετίστηκε αρνητικά με τη σοβαρότητα της νόσου ($p = 0,0236$), τη συγκέντρωση ασπαρτικής τρανσαμινάσης ($p = 0,0287$) και τα επίπεδα c-αντιδραστικής πρωτεΐνης (CRP) ($p < 0,0001$), ενώ μια θετική συσχέτιση επαναφέρθηκε με επίπεδο AMH στον ορό ($p = 0,0128$). Στη δεύτερη μελέτη αναφέρεται ότι σε ασθενείς που ανέκαμψαν στον COVID-19, τα συνολικά επίπεδα τεστοστερόνης συσχετίστηκαν αρνητικά με τα επίπεδα CRP, με χαμηλά συνολικά επίπεδα τεστοστερόνης να παρατηρούνται στις πιο σοβαρές περιπτώσεις (Maetal., 2020). Στην τρίτη μελέτη, μια μη αξιολογημένη μελέτη από τη Γερμανία ανέφερε ότι η πλειονότητα των ανδρών με COVID-19 είχαν χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης και διωδροτεστοστερόνης-1. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι ο υπογοναδισμός μπορεί να θεωρηθεί ως παράγοντας κινδύνου f ή COVID-19, οδηγώντας σε υψηλότερη νοσηρότητα και θνησιμότητα (Khalili, 2020).

4. Ανίχνευση του ιού στο σπέρμα και συμπεράσματα των μελετών μέχρι σήμερα

Μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε μετά το ξέσπασμα του SARS-CoV in 2002 διαπίστωσε ότι η ορχίτιδα ήταν μία από τα αποδεκτές επιπλοκές για την υγεία που μπορεί να οδηγήσουν σε διαταραχή της σπερματογένεσης, απόπτωση των γεννητικών κυττάρων επηρεάζοντας έτσι την ποιότητα του σπέρματος. Μια μελέτη έδειξε ότι έξι άνδρες ασθενείς που υπέκυψαν σε λοίμωξη SARS-CoV το 2002 υπέφεραν από ορχίτιδα όπως παρατηρήθηκε μέσω αυτοψίας των όρχεων. Σε αυτή τη μελέτη, ιστοπαθολογικές έρευνες αποκάλυψαν φλεγμονώδεις διηθήσεις κυρίως στα σωληνοειδή (Hollander&Carr, 2020). Η ανοσοϊστοχημεία έδειξε ότι η εναπόθεση IgG υπήρχε κυρίως σε επιθηλιακά κύτταρα, στο διάμεσο, στα εκφυλισμένα βλαστικά κύτταρα και στα κύτταρα Sertoli. Είναι ενδιαφέρον ότι η επιτόπια υβριδοποίηση δειγμάτων ιστού όρχεων δεν αναγνωρίζει ιικά γονιδιωματικά υλικά. Επιπλέον, μελέτες δεν μπόρεσαν να βρουν ικό ίχνος στο σπερματικό πλάσμα. Αυτό δείχνει ότι οι φλεγμονώδεις και ανοσολογικές αντιδράσεις διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη βλάβη των όρχεων που προκαλείται από τον ιό (Nishiuraetal., 2019).

Μέχρι σήμερα, στα δελτία ειδήσεων και τις δηλώσεις στον ιστότοπο του ESHRE¹ έχει ανακοινωθεί ότι υπάρχει μικρή πιθανότητα μόλυνσης γαμετών ή εμβρύων από το SARS-CoV-2, καθώς τα βήματα πλύσης, η καλλιέργεια και τα πρωτόκολλα κατάψυξης φαίνεται να μειώνουν τον δυνητικά μεταδιδόμενο ιό φορτίο, αν και ενδέχεται να μην το εξαλείψουν. Η πιθανή απουσία υποδοχέων SARS-CoV-2 σε γαμέτες (σπερματοζώαρια, ωοκύτταρα) και έμβρυα θα υποστηρίξει σθεναρά αυτήν την υπόθεση, ενώ η παρουσία *zonapellucida* στα ωοκύτταρα και τα έμβρυα έως την έκτη ημέρα ανάπτυξης δεν μπορεί να υποστηρίξει την έννοια ότι ο ιός μπορεί να έχει αρνητικό αντίκτυπο κατά τις θεραπείες εξωσωματικής γονιμοποίησης (Zhengetal., 2020).

