



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ**



**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗ ΓΥΝΑΙΚΕΙΑ  
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ**

**ΚΑΡΑΤΑΣΙΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΑ  
ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ ΤΕ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Επιβλέπων Καθηγητής:** DR. Νταφόπουλος Κωνσταντίνος, MD, PhD Καθηγητής  
Μαιευτικής - Γυναικολογίας

**Μέλος Τριμελούς Επιτροπής:** Νταφόπουλος Αλέξανδρος, Διδάκτωρ Μαιευτικής -  
Γυναικολογίας

**Μέλος Τριμελούς Επιτροπής:** Πετεινάκη Ευθυμία, Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

**Λάρισα, 2019**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ**



**MASTER'S THESIS**  
**NUTRITION AND OXIDATE STRESS IN FEMALE**  
**REPRODUCTION**

## Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία με θέμα: «Διατροφή και Οξειδωτικό Στρες στη Γυναικεία Αναπαραγωγή», πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια των σπουδών μου στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών: Η Διατροφή στην Υγεία και στη Νόσο, του τμήματος Ιατρικής, της Σχολής Επαγγελματιών Υγείας, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Στο σημείο αυτό αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις ειλικρινείς και θερμές ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας. Και πρώτα απ' όλα, στον επιβλέπων καθηγητή μου, κ. Κωνσταντίνο Νταφόπουλο, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τη συνεχή καθοδήγηση, την αμέριστη υποστήριξη, τις ουσιώδεις συμβουλές, καθώς και την αδιάκοπη συμπαράσταση και ενθάρρυνση, που μου παρείχε σε όλο αυτό το διάστημα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την ηθική και υλική συμπαράσταση, που μου έδειξε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου και να τους αφιερώσω αυτή την εργασία.

## Πίνακας Περιεχομένων

Ευχαριστίες	3
Περίληψη	5
Abstract	6
Συντομογραφίες	7
Εισαγωγή	9
Κεφάλαιο 1 <sup>ο</sup> : Γυναικεία γονιμότητα	12
1.1 Γενικά	12
1.2 Επιδημιολογικά στοιχεία	14
1.3 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης υπογονιμότητας	17
Κεφάλαιο 2 <sup>ο</sup> : Οξειδωτικό στρες και γυναικεία αναπαραγωγή	20
2.1 Οξειδωτικό στρες	20
2.2 Οξειδωτικό στρες και γονιμότητα	22
2.3 Οξειδωτικό στρες και υπογονιμότητα	28
Κεφάλαιο 3 <sup>ο</sup> : Οξειδωτικό στρες και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή	37
Κεφάλαιο 4 <sup>ο</sup> : Διατροφή σε οξειδωτικό στρες και η επίδραση στη γυναικεία γονιμότητα	42
4.1 Διατροφή και γυναικεία γονιμότητα	43
4.2 Αντιοξειδωτική θεραπεία και γυναικεία γονιμότητα	47
4.3 Αντιοξειδωτική θεραπεία στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή	50
Συμπεράσματα	54
Βιβλιογραφία	55

## Περίληψη

Το οξειδωτικό στρες συνδέεται με τη μειωμένη γυναικεία γονιμότητα, σε *in vivo* και *in vitro* γονιμοποίηση. Υπάρχουν πολλά ερευνητικά στοιχεία, που συσχετίζουν το οξειδωτικό στρες με στοιχεία που επηρεάζουν το χρόνο και τη διατήρηση μιας βιώσιμης εγκυμοσύνης. Η πρόσληψη αντιοξειδωτικών θρεπτικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης πολυβιταμινών, επηρεάζει τη δημιουργία αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και μπορεί να παίζει ωφέλιμο ρόλο στη γυναικεία γονιμότητα.

Ο ρόλος της διατροφικής πρόσληψης των αντιοξειδωτικών στη σύλληψη και την έκβαση των γεννήσεων είναι ένα θέμα που παρουσιάζει ενδιαφέρον. Χαμηλότερη συνολική αντιοξειδωτική κατάσταση παρατηρείται σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και ενδομητρίωση. Επιπλέον, τα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη μειωμένη γονιμότητα, όπως η προχωρημένη μητρική ηλικία και η παχυσαρκία, σχετίζονται επίσης με αυξημένο οξειδωτικό στρες.

Στην παρούσα μελέτη, εξετάζουμε την αντιοξειδωτική πρόσληψη, που χρειάζεται μια γυναίκα, που επιθυμεί να συλλάβει. Δεδομένου ότι η παχυσαρκία και η ηλικία επηρεάζουν τη γονιμότητα και το δυναμικό διακύμανσης της πρόσληψης των μικροθρεπτικών συστατικών επηρεάζει τις δύο παραμέτρους, εξετάζεται ποια είναι η κατάλληλη διατροφή. Η υψηλότερη πρόσληψη αντιοξειδωτικών, όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, το φυλλικό οξύ και το σίδηρο σχετίζεται με ένα μικρότερο χρονικό διάστημα μέχρι τη σύλληψη μεταξύ μιας ομάδας γυναικών, που έχουν ανεξήγητη υπογονιμότητα.

**Λέξεις-κλειδιά:** αντιοξειδωτικά, γυναικεία στειρότητα, οξειδωτικό στρες

## **Abstract**

Oxidative stress is associated with reduced female fertility, in vivo and in vitro fertilization. There are many research data that correlate oxidative stress with elements that affect time and maintain a viable pregnancy. Intake of antioxidant nutrients, including the use of multivitamins, affects the generation of reactive oxygen species and can play a beneficial role in female fertility.

The role of dietary intake of antioxidants in the conception and outcome of births is an issue of interest. A lower total antioxidant status is seen in women with polycystic ovarian syndrome and endometriosis. In addition, characteristics associated with reduced fertility, such as advanced maternal age and obesity, are also associated with increased oxidative stress.

In the present study, we look at the antioxidant intake that a woman wants to capture. Since obesity and age affect fertility and the potential for variation in the intake of micronutrients affects both parameters, consideration is given to the appropriate diet. Higher intake of antioxidants such as vitamin C, vitamin E, folic acid and iron is associated with a shorter period of time up to conception between a group of women who have unexplained infertility.

**Key words:** antioxidants, female sterility, oxidative stress

## Συντομογραφίες

ADHD: Attention-Deficit Hyperactivity Disorder – ADHD

ASA: Antisperm antibodies

ASRM: American Society for Reproductive Medicine

ART: Assisted Reproductive Techniques

cAMP: cyclic Adenosine Monophosphate

CAT: Catalase

cGMP: cyclic Guanosine Monophosphate

CRP: C-Reactive Protein

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος

DNA: Deoxyribonucleic Acid

FFAs: Free Fatty Acids

FSH: Follicle-Stimulating Hormone

GPx: Glutathione Peroxidase

GSR: Glutathione Reductase

HCG: Human Chorionic Gonadotropin

ICMART: International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology

IUGR: Intrauterine Growth Restriction

IVF: In Vitro Fertilisation

LPO: Lipid Peroxidation

MDA: Malondialdehyde

MRKH: Mayer Rokitansky Küstner Hauser

NF-κB: Nuclear Factor NF-κB

NICE: National Institute for Health and Care

NO: Nitric Oxide

PGF2α: Prostaglandin F2alpha

ΠΟΥ: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

RNA: Ribonucleic Acid

RNS: Reactive Nitrogen Species

ROS: Reactive Oxygen Species

RPL: Recurrent Pregnancy Loss

SO: Superoxide

SOD: Superoxide Dismutase

TAC: Total Antioxidant Capacity

TNF- $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor- $\alpha$

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

WHO: World Health Organization



## Εισαγωγή

Η διατροφή μπορεί να δημιουργήσει οξειδωτικό στρες και να προκαλέσει μια σειρά από μοριακά συμβάντα, που μπορούν να διαταράξουν την οξειδωτική και ορμονική ισορροπία. Η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών προάγει μια σημαντική φλεγμονώδη και οξειδωτική απόκριση σε κυτταρικό επίπεδο, μεταβάλλοντας την μεταβολική κατάσταση των ιστών. Ένα ντόμινο δυσμενών μεταβολικών μεταβολών ενορχηστρώνεται στα κύρια μεταβολικά όργανα, συμπεριλαμβανομένων του λιπώδους ιστού, του σκελετικού μυός, του ήπατος και του παγκρέατος, όπου λαμβάνει χώρα φλεγμονή, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, μιτοχondριακή απελευθέρωση και διαταραγμένη απόκριση και έκκριση ινσουλίνης. Ταυτόχρονα, στους αναπαραγωγικούς ιστούς, η οξειδωτική καταπόνηση, που προκαλείται από τη θρέψη, μπορεί δυνητικά να παραβιάζει τη λεπτή οξειδωτική ισορροπία, που είναι υποχρεωτική για την εξασφάλιση της φυσιολογικής αναπαραγωγικής λειτουργίας.

Ο οξειδωτικός μεταβολισμός είναι ένας ρυθμιστής της ωοθυλακιογένεσης. Οι ελεύθερες ρίζες και τα αντιοξειδωτικά φαίνεται να παίζουν έναν πολύπλοκο και πολυλειτουργικό ρόλο στο ωοθηκικό περιβάλλον κατά τη διάρκεια διαφορετικών σταδίων φυσιολογικής ωρίμανσης ωοκυττάρων (Szmuiłowicz et al, 2009). Εκτός από την ωοθυλακιογένεση, ο οξειδωτικός μεταβολισμός εμπλέκεται, επίσης, σε άλλες λειτουργίες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Στην παραγωγή των οιστρογόνων, έχει αποδειχθεί ότι οι ωοθήκες που υπερεκφράζουν το  $H_2O_2$  οδηγούν σε μειωμένη χρήση της χοληστερόλης και της πρωτεϊνικής σύνθεσης (Behrman et al, 2001). Επιπλέον, η έκθεση στο οξειδωτικό στρες πριν από τη γονιμοποίηση, οδηγεί σε διαταραχή της μειωτικής ατράκτου και αυξημένο κίνδυνο για μη φυσιολογικό σχηματισμό ζυγώτη, ειδικά όταν οι αντιοξειδωτικές άμυνες είναι ανεπαρκείς (Miesel et al, 1993). Τέλος, το μονοξείδιο του αζώτου (Nitric Oxide - NO) φαίνεται ότι φέρει κρίσιμο ρυθμιστικό ρόλο κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και την εμφύτευση (Guerin et al, 2001). Το NO συνεισφέρει ως παράγοντας κατά των αιμοπεταλίων, καθώς και ως ρυθμιστής της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανωσίνης (cyclic guanosine monophosphate - cGMP), που μεσολαβεί στην εκκριτική απόκριση της μήτρας, που διεγείρεται από τα οιστρογόνα στη θέση εμφύτευσης (Ruder et al, 2008). Συνολικά, η οξειδωτική ισορροπία στο

μικροπεριβάλλον των ωοθηκών και η διατήρηση αυτής είναι ζωτικής σημασίας για την εξασφάλιση της φυσιολογικής λειτουργίας και ανάπτυξης του ωαρίου.

Κατά συνέπεια, έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα πολυάριθμες μελέτες για να διερευνηθεί ο υποτιθέμενος ρόλος του οξειδωτικού στρες στη γονιμότητα. Στην πλειοψηφία τους συμμετέχουν γυναίκες που υποβάλλονται σε τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Assisted Reproductive Techniques - ART), όπου συσχετίζονται διάφοροι συστηματικοί και θυλακοειδείς δείκτες του οξειδωτικού στρες με τη γονιμοποίηση και την εγκυμοσύνη. Συγκεκριμένα, τα αυξημένα επίπεδα της μαλονδιαλδεΐδης (Malondialdehyde - MDA), των δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS), του NO και της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων (Lipid Peroxidation - LPO) στο θυλακοειδές υγρό των γυναικών που υποβάλλονται σε ART συσχετίστηκαν με χαμηλότερη ανταπόκριση των ωοθηκών, χαμηλότερη ποιότητα του εμβρύου, μειωμένη γονιμοποίηση και χαμηλά ποσοστά εγκυμοσύνης (Nunez-Calonge et al, 2016; Singh et al, 2013). Από την άλλη πλευρά, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των ωοθυλακίων (Total Antioxidant Capacity - TAC) των ασθενών που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση συσχετίστηκε θετικά με τα ποσοστά επιτυχίας (Bedaiwy et al, 2012), ενώ η ενισχυμένη αντιοξειδωτική κατάσταση του αίματος αποδείχθηκε ωφέλιμη για την επίτευξη εγκυμοσύνης σε αυτές τις γυναίκες.

Ο ρόλος της διατροφής και η επίδρασή της στην πρόκληση τοπικού οξειδωτικού στρες στο περιβάλλον των ωοθηκών έχει διερευνηθεί, αλλά σε πολύ μικρό βαθμό. Σε ένα πειραματικό μοντέλο από τους Valckx et al, (2015), τα δευτερογενή ωοθυλάκια καλλιεργήθηκαν in vitro παρουσία των ελεύθερων λιπαρών οξέων (Free Fatty Acids - FFAs) μέχρι το αντρικό στάδιο και αποδείχθηκε ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις των FFAs μπορούν δυνητικά να βλάψουν τη γονιμότητα, αλλάζοντας τη φυσιολογία των ωοθυλακίων και μειώνοντας την αναπτυξιακή ικανότητα των ωοκυττάρων. Ανάλογα, μια μελέτη παρατήρησης 236 γυναικών που υποβλήθηκαν σε πρόγραμμα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής αποκάλυψε ότι η πλούσια σε λιπαρά διατροφή μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες στο περιβάλλον των ωαρίων και να επηρεάσει αρνητικά την εμβρυϊκή ανάπτυξη (Kazemi et al, 2013).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση των μηχανισμών του οξειδωτικού στρες, που επιδρούν στην αναπαραγωγική λειτουργία στις γυναίκες και στην

υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, καθώς και η παρουσίαση της χρήσης της διατροφής ως θεραπευτικό μέσο για την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας.

