



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ - ΓΕΝΕΤΙΚΗ**  
**ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ**



# **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

## **«ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΑΝΔΡΙΚΗ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ»**

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΑΓΚΑΣ**

Βιολόγος – Κλινικός Εμβρυολόγος MSc

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

ΒΑΡΒΑΡΑ ΤΡΑΧΑΝΑ, Επικ. Καθηγήτρια, Επιβλέπουσα

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, Καθηγήτρια

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, Αν. Καθηγητής

ΛΑΡΙΣΑ 2021

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	4
ABSTRACT .....	5
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	6
ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗ .....	8
ΛΟΙΜΩΞΗ ΤΟΥ ΑΝΔΡΙΚΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗ-ΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ .....	16
ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΩΣ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΝΔΡΙΚΗ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ.....	17
ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ .....	18
Mycoplasma .....	18
Ureaplasma .....	18
Escherichia coli .....	19
Neisseria gonorrhoeae .....	19
Chlamydia trachomatis.....	20
ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ.....	21
Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV).....	21
Ηπατίτιδα .....	22
ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ .....	24
ΠΡΟΣΤΑΤΙΤΙΔΑ .....	26
ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ ΚΑΙ ROS .....	27
ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ OS.....	28
ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ROS .....	29
ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ROS.....	33
ΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ ΩΣ ΠΗΓΗ ROS .....	35

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΙΣ ΑΝΔΡΙΚΕΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ.....	39
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΣΕ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΚΑΙ ΛΙΠΙΔΙΑ.....	41
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ DNA.....	42
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	53
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η υπογονιμότητα χαρακτηρίζεται από την αποτυχία ενός ζευγαριού να συλλάβει μετά από 12 μήνες τακτικής, χωρίς προφύλαξη, επαφής (WHO, 2000). Φλεγμονή είναι η άμυνα του οργανισμού ενάντια στη μόλυνση. Η φλεγμονή επηρεάζει τις δύο λειτουργίες των όρχεων, την στεροειδογένεση και την σπερματογένεση. Πιθανοί παράγοντες που συμβάλλουν στην ανδρική υπογονιμότητα είναι τα αυξημένα επίπεδα λευκοκυττάρων στο σπερματικό πλάσμα και η παρουσία ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS).

Το οξειδωτικό στρες (OS) μπορεί να προκύψει ως συνέπεια της υπερβολικής παραγωγής ROS ή και των μειωμένων αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών. Το OS μπορεί να επηρεάσει τόσο τη δομή και τη λειτουργία των σπερματοζωαρίων όσο και την ακεραιότητα του πυρηνικού τους DNA και θεωρείται πλέον μια από τις βασικότερες αιτίες της ανδρικής υπογονιμότητας. Ως εκ τούτου, η έγκαιρη διάγνωση της φλεγμονής στην ουρογεννητική οδό του άνδρα και η αντιμετώπιση της είναι απαραίτητη για την αποτροπή, μακροπρόθεσμα, της μη αναστρέψιμης βλάβης λόγω του OS.

*Λέξεις κλειδιά : Φλεγμονή, Σπέρμα, Οξειδωτικό στρες, Ανδρική υπογονιμότητα, Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.*

## **ABSTRACT**

In general, infertility is defined as not being able to get pregnant (conceive) after one year (or longer) of unprotected sex. (WHO, 2000). Inflammation is the body's defense against infection. Inflammation affects the two functions of the testes, steroidogenesis and spermatogenesis. Possible factors contributing to male infertility are increased leukocyte levels in sperm plasma and the presence of oxygen free radicals (ROS).

Oxidative stress (OS) can occur as a result of excessive ROS production or even reduced antioxidant defense mechanisms. OS can affect both the structure and function of sperm as well as the integrity of their nuclear DNA and is now considered one of the leading causes of male infertility. Therefore, early diagnosis of inflammation in the male urinary tract and its treatment is necessary to prevent, in the long run, irreversible damage due to OS

**Keywords:** Inflammation, Sperm, Oxidative Stress (OS), Male infertility, Reactive Oxygen Species (ROS), Sperm DNA Fragmentation.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η υπογονιμότητα χαρακτηρίζεται από την αποτυχία ενός ζευγαριού να συλλάβει μετά από 12 μήνες τακτικής, χωρίς προφύλαξη, επαφής (WHO, 2000). Στις Ηνωμένες Πολιτείες το 10-15% των ζευγαριών αντιμετωπίζουν δυσκολίες στη σύλληψη. Περισσότερο από το 50% των περιπτώσεων αποδίδονται στον ανδρικό παράγοντα είτε ως μοναδικό λόγο είτε ως συμμετέχων παράγοντα. Το 36-58% της ανδρικής υπογονιμότητας είναι άγνωστης αιτιολογίας (Jarow et al., 2002). Η γενετική σίγουρα παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτές τις άγνωστες αιτίες και νέα γονίδια ή πρωτεΐνες, απαραίτητα για την παραγωγή ή και τη λειτουργία του σπέρματος, πιθανώς να φωτίσουν αυτές τις πτυχές.

Τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των στειρών ανδρών είναι πάρα πολλά συμπεριλαμβανομένης της μειωμένης σπερματογένεσης, μικρού μεγέθους όρχεων, του υπογοναδισμού και της δυσλειτουργίας του σπέρματος. Ωστόσο οι γνωστές γενετικές ασθένειες συμβάλλουν σε λιγότερο από 15 - 30% της ανδρικής υπογονιμότητας και σίγουρα όχι σε όλες τις φαινοτυπικές ανωμαλίες που έχουν περιγραφεί. Τα περισσότερα δεδομένα για πιο περίπλοκες γενετικές επιπτώσεις τα αντλούμε από επιδημιολογικές και μοριακές κυτταρογενετικές μελέτες σε ανθρώπους και ζώα. Συγκεκριμένα, σε μελέτες περιπτώσεων που αφορούσαν ζευγάρια, στα οποία ο άνδρας ήταν υπογόνιμος, και που υποβάλλονται σε Μικρογονιμοποίηση (Intra Cytoplasmic Sperm Injection - ICSI) γενετικά αίτια εντοπίστηκαν στο 6,4% των ανδρών αυτών ή σε συγγενείς πρώτου βαθμού. Το 11,8% των ανδρών ανέφεραν ότι οι άρρενες συγγενείς τους πρώτου και δεύτερου βαθμού ήταν άτεκνοι (Meschede D et al., 2000). Οι Golde et al. έδειξαν στατιστικά σημαντική επικράτηση της υπογονιμότητας μεταξύ των αδελφών και θείων (από την πλευρά της μητέρας) των υπογόνιμων ανδρών από ότι στις ομάδες ελέγχου, μεταξύ των αντίστοιχων βαθμών συγγένειας (Golde RJ et al., 2004). Πρόσφατα αποδειχθεί ότι παρατηρούνται υψηλά ποσοστά συγγενείας (50%) και οικογενειακής σχέσης (41%) σε άνδρες με αζωοσπερμία ή με σοβαρή ολιγοζωοσπερμία (Inhorn MC et al., 2009). Συγκεκριμένες μορφολογικές ανωμαλίες όπως στρογγυλή κεφαλή, απλασία ουράς, υποσυμπύκνωση της χρωματίνης και τα υπολείμματα κυτταροπλασματικών σταγονιδίων έχουν βρεθεί σε άρρενες συγγενείς εξ αίματος (Latini M et al., 2004). Μελέτες σε ζώα και συγκεκριμένα σε ποντίκια,

περιγράφουν έως και 300 μεταλλάξεις και 50 ελλείψεις που έχουν οδηγήσει σε υπογονιμότητα (Lipshultz LI et al., 2009). Διαγονιδιακά knock-out και knock-in μοντέλα ποντικών μελετώνται για να αναγνωριστούν συγκεκριμένες γονιδιακές θέσεις που ρυθμίζουν τα πρώτα και τα τελευταία στάδια της σπερματογένεσης καθώς και τον έλεγχο των γονιδίων της σπερμιογένεσης. Η εφαρμογή τέτοιων, εξελιγμένων, γενετικών μελετών στον άνθρωπο μπορεί να αποκαλύψει την ύπαρξη κληρονομικής βάσης για το πρόβλημα της υπογονιμότητας. Ωστόσο, η ανθρώπινη γενετική έρευνα απέχει πολύ ακόμη από το να ολοκληρωθεί και σίγουρα απαιτούνται περαιτέρω μελέτες, συμπεριλαμβανομένης της αλληλούχισης του DNA, ως μέρος των ερευνών γονιμότητας.

Η λοίμωξη ή και η φλεγμονή μπορεί επίσης να μειώσουν τη γονιμότητα των στους άνδρες. Έχουν προταθεί διαφορετικοί μηχανισμοί για να εξηγήσουν το πως γίνεται αυτό (Irez et al., 2020) (Bhattacharya K. et al., 2020) (Dutta S. et al., 2019). Υπάρχουν αρκετές μελέτες που κάνουν διάφορες υποθέσεις σχετικά με τα προβλήματα που προκαλούνται από τη λοίμωξη - φλεγμονή στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (Izuka E et al., 2020) (Theam O. et al., 2020) . Η ανδρική γονιμότητα εξαρτάται από τη σωστή παραγωγή σπερματοζωαρίων. Αυτή η διαδικασία, που ονομάζεται σπερματογένεση είναι περίπλοκη και περιλαμβάνει το συγχρονισμό πολυάριθμων παραγόντων. Η παρουσία προφλεγμονωδών κυτοκινών όπως του *παράγοντα νέκρωσης όγκου-άλφα (TNF-α)*, η *ιντερλευκίνη-1 άλφα (IL-1 α)* και η *ιντερλευκίνη 1 βήτα (IL-1 β)* στην ανδρική αναπαραγωγική οδό (όρχις, επιδιδυμίδα και σπέρμα) είναι δεδομένη και εξυπηρετούν ορισμένες φυσιολογικές λειτουργίες. Ωστόσο, όταν τα επίπεδα αυτών των κυτοκινών είναι υψηλότερα από το κανονικό, όπως συμβαίνει σε συνθήκες φλεγμονής, γίνονται πολύ επιβλαβείς για την παραγωγή σπέρματος. Επιπλέον, η φλεγμονή σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες και το τελευταίο είναι γνωστό ότι επηρεάζει τη λειτουργία του σπέρματος. Επιδημιολογικές μελέτες σχετικά με την ανδρική υπογονιμότητα αποκάλυψαν ότι όσο και περισσότεροι υπογόνιμοι άνδρες υποφέρουν από οξεία ή χρόνια φλεγμονή του ουρογεννητικού συστήματος, η οποία συμβαίνει συχνά χωρίς κανένα σύμπτωμα. Οι φλεγμονώδεις αντιδράσεις στο ανδρικό γεννητικό σύστημα συνδέονται αναπόφευκτα με το οξειδωτικό στρες. Το οξειδωτικό στρες, ειδικά στο σπέρμα, επηρεάζει αρνητικά τόσο την κυτταρική δομή του όσο και την ακεραιότητα του DNA και τελικά οδηγεί στην απόπτωση. Αυτό το πόνημα

εξετάζει τη συμβολή της φλεγμονής στην ανδρική υπογονιμότητα και επικεντρώνεται στον προεξέχοντα μηχανισμό δράσης που περιλαμβάνει την επαγωγή οξειδωτικού στρες.

Η επαγωγή οξειδωτικού στρες (OS) στους όρχεις είναι αποτέλεσμα της υπερπαραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Υπό κανονικές συνθήκες τα κύτταρα παράγουν ROS για να διατηρήσουν τη φυσιολογική τους λειτουργία (Dutta S. et al., 2019) (Agarwal A. g. et al., 2020) (Parekattil S et al., 2020). Σε φλεγμονώδη κατάσταση, οι κυτοκίνες και οι μεταβιβαστές της φλεγμονής οδηγούν σε είσοδο ανοσοκυττάρων (αύξηση του αριθμού των σπερματικών λευκοκυττάρων) (Irez et al., 2020) στους ιστούς. Τα λευκοκύτταρα οδηγούν τελικά σε αυξημένα επίπεδα ROS (Theam O. et al., 2020). Τα πολυμορφοπύρρηνα καταστρέφουν τους λοιμογόνους παράγοντες είτε εκκρίνοντας διάφορα οξειδωτικά όπως υπεροξείδιο του υδρογόνου και σουπεροξείδιο -  $O_2^-$  είτε μέσω της φαγοκυττάρωσης. Τα αυξημένα αυτά επίπεδα ROS στο σπερματικό πλάσμα υπερφαλαγγίζουν τις αντιοξειδωτικές ικανότητες των όρχεων οδηγώντας σε οξειδωτική βλάβη στα κύτταρα τους. Επακόλουθο είναι να επηρεάζεται αρνητικά η παραγωγή σπέρματος, να επάγονται βλάβες στη κυτταρική μεμβράνη των σπερματοζωαρίων, να υπάρξει διαταραχή των σηματοδοτικών μονοπατιών, βλάβη του μιτοχονδριακού και του πυρηνικού DNA με τελική κατάληξη να επηρεαστεί αρνητικά η γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος (Arafa M. et al., 2020) (Dutta S. et al., 2019).

## ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗ

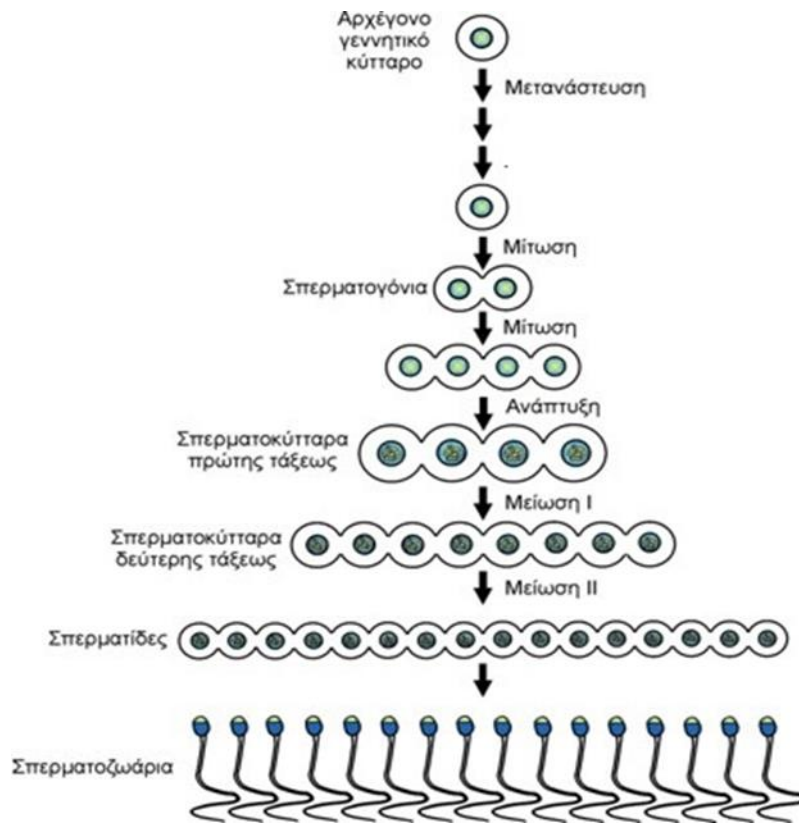
Η σπερματογένεση είναι μια συνεχής διαδικασία που λαμβάνει χώρα στο επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων. Ξεκινάει από την εφηβεία, με την έναρξη της κατά ώσεις έκκρισης των γοναδοτροπινών, και διαρκεί κατά το μεγαλύτερο μέρος της ζωής του άνδρα. Κατά την εμβρυογένεση βλαστοκύτταρα μεταναστεύουν στους όρχεις όπου και μετατρέπονται σε ανώριμα βλαστικά κύτταρα τα σπερματογόνια (Dadoune Jean-Pierre, 2007) τα οποία και διατάσσονται σε δύο ή τρεις στοιβάδες, στην εσωτερική επιφάνεια των σπερματικών σωληναρίων. Κατά την εφηβεία, τα σπερματογόνια εισέρχονται στον κύκλο της σπερματογένεσης, ανά τακτά χρονικά



διαστήματα και κατά ομάδες που ονομάζονται «γενεές». Στο πρώτο στάδιο τα σπερματογόνια αρχίζουν να διαιρούνται μιτωτικά. Τα θυγατρικά κύτταρα που προκύπτουν επαναδιαιρούνται (για ένα συγκεκριμένο αριθμό διαφορετικών κύκλων) ώστε να δημιουργηθεί ένας κλώνος σπερματογόνιων από το κάθε ένα. Κατά τη φάση αυτή επέρχεται κάποια διαφοροποίηση. Από την τελική μιτωτική διαίρεση τα κύτταρα που προκύπτουν ονομάζονται *πρωτογενή σπερματοκύτταρα* υπόκεινται στην πρώτη μειωτική διαίρεση. Πρέπει να υπογραμμισθεί ότι σε κάποιο από τα αρχικά στάδια, αυτής της σειράς των γεγονότων, ένα από τα κύτταρα του κλώνου εγκαταλείπει τον κύκλο της διαφοροποίησης και επιστρέφει σε κατάσταση αρχέγονου σπερματογόνιου. Το κύτταρο αυτό σε κάποια μεταγενέστερη χρονική στιγμή θα μπει σε μια δικιά του διαιρητική ακολουθία εξασφαλίζοντας με αυτό τον τρόπο την αδιάκοπη παροχή αδιαφοροποίητων σπερματογόνιων.

Το *πρωτογενές σπερματοκύτταρο* αυξάνει σε μέγεθος και ακολουθεί η πρώτη μειωτική διαίρεση (Cobb J & Handel M A , 1998 ), που θα οδηγήσει σε δύο *δευτερογενή σπερματοκύτταρα* καθένα από τα οποία περιέχει 23 χρωμοσώματα με δύο χρωματίδες. Το δευτερογενές σπερματοκύτταρο υπόκειται σε δεύτερη μειωτική διαίρεση και μετατρέπεται σε *σπερματίδα*. Με τη διαδικασία αυτή το κάθε πρωτογενές σπερματοκύτταρο (46 χρωμοσώματα με διπλές χρωματίδες), δίνει 4 σπερματίδες η καθεμιά από τις οποίες περιέχει 23 χρωμοσώματα που έχουν μια χρωματίδη το καθένα (Εικόνα 1).

Η τελική φάση (σπερμιογένεση) είναι η διαφοροποίηση των σπερματίδων σε σπερματοζωάρια. Κατά τη διαδικασία αυτή οι κύριες μεταβολές που λαμβάνουν χώρα είναι ο σχηματισμός της κεφαλής και της ουράς του σπερματοζωαρίου καθώς και η απώλεια του κυτταροπλάσματός του. Η όλη διαδικασία της σπερματογένεσης, διαρκεί περίπου 74 ημέρες



**Εικόνα 1:** Σπερματογένεση (Vander's Φυσιολογία του Ανθρώπου)

Κάθε ώριμο τυπικό σπερματοζωάριο (Εικόνα 2) αποτελείται από τρία μέρη :

- Την κεφαλή με σχήμα ωοειδές, μήκος 3-5 μm, πλάτος 2-3 μm και πάχος 1,5 μm που εμπεριέχει τον πυρήνα του κυττάρου περιβάλλεται από ένα λεπτό στρώμα κυτταροπλάσματος και την κυτταρική μεμβράνη. Ο πυρήνας περιέχει συμπυκνωμένη χρωματίνη και είναι αυτή που γονιμοποιεί το ωάριο. Στην κορυφή της κεφαλής βρίσκεται μια καλύπτρα, το ακρόσωμα, το οποίο σχηματίζεται από την συσκευή Golgi (Abou-Haila & Tulsiani, 2000 ). Είναι πλούσιο σε φωσφολιπίδια, γλυκοπρωτεΐνες και λυτικά ένζυμα (θρυψίνη, υαλουρονιδάση, πρωτεάσες με σημαντικότερη την πρωτεάση ακροσίνη) τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην διείσδυση του σπερματοζωαρίου.



**Εικόνα 2:** Σπερματοζωάριο (Γ. Μηντζιώρη, Δ.Γ. Γουλής, *e-endocrinology.gr*)

- Τον αυχένα, το πρόσθιο τμήμα της ουράs, με διάμετρο μεγαλύτερη από αυτή, εκφύεται από ένα κεντροσωμάτιο που εντοπίζεται στη βάση της κεφαλής. Στον αυχένα εντοπίζεται ένας δακτύλιος μιτοχονδρίων, τα οποία παρέχουν την απαιτούμενη ενέργεια για την κίνηση των σπερματοζωαρίων
- Την ουρά μήκους 40-50 μm η οποία δομείται από τη χαρακτηριστική διάταξη των 9+2 μικροσωληνίσκων (δύο εσωτερικά μονούς και εννέα εξωτερικά διπλούς) που συνδέονται μεταξύ τους με βραχίονες δυνείνης και του επιτρέπει να κινείται με χαρακτηριστική μαστιγοειδή κίνηση. Τα φυσιολογικά σπερματοζωάρια μετακινούνται σε ευθεία γραμμή με ταχύτητα 1-4 mm/min

Η όλη διαδικασία λαμβάνει χώρα στο σπερματικό επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων

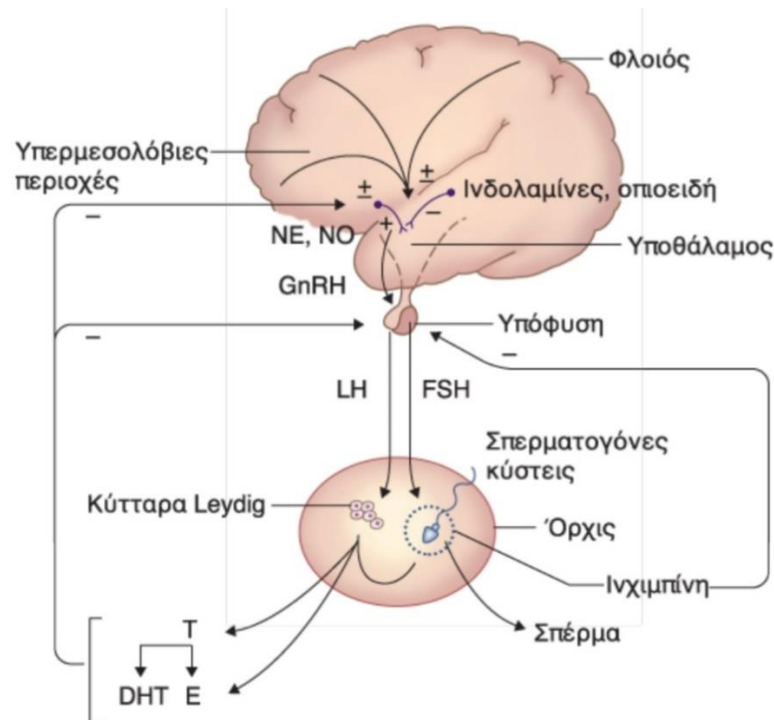
# ΑΙΜΑΤΟΟΡΧΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗΣ

Ο αιματοορχικός φραγμός επιτελεί ένα μεγάλο αριθμό ιδιαίτερα σημαντικών λειτουργιών για τη σπερματογένεση. Εμποδίζει επιλεκτικά τη δίοδο νερού, ιόντων, ηλεκτρολυτών, ορμονών καθώς ουσιών που δρουν παρακρινικά. Με αυτόν τον τρόπο ρυθμίζει, την ποσότητα αλλά και το είδος των ουσιών που απαιτούνται για την δημιουργία των απλοειδικών σπερματίδων. Αποτελεί την ανοσολογική πύλη που διαχωρίζει τα αντιγόνα, που εκφράζονται προσωρινά, από το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή, κατά την εξέλιξη των σπερματογόνιων, και με αυτό τον τρόπο παρεμποδίζει την παραγωγή αντισπερματικών αντισωμάτων. Ο αιματοορχικός φραγμός προσδίδει πολικότητα στα κύτταρα του όρχι, εκκρίνοντας ουσίες προς τα βλαστικά κύτταρα, προς το διάμεσο χώρο και προς τον αυλό των σπερματικών σωληναρίων. Ο πυρήνας των κύτταρων Sertoli, εντοπίζεται κοντά στη βασική μεμβράνη και κάθε ένα από αυτά συνδέεται με τα βλαστικά κύτταρα (βρίσκονται σε διαφορετικά στάδια της ανάπτυξής τους) μέσω κυτταροπλασματικών αποφυάδων.