Δεν είναι ασυνήθιστο για τους επαγγελματίες της υγειονομικής περίθαλψης να συμβουλεύουν τα ζευγάρια να αναβάλουν τη θεραπεία γονιμότητας όταν είτε ο άνδρας ή η γυναίκα σύντροφος έχει

¹European Society of Human Reproduction and Embryology

συμπτώματα ή έχει αναρρώσει πρόσφατα από οποιοδήποτε από τα κοινά ερυθρότητα. Ο λόγος είναι προφανής, καθώς οποιοδήποτε είδος γρίπης (όπως ο ιός Zika) μπορεί να προκαλέσει υπογονιμότητα. Από την πρόσφατη παγκόσμια εμπειρία, το SARS-CoV-2 φαίνεται να είναι πολύ πιο επιθετικό από την άποψη της σοβαρής ασθένειας, της νοσηρότητας και της θνησιμότητας σε σύγκριση με τα κοινά γρίπη. Σε κυτταρικό επίπεδο, οι κοινοί ιοί της γρίπης προάγουν οξειδωτικά ευαίσθητες οδούς, οδηγώντας σε ενεργοποίηση παθογόνων μηχανισμών που μπορεί να προκαλέσουν το οξειδωτικό στρες (Perryetal., 2020). Το αυξημένο οξειδωτικό στρες κατηγορήθηκε για την ανδρική υπογονιμότητα μέσω της μείωσης της προοδευτικής κινητικότητας στα σπερματοζώαρια και της ταυτόχρονης αύξησης του κατακερματισμού του σπέρματος DNA. Συνδυάζοντας αυτά τα δεδομένα, μπορεί να υποθεθεί ότι το SARS-CoV-2, μέσω ενεργοποίησης παθογόνων οδών, μπορεί να αυξήσει τον κατακερματισμό του DNA του σπέρματος, το οποίο με τη σειρά του μπορεί να επηρεάσει το δυναμικό λίπανσης. Κατά τον ίδιο τρόπο, το SARS-CoV-2 μπορεί να επηρεάσει την απόδοση των ωαρίων μέσω μηχανισμών που αυξάνουν το οξειδωτικό στρες. Πράγματι, το οξειδωτικό στρες έχει συσχετιστεί με μεταβολές στη μεθυλίωση του DNA, ενώ, σε συνδυασμό με την ίδια την διαδικασία IVF, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τον κύκλο μεθυλίωσης του DNA, με αρνητικά αποτελέσματα στα νεογνά (Dongetal., 2020).

Έχοντας υπόψη ότι το SARS-CoV-2 δρα μέσω του υποδοχέα του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2) (Lietaal., 2003), δεν μπορεί να αποκλειστεί μια πιθανή άμεση επίδραση αυτού του ιού στα ωοθυλάκια / ωοκύτταρα και στα σπερματοζώαρια. Οι υποδοχείς ACE2 έχουν πρόσφατα παρατηρηθεί σε ανθρώπινα κύτταρα Leydig, υπονοώντας μια πιθανή άμεση επίδραση του ιού στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα. Ωστόσο, δύο πρόσφατες αναφορές έδειξαν ότι ο ιός δεν υπήρχε στο σπέρμα των ασθενών που είχαν πρόσφατα αναρρώσει από το COVID-19 (Mehtaetal., 2020). Μια άλλη πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι το ACE των όρχεων φαίνεται να είναι κρίσιμο για τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης των εμβρύων, καθώς το ACE έχει εντοπιστεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του σπέρματος. Επιπλέον, το ACE έχει προταθεί να είναι υπεύθυνο είτε για μειωμένα είτε για ολική αποτυχία της γονιμοποίησης κατά τη διάρκεια της συμβατικής εξωσωματικής γονιμοποίησης. Όσον αφορά στα ωοκύτταρα, ο ρόλος του ACE υπογραμμίστηκε πριν από λίγο καιρό και αυτό το ένζυμο υπάρχει σε προ-ωορρηξικά θυλάκια, τουλάχιστον σε αρουραίους (Hollander&Carr, 2020).