Η εργασία απαρτίζεται από τέσσερα κεφάλαια. Το πρώτο κεφάλαιο αναφέρεται στην γυναικεία γονιμότητα και υπογονιμότητα. Στο δεύτερο κεφάλαιο αναλύεται το οξειδωτικό στρες και η επίδραση αυτού στην γυναικεία αναπαραγωγή και στο τρίτο γίνεται ανάλυση της συσχέτισης του οξειδωτικού στρες και της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Τέλος, στο τέταρτο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στη διατροφή σε οξειδωτικό στρες και η επίδραση στη γυναικεία γονιμότητα.

# Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Γυναικεία γονιμότητα

## 1.1 Γενικά

Η γονιμότητα είναι η φυσική δυνατότητα παραγωγής απογόνων. Ως μέτρο, ο ρυθμός γονιμότητας είναι ο αριθμός των απογόνων που γεννιούνται ανά ζεύγος ατόμων ή πληθυσμών. Η έλλειψη γονιμότητας καλείται υπογονιμότητα ή στειρότητα. Η γονιμότητα του ανθρώπου εξαρτάται από τους παράγοντες, όπως η διατροφή, η σεξουαλική συμπεριφορά, η συγγένεια, η κουλτούρα, το ένστικτο, η ορμονολογική κατάσταση των ατόμων, ο χρονισμός, η οικονομία, ο τρόπος ζωής των ατόμων και τα συναισθήματα.

Η γυναικεία γονιμότητα επηρεάζεται από την ηλικία. Η πρώτη εμμηνορροϊκή περίοδος εμφανίζεται συνήθως γύρω στη ηλικία των 12-13 ετών, αν και μπορεί να συμβεί νωρίτερα ή αργότερα. Μετά την εφηβεία, η γυναικεία γονιμότητα αυξάνεται και στη συνέχεια μειώνεται, με την έλευση της εμμηνόπαυσης. Η σχέση μεταξύ ηλικίας και της γυναικείας γονιμότητας αναφέρεται μερικές φορές ως «βιολογικό ρολόι» μιας γυναίκας (Hamilton-Fairley, 2004).

Η γυναικεία υπογονιμότητα αναφέρεται στη στειρότητα των γυναικών. Υπάρχουν περίπου 48 εκατομμύρια υπογόνιμες γυναίκες, με τη μεγαλύτερη επίπτωση στη Νότια Ασία, την Αφρική, τη Μέση Ανατολή και την Κεντρική / Ανατολική Ευρώπη και την Κεντρική Ασία (Mascarenhas et al, 2012). Η υπογονιμότητα προκαλείται από πολλές πηγές, όπως η διατροφή, οι ασθένειες και άλλες δυσπλασίες της μήτρας. Η υπογονιμότητα επηρεάζει τις γυναίκες σε όλο τον κόσμο και το πολιτιστικό και κοινωνικό στίγμα που τις περιβάλλει ποικίλλει.

Δεν υπάρχει συγκεκριμένος ορισμός της γυναικείας στειρότητας, επειδή εξαρτάται από τα κοινωνικά και τα φυσικά χαρακτηριστικά, τα οποία διαφέρουν ανάλογα με τον πολιτισμό και την κατάσταση. Οι κατευθυντήριες γραμμές του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας και Φροντίδας του Ηνωμένου Βασιλείου (National Institute for Health and Care Excellence - NICE) δηλώνουν ότι: Μια γυναίκα αναπαραγωγικής ηλικίας που δεν έχει συλλάβει μετά από ένα χρόνο μη προστατευόμενης κολπικής σεξουαλικής επαφής, ελλείψει οποιασδήποτε γνωστής αιτίας υπογονιμότητας, θα πρέπει να οδηγηθεί σε

περαιτέρω κλινική αξιολόγηση και έρευνα μαζί με τον σύντροφό της (NICE, 2013). Συνιστάται η πραγματοποίηση συναντήσεων με ειδικό για την υπογονιμότητα, εάν η γυναίκα είναι ηλικίας 36 ετών και άνω ή υπάρχει γνωστή κλινική αιτία υπογονιμότητας ή ιστορικό προδιαθεσικών παραγόντων υπογονιμότητας.

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), η στειρότητα μπορεί να περιγραφεί ως αδυναμία μιας γυναίκας να μείνει έγκυος, να διατηρηθεί μια εγκυμοσύνη ή να ολοκληρωθεί μια εγκυμοσύνη με τον τοκετό (WHO, 2013). Ένας κλινικός ορισμός της στειρότητας από τον ΠΟΥ και την Διεθνή Επιτροπή Παρακολούθησης Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγικής Τεχνολογίας (International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology – ICMART) είναι «μια ασθένεια του αναπαραγωγικού συστήματος που ορίζεται από την αποτυχία να επιτευχθεί εγκυμοσύνη μετά από 12 μήνες ή περισσότερο κανονικής μη προστατευμένης σεξουαλικής επαφής» (Zegers-Hochschild et al, 2009). Η υπογονιμότητα μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε πρωτοπαθή και δευτεροπαθή. Η πρωτοπαθής υπογονιμότητα αναφέρεται στην ανικανότητα γέννησης απογόνου, είτε λόγω μη σύλληψης, είτε λόγω αποβολής. Η δευτεροπαθής υπογονιμότητα αναφέρεται στην αδυναμία σύλληψης ή αποβολής, ενώ έχει υπάρξει προηγούμενη εγκυμοσύνη ή γέννηση (Rutstein & Iqbal, 2004).

## 1.2 Επιδημιολογικά στοιχεία

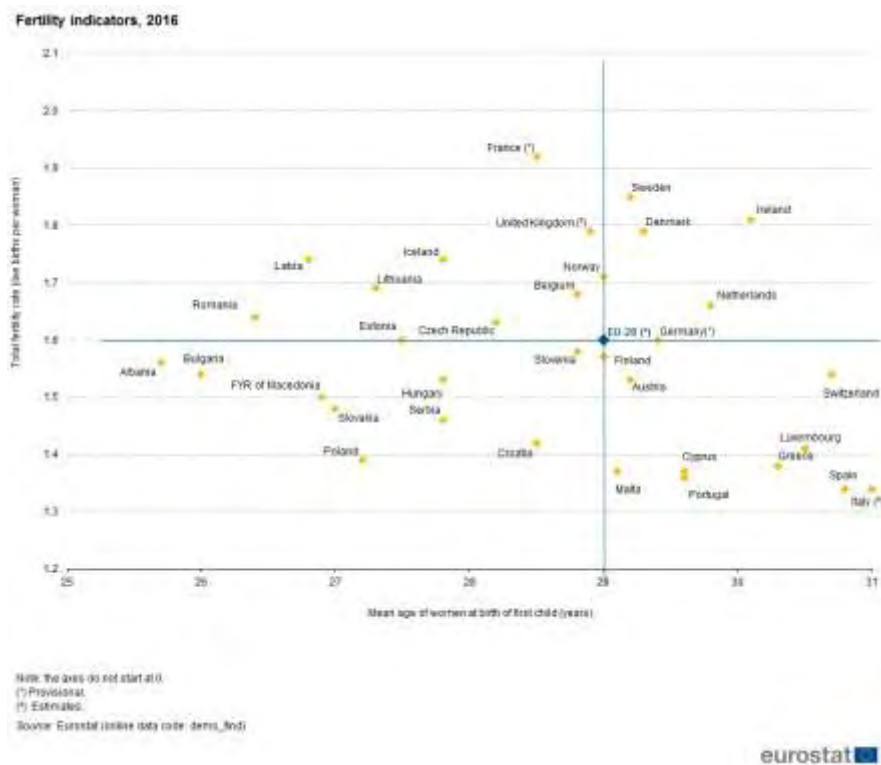
Στην εικόνα 1, που ακολουθεί, παρουσιάζεται ο αριθμός των γεννήσεων σε παγκόσμιο επίπεδο, από το 1960 – 2015 (<https://data.worldbank.org/indicator/SP.DYN.TFRT.IN>).



**Εικόνα 1: Ποσοστό γονιμότητας (γεννήσεις ανά γυναίκα)**

**Πηγή:** <https://data.worldbank.org/indicator/SP.DYN.TFRT.IN>

Στην εικόνα 2, που ακολουθεί, παρουσιάζεται ο αριθμός των γεννήσεων σε ολόκληρη την Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ). Τα ποσοστά γονιμότητας μειώθηκαν σταθερά από τα μέσα της δεκαετίας του 1960 μέχρι τα τέλη του αιώνα στα κράτη μέλη της ΕΕ. Ωστόσο, στις αρχές της δεκαετίας του 2000, το συνολικό ποσοστό γονιμότητας στην ΕΕ παρουσίασε σημάδια αύξησης. Η εξέλιξη αυτή σταμάτησε το 2010 και παρατηρήθηκε μεταγενέστερη μείωση σε σχετικά χαμηλό αριθμό το 2013, ακολουθούμενη από ελαφρά αύξηση προς το 2016 ([https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Fertility\\_statistics](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Fertility_statistics)). Το ποσοστό γονιμότητας στην Ελλάδα το 2016 ήταν 9,4%.



Εικόνα 2: Δείκτες γονιμότητας, 2016

Πηγή: Eurostat

Οι επιδράσεις της ηλικίας στη γυναικεία γονιμότητα, που έχουν βρεθεί σε γυναίκες που προσπαθούν να μείνουν έγκυες, χωρίς να χρησιμοποιούν φάρμακα γονιμότητας ή γονιμοποίηση in vitro, είναι (Leridon, 2004):

- Στην ηλικία των 30 ετών

Το 75% θα έχει μια σύλληψη, με ζωντανή γέννηση μέσα σε ένα έτος

Το 91% θα έχει μια σύλληψη, με ζωντανή γέννηση μέσα σε τέσσερα έτη

- Στην ηλικία 35 ετών

Το 66% θα έχει μια σύλληψη, με ζωντανή γέννηση μέσα σε ένα έτος

Το 84% θα έχει μια σύλληψη, με ζωντανή γέννηση μέσα σε τέσσερα έτη

- Στην ηλικία των 40 ετών

Το 44% θα έχει μια σύλληψη, με ζωντανή γέννηση μέσα σε ένα έτος

Το 64% θα έχει μια σύλληψη, με ζωντανή γέννηση μέσα τέσσερα έτη.

Υπολογίζεται ότι η υπογονιμότητα επηρεάζει μεταξύ 8 έως 12% των ζευγαριών ηλικίας αναπαραγωγής παγκοσμίως. Τα αρσενικά βρέθηκαν να είναι αποκλειστικά υπεύθυνα για το 20-30% των περιπτώσεων υπογονιμότητας, αλλά συνεισφέρουν στο 50% των περιπτώσεων συνολικά. Η δευτερογενής υπογονιμότητα είναι η πιο συνηθισμένη μορφή γυναικείας στειρότητας σε όλο τον κόσμο (Vander Borgh & Wyns, 2018).



### 1.3 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης υπογονιμότητας

Οι αιτίες ή οι παράγοντες της γυναικείας υπογονιμότητας μπορούν να ταξινομηθούν ως επίκτητες ή γενετικές.

#### Επίκτητοι παράγοντες

Σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία για την Αναπαραγωγική Ιατρική (American Society for Reproductive Medicine - ASRM), η ηλικία, το κάπνισμα, οι σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις και η παχυσαρκία ή αν είναι η γυναίκα λιπόσαρκη, μπορούν να επηρεάσουν τη γονιμότητα.

*Ηλικία:* Η γονιμότητα μιας γυναίκας επηρεάζεται από την ηλικία της. Η μέση ηλικία της πρώτης περιόδου ενός κοριτσιού είναι 12-13 έτη. Η γυναικεία γονιμότητα ξεκινά στα 20 έτη, και μειώνεται σταδιακά μετά την ηλικία των 35 ετών. Ωστόσο, οι ακριβείς εκτιμήσεις της πιθανότητας μιας γυναίκας να συλλάβει μετά από μια ορισμένη ηλικία δεν είναι σαφείς. Οι πιθανότητες ενός ζευγαριού να συλλάβει με επιτυχία σε προχωρημένη ηλικία εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, όπως η γενική υγεία μιας γυναίκας και η γονιμότητα του άνδρα (Hamilton-Fairley, 2004).

*Κάπνισμα:* Το κάπνισμα είναι επιβλαβές για τις ωοθήκες και ο βαθμός βλάβης εξαρτάται από την ποσότητα και τη διάρκεια του χρόνου που καπνίζει η γυναίκα ή εκτίθεται στο παθητικό κάπνισμα. Η νικοτίνη και άλλες επιβλαβείς χημικές ουσίες παρεμποδίζουν την ικανότητα του σώματος να δημιουργεί οιστρογόνα, μια ορμόνη που ρυθμίζει την ωοθυλακιογένεση και την ωορρηξία. Επίσης, το κάπνισμα επηρεάζει την ωοθυλακιογένεση, τη μεταφορά του εμβρύου, την δεκτικότητα του ενδομητρίου, την αγγειογένεση του ενδομητρίου, τη ροή αίματος στη μήτρα και το μυομήτριο (Dechanet et al, 2011). Ορισμένες βλάβες είναι μη αναστρέψιμες, αλλά η διακοπή του καπνίσματος μπορεί να αποτρέψει την εμφάνιση περαιτέρω επιπτώσεων. Οι καπνιστές είναι κατά 60% πιο πιθανό να έχουν στειρότητα από τους μη καπνιστές. Το κάπνισμα μειώνει τις πιθανότητες της εξωσωματικής γονιμοποίησης κατά 34% και αυξάνει τον κίνδυνο εξάλειψης της εγκυμοσύνης της εξωσωματικής γονιμοποίησης κατά 30%. Επίσης, οι γυναίκες καπνιστές έχουν μια πρόιμη εμφάνιση εμμηνόπαυσης κατά περίπου 1-4 χρόνια νωρίτερα (Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2008).

*Σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις:* Αποτελούν την κύρια αιτία της υπογονιμότητας. Συνήθως τα νοσήματα αυτά εμφανίζουν λίγα ή καθόλου συμπτώματα, με κίνδυνο να μην παρέχεται η κατάλληλη θεραπεία εγκαίρως για την αποτροπή της μειωμένης γονιμότητας

*Βάρος και διατροφικές διαταραχές:* Το 12% των περιπτώσεων των γυναικών με υπογονιμότητα είναι παχύσαρκες ή λιπόσαρκες. Τα λιπώδη κύτταρα παράγουν οιστρογόνα, εκτός από τα πρωτεύοντα γεννητικά όργανα (Nelson & Bulun, 2001). Το λίγο σωματικό λίπος προκαλεί μεγαλύτερη παραγωγή οιστρογόνων και το σώμα αρχίζει να αντιδρά, περιορίζοντας τις πιθανότητες της σύλληψης. Το υπερβολικό σωματικό λίπος προκαλεί ανεπαρκή παραγωγή οιστρογόνων και διακοπή του εμμηνορροϊκού κύκλου. Η σωστή διατροφή στην πρώιμη ζωή είναι, επίσης, ένας σημαντικός παράγοντας για την μεταγενέστερη γονιμότητα (Sloboda et al, 2010).

*Χημειοθεραπεία:* Η χημειοθεραπεία ενέχει υψηλό κίνδυνο υπογονιμότητας. Η γυναικεία υπογονιμότητα μετά από χημειοθεραπεία φαίνεται να είναι δευτερογενής σε πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια λόγω της απώλειας των αρχέγονων ωοθυλακίων. Αυτή η απώλεια δεν είναι απαραίτητως από την άμεση επίδραση των χημειοθεραπευτικών παραγόντων, αλλά μπορεί να οφείλεται στον αυξημένο ρυθμό έναρξης της ανάπτυξης για να αντικαταστήσει τα κατεστραμμένα αναπτυσσόμενα θυλάκια (Morgan et al, 2012). Ο αριθμός των θυλακίων του άντρου μειώνεται μετά από τρεις σειρές χημειοθεραπείας, ενώ η ορμόνη διέγερσης των ωοθυλακίων (Follicle stimulating hormone - FSH) φθάνει στα επίπεδα της εμμηνόπαυσης μετά από τέσσερις σειρές. Άλλες ορμονικές αλλαγές στη χημειοθεραπεία περιλαμβάνουν τη μείωση των επιπέδων της ορμόνης της αναστολίνης Β και της αντιμυελλίνης (Rosendahl et al, 2010).

Οι γυναίκες μπορούν να επιλέξουν μεταξύ διαφόρων μεθόδων συντήρησης της γονιμότητας πριν από τη χημειοθεραπεία, συμπεριλαμβανομένης της κρυοσυντήρησης του ωοθηκικού ιστού, των ωοκυττάρων ή των εμβρύων (Gurgan et al, 2008).

*Ανοσοποιητική στειρότητα:* Τα αντισπερματικά αντισώματα (Antisperm antibodies - ASA) θεωρήθηκαν ότι προκαλούν υπογονιμότητα περίπου στο 10-30% των στείρων ζευγαριών (Restrepo & Cardona-Maya, 2013).

*Άλλοι παραγόμενοι παράγοντες:* Σακχαρώδης διαβήτης (Codner et al, 2012), Κοιλιοκάκη (Tersigni et al, 2014; Lasa et al, 2014), Ηπατική ή νεφρική νόσος, Θρομβοφιλία (Qublan

et al, 2006), Κάπνισμα κάνναβης, όπως η μαριχουάνα (Karasu et al, 2011), Ακτινοβολία, όπως σε ακτινοθεραπεία (Tichelli & Ronó, 2013).

### **Γενετικοί παράγοντες**

Υπάρχουν πολλά γονίδια, των οποίων η μετάλλαξη προκαλεί γυναικεία στειρότητα. Επίσης, υπάρχουν πρόσθετες συνθήκες που σχετίζονται με τη γυναικεία στειρότητα, οι οποίες πιστεύεται ότι είναι γενετικές, αλλά όπου κανένα γονίδιο δεν έχει αναφερθεί ως υπεύθυνο, όπως το σύνδρομο Mayer-Rokitansky-Küstner-Hauser (MRKH) (Sultan et al, 2009). Τέλος, ένας άγνωστος αριθμός γενετικών μεταλλάξεων προκαλεί μια κατάσταση υπογονιμότητας. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες που προκαλούν γυναικεία υπογονιμότητα περιλαμβάνουν το σύνδρομο Turner. Η δωρεά ωαρίων είναι μια εναλλακτική λύση για τους ασθενείς με σύνδρομο Turner (Bodri et al, 2006).

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: Οξειδωτικό στρες και γυναικεία αναπαραγωγή

### 2.1 Οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες αντανακλά μια ανισορροπία μεταξύ της συστηματικής εκδήλωσης των αντιδραστικών τύπων του οξυγόνου και της ικανότητας ενός βιολογικού συστήματος να αποτοξινώνει εύκολα τα δραστικά ενδιάμεσα ή να αποκαθιστά τη ζημία που προκύπτει. Οι διαταραχές στην οξειδοαναγωγή των κυττάρων μπορούν να προκαλέσουν τοξικές επιδράσεις μέσω της παραγωγής υπεροξειδίων και ελεύθερων ριζών, που βλάπτουν όλα τα συστατικά του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA. Το οξειδωτικό στρες προκαλεί αλλαγές στις βάσεις του DNA, καθώς και θραύσεις των κλώνων. Η βλάβη στις βάσεις είναι ως επί το πλείστον έμμεση και προκαλείται από τα δραστικά είδη του οξυγόνου (reactive oxygen species - ROS), που δημιουργούνται, π.χ. O<sub>2</sub><sup>-</sup> (υπεροξειδική ρίζα), OH (ρίζα υδροξυλίου) και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (υπεροξείδιο του υδρογόνου) (Chandra et al, 2015). Περαιτέρω, ορισμένα αντιδραστικά οξειδωτικά είδη δρουν ως κυτταρικοί αγγελιοφόροι στη σηματοδότηση της οξειδοαναγωγής. Έτσι, το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει διαταραχές στους φυσιολογικούς μηχανισμούς της κυτταρικής σηματοδότησης.

Στον άνθρωπο, το οξειδωτικό στρες πιστεύεται ότι εμπλέκεται στην ανάπτυξη της Διαταραχής ελλειμματικής προσοχής / υπερκινητικότητας (Attention-Deficit Hyperactivity Disorder – ADHD) (Joseph et al, 2015), του καρκίνου (Halliwell, 2007), της νόσου του Parkinson (Hwang, 2013), της νόσου Lafora (Romá-Mateo et al, 2015), του συνδρόμου Alzheimer (Valko et al, 2007), της αθηροσκλήρωσης (Bonomini et al, 2008), της καρδιακής ανεπάρκειας (Singh et al, 1995), του εμφράγματος του μυοκαρδίου (Ramond et al, 2011), του εύθραυστου συνδρόμου X (de Diego-Otero et al, 2009), της δρεπανοκυτταρικής νόσου (Amer et al, 2006), του λειχήνα (Aly & Shahin, 2010), της λεύκης (Arican & Kurutas, 2008), του αυτισμού (Kennedy et al, 2005), της κατάθλιψης και του συνδρόμου Asperger (Parellada et al, 2012). Ωστόσο, τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου μπορεί να είναι επωφελείς, καθώς χρησιμοποιούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα ως τρόπο επίθεσης και θανάτωσης των παθογόνων (Segal, 2005). Το βραχυπρόθεσμο οξειδωτικό στρες μπορεί, επίσης, να είναι σημαντικό για την πρόληψη

της γήρανσης με επαγωγή μίας διαδικασίας που ονομάζεται μιτοχρωσσία (Gems & Partridge, 2008).

### **Χημικές και βιολογικές επιδράσεις**

Χημικά, το οξειδωτικό στρες συνδέεται με την αυξημένη παραγωγή ROS ή με τη σημαντική μείωση της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών, όπως η γλουταθειόνη (Schafer & Buettner, 2001). Οι επιδράσεις του οξειδωτικού στρες εξαρτώνται από το μέγεθος αυτών των αλλαγών, δηλαδή κατά πόσο ένα κύτταρο είναι σε θέση να ξεπεράσει τις μικρές διαταραχές και να ανακτήσει την αρχική του κατάσταση. Ωστόσο, το οξειδωτικό στρες σοβαρής μορφής μπορεί να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο και το οξειδωτικό στρες μέτριας μορφής μπορεί να προκαλέσει απόπτωση, ενώ οι πιο έντονες πιέσεις μπορεί να προκαλέσουν νέκρωση (Lennon et al, 1991).

Η παραγωγή των ROS είναι μια ιδιαίτερα καταστρεπτική πλευρά του οξειδωτικού στρες. Τέτοια είδη περιλαμβάνουν τις ελεύθερες ρίζες και τα υπεροξειδία. Μερικά από τα λιγότερο δραστικά από αυτά τα είδη, όπως το υπεροξειδίο, μπορούν να μετατραπούν με αντιδράσεις οξειδοαντίδρασης σε μεταβατικά μέταλλα ή άλλες ενώσεις κυκλοξειδωσης (συμπεριλαμβανομένων κινονών) και μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένη κυτταρική βλάβη (Valko et al, 2005). Οι περισσότερες μακροπρόθεσμες επιπτώσεις είναι αυτές που προκαλούνται στο DNA. Η βλάβη του DNA που προκαλείται από την ιονίζουσα ακτινοβολία είναι παρόμοια με το οξειδωτικό στρες και οι βλάβες αυτές έχουν εμπλακεί στη γήρανση και τον καρκίνο (Evans & Cooke, 2004).

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ιδιαίτερα το αραχιδονικό οξύ και το λινελαϊκό οξύ, είναι πρωταρχικοί στόχοι για την οξείδωση του οξυγόνου ελεύθερης ρίζας και απλής ρίζας. Ενώ πολλά από τα προϊόντα οξείδωσης χρησιμοποιούνται ως δείκτες του οξειδωτικού στρες, τα προϊόντα που προέρχονται από το λινελαϊκό οξύ είναι ευκολότερα αναγνωρίσιμα και ποσοτικοποιημένα (Waddington et al, 2003). Εκτός από το γεγονός ότι χρησιμεύουν ως δείκτες, τα προϊόντα του λινολεικού και του αραχιδονικού οξέος μπορούν να συμβάλλουν σε βλάβες ιστών και / ή DNA, αλλά, επίσης, λειτουργούν ως σήματα για την διέγερση μονοπατιών που λειτουργούν για την καταπολέμηση του οξειδωτικού στρες (Galano et al, 2013).

## 2.2 Οξειδωτικό στρες και γονιμότητα

Τα πιο σημαντικά βιολογικά ROS είναι ανιόν υπεροξειδίου ( $O_2^-$ ), ρίζα υδροξυλίου ( $\bullet OH$ ), υπεροξυ ( $ROO\bullet$ ), αλκοξυλ ( $RO\bullet$ ) και υδροπεροξυλ ( $HO_2\bullet$ ). Τα είδη των ελεύθερων ριζών είναι ασταθή και εξαιρετικά αντιδραστικά, αλλά μπορούν να γίνουν σταθερά αποκτώντας ηλεκτρόνια από λιπίδια, νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες ή άλλα μόρια, προκαλώντας αλυσιδωτές αντιδράσεις και καταλήγοντας σε κυτταρικές βλάβες και ασθένειες. Επομένως, μπορεί να προκληθεί βλάβη στο DNA, υπεροξειδωση των λιπιδίων και βλάβη των πρωτεϊνών. Υπό κανονικές συνθήκες, υπάρχουν δύο τύποι αντιοξειδωτικών στο σώμα: τα μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά και τα ενζυματικά αντιοξειδωτικά. Τα ενζυματικά αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν την υπεροξειδάση γλουταθειόνης (GPx), την καταλάση (CAT) και την αναγωγάση γλουταθειόνης (GSR), η οποία μπορεί να προκαλέσει μείωση του  $H_2O_2$  σε νερό και αλκοόλ. Τα μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά είναι γνωστά ως συνθετικά αντιοξειδωτικά ή συμπληρώματα διατροφής, όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, το β-καροτένιο, το σελήνιο, ο ψευδάργυρος, η ταυρίνη, η γλουταθειόνη κ.ο.κ. (Lu et al, 2018).