Η λειτουργία του αιματοορχικού φραγμού ρυθμίζεται από:

- Συντονισμένες Δράσεις των κυτοκίνων και της *τεστοστερόνης*
- Πρωτεϊνικές κινάσες MARK (Mitogen-activated protein kinases)
- Πρωτεΐνες πολικότητας Par, Pals1
- Τοπικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς

Η ανάπτυξη των δευτερογενών ανδρικών χαρακτηριστικών εξασφαλίζεται από τη σωστή λειτουργία των όρχεων. Η παράγωγή *τεστοστερόνης* στους όρχεις συμβάλλει στην έκφραση του άρρενος φαινοτύπου, στην ανάπτυξη και λειτουργία των ανδρικών γεννητικών οργάνων και την σεξουαλική και γονιμοποιητική ικανότητα του άνδρα. Η ορχική λειτουργία ρυθμίζεται από τον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση–όρχεις (Εικόνα 3). Ο υποθάλαμος δέχεται ερεθίσματα από τον κεντρικό νευρικό σύστημα, από το σώμα και από τους όρχεις και απελευθερώνει περιοδικά και παλμικά την *εκλυτική των γοναδοτροπινών ορμόνη* (GnRH).



**Εικόνα 3:** Αναπαράσταση των ορμονών που λειτουργούν στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (Vander's Φυσιολογία του Ανθρώπου)

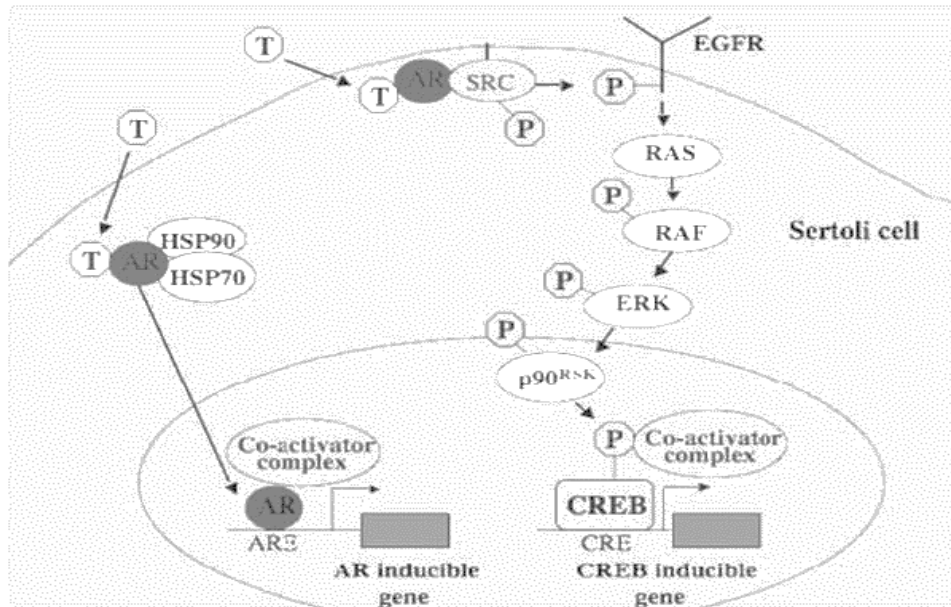
Σε απάντηση η υπόφυση εκκρίνει την *θυλακιοτρόπο ορμόνη* FSH και την *ωχρινοτρόπο ορμόνη* LH στη κυκλοφορία του αίματος. Η FSH δρα στα κύτταρα Sertoli ενώνεται με ειδικούς υποδοχείς και προάγει την παραγωγή αυξητικών παραγόντων, P450 αρωμάτισης και έκκριση ειδικών πρωτεϊνών που συνδέονται με τα ανδρογόνα και τα μεταφέρουν σε κύτταρα στόχους. Τα κύτταρα Sertoli εκκρίνουν παράγοντες που ρυθμίζουν παλίνδρομα την έκκριση FSH από την υπόφυση, τις ακτιβίνες που διεγείρουν και τις ανασταλτίνες που μειώνουν, την έκκριση της FSH. Αυξημένα επίπεδα FSH ορού πιθανώς υποκρύπτουν βλάβη του σπερματικού επιθηλίου. Η LH συνδέεται με ειδικούς υποδοχείς στα κύτταρα Leydig και προάγει την παραγωγή ανδρογόνων ορμονών με βασικότερη την *τεστοστερόνη*. Η έκκριση της LH καταστέλλεται κυρίως από την *τεστοστερόνη*.

Η *τεστοστερόνη* είναι το ισχυρότερο ανδρογόνο του πλάσματος και συντίθεται, ως επί το πλείστον, στα μιτοχόνδρια και το ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων Leydig. Στα επινεφρίδια παράγεται το 5% της συνολικής ορμόνης. Από το σύνολο της

ορμόνης το 2-3% κυκλοφορεί ελεύθερο στο πλάσμα και αποτελεί το βιολογικά δραστικό κλάσμα ενώ το 40-50% αυτής είναι συνδεδεμένο με την σφαιρίνη δεσμεύουσα τις φυλετικές ορμόνες (*SHBG*). Η υπόλοιπη είναι συνδεδεμένη χαλαρά με λευκωματίνες ορού και κινητοποιείται εύκολα και ταχύτατα όταν χρειαστεί. Στους όρχεις (συγκέντρωση 50-100 φορές υψηλότερη) είναι συνδεδεμένη με την δεσμεύουσα τα ανδρογόνα πρωτεΐνη (*ABP*). Δρα στα κύτταρα Sertoli και μέσω αυτών στη σπερματογένεση. Η FSH δρα ενισχυτικά. Αυξημένα επίπεδα *τεστοστερόνης* πυροδοτούν μια ανάδρομη διαδικασία αναστέλλοντας την έκκριση *GnRH* από τον υποθάλαμο και κατ' επέκταση των γοναδοτροπινών από τη υπόφυση και ουσιαστικά της *τεστοστερόνης* από του όρχεις μέχρι να επανέλθει η ισορροπία στην κυκλοφορία.

Οι *ανδρογονικοί υποδοχείς AR* (androgen receptor) (Ruizeveld de Winter A et al., 1991) στον όρχι εντοπίζονται στα κύτταρα Sertoli (ο βασικός στόχος τους), στα κύτταρα Leydig, στα περισωληναριακά κύτταρα, και στις λείες μυϊκές ίνες του τοιχώματος των αγγείων. Οι υποδοχείς AR δεν εκφράζονται στα κύτταρα της σπερματογένεσης. Οι μηχανισμοί με τους οποίους δρα η *τεστοστερόνη* στη σπερματογένεση δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Πειραματικές μελέτες, σε αρουραίους, έχουν δείξει ότι υπάρχουν κλασικοί και μη κλασικοί μηχανισμοί δράσης κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης.

Κατά την **κλασική οδό δράσης** (Εικόνα 4) η *τεστοστερόνη*, μέσω των *AR*, ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση. Συγκεκριμένα διαχέεται μέσα από την κυτταροπλασματική μεμβράνη και αλληλεπιδρά με τους υποδοχείς *AR* (Ruizeveld de Winter A et al., 1991), και που είναι συνδεδεμένοι με θερμο-ευαίσθητες πρωτεΐνες *HSP* (heat shock proteins). Μετά την δέσμευση οι *AR* υφίστανται προσαρμοστικές μεταβολές, αποδεσμεύονται από τις *HSPs* και μεταναστεύουν προς τον πυρήνα. Στον πυρήνα συνδέονται με ειδικές αλληλουχίες του DNA, *στοιχεία απάντησης των ανδρογόνων AREs* (androgen response elements) και επιστρατεύουν ενεργοποιητές και αναστολείς για να ρυθμίσουν τη μεσολαβούμενη από την *τεστοστερόνη* μεταγραφή. Ο μηχανισμός, απαιτεί τουλάχιστον 30' έως 40' για να μεταβάλλει τη γονιδιακή έκφραση ενώ απαιτούνται ώρες για να παραχθούν νέες πρωτεΐνες.



**Εικόνα 4:** Κλασικές και μη κλασικές οδοί δράσης της τεστοστερόνης (Γ. Μηντζιώρη, Δ.Γ. Γουλής, *e-endocrinology.gr*)

Η **μη κλασική οδός** (Εικόνα 4) ξεκινάει επίσης με τη σύνδεση της τεστοστερόνης στον AR, είτε στο κυτταρόπλασμα είτε κοντά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Η σύνδεση αυτή οδηγεί στη φωσφορυλίωση της *Src* κινάσης που εντοπίζεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Ακολούθως η *Src* κινάση φωσφορυλιώνει τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα *EGFR* (epidermal growth factor receptor), ο οποίος ενεργοποιεί τον καταρράκτη της *MAP* κινάσης (μέσω φωσφορυλίωσης της *Raf*-κινάσης και ενεργοποίησης της *MEK*-κινάσης). Ακολουθεί η ενεργοποίηση της *ERK*-κινάσης, της *p90RSK*-κινάσης και τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα *CREB*, με τελικό αποτέλεσμα τη διέγερση των στοιχείων απάντησης του *cAMP-CREs* (cAMP response elements), την επιστράτευση συνενεργοποιητών και τελικά τη μεταγραφή των γονιδίων.

Η σπερματογένεση είναι κάτω από την επίδραση διαφόρων επιγενετικών μεταβολών, κάποιες από τις οποίες έχουν μελετηθεί και διευκρινιστεί. Η μεθυλίωση του DNA δημιουργεί πατρικά αποτυπώματα στα βλαστικά κύτταρα που διαιρούνται με μίτωση. Η φωσφορυλίωση των ιστονών (στα κύτταρα που διαιρούνται με μείωση) βοηθά στον ανασυνδυασμό και το σχηματισμό του σωματίου XY (XY body). Τέλος υπερακετυλίωση των ιστονών βοηθάει στη μετάβαση ιστόνης - πρωταμίνης (histone – protamine transition).

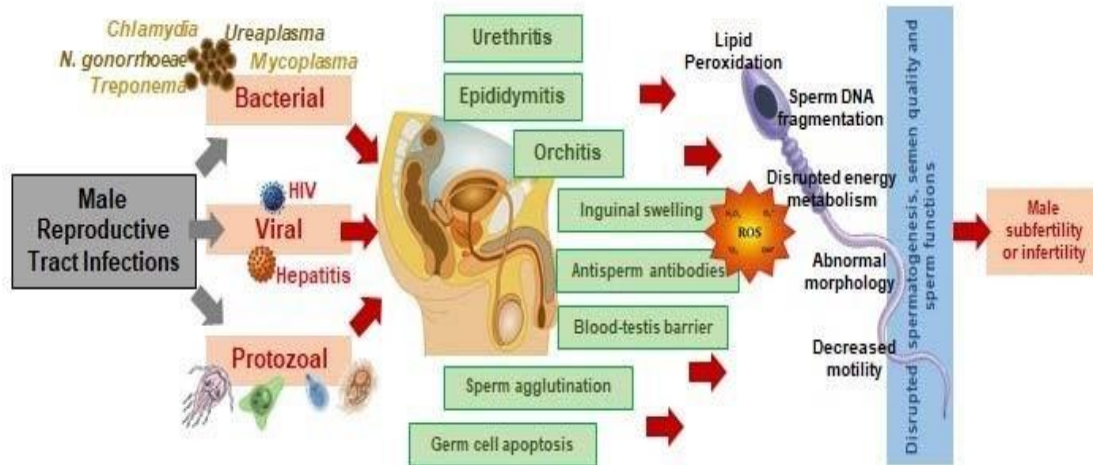
Παρ' όλα αυτά δεν έχουν αποσαφηνισθεί πλήρως οι λειτουργίες, η χρονική ακολουθία και οι παράγοντες από τους οποίους επηρεάζονται οι επιγενετικές τροποποιήσεις της σπερματογένεσης και πώς αυτές οι επηρεάζουν τη γονιμότητα.

## **ΛΟΙΜΩΞΗ ΤΟΥ ΑΝΔΡΙΚΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ**

Διάφορα αίτια στον άνδρα μπορεί να οδηγήσουν σε υπογονιμότητα. Αυτά μπορεί να είναι ορμονικές διαταραχές, μεταβολικές αιτίες, λοιμώξεις των γεννητικών οργάνων (που οδηγούν σε λοιμώξεις του σπέρματος), απόφραξη του ουρογεννητικού συστήματος και πολλές άλλες. Ένας μεγάλος αριθμός παθογόνων μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα υπογονιμότητας στον άνδρα (Εικόνα 5). Οι μικροοργανισμοί αποικούν στο σπέρμα ανεξάρτητα από την πηγή της μόλυνσης, που μπορεί να εντοπίζετε είτε στο γεννητικό σύστημα είτε στην ουροποιητική οδό. Βακτήρια όπως το *Ureaplasma urealyticum* και το *Mycoplasma hominis* προσβάλλουν τις γεννητικές οδούς (Andrade-Rocha F.T. , 2003).

Η ουρηθρίτιδα, η προστατίτιδα και λίγες περιπτώσεις ορχίτιδας προκαλούνται από το *Ureaplasma urealyticum* ή από το *Mycoplasma hominis*. Σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ. περίπου το 20-30% των υπογόνιμων ανδρών έχουν σιωπηλές φλεγμονές στο ουρογεννητικό τους σύστημα (Zorn, et al., 2004) (Row et al., 2000). Μεταβολές στα χαρακτηριστικά του σπέρματος, στους αποπτωτικούς δείκτες, αυξημένα επίπεδα λευκοκυττάρων στο σπερματικό πλάσμα (ως αποτέλεσμα φλεγμονής) και ROS αναφέρονται ως πιθανοί παράγοντες που συμβάλλουν στην ανδρική υπογονιμότητα.





**Εικόνα 5:** Λοίμωξη ή φλεγμονή στο αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα είτε μέσω προσβολής από κάποιο παθογόνο είτε μέσω συστηματικών ασθενειών σχετίζεται στενά με την ανδρική υπογονιμότητα (Sengupta P. et al., 2020)

## ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΩΣ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΝΔΡΙΚΗ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ

Τα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα (STD) διαταράσσουν είτε τον ορμονικό άξονα της σπερματογένεσης είτε τη μεταφορά σπέρματος κατά μήκος του αναπαραγωγικού συστήματος. Τα STDs κατέχουν προεξέχουσα θέση στους παράγοντες εκείνους που επηρεάζουν την ανδρική γονιμότητα. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) ανιχνεύει *χλαμύδια*, *Mycoplasma hominis* και *Ureaplasma urealyticum*, σε σημαντικά υψηλότερη συχνότητα σε δείγματα σπέρματος υπογόνιμων ανδρών, συγκριτικά με τους μάρτυρες, γεγονός που καταδεικνύει ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στη λοίμωξη από STD και την υπογονιμότητα (Ouzounova-Raykova et al., 2015). Σε in vitro μελέτες οι λιποπολυσακχαρίτες που εκλύονται από χλαμύδια προκαλούν μείωση της κινητικότητας του σπέρματος καθώς και καταστροφή των σπερματοζωαρίων (Galdiero et al., 1994). DNA της *Neisseria gonorrhoeae* ανιχνεύτηκε σε δείγματα σπέρματος ανδρών με πρόβλημα γονιμότητας, ενώ το *Trichomonas vaginalis* προκαλεί ελάττωση της κινητικότητας του σπέρματος (Jarecki-Black et al., 1988). Ο ιός *Epstein barr*, ο κυτταρομεγαλοϊός, ο έρπης, ο ιός των θηλωμάτων, η ηπατίτιδα και ο ιός της ανθρώπινης ανοσολογικής ανεπάρκειας δύναται

να επηρεάσουν την γονιμότητα των ανδρών. Η σχέση της ανεξήγητης υπογονιμότητας και των STDs δεν έχει μελετηθεί εκτενώς.

## ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

### **Mycoplasma**

Δύο είδη μυκοπλάσματος παρουσιάζουν κλινικό ενδιαφέρον. Τα *M. genitalium* και *M. Hominis*. Οι λοιμώξεις από μυκοπλάσμα έχουν επιπολασμό 4,8 % για το *M. Genitalium* και 9,6 % για το *M. Hominis*. Από τους άνδρες με επίμονη ουρηθρίτιδα, το 41% είναι θετικοί για *M. genitalium* (Wikström & Jensen, 2006). Οι λοιμώξεις από μυκόπλασμα, μειώνουν την κινητικότητα και τη μορφολογία του σπέρματος και μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στο σπερματικό DNA (Andrade-Rocha F.T. , 2003) (Zeighami et al., 2009). Οι Gallegos et al. αναφέρουν υψηλή παραγωγή ROS, ως αποτέλεσμα της φλεγμονής καθώς και βλάβες στο σπερματικό DNA σε λοιμώξεις από μυκοπλάσμα (Gallegos et al., 2008). Η βλάβη του DNA μειώθηκε σημαντικά μετά από αγωγή με αντιβιοτικά και στεροειδή αντιφλεγμονώδη ( $p < 0,001$ ) (Gallegos et al., 2008).

### **Ureaplasma**

Τα είδη *Ureaplasma urealyticum* και το *Ureaplasma parvum* παρουσιάζουν κλινικό ενδιαφέρον και επηρεάζουν την ανδρική γονιμότητα με επιπολασμό 15,6% και 2,9% αντίστοιχα. Τα ποσοστά μόλυνσης για το ουρεόπλασμα σε ασθενείς με ανδρική υπογονιμότητα είναι μεταξύ 5% και 42%. (Abusarah et al., 2013) ενώ φέρεται ότι επηρεάζει αρνητικά την κινητικότητα του σπέρματος και την μορφολογία του και αυξάνει την βλάβη στο σπερματικό DNA. Επειδή το ουρεόπλασμα δεν προκαλεί φλεγμονώδη διαδικασία - που θα επηρεάσει αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος- (Nunez-Calonge et al., 1998) παραμένει άγνωστο γιατί επιδεινώνονται οι παράμετροι του σπέρματος. Τα παθογόνα συσσωρεύονται στην ουρήθρα και είναι πιθανό να συνδεθούν απευθείας με το σπέρμα κατά την εκσπερμάτωση, (Nunez-Calonge et al.,

1998) μια διαδικασία που πιστεύεται ότι προκαλεί αυξημένη βλάβη στο DNA και επηρεάζει την δομή της κυτταρικής μεμβράνης μέσω του σχηματισμού ROS (Gallegos et al., 2008).

## **Escherichia coli**

Το *Escherichia coli* είναι το πιο σημαντικό βακτήριο που επηρεάζει την ανδρική γονιμότητα μετά από λοίμωξη (Comhaire et al., 1999). Μειώνει την κινητικότητα του σπέρματος, τη ζωτικότητα και αυξάνει τη βλάβη στο πυρηνικό DNA. (Dahlberg, 1976), (Sanocka & Kurpisz, 2004). Το *E. coli* προκαλεί αύξηση των λευκοκυττάρων ευοδώνοντας τον σχηματισμό ROS που προέρχονται από τα ουδετερόφιλα (Moretti et al., 2014). Προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η *IL-6*, μπορούν να καταστρέψουν τις κυτταρικές μεμβράνες, μειώνοντας έτσι την κινητικότητα του (Ramirez et al., 1992). Το ίδιο το *E. Coli* μειώνει την ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης του σπέρματος προσθέτοντας πορίνες στη μεμβράνη των σπερματοζωαρίων. Ο σχηματισμός πορίνων προκαλεί την απελευθέρωσή του κυτταροπλασματικού υλικού και συμβάλλει στη σημαντική μείωση της βιωσιμότητας σε ποσοστά 80% έως 100%. Τέλος το *Hemolytic Escherichia coli* μειώνει τη ζωτικότητα του σπέρματος μειώνοντας το ηλεκτρικό δυναμικό στο κυτταρόπλασμα γεγονός που οδηγεί στην παραγωγή ενδοκυτταρικού ROS (Boguen et al., 2015).

## **Neisseria gonorrhoeae**

Στην ουρογεννητική οδό του άνδρα λαμβάνουν χώρα δύο τύποι αλλαγών μετά τη μόλυνση με *Neisseria* αύξηση της διαμέτρου της και μείωση της ταχύτητας ροής του σπέρματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα ROS. Η *Neisseria gonorrhoeae*, κατά τη διάρκεια της λοίμωξης, προσβάλλει τον γεννητικό, πρωκτικό και ρινοφαρυγγικό βλεννογόνο (A. Château & Seifert., 2016). Τα Gram-αρνητικά βακτήρια συμπεριλαμβανομένης και της *Neisseria gonorrhoeae* είναι ικανά να παράγουν μεγάλες ποσότητες πεπτιδογλυκάνων. Η *N. Gonorrhoeae* δύναται να ενεργοποιήσει τους υποδοχείς *TLR2*, *TLR4* καθώς και τους υποδοχείς αναγνώρισης δομών *NOD1* και *NOD2* ως αποτέλεσμα της ανοσολογικής απόκρισης στο

βακτηριακό αντιγόνο. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων NOD υποδηλώνει ότι η ανοσολογική απόκριση μπορεί να προκαλέσει όχι μόνο κυτοκίνες (*IL-16*) και χημειοκίνες, αλλά ενεργοποιεί επίσης τις πρωτεΐνες του συμπληρώματος, αυξητικούς παράγοντες (*CSF1*) και άλλους υποδοχείς αναγνώρισης μοτίβων στις κυτταρικές επιφάνειες. Επιπλέον, η *IL-1* προκαλεί απόπτωση του σπέρματος μέσω του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των Β-κυττάρων τα οποία προσελκύουν ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα, με τη βοήθεια χημειοκινών όπως η *IL-8*. Στη λοίμωξη από *N. Gonorrhoeae* η έκφραση της *IL-1* και της *IL-8* έχει σημαντική κλινική επίδραση. Οι Duru, Morshedi και Oehninger (2000) έχουν δείξει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του σπερματικού οξειδωτικού στρες και της συγκέντρωσης, της λειτουργίας και της κινητικότητας του σπέρματος (Duru 1 et al., 2000). Οι κυτοκίνες και οι αντίποκινες μπορούν επίσης να προταθούν ως δείκτες της ποιότητας του σπέρματος και της ανδρικής γονιμότητας. (Dutta et al., 2019) (Írez, et al., 2019). Μια ερευνητική μελέτη δείχνει ότι τα αυξημένα επίπεδα *IL-1β* σχετίζονται με τη μείωση της κινητικότητας του σπέρματος, την αύξηση του σπερματικού ROS και της *MDA* (υποπροϊόν οξειδωσης των λιπιδίων) (Kocak et al., 2002).

### **Chlamydia trachomatis**

Το *Chlamydia trachomatis* έχει το μεγαλύτερο ποσοστό επιπολασμού παγκοσμίως με 4,2% για τις γυναίκες και 2,7% για τους άνδρες να έχουν μολυνθεί και αποτελούν ένα σημαντικό κλινικό πρόβλημα καθώς στο 50% των ανδρών που διαγιγνώσκονται με χλαμύδια δεν εκριζώνονται. Ο μηχανισμός που το *Chlamydia trachomatis* επηρεάζει την από την ανδρική γονιμότητα παραμένει άγνωστος. Επί του παρόντος διατυπώνονται τρεις κύριες υποθέσεις: α) υψηλά επίπεδα *WBC* καθώς ενεργοποιούνται από τις κυτοκίνες. β) αλληλεπίδραση με τους υποδοχείς *CD14* και γ) ανάπτυξη αντισπερμικών αντισωμάτων.

Σύμφωνα με την πρώτη θεωρία η μόλυνση συχνά οδηγεί σε βλάβη των ιστών, όταν τα *Chlamydia trachomatis* εισέρχεται στο επιθηλιακό κύτταρο και έτσι ενεργοποιείται η *IL-1β*. Η οικογένεια *IL-1* (δύο στελέχη τα α και β) ενεργοποιεί πολυμορφοπύρρηνα *WBCs* και μακροφάγα και προκαλεί έκλυση των *IL-1*, *IL-6*, *IL-*

8, *IL-10*, *TNF-α* και *IFN-α*. Σε υπογόνιμους άνδρες, τα επίπεδα της *IL-6* στο σπερματικό πλάσμα είναι υψηλό. Στο σπέρμα των ανδρών αυτών τα επίπεδα των *MDA* ήταν επίσης υψηλά υποδεικνύοντας ότι η *IL-6* εμπλέκεται στην οξείδωση των λιπιδίων. Αυτή η αλληλουχία διαδοχικών απαντήσεων, αυξάνει τα επίπεδα του OS.

Ο δεύτερος μηχανισμός που προτείνεται είναι η αυξημένη παραγωγή ROS μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ του υποδοχέα *CD14* και της υψηλής συγκέντρωσης *LPO* (Lipid peroxidation) που υπάρχουν στη μεμβράνη των σπερματοζωαρίων (S. Dutta et al., 2019).