Οι υποδοχείς ACE2 έχουν αναφερθεί ότι εκφράζονται σε ανθρώπινες ωοθήκες, ενώ η αγγειοτενσίνη- (1-7) έχει ανιχνευθεί σε μετρήσιμες ποσότητες στο ωοθυλακικό υγρό. Επομένως, δεν μπορεί να αποκλειστεί πιθανός αρνητικός αντίκτυπος του ιού μέσω αλληλεπίδρασης μεταξύ των ωαρίων και των σωματικών κυττάρων. Όσον αφορά στο έμβρυο, έχει βρεθεί ότι τα ανθρώπινα βλαστικά κύτταρα και τα πρώιμα έμβρυα εκφράζουν υψηλά επίπεδα ACE2 και πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι το ACE2 ενισχύεται από τη μόλυνση SARS-CoV-2. Συγκεντρώνοντας αυτά τα γεγονότα, μπορεί να είναι αλήθεια ότι υπάρχει άμεση επίδραση του SARS-CoV-2 στα σπερματοζώαρια ή στα θυλάκια / ωοκύτταρα, αλλά χρειάζονται περισσότερα μοριακά ή κυτταρικά πειράματα για να αποδειχθεί αυτό (Nishiuraetal., 2019).

Όσον αφορά την πιθανή μόλυνση του εργαστηρίου εμβρυολογίας και του προσωπικού της εμβρυολογίας από το SARS-CoV-2, είναι πολύ πιθανό ότι οι γενικές προφυλάξεις που λαμβάνονται κατά την ανάκαμψη των ωαρίων ή ο χειρισμός των γαμετών / εμβρύων θα αλλάξουν κατά τη διάρκεια της θεραπείας εξωσωματικής γονιμοποίησης με ασυμπτωματικούς ασθενείς θετικούς στον ιό. Πρώτον, θα χρειαστεί ξεχωριστός χώρος στο εργαστήριο (Fauci, Lane&Redfield, 2020). Η χρήση φυσικών φραγμών, όπως τα γυάλινα παράθυρα, μπορεί να εφαρμοστεί σε περιοχές ελέγχου ή γύρω από γραφεία εγγραφής σε κλινικές γονιμότητας, καθώς και σε εργαστήρια εμβρυολογίας, για να αποφευχθεί η έκθεση του χώρου και του προσωπικού στον ιό COVID-19. Επιπλέον, οι ήδη χρησιμοποιούμενες περιοχές των κλινικών (αίθουσες αποκατάστασης ωαρίων, αίθουσες αποκατάστασης σπέρματος κ.λπ.) πρέπει να καθαρίζονται και να απολυμαίνονται με συγκεκριμένα προϊόντα μετά από κάθε περίπτωση (Aitken, 2020). Όλο το προσωπικό πρέπει να εκπαιδευτεί σε συγκεκριμένα πρωτόκολλα για την αντιμετώπιση ατόμων με SARS-CoV-2 και θα πρέπει να φορά συγκεκριμένες μάσκες προσώπου φιλτραρίσματος. Όπου δεν απαιτείται φυσική παρουσία, η χρήση τηλεϊατρικής για οποιαδήποτε έρευνα γονιμότητας, συμπεριλαμβανομένων των εμβρυολογικών αποτελεσμάτων, θα ελαχιστοποιήσει την εξάπλωση του ιού (Efremovetal., 2020).

Η συνήθης στολή εργασίας θα αντικατασταθεί καλύτερα από μία παρόμοια ή ακόμα και πανομοιότυπη με τη στολή για εργασία με λοίμωξη SARS-CoV-2, για παράδειγμα προστατευτικά παπούτσια ολόσωμης προστασίας και ρούχα απομόνωσης σε συνδυασμό με ένα κάλυμμα κεφαλής. Αυτό θα δημιουργούσε ένα φυσικό φράγμα για την προστασία του σώματος από οποιαδήποτε πιθανή μόλυνση. Τα γάντια και οι μάσκες προσώπου πρέπει να εξακολουθούν να φοριούνται αλλά πάντα με μία και μοναδική χρήση (δηλ. όχι μόνο σε ασθενείς με SARS-

CoV-2 θετικούς αλλά και θετικούς ασυμπτωματικούς). Ένας τέτοιος εξοπλισμός ατομικής προστασίας, συμπεριλαμβανομένων μάσκες με αναπνευστήρες για εργαζόμενους στην υγειονομική περίθαλψη σε κλινικές γονιμότητας, είναι πιθανό να προστεθεί στην καθημερινή κατάσταση εργασίας. Στην περίπτωση κλινικών με πολλούς κύκλους διέγερσης, θα ήταν συνετό να περιοριστεί ο αριθμός του προσωπικού που έρχεται σε στενή επαφή με ασθενείς με COVID-19 (Ben-Kimhyetal., 2020).