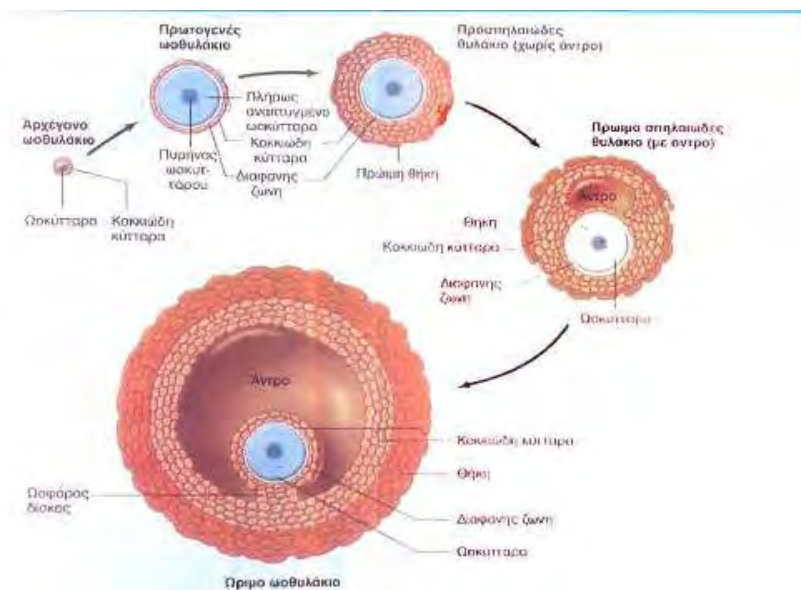
Το οξειδωτικό στρες θεωρείται υπεύθυνο για την έναρξη ή την ανάπτυξη παθολογικών διεργασιών, που επηρεάζουν την αναπαραγωγική διαδικασία των γυναικών (Agarwal, 2006), όπως η εμβρυϊκή απορρόφηση, η επαναλαμβανόμενη απώλεια της εγκυμοσύνης, η προεκλαμψία, ο περιορισμός της ενδομήτριας ανάπτυξης (Intrauterine Growth Restriction - IUGR) και ο θάνατος του εμβρύου (Gupta et al, 2007). Ωστόσο, η σχέση μεταξύ του οξειδωτικού στρες, που προκαλείται από τα ROS και των ασθενειών είναι ασαφής και δεν μπορεί να διερευνηθεί επαρκώς στην ανθρώπινη κύηση, λόγω των αυτονόητων δεοντολογικών λόγων.

Το φυσιολογικά επίπεδα των ROS παίζουν έναν σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο μέσω διαφόρων οδών μεταγωγής της σηματοδότησης στην ωοθυλακιογένεση, την ωρίμανση των ωοκυττάρων του ωχρού σώματος και την εμβρυοπλακουντιακή ανάπτυξη (Agarwal et al, 2008). Ωστόσο, τα ROS μπορεί μερικές φορές να έχουν επιζήμια αποτελέσματα όταν είναι σε υψηλές ποσότητες. Είναι ένα από τα κεντρικά στοιχεία της κυτταρικής σηματοδότησης, της γονιδιακής έκφρασης, της διατήρησης της ομοιόστασης της

οξειδοαναγωγής και των οδών μεταγωγής σήματος, που εμπλέκονται στη λειτουργία, την ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και το θάνατο των κυττάρων (Valko et al, 2007).

### Αναπαραγωγική διαδικασία

Είναι γνωστό ότι η ανάπτυξη των ωοθυλακίων των ωοθηκών είναι μια συνεχής διαδικασία (Εικόνα 3). Υπάρχουν πέντε στάδια στα θηλυκά θηλαστικά. Κατά τη διάρκεια αυτών των σταδίων, η δομή του ενδομητρίου υφίσταται ορισμένες αλλαγές. Τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη εκκρίνονται μέσω των ωοθηκών και της μήτρας και υφίστανται αλλαγές κατά τη διάρκεια του κύκλου. Επιπλέον, αλλάζει και η θερμοκρασία του σώματος, ενώ το πάχος του ενδομητρίου υφίσταται τον αντίστοιχο μετασχηματισμό (Banks, 1981).



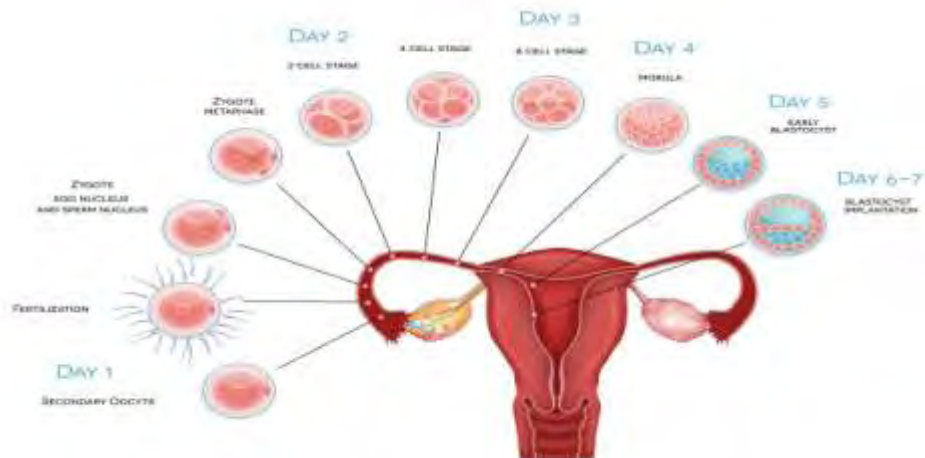
Εικόνα 3: Ανάπτυξη ωοθυλακίων των ωοθηκών

Πηγή: [ΠΠΟ ΑΠΛΟΠΟΙΗΜΕΝΗ Η ΑΝΑΦΟΡΑ](#)

[https://www.google.gr/url?sa=i&source=images&cd=&ved=&url=http%3A%2F%2Fphysiology.med.uoa.gr%2Ffileadmin%2Fphysiology.med.uoa.gr%2Fuploads%2FParousiaseis%2FSimopoulou%2F2.pdf&psig=AOvVaw0qrqOmNdGdc\\_U\\_HLsyFZXt&ust=1542885849425083](https://www.google.gr/url?sa=i&source=images&cd=&ved=&url=http%3A%2F%2Fphysiology.med.uoa.gr%2Ffileadmin%2Fphysiology.med.uoa.gr%2Fuploads%2FParousiaseis%2FSimopoulou%2F2.pdf&psig=AOvVaw0qrqOmNdGdc_U_HLsyFZXt&ust=1542885849425083)

Ο συνδυασμός των σπερματοζωαρίων και ωαρίων αποτελείται από τρία στάδια: την διάλυση «corona diatata», τη διάλυση στην περιοχή της ζώνης του εμβρύου και τη γονιμοποίηση των ωαρίων. Η διαδικασία πραγματοποιείται στη σάλπιγγα. Η εγκυμοσύνη

ξεκινά όταν σχηματίζεται το γονιμοποιημένο ωάριο. Η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (Human Chorionic Gonadotropin - HCG) αυξάνεται πρώτα και στη συνέχεια μειώνεται. Τόσο τα οιστρογόνα, όσο και η προγεστερόνη αυξάνονται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Σημειώνεται ότι η διαδικασία εμφύτευσης είναι σημαντική στα αναπαραγωγικά γεγονότα. Η διαδικασία περιλαμβάνει την επαφή, τη διάλυση, την εισβολή, την περιτύλιξη και την επισκευή (Εικόνα 4) (Al-Gubory et al, 2010).



Εικόνα 4: Διαδικασία εμφύτευσης

Πηγή: [ΠΟ ΑΠΛΟΠΟΙΗΜΕΝΗ Η ΑΝΑΦΟΡΑ](https://harroulabilali.gr/%CF%83%CF%85%CE%BB%CE%BB%CE%B7%CF%88%CE%B7/)

<https://harroulabilali.gr/%CF%83%CF%85%CE%BB%CE%BB%CE%B7%CF%88%CE%B7/>

### Οξειδωτικό στρες στις ωοθήκες

Τα ROS επηρεάζουν μια ποικιλία φυσιολογικών λειτουργιών των ωοθηκών, συμπεριλαμβανομένης της γένεσης των στεροειδών των ωοθηκών, της ωρίμανσης των ωοκυττάρων, της ωορρηξίας, του σχηματισμού των βλαστοκυττάρων, της εμφύτευσης, της λουτεόλυσης και της ωχράς διατήρησης κατά την εγκυμοσύνη. Το οξειδωτικό στρες είναι ένας σημαντικός διαμορφωτής των γεννητικών κυττάρων των ωοθηκών και της φυσιολογίας των στρωματικών κυττάρων (Sharma & Agarwal, 2004). Οι συγκεντρώσεις των ROS θα μπορούσαν, επίσης, να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση και γονιμοποίηση των ωοθηκών (Shkolnik et al, 2011).

Τα ROS ασκούν τόσο αρνητική, όσο και θετική επίδραση στις ωοθήκες (Shkolnik et al, 2011). Τα ROS επηρεάζουν πολλαπλές φυσιολογικές και παθολογικές



δραστηριότητες στις ωοθήκες, από την ωρίμανση των ωαρίων έως τη γονιμοποίηση. Σε κύκλους της έμμηνου ρύσεως, οι διάφοροι δείκτες του λειτουργικού συστήματος επηρεάζονται αρνητικά (Suzuki et al, 1999). Τα μακροφάγα, τα λευκοκύτταρα και οι κυτοκίνες που υπάρχουν στο μικροπεριβάλλον των ωοθυλακίων είναι σημαντικές πηγές για τα ROS. Τα ROS στο θυλακοειδές υγρό προωθούν την ωοθυλακική ανάπτυξη, την ωρίμανση των ωοκυττάρων και τη βιοσύνθεση των στεροειδών των ωοθηκών (Fujii et al, 2005). Ταυτόχρονα, η αγγειογένεση είναι μια περίπλοκη διαδικασία, η οποία προωθείται από τα οιστρογόνα που ρυθμίζουν ορισμένους κυτταρικούς παράγοντες, όπως τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (Vascular endothelial growth factor – VEGF) (Albrecht et al, 2003). Τα ROS που παράγονται από την οξειδάση NADP (H) αποδείχθηκαν σημαντικά για την αγγειογένεση in vivo και τη σηματοδότηση του VEGF in vitro (Ushio-Fukai & Alexander, 2004). Συνεπώς, τα ROS εμπλέκονται στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων εν μέρει ρυθμίζοντας την αγγειογένεση.

Για την ωοθυλακιορρηξία απαιτείται κατάλληλη ποσότητα των ROS. Τα ROS, που παράγονται από το θυλάκιο θεωρούνται κρίσιμοι επαγωγείς της ωορρηξίας και έχει επιβεβαιωθεί ότι η αναστολή τους διαταράσσει την ωορρηξία (Shkolnik et al, 2011). Η στέρηση οξυγόνου διεγείρει την ωοθυλακική αγγειογένεση, η οποία είναι σημαντική για την άφθονη ανάπτυξη των ωοθυλακίων (Behrman et al, 2001). Η ανάπτυξη των ωοθυλακίων συνοδεύεται από μια έντονη αύξηση της μεταβολικής λειτουργίας των κυττάρων, ιδιαίτερα μια μεγάλη αύξηση της δραστηριότητας του κυτοχρώματος P450, που βιοσυνθέτει τα στεροειδή (Richards, 1991).

Μεγάλες ποσότητες των ROS παράγονται κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων, υποδεικνύοντας ότι τα λειτουργικά κύτταρα έχουν σχέση με την προ-οξειδωτική κατάσταση στα θυλάκια. Τα ROS επάγονται στα αρχέγονα θυλάκια με τις ταλαντώσεις των προσταγλανδινών, των κυτοκινών, των πρωτεολυτικών ενζύμων και των στεροειδών, με αποτέλεσμα τις αλλοιώσεις της ροής του αίματος και την ενδεχόμενη θραύση των ωοθυλακίων (Du et al, 2006). Με εξαίρεση τα ώριμα ωοθυλάκια, τα οποία απελευθερώνονται για γονιμοποίηση, τα άλλα αναπτυσσόμενα θυλάκια υποβάλλονται σε απόπτωση, και αυτή η διαδικασία προωθείται από τα ROS. Παράλληλα, η σύνθεση των οιστρογόνων που προκαλείται από την θυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH) και η αυξημένη ρύθμιση της καταλάσης και της γλουταθειόνης στα αναπτυσσόμενα θυλάκια

αντιστέκονται στην αποπτωτική διαδικασία για τη διατήρηση της ισορροπίας κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής λειτουργίας των ωοθηκών. Τα ROS παράγονται στο ωχρό σώμα και εμπλέκονται στη λειτουργική λουτεόλυση. Τα ROS και τα αντιοξειδωτικά σχετίζονται με τη σύνθεση προγεστερόνης στην ωχρινική φάση (Behrman et al, 2001).

### **Οξειδωτικό στρες στη μήτρα και τον πλακούντα**

Η ίδια η εγκυμοσύνη είναι κατάσταση οξειδωτικού στρες, που προκύπτει από την αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα στα μιτοχόνδρια του πλακούντα και την αυξημένη παραγωγή των ROS, λόγω της υψηλότερης μεταβολικής ζήτησης του αναπτυσσόμενου εμβρύου (Myatt & Cui, 2004). Τα ανιόντα υπεροξειδίου (Superoxide - SO) που παράγονται από τα μιτοχόνδρια του πλακούντα φαίνονται να αποτελούν μείζονα πηγή για τα ROS και την υπεροξειδάση των λιπιδίων, που συμβάλλουν στο οξειδωτικό στρες στον πλακούντα (Wang & Walsh, 1998), υποστηριζόμενα από τη μιτοχονδριακή παραγωγή των υπεροξειδίων των λιπιδίων, των ελεύθερων ριζών και της βιταμίνης E στον πλακούντα, η οποία αυξάνεται καθώς η κύηση εξελίσσεται (Jauniaux et al, 2003).

Στο δεύτερο τρίμηνο, ο πλακούντας ωριμάζει σταδιακά και αυξάνεται σε μέγεθος, με λιγότερη τριχοειδή και ευρύτερα αιμοφόρα αγγεία. Η κυτταροτροφοβλάστη γίνεται ένα μόνο κύτταρο και σταδιακά αντικαθιστά το ενδοθηλιακό στρώμα που καλύπτει τον λείο μυ της σπειροειδούς αρτηρίας. Αργά, το μητρικό αίμα διεισδύει από την σπειροειδή αρτηρία της μητέρας στον ενδιάμεσο χώρο (Jauniaux et al, 2003). Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, ο ιστός του πλακούντα σχηματίζει μια μεγάλη ποσότητα ελεύθερων ριζών και λαμβάνει χώρα οξείδωση. Έχει έντονο στρες, αλλά ο πλακούντας προσαρμόζεται βαθμιαία σε αυτό το περιβάλλον και επιστρέφει στο φυσιολογικό υπό τη δράση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας (Sultana et al, 2017). Ενώ οι φυσιολογικές συγκεντρώσεις ενδογενών γλυκοκορτικοειδών υποστηρίζουν την ανάπτυξη του εμβρύου, τα υπερβολικά γλυκοκορτικοειδή εντός της μήτρας επηρεάζουν αρνητικά τα έμβρυα, με ανωμαλίες, που εκδηλώνονται κυρίως μετά τον τοκετό (Witorsch et al, 2016).