Ο τρίτος μηχανισμός υποδεικνύει την παραγωγή αντισπερμικών αντισωμάτων από την εισβολή μακροφάγων, λεμφοκυττάρων, κυττάρων πλάσματος και ηωσινοφίλων. Ο καταρράκτης ενεργοποίησης των *ILs* προκαλεί περαιτέρω έκκριση αντισωμάτων *IgA*, *IgM* και *IgG*. Τα αυξημένα επίπεδα *IgA* και το *IgG* συνδέονται συνήθως με κακές παραμέτρους σπέρματος και μειωμένη γονιμοποιητική ικανότητα (Dutta & P. Sengupta, 2018). Μετα-ανάλυση δηλώνει ότι τα επίπεδα έκλυσης των κυτοκινών *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *TNF-α* και του *IFN-γ* μπορεί να επηρεάσουν την κλινική έκβαση του ασθενούς (Singer & Ouburg, 2016). Οι γρήγορη διάγνωση και η χορήγηση αντιβιοτικών (για παράδειγμα μακρολίδες) για την αντιμετώπιση των STD κρίνονται ως απαραίτητα, δεδομένης της ύπαρξης των παραπάνω θεωριών.

## **ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

### **Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV)**

Ο HIV επηρεάζει τις παραμέτρους του σπέρματος, όπως κινητικότητα και τη ζωτικότητα, μόνο εάν ο αριθμός των *CD4* κυττάρων είναι μικρότερος από 350 κύτταρα/μικρολίτρο. (Garolla et al., 2013). Οι ασυμπτωματικοί οροθετικοί ασθενείς δεν εμφανίζουν μειωμένη γονιμότητα. Η παρουσία μονοκυττάρων, μακροφάγων και λευκοκυττάρων στο σπέρμα παρατηρείται σε άτομα με συμπτωματικές λοιμώξεις HIV. Τα υπάρχοντα σχήματα αντιρετροϊκής θεραπείας (HAART) βελτιώνουν το προσδόκιμο ζωής των ανδρών που έχουν προσβληθεί από τον ιό HIV. Έρευνα σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο η αντιρετροϊκή θεραπεία επηρεάζει την ανδρική

γονιμότητα αποκαλύπτει αρνητική δράση αυτής στην ποιότητα του σπέρματος. Η χρήση αναστολέων αντίστροφης μεταγραφάσης μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες που αποδεικνύεται τοξικοί για τα μιτοχόνδρια (Singh & Chhikara, 2014) μια που επηρεάζει αρνητικά το δυναμικό της μεμβράνης τους (Frapsauce et al., 2015).

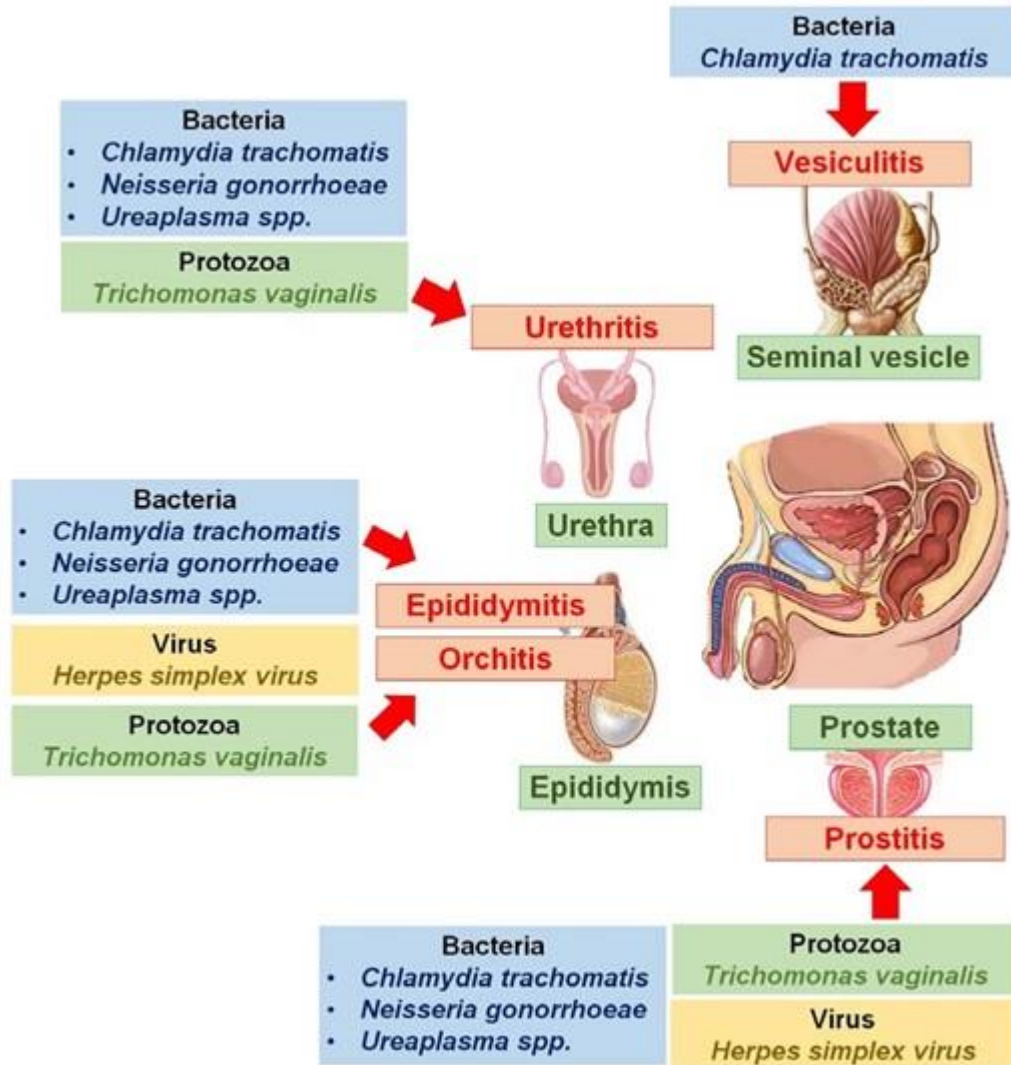
## Ηπατίτιδα

Τόσο ο ιός της ηπατίτιδας Β όσο και της ηπατίτιδας C έχουν αποδειχθεί ότι μειώνουν την ανδρική γονιμότητα.

Η ηπατίτιδα Β επιδεινώνει τις παραμέτρους του σπέρματος εξαιτίας της ικανότητάς του ιού να διέρχεται μέσω του αιματοορχικό φραγμό (Garolla et al., 2013). Δεδομένης αυτής της ικανότητας του μπορεί να μεταδώσει το γονιδίωμά του απευθείας στα σπερματοζώαρια οδηγώντας σε ελαττωματική σπερματογένεση και χαμηλότερα επίπεδα γονιμότητας (Qian et al., 2016). Υψηλές σπερματικές συγκεντρώσεις *IL-18* βρέθηκαν σε άνδρες με χρόνια ηπατίτιδα Β. Η *IL-18* πυροδοτεί τα NK να εκκρίνουν προφλεγμονώδη κυτοκίνη *INF-γ*. Έχει βρεθεί θετική συσχέτιση μεταξύ του σχηματισμού του εσωτερικού *MDA* (Malondialdehyde) και της συγκέντρωσης της *IL-18*, υποδεικνύοντας ότι ο σχηματισμός *MDA* προκαλείται από μια φλεγμονώδη διαδικασία. Επί του παρόντος, δεν υπάρχει έρευνα που να σχετίζεται άμεσα με την ενεργοποίηση της *IL-18* και των λευκοκυττάρων στην ανδρική αναπαραγωγική οδό από λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β.

Η μετάδοση της ηπατίτιδας C γίνεται κυρίως από ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών και μετάδοση από μητέρα σε παιδί (Sacks-Davis et al., 2015). Οι χρήστες οπιούχων είναι άτομα αναπαραγωγικής ηλικίας (μέση ηλικία 22,9 έτη) και συμβάλλουν στην αυξημένη μετάδοση της ηπατίτιδας C. Ο ιός της ηπατίτιδας C, σε αντίθεση με την ηπατίτιδα Β, δεν διέρχεται από τον αιματοορχικό φραγμό και δεν μπορεί να προκαλέσει άμεσο οξειδωτικό στρες στα σπερματοζώαρια. Λοιμώξεις με χρόνια ηπατίτιδα C προκαλούν συστηματικές αυξήσεις των *TNF-α* και *NO* (Machida K et al., 2006). Ως αποτέλεσμα, εμφανίζεται χρόνια φλεγμονή και ενεργοποίηση λεμφοκυττάρων και πολυμορφοπύρηνων. Τα πολυμορφοπύρηνια παράγουν ROS μέσω *NOX2* με αποτέλεσμα την απώλεια του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης και την περαιτέρω αύξηση ROS και OS. Μελέτες καταδεικνύουν ότι η ηπατίτιδα C

επιρεάζει αρνητικά την κινητικότητα του σπέρματος, αφήνοντας ανεπιρρέαστες όλες τις άλλες παραμέτρους. (Machida K et al., 2006), (La Vignera S et al., 2012 )



**Εικόνα 6:** Διάφορες μικροβιακές παθολογίες του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος (Sengurta P. et al., 2020)

## ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΑΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Η μόλυνσεις που αναφέρθηκαν έχουν ως βασική συνέπεια τη φλεγμονή, την κύρια άμυνα του οργανισμού ενάντια στη μόλυνση ή τον τραυματισμό, κατά την οποία υπάρχει αύξηση της τοπικής ροής αίματος, της μικροαγγειακής διαπερατότητας και στρατολόγηση λευκοκυττάρων στο σημείο της μόλυνσης. Η φλεγμονώδης απόκριση μπορεί να είναι οξεία ή χρόνια ανάλογα με τη σοβαρότητα και το χρόνο που απαιτείται για αυτήν. Ξεκινάει με αιμοδυναμικές αλλαγές (αγγειοδιαστολή και αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα) που διευκολύνουν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στη θέση της λοίμωξης. Τα λευκοκύτταρα φαγοκυτταρώνουν ή σκοτώνουν μικρόβια και χωνεύουν υπολείμματα ιστών προστατεύοντας έτσι τον ξενιστή. Κυτοκίνες όπως οι *ιντερλευκίνες (IL)* και οι *παράγοντες νέκρωσης όγκων (TNFs)* εμπλέκονται στην μεταγωγή σήματος κατά τη διάρκεια των φλεγμονωδών καταστάσεων.

Η φλεγμονή προκαλείται από έναν αριθμό παραγόντων, μεταξύ των οποίων είναι λοιμώξεις από αρνητικά κατά gram βακτήρια. Ο λιποπολυσακχαρίτης (*LPS*), που υπάρχει στο κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων αυτών θεωρείται το ενδοτοξικό εκείνο στοιχείο που την προκαλεί (Mallikarjuna M et al., 2006). Δεδομένου του ότι το ουρογεννητικό σύστημα των ανδρών είναι ευαίσθητο σε μια σειρά από λοιμώξεις, που προκαλούν φλεγμονώδης καταστάσεις σε αυτόν και στο αναπαραγωγικό σύστημα, είναι σημαντικό να γνωρίζουμε τις πιθανές επιπτώσεις της προσβολής.

Η φλεγμονή επηρεάζει τις δύο λειτουργίες των όρχεων, την στεροειδογένεση και την σπερματογένεση. Κατά τη διάρκεια αυτής παρατηρείται σημαντική μείωση στα επίπεδα κυκλοφορίας της *ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH)* και της *τεστοστερόνης* (Cutolo M et al., 1991) (O'Bryan M K et al., 2000). Όταν η φλεγμονή προκαλείται με ένεση *LPS*, μειώνονται τα επίπεδα *τεστοστερόνης* λόγω της μείωσης της δραστηριότητας της πρωτεΐνης *StAR (Steroid Acute Regulatory)* ενός βασικού ρυθμιστή της στεροειδογένεσης (Hales D. B., 1992). Η συνύπαρξη υψηλών επιπέδων προφλεγμονώδων κυτοκινών (*IL-1b, TNF-a*) με την αναστολή της δραστηριότητας της *StAR* υποδηλώνει αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των κυτοκινών και συγκεκριμένης πρωτεΐνης (Lin T et al., 1991) (Lin T et al., 1998). Μια άλλη μελέτη διαπιστώνει ότι η φλεγμονή προκάλεσε διακοπή της σπερματογένεσης και επιβράδυνση της διαδικασίας ωρίμανσης του σπέρματος (Liew S et al., 2007). Παρόλο που ορισμένες μελέτες



αναφέρονται σε φλεγμονές της επιδιδυμίδας, είναι δύσκολο να εξακριβωθεί αν αυτές είναι συνέπεια των ορχικών φλεγμονών ή εάν η επιδιδυμίδα μπορεί να είναι ο πρωτοπαθής ιστός. Σε συνθήκες επιδιδυμικής φλεγμονής, ο αριθμός και η κινητικότητα του σπέρματος μειώνεται και συχνά υπάρχει αποφρακτική αζωοσπερμία. Η προσβολή επηρεάζει τον προστάτη καταστέλλοντας την έκκριση του *κιτρικού οξέος* και της *γ-γλουταμυλτρανσφεράσης (γ-GT)* από τον αδένα. Το πιο σημαντικό όμως είναι η διήθηση λευκοκυττάρων στο σπέρμα και παραγωγή αντισωμάτων κατά του σπέρματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μεταβολή (μείωση) της ελαστικότητας της μεμβράνης του, λόγω της μείωσης των λιπιδίων της με τελική κατάληξη τη μείωση της επιπέδων της κινητικότητας του σπέρματος, συγκολλήσεις σπερματοζωαρίων και τελικά ασθενοζωοσπερμία (Tremellen K, 2008 ) (Sanocka D et al., 2003). Πιθανώς δε η μεταβολή αυτή να επηρεάσει το ακρόσωμα καθιστώντας το σπερματοζωάριο ανίκανο να διαπεράσει τη διάφανη ζώνη. Επιπλέον διαταράσσεται η ακεραιότητα του σπερματικού DNA οδηγώντας σε αύξηση του αριθμού των αποπτοτικών σπερματοζωαρίων (Comhaire F H et al., 1998). Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος, οι κυτοκίνες εμφανίζουν τόσο πλειοτροπική όσο και πλεονάζουσα δράση κατά την μετάδοση των ανοσολογικών αντιδράσεων. Η αρχική φλεγμονώδης απόκριση πυροδοτείται από τις δράσεις των *IL6* και *TNFα*. Τα λευκοκύτταρα διεισδύουν στο σπερματικό πλάσμα και ενεργοποιούνται από την *IL6*. Καθώς αυξάνεται ο αριθμός των σπερματικών λευκοκυττάρων, προκαλούν οξειδωτικό στρες μέσω παραγωγής ROS. Ο *TNFα* είναι υπεύθυνος για επαγωγή της έκφρασης των χημειοκίνων και την απόπτωση των γεννητικών κυττάρων, επηρεάζοντας έτσι τη σπερματογένεση και την ανάπτυξη του σπέρματος. Η χημειοτακτική κίνηση των ουδετερόφιλων και η διείσδυση τους στους ανδρικούς αναπαραγωγικούς ιστούς (όπου και ξεκινούν τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης) είναι επαγόμενη από την *IL8*. (Saxena P. et al., 2019). Αναφέρονται πολλά ακόμα σημεία που οι κυτοκίνες εμπλέκονται στις παραμέτρους γονιμότητας των ανδρών. Αυτά περιλαμβάνουν ακόμα και την αναδιάρθρωση του του αιματοορχικού φραγμού από τη σχέση *IL1*, *IL2* και *IL6* (Fijak M. et al., 2017) με αποτέλεσμα περιπτώσεις δυσπερμίας καθώς διαπιστώνεται ότι συσχετίζεται αρνητικά με την παραγωγή *τεστοστερόνης* από το κύτταρα Leydig. Μπορεί επίσης να ενισχύσει την αρνητική ανάδραση της *τεστοστερόνης* σχετικά με την παραγωγή *ωχρινότροπου ορμόνης* από την πρόσθια υπόφυση (Sytziou V. et al., 2018) (An L.-F et al., 2015). Σε περιπτώσεις ανεξήγητης ανδρικής υπογονιμότητας έχει

παρατηρηθεί αύξηση της *IL4*. Υπάρχει αρνητική συσχέτιση των *IL17* και *IL18* με τον αριθμό των σπερματοζωαρίων και την κινητικότητα του σπέρματος. Αναφέρεται επίσης σχέση της *IL21* με την παραγωγή αντισπερμικών αντισώματα. (An L.-F et al., 2015). Τέλος διερευνάται ο ρόλος των ιντερφερόνων σε περιπτώσεις ανεξήγητης ανδρικής υπογονιμότητας. (Munoz M. & Witkin S. , 1995).

## ΠΡΟΣΤΑΤΙΤΙΔΑ

Η προστατίτιδα παραμένει η συνηθέστερη φλεγμονή του ανδρικού ουρογεννητικού συστήματος. Στην περίπτωση της οξείας και της χρόνιας βακτηριακής προστατίτιδας, οι παθογόνοι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν το σπέρμα είτε άμεσα (με βάση το στέλεχος του παθογόνου) είτε έμμεσα μέσω της ενεργοποίησης κυτοκινών όπως *IL-6*, *IL-8* ή *TNF-α* στην σπερματική οδό. Αυξημένα επίπεδα κυτοκινών συμβάλλουν στο OS το οποίο όχι μόνο επηρεάζει τα σπερματοζωάρια (Irez et al., 2020), αλλά δυνητικά μπορεί να προκαλέσει μια συστηματική αντίδραση μειώνοντας τα επίπεδα της *τεστοστερόνης* (T. Bhattarai et al., 2014). Εάν η λοίμωξη εξαπλωθεί στον όρχι τα αυξημένα επίπεδα *IL-6*, *IL-8* και *TNF-α* μπορεί επίσης να επηρεάσουν τη διέλευση του σπέρματος κατά τη διάρκεια της εκσπερμάτωσης, (P. Martínez et al., 2007). Το οξειδωτικό στρες συχνά επηρεάζει άμεσα το DNA του σπέρματος επηρεάζοντας τελικά την έκφραση του πατρικού γονιδιώματος στο έμβρυο. Η λοίμωξη του προστάτη και η φλεγμονή ενεργοποιούν λευκοκύτταρα που μπορούν να αυξήσουν τα ROS. Υψηλά επίπεδα αυτών εμφανίζονται έως και στο 35% των ανδρών που αναζητούν θεραπεία για υπογονιμότητα. Αυτά κυρίως οφείλονται κυρίως σε αθεράπευτη προστατίτιδα η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ολιγοζωοσπερμία, ασθενοζωοσπερμία ή και αζωοσπερμία. Η λοίμωξη που δεν έχει αντιμετωπιστεί ή που έχει αντιμετωπιστεί πλημμελώς μπορεί να προκαλέσει χρόνια ασθένεια η οποία και είναι πιο δύσκολα θεραπεύσιμη από την οξεία. Τέσσερα ειδικά αντιβιοτικά οι φθοροκινολόνες, τετρακυκλίνες, μακρολίδες και η τριμεθοπρίμη (μόνη ή σε συνδυασμό με σουλφαμεθοξαζόλη) έχουν θέση ως θεραπευτική επιλογή στην περίπτωση της βακτηριακής προστατίτιδας. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι τα αντιβιοτικά μπορούν να βελτιώσουν σημαντικά τις

παραμέτρους του σπέρματος καθώς και τα ποσοστά εγκυμοσύνης. Εάν η θεραπεία πρώτης γραμμής είναι αναποτελεσματική προτείνεται συνδυαστική θεραπεία για τους ασθενείς (Magri et al., 2007). Οι φθοροκινολόνες δημιουργούν χηλικά με κατιόντα όπως το αλουμίνιο, το μαγνήσιο, το ασβέστιο, ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος. Αυτή η αλληλεπίδραση μειώνει σημαντικά τις συγκεντρώσεις των φαρμάκων στους ιστούς-στόχους (Oliphant & Green., 2002). Τα επιθηλιακά κύτταρα του προστάτη μπορούν να παράγουν κυτταρικό ψευδάργυρο που είναι πολλές φορές υψηλότερος από τα περισσότερα άλλα κύτταρα των θηλαστικών. Η συσσώρευση ψευδαργύρου στον προστάτη μπορεί να εμποδίσει τις φθοροκινολόνες να επιτύχουν τη βέλτιστη αποτελεσματικότητά τους.

## **ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ ΚΑΙ ROS**

Η κίρσοκήλη είναι μια από τις κύριες αιτίες της υπογονιμότητας του άνδρα και προκαλείται από ανώμαλη διαστολή των φλεβών στο πεπτινοειδές πλέγμα που περιβάλλει το όσχεο (Agarwal et al., 2006). Η τελευταία συνδέεται με αυξημένα επίπεδα ROS, με μη φυσιολογικές παραμέτρους του σπέρματος (συγκέντρωση, κινητικότητα, ζωτικότητα και μορφολογία σπερματοζωαρίων) καθώς και βλάβης του DNA. Όσο μεγαλύτερη είναι η έκταση της κίρσοκήλης, τόσο υψηλότερα είναι τα επίπεδα παραγωγής ROS (Agarwal et al., 2012).

Η αλλαγή στην αιμοδυναμική αλλά και στο μικροπεριβάλλον του όρχι, που συνοδεύουν την κίρσοκήλη, μπορούν να δημιουργήσουν οξειδωτικό στρες. Αν και είναι γνωστό ότι το οξειδωτικό στρες στην κίρσοκήλη επηρεάζει αρνητικά τις παραμέτρους του σπέρματος δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα το αίτιο της αύξησης των οξειδωτικών επιπέδων. Πιθανώς η προσπάθεια της διατήρησης της σπερματογένεσης σε άνδρες με κίρσοκήλη να οδηγεί σε σπερματογενή δυσλειτουργία και τελικά να οδηγεί σε μεταβολή διαφόρων μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στη δημιουργία ελεύθερων ριζών (Agarwal, 2009). Με αυτόν τον τρόπο η αυξημένη παραγωγή ROS ή και η μειωμένη έκφραση αντιοξειδωτικών ενζύμων να προκαλεί υπεροξείδωση λιπιδίων, επηρεάζοντας τόσο τη βιωσιμότητα όσο και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων (Sikka et al., 1995). Η επίδραση της κίρσοκήλης στη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος ποικίλλει και εκτείνεται από τη

νορμοζωοσπερμία μέχρι την oligo-ασθενο- τερατοζωοσπερμία. Στα πρώτα στάδια οι παράμετροι του σπέρματος δεν επηρεάζονται αλλά προϊόντος του χρόνου όλες οι παράμετροι του σπέρματος μεταβάλλονται προς τα χειρίστα.

## ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ OS

Η παχυσαρκία είναι μια μεταβολική διαταραχή που επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες καθώς επίσης από τη σωματική δραστηριότητα και παράγοντες life style. Περίπου 1,9 δισεκατομμύρια του παγκόσμιου πληθυσμού είναι υπέρβαροι ( $\Delta\text{ΜΣ} > 25 \text{ kg/m}^2$ ) ή παχύσαρκοι ( $\Delta\text{ΜΣ} > 30 \text{ kg/m}^2$ ). Τα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα δείχνουν την αρνητική επίδραση της παχυσαρκίας στην αναπαραγωγική λειτουργία των ανδρών. Τα βασικά χαρακτηριστικά της ποιότητας του σπέρματος, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού των σπερματοζωαρίων και της κινητικότητάς τους, είναι χαμηλότερα σε παχύσαρκα ή υπέρβαρα άτομα ενώ η βλάβη του DNA είναι υψηλότερη σε σύγκριση με άτομα με φυσιολογικό  $\Delta\text{ΜΣ}$  (Soubry A et al., 2016). Η παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο υπογονιμότητας περισσότερο από 20% (Cui X et al., 2016). Μαζί με τη χρόνια φλεγμονή αυξάνει το μεταβολικό ρυθμό και τα ROS στον ιστό των όρχεων και του σπέρματος. Το OS στο σπέρμα και στους όρχεις έχει θετική συσχέτιση με την αύξηση του  $\Delta\text{ΜΣ}$  και της βλάβης του DNA του σπέρματος, και αρνητική συσχέτιση με μειωμένη κινητικότητα σπέρματος και ακροσωμική αντίδραση (Bakos H, 2011). Η θερμοκρασία των γονάδων σε παχύσαρκους άνδρες επηρεάζει αρνητικά τις παραμέτρους του σπέρματος. Η βέλτιστη θερμοκρασία της σπερματογένεσης στον άνθρωπο είναι 34 - 35 °C ενώ διαταράσσεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Σε παχύσαρκους άνδρες, το αυξημένο λίπος του οσχέου αυξάνει έμμεσα την εσωτερική θερμοκρασία των γονάδων (Garolla A et al., 2015). Η αύξηση αυτή της θερμότητας μπορεί να επιδεινώσει σημαντικά τη λειτουργία τους, μειώνοντας έτσι την κινητικότητα και συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων και αυξάνοντας τη βλάβη του πυρηνικού τους DNA (Du Plessis SS et al., 2010). Βρέθηκε πρόσφατα ότι το OS των όρχεων σε παχύσαρκους αρουραίους αυξάνει τα επίπεδα της *MDA* (*malondialdehyde*) και μειώνει τα επίπεδα της *SOD* (*Superoxide dismutase*). Η παχυσαρκία σχετίζεται με αύξηση των λιπαρών οξέων. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι ευαίσθητα σε προσβολές ROS, με αποτέλεσμα την μείωση της *SOD* μειώνεται και την

αύξηση της *MDA* με υπεροξειδωση. Ως εκ τούτου, οι μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της παχυσαρκίας μπορούν να μειώσουν τη γονιμότητα στους άνδρες λόγω αυξημένου OS (Jia Y-F et al., 2018).