Η μόλυνση του εργαστηρίου εμβρυολογίας φαίνεται να είναι μια ρεαλιστική προσδοκία, παρά την αρνητική πίεση που υπάρχει μέσα στα εργαστήρια. Επειδή ο ιός μπορεί να επιβιώσει για αρκετές ώρες στον αέρα και σε θερμοκρασία πάνω από 22° C (η συνήθης θερμοκρασία στα περισσότερα εργαστήρια), μπορεί εύκολα να υποτεθεί ότι οι επωαστές θα μπορούσαν να μολυνθούν. Το SARS-CoV-2 φαίνεται να μην ακολουθεί τα εποχιακά μοτίβα, όπως φαίνεται στα περισσότερα κρούσματα γρίπης, και έτσι ο ιός μπορεί ακόμα να έχει την ικανότητα να μολύνει σε θερμοκρασίες πάνω από 25° C. Επομένως, μπορεί να είναι χρήσιμο να επανεκτιμηθούν οι εργαστηριακές θερμοκρασίες και πιέσεις, να διασφαλιστεί ότι ο ιός δεν υπάρχει στον αέρα ή δεν έχει την ευκαιρία να επιβιώσει (Estevesetal., 2020).

Ο διαχωρισμός των επωαστών από αυτούς για ασθενείς που δεν έχουν μολυνθεί με COVID-19 μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αποφυγή πιθανής διασταυρούμενης μόλυνσης. Έχει βρεθεί ότι το SARS-CoV-2 μπορεί ακόμη να μολύνει τα πλαστικά για περίπου 72 ώρες, πράγμα που σημαίνει ότι τα μη εμβρυοτοξικά πιάτα μπορεί να μην είναι απαλλαγμένα από τον ιό. Ίσως τα επόμενα χρόνια, ο ποιοτικός έλεγχος των πιάτων καλλιέργειας να περιλαμβάνει φύλλα χωρίς SARS-CoV-2 για να διασφαλιστεί ότι τα εκθέσιμα πιάτα και όλος ο σχετικός εξοπλισμός είναι απαλλαγμένοι από τον ιό (Segarsetal., 2020).

Αν και ο ιός SARS-CoV-2 δεν έχει δοκιμαστεί ακόμη για την αντοχή του στους ρυθμούς ψύξης κατά τη διάρκεια της υαλοποίησης, η αντίσταση άλλων ιών σε θερμοκρασίες κρυογονικού υγρού αζώτου αναφέρθηκε πριν από μερικά χρόνια. Λόγω της ομοιότητας του SARS-CoV-2 με άλλους κοινούς ιούς, θα ήταν ασφαλέστερο να υπάρχουν ξεχωριστοί περιέκτες κρυοσυστήματος υγρού αζώτου για γυναίκες θετικές σε SARS-CoV-2. Επιπλέον, μια άλλη ξεχωριστή, αλλά δεξαμενή κρυοσυστήματος ατμού για δείγματα σπέρματος θετικών με COVID-19 θα μπορούσε να είναι μια καλή επιλογή. Με παρόμοιο τρόπο, όλοι οι δότες θα πρέπει να δηλώσουν τα αποτελέσματα μιας δοκιμής SARS-CoV-2. Όλα τα υγρά πρέπει να ελέγχονται για τον ιό και όλοι

οι προμηθευτές πρέπει να υποβάλουν δήλωση ότι τα συστατικά είναι απαλλαγμένα από τον ιό (Maetal., 2020).