Τα ROS πιστεύεται, επίσης, ότι παίζουν ρόλο στις διάφορες φάσεις του ενδομητρικού κύκλου. Η καθυστερημένη ωχρινική φάση χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα υπεροξειδίου του λιπιδίου και μείωση του αντιοξειδωτικού SOD. Τα ROS διεγείρουν την έκκριση της PGF<sub>2α</sub> (Prostaglandin F<sub>2α</sub>) μέσω της ενεργοποίησης του NF-κB. Τα

μειωμένα επίπεδα οιστρογόνων και προγεστερόνης οδηγούν σε μειωμένη έκφραση SOD και συνεπώς δημιουργούν οξειδωτικό στρες στη μήτρα, με αποτέλεσμα τελικά την αποβολή του ενδομητρίου και την έλλειψη εμφύτευσης. Τα ελεγχόμενα επίπεδα των ROS έχουν, ωστόσο, συσχετιστεί με αγγειογόνο δράση στο ενδομήτριο, προκαλώντας αναγέννηση κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου. Τα περιορισμένα επίπεδα των ROS είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας, αλλά όταν βρίσκονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, τα ROS μπορούν να έχουν επιβλαβείς επιδράσεις. Με άλλα λόγια, παρόλο που διατηρείται φυσιολογική ισορροπία μεταξύ των ROS και της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας σε φυσιολογικές εγκυμοσύνες, μια ανισορροπία μπορεί να αυξήσει το οξειδωτικό στρες. Ο πλακούντας εμφανίζει αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένου του διαβήτη κύησης, του περιορισμού της ανάπτυξης του εμβρύου, της προεκλαμψίας και της αποβολής (Menon et al, 2011; Smith et al, 2013).

Υπάρχουν πολλές αιτίες που προκαλούν τη δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ο TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α), μια κυτοκίνη του πλάσματος, έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων, αλλά το αντιοξειδωτικό Mn-SOD εξουδετερώνει τα ανιόντα SO που παράγονται από την κυτοκίνη TNF-α. Αυτή η διαδικασία είναι ένας αυτοπροστατευτικός μηχανισμός κατά του οξειδωτικού στρες, που προκαλείται από τον TNF-α. Επιπλέον, ο ελαττωματικός πλακουντισμός οδηγεί σε υποξία του πλακούντα και τραυματισμό της επαναιμάτωσης λόγω της ισχαιμίας και το προκύπτον οξειδωτικό στρες ενεργοποιεί την απελευθέρωση των κυτοκινών και των προσταγλανδινών, οδηγώντας σε δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και αυτό παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της προεκλαμψίας (Oner-Iyidogan et al, 2004). Επιπλέον, τα ROS που παράγονται από την οξειδάση NADP (H) είναι κρίσιμα για τη σηματοδότηση του VEGF in vitro και την αγγειογένεση in vivo (Ushio-Fukai & Alexander, 2004).

### 2.3 Οξειδωτικό στρες και υπογονιμότητα

Το οξειδωτικό στρες προκαλείται από μια ανισορροπία μεταξύ των προοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών παραγόντων (Al-Gubory et al, 2010). Μια ορισμένη ποσότητα των ROS είναι απαραίτητη για την πρόοδο των κανονικών κυτταρικών λειτουργιών, με την προϋπόθεση ότι μετά την οξείδωση, κάθε μόριο επιστρέφει στην προηγούμενη κατάσταση (Chandra et al, 2009). Η υπερβολική παραγωγή των ROS, ωστόσο, μπορεί να υπερνικήσει το φυσικό αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα του σώματος, δημιουργώντας ένα περιβάλλον ακατάλληλο για τις φυσιολογικές αντιδράσεις του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος (Al-Gubory et al, 2010). Αυτό, με τη σειρά του, μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες αναπαραγωγικές ασθένειες, όπως η ενδομητρίωση, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) και την ανεξήγητη υπογονιμότητα. Μπορεί, επίσης, να προκαλέσει επιπλοκές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, όπως την αυτόματη έκτρωση, την επαναλαμβανόμενη απώλεια κύησης (recurrent pregnancy loss - RPL), την προεκλαμψία και την ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (IUGR) (Webster et al, 2008).

#### Οξειδωτικό στρες και ωοθήκες

Η υπερβολική στέρηση του οξυγόνου θα προκαλέσει κάποιες βλάβες στα ωοθυλάκια. Το Cu / Zn-SOD αυξάνεται στο ωχρό σωματίο κατά την πρώιμη έως τη μέση ωχρινική φάση, αλλά μειώνεται κατά τη διάρκεια της φάσης παλινδρόμησης, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει την αύξηση των συγκεντρώσεων των ROS και αυτή η αλλαγή στη δραστηριότητα είναι παρόμοια με εκείνη της συγκέντρωσης της προγεστερόνης. Άλλη πιθανή εξήγηση για τη μείωση του Cu-Zn SOD κατά τη διάρκεια της φάσης παλινδρόμησης είναι η αύξηση της προσταγλανδίνης PGF<sub>2α</sub> ή των μακροφάγων. Μια άλλη αξιόπιστη εξήγηση είναι η μείωση της ροής αίματος στις ωοθήκες (Behrman et al, 2001).

Η προσταγλανδίνη F<sub>2α</sub> διεγείρει την παραγωγή του ανιόντος SO μέσω των ωοθηκών και των φαγοκυτταρικών λευκοκυττάρων στο ωχρό σωματίο. Η μείωση της ροής του αίματος στις ωοθήκες προκαλεί βλάβη των ιστών από την παραγωγή των ROS. Ωστόσο, η συγκέντρωση Mn-SOD στο ωχρό σωματίο κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης

αυξάνεται, συλλέγοντας έτσι τα ROS, που παράγονται στα μιτοχόνδρια από τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις και τις κυτοκίνες. Επομένως, η πλήρης διακοπή της λειτουργίας του ωχρού σωματίου οδηγεί σε σημαντική μείωση του Mn-SOD στα κύτταρα και ακολουθεί ο κυτταρικός θάνατος (Agarwal et al, 2012).

Επιπλέον, τα ROS συμμετέχουν στην ωοθυλακιορρηξία και στη ρήξη των ωοθυλακίων. Η δημιουργία των δύο διαδικασιών είναι αποτέλεσμα των αγγειακών μεταβολών ή του πρωτεολυτικού καταρράκτη. Η διασταύρωση μεταξύ αυτών των δύο καταρρακτών προκαλείται από τα ROS, τις κυτοκίνες και τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF) (Szpera-Gozdziewicz & Breborowicz, 2014). Η Ad4BP, πρωτεΐνη δέσμησης του DNA του ψευδαργύρου, αναγνωρίστηκε ως ένας παράγοντας μεταγραφής που ρυθμίζει τα στεροειδογόνα γονίδια P-450 με τρόπο εξαρτώμενο από την cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate) και μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η συσχέτιση μεταξύ έκφρασης της Ad4BP και του SOD πρότεινε μια σχέση μεταξύ οξειδωτικού στρες και της γένεσης των στεροειδών των ωοθηκών. Τόσο τα ανθρώπινα κοκκιώδη κύτταρα όσο και τα ωοθηκικά κύτταρα ανταποκρίνονται στο υπεροξειδίο του υδρογόνου με την απομάκρυνση της δράσης της γοναδοτροπίνης και την αναστολή της έκκρισης της προγεστερόνης. Το υπεροξειδίο του υδρογόνου μειώνει τόσο την cAMP-εξαρτώμενη όσο και την μη-cAMP-εξαρτώμενη από τη στεροειδογένεση (Suzuki et al, 1999).

Το οξειδωτικό στρες έχει εμπλακεί σε διάφορες γυναικείες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του PCOS, η οποία είναι η συνηθέστερη ενδοκρινική ανωμαλία των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και έχει συχνότητα περίπου 10%. Πρόκειται για μια διαταραχή που χαρακτηρίζεται από υπερανδρογονισμό, δυσλειτουργία της ωοθυλακιορρηξίας και πολυκυστικές ωοθήκες στον υπερηχογραφικό έλεγχο (Fauser et al, 2004). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει την παρουσία οξειδωτικού στρες σε ασθενείς με PCOS. Σε μία μελέτη των Hilali και συνεργατών, (2013), οι ασθενείς με PCOS είχαν αυξημένη δραστηριότητα της προβλιδάσης στον ορό του αίματος, καθώς και υψηλότερη ολική οξειδωτική κατάσταση και δείκτες του οξειδωτικού στρες. Η μείωση της κατανάλωσης του μιτοχονδριακού O<sub>2</sub> και της GSH, μαζί με την αυξημένη παραγωγή των ROS, εξηγεί τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στους ασθενείς με PCOS. Η φυσιολογική υπεργλυκαιμία δημιουργεί αυξημένα επίπεδα των ROS από τα μονοπύρηνια κύτταρα, τα

οποία ενεργοποιούν την απελευθέρωση του TNF- $\alpha$  και του NF- $\kappa$ B, με επακόλουθο να αυξάνονται περαιτέρω οι συγκεντρώσεις του TNF- $\alpha$ , ενός γνωστού μεσολαβητή της αντίστασης στην ινσουλίνη. Το προκύπτον λειτουργικό σύστημα δημιουργεί ένα φλεγμονώδες περιβάλλον, που αυξάνει περαιτέρω την αντίσταση στην ινσουλίνη, προκαλώντας ανώμαλη εξωκυτταρική αναδιαμόρφωση των ωοθηκών, πολλαπλό σχηματισμό κύστεων και χρόνια αβεβαιότητα, οδηγώντας σε στειρότητα.

### **Οξειδωτικό στρες στη μήτρα και τον πλακούντα**

Το οξειδωτικό στρες οδηγεί σε δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων. Στη μήτρα, η δυσλειτουργία ενδοθηλιακών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα πολλές ασθένειες, όπως η προεκλαμψία και η ενδομητρίωση. Η ενδομητρίωση είναι μια καλοήθης, εξαρτώμενη από οιστρογόνα, χρόνια γυναικολογική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από την παρουσία του ενδομητριακού ιστού έξω από τη μήτρα. Τα αυξημένα επίπεδα των ROS, που προκαλούν οξειδωτικό στρες παράγονται από τα ερυθροκύτταρα και τα αποπτωτικά κύτταρα ενδομητρίου, καθώς και από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα που προσλαμβάνονται για φαγοκυττάρωση των αποπτωτικών κυττάρων (Gupta et al, 2007). Επιπρόσθετα, η ενζυμική οξειδάση της ξανθανίνης, που παράγεται από τα ROS, η οποία θεωρείται ότι συμβάλλει στην περίσσεια των ROS, εκφράζεται σε μεγαλύτερες ποσότητες σε γυναίκες με ενδομητρίωση (Ota et al, 2001).

Το οξειδωτικό στρες παίζει μεγάλο ρόλο στην υπογονιμότητα. Ένας άλλος τρόπος με τον οποίο τα κύτταρα καταστρέφονται μέσω του οξειδωτικού στρες είναι μέσω της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων, η οποία είναι η οξειδωτική καταστροφή των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη μεμβράνη πλάσματος (Agarwal et al, 2006). Αυτό οδηγεί σε "αυξημένη διαπερατότητα της μεμβράνης, υποβαθμισμένη ακεραιότητα μεμβράνης, απενεργοποιημένα ένζυμα και δομική βλάβη του DNA και ακολουθεί ο κυτταρικός θάνατος γρήγορα" (Bedaiwy et al, 2002). Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες προκαλεί τοπική φλεγμονή, με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα επίπεδα των κυτοκινών και άλλων παραγόντων που προάγουν την ενδομητρίωση (Agarwal, 2006).

Το περιτοναϊκό υγρό των ασθενών έχει βρεθεί ότι περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις μηλονικής διαλδεΰδης (MDA), προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (IL-6, TNF- $\alpha$  και IL-1 $\beta$ ), αγγειογόνων παραγόντων (IL-8 και VEGF) -1 (MCP-1) και οξειδωμένη LDL (ox-LDL).

Οι προφλεγμονώδεις και χημειοτακτικές κυτοκίνες παίζουν κεντρικούς ρόλους στην πρόσληψη και ενεργοποίηση των φαγοκυτταρικών κυττάρων, τα οποία είναι οι κύριοι παραγωγοί των ROS και των RNS (reactive nitrogen species). Η ενεργοποίηση του NF-κB από το οξειδωτικό στρες έχει ανιχνευθεί στις ενδομητριοτικές αλλοιώσεις και στα περιτοναϊκά μακροφάγα ασθενών με ενδομητρίωση (Kajihara et al, 2011). Η σηματοδότηση με τη μεσολάβηση του NF-κB διεγείρει τη φλεγμονή, την εισβολή, την αγγειογένεση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και, επίσης, προάγει την απόπτωση των ενδομητριοτικών κυττάρων. Επιπλέον, η Ν-ακετυλοκυστεΐνη και η βιταμίνη Ε είναι αντιοξειδωτικά που περιορίζουν τον πολλαπλασιασμό των ενδομητριοτικών κυττάρων, πιθανώς αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του NF-κB (Li et al, 2006).