Η κανονική λειτουργία του σπέρματος απαιτεί ισορροπία μεταξύ των επιπέδων ROS και των αντιοξειδωτικών. Απαιτείται η χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών, υγιεινού τρόπου ζωής, τακτικής άσκησης και σωστής διατροφής που οδηγεί στην απώλεια βάρους και σταδιακή μείωση του ΔΜΣ που βοηθά στη μείωση του OS και στην υγεία του σπέρματος (Adewoyin M et al., 2017).

## ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ROS

Οι πηγές ROS που δημιουργούν το οξειδωτικό στρες είναι πολλές και μπορεί να οφείλονται είτε σε εγγενείς είτε σε εξωγενείς παράγοντες. Ο κύριος εξωγενής παράγοντας είναι τα λευκοκύτταρα που εισέρχονται στο σπέρμα τη στιγμή της εκσπερμάτωσης από τους επικουρικούς αδένες. Η συσσώρευση των ουδετερόφιλων γίνεται με τη διαδικασία της επιστράτευσης (recruitment) (Ley K., 2002). Τα κύτταρα της φυσικής ανοσίας κυκλοφορούν στο αίμα κατά μήκος του ενδοθηλίου των αγγείων (π.χ. ηωσινόφιλα, ουδετερόφιλα) μέσω μη ισχυρών δεσμών με *σελεκτίνες* (πρωτεΐνες προσκόλλησης των επιθηλιακών κυττάρων) του ενδοθηλίου, που δεν είναι ικανές να κρατήσουν σταθερά συνδεδεμένα τα κύτταρα υπερνικώντας την αιματική ροή. Στις θέσεις της φλεγμονής εκφράζονται χημοκίνες (*Eotaxin*, *RANTES*, *IL-8*) που παράγονται από τον προσβεβλημένο ιστό ή από άλλα κύτταρα φλεγμονής και οδηγούν στην έκφραση επιπλέον μορίων προσκόλλησης (*ICAM-114*), στο ενδοθήλιο και στο λευκοκύτταρο (*LFA-1*, *Mac-1*), γεγονός που συνεπάγεται την ισχυρή σύνδεση (*binding*) του λευκοκυττάρου με το αγγειακό ενδοθήλιο και τέλος στη διαπίδυση του στον ιστό.

Τα ουδετερόφιλα μεταναστεύουν με τη βοήθεια μιας κλιμακωτής συγκέντρωσης χημοκινών στην ακριβή θέση του παθογόνου και είναι τα πρώτα κύτταρα που εμφανίζονται σε θέσεις ιστικής βλάβης ή λοίμωξης. Καταστρέφουν τα παθογόνα κυρίως μέσω της φαγοκυττάρωσης. Φέρουν *υποδοχείς αναγνώρισης δομών*

(*PRRs*) και υποδοχείς συμπληρώματος. Εκκρίνουν πληθώρα ενζύμων όπως *λυσοζύμη*, *πρωτεάσες*, *υπεροξειδίο υδρογόνου* κ.α. που καταστρέφουν τα παθογόνα αλλά προκαλούν επίσης ιστική βλάβη. Η πλειονότητα των λευκοκυττάρων που εισέρχονται στο σπέρμα είναι τα ουδετερόφιλα, τα οποία είναι σε ενεργοποιημένη κατάσταση που δημιουργεί ελεύθερες ρίζες. Οι τελευταίες δεν είναι απλά παραπροϊόντα του αερόβιου μεταβολισμού αλλά η παραγωγή τους μπορεί να γίνει μέσω ενός βιοχημικού μηχανισμού, από εξειδικευμένα ένζυμα, τις *οξειδάσες NOX (NADPH-oxidase)* και *DUOX (dual-oxidase)*. Με αυτό τον τρόπο εκδηλώνεται η φυσική ανοσία, ενεργοποιούνται συγκεκριμένες σηματοδοτικές λειτουργίες καθώς και η βιοσύνθεση συγκεκριμένων ορμονών.

Τα φαγοκύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (ουδετερόφιλα και μακροφάγα) όταν έρθουν σε επαφή με μικρόβια, αυξάνουν εκρηκτικά την κατανάλωση οξυγόνου (Victor M et al., 2004). Η αύξηση της κατανάλωσης οξυγόνου δεν αναστέλλεται παρουσία κυανίου (αναστέλλει την αναπνευστική αλυσίδα στα μιτοχόνδρια) γεγονός που υποδεικνύει ότι υπάρχουν και άλλα ένζυμα στα φαγοκύτταρα, εκτός από αυτά των μιτοχονδρίων, που καταναλώνουν οξυγόνο. Αποτέλεσμα αυτού υπήρξε η ανεύρεση της φαγοκυτταρικής *NADPH-οξειδάσης* στην οποία οφείλεται η μεγάλη παραγωγή  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  και  $HOCl$  στο φαγόσωμα για την καταστροφή των παθογόνων. Η παρουσία των λευκοκυττάρων πιστεύεται ότι αντικατοπτρίζει μια υποκείμενη λοίμωξη του ουρογεννητικού σωλήνα (Aitken RJ & Baker MA., 2013) (Fraczek M, 2015) αν και θα μπορούσαν επίσης να εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες όπως τραύμα, χειρουργική επέμβαση ή και αυτοανοσία.

Συνοπτικά μπορούμε να πούμε ότι : Η φλεγμονή είναι η φυσική απόκριση του ξενιστή σε μικροβιακή προσβολή ή βλάβη στους ιστούς που τελικά οδηγεί σε αρτηριακή αναγέννηση και βελτίωση της λειτουργίας του (Adewoyin M et al., 2015). Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα του ανοσοποιητικού που παρουσιάζονται στην περιοχή της λοίμωξης τα μακροφάγα επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη απόκριση. Τα τελευταία και άλλα διεγερμένα φλεγμονώδη κύτταρα εκκρίνουν μεγάλη ποσότητα προσταγλανδίνης *E2 (PGE2)*, *κυτοκίνων* και *NO*. Η φλεγμονή επηρεάζει τη στερογένεση και τη σπερματογένεση. Κατά τη φλεγμονώδη αντίδραση, υπάρχει σημαντική μείωση των επιπέδων *τεστοστερόνης* και *ωχρινότροπου ορμόνης* στο αίμα (Sarkar O et al., 2011). Η φλεγμονή περιορίζει δραστικά τη

σπερματογένεση και αναστέλλει τη διαδικασία ωρίμανσης του σπέρματος. Τα σπερματοκύτταρα και οι σπερματίδες είναι οι κύριοι στόχοι της φλεγμονής. Η επιδιδυμίδα επηρεάζεται επίσης από τις φλεγμονώδεις προσβολές των όρχεων. Η φλεγμονώδης απόκριση έχει ως αποτέλεσμα λευκοκύτταρα να διεισδύσουν στο σπέρμα και να εκκρίνουν αντισπερμικά αντισώματα τα οποία με τη σειρά τους μειώνουν το λιπιδιακό στρώμα της κυτταρικής μεμβράνης, απειλώντας την δομική της ακεραιότητα. Με αυτό τον τρόπο τροποποιείται η δομή της ουράς των σπερματοζωαρίων οδηγώντας τελικά σε μείωση της κινητικότητας του σπέρματος και ασθενοζωοσπερμία. Διαδικασίες ωρίμανσης όπως ακροσωμική αντίδραση, η ενεργοποίηση του σπέρματος και η γονιμοποίηση των ωαρίων αντιμετωπίζουν προβλήματα (Liew SH et al., 2007). Τα στοιχεία δείχνουν ότι η συσχέτιση μεταξύ φλεγμονής και OS είναι πολύ υψηλή στο σπέρμα. Το σπέρμα των υπογόνιμων ανδρών έχει ROS καθώς και υψηλά επίπεδα προφλεγμονωδών παραγόντων και κυτοκινών. Παρά το γεγονός ότι ορισμένοι εξωτερικοί παθογόνοι παράγοντες όπως τα βακτήρια μπορεί να παράγουν ROS, τα λευκοκύτταρα είναι οι σημαντικότερες πηγές ROS στο σπέρμα (Pasqualotto FF et al., 2000). Υπάρχουν άμεσοι και έμμεσοι τρόποι αύξησης του επιπέδου ROS από τα λευκοκύτταρα. Τα λευκοκύτταρα αυξάνουν έμμεσα τα επίπεδα ROS παράγοντας προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Οι κυτοκίνες είναι πρωτεΐνες που δρουν ως σηματοδοτικά μόρια για τη ρύθμιση των κυτταρικών αποκρίσεων όπως η φλεγμονή. Αυτές οι πρωτεΐνες ενεργοποιούν το μεταβολικό μονοπάτι της οξειδάσης της ξανθίνης (μεταβολισμός των πουρινών) και αυξάνουν τα επίπεδα ROS και δημιουργούν OS.

Από την άλλη πλευρά τα ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα ξεκινώντας τη διαδικασία φαγοκυττάρωσης, παράγουν υψηλά επίπεδα ROS τα οποία αντιδρούν με τη μεμβράνη των σπερματοζωαρίων και αυξάνει την αναλογία οξειδωτικών προς αντιοξειδωτικά. Το OS που προκαλείται από αυτές τις καταστάσεις συνεχίζεται ακόμη και μετά την εξάλειψη των παθογόνων (Sarkar O et al., 2011). Μελέτες δείχνουν ότι η αύξηση του *TNF-α* του σπέρματος σχετίζεται με μειωμένο αριθμό, κινητικότητα και μορφολογία σπέρματος. Αυξημένα επίπεδα κυτοκινών στο σπέρμα, λόγω της προαγωγής και της διαφοροποίησης των β-κυττάρων, οδηγούν σε πολλαπλασιασμό των T κυττάρων και των κυττάρων φυσικών φονιάδων (NK) και προκαλούν απόπτωση. Η *IL-1α* και η *IL-1β* προκαλούν επίσης απόπτωση μέσω του πολλαπλασιασμού και

της διαφοροποίησης των β-κυττάρων, τη χημιοτακτική κίνηση των λευκοκυττάρων σε θέση φλεγμονής, την επαγωγή ουδετερόφιλων και την παραγωγή μονοκυττάρων. Οι κυτοκίνες αυτές επηρεάζουν επίσης αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος. Μελέτη δείχνει ότι τα αυξημένα επίπεδα *IL-1b* σχετίζονται με μειωμένη κινητικότητα σπέρματος (Zamani-Badi T et al., 2019). Όλα αυτά τα αποτελέσματα συνοδεύονται από ταυτόχρονη αύξηση των επιπέδων ROS. Συγκεντρώσεις κυτοκινών, οι οποίες δρουν ως ανοσορυθμιστικά στοιχεία για τις γονάδες, αυξάνονται μετά από μόλυνση και βλάβη στον ιστό ορχικό ιστό. Η συμμετοχή αυτών των κυτοκινών στη φλεγμονή έχει άμεση σχέση με τη λευκοκυτταροσπερμία. Σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, τα λευκά αιμοσφαίρια στο σπέρμα διεισδύουν στη θέση της φλεγμονής. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα λευκοκύτταρα εμποδίζονται να μεταβούν στο κέντρο του σπερματικού πόρου αλλά σε φλεγμονώδεις περιοχές, οι αρτηρίες που τροφοδοτούν τους όρχεις διαστέλλονται και επιτρέπουν στα λευκοκύτταρα να βγουν από το αγγειακό ενδοθήλιο. Εκτός από αυτές τις αλλαγές, η αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων οδηγεί στη συσσώρευση υγρών ακολουθούμενη από οίδημα, πόνο και συσσώρευση ανοσοσφαιρινών και άλλων πρωτεϊνών στο αναπαραγωγικό σύστημα. Η διαπίδυση των λευκοκυττάρων από το σπερματικό πόρο εξαρτάται από το σύνολο των βιοχημικών αλλαγών που ενεργοποιούνται από την απελευθέρωση των μεταβιβαστών της φλεγμονής. Επομένως, η φλεγμονή προκαλεί την συγκέντρωση φαγοκυττάρων στη θέση του τραυματισμού. Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα από τον *TNP-α* παράγουν ρίζες οξυγόνου και NO και απελευθερώνουν το περιεχόμενο των κοκκίων τους συμβάλλοντας με αυτό τον τρόπο στην άμυνα του ξενιστή αλλά και την τοπική καταστροφή των ιστών. Δεδομένου ότι η ανδρική υπογονιμότητα προκαλείται συχνά από μόλυνση ή βλάβη στους όρχεις η φλεγμονώδης απόκριση στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα ασκεί αρνητική επίδραση στην ποιότητα και τη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος.

Εφόσον ο αριθμός των λευκοκυττάρων είναι σχετικά χαμηλός (λιγότερο από το όριο του  $10^6/\text{ml}$ ), τα ROS που παράγονται από τη διήθηση των λευκοκυττάρων δεν επηρεάζει τη λειτουργικότητα των σπερματοζωαρίων γιατί προστατεύονται επαρκώς από τα ισχυρά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο σπερματικό πλάσμα (Aitken RJ et al., 1994). Εάν όμως ο αριθμός των λευκοκυττάρων υπερβούν αυτό το όριο τότε επικρατεί μια κατάσταση οξειδωτικού στρες και η γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος



επηρεάζεται (Saleh RA et al., 2002). Αξίζει να σημειωθεί ότι σε διαδικασίες υποβοηθούμενες αναπαραγωγής εάν στο επεξεργασμένο σπέρμα εξακολουθούν να υπάρχουν λευκοκύτταρα τότε θα δημιουργηθεί και πάλι σημαντικό οξειδωτικό στρες λόγω της απουσίας αντιοξειδωτικής προστασίας από τα συμβατικά καλλιεργητικά μέσα IVF. Η ύπαρξη χαμηλού επιπέδου μόλυνσης λευκοκυττάρων, σε επεξεργασμένα εναιωρήματα ανθρώπινου σπέρματος, είναι ένα σημαντικό ζήτημα για τη θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης επειδή επηρεάζει αρνητικά τα ποσοστά γονιμοποίησης (Sukcharoen N et al., 1995). Το πρόβλημα μπορεί να αντιμετωπιστεί μέσω της ενσωμάτωσης αντιοξειδωτικών όπως N-ακετυλοκυστεΐνης στο μέσο καλλιέργειας (Baker HW et al., 1996) ή και μέσω της επιλεκτικής απομάκρυνσης λευκοκυττάρων χρησιμοποιώντας μαγνητικά σωματίδια επικαλυμμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του κοινού αντιγόνου λευκοκυττάρων (Aitken RJ, et al., 1996). Τέτοιοι χειρισμοί μειώνουν αποτελεσματικά τα επίπεδα οξειδωτικού στρες στα εναιωρήματα σπέρματος και αυξάνουν σημαντικά τα ποσοστά γονιμοποίησης.

## **ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ROS**

Τα ROS σε μικρές - ελεγχόμενες συγκεντρώσεις είναι απαραίτητα για την για τη ενεργοποίηση του σπέρματος, την ακροσωμική αντίδραση και την γονιμοποίηση (Agarwal et al., 2014 ) (Saleh & Agarwal, 2002). Η περίσσεια δραστικών ριζών οξυγόνου είναι επιζήμια για τη λειτουργικότητα των σπερματοζωαρίων γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε αντρική υπογονιμότητα (Agarwal A et al., 2014 ). Στο αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα οι βασικές ενδογενείς πηγές ROS είναι τα λευκά αιμοσφαίρια, τα σπερματοζωάρια και η κρισοκήλη (Agarwal A et al., 2014 ).

Εκτός από την ύπαρξη των λευκοκυττάρων, η πλειονότητα των ROS που επηρεάζουν τη λειτουργία του σπέρματος δημιουργούνται ενδογενώς μέσω μιας ποικιλίας οδών, ως απόκριση σε μια σειρά διαφορετικών ερεθισμάτων (Victor M et al., 2004 ). Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι τα επίπεδα ROS που δημιουργούνται από τα σπερματοζωάρια είναι τάξεις μεγέθους χαμηλότερα από τα παραγόμενα από τα λευκοκύτταρα (Armstrong JS et al., 2002). Η χρήση κυτταρομετρίας ροής είναι μια ιδιαίτερα χρήσιμη τεχνική για την παρακολούθηση της παραγωγής σπερματικών ROS

αφού επιτρέπει τον διαχωρισμό των σπερματοζωαρίων από άλλους τύπους κυττάρων και απλοποιεί την ερμηνεία των δεδομένων.

Έχει συζητηθεί εκτενώς το ποια ROS είναι το πιο σημαντικό στον προσδιορισμό της λειτουργίας του σπέρματος, το υπεροξειδίο του υδρογόνου (de Lamirande & Gagnon C, 1995) (Sakamoto T & Imai H., 2017) το μονοξειδίου του αζώτου (Herrero MB et al., 2003) ή του ανιόντος υπεροξειδίου (Herrero MB et al., 2001). Στην πραγματικότητα, όλα αυτά τα είδη οξειδωτικών και ελευθέρων ριζών είναι τόσο δραστικά που συνεχώς αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους και συμβάλλουν στο οξειδωτικό στρες. Είναι αμφίβολο αν κάποιο από αυτά είναι πιο ισχυρό.

Η *NADPH* οξειδάση είναι το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την οξειδωτική έκρηξη στα λευκοκύτταρα. Αρκετοί συγγραφείς (Miraglia E et al., 2010) έχουν προτείνει ότι τα σπερματοζωάρια δημιουργούν ROS μέσω τέτοιων ενζύμων. Το 2002, οι Banfi et al. (Bánfi B et al., 2001) περιέγραψε την ύπαρξη μιας *NADPH* οξειδάσης της *NOX5* σε διάφορους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων. Οι Musset et al. στη συνέχεια επιβεβαίωσε ανοσοχημικά ότι αυτή η οξειδάση υπήρχε στον αυχένα και στο ακρόσωμα και παράγει ανιόν υπεροξειδίου κάτω από τη ρύθμιση του ασβεστίου (Musset B et al., 2012). Αναγνώρισαν επίσης το *cAbl* ως κινάση της τυροσίνης που σχετίζεται με την ενεργοποίηση αυτής της οξειδάσης. Βρέθηκε ότι η έκθεση σε υπεροξειδίο του υδρογόνου ενεργοποιεί την παραγωγή ROS από την *NOX5*. Αυτά τα ευρήματα εξηγούν γιατί αρκετοί συγγραφείς (du Plessis SS et al., 2010) (Mahfouz RZ et al., 2010) διαπίστωσαν ότι η αυξημένη παραγωγή ROS σε ανθρώπινα σπερματοζωάρια μπορεί να προκληθεί από παροδική έκθεση σε οξειδωτικό παράγοντα όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η παραγωγή ROS είναι γνωστό ότι σχετίζεται με τη φωσφορυλίωση της τυροσίνης στα σπερματοζωάρια των θηλαστικών μέσω της καταστολής της φωσφατάσης της τυροσίνης και της ενεργοποίησης της αδενυλκυκλάσης (Rivlin J et al., 2004). Το *cAMP*, με τη σειρά του, είναι γνωστό ότι ενεργοποιεί το *cAbl* στα σπερματοζωάρια (Baker MA et al., 2009), και αυτή η κινάση στη συνέχεια ενεργοποιεί το *NOX5* οδηγώντας σε ακόμη μεγαλύτερη παραγωγή ROS.

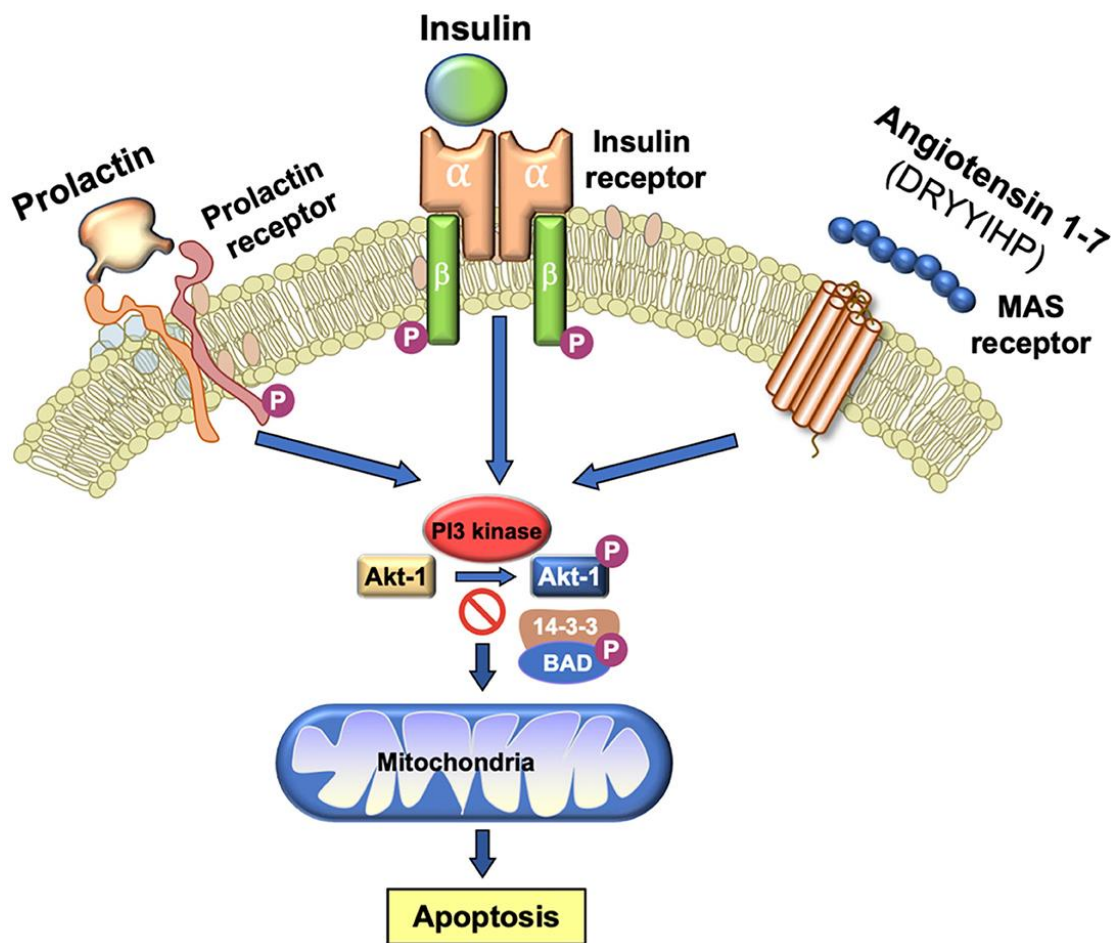
Η κλινική σημασία της *NOX5* υποδεικνύεται από το υψηλό επίπεδο συγκέντρωσης της στα σπερματοζωάρια ασθενοζωοσπερμικών ασθενών στους οποίους επίσης παρατηρήθηκαν αύξηση της παραγωγής υπεροξειδίου και οξειδίου του

υδρογόνου και αυξημένες βλάβες στο σπερματικό DNA (Vatannejad A et al., 2019). Η έκφραση της *NOX5* έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι αυξημένη σε περιπτώσεις τερατοζωοσπερμίας (Ghani E et al., 2013). Έτσι, είναι πιθανό ότι η *NOX5* είναι ένας βασικός ρυθμιστής της λειτουργίας του σπέρματος καθώς και ένας πιθανός μεσολαβητής του οξειδωτικού στρες και της παθολογίας του σπέρματος. Παρά ταύτα δεν γνωρίζουμε ακόμη γιατί η δραστηριότητα της *NOX5* είναι αυξημένη στα σπερματοζώαρια στείρων ανδρών (χωρίς σπερματοζώαρια). Επίσης, δεν καταλαβαίνουμε πώς τα σπερματοζώαρια ποντικού εμφανίζουν την ίδια σχέση μεταξύ *cAMP* και παραγωγής ROS (Ecroyd HW et al., 2003) αλλά δεν διαθέτουν *NOX5*. Πιθανώς σε αυτό το είδος να είναι ενεργές άλλες οξειδάσες.

## ΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ ΩΣ ΠΗΓΗ ROS

Μία από τις κύριες πηγές ανιόντων υπεροξειδίου, εντός των σπερματοζωαρίων, είναι τα μιτοχόνδρια (Koppers AJ et al., 2008). Τα οργανίδια αυτά παράγουν ROS ως υποπροϊόν του αερόβιου μεταβολισμού, λόγω της διαρροής ηλεκτρονίων από την αλυσίδα μεταφοράς τους, τα οποία στη συνέχεια απορροφώνται από το οξυγόνο (δέκτη ηλεκτρονίων) με τελικό αποτέλεσμα δημιουργία ανιόντος υπεροξειδίου. Τα μιτοχονδριακά ROS παράγονται επίσης ως μέρος του εσωτερικού αποπτωτικού καταρράκτη που ενεργοποιείται κάθε φορά που διακυβεύεται το μονοπάτι σηματοδότησης της κινάσης του 3-φωσφοϊνοσιτιδίου (Koppers AJ et al., 2011). Υπό φυσιολογικές συνθήκες, μια ποικιλία παραγόντων όπως η *ινσουλίνη*, η *προλακτίνη* ή η *αγγειοτενσίνη* (Valdivia A et al., 2020) διεγείρουν τη φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση της *φωσφοϊνοσιτιδης-3 κινάσης (PI3K)*. Η τελευταία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει μια άλλη κινάση, την *AKT1*. Η φωσφορυλιωμένη *AKT1* με τη σειρά της φωσφορυλιώνει τη *BAD* η οποία, παραμένει δεσμευμένη στην *14-3-3 πρωτεΐνη*. Εάν αυτό το σύστημα διαταραχθεί η *PI3* κινάση αποφωσφορυλιώνεται με τη σειρά του ο *BAD* αποφωσφορυλιώνεται και αποδεσμεύεται από την *14-3-3 πρωτεΐνη* και μετακινείται στα μιτοχόνδρια όπου σχηματίζει ετεροδιμερή με τα *Bcl-2* και *Bcl-xL*, απενεργοποιώντας αυτούς τους ρυθμιστές και την κυτταρική απόπτωση μέσω των

γονιδίων Bax /Bak. Η φωσφορυλίωση της κινάσης *PI3* είναι επομένως απαραίτητη για την επιβίωση του σπέρματος. (Εικόνα 7) (Koppers AJ et al., 2011).



**Εικόνα 7:** Η σημασία της κινάσης *PI3* στη διατήρηση της βιωσιμότητας του σπέρματος (Aitken R, Baker R., 2020)

Η δημιουργία μιτοχονδριακών ROS και η απόπτωση μπορεί επίσης να επηρεάσουν τους μηχανισμούς της γήρανσης του σπέρματος. Όλα τα σπερματοζώαρια των θηλαστικών έχουν πεπερασμένη διάρκεια ζωής. Είτε *in vivo* είτε *in vitro* μετά από λίγες μέρες (ανάλογα με το είδος) τα σπερματοζώαρια χάνουν τη ζωτικότητα, την κινητικότητα και την ακεραιότητα του DNA τους (Matsuura R et al., 2010). Το οξειδωτικό στρες φαίνεται να είναι ένας παράγοντας γήρανσης. Αυτό πιστοποιείται από το γεγονός ότι η κινητικότητα του σπέρματος και η ακεραιότητα του DNA μπορούν να βελτιωθούν σημαντικά *in vitro* εάν μειωθούν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ή και προσθέσουν αντιοξειδωτικά στο καλλιεργητικό μέσο (Chi HJ et al., 2008) (Aitken RJ et al., 2012). Αντιοξειδωτικά που στοχεύουν στα μιτοχονδριακά ROS όπως το

συνένζυμο *Q10*, η *N*-ακετυλοκυστεΐνη και η πενικιλλαμίνη έχουν βρεθεί ότι διατηρούν την κινητικότητα του σπέρματος *in vitro* (Aitken RJ et al., 2012) (Liu T et al., 2019).

Ομοίως, θεραπείες που εμποδίζουν την οξειδωτική φωσφορύλιωση στα μιτοχόνδρια, όπως η έκθεση σε *ροσιγλιταζόνη*, μειώνουν τη δημιουργία μιτοχονδριακών ROS και επιτρέπουν στα σπερματοζωάρια να διατηρήσουν υψηλά επίπεδα κινητικότητας *in vitro* για τουλάχιστον 6 ημέρες (Swegen A et al., 2016). Ωστόσο, δεν έχουν διευκρινιστεί ποιοι άλλοι παράγοντες εμπλέκονται στην *in vitro* γήρανση του σπέρματος.

Τα μιτοχονδριακά ROS μπορούν επίσης να προκληθούν από μια σειρά αμφίφιλων ενώσεων συμπεριλαμβανομένων των ακόρεστων *cis* λιπαρών οξέων. Η πολική φύση αυτών των ενώσεων ευνοούν την ενσωμάτωσή τους στις μιτοχονδριακές μεμβράνες, μεταβάλλοντας τη ρευστότητα τους και διευκολύνοντας τη διαρροή ηλεκτρονίων (Aitken RJ et al., 2006). Τα μιτοχονδριακά ROS μπορούν επίσης να διεγερθούν από τοξικές ενώσεις που μπορούν να διαταράξουν τη ροή ηλεκτρονίων κατά μήκος της μιτοχονδριακής αλυσίδας ηλεκτρονίων. Για παράδειγμα, το κοινό συντηρητικό *parabens* (ένα μείγμα *παραβενζοϊκών εστέρων*), έχει αποδειχθεί ότι διεγείρει τα μιτοχονδριακά ROS στα σπερματοζωάρια (Samarasinghe SVAC et al., 2018). Παρομοίως η *διφαινόλη Α* διεγείρει τη δημιουργία μιτοχονδριακών ROS από μιτοχόνδρια ανθρώπινου σπέρματος (Barbonetti A et al., 2016) όπως και ορισμένες *πολυφαινόλες*, πολλές από τις οποίες παραδοσιακά θεωρούνται αντιοξειδωτικά (Aitken RJ et al., 2016).

Η κρυοσυντήρηση των σπερματοζωαρίων είναι μια άλλη κατάσταση στην οποία η λειτουργία του σπέρματος εν μέρει επηρεάζεται από το οξειδωτικό στρες που δημιουργείται, από την αυξημένη παραγωγή μιτοχονδριακών ROS. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών, που πραγματοποιήθηκαν σε μια σειρά διαφορετικών ειδών, εξέτασαν την επίδραση των αντιοξειδωτικών στη λειτουργικότητα του σπέρματος μετά την απόψυξη. Αντιοξειδωτικά όπως η *L*-καρνιτίνη αποδείχθηκαν πολύ αποτελεσματικά (Fu LL et al., 2018). Απαιτείται συστηματική σύγκριση αντιοξειδωτικών που στοχεύουν στα μιτοχόνδρια, για να προσδιοριστεί η βέλτιστη σύνθεση για την προστασία των σπερματοζωαρίων κατά την κρυοσυντήρηση.

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ραδιοσυχνοτήτων είναι ένας άλλος παράγοντας που πιστεύεται ότι αυξάνει τη δημιουργία μιτοχονδριακών ROS σε σπερματοζώαρια θηλαστικών είναι (RFEMR) (Houston BJ et al., 2016). Η RFMR προκαλεί διαρροή ηλεκτρονίων από την μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, και έτσι προάγει τη δημιουργία ανιόντων υπεροξειδίων (Santini SJ et al., 2018). Η παραγωγή μιτοχονδριακών ROS που ενεργοποιείται από το RFEMR, με τη σειρά της, έχει συσχετιστεί με την μείωση της κινητικότητας του σπέρματος, την απώλεια τοπικής αντιοξειδωτικής προστασίας, την αύξηση της οξειδωτικής βλάβης του σπερματικού DNA και την πρόκληση απόπτωσης, τόσο in vivo όσο και in vitro (Liu Q et al., 2015) (Gautam R et al., 2019).

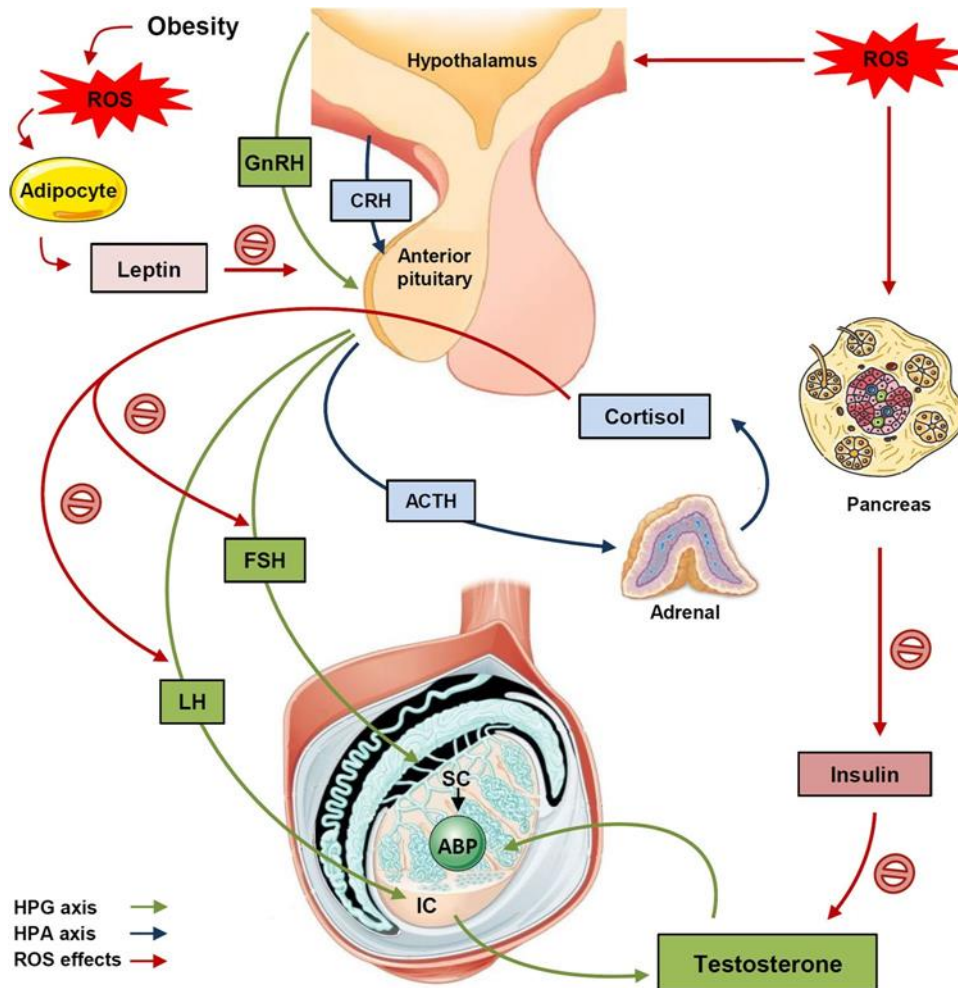
Η in vitro έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με τη μορφή UVB προκαλεί επίσης τη δημιουργία μιτοχονδριακών ROS σε ανθρώπινα σπερματοζώαρια, όπως και η in vitro έκθεση αυτών των κυττάρων σε θερμοκρασίες άνω των 40°C. Το ήπιο θερμικό στρες (35°C) έχει επίσης βρεθεί ότι ενεργοποιεί την παραγωγή μιτοχονδριακών ROS in vivo, με τις σπερματίδες να είναι ιδιαίτερα ευάλωτες σε αυτή τη μορφή στρες (Santini SJ et al., 2018).

## Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΙΣ ΑΝΔΡΙΚΕΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ

Το OS των όρχεων μπορεί να προξενήσει βλάβη στα κύτταρα Leydig και σε άλλες ενδοκρινικές δομές όπως η πρόσθια υπόφυση και να οδηγήσει σε μείωση της παραγωγή τεστοστερόνης (Turner TT et al., 2005). Κατά τη φυσιολογική στερογένεση, τα ROS παράγονται κυρίως από τη μιτοχονδριακή αναπνοή και την καταλυτική δράση του κυτοχρώματος *P450* (Hanukoglu I, 2006). Το OS αυξάνει τον αριθμό των ανώριμων σπερματοζωαρίων μέσω έμμεσων επιδράσεων στις ορμόνες του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης. Οι ορμόνες του αναπαραγωγικού συστήματος (*FSH*, *LH*, τεστοστερόνη, *E2*, *PRL*) επηρεάζουν τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (Mancini A et al., 2008). Ορισμένες ορμόνες όπως η τεστοστερόνη και η μελατονίνη δρουν ως αντιοξειδωτικά και προστατεύουν τα σπερματοζωάρια και άλλα κύτταρα από βλάβες από ROS (Shang X et al., 2004). Ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) ενεργοποιείται από την παραγωγή ROS και η κορτιζόλη απελευθερώνεται σε απόκριση στο στρες. Αυτή η ορμονική αρνητική ανάδραση επηρεάζει αρνητικά τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ των αξόνων υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων (HPG) και υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίου (HPA), και μειώνει την έκκριση των ορμονών *LH* και *FSH*. Ως αποτέλεσμα των χαμηλών επιπέδων της *LH* δεν μπορεί να διεγείρει τα κύτταρα Leydig να εκκρίνουν τεστοστερόνη.

Περαιτέρω μείωση της *FSH* μειώνει την απελευθέρωση της πρωτεΐνης δέσμησης ανδρογόνων (*ABP*) στα κύτταρα sertoli. Ως εκ τούτου, μια γενική μείωση του επιπέδου της τεστοστερόνης εμφανίζεται κατά τη διάρκεια του OS. Τα ROS επηρεάζουν επίσης τον άξονα υποθάλαμο – υπόφυση - θυρεοειδής (HPT) και μειώνει τις εκκρίσεις των *T3* και *T4*. Η χαμηλή *T3* μειώνει τα επίπεδα *mRNA StAR* στα κύτταρα Leydig και μειώνει την παραγωγή τεστοστερόνης. Το OS μειώνει επίσης την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας και επηρεάζει αρνητικά την έκκριση της *T3*, επηρεάζοντας έτσι τη βιοσύνθεση της τεστοστερόνης. Καταστάσεις όπως η παχυσαρκία δεν περιλαμβάνουν μόνο τους άξονες HPA και HPT, αλλά επίσης προκαλούν την έκκριση

ή τη μη έκκριση αρκετών μεταβολικών ορμονών που επηρεάζουν την παραγωγή ROS στο αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα.



**Εικόνα 8:** Επίδραση του οξειδωτικού στρες στην παραγωγή τεστοστερόνης (E. Barati et al. 2019)

Τα ROS, λόγω παχυσαρκίας, μπορεί να αναγκάσουν τα λιποκύτταρα να εκκρίνουν περισσότερη λεπτίνη. Αυτή η ορμόνη μαζί με την ινσουλίνη ρυθμίζει αρνητικά την έκκριση της *T3* και έτσι αναστέλλει την απόδοση των όρχεων. Η εκκρινόμενη λεπτίνη από τα λιποκύτταρα αναστέλλει την έκκριση της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (*GnRH*) από τον υποθάλαμο. Η δραστηριότητα της αρωματάσης αυξάνει μετά από την έκθεση σε ROS, με αποτέλεσμα την υπερβολική



παραγωγή *E2* από τους όρχεις. Το OS ευοδώνει επίσης την έκκριση των ανασταλτικών ορμονών όπως της *E2* με τελικό αποτέλεσμα την αναστολή της έκκρισης της *τεστοστερόνης*. Η έκθεση σε ROS επίσης αυξάνει την έκκριση *PRL* από την πρόσθια υπόφυση η οποία οδηγεί σε μείωση της έκκρισης της *GnRH*. Η μόλυνση των γεννητικών οδών μπορεί να παράγει μερικές προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως ο *παράγοντας νέκρωσης όγκου άλφα (TNF-α)*, *ιντερλευκίνη (IL-1b, IL-6)* αναστέλλοντας έτσι την έκκριση των ορμονών *GnRH* και *τεστοστερόνης*. Επομένως, τα ROS μπορεί να μειώσουν την παραγωγή *τεστοστερόνης* επηρεάζοντας μόνο τον ορμονικό άξονα ή να οδηγήσουν σε αλληλεπίδραση μεταξύ διαφορετικών ενδοκρινών συστημάτων. Η μείωση της *τεστοστερόνης* διαταράσσει τη σπερματογένεση και παράγει ανώριμο σπέρμα. Η έλλειψη της, ως ο κύριος ρυθμιστής της ανδρικής αναπαραγωγικής συμπεριφοράς, μπορεί να οδηγήσει στην καταστολή της σεξουαλικής συμπεριφοράς των ανδρών. Επομένως, τα ROS οδηγούν σε ανδρική υπογονιμότητα διαταράσσοντας τη λειτουργία των ενδοκρινών αδένων του αναπαραγωγικού συστήματος (Εικόνα 8) (Darbandi M et al., 2018).

## **ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΣΕ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΚΑΙ ΛΙΠΙΔΙΑ**

Σημαντικά βιομόρια, όπως το DNA, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια, επηρεάζονται αρνητικά από το OS. Επίσης η επίδραση των ROS σε αυτά τα μόρια οδηγεί σε περαιτέρω παραγωγή ROS και τελικά καταλήγουμε σε ένα φαύλο, χωρίς έλεγχο κύκλο, με τελικό αποτέλεσμα την καταστροφή του κυττάρου.

Η οξείδωση των πρωτεϊνών δημιουργεί αντιστρεπτές δισουλφιδικές γέφυρες αλλάζοντας, με αυτό τον τρόπο, την τεταρτοταγή δομή τους με τελικό αντίκτυπο στην λειτουργία τους. Το ποσοστό της βλάβης μιας πρωτεΐνης εξαρτάται από τη θέση της σε σχέση με τον τόπο παραγωγής ROS καθώς επίσης από τη δομή και τη σύστασή της. Μερικά αμινοξέα όπως η ιστιδίνη, η κυστεΐνη, η τυροσίνη καθώς και η τρυπτοφάνη είναι πιο ευάλωτα στο οξειδωτικό στρες από άλλα. Σε γενικές γραμμές τα ROS δίνετε να επηρεάσουν τόσο τη δευτεροταγή όσο και την τριτοταγή δομή των πρωτεϊνών (SURAI , 2002) (DRÖGE , 2002).

Τα λιπίδια συμμετέχουν στην κατασκευή των κυτταρικών μεμβρανών, η καταστροφή τους μέσω του οξειδωτικού στρες επηρεάζει τόσο τη δομή όσο και τη

λειτουργία των μεμβρανών. Ειδικά τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (*PUFA*) είναι πολύ ευάλωτα στην οξειδωση συγκριτικά με τα κεκορεσμένα ή τα μονοακόρεστα. Η αναλογία των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στις μεμβράνες δύναιτε να επηρεάσει και το μέγεθος της οξειδωτικής καταστροφής τους (HULBERT AJ et al., 2007).

Η οξείδωση των λιπών μπορεί να έχει και άλλες συνέπειες, καθώς η υπεροξειδάση των λιπών εμπλέκεται σε πολλές ενδιάμεσες μεταβολικές αντιδράσεις και αυτό μπορεί να επηρεάσει τόσο τις πρωτεΐνες όσο και το DNA (KASTAN MB & BARTEK J. , 2004).

## ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ DNA

Όπως αναφέρθηκε το οξειδωτικό στρες και τα είδη δραστικού οξυγόνου (ROS) είναι αποτέλεσμα ενδογενών και εξωγενών παραγόντων που οδηγούν σε ελαττωματική σπερματογένεση και ανδρική υπογονιμότητα. Αντίρροπη δύναμη σε αυτή τη δράση έχουν τα αντιοξειδωτικά γονίδια, όπως καταλάση (*CAT*), υπεροξειδάση γλουταθειόνης (*GPX*), γλουταθειόνη *S*-τρανσφεράση (*GST*), συνθάση νιτρικού οξειδίου (*NOS*), και η δισμουτάση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (*SOD*). Γενετικές διαταραχές ή οι λειτουργικοί πολυμορφισμοί SNP (Single nucleotide polymorphisms) σε αυτά μπορεί να οδηγήσουν σε σπέρμα χαμηλής γονιμοποιητικής ικανότητας (ολιγο-ασθενοτορατοζωοσπερμία) (Πίνακας 1).

Η *παραοξονάση-1 (PON-1)*, ένα ένζυμο που έχει την ιδιότητα να εμποδίζει την οξείδωση των μορίων της *LDL* αλλά και της *HDL*. Η *PON-1* επιδρά σε διάφορα στάδια της σπερματογένεσης. Ο πολυμορφισμός της *PS662* μειώνει τη δραστηριότητα της και είναι ένας παράγοντας κινδύνου για την ανδρική υπογονιμότητα, πιθανώς λόγω μείωσης της αντιοξειδωτικής της δράσης οδηγεί σε υπεροξειδωση των λιπιδίων (Heidar Tavilani et al., 2014) (Πίνακας 1).

Η *δισμουτάση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (SOD2)* είναι ένα τετραμερές ένζυμο που περιέχει μαγγάνιο και καταλύει τις αντιδράσεις μετατροπής της δραστικής ρίζας του οξυγόνου ( $O_2^{\cdot}$ ) είτε προς μοριακό οξυγόνο ( $O_2$ ) είτε προς υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ). Βρίσκεται εντοπισμένη στα μιτοχόνδρια και τα προστατεύει από

τις βλαβερές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών. Το γονίδιο της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6 και οι δύο βασικοί πολυμορφισμοί του rs4880 και Ile58Thr καθώς και η παραλλαγή rs1799983 σχετίζονται με ανδρική υπογονιμότητα (Anaís García Rodríguez et al., 2019) (Faure C et al., 2014) (Πίνακας 1).

Το μονοξειδίο του αζώτου (NO) είναι ελεύθερη ρίζα αλλά και αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο (O<sub>2</sub>), καθώς επίσης με το υπεροξειδίο (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) οδηγώντας σε προϊόντα που έχουν ουσιαστική συμμετοχή στο μεταβολισμό και στο επίπεδο του οξειδωτικού στρες. Βρέθηκε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση του πολυμορφισμού (SNP) 4a/4b στο γονίδιο NOS3 με προβλήματα στο ανδρικό σπέρμα (ιδιοπαθής αζωοσπερμία και ολιγοασθενοζωοσπερμία) (N L J Vučić et al., 2018). Σε μια μελέτη (Mostafa T et al., 2015) βρέθηκε επίσης θετική συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών rs1799983, rs2070744 του OS και μιας τελικής υποβάθμισης των παραμέτρων του σπέρματος. Τέλος ο πολυμορφισμός rs1799983 φαίνεται ότι οδηγεί σε οξειδωτική βλάβη στο DNA του σπέρματος (Yan L et al., 2014) (Πίνακας 1),

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) καταλύει την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου και πολλών άλλων οργανικών υπεροξειδίων, προς νερό και προς τις αντίστοιχες σταθερές αλκοόλες χρησιμοποιώντας την κυτταρική γλουταθειόνη ως αναγωγικό μέσο. Σε μελέτη βρέθηκε ότι σε υγιή άτομα στο σπερματικό πλάσμα η δραστηριότητα της GPx είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από τη δραστηριότητα GPx που ανιχνεύεται στο σπερματικό πλάσμα υπογόνιμων ανδρών (Giannattasio A et al., 2002). Μελέτη που εξέτασε τις γενετικές παραλλαγές στο αντιοξειδωτικό γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο GPx έδειξε την πιθανή σχέση μεταξύ πολυμορφισμού GPx1 Pro198Leu σε ασθενείς χαμηλές παραμέτρους σπέρματος, αυξημένο OS αλλά και σε ασθενείς με ιδιοπαθή ανδρική υπογονιμότητα (Mazjin M & Mashayekhi F, Bahadori M, 2016) (Πίνακας 1).