4.1. ACE2 στη μήτρα και τον κόλπο

Το ACE2 mRNA έχει ταυτοποιηθεί στη μήτρα του ανθρώπου και του αρουραίου. Οι Vaz-Silvaetal. (2009) ισχυρίστηκαν ότι το ACE2 mRNA είναι πιο άφθονο στα επιθηλιακά κύτταρα απ' ό,τι στα στρωματικά κύτταρα και υψηλότερο στην εκκριτική φάση από ότι στην πολλαπλασιαστική φάση (Vaz-Silvaetal., 2009). Επιπλέον, επιβεβαιώθηκε η παρουσία του ACE2 στη μήτρα και στον κόλπο μετά την ανάλυση των δεδομένων από το HumanProteinAtlas και GeneCards. Αξιοσημείωτη είναι η αναφορά ενός υψηλού ποσοστού μόλυνσης μεταξύ των σεξουαλικών συντρόφων 35 γυναικών-nCoV-θετικών γυναικών, υποδηλώνοντας την πιθανότητα σεξουαλικής μετάδοσης (Sengupta&Dutta, 2020). Ωστόσο, η επιβεβαίωση της σεξουαλικής μετάδοσης εξακολουθεί να χρειάζεται εκτεταμένη διερεύνηση. Το AngII παίζει διπλό ρόλο στην αναγέννηση της αγγειακής κλίνης και του ενδομητρίου και ξεκινά την εμμηνόρροια μέσω αγγειοσυστολής της σπειροειδούς αρτηρίας. Η ισορροπία μεταξύ AngII και Ang- (1-7) θα μπορούσε να ρυθμίσει την αναγέννηση του ενδομητρίου και τη δραστηριότητα του μυομετρίου. Επιπλέον, το AngII αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών και των στρωματικών κυττάρων της μήτρας και ενισχύει την ίνωση του ενδομητρίου, ένα αποτέλεσμα που μπορεί να ανασταλεί από το Ang- (1-7) (Kashi, 2020). Συγκεκριμένα, η φυσιολογική λειτουργία του AngII στο ενδομήτριο είναι απαραίτητη για τακτικούς εμμηνορροϊκούς κύκλους και οι μεταβολές στην κατανομή του και το επίπεδο των υποδοχέων μπορεί να σχετίζονται με δυσλειτουργική αιμορραγία της μήτρας που σχετίζεται με υπερπλαστική ενδομητρία. Επιπλέον, πολλοί συγγραφείς έχουν περιγράψει στη βιβλιογραφία ότι η έντονη έκφραση ACE2 και AngII συσχετίζεται με τη μετάσταση και την πρόγνωση του ενδομητρικού καρκινώματος και τόνισε ότι η αυξημένη δραστηριότητα της οδού ACE2 / Ang- (1-7) / MAS / AT2R στον καρκίνο του ενδομητρίου μπορεί να είναι ένας σημαντικός μηχανισμός για την αντιμετώπιση των δράσεων του AngII / AT1R(Pascoloetal., 2020).

5. Συμπεράσματα

Αν και υπάρχει σημαντική ατομική παραλλαγή, ορισμένοι ιοί έχουν τη δυνατότητα για συνεχιζόμενη ιική αποβολή μέσω σπερματικού υγρού. Το ιικό RNA του Ebola μπορεί να ανιχνευθεί σε σπερματικό υγρό για περισσότερο από 13 μήνες μετά τη μόλυνση. Τα ζωικά μοντέλα προτείνουν επίσης την παρατεταμένη απόρριψη του ιού Zika σε σπερματικό υγρό. Με βάση τα αναφερόμενα στοιχεία, δεν είναι ακόμη σαφές εάν ο ιός SARS-CoV-2 προέρχεται από όρχεις, επιδιδυμίδες ή βοηθητικούς σεξουαλικούς αδένες ή ακόμη και από το νεφρικό σύστημα. Άλλοι CoV, όπως το SARS-1-CoV, έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη ορχίτιδας. Μέσω ερευνών επαναφέρθηκαν παθολογικές μεταβολές των όρχεων, όπως βλάβη των γεννητικών κυττάρων, πυκνή βασική μεμβράνη και διείσδυση λευκοκυττάρων, με λίγα ή καθόλου σπερματοζωάρια στους εξατομικευμένους σωληνάκια ασθενών που πέθαναν για SARS. Η ιογενής ορχίτιδα μπορεί να εμφανιστεί ως επιπλοκή μιας ιογενούς λοίμωξης και συνήθως οφείλεται σε αιματογενή διάδοση μέσω ιομίας. Η παρωτίτιδα είναι η πιο κοινή ιογενής παθολογία που σχετίζεται με ορχίτιδα, που παρουσιάζεται ως πόνος στους όρχεις, πρήξιμο και ερύθημα των όρχεων στο οξύ περιβάλλον. Πρόσθετοι ιοί που είναι γνωστό ότι προκαλούν ορχίτιδα περιλαμβάνουν τους ιούς της ηπατίτιδας Β και C, τον ιό του ανθρώπινου θηλώματος, τον ιό του απλού έρπητα, τον ιό της γρίπης, τον ιό Epstein-Barr, τους ιούς Coxsackie, τον HIV, τον ιό Zika, τον ιό Ebola, τον ιό Arbovirus και τον ιό Marburg. Τόσο η σπερματογένεση όσο και η παραγωγή τεστοστερόνης μπορεί να επηρεαστούν από ιική ορχίτιδα. Η ιογενής λοίμωξη του όρχεως ιστού σχετίζεται με περιαγγειακή λεμφοκυτταρική διήθηση και διάμεσο οίδημα, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν υαλίνωση των σπογγώδους σωληναρίων και ίνωση και ατροφία των όρχεων. Στην οξεία φάση της λοίμωξης, η δυσφορία του όσχεου και η ορχιδόπτωση επικρατούν με μεταβλητή ένταση. Ο πυρετός, ένα κοινό σύμπτωμα σε ιογενείς ασθένειες, είναι γνωστό ότι προκαλεί παροδική διαταραχή της σπερματογένεσης. Ωστόσο, η επίμονη μείωση των παραμέτρων του σπέρματος που έχει αναφερθεί μετά από ορχίτιδα μετά την εφηβική παρωτίτιδα πιστεύεται ότι οφείλεται σε προκαλούμενη από ιό βλάβη των σωληνοειδών σωληναρίων. Η τεστοστερόνη έχει ειδικό φύλο προστατευτική επίδραση στη φλεγμονή και τη γήρανση των αγγείων. Τα χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης σε ασθενείς με COVID-19 σχετίζονται με υψηλά επίπεδα φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως η ιντερφερόνη-γ και η ιντερλευκίνη-2. Δεδομένου ότι ο υπογοναδισμός είναι ένα κοινό εύρημα σε συστηματικές ασθένειες, είναι άγνωστο εάν τα

χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης που παρατηρούνται σε ασθενείς με COVID-19 είναι η αιτία ή το αποτέλεσμα σοβαρής λοίμωξης. Επιπλέον, η τεστοστερόνη έχει αντιφλεγμονώδεις και ανοσορυθμιστικές ιδιότητες καθώς μπορεί να ρυθμίσει τη διαφοροποίηση των T-λεμφοκυττάρων. Ωστόσο, σε αντίθεση με τη δυνητικά προστατευτική φύση της τεστοστερόνης, άλλοι έχουν προτείνει ότι η μόλυνση με COVID-19 μπορεί να προκαλείται από τεστοστερόνη. Αυτό βασίζεται στο γεγονός ότι το TMPRSS2 ενεργοποιείται από υποδοχείς ανδρογόνων και πιστεύεται ότι είναι απαραίτητη πρωτεάση για εξάπλωση και μετάδοση ιών. Το TMPRSS2 μπορεί επίσης να διασπάσει τόσο την πρωτεΐνη ACE2 όσο και την ιική S για να διευκολύνει την είσοδο ιού στα κύτταρα. Η διαμεσολαβούμενη από τεστοστερόνη διαμόρφωση της έκφρασης TMPRSS2 πιστεύεται ότι είναι ένας από τους λόγους για την ανδρική κυριαρχία των μολύνσεων COVID-19. Αυτά τα γεγονότα υποστηρίζουν την ανάγκη περαιτέρω έρευνας που διερευνά τη σχέση μεταξύ των επιπέδων τεστοστερόνης και της μόλυνσης COVID-19.