Η προεκλαμψία είναι μια αγγειακή διαταραχή της εγκυμοσύνης, που συχνά συνεπάγεται από διαταραχή της ανάπτυξης του πλακούντα. Πρόκειται για μια περίπλοκη διαταραχή πολλαπλών συστημάτων, που μπορεί να επηρεάσει τις γυναίκες με νόσο. Μπορεί να προκαλέσει την κακή εμφύτευση και τον περιορισμό της ανάπτυξης που παρατηρείται στην προεκλαμψία επειδή το οξειδωτικό στρες προκαλεί αυξημένη νίτρωση του p38 MAPK, με αποτέλεσμα τη μείωση της καταλυτικής του δράσης (Lu et al, 2018).

Αυξημένες συγκεντρώσεις των ROS σε ασθενείς με προεκλαμψία έχουν αποδειχθεί από τα αυξημένα επίπεδα της μαλονδιαλδεΰδης (MDA) και του δείκτη υπεροξειδωσης λιπιδίων (Madazli et al, 2002). Υπό κανονικές συνθήκες, η εξασθένιση της κυκλοφοριακής ομοιόστασης προκαλείται κυρίως από την αγγειακή ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στην προεκλαμψία. Χαρακτηρίζεται από την τάση να προκαλείται αγγειοσυστολή και χαμηλή αντιπηκτική δραστηριότητα. Τα ROS φαίνεται να διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που σχετίζεται με την προεκλαμψία (Matsubara et al, 2015). Με άλλα λόγια, το παθολογικό συμβάν στην προεκλαμψία είναι βλάβη στο αγγειακό ενδοθήλιο, που ρυθμίζεται από τις αυξημένες ποσότητες των ROS του πλακούντα ή την μειωμένη αντιοξειδωτική δράση.

Υπάρχουν πολλοί λόγοι για την αύξηση των ROS. Για παράδειγμα, η ρύθμιση των ουδετερόφιλων που συμβαίνει στην προεκλαμψία είναι σημαντική πηγή των ROS, με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή του ανιόντος SO και των μειωμένων επιπέδων NO,

προκαλώντας τελικά βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων σε ασθενείς με προεκλαμψία. Τα επίπεδα TNF- $\alpha$  και oxLDL αυξάνονται στην προεκλαμψία και έχει αποδειχθεί ότι ενεργοποιούν την ενδοθηλιακή ισομορφή της οξειδάσης NADP (H), καταλήγοντας τελικά σε αυξημένα επίπεδα του ανιόντος SO. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η κατανάλωση αντιοξειδωτικών για την αντιμετώπιση της αυξημένης υπεροξειδάσης λιπιδίων μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο αγγειακό ενδοθήλιο και μπορεί να εμπλακεί στην παθογένεια της προεκλαμψίας (Uzun et al, 2005).

Επιπλέον, τα αυτοαντισώματα κατά του υποδοχέα αγγειοτασίνης AT1, ιδιαίτερα του δεύτερου βρόχου (AT1-AA), μπορούν να διεγείρουν την οξειδάση NADP (H), οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή των ROS. Ο υποδοχέας AT1 των προεκλαμπτικών γυναικών έχει παρατηρηθεί ότι προάγει τόσο τη δημιουργία του ανιόντος SO όσο και την υπερέκφραση της οξειδάσης NADP (H). Επομένως, η πρόωμη ανάπτυξη του πλακούντα μπορεί να επηρεαστεί από την μη ρυθμισμένη αγγειακή ανάπτυξη και τη λειτουργία δευτερογενώς από την αλλοιωμένη γονιδιακή έκφραση με τη μεσολάβηση της οξειδάσης της NADP (H) (Griendling et al, 2000).

Οι γυναίκες με προεκλαμψία παράγουν ROS και εμφανίζουν υψηλότερη έκφραση NADP (H) από εκείνες χωρίς τη νόσο. Πιο συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι γυναίκες με προεκλαμψία πρόωμης έναρξης παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες ανιόντος SO από ότι οι γυναίκες με αργή εμφάνιση της νόσου (Raijmakers et al, 2004). Η έλλειψη λήψης βιταμίνης C φαίνεται να συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο προεκλαμψίας και μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι η περι- η συστηματική συμπλήρωση με πολυβιταμίνες μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο προεκλαμψίας σε φυσιολογικές ή λιποβαρείς γυναίκες (Klemmensen et al, 2009).

### **Τα μόρια σηματοδότησης μεταξύ οξειδωτικού στρες και αναπαραγωγής**

Το οξειδωτικό στρες έχει οδηγήσει σε μια ποικιλία σηματοδοτικών οδών, με αποτέλεσμα τη διασταύρωση μεταξύ πολλών πρωτεϊνικών παραγόντων στο σώμα. Ειδικά στα αναπαραγωγικά όργανα της γυναίκας, το οξειδωτικό στρες οδηγεί σε μια σειρά από μη φυσιολογικά γεγονότα στην παραγωγή των ωάριων και στην ωορρηξία. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, η εμφύτευση θα εξασθενίσει, οδηγώντας σε απώλεια εμβρύων και αλλαγές στην τοπική ανοσολογική λειτουργία στη μήτρα (Lu et al, 2018).



Οι Perucci και συνεργάτες, (2017), απέδειξαν ότι το μονοπάτι ADAM προστατεύει τις γυναίκες από τις φλεγμονώδεις αλλοιώσεις της προεκλαμψίας. Οι Wu και συνεργάτες, (2015), εξέτασαν τις πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις για το οξειδωτικό στρες του πλακούντα με τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ αυτού και της απόπτωσης και μεταξύ αυτού και της κυτταρικής αυτοφαγίας. Οι Sultana και συνεργάτες, (2017), αναφέρουν τα δυσμενή αποτελέσματα της εγκυμοσύνης που προκαλούνται από τον πλακούντα γυναίκας μεγάλης ηλικίας, εξηγώντας τους μηχανισμούς της τελομεράσης και των πλακουντιακών διαταραχών. Οι Wojsiat και συνεργάτες, (2017), εξήγησαν τις επιδράσεις του οξειδωτικού στρες στη γονιμοποίηση και την επίδραση της υπερπαραγωγής των δραστικών ουσιών στη γονιμοποίηση in vitro.

### **Παχυσαρκία**

Η μητρική παχυσαρκία έχει συσχετιστεί με διάφορες παθολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένων του σακχαρώδη διαβήτη της κύησης, της προεκλαμψίας και του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Έχει, έτσι, αποδειχθεί ότι επηρεάζει αρνητικά τη γονιμότητα και την εγκυμοσύνη (Abenham et al, 2007). Το οξειδωτικό στρες από την υπερβολική παραγωγή των ROS έχει ενοχοποιηθεί στην παθογένεια της παχυσαρκίας (Bloomer & Fisher-Wellman, 2009). Η ενδοκυτταρική συσσώρευση του λίπους μπορεί να διαταράξει τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, προκαλώντας συσσώρευση και την επακόλουθη διαρροή ηλεκτρονίων. Το συνδυασμένο αποτέλεσμα των υψηλών επιπέδων των λιπιδίων και του οξειδωτικού στρες διεγείρει την παραγωγή των οξειδωμένων λιπιδίων (Agarwal et al, 2012).

Εκτεταμένες μελέτες έχουν συνδέσει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, την αυξημένη αγγειακή έκφραση των ενδοθηλιακών κυττάρων της NADP (H) οξειδάσης και του ενδοθηλιακού οξειδωτικού στρες στην παχυσαρκία. Τα υπερδραστήρια μιτοχόνδρια και τα επιβλαβή επίπεδα των ROS στα ωάρια επηρεάζονται από τη μητρική παχυσαρκία κατά τη σύλληψη. Οι Igosheva και συνεργάτες, (2010), ανέφεραν μία μείωση της γονιμότητας και μειωμένη εξέλιξη του αναπτυσσόμενου εμβρύου.

Η μη βέλτιστη ποιότητα των ωαρίων έχει ως εκ τούτου σημειωθεί σε παχύσαρκες γυναίκες. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν υψηλά επίπεδα του θυλακιάδους υγρού της CRP είναι ασυνήθιστα υψηλή. Η προκύπτουσα διαταραχή της ανάπτυξης των

ωοκυττάρων μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα των ωαρίων και ίσως γενική λειτουργία των ωοθηκών (Anderson et al, 2010).

### **Υποσιτισμός**

Οι υποσιτισμένες γυναίκες και τα άτομα με χαμηλό δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) ενδέχεται να διατρέχουν κίνδυνο για διαταραγμένη αγγειοδιαστολή εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο δευτερογενώς από το οξειδωτικό στρες (Higashi et al, 2003). Η ανεπαρκής διατροφή της μητέρας, εκδηλώνεται με αύξηση του οξειδωτικού στρες των ωοθηκών, το οποίο, μαζί με διαταραγμένες μιτοχονδριακές αντιοξειδωτικές άμυνες, μπορεί να είναι υπεύθυνη για τη σημαντική μείωση των αριθμών των ωοθυλακίων (Bernal et al, 2010).

### **Άσκηση**

Η σωματική άσκηση παράγει μια οξειδωτική κατάσταση λόγω της υπερβολικής παραγωγής των ROS. Οποιοσδήποτε τύπος ακραίας αερόβιας ή αναερόβιας δραστηριότητας (π.χ. τρέξιμο μαραθωνίου, προπόνηση με βάρη) μπορεί να συμβάλει στην κυτταρική βλάβη. Οι βέλτιστες ποσότητες του οξειδωτικού στρες είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική λειτουργία. Η σωματική δραστηριότητα προκαλεί αύξηση των ROS, η οποία με τη σειρά τους σημαίνουν αντιοξειδωτική απόκριση, παρέχοντας έτσι προστασία από μελλοντικές επιθέσεις (Fisher-Wellman et al, 2009).

Μια υπερπαραγωγή του οξειδωτικού στρες μετά από οξεία άσκηση σε ορισμένα άτομα μπορεί να χρησιμεύσει ως έναυσμα για βελτιωμένη αντιοξειδωτική άμυνα σε σύγκριση με τους υγιείς (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). Οι Leelarungrayub και συνεργάτες, (2011), έδειξαν ότι η αεροβική άσκηση μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της MDA, με αποτέλεσμα την καλύτερη φυσική κατάσταση στις γυναίκες με καθιστική ζωή.

### **Παράγοντες του τρόπου ζωής**

*Κάπνισμα:* Ο καπνός του τσιγάρου αποτελείται από πολλές τοξικές χημικές ουσίες και προοξειδωτικά, που μπορούν να παράγουν τα ROS. Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου, όπως το ανιόν AA, το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, και η ρίζα υδροξυλίου, που σχηματίζονται από τα υδατοδιαλυτά συστατικά της πίσσας, μπορούν να βλάψουν τα θεμελιώδη τμήματα των κυττάρων και το DNA. Ακόμα και η έκθεση σε παθητικό καπνό έχει συνδεθεί με

μειωμένα ποσοστά εγκυμοσύνης και αυξημένο χρόνο μέχρι τη σύλληψη (Anderson et al, 2010).

Οι αυξημένοι κίνδυνοι στειρότητας, αποβολής, IUGR και χαμηλού βάρους γέννησης έχουν αναφερθεί εκτενώς στις εγκύους καπνίστριες. Μια μετα-ανάλυση, που έγινε σε καπνίστριες, έδειξε ότι είχαν σημαντικά αυξημένα αναλογία πιθανοτήτων για την υπογονιμότητα εκτός από την επιμήκυνση του χρόνου για την σύλληψη, μέσω της ενεργοποίησης των μηχανισμών του οξειδωτικού στρες (Ruder et al, 2009).

*Χρήση αλκοόλ:* Ακόμα και μέτρια χρήση αλκοόλ μπορεί να οδηγήσει σε IUGR και χαμηλό βάρος γέννησης και να αυξήσει τον κίνδυνο για συγγενείς ανωμαλίες. Η έγκαιρη απώλεια της εγκυμοσύνης και η αυθόρμητη έκτρωση αποδίδονται έτσι ισχυρά στην έκθεση του εμβρύου στη χρήση μητρικής αλκοόλης (Ornøy, 2007).

*Χρήση ναρκωτικών:* Τα κανναβινοειδή είναι ενεργά συστατικά της μαριχουάνας, το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ναρκωτικό που χρησιμοποιείται σε ολόκληρο τον κόσμο. Τα κανναβινοειδή μπορούν να παράγουν ελεύθερες ρίζες που λειτουργούν τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα. Το θεμελιώδες συστατικό της μαριχουάνας είναι γνωστό ως δέλτα-9-τετραϋδροκανναβινόλη. Οι υποδοχείς των ενδοκανναβινοειδών έχουν βρεθεί στα θηλυκά αναπαραγωγικά όργανα, όπως οι ωοθήκες και η μήτρα (Anderson et al, 2010). Οι τροποποιήσεις του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος με εξωγενή χορήγηση αγωνιστών κανναβινοειδών μπορούν να διαταράξουν τις φυσιολογικές αναπαραγωγικές διεργασίες, πιθανώς μέσω της παραγωγής ελεύθερων ριζών (Battista et al, 2008).

Η κοκαΐνη έχει ισχυρές τονωτικές ιδιότητες, που συμβάλλουν ιδιαίτερα εθιστικά και η χρήση της κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης έχει συνδεθεί με αρνητικές εκβάσεις συμπεριλαμβανομένου του χαμηλού βάρους γέννησης, του πρόωρου τοκετού, της UGR και την αποβολή (Anderson et al, 2010).