Ο πολυμορφισμός rs1001179 στο γονίδιο της καταλάσης (Tefik T, et al., 2013) σχετίζεται επίσης με ανδρική υπογονιμότητα. Μελέτη σε καπνιστές συσχέτισε το κάπνισμα και τον πολυμορφισμό rs1052133 του γονιδίου της OGG1 (*8-oxoguanine DNA glycosylase 1* ένζυμο που «επισκευάζει» το κατεστραμμένο DNA) με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή υπογόνιμου σπέρματος (Ji G et al., 2013) (Πίνακας 1).

Οι τρανσφεράσες της γλουταθειόνης (*GSTs*) αποτελούν μια σημαντική οικογένεια ενζύμων και υπάρχουν σχεδόν σε όλους τους οργανισμούς (προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς) ως ισoenζυμα διαφορετικής εκλεκτικότητας. Συμμετέχουν στο μηχανισμό αποτοξίνωσης του κυττάρου, αδρανοποιώντας ενδογενείς ή εξωγενείς τοξικές ενώσεις, μέσω της δημιουργίας ομοιοπολικού δεσμού με την γλουταθειόνη. Τα σύμπλοκα που δημιουργούνται είναι λιγότερο τοξικά και πιο υδατοδιαλυτά, με αποτέλεσμα να απεκκρίνονται πιο εύκολα από τον οργανισμό. Ωστόσο ο ρόλος τους δε περιορίζονται μόνο στην αποτοξίνωση, αφού συμβάλλουν και σε άλλες λειτουργίες, όπως η μεταφορά και αποθήκευση διάφορων υδρόφοβων μορίων. Διάφοροι πολυμορφισμοί της οικογένειας των γονιδίων (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*) που τα κωδικοποιούν δείχνουν να επηρεάζουν την γονιμότητα των ανδρών. Έτσι άνδρες με γονότυπο *GSTM1*(-/-)/*GSTT1*(-/-) δείχνουν να εμφανίζουν προβλήματα στις παραμέτρους του σπέρματος τους (Kolesnikova L et al., 2017). Η παραλλαγή rs1695 σχετίζεται με ιδιοπαθή ανδρική υπογονιμότητα ενώ άτομα που φέρουν τον γονότυπο *GSTT1*-null και *GSTP1* (Ile/Val + Val/Val) πιθανώς να εμφανίζουν ιδιοπαθή αζωοσπερμία ή ολιγοζωοσπερμία (Xiong D-K et al., 2015). Τέλος άνδρες με ομόζυγες και ετερόζυγες παραλλαγές των γονότυπων *GSTP1* (rs1138272, rs1695) και *NAT2*, *N-Acetyltransferase-2*, (rs1799929, rs1799930) έχουν αυξημένο κίνδυνο υπογονιμότητας (Trang NT et al., 20178) (Πίνακας 1).

Την τελευταία δεκαετία, έχει καταστεί σαφές ότι τόσο η γενετική όσο και το οξειδωτικό στρες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ποιότητας του σπέρματος. Το οξειδωτικό στρες στο ανδρικό γεννητικό σύστημα μπορεί να οφείλεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής αλλά και κλινικούς παράγοντες όπως το κάπνισμα, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (συμπεριλαμβανομένης της θερμότητας), η παχυσαρκία, ενός μεγάλου αριθμού τοξικών ουσιών (*φθαλικοί εστέρες*, *διφαινόλη Α*), της κίρσοκλήλης, της μόλυνσης και της αυτοανοσίας (Εικόνα 9 και 10)

Το υπογόνιμο σπέρμα εμφανίζει συνήθως υψηλό επίπεδο βλάβης στο DNA των σπερματοζωαρίων (Aitken RJ & Curry BJ, 2011). Αναμφίβολα, παράγοντες που αυξάνουν τα επίπεδα ROS μπορούν να επηρεάσουν την ακεραιότητα της χρωματίνης του σπέρματος. Η *γουανίνη (G)* είναι η πιο κοινή οργανική βάση του DNA που εκτίθεται σε οξειδωτική προσβολή από τις ελεύθερες ρίζες και μετατρέπεται σε *δ-υδροξυγουανίνη (δ-OHG)*. Σε έρευνες στο DNA σπέρματος υπογόνιμων ανδρών

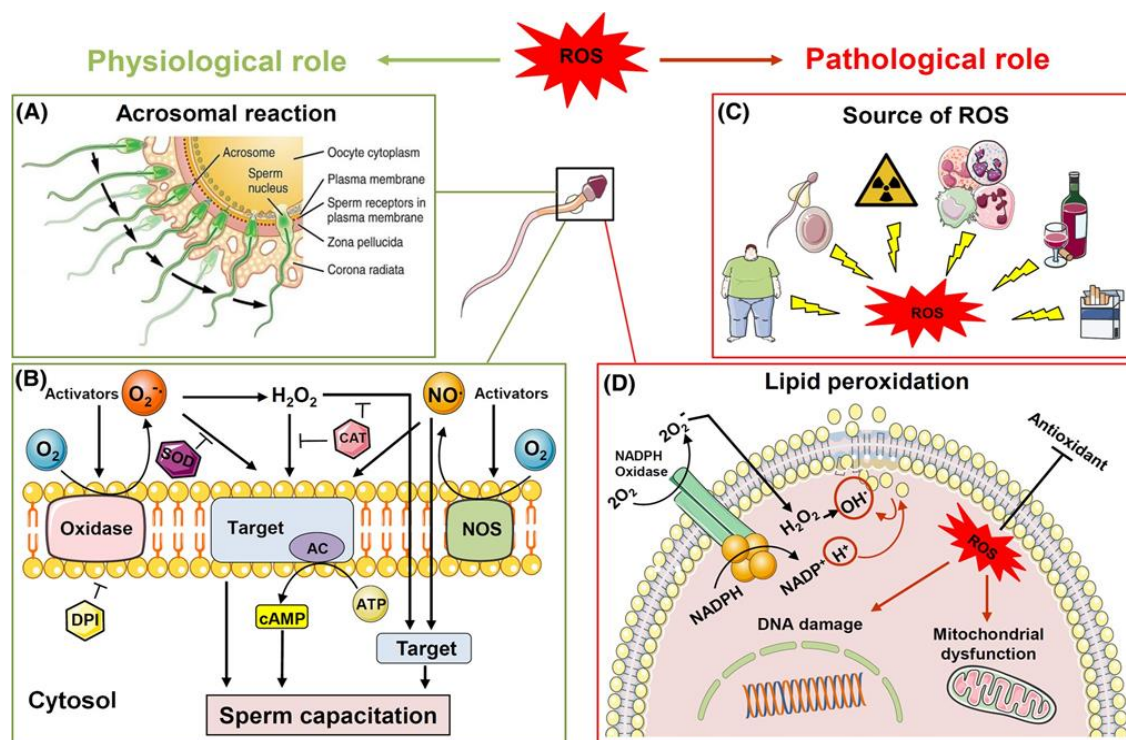
διαπιστώνεται ότι τα επίπεδα της *8-OHG* είναι περίπου 100 φορές μεγαλύτερα συγκριτικά με άτομα με φυσιολογική γονιμότητα. Το OS οδηγεί στην παραγωγή οξειδωμένων βάσεων του DNA όπως η *8-υδροξυ-2-δεοξυγουανοσίνη (8-OHdG)* ειδικά σε θέσεις γονιδιώματος που είναι λιγότερο συνδεδεμένες με τις πρωταμίνες (Noblanc A et al., 2013).

Τα σπερματοζώαριο χρησιμοποιούν την γλυκοζυλάση DNA 8-οξογουανίνης στην επιδιόρθωση της εκτομής βάσης (BER). Αυτή η γλυκοζυλάση συνδέεται με τον πυρήνα και τα μιτοχόνδρια του σπέρματος και μπορεί να διαχωρίσει ενεργά τη *8OHdG* και να απελευθερώσει πρόσθετες βασικές ενώσεις στον εξωκυτταρικό χώρο. Τα σπερματοζώαρια δεν έχουν ενώσεις του κυτταρικού μηχανισμού BER (Base Excision Repair), συμπεριλαμβανομένων της *απουρινικής-απριμιδινικής ενδονουκλεάσης 1 (APE1)* και *XRCC1*. Λόγω αυτής της ατελούς ικανότητας επιδιόρθωσης του DNA, προκύπτουν τοποθεσίες που βρίσκονται υπό την επίδραση του *8OHdG*. Αυτές οι θέσεις αποσταθεροποιούν τη φωσφορική ριβόζη και οδηγούν σε β-ελλείψεις ή σπασίματα του δακτυλίου της ριβόζης και θραύσμα του κλώνου του DNA. Αυτό το βιοχημικό μονοπάτι του DNA αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες εμφάνισης καρκίνου σε άλλους τύπους κυττάρων. Επομένως, το OS όχι μόνο είναι ένα μεταλλαξιγόνο αλλά επίσης εμμέσως θρυμματίζει το DNA. Η ανεπάρκεια στην προστασία από αντιοξειδωτικά, λόγω εξωγενών και ενδογενών παραγόντων, οδηγεί στο OS στο σπέρμα και τελικά στη βλάβη του DNA του (Muratori M et al., 2015) με τελική κατάληξη έναν αριθμό αλλαγών όπως ένα μονόκλωνο ή δίκλωνο θραύσμα, κατακερματισμό του DNA, δημιουργία θέσεων ελεύθερης βάσης, αλλαγές σε πουρίνη, πυριμιδίνη, δεοξυριβόζη (Aitken RJ et al., 2016). Όλες αυτές οι αλλαγές μπορεί να οδηγήσουν σε διακοπή ή έναρξη της μεταγραφής γονιδίων, επαγωγή τελικών οδών μεταγωγής, αυξημένη αποικοδόμηση τελομερών, σφάλματα αντιγραφής και μεταγραφής, γονιδιωματική αστάθεια και μετατροπή από CG σε AT (Bauer NC et al., 2015). Τα σπέρματα ασθενών με σοβαρή οξειδωτική βλάβη στο DNA εκφυλίζονται και απορροφώνται μέσω της σπερματογένεσης και ωρίμανσης του σπέρματος στις επιδιδυμίδες με αποτέλεσμα μειωμένο αριθμό σπέρματος σε αυτούς τους ασθενείς. Ο κατακερματισμός του DNA είναι το τελικό στάδιο της βλάβης του OS και παρατηρείται συχνά στα σπερματοζώαρια υπογόνιμων ανδρών (Dorostghoal M et al., 2017).

Gene	Polymorphisms	Effects	Population	Sample size (case/control)
Paraoxonase 1	rs662	The variation is associated with decreased risk of male infertility	Iran	450 (220/230)
Superoxide dismutase 2	Ile58Thr rs4880	The rs1001179 is associated with increased risk of male infertility	Spain	393 (313/80)
Catalase	rs1001179			
Glutathione peroxidase 1	rs1050450			
Glutathione S-transferase	GSTT1 (null or non-null) GSTM1 (null or non-null)			
Nitric oxide synthase 3	rs2070744 rs1799983 Intron variant 4a/4b	Intron variant 4a/4b is associated with increased risk of male infertility	Serbia	262 (131/131)
Aryl hydrocarbon receptor	rs2066853	The variation is associated with decreased sperm parameters as well as increased seminal OS	Egypt	170 (50/120)
Glutathione peroxidase 1	rs1050450	There is no association between the variation and idiopathic male infertility	Iran	250 (100/150)
Nitric oxide synthase 3	rs1799983 rs2070744	There is a significant association between rs1799983 and rs2070744 and decreased sperm parameters and increased seminal OS	Egypt	300 (80/220)
Nitric oxide synthase 3	rs2682826 rs1047735 rs2297518 rs10459953 rs1799983	The rs1799983 polymorphism could cause oxidative sperm DNA damage, and contributing to male infertility	China	1160 (580/580)
Human catalase	rs1001179	This variation is associated with male infertility	Iran	385 (90/95)
Superoxide dismutase 2	rs4880	The rs4880 and rs1799983 variations were significantly associated with male infertility	France	179 (69/110)
Myeloperoxidase	rs2333227			
Glutathione peroxidase 1	rs1050450			
Catalase	rs1001179			
Nitric oxide synthase	rs2070744 rs1799983			
8-Oxoguanine DNA glycosylase 1	rs1052133	Interaction between rs1052133 polymorphism and smoking is related with male infertility	China	1100 (480/620)
Glutathione S-transferase	GSTM1 (null or non-null) GSTT1 (null or non-null) GSTP1 rs1695	The rs1695 is associated with idiopathic male infertility. Also, individuals carrying genotype GSTT1-null and GSTP1 (Ile/Val+Val/Val) were at a high risk for male infertility	China	713 (234/479)
Glutathione S-transferase	GSTM1 GSTT1	Men with GSTM1 (-/-)/GSTT1 (-/-) genotype are at a high risk for increased risk of reproductive problems	Russia	264 (104/160)
Luteinising hormone $\beta$ -subunit	Gly102Ser	This polymorphism is relatively common among infertile Egyptian men	Egypt	89 (50/39)
Paraoxonase 1	rs662	The rs662 variation is not associated with male infertility	China	732 (403/329)
N-Acetyltransferase-2	rs1799929 rs1799930	Male with homozygous and heterozygous variations of GSTP1 (rs1138272, rs1695) and NAT2 (rs1799929, rs1799930) genotypes have an increased risk of infertility	Vietnam	300 (150/150)
Glutathione S-transferase	rs1138272 rs1695			

**Πίνακας 1:** Συνηθισμένοι γενετικοί πολυμορφισμοί σε γονίδια που εμπλέκονται στο OS και ο ρόλος τους στην ανδρική υπογονιμότητα (E. Barati et al. 2019)

Υπάρχει στενή σχέση μεταξύ ROS και του κατακερματισμού του σπερματικού DNA (SDF). Διάφοροι λόγοι όπως κίρσοκήλη, λοίμωξη, γήρανση, θερμότητα, παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής, ελλιπής προστασία αλλά και περιστασιακά χωρίς προφανή αίτιο μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένο κατακερματισμό. Ένας μεγάλος αριθμός από αυτούς διαμεσολαβείτε από τα ROS. Το οξειδωτικό στρες προκαλεί σημαντική άμεση βλάβη τόσο στο πυρηνικό (nDNA) (Seli et al., 2004) όσο και στο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) (Sousa et al., 2011).



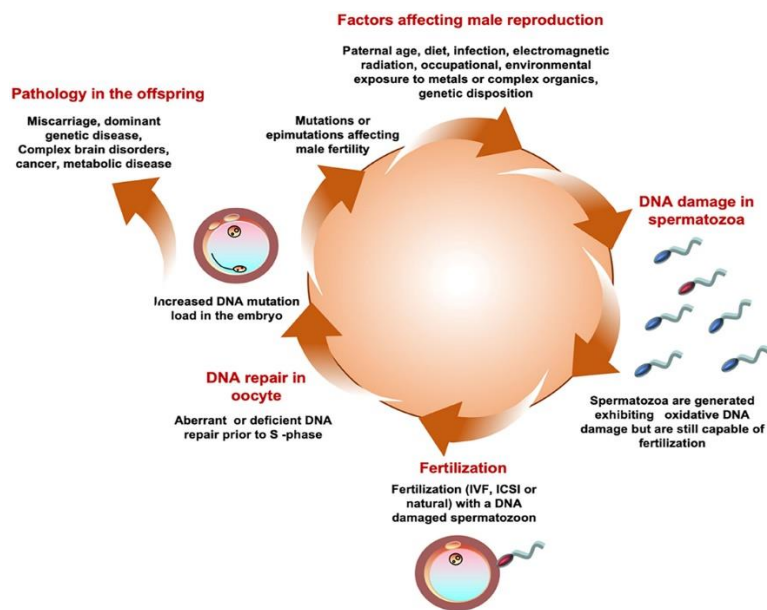
**Εικόνα 9:** Φυσιολογικοί και παθολογικός ρόλος του ROS στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (E. Barati et al. 2019)

Τα κύτταρα δεν περιέχουν μόνο πυρηνικό DNA, αλλά και μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) το οποίο είναι περίπου 100 φορές πιο ευαίσθητο σε επιθέσεις που προκαλούν βλάβες και μεταλλάξεις από το nDNA, τούτο διότι τι mtDNA δεν προστατεύεται από ιστόνες και πρωταμίνες (G. Pesole et al., 1999). Δεδομένου ότι το mtDNA έχει κυκλική

δομή με λίγα ζεύγη βάσεων DNA, έλλειψη ιστονών και απουσία της οδού επισκευής - εκτομής νουκλεοτιδίων (NER) είναι πιο ευαίσθητο σε προσβολή ROS. Επιπλέον, τα ROS μπορεί να επηρεάσουν την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και συνεπώς να προκαλέσουν βλάβη στο mtDNA και ταυτόχρονα να προκαλέσουν διαρροή ηλεκτρονίων από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, η οποία με τη σειρά της αυξάνει τον σχηματισμό OS. Το mtDNA είναι ιδιαίτερα επιρρεπές σε βλάβες λόγω της εγγύτητάς του στην παραγωγή ROS (Croteau et al., 1999). Οι Kao et al. (Kao et al., 2004) και Shamsi et al. (M.B. Shamsi et al., 2008) ανέφεραν ότι οι μεταλλάξεις mtDNA αποτελούν ένα σημαντικό λόγο για την ανδρική υπογονιμότητα. Επιπλέον, οι Spiropoulos et al. (J. Spiropoulos et al., 2002) έδειξαν ότι τα υψηλά επίπεδα μεταλλάξεων mtDNA συσχετίζονται στενά με την κακή κινητικότητα του σπέρματος. Το οξειδωτικό στρες που οφείλεται στη λευκοκυτταροσπερμία επηρεάζει τη μιτοχονδριακή λειτουργία μειώνοντας την ικανότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης, και αυτό έχει ως αποτέλεσμα έναν φαύλο κύκλο με ακόμη μεγαλύτερη ενδοκυτταρική έξοδο ROS (M. Panner Selvam et al., 2020). Δυστυχώς οι θεωρίες για τη συμμετοχή του mtDNA στην γονιμότητα δεν καταλήγουν σε σαφή συμπεράσματα. Οι Lim et al. (K.S. Lim et al., 2005) έδειξαν ότι το mtDNA δεν θα υποστεί σημαντική οξειδωτική βλάβη ούτε θα ξεπεράσει αυτή του πυρηνικού DNA. Ο Pereira et al. (L. Pereira et al., 2007) με μια πλήρη αλληλούχιση του mtDNA σε ασθενοζωοσπερμικούς άνδρες, οι έδειξαν ότι δεν υπήρξε καμία απόδειξη του ρόλου της εμπλοκής του mtDNA στην κινητικότητα του σπέρματος. Ο Bandelt (Bandelt. H.J. , 2008) τόνισε ότι οι σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του mtDNA και στην ανδρική υπογονιμότητα θα πρέπει να επαναδιατυπωθεί.

Εκτιμάται ότι τα ROS είναι υπεύθυνα για περίπου 10.000 μετατροπές βάσεων DNA ανά κύτταρο ανά ημέρα. Η δε οξείδωση ή και η μεθυλίωση των βάσεων θεωρείται ότι έχει τις σημαντικότερες φαινοτυπικές επιπτώσεις. Η ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ του κατακερματισμού του πυρηνικού DNA με τους δείκτες ανδρικής υπογονιμότητας όπως η μορφολογία και κινητικότητα είναι ιδιαίτερα σημαντική.





**Εικόνα 10:** Μια ποικιλία περιβαλλοντικών, τρόπων ζωής και ιατρικών παραγόντων συνωμοτούν για να δημιουργήσουν μια κατάσταση οξειδωτικού στρες στα σπερματοζώαρια (Aitken R, Baker R., 2020).

Καθώς τα γεννητικά κύτταρα διαφοροποιούνται, προοδευτικά γίνονται λιγότερο ικανά στην επιδιόρθωση του DNA και αυτή η επιδιορθωτική ικανότητα μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας του άνδρα (Taylor JD et al., 2019). Αν η οξειδωτική βλάβη που υπέστησαν τα κύτταρα, είναι μεγάλη, θα καταστείλει την γονιμοποιητική ικανότητα των σπερματοζωαρίων μέσω της μείωσης της κινητικότητά τους και της ικανότητά τους να αλληλοεπιδρούν με τα ωοκύτταρα (Aitken RJ et al., 1989). Εάν η βλάβη είναι μικρή μπορεί ακόμη να διατηρήσουν την ικανότητά τους για γονιμοποίηση και έτσι να έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν οξειδωτικά κατεστραμμένο DNA (Sakkas D et al., 1998) και ενδεχομένως, οξειδωτικά κατεστραμμένα κεντριόλια (Lu Y et al., 2017) και τελομερή -δομές πλούσιες σε γουανίνη που είναι γνωστό ότι είναι ευάλωτες στο οξειδωτικό στρες- (Darmishonnejad Z et al., 2020) μέσα στα ωοκύτταρα και τα οποία θα μπορούσαν να επιδράσουν αρνητικά την εμφύτευση, την εμβρυϊκή ανάπτυξη, και την εξέλιξη της κύησης. Οι γενετικές και επιγενετικές μεταλλάξεις που προκαλούνται μέσω αυτού του μηχανισμού έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν την υγεία, τη γονιμότητα, και την ευημερία των εμβρύων.

Όσον αφορά την υπογονιμότητα, ο κατακερματισμός του DNA που προκαλείται από το επαγόμενο οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει ελλείψεις στο

χρωμόσωμα Υ μέσω σφάλματος ανασυνδυασμού των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών που σε αυτό το χρωμόσωμα υπάρχουν σε μεγάλο βαθμό. Οι σημειακές μεταλλάξεις, που δίνετε να υπάρξουν, έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν υπογονιμότητα εάν επηρεάσουν την έκφραση των βασικών γονιδίων που εμπλέκονται στην δημιουργία και τη διαφοροποίηση των σπερματοζωαρίων.

Σε πρόσφατη δημοσίευση αναφέρεται ότι όταν τα σπερματοζωάρια εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες, δημιουργείται βλάβη του DNA σε ολόκληρο το γονιδίωμα (αν και τα φυλετικά χρωμοσώματα προστατεύονται σε κάποιο βαθμό). Υπάρχει, ωστόσο, μια περιοχή στο γονιδίωμα του ανθρώπινου σπέρματος που είναι ιδιαίτερα ευάλωτη σε οξειδωτική προσβολή και εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 15 (Xavier MJ et al., 2019). Τέτοιες ευπαθείς γονιδιωματικές τοποθεσίες παρουσιάζουν 2-15 φορές περισσότερες οξειδωτικές βλάβες στο σπερματικό DNA υπογόνιμων ανδρών σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς υγιείς δότες. Μετατοπίσεις που επηρεάζουν αυτήν την περιοχή του γονιδιώματος είναι γνωστό ότι προκαλούν ανδρική υπογονιμότητα (Zhang H et al., 2019). Τέτοιες είναι οι σημειακές μεταλλάξεις που επηρεάζουν γονίδια στο χρωμόσωμα 15 όπως το *SNRPA1*. Το τελευταίο εμπλέκεται στην δημιουργία του ενός σύμπλοκου ριβονουκλεοπρωτεϊνών (*spliceosome*) που είναι υπεύθυνο για την επεξεργασία του RNA (απομάκρυνση των εσωνίων από τα προ-mRNA μόρια) κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης. Μεταλλάξεις σε αυτό προκαλούν μη αποφρακτική αζωοσπερμία (Wu H et al., 2016). Το γονίδιο *CatSper* (*Cation Channel Sperm Associated*) βρίσκεται επίσης σε αυτήν την περιοχή και μεταλλάξεις σε αυτό σχετίζονται επίσης με την ανδρική υπογονιμότητα (Jaiswal D et al., 2014). Η παρουσία sSMCs (small supernumerary marker chromosomes) σχετίζεται με σοβαρή ανδρική υπογονιμότητα και oligo-ασθενο-τερατο-ζωοσπερμία και συνηθέστερα περιλαμβάνει το χρωμόσωμα 15 (Sun M et al., 2020). Μεγάλες διαγραφές στο χρωμόσωμα 15 συμπεριλαμβανομένου του γονιδίου *CatSper* και του γονιδίου *STRC* -που επίσης σχετίζεται με τα σπερματοζωάρια-, έχουν συνδεθεί με μια σπάνια κατάσταση που χαρακτηρίζεται από ανδρική υπογονιμότητα και κώφωση (Zhang Y et al., 2007).