6. Βιβλιογραφία

1. Aitken R. J. (2020). COVID-19 and human spermatozoa - potential risks for infertility and sexual transmission. *Andrology*, 10.1111/andr.12859. Advance online publication.
2. Aitken, R. J. (2020). COVID-19 and human spermatozoa—Potential risks for infertility and sexual transmission?.*Andrology*.
3. Alviggi, C., Esteves, S. C., Orvieto, R., Conforti, A., La Marca, A., Fischer, R., Andersen, C. Y., Bühler, K., Sunkara, S. K., Polyzos, N. P., Strina, I., Carbone, L., Bento, F. C., Galliano, D., Yarali, H., Vuong, L. N., Grynberg, M., Drakopoulos, P., Xavier, P., Llacer, J., ... POSEIDON (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number) group (2020). COVID-19 and assisted reproductive technology services: repercussions for patients and proposal for individualized clinical management. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 18(1), 45.
4. Anifandis, G., Messini, C. I., Daponte, A., & Messinis, I. E. (2020). COVID-19 and fertility: a virtual reality. *Reproductive biomedicine online*, 41(2), 157–159.
5. Ashour, H.M., Elkhatib, W.F., Rahman, M.M., Elshabrawy, H.A. (2020). Insights into the Recent 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) in Light of Past Human Coronavirus Outbreaks. *Pathogens*. 9(3), E186. - PMC - PubMed
6. Barzon, L., Lavezzo, E., Palù, G.(2017). Zika virus infection in semen: effect on human reproduction. *Lancet Infect Dis*. 17(11), 1107–1109. - PubMed
7. Ben-Kimhy, R., Youngster, M., Medina-Artom, T. R., Avraham, S., Gat, I., Haham, L. M., Hourvitz, A., & Kedem, A. (2020). Fertility patients under COVID-19: Attitudes, Perceptions, and Psychological Reactions. *Human reproduction (Oxford, England)*, deaa248.
8. Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M., Dada, R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nat. Rev. Urol*. 14(8), 470–485. - PubMed
9. Cardona Maya, W. D., Du Plessis, S. S., & Velilla, P. A. (2020). SARS-CoV-2 and the testis: similarity with other viruses and routes of infection. *Reproductive biomedicine online*, 40(6), 763–764.

10. Chen, J., Qi, T., Liu, L., Ling, Y., Qian, Z., Li, T., ...& Song, Z. (2020). Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. *Journal of Infection*.
11. Cheng, M. P., Papenburg, J., Desjardins, M., Kanjilal, S., Quach, C., Libman, M., Dittrich, S., & Yansouni, C. P. (2020). Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2: A Narrative Review. *Annals of internal medicine*,
12. Dong, L., Tian, J., He, S., Zhu, C., Wang, J., Liu, C., Yang, J.(2020). Possible Vertical Transmission of SARS-CoV-2 From an Infected Mother to Her Newborn. *JAMA*. e204621. - PMC - PubMed
13. Efremov, E. A., Kasatonova, E. V., Melnik, Y. I., & Nikushina, A. A. (2020). *Urologiia (Moscow, Russia : 1999)*, (4), 104–110.
14. Esteves, S. C., Lombardo, F., Garrido, N., Alvarez, J., Zini, A., Colpi, G. M., Kirkman-Brown, J., Lewis, S., Björndahl, L., Majzoub, A., Cho, C. L., Vendeira, P., Hallak, J., Amar, E., Cocuzza, M., Bento, F. C., Figueira, R. C., Sciorio, R., Laursen, R. J., Metwalley, A. M., ... Agarwal, A. (2020). SARS-CoV-2 pandemic and repercussions for male infertility patients: A proposal for the individualized provision of andrological services. *Andrology*, 10.1111/andr.12809. Advance online publication.
15. Fauci, A. S., Lane, H. C., & Redfield, R. R. (2020). Covid-19—navigating the uncharted.
16. Guo, L., Zhao, S., Li, W., Wang, Y., Li, L., Jiang, S., Ren, W., Yuan, Q., Zhang, F., Kong, F., Lei, J., & Yuan, M. (2020). Absence of SARS-CoV-2 in semen of a COVID-19 patient cohort. *Andrology*, 10.1111/andr.12848. Advance online publication.
17. Hallak, J., Teixeira, T. A., Bernardes, F. S., Carneiro, F., Duarte, S., Pariz, J. R., Esteves, S. C., Kallas, E., & Saldiva, P. (2020). SARS-CoV-2 and its relationship with the genitourinary tract: Implications for male reproductive health in the context of COVID-19 pandemic. *Andrology*, 10.1111/andr.12896. Advance online publication.
18. Hollander, J. E., & Carr, B. G. (2020). Virtually perfect? Telemedicine for COVID-19. *New England Journal of Medicine*, 382(18), 1679-1681.
19. Kashi, A. H. (2020). COVID-19, urologists and hospitals. *Urology Journal*.
20. Khalili, M. A., Leisegang, K., Majzoub, A., Finelli, R., Selvam, M. K. P., Henkel, R., ...& Agarwal, A. (2020). Male Fertility and the COVID-19 Pandemic: Systematic Review of the Literature. *The world journal of men's health*, 38(4), 506.