### **Περιβαλλοντική έκθεση**

Η σταθερότητα των αναπαραγωγικών κυττάρων και των ιστών εξαρτάται από τις ισορροπημένες συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών και των οξειδωτικών (Lee et al,

2010). Τα ποικίλα επίπεδα των ROS μπορούν να έχουν θετικές και αρνητικές επιπτώσεις στη γυναικεία αναπαραγωγή. Σε φυσιολογικά κατάλληλα επίπεδα, εμπλέκονται σε διαδικασίες σηματοδότησης των κυττάρων. Η υπερβολική παραγωγή των ελεύθερων ριζών και η επακόλουθη επαγωγή του οξειδωτικού στρες, ωστόσο, έχουν σημαντικές αναπαραγωγικές λειτουργίες (Agarwal et al, 2005a). Πιο πρόσφατα, περιβαλλοντικοί ρύποι συμπεριλαμβανομένων των παρασιτοκτόνων έχουν εμπλακεί στην παθογένεση των αναπαραγωγικών διαταραχών και της στειρότητας (Abdollahi et al, 2004).

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Οξειδωτικό στρες και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Όπως προαναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, η υπογονιμότητα είναι ένα παγκοσμίως επικρατούμενο ζήτημα, που πλήττει το 10-15% των ζευγαριών (Homan et al, 2007). Παρά τις πρόσφατες εξελίξεις στη διάγνωση και τη θεραπεία των αναπαραγωγικών διαταραχών, περίπου το 15-30% των στείρων ζευγαριών έχουν ανεξήγητη υπογονιμότητας (Quaas & Dokras, 2008). Τα ζευγάρια με προβλήματα γονιμότητας μπορούν να υποβληθούν σε τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Assisted Reproductive Techniques - ART), προκειμένου να προκληθεί εγκυμοσύνη. Το 1% όλων των γεννήσεων κάθε χρόνο, προκύπτουν με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (CDC, 2014). Ωστόσο, η επίτευξη μιας εγκυμοσύνης και η μεταφορά του εμβρύου για τη γέννηση δεν είναι εύκολη στα περισσότερα ζευγάρια, που αναζητούν υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, ειδικά στις γυναίκες της προχωρημένης αναπαραγωγικής ηλικίας. Για παράδειγμα, σύμφωνα με την Εταιρεία της Υποβοηθούμενης και Κλινικής Αναπαραγωγικής Τεχνολογίας για το 2012, ο αριθμός των εμβρυομεταφορών είχαν ως αποτέλεσμα τη γέννηση 38% στις γυναίκες ηλικίας 35-37 ετών και 28% στις γυναίκες ηλικίας 38-40 ετών (SART, 2014).

Παράγοντες που επηρεάζουν την επιτυχία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, σχετίζονται με το ίδιο το άτομο ή την ποιότητα της θεραπείας. Η *in vitro* γονιμοποίηση (In Vitro Fertilisation - IVF) και η σπερματέγχυση (Intracytoplasmic Sperm Injection - ICSI), προσπαθούν να αντιγράψουν τη φυσική αναπαραγωγή όσο το δυνατόν πιο στενά, αλλά υπάρχουν πολλοί περιορισμοί της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε σύγκριση με την *in vivo* γονιμοποίηση υπό φυσιολογικές συνθήκες. Αυτοί οι περιορισμοί δημιουργούν πολλαπλούς παράγοντες που θα μπορούσαν να θέσουν σε κίνδυνο την επιτυχία της ART, με ένα κύριο την υπερβολική παραγωγή των ROS (Agarwal & Durairajanayagam, 2017).

## **Επιδράσεις των ROS στην ποιότητα των γαμετών και στην ανάπτυξη του εμβρύου**

Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) είναι είτε ελεύθερες ρίζες (μόρια οξυγόνου με ένα ή περισσότερα μη συζευγμένα ηλεκτρόνια) ή χωρίς ρίζες (μόρια οξυγόνου χωρίς κανένα μη συζευγμένο ηλεκτρόνιο). Η πρωτεύουσα μορφή των ROS είναι η ρίζα των ανιόντων υπεροξειδίου ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), τα οποία μπορούν να μετατραπούν σε δευτερογενή ROS, όπως η ρίζα υδροξυλίου (OH) ή υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Άλλα παραδείγματα ROS περιλαμβάνουν απλό οξυγόνο ( $\text{O}_2$ ), υποχλωριώδες οξύ (HOCl), οξειδίου του αζώτου ( $\text{NO}\bullet$ ), και το ανιόν του υπεροξυνιτρίτη ( $\text{ONOO}^-$ ). Τα ROS σχηματίζονται από βιοχημικές αντιδράσεις, που εμφανίζονται μέσα στην μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα (Tremellen, 2008).

Τα ROS παράγονται εντός των μιτοχονδρίων και της μεμβράνης του πλάσματος. Οι πηγές των ROS στη γυναίκα είναι το προωθητικό θυλάκιο, το ωχρό κέλυφος, και το περιβάλλον των ωοθυλακίων (ωοκύτταρα, κύτταρα κοκκώδους, ενδοθηλιακά κύτταρα), οι σάλπιγγες και η μήτρα (Bedaiwy et al, 2012). Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, τα ROS είναι απαραίτητα για την κατάλληλη ωοθυλακιογένεση, την ωοθηκική στεροειδογένεση, την ωορρηξία, την ωρίμανση ωοκυττάρων και την λουτεόλυση (Gupta et al, 2008). Τα αντιοξειδωτικά είναι ενδογενώς παρόντα στο σαλπινγικό υγρό, στο ενδομητρικό επιθήλιο, το ωοθυλακικό υγρό και τις ωοθήκες (Rakhit et al, 2013). Τα ανθρώπινα θυλάκια περιέχουν και τα ενζυματικά αντιοξειδωτικά (SOD, GPX και CAT) και τα μη-ενζυματικά αντιοξειδωτικά (γλουταθειόνη, βιταμίνες C και E, αλβουμίνη και ουρικό οξύ) (Tamura et al, 2014).

Τα υψηλά επίπεδα των ROS στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα επηρεάζει αρνητικά την εξέλιξη των ωαρίων και των εμβρύων (Agarwal et al, 2005b). Τα υψηλά επίπεδα των ROS βλάπτουν τα ωάρια και μειώνουν την ποιότητά τους με γρήγορο ρυθμό, λόγω της διαδικασίας γήρανσης (Goud et al, 2008). Το οξειδωτικό στρες αυξάνει τον κυτταροπλασματικό κατακερματισμό του εμβρύου και προκαλεί απόπτωση (Yang et al., 1998). Τα υψηλά επίπεδα των ROS υποβαθμίζουν το DNA, προκαλώντας βλάβες στο έμβρυο και χαμηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης (Seino et al, 2002). Στον πίνακα 1, που ακολουθεί συνοψίζονται οι επιβλαβείς επιδράσεις του οξειδωτικού στρες στους ανθρώπινους γαμέτες και τα έμβρυα.

<b>Πίνακας 1: Οι επιδράσεις των υψηλών επιπέδων των ROS στους γαμέτες, στη γονιμοποίηση των σπερματοζωαρίων και την ανάπτυξη εμβρύων</b> <b>Πηγή: Agarwal &amp; Durairajanayagam, 2017</b>			
<i>Αρσενικός γαμέτης</i> <i>Σπερματοζωάρια</i>	<i>Θηλυκός γαμέτης</i> <i>Ωάρια</i>	<i>Γονιμοποίηση</i> <i>Σπέρμα / Ωοκύτταρα</i>	<i>Ανάπτυξη εμβρύου</i>
Υπεροξειδωση των λιπιδίων	Μειωτική βλάβη της ατράκτου	Μειωμένη διείσδυση ωοκυττάρων	Μιτοχονδριακές αλλοιώσεις
Κατακερματισμός DNA	Κακή ποιότητα των ωοκυττάρων	Χαμηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης	Block των εμβρυικών κυττάρων
Απόπτωση		Χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης	Εξάντληση του ATP
		Υψηλότερη πρόωρη απώλεια της εγκυμοσύνης	Μειωμένη διάσπαση
			Απόπτωση

### **Πηγές των ROS σε υποβοηθούμενες αναπαραγωγικές τεχνολογίες**

Σε μια *in vitro* υποβοηθούμενη αναπαραγωγική διαδικασία, τα προστατευτικά αποτελέσματα των φυσικών αντιοξειδωτικών απουσιάζουν (Gurta et al, 2009). Ως εκ τούτου, ο κίνδυνος έκθεσης είναι πολύ μεγαλύτερος από τον κίνδυνο *in vivo* (Agarwal & Allamaneni, 2004). *In vivo*, η παραγωγή των ROS διατηρείται σε φυσιολογική κατάσταση και η προστασία, που αποδίδεται στα αντιοξειδωτικά, χάνεται όταν γίνεται η γονιμοποίηση *in vitro*. Στην πραγματικότητα, τα υψηλά επίπεδα των ROS σχετίζονται αρνητικά με όλα τα αποτελέσματα της ART, όπως τα ποσοστά γονιμοποίησης, την ανάπτυξη εμβρύων και τις κλινικές εγκυμοσύνες (Baker & Aitken, 2005).

#### *1. Χειρισμός γαμετών / εμβρύων*

Τα έμβρυα, που επώαστηκαν *in vitro*, παράγουν περισσότερα ROS από εκείνα *in vivo*. Η παραγωγή των ROS σε υψηλότερα από τα φυσιολογικά επίπεδα μπορεί να συμβεί λόγω του *in vitro* χειρισμού και επεξεργασίας του εμβρύου στο κλινικό

περιβάλλον κατά τη διάρκεια της ART (Lampriao, 2012). Αυτό είναι εμφανές κατά τη διάρκεια της IVF από την ICSI. Σε μια διαδικασία IVF, κατά τη διάρκεια της μακράς περιόδου επώασης στο μέσον της γονιμοποίησης, το σπέρμα και το ωοκύτταρο είναι μαζί και αποτελούν σημαντικές πηγές παραγωγής των ROS. Κατά τη διάρκεια της ICSI, τα ωάρια απομακρύνονται από τα ωοκύτταρα, μειώνοντας έτσι την ποσότητα των ROS που θα μπορούσαν ενδεχομένως να παραχθούν (Agarwal et al, 2006).

Επιπλέον, οι χρόνοι επώασης ICSI είναι μικρότεροι από αυτούς, που πραγματοποιούνται στην εξωσωματική γονιμοποίηση. Έτσι, σε μια διαδικασία ICSI, υπάρχει μια συγκριτικά μικρότερη ποσότητα χρόνου επώασης κατά την οποία το ωοκύτταρο εκτίθεται στα σπερματοζωάρια, γεγονός που μειώνει τον κίνδυνο παραγωγής των ROS (Rakhit et al, 2013).

## *2. Μέσα Καλλιέργειας και Περιβάλλον*

Η σύνθεση των μέσων καλλιέργειας μπορεί να επηρεάσει άμεσα την ποιότητα του εμβρύου και, στη συνέχεια, το ποσοστό επιτυχίας της διαδικασίας IVF. Ορισμένα συστατικά των μέσων καλλιέργειας, όπως τα μεταλλικά ιόντα (σίδηρος ή χαλκός), μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή των ROS (Guerin et al, 2001), ενώ άλλα πρόσθετα, όπως η αλβουμίνη του ορού μπορεί να αυξήσει τον σχηματισμό του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (du Plessis et al, 2008).

Η συμπλήρωση των μέσων καλλιέργειας με αντιοξειδωτικά, π.χ. ασκορβικό οξύ ή αλφατοκοφερόλη, μπορεί να συμβάλει στη μείωση του κινδύνου του οξειδωτικού στρες (Sikka, 2004). Το pH των μέσων καλλιέργειας μπορεί να επηρεάσει την κινητικότητα του σπέρματος, την ωρίμανση των ωαρίων και την ανάπτυξη εμβρύων (Will et al, 2011). Προκειμένου να διατηρηθεί το pH των μέσων καλλιέργειας, τα επίπεδα του CO<sub>2</sub> του επωαστήρα διατηρούνται σε σταθερό επίπεδο. Επιπλέον, η θερμοκρασία διατηρείται στους 37° C για να μιμείται η θερμοκρασία του ανθρώπινου σώματος (Suzuki & Mittler, 2006).

Η θερμική καταπόνηση που προκαλείται από τις αυξημένες θερμοκρασίες μπορεί να οδηγήσει σε υπεροξείδωση λιπιδίων, που προκαλείται από τα ROS (Larkindale & Knight, 2002). Στα εργαστήρια των ART, οι υψηλές συγκεντρώσεις σε οξυγόνο αυξάνει την παραγωγή των ROS και συνεπώς προκαλούν οξειδωτικό στρες. Κατά τους κύκλους



IVF και ICSI, τα έμβρυα που καλλιεργήθηκαν σε οξυγόνο 5% αναπτύχθηκαν καλύτερα και συσχετίστηκαν με υψηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης από ότι τα έμβρυα καλλιεργήθηκαν σε οξυγόνο 20% (Kovacic et al, 2010).

### *3. Κατάψυξη-απόψυξη και έκθεση στο φως*

Η προσθήκη αντιοξειδωτικών στο σπέρμα πριν από την κατάψυξη και κατά τη διάρκεια της απόψυξης θα μπορούσε να ελαχιστοποιήσει τις δυσμενείς επιπτώσεις της παραγωγής των ROS κατά τη διάρκεια αυτών των διαδικασιών. Οι γαμέτες και τα έμβρυα που διατηρούνται κατά τη διάρκεια των υποβοηθούμενων αναπαραγωγικών διαδικασιών, εκτίθενται σε φυσικό ηλιακό φως ή / και τεχνητό φως πριν τη μεταφορά. Αυτοί οι τύποι του φωτός προκαλούν την παραγωγή των ROS μέσα στο κύτταρο (Girotti 2001), ειδικά με παρατεταμένη έκθεση στο φωτισμό του μικροσκοπίου (Ottosen et al, 2007).