Το χρωμόσωμα 15 κωδικοποιεί έναν αριθμό γονιδίων που εμπλέκονται στη νευρολογική ανάπτυξη. Η ίδια η περιοχή του γονιδιώματος που διαπιστώθηκε ότι είναι ευάλωτη στην οξειδωτική επίθεση είναι επίσης ο τόπος των γενετικών διαταραχών που σχετίζονται με μια ποικιλία εγκεφαλικών διαταραχών όπως το σύνδρομο Marfan, η

επιληψία, η σχιζοφρένεια, η διπολική νόσος, η διαταραχή ελλειμματικής προσοχής - υπερκινητικότητας και του αυτισμού (Aitken RJ et al., 2020). Είναι ενδιαφέρον ότι όλες αυτές οι συνθήκες σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με την ηλικία του πατέρα κατά τη στιγμή της σύλληψης. Δεδομένου ότι η προχωρημένη πατρική ηλικία σχετίζεται με αυξημένο οξειδωτικό στρες, στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, μπορούμε να υποθέσουμε ότι είναι αυτό που επιτάχυνε τις μεταλλάξεις και τελικά που οδήγησαν σε αυτές τις παθήσεις στους απογόνους.

Φυσικά, η γήρανση είναι ένας μόνο τρόπος δημιουργίας οξειδωτικού στρες στα γεννητικά κύτταρα, υπάρχουν πολλοί άλλοι, που μπορούν να οδηγήσουν σε υπογονιμότητα. Δεδομένου ότι η ανδρική υπογονιμότητα συνδέεται και με το οξειδωτικό στρες (που μπορούμε να το συσχετίσουμε και με τη γήρανση), ενδέχεται να υπάρχει αύξηση σε παθήσεις όπως ο αυτισμός στους απογόνους των ασθενών με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, κυρίως όταν χρησιμοποιείται ως διαδικασία γονιμοποίησης η ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI). Μια δημοσίευση από τις ΗΠΑ βρήκε πράγματι αυξημένο κίνδυνο αυτισμού στους απογόνους όταν η ICSI (όχι η κλασική IVF) χρησιμοποιήθηκε για την γονιμοποίηση των ωαρίων (Kissin DM, 2015). Περιοχή του χρωμοσώματος 15 που είναι ευάλωτη σε οξειδωτική προσβολή φιλοξενεί επίσης τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για τα σύνδρομα Angelman και Prader-Willi. Υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι και οι δύο αυτές παθήσεις μπορεί να αυξηθούν στους απογόνους υπογονίμων ζευγαριών (Hattori H et al., 2019).

Αν και αυτή η συσχέτιση μεταξύ υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και διαταραχών δεν παρατηρείται σε μεγάλα ποσοστά η αύξηση του συνδρόμου Prader Willi (3,44 φορές) που παρατηρήθηκε από τους Hattori et al (Hattori H et al., 2019) είναι ιδιαίτερα εντυπωσιακό και θα μπορούσε να εξηγηθεί από την οξειδωτική καταστροφή του πατρικού αλληλίου, επιτρέποντας στο μητρικό αλληλόμορφο να κυριαρχήσει. Ελλείψεις σε αυτήν την περιοχή του γονιδιώματος πιστεύεται ότι περιλαμβάνουν κατακερματισμό DNA με ταυτόχρονο ανασυνδυασμό των τελικών επαναλήψεων, με τον ίδιο τρόπο όπως οι ελλείψεις προκαλούνται στο Y χρωμόσωμα (Amos-Landgraf JM et al., 1999).

Ο γονιδιακός τόπος *15q11.2 BP1-BP2* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος σε οξειδωτική βλάβη, και αποτελεί hot spot (Kinoshita T et al., 2019) για μικροελλήψεις

που σχετίζονται με νοητική έκπτωση (Butler MG. , 2017). Οξειδωτική βλάβη σε αυτήν την περιοχή του γονιδιώματος στα ανθρώπινα σπερματοζώαρια μπορεί να οδηγήσει σε μια σειρά φαινοτύπων στους απογόνους, συμπεριλαμβανομένης της ανδρικής υπογονιμότητας, και πληθώρα συμπεριφορικών και διανοητικών προβλημάτων.

Το κάπνισμα είναι μια συνήθεια που σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες στο αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα, η οποία είναι ανεξάρτητη από την ηλικία και δημιουργεί *8OHdG* βλάβες στα ανθρώπινα σπερματοζώαρια μέσω μηχανισμών που μπορούν να επιδεινωθούν από πολυμορφισμούς όπως *OGGI Ser326Cys* (Ji G et al., 2013). Υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν μια σημαντική σχέση μεταξύ του καπνίσματος (του πατέρα) και του καρκίνου στους απογόνους, ιδιαίτερα των λευχαιμιών, συμπεριλαμβανομένης της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (Lee KM et al., 2009). Σύμφωνα με τα δεδομένα ένας από τους τόπους που σχετίζονται με την παιδική λευχαιμία είναι στο χρωμόσωμα 15 (15q13–15) (Heerema NA et al., 2002). Η οξειδωτική βλάβη του DNA που προκαλείται στα σπερματοζώαρια, ως αποτέλεσμα του καπνίσματος, είναι πιθανότατα υπεύθυνη για την δημιουργία εκατομμυρίων de novo μεταλλάξεων στο είδος μας (Beal MA et al., 2017), με επιπτώσεις στη μελλοντική συχνότητα εμφάνισης παιδικής λευχαιμίας (και πιθανώς άλλων καταστάσεων) στις επόμενες γενεές.

Συμπερασματικά οποιεσδήποτε καταστάσεις που προάγουν την οξειδωτική βλάβη στα ανθρώπινα σπερματοζώαρια μπορούν να αυξήσουν τη συχνότητα εμφάνισης τέτοιων καταστάσεων στους απογόνους ανάλογα με τη σοβαρότητα και τη θέση της βλάβης και την αποτελεσματικότητα της επισκευής του DNA.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η υπογονιμότητα χαρακτηρίζεται από την αποτυχία ενός ζευγαριού να συλλάβει μετά από 12 μήνες τακτικής, χωρίς προφύλαξη, επαφής (WHO, 2000) Περισσότερο από το 50% των περιπτώσεων αποδίδονται στον ανδρικό παράγοντα ως μοναδικό λόγο είτε ως συμμετέχων παράγοντα.

Φλεγμονή είναι η άμυνα του οργανισμού ενάντια στη μόλυνση ή τον τραυματισμό κατά τη οποία υπάρχει αύξηση της τοπικής ροής αίματος, αύξηση της μικροαγγειακής διαπερατότητας και στρατολόγηση λευκοκυττάρων στο σημείο της μόλυνσης. Η φλεγμονή επηρεάζει τις δύο λειτουργίες των όρχεων, την στεροειδογένεση και την σπερματογένεση. Ένας μεγάλος αριθμός παθογόνων μπορούν να αποικήσουν στο σπέρμα προξενώντας φλεγμονές στο ουρογεννητικό σύστημα. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ περίπου το 20-30% των υπογόνιμων ανδρών έχουν σιωπηλές φλεγμονές σε αυτό. Αλλαγές στα χαρακτηριστικά, τους αποπτωτικούς δείκτες του σπέρματος, αυξημένα επίπεδα λευκοκυττάρων στο σπερματικό πλάσμα (αποτέλεσμα φλεγμονής), ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) αναφέρονται ως πιθανοί παράγοντες που συμβάλλουν στην ανδρική υπογονιμότητα. Η φλεγμονή στην αναπαραγωγική οδό του άνδρα προκαλείται από κυτοκίνες όπως TNF-alpha και ιντερλευκίνες. Στους όρχεις, η φλεγμονή επηρεάζει τα κύτταρα Sertoli (προκαλώντας απώλεια της λειτουργίας του αιματοορχικού φραγμού) και τα κύτταρα Leydig (προκαλώντας μείωση της παραγωγής τεστοστερόνης) με αποτέλεσμα «διακοπή της σπερματογένεσης». Μόλυνση του σπέρματος από προφλεγμονώδεις παράγοντες επηρεάζουν τα μορφολογικά και τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά του οδηγώντας τελικά σε υπογονιμότητα. Στο αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα οι ενδογενείς πηγές ROS είναι: η φλεγμονή, τα λευκά αιμοσφαίρια, τα ίδια τα σπερματοζώαρια και η κισσοκήλη

Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκύψει ως συνέπεια της υπερβολικής παραγωγής ROS ή και μειωμένων αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών. Εκτεταμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση δείχνει ότι το OS προκαλεί μια σειρά παθολογιών που πιστεύεται ότι επηρεάζουν την αναπαραγωγική λειτουργία. Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι το ανθρώπινο σπέρμα μπορεί να παράγει ROS. Συνεπώς, ορισμένα σπερματοζώαρια θα υποστούν οξειδωτική βλάβη και σε αυτά μπορεί να οφείλεται η

ελαττωμένη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος που παρατηρείται σε υπογόνιμους άνδρες. Δυστυχώς, τα σπερματοζώαρια δεν είναι σε θέση να αποκαταστήσουν τη βλάβη που προκαλείται από την υψηλά επίπεδα ROS επειδή δεν διαθέτουν τα κυτταροπλασματικά ένζυμα καθώς και τους κυτταρικούς μηχανισμούς που απαιτούνται για την ολοκλήρωση αυτής της επισκευής. Αυτό είναι ένα από τα χαρακτηριστικά που κάνουν τα σπερματοζώαρια ιδιαίτερα ευαίσθητα τους στο OS. Γενετικές διαταραχές ή οι λειτουργικοί πολυμορφισμοί SNP (Single nucleotide polymorphisms) των αντιοξειδωτικών γονίδια, όπως CAT, GPX, GST, NOS, SOD μπορεί να οδηγήσουν επίσης σε σπέρμα χαμηλής γονιμοποιητικής ικανότητας

Το OS επιτίθεται στη ρευστότητα της πλασματικής μεμβράνης του σπέρματος και στην ακεραιότητα του DNA στον πυρήνα του σπέρματος. Η βλάβη του DNA που προκαλείται από τα ROS μπορεί να επιταχύνει τη διαδικασία της απόπτωσης των γεννητικών κυττάρων, οδηγώντας στη μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων γεγονός που σχετίζεται με την ανδρική υπογονιμότητα και την φαινομενική επιδείνωση της ποιότητας του σπέρματος που παρατηρήθηκε τις τελευταίες 4 έως 5 δεκαετίες.

Στο χρωμόσωμα 15 του ανθρώπινου σπέρματος εντοπίζεται περιοχή που είναι ιδιαίτερα ευάλωτη σε οξειδωτική προσβολή. Μετατοπίσεις που επηρεάζουν αυτή την περιοχή προκαλούν ανδρική υπογονιμότητα. Σημειακές μεταλλάξεις σε αυτή επηρεάζουν γονίδια, όπως το SNRPA1, που εμπλέκονται στη σπερματογένεση. Μεγάλες διαγραφές στο χρωμόσωμα 15 συμπεριλαμβανομένου του γονιδίου CATSPER και του γονιδίου STRC έχουν συνδεθεί με την ανδρική υπογονιμότητα. Το χρωμόσωμα 15 επίσης κωδικοποιεί έναν αριθμό γονιδίων που εμπλέκονται στη νευρολογική ανάπτυξη. Η ίδια περιοχή του γονιδιώματος που διαπιστώθηκε ότι είναι ευάλωτη στην οξειδωτική επίθεση είναι επίσης ο τόπος των γενετικών διαταραχών που σχετίζονται με μια ποικιλία εγκεφαλικών διαταραχών. Μπορούμε να υποθέσουμε γενετικές αλλαγές σε αυτό οδήγησαν σε αυτές τις παθήσεις στους απογόνους.

Συνοπτικά, το OS θεωρείται πλέον ως κύρια αιτία της ανδρικής υπογονιμότητας. Τα ROS σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητα για τη φυσιολογική λειτουργία του σπέρματος. Όμως τα αυξημένα επίπεδα τους διαταράσσουν τις λειτουργίες του σπέρματος, οδηγώντας έτσι σε ανδρική υπογονιμότητα μέσω μηχανισμών όπως η υπεροξειδωση των λιπιδίων και η βλάβη του

DNA. Ως εκ τούτου, η έγκαιρη διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας είναι απαραίτητη για την αποτροπή, μακροπρόθεσμα, της μη αναστρέψιμης βλάβης λόγω του OS. Υπάρχουν πολλές εξετάσεις για έγκαιρη διάγνωση υψηλών επιπέδων OS. Τα αποτελέσματα της μέτρησης των επιπέδων ROS στο σπέρμα καθώς και ο προσδιορισμός των επιπέδων MDA και TAC μπορούν να επηρεάσουν τη διάγνωση και τη θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας. Εκτός αυτού, η αλλαγή του τρόπου ζωής θεωρείται επιβεβλημένη για την εξισορρόπηση των επιπέδων ROS και αντιοξειδωτικών στο σώμα και την πρόληψη του οξειδωτικού στρες. Ο περιορισμός του καπνίσματος και της κατανάλωσης αλκοόλ, η μη έκθεση σε ακτινοβολία και η επιλογή της σωστής διατροφής μαζί με την σωματική δραστηριότητα έχουν σημαντικές επιπτώσεις στη μείωση των επιπέδων OS και συνεπώς στην ανδρική γονιμότητα. Επιπλέον η από του στόματος χορήγηση αντιοξειδωτικών μπορεί να βοηθήσει στη μείωση των επιπέδων OS, αλλά απαιτούνται περισσότερες μελέτες σχετικά με τις δόσεις και τη διάρκεια τους.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

A. Château & Seifert. , H.S., 2016. Neisseria gonorrhoeae survives within and modulates apoptosis and inflammatory cytokine production of human macrophages.. *Cell. Microbiol.* , April. pp. 546-560.

Abou-Haila , A. & Tulsiani, D.R., 2000. Mammalian sperm acrosome: formation, contents, and function. *Arch Biochem Biophys*, Jul. pp.173-82.

Abusarah, , Awwad, Z.M. & Charvalos, , 2013. Molecular detection of potential sexually transmitted pathogens in semen and urine specimens of infertile and fertile males. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, April. pp.283-86.

Adewoyin M, Ibrahim M & Roszaman R, 2017. Male infertility: the effect of natural antioxi- dants and phytochemicals on seminal oxidative stress. *Diseases*, January.

Adewoyin M, Mohsin SMN, Arulselvan P & Hussein MZ, 2015. Enhanced anti-inflammatory potential of cinnamate- zinc layered hydroxide in lipopolysaccharide-stimulated RAW. *Drug Des Devel Ther* , pp.9:2475.

Agarwal A, Virk G & Ong C , 2014. Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health* , Apr. pp.1-17.

Agarwal A. g. , Sengupta P. & Leisegan K. , 2020. *Oxidative stress in pathology of male of reproductive disorders. Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants.* Elsevier.

Agarwal , A., Hamada, & Esteves, S.C., 2012. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. *Nat Rev Urol*, Dec. pp.678-90.

Agarwal , , Sushil , P. & Shyam S , 2006. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*, May. pp.630-3.

Agarwal, , Tvrda, & Sharma, , 2014. Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility. *Reprod Biol Endocrinol*, May.

Agarwal, 2009. *International Journal of Fertilit*, Feb-Mar.,. pp.147-64.



Aitken RJ & Baker MA., 2013. Oxidative stress, spermatozoa and leukocytic infiltration: relationships forged by the opposing forces of microbial invasion and the search for perfection. *J Reprod Immunol*, June.

Aitken RJ, Clarkson JS & Fishel S. , 1989. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biol Reprod.* , pp.183–97.

Aitken RJ & Curry BJ, 2011. Redox regulation of human sperm function: from the physiological control of sperm capacitation to the etiology of infertility and DNA damage in the germ line.. *Antioxid Redox Signal* , March. pp.367–81.

Aitken RJ, De Iuliis GN & Nixon B., 2020. The sins of our forefathers: paternal impacts on de novo mutation rate and development.. *Ann Rev Genet.* .

Aitken RJ, Gibb Z & Baker MA, 2016. Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa.. *Reprod Fertil Dev*, 1-2. pp.1–10.

Aitken RJ, Gibb Z & Mitchell LA, 2012. Sperm motility is lost in vitro as a consequence of mitochondrial free radical production and the generation of electrophilic aldehydes but can be significantly rescued by the presence of nucleophilic thiols.. *Biol Reprod.* .

Aitken RJ, Muscio L & Whiting S , 2016. Analysis of the effects of polyphenols on human spermatozoa reveals unexpected impacts on mitochondrial membrane potential, oxidative stress and DNA integrity; implications for assisted reproductive technology.. *Biochem Pharmacol.* , pp.78–96.

Aitken RJ, West K & Buckingham D., 1994. Leukocytic infiltration into the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress, and sperm function. *J Androl.* , pp. 343–52.

Aitken RJ, Wingate JK & De Iuliis GN, 2006. Cis-unsaturated fatty acids stimulate reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in human spermatozoa.. *J Clin Endocrinol Metab.* , pp.4154–63.

Aitken RJ, Buckingham DW & West K, 1996. On the use of paramagnetic beads and ferrofluids to assess and eliminate the leukocytic contribution to oxygen radical generation by human sperm suspensions.. *Am J Reprod Immunol.*, pp.541–51.

Amos-Landgraf JM, Ji Y & Gottlieb W , 1999. Chromosome breakage in the prader-willi and angelman syndromes involves recombination between large, transcribed repeats at proximal and distal breakpoints.. *Am J Hum Genet.*

An L.-F , Zhang X.-H. & Sun X.-T. , 2015. Unexplained infertility patients have increased serum IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-21, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  and increased Tfh/CD4 T cell ratio: Increased Tfh and IL-21 strongly correlate with presence of autoantibodies. *Immunol. Invest.*, February. pp.164-73.

Anaís García Rodríguez , Moises de la Casa & Stephen Johnston, 2019. Association of polymorphisms in genes coding for antioxidant enzymes and human male infertility. *Ann Hum Genet*, Jan. pp.63-72.

Andrade-Rocha F.T. , 2003. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in men attending for routine semen analysis. *Urol. Int*, April. pp.377-81.

Arafa M., Elbardisi H & Majzoub A, 2020. *Genetics of male infertility*. Springer International Publishing.

Armstrong JS, Bivalacqua TJ & Chamulitrat W , 2002. A comparison of the NADPH oxidase in human sperm and white blood cells. *Int J Androl.* , pp.223–9.

Baker HW, Brindle J & Irvine DS , 1996. Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated polymorphonuclear leukocytes.. () 65. doi: 10.1016/S0015-0282(16)58109-6. *Fertil Steril*, pp.411–9.

Baker MA, Hetherington L & Curry B , 2009. Phosphorylation and consequent stimulation of the tyrosine kinase c-Abl by PKA in mouse spermatozoa; its implications during capacitation. *Dev Biol.* , pp.57–66.

Bakos H, M.M., 2011. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model.. *Int J Androl* , pp.402–10.

Bandelt. H.J. , 2008. Misanalysis gave false association of mtDNA mutations with infertility. *Int. J. Androl.*, April. pp.450-53.

Bánfi B, Molnár G & Maturana A , 2001. A Ca(2+)-activated NADPH oxidase in testis, spleen, and lymph nodes.. *J Biol Chem.* .

Barbonetti A, Castellini C & Di Giammarco N , 2016. In vitro exposure of human spermatozoa to bisphenol A induces pro-oxidative/apoptotic mitochondrial dysfunction. *Reprod Toxicol.* , pp.61–7.

Bauer NC, Corbett AH & Doetsch PW , 2015. The current state of eukaryotic DNA base damage and repair. *Nucleic Acids Res*, pp.10083–101.

Beal MA, Yauk CL & Marchetti F , 2017. From sperm to offspring: assessing the heritable genetic consequences of paternal smoking and potential public health impacts.. *Mutat Res.* , pp.26–50.

Bhattacharya K., P., S., S., D. & I., K., 2020. Obesity, systemic inflammation and male infertility. *Chem. Biol. Lett.*, February. pp.92-98.

Boguen, R., Treulen, , Uribe, P. & Villegas, , 2015. Ability of Escherichia coli to produce hemolysis leads to a greater pathogenic effect on human sperm. *Fertil. Steril.*, May. pp.1155-61.

Butler MG. , 2017. Clinical and genetic aspects of the 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion disorder. *J Intellect Disabil Res.* , pp.568–79.

Chi HJ , Kim JH & Ryu CS , 2008. Protective effect of antioxidant supplementation in sperm-preparation medium against oxidative stress in human spermatozoa.. *Hum Reprod.*, pp.1023–8.

Cobb J & Handel M A , 1998. Dynamics of meiotic prophase I during spermatogenesis: from pairing to division. *Semin Cell Dev Biol*, Aug. pp.445-50.

Comhaire F H , Mahmoud A M & Depuydt C E , 1998. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Hum Reprod Update*, Sep-Oct. pp.393-8.

Comhaire, , Mahmoud, A. & Depuydt, , 1999. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Hum. Reprod.*, May. pp.393-98.

Croteau, D.L., Stierum, R.H. & Bohr., , 1999. Mitochondrial DNA repair pathways.. *Mut. Res.*, March. pp.137-48.

- Cui X, Jing X & Wu X, 2016. Potential effect of smoking on semen quality through DNA damage and the down- regulation of Chk1 in sperm.. *Mol Med Rep*, January. pp.753–61.
- Cutolo M, Balleari E & Giusti M, 1991. Androgen replacement therapy in male patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* , January.
- Dadoune Jean-Pierre , 2007. New insights into male gametogenesis: what about the spermatogonial stem cell niche? *Folia Histochem Cytobiol*, March. pp.141-7.
- Dahlberg, , 1976. Asymptomatic bacteriospermia: Cause of infertility in men.. *Urology* , June. pp.563-66.
- Darbandi M, Darbandi S & Agarwal A, 2018. () Reactive oxygen species and male reproductive hormones.. *Reprod Biol Endocrinol* , January.
- Darmishonnejad Z, Zarei-Kheirabadi F & Tavalae M , 2020. Relationship between sperm telomere length and sperm quality in infertile men.. *Andrologia*.
- de Lamirande , & Gagnon C, 1995. Capacitation-associated production of superoxide anion by human spermatozoa. *Free Radic Biol Med.*, pp.487–95.
- Dorostghoal M, Kazeminejad S & Shahbazian N , 2017. Oxidative stress status and sperm DNA frag- mentation in fertile and infertile men.. *Andrologia* , October.
- DRÖGE , , 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* , pp.47–95.
- Du Plessis SS, Cabler S & McAlister D , 2010. The effect of obesity on sperm disorders and male infertil- ity. *Nat Rev Urol*, March.
- du Plessis SS, McAllister DA & Luu A, 2010. Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exposure on human sperm motility parameters, reactive oxygen species levels and nitric oxide levels.. *Andrologia*, pp.:206–10.
- Duru 1, N.K., Morshedi, & S Oehninger, 2000. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil Steril*, Dec. pp.1200-7.
- Dutta, S., P. Sengupta & A. Biswas. , 2019. Adiponectin in male reproduction and infertility.. *Asian Pac. J. Reprod.* , May. pp.244-50.

- Dutta, S. & P. Sengupta, 2018. Functions of follicular and marginal zone B cells in pregnancy.. *Asian Pac. J. Reprod.*, April. pp.191-92.
- Dutta S. , Biswas A & Sengupta P., 2019. Obesity, endocrine disruption and male infertility. *Asian Pac. J. Reprod.*, May. pp.195-202.
- Dutta S., Majzoub A. & Agarwal A. , 2019. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab J. Urol.*, February. pp.87-97.
- Ecroyd HW, Jones RC & Aitken RJ. , 2003. Endogenous redox activity in mouse spermatozoa and its role in regulating the tyrosine phosphorylation events associated with sperm capacitation. *Biol Reprod.* , pp.347–54.
- Faure C, Leveille P, Dupont C & Julia C , 2014. Are superoxide dismutase 2 and nitric oxide synthase polymorphisms associated with idiopathic infertility?. *Antioxid Redox Signal*, April. pp.565–69.
- Fijak M., Bhushan S. & Meinhardt A, 2017. The immune privilege of the testis. *Immune Infertility* , pp. 97-107.
- Fraczek M, K.M., 2015. Mechanisms of the harmful effects of bacterial semen infection on ejaculated human spermatozoa: potential inflammatory markers in semen.. *Folia Histochem Cytobiol.* , pp.201–17.
- Frapsauce, , Grabar, & Leruez-Ville , , 2015. Impaired sperm motility in HIV-infected men: an unexpected adverse effect of efavirenz? *Hum. Reprod*, Augustus. pp.1797-806.
- Fu LL, Zhang LY & An Q , 2018. L-carnitine protects the motion parameters and mitochondrial function of human sperm in cryopreservation. *Zhonghua Nan Ke Xue*, pp.1059-63.
- G. Pesole, C.G., A. De Chirico & C. Saccone. , 1999. Nucleotide substitution rate of mammalian mitochondrial genomes.. *J. Mol. Evol* , April. pp. 427-434.
- Galdiero, , Sommese, & Gorga, , 1994. Toxic effect on human spermatozoa by *Chlamydia trachomatis* purified lipopolysaccharide. *FEMS Microbiol. Lett.*, March. pp.197-200.