21. Liu, M., Chen, F., Liu, T., Chen, F., Liu, S., Yang, J. (2017). The role of oxidative stress in influenza virus infection. *Microbes Infect.* 19(12), 580–586. - PubMed
22. Ma, L., Xie, W., Li, D., Shi, L., Ye, G., Mao, Y., ...& Qin, J. (2020). Evaluation of sex-related hormones and semen characteristics in reproductive-aged male COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology.*
23. Ma, L., Xie, W., Li, D., Shi, L., Ye, G., Mao, Y., ...& Qin, J. (2020). Evaluation of sex-related hormones and semen characteristics in reproductive-aged male COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology.*
24. Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S., Manson, J. J., & HLH Across Speciality Collaboration. (2020). COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet (London, England)*, 395(10229), 1033.
25. Nishiura, H., Oshitani, H., Kobayashi, T., Saito, T., Sunagawa, T., Matsui, T., ...& Suzuki, M. (2020). Closed environments facilitate secondary transmission of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *medRxiv.*
26. Pan, A., Liu, L., Wang, C., Guo, H., Hao, X., Wang, Q., ...& Wei, S. (2020). Association of public health interventions with the epidemiology of the COVID-19 outbreak in Wuhan, China. *Jama*, 323(19), 1915-1923.
27. Pascolo, L., Zito, G., Zupin, L., Luppi, S., Giolo, E., Martinelli, M., ...& Ricci, G. (2020). Renin Angiotensin System, COVID-19 and Male Fertility: Any Risk for Conceiving?. *Microorganisms*, 8(10), 1492.
28. Perry, M. J., Arrington, S., Neumann, L. M., Carrell, D., & Mores, C. N. (2020). It is currently unknown whether SARS-CoV-2 is viable in semen or whether COVID-19 damages sperm. *Andrology.*
29. Perry, M. J., Arrington, S., Neumann, L. M., Carrell, D., & Mores, C. N. (2020). It is currently unknown whether SARS-CoV-2 is viable in semen or whether COVID-19 damages spermatozoa. *Andrology*, 10.1111/andr.12831. Advance online publication.
30. Segars, J., Katler, Q., McQueen, D. B., Kotlyar, A., Glenn, T., Knight, Z., Feinberg, E. C., Taylor, H. S., Toner, J. P., Kawwass, J. F., & American Society for Reproductive Medicine Coronavirus/COVID-19 Task Force (2020). Prior and novel coronaviruses, Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), and human reproduction: what is known?. *Fertility and sterility*, 113(6), 1140–1149

31. Segars, J., Katler, Q., McQueen, D. B., Kotlyar, A., Glenn, T., Knight, Z., ...& Kawwass, J. F. (2020). Prior and novel coronaviruses, COVID-19, and human reproduction: what is known?. *Fertility and Sterility*.
32. Sengupta, P., & Dutta, S. (2020). Does SARS-CoV-2 infection cause sperm DNA fragmentation? Possible link with oxidative stress. *Eur J Contracept Reprod Health Care*, *10*(13625187.2020), 1787376.
33. Stanley, K. E., Thomas, E., Leaver, M., & Wells, D. (2020). Coronavirus disease-19 and fertility: viral host entry protein expression in male and female reproductive tissues. *Fertility and sterility*, *114*(1), 33–43.
34. Vishvkarma, R., & Rajender, S. (2020). Could SARS-CoV-2 affect male fertility?. *Andrologia*, *52*(9), e13712.
35. Xu, H., Song, J., Luo, H., Zhang, Y., Li, Q., Zhu, Y., ...& Sun, W. (2016). Analysis of the genome sequence of the medicinal plant *Salvia miltiorrhiza*. *Molecular plant*, *9*(6), 949-952.
36. Yang, M., Chen, S., Huang, B., Zhong, J. M., Su, H., Chen, Y. J., Cao, Q., Ma, L., He, J., Li, X. F., Li, X., Zhou, J. J., Fan, J., Luo, D. J., Chang, X. N., Arkun, K., Zhou, M., & Nie, X. (2020). Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications. *European urology focus*, *6*(5), 1124–1129.
37. Zheng, Y. Y., Ma, Y. T., Zhang, J. Y., & Xie, X. (2020). COVID-19 and the cardiovascular system. *Nature Reviews Cardiology*, *17*(5), 259-260.