- Gallegos, , Ramos, B. & Santiso R. , 2008. Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by Chlamydia trachomatis and Mycoplasma. *Fertil. Steril.*, February. pp.328-34.
- Garolla A, Torino M & Miola P , 2015. Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function. *Hum Reprod*, May. pp.1006–13.
- Garolla, , Pizzol, & Berto, , 2013. perm viral infection and male infertility: focus on HBV, HCV, HIV, HPV, HSV, HCMV, and AAV. *J Reprod Immunol*, Nov. pp.20-9.
- Gautam R, Singh KV & Nirala J, 2019. Oxidative stress-mediated alterations on sperm parameters in male wistar rats exposed to 3G mobile phone radiation.. *Andrologia.* .
- Ghani E, Keshtgar S & Habibagahi M, 2013. Expression of NOX5 in human teratozoospermia compared to normozoospermia.. *Andrologia.* , pp.351–6.
- Giannattasio A, De Rosa M & Smeraglia R, 2002. Glutathione peroxidase (GPX) activity in seminal plasma of. *J. Endocrinol. Invest* , April. pp.983-86.
- Golde RJ, Avoort IA, Tuerlings JH & Kiemeney LA, 2004. Phenotypic characteristics of male subfertility and its familial occurrence. *J Androl.*, May. pp.819-23.
- Hales D. B. , 1992. Interleukin-1 inhibits Leydig cell steroidogenesis primarily by decreasing 17 alpha- hydroxylase/C17-20 lyase cytochrome P450 expression. *Endocrinology*, May. pp.2165-72.
- Heidar Tavilani , Amir Fattahi & Maryam Esfahani , 2014. Genotype and phenotype frequencies of paraoxonase 1 in fertile and infertile men. *Syst Biol Reprod Med*, Dec. pp.361-6.
- Hanukoglu I, 2006. Antioxidant protective mechanisms against reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondrial P450 systems in steroidogenic cells. *Drug Metab Rev* , (1–2). pp.171–96.
- Hattori H, Hiura H, & Kitamura A, Miyauchi N, Kobaya, 2019. Association of four imprinting disorders and ART. ). *Clin Epigenetics.*..
- Heerema NA, Sather HN & Sensel MG , 2002. Abnormalities of chromosome bands 15q13–15 in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer.*..

Herrero MB , de Lamirande E & Gagnon C., 2001. Tyrosine nitration in human spermatozoa: a physiological function of peroxynitrite, the reaction product of nitric oxide and superoxide. *Mol Hum Reprod.*, pp.913–21.

Herrero MB, de Lamirande E & Gagnon C, 2003. Nitric oxide is a signaling molecule in spermatozoa. *Curr Pharm Des.* , pp.419–25.

Houston BJ, Nixon B & King BV, 2016. The effects of radiofrequency electromagnetic radiation on sperm function. *Reproduction* , pp.263–76.

HULBERT AJ, PAMPLONA R & BUFFENSTEIN R , 2007. Metabolic rate, membrane composition, and life span of animals.. *Physiol Rev*, pp.1175–213.

Inhorn MC, Kobeissi L & Nassar Z, 2009. Consanguinity and family clustering of male factor infertility in Lebanon.. ;91(4).. *Fertil Steril*, April. pp.1104-9.

Irez, T., Bicer, & Sahin , S., 2020. Cytokines and adipokines in the regulation of spermatogenesis and semen quality.. *Chem. Biol. Lett.* , February. pp.131-39.

İrez, , , Karkada, & S. Dutta, 2019. Obestatin in male reproduction and infertility.. *Asian Pac. J. Reprod.*, May. pp. 239-243.

Irez, T., Bicer S, Sahin S. & Dutta S, , 2020. Cytokines and adipokines in the regulation of spermatogenesis and semen quality. *Chem. Biol. Lett.*, February. pp.131-39.

Izuka E, Menuba I. , Sengupta P. & Dutta S. , 2020. Antioxidants, anti-inflammatory drugs and antibiotics in the treatment of reproductive tract infections and their association with male infertility. *Chem. Biol. Lett*, February. pp.156-65.

J. Spiropoulos, D.M. Turnbull & P.F. Chinnery., 2002. Can mitochondrial DNA mutations cause sperm dysfunction?. *MHR Basic Sci. Reprod. Med.* , Augustus. pp.719-21.

Jaiswal D, Singh V & Dwivedi US , 2014. Chromosome microarray analysis: a case report of infertile brothers with CATSPER gene deletion. *Gene.*, pp.263–5.

Jarecki-Black , J.C., Lushbaugh, W.B. & Golosov, , 1988. Trichomonas vaginalis: preliminary characterization of a sperm motility inhibiting factor. *Ann Clin Lab Sci*, Nov-Dec. pp.484-9.

- Jarow , J., Sharlip , I. & Belker , A., 2002. Best practice policies for male infertility. ;167. *J Urol*, pp.2138-44.
- Ji G, Yan L & Liu W, 2013. OGG1 Ser326Cys polymorphism interacts with cigarette smoking to increase oxidative DNA damage in human sperm and the risk of male infertility.. *Toxicol Lett.* , pp.144–9.
- Jia Y-F, Feng Q & Ge Z-Y , 2018. Obesity impairs male fertility through long-term effects on spermatogenesis.. *BMC Urol* , January.
- K.S. Lim, K. Jeyaseelan & M. Whiteman, 2005. Oxidative damage in mitochondrial DNA is not extensive.. *Annals NY Acad Sci*, pp. 210-220.
- Kao, S.-H., Chao, H.-T. & Liu, , H.-W., 2004. Sperm mitochondrial DNA depletion in men with asthenospermia.. *Fertil. Steril* , January. pp.66-73.
- KASTAN MB & BARTEK J. , 2004. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, pp.316–23.
- Kinoshita T, Mikami M & Ayabe T , 2019. Frequency of common copy-number variations at 15q11.2q13 in sperm of healthy men. *Cytogenet Genome Res.*, pp.66–73.
- Kissin DM, Z.Y.B.S.F.C., 2015. Association of assisted reproductive technology (ART) treatment and parental infertility diagnosis with autism in ART-conceived children. *Hum Reprod.*, pp.454–65.
- Kocak, I., C. Yenisey, M. Dündar & P. Okyay, 2002. Relationship between seminal plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  levels with semen parameters in fertile and infertile men. *Urol. Res*, pp.263-67.
- Kolesnikova L, Kurashova N & Bairova T , 2017. Features of lipoperoxidation, antioxidant defense, and thiol/disulfide system in the pathogenesis of infertility in males, carriers of nonfunctional variants of GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms. *Bull Exp Biol Med* , March. pp.378–80.
- Koppers AJ, De Iuliis GN & Finnie JM, 2008. Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa.. () 93. *J Clin Endocrinol Metab*, pp.3199–207.



Koppers AJ, Mitchell LA & Wang P, 2011. Phosphoinositide 3-kinase signalling pathway involvement in a truncated apoptotic cascade associated with motility loss and oxidative DNA damage in human spermatozoa.. *Biochem J.* , pp.687–98.

Koppers AJ, Mitchell LA & Wang P, 2011. Phosphoinositide 3-kinase signalling pathway involvement in a truncated apoptotic cascade associated with motility loss and oxidative DNA damage in human spermatozoa. *Biochem J.* (2011) 436:687–98. *Biochem J.*, pp.687–98.

L. Pereira, J. Gonçalves & R. Franco-Duarte , 2007. No evidence for an mtDNA role in sperm motility: data from complete sequencing of asthenozoospermic males.. *Mol. Biol. Evol.*, March. pp.868-74.

La Vignera S, Condorelli R & Vicari E, 2012. High frequency of sexual dysfunction in patients with male accessory gland infections. *Andrologia* , May. pp.438-46.

Latini M, Lenzi A, et al. & Gandini L, 2004. Sperm tail agenesis in a case of consanguinity.. *Fertil Steril*, June. pp.1688-91.

Lee KM, Ward MH & Han S, 2009. Paternal smoking, genetic polymorphisms in CYP1A1 and childhood leukemia risk. *Leuk Res.* , pp.250–8.

Ley K., 2002. Integration of inflammatory signals by rolling neutrophils. *Immunol Rev*, pp.8-18.

Liew SH, Meachem SJ & Hedger MP, 2007. A stereological analysis of the response of spermatogenesis to an acute inflammatory episode in adult rats.. *J Androl* , pp.176–85.

Liew S, Meachem S & Hedger M, 2007. A stereological analysis of the response of spermatogenesis to an acute inflammatory episode in adult rats. *J Androl*, Jan-Feb. pp.176-85.

Lin T, Wang D & Stocco DM, 1998. Interleukin- 1 inhibits Leydig cell steroidogenesis without affecting steroidogenic acute regulatory protein messenger ribonucleic acid or protein levels. *J Endocrino*, Mar. pp.461-7.

- Lin T, Wang L & Nagpal M L , 1991. Interleukin-1 inhibits cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 expression in primary cultures of Leydig cells. *Endocrinology*, Sep. pp.1305-11.
- Lipshultz LI, Howards SS & Craig S, 2009. *Look towards the future advances in andrology expected to revolutionize the diagnosis and treatment of infertile men*. Cambridge.
- Liu Q, Si T. & Xu X , 2015. Electromagnetic radiation at 900 MHz induces sperm apoptosis through bcl-2, bax and caspase-3 signaling pathways in rats.. *Reprod Health*.
- Liu T, Han Y & Zhou T, 2019. Mechanisms of ROS-induced mitochondria-dependent apoptosis underlying liquid storage of goat spermatozoa.. *Aging*, pp.7880–98.
- Lu Y, Lin M & Aitken RJ. , 2017. Exposure of spermatozoa to dibutyl phthalate induces abnormal embryonic development in a marine invertebrate *Galeolaria caespitosa* (Polychaeta: Serpulidae). *Aquat Toxicol.*, pp.189–200.
- M. Panner Selvam, P. Sengupta & A. Agarwal., 2020. *Genetics of male infertility*. Switzerland: Springer Nature; 2020.
- M.B. Shamsi, R. Kumar & A. Bhatt, 2008. Mitochondrial DNA mutations in etiopathogenesis of male infertility.. *Indian J. Urol.* .
- Machida K, Cheng KT & Lai CK, 2006. Hepatitis C virus triggers mitochondrial permeability transition with production of reactive oxygen species, leading to DNA damage and STAT3 activation. *J Virol*, Jul. pp.7199-207.
- Magri, V., A. Trinchieri & G. Pozzi , 2007. Efficacy of repeated cycles of combination therapy for the eradication of infecting organisms in chronic bacterial prostatitis. *Int. J. Antimicrob. Agents*, May.
- Mahfouz RZ, du Plessis SS & Aziz N, 2010. Sperm viability, apoptosis, and intracellular reactive oxygen species levels in human spermatozoa before and after induction of oxidative stress. *Fertil Steril.*, pp.814–21.

- Mallikarjuna M , Suraneni V & Jagu S, 2006. Bacterial lipopolysaccharide-induced oxidative stress in the impairment of steroidogenesis and spermatogenesis in rats. *Reprod Toxicol*, Oct. pp.493-500.
- Mancini A, Leone E & Festa R, 2008. Effects of testosterone on antioxidant systems in male secondary hypogonadism.. *J Androl* , June. pp.622–29.
- Matsuura R, Takeuchi T & Yoshida A. , 2010. Preparation and incubation conditions affect the DNA integrity of ejaculated human spermatozoa.. *Asian J Androl.* , pp.753–9.
- Mazjin M, S.Z. & Mashayekhi F, Bahadori M () , 2016. Evaluation of GPx1 Pro198Leu polymorphism in idiopathic male infertility. *Mol Biol*, pp.77–80.
- Meschede D, Lemcke B & Behre HM, 2000. Clustering of male infertility in the families of couples treated with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* , July. pp.1604-8.
- Miraglia E, Lussiana C & Viarisio D, 2010. The pentose phosphate pathway plays an essential role in supporting human sperm capacitation. *Fertil Steril.*, pp.2437–40.
- Moretti , Collodel, & Mazzi , 2014. Resistin, interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ , and human semen parameters in the presence of leukocytospermia, smoking habit, and varicocele. *Fertil. Steril.*, February. pp.354-60.
- Mostafa T, Rashed LA & Nabil N , 2015. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism relationship with semen parameters and oxidative stress in infertile oligoasthenozoospermic men. *Urology* , May. pp.1058–106
- Munoz M. & Witkin S. , 1995. Autoimmunity to spermatozoa, asymptomatic Chlamydia trachomatis genital tract infection and gd T lymphocytes in seminal fluid from the male partners of couples with unexplained infertility. *Hum. Reprod* , May. pp.1070-74.
- Muratori M, Tamburrino L & Marchiani S, 2015. Investigation on the origin of sperm DNA fragmentation: role of apoptosis, immaturity and oxidative stress. *Mol Med*, January. pp.109–22.
- Musset B, Clark RA & DeCoursey TE , 2012. NOX5 in human spermatozoa: expression, function, and regulation.. *J Biol Chem.* , pp. 9376–88.

- N L J Vučić , Nikolić Z & Vukotić V D, 2018. NOS3 gene variants and male infertility: Association of 4a/4b with oligoasthenozoospermia. *Andrologia* , Feb. p. 50.
- Noblanc A , Damon-Soubeyrand C & Karrich B, 2013. DNA oxidative damage in mammalian spermatozoa: where and why is the male nucleus affected? 65. *Free Radical Biol Med*, pp.719–23.
- Nunez-Calonge , , Caballero, P. & Redondo, C., 1998. Ureaplasma urealyticum reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Hum. Reprod.* , October. pp.2756-61.
- O'Bryan M K, Schlatt S, Gerdprasert O & Phillips D J , 2000. Inducible nitric oxide synthase in the rat testis: evidence for potential roles in both normal function and inflammation-mediated infertility. *Biol Reprod*, Nov. pp.1285-93.
- Oliphant, & Green., , 2002. Quinolones: a comprehensive review. *Am. Fam. Phys.* , 65(),., March. p.455.
- Ouzounova-Raykova , , Rangelov, & Ouzounova, , 2015. Detection of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in infertile Bulgarian men with multiplex real-time polymerase chain reaction. *APMIS*, Jul. pp.586-8.
- P. Martínez, F. Proverbio & Camejo., , 2007. Sperm lipid peroxidation and pro-inflammatory cytokines. *Asian J. Androl.* , (1), September. pp.102-07.
- Parekattil S, Esteves S & Agarwal A, 2020. *Male Infertility: Contemporary Clinical Approaches, Andrology, ART and Antioxidants*. Springer International Publishing.
- Pasqualotto FF, Sharma RK, Potts JM & Nelson DR , 2000. seminal oxidative stress in patients with chronic prostatitis.. *Urology* , pp.881–85.
- Qian, , Li , & Li , , 2016. Effect of hepatitis B virus infection on sperm quality and oxidative stress state of the semen of infertile males. *Am J Reprod Immunol*, Sep. pp.183-5.
- Ramirez, , Carreras, & Mendoza. , C., 1992. Sperm plasma membrane integrity in fertile and infertile men.. *Andrologia* , March. pp.141-44.

- Rivlin J, Mendel J & Rubinstein S, Etkovitz N , 2004. Role of hydrogen peroxide in sperm capacitation and acrosome reaction.. *Biol Reprod.* , pp.518–22.
- Row, P., Comhaire, , Hargreave, & Mahmoud, , 2000. WHO Manual for the Standardized Investigation, Diagnosis and Management of the Infertile Male. *World Health Organization*, pp.52-54.
- Ruizeveld de Winter A , Trapman J & Vermey M , 1991. Androgen receptor expression in human tissues: an immunohistochemical study. *J Histochem Cytochem*, Jul. pp.927-36.
- S. Dutta, A. Majzoub & A. Agarwal., 2019. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab J. Urol.*, February. pp.87-97.
- Sacks-Davis, , McBryde, & Grebel, , 2015. Many hepatitis C reinfections that spontaneously clear may be undetected: Markov-chain Monte Carlo analysis of observational study data. *J R Soc Interface*, Mar.
- Sakamoto T & Imai H., 2017. Hydrogen peroxide produced by superoxide dismutase SOD-2 activates sperm in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem.*, pp.14804–13.
- Sakkas D, Urner F & Bizzaro D, 1998. Sperm nuclear DNA damage and altered chromatin structure: effect on fertilization and embryo development. *Hum Reprod.*, pp.11–9.
- Saleh , R.A. & Agarwal, A., 2002. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl*, Nov-Dec. pp. 737-52.
- Saleh RA, Agarwal A & Kandirali E, 2002. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa.. *Fertil Steril*, pp.1215–24.
- Samarasinghe SVAC, Krishnan K & Naidu R , 2018. Parabens generate reactive oxygen species in human spermatozoa.. (). *Andrology*, pp.532–41.
- Sanocka D, Jedrzejczak P & Szumala A, 2003. Male genital tract inflammation: The role of selected interleukins in regulation of pro-oxidant and antioxidant enzymatic substances in seminal plasma. *J Androl*, May-Jun. pp.448-55.

- Sanocka, & Kurpisz, , 2004. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod. Biol. Endocrinol*, January. p.12.
- Santini SJ, Cordone V & Falone S, 2018. Role of mitochondria in the oxidative stress induced by electromagnetic fields: focus on reproductive systems. *Oxid Med Cell Longev.*
- Sarkar O, Bahrainwala J & Chandrasekaran S, 2011. Impact of inflammation on male fertility. *Front Biosci*, pp.89–95.
- Saxena P., Soni R., Randhawa V. & Singh N. , 2019. Can Seminal IL-8 Level Be Used as a Marker of Leukocytospermia and Does It Have Any Correlation with Semen Parameters in Infertile Couples? *J. Obs. Gyn. India* , May. pp.451-56.
- Seli, , Gardner, & Schoolcraft, , 2004. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, pp.378-83.
- Shang X, Huang Y & Ye Z, 2004. Protection of melatonin against damage of sperm mitochondrial function induced by reactive oxygen species. *Zhonghua Nan Ke Xue*, Augustus. pp.604–07.
- Sikka , S.C., M Rajasekaran & W J Hellstrom, 1995. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *J Androl*, Nov-Dec. pp.464-8.
- Singer, & Ouburg , , 2016. Effect of cytokine level variations in individuals on the progression and outcome of bacterial urogenital infections—a meta-analysis. *Path. Dis.*, March.
- Singh, & Chhikara, , 2014. Comparative global epidemiology of HIV infections and status of current progress in treatment. *Chem. Biol. Lett*, January. pp.14–32.
- Soubry A, Guo L & Huang Z, 2016. Obesity-related DNA methylation at imprinted genes in human sperm: results from the TIEGER study.. *Clin Epigenetics* , January.
- Sousa , , Amaral, & Baptista , , 2011. Not all sperm are equal: functional mitochondria characterize a subpopulation of human sperm with better fertilization potential. *PLoS One*, June.

- Sukcharoen N, Keith J & Irvine DS, 1995. Predicting the fertilizing potential of human sperm suspensions in vitro: importance of sperm morphology and leukocyte contamination. *Fertil Steril.*, pp.1293–300.
- Sun M, Wang R & Zhang H, 2020. Molecular cytogenetic characterization of small supernumerary marker 15 in infertile male: a case report.. *Exp Ther Med.* .
- SURAI , O., 2002. *Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction.* Nottingham: Nottingham University Press.
- Swegen A, Lambourne SR & Aitken RJ , 2016. Rosiglitazone improves stallion sperm motility, ATP content, and mitochondrial function. *Biol Reprod.* , pp.95-107.
- Syriou V., Papanikolaou D. & Kozyraki A. , 2018. Cytokines and male infertility. *Eur. Cytokine Networ*, March. pp.73-82.
- T. Bhattarai, P. Chaudhuri & K. Bhattacharya , 2014. Effect of progesterone supplementation on post-coital unilaterally ovariectomized superovulated mice in relation to implantation and pregnancy. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, July. pp.29-31.
- Taylor JD, Baumgartner A & Schmid TE, 2019. Taylor JD, Baumgartner A, Schmid TE, Brinkworth MH. Responses to genotoxicity in mouse testicular germ cells and epididymal spermatozoa are affected by increased age. *Toxicol Lett.* ( ) 310. doi: 10.1016/j.toxlet.2019.04.013, pp.1–6.
- Tefik T, Kucukgergin C & Sanli O, 2013. Manganese superoxide dismutase Ile58Thr, catalase C-262 T and myeloperoxidase G-463 A gene polymorphisms in patients with prostate cancer: relation to advanced and metastatic disease.. *BJU Int* , April. pp.406 - 414.
- Theam O. , Dutta S. & Sengupta P. , 2020. Role of leukocytes in reproductive tract infection and male infertility.. *Chem. Biol. Lett.* , February. pp. 124- 130.
- Trang NT, Huyen VT & Tuan NT , 20178. Association of N-acetyltransferase-2 and glutathione S-transferase polymorphisms with idiopathic male infertility in Vietnam male subjects. *Chem Biol Interact* , pp.11–16.
- Tremellen K, 2008. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update* , May-Jun. pp.243-58.

- Turner TT, Bang HJ & Lysiak JJ , 2005. Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology*, February. pp.390–94.
- Valdivia A, Cortés L & Beitia M, 2020. Role of angiotensin-(1–7) via MAS receptor in human sperm motility and acrosome reaction. *Reproduction*..
- Vatannejad A, Tavilani H & Sadeghi MR , 2019. Evaluation of the NOX5 protein expression and oxidative stress in sperm from asthenozoospermic men compared to normozoospermic men. *J Endocrinol Invest.*, pp.1181–9.
- Victor M, Milagros Rochab M & De la Fuente, , 2004. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *International Immunopharmacology*, March. pp. 327-347.
- WHO, 2000. *Manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple*. Cambridge University Press.
- Wikström, A. & Jensen, , 2006. Mycoplasma genitalium: a common cause of persistent urethritis among men treated with doxycycline. *Sex. Trans. Infect.*, April. pp. 276-279.
- Wu H, Sun L & Wen Y, 2016. Major spliceosome defects cause male infertility and are associated with nonobstructive azoospermia in humans.. *Proc Natl Acad Sci USA.* , pp.4134–9.
- Xavier MJ, Nixon B & Roman SD , 2019. Paternal impacts on development: identification of genomic regions vulnerable to oxidative DNA damage in human spermatozoa. *Hum Reprod.*, pp.1876–90.
- Xiong D-K, Chen H-H & Ding X-P, , 2015. Association of polymorphisms in glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with idiopathic azoospermia or oligospermia in Sichuan China. *Asian J Androl*, March. p.481.
- Yan L, Guo W & Wu S, 2014. Genetic variants in nitric oxide synthase genes and the risk of male infertility in a Chinese population: a case-control study.. *PLoS One*, December 17.
- Zamani-Badi T, Karimian M, Azami-Tameh A & Nikzad H, 2019. Association of C3953T transition in interleukin 1 $\beta$  gene with idiopathic male infertility in an Iranian population. *Hum Fertil*, pp.111–17.



Zeighami, , Peerayeh. , & Yazdi, R. Sorouri, , 2009. Prevalence of Ureaplasma urealyticum and Ureaplasma parvum in semen of infertile and healthy men. *Int. J. STD AIDS* , June. pp.387-90.

Zhang H, Wang R & Yu Y, 2019. Non-robertsonian translocations involving chromosomes 13, 14, or 15 in male infertility: 28 cases and a review of the literature.. *Medicine* .

Zhang Y, Malekpour M & Al-Madani N , 2007. Sensorineural deafness and male infertility: a contiguous gene deletion syndrome. *J Med Genet.*

Zorn, , Virant-Klun, & Vidmar, , 2004. Seminal elastase-inhibitor complex, a marker of genital tract inflammation, and negative IVF outcome measures: role for a silent inflammation? *Int. J. Androl.*, March. pp.368-74.