## **Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Διατροφή σε οξειδωτικό στρες και η επίδραση στη γυναικεία γονιμότητα**

Η βιβλιογραφία για τη συσχέτιση της διατροφής με τη γονιμότητα του ανθρώπου έχει επεκταθεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία, με αποτέλεσμα να εντοπιστούν μερικά σαφή πρότυπα. Παραδείγματος χάριν, η πρόσληψη συμπληρωματικού φυλλικού οξέος σχετίζεται σταθερά με τη χαμηλότερη συχνότητα υπογονιμότητας, μικρότερο κίνδυνο απώλειας της εγκυμοσύνης και μεγαλύτερη επιτυχία στη θεραπεία της υπογονιμότητας. Η προσήλωση σε υγιεινές διατροφές, όπως τα θαλασσινά, τα πουλερικά, τα δημητριακά ολικής αλέσεως, τα φρούτα και τα λαχανικά σχετίζονται με την καλύτερη γονιμότητα των γυναικών. Σχετικά με τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τη σόγια, πρόσφατα στοιχεία έδειξαν ότι είναι τοξικά για την αναπαραγωγή, αλλά δεν σχετίζονται με την κακή γονιμότητα. Στην πραγματικότητα, τα συμπληρώματα σόγιας φαίνεται να ασκούν ευεργετική δράση μεταξύ των γυναικών που υποβάλλονται σε θεραπεία υπογονιμότητας. Επιπρόσθετα στοιχεία, έχουν δείξει την επιβλαβή επίδραση της μέτριας κατανάλωσης οινοπνεύματος και της καφεΐνης στην γυναικεία αναπαραγωγή (Gaskins & Chavarro, 2018).

Επομένως, ο τρόπος ζωής ενός ζευγαριού, με κύρια παράμετρο την διατροφή επηρεάζει την γονιμότητά του (Chavarro et al, 2009). Τα άτομα, που πρέπει να ενισχύσουν τη γονιμότητά τους, πρέπει να αλλάξουν τον τρόπο ζωής τους και τις συνήθειές τους, και κυρίως τη διαίτά τους. Στη γυναίκα, μια ισορροπημένη και σωστή διατροφή μπορεί να δημιουργήσει ένα φιλόξενο περιβάλλον στο σώμα της για την εμφύτευση του εμβρύου και την ανάπτυξή του (Karagiannis et al, 2018).

## 4.1 Διατροφή και γυναικεία γονιμότητα

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ο τρόπος ζωής και ιδιαίτερα η διατροφή μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγική υγεία και η σωστή διατροφή και η διατροφική κατάσταση μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο των διαταραχών γονιμότητας. Η πρόσληψη μονοακόρεστων λιπαρών οξέων από φρούτα και λαχανικά αποτελούν καλή πηγή πρωτεϊνών και μη σιδηρούχων μετάλλων. Η πρόσληψη των trans λιπαρών οξέων και των προϊόντων με υδατάνθρακες με υψηλό γλυκαιμικό δείκτη πρέπει να είναι μειωμένη. Συμπληρώνεται, επίσης, η διατροφή με προϊόντα πολυβιταμινών, που περιέχουν φυλλικό οξύ και σίδηρο, βελτιώνει τη γονιμότητα (Sińska et al, 2014).

Τα μακροθρεπτικά συστατικά είναι απαραίτητα για την ομοιόσταση του οργανισμού, την λειτουργικότητά του και την παραγωγή ενέργειας. Σημαντικό ρόλο, επίσης, παίζουν στην γυναικεία γονιμότητα. Παρακάτω ακολουθούν οι τρεις κατηγορίες των μικροθρεπτικών συστατικών και η συσχέτισή τους με την γυναικεία γονιμότητα.

*1. Υδατάνθρακες:* Σύμφωνα με τους Chavarro και συνεργάτες, (2009), η ποσότητα και η ποιότητα των υδατανθράκων στη διατροφή μπορεί να είναι σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες της ωορρηξίας και της γονιμότητας σε υγιείς γυναίκες. Οι ερευνητές παρακολούθησαν 438 γυναίκες και παρατήρησαν ότι η συνολική πρόσληψη υδατανθράκων και ο υψηλός διατροφικός γλυκαιμικός δείκτης σχετίζονταν θετικά με την γυναικεία στειρότητα. Από την άλλη, η πρόσληψη ινών από διαφορετικές πηγές δεν σχετίζεται με τον κίνδυνο ωορρηξίας. Επίσης, οι McGrice και Porter, (2017), έδειξαν ότι η επίδραση της δίαιτας με χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες, με ή χωρίς περιορισμό της ενέργειας, είναι θετική στη γυναικεία γονιμότητα και στις γυναικείες ορμόνες.

*2. Πρωτεΐνες:* Στη μελέτη των Chavarro και συνεργάτες, (2008a), αποδείχτηκε ότι η πρόσληψη πρωτεϊνών ζωικής προέλευσης έχει θετική επίδραση στην γυναικεία υπογονιμότητα. Από την άλλη, η κατανάλωση πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης επιδρά θετικά στην γονιμότητα. Η κατανάλωση 5% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης ως φυτικής πρωτεΐνης και όχι ως ζωικής πρωτεΐνης συνδέθηκε με περισσότερο από 50% διαταραχές της ωορρηξίας.

Η κατανάλωση της διατροφικής πρωτεΐνης, συγκεκριμένα της ζωικής πρωτεΐνης, βρέθηκε να αντιστρατεύεται αντιστρόφως με τις συγκεντρώσεις τεστοστερόνης. Συγκεκριμένα, το υψηλό ποσοστό ενέργειας από τη συνολική πρόσληψη πρωτεΐνης σχετίζεται με χαμηλότερες συγκεντρώσεις τεστοστερόνης. Η πρόσληψη πρωτεϊνών έχει συσχετιστεί με μεταβολές στη στεροειδογένεση σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι μια δίαιτα υψηλή σε πρωτεΐνες, ιδιαίτερα ζωική πρωτεΐνη, συνδέεται σημαντικά με μειωμένα επίπεδα τεστοστερόνης σε υγιείς γυναίκες. Τα αποτελέσματα αυτά υπογραμμίζουν τη σημασία της διατροφής στην αναπαραγωγική λειτουργία και τον πιθανό ρόλο της πρόσληψης πρωτεϊνών στη σύνθεση των ανδρογόνων (Mumford et al, 2016).

3. *Λιπίδια*: Μία από τις κύριες αιτίες της παραγωγής των ROS είναι η υπεροξειδωση των λιπιδίων. Η υπεροξειδωση των λιπιδίων είναι μια οξειδωτική διαδικασία που τροποποιεί τα λιπίδια και τα λιπαρά οξέα στις μεμβράνες των ωοκυττάρων. Αυτά τα τροποποιημένα υποπροϊόντα επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη βιωσιμότητα και την ποιότητα των αναπαραγωγικών κυττάρων, αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης της στειρότητας (Sinha & Gupta, 2018).

Τα τεχνητά λίπη, όπως τα trans-λιπαρά, μπορούν να διαταράξουν τη γονιμότητα αυξάνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη και τη φλεγμονή στο σώμα, παρεμβαίνοντας στην ωορρηξία, τη σύλληψη και την πρόωμη εμβρυϊκή ανάπτυξη. Η αντικατάσταση των trans-λιπαρών με μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λίπη έχει το αντίθετο αποτέλεσμα διατηρώντας τα φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης, τη μείωση της φλεγμονής, τη βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη και την προώθηση της γονιμότητας (Chavarro et al, 2009).

Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας είναι υψηλός μεταξύ των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και σχετίζεται με διαταραχή της αναπαραγωγικής τους λειτουργίας. Η παχυσαρκία έχει πολυπαραγοντική προέλευση, ωστόσο πολλές περιπτώσεις παχυσαρκίας οφείλονται σε υπερκατανάλωση μιας δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος. Το υπερβολικό διαιτητικό λίπος αυξάνει τόσο το λιπώδη ιστό, όσο και το μη λιπώδη ιστό και, μέσω της λιποτοξικότητας, οδηγεί σε κυτταρική δυσλειτουργία και θάνατο. Η υψηλή λήψη διαιτητικών λιπών, με ή χωρίς την ανάπτυξη παχυσαρκίας, υποβαθμίζει τη λειτουργικότητα του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-

ωοθήκης και τη γονιμότητα. Με βάση τα τρέχοντα στοιχεία, φαίνεται ότι η αναπαραγωγική δυσλειτουργία συνεπάγεται αυξημένη σηματοδότηση της λεπτίνης και της ινσουλίνης στα διάφορα επίπεδα του προαναφερθέντα άξονα, καθώς και οι αλλαγές στις δράσεις του υποδοχέα  $\gamma$  που ενεργοποιούνται από τον πολλαπλασιαστή του υπεροξυσώματος και στην αυξημένη φλεγμονή, ενώ μπορούν επίσης να εμπλακούν και άλλοι μηχανισμοί (Hohos & Skaznik-Wikiel, 2017).

Μελέτες αποκάλυψαν ότι η λήψη μικροθρεπτικών συστατικών παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη ή στη διευκόλυνση της γυναικείας υπογονιμότητας. Παρακάτω αναφέρονται και αναλύονται αυτά τα μικροθρεπτικά συστατικά.

*1. Ομάδα βιταμινών Β:* Η ανεπαρκής πρόσληψη του φυλλικού οξέος από τη διατροφή οδηγεί σε μείωση της βιοσύνθεσης του DNA και, κατά συνέπεια, σε κυτταρική διαίρεση, που οδηγεί σε αναιμία, λευκοπενία, θρομβοπενία και άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες (Berti et al, 2011). Μια μελέτη παρουσίασε τη συσχέτιση μεταξύ του μεταβολισμού του φυλλικού οξέος και της ανεξήγητης στειρότητας (Altnae et al, 2010).

Σε μια έρευνα σε 18555 υγιείς παντρεμένες γυναίκες, παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης ενός πολυβιταμινούχου συμπληρώματος και της ωοθυλακιορρηξίας (Chavarro et al, 2008b). Η πρόσληψη βιταμινών B1, B2, B6, B12, φυλλικού οξέος και νιασίνης αντίστροφη σχέση με τον κίνδυνο εμφάνισης της ωορρηκτικής υπογονιμότητας, ενώ η πρόσληψη του παντοθενικού οξέος δεν έχει καμία επίδραση. Οι Chavarro και συγγραφείς, (2008b), αναφέρουν ότι η συμπλήρωση με πολυβιταμινούχο προϊόν (τουλάχιστον τρεις φορές την εβδομάδα) οδηγεί σε μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της ωορρηκτικής υπογονιμότητας κατά 20%. Οι γυναίκες, που επιχειρούν να μείνουν έγκυες, μπορούν να καταναλώνουν πολυβιταμινούχα συμπληρώματα, για να ενισχύουν τη γονιμότητά τους.

*2. Σίδηρος:* Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ο σίδηρος μπορεί να εμπλέκεται στην ωορρηκτική λειτουργία και στη γονιμότητα. Ο πιθανός ρόλος του σιδήρου στη γυναικεία αναπαραγωγή είναι η εμπλοκή του στα ωοθηκικά κύτταρα. Δεδομένα έχουν δείξει ότι η τρανσφερίνη και ο υποδοχέας βρίσκονται στα ωοκύτταρα. Έχει αποδειχθεί ότι οι αυτές πρωτεΐνες χρειάζονται για την ανάπτυξη του ωαρίου και απαιτούνται για την παροχή της αυξημένης ζήτησης σε σίδηρο στο αναπτυσσόμενο θυλάκιο (Chavarro et al, 2006).

Τα ευρήματα από διάφορες μελέτες δείχνουν ότι οι γυναίκες με κοιλιοκάκη, η οποία συνήθως συνδέεται με την εξάντληση των αποθεμάτων σιδήρου, καθώς και άλλες ανεπάρκειες μικροθρεπτικών συστατικών, έχουν μειωμένη αναπαραγωγική λειτουργία, π.χ. πρόωμη εμμηνόπαυση και ιδιοπαθή στειρότητα. Τα συμπληρώματα σιδήρου πρέπει να λαμβάνονται από τις γυναίκες, που επιθυμούν την εγκυμοσύνη, με σκοπό την αποτροπή της ανεπάρκειά του (Meloni et al, 1999).

*3. Βιταμίνη D:* Τα χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης D έχουν συνδεθεί με τις επιπλοκές της εγκυμοσύνης, τις συγγενείς ραχίτιδες, τα κατάγματα στα νεογνήτα και τα αρνητικά αποτελέσματα στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Lerchbaum & Rabe, 2014).

## 4.2 Αντιοξειδωτική θεραπεία και γυναικεία γονιμότητα

Τα αντιοξειδωτικά είναι μόρια χαμηλού μοριακού βάρους, που μπορούν να προσβάλλουν τις ελεύθερες ρίζες και να τις εξουδετερώνουν μέσω της δωρεάς ενός ηλεκτρονίου και μειώνοντας έτσι την ικανότητά τους να βλάπτουν (Birben et al, 2012). Μια τέτοια αλληλεπίδραση μπορεί ασφαλώς να τερματίσει μια σειρά αντιδράσεων, που μπορούν να επηρεάσουν ζωτικά μόρια. Είναι ενδιαφέρον ότι το ανθρώπινο σώμα έχει σχεδιαστεί για να δημιουργήσει τα δικά του αντιοξειδωτικά, τα οποία έχουν πολλά αναγνωριστήρια.

Η γλουταθειόνη θεωρείται ο κύριος φυσικός αντιοξειδωτικός παράγοντας, καθώς είναι πολύ αποτελεσματικός στον μηχανισμό της αποτοξίνωσης και διατηρώντας την κυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση, δηλαδή την ισορροπία μεταξύ ROS και αντιοξειδωτικών. Επιπλέον, η παρουσία της είναι ζωτικής σημασίας για την ωρίμανση των ωαρίων. Άλλα συστατικά του αντιοξειδωτικού συστήματος είναι επίσης σημαντικά και η ανεπάρκεια τους μπορεί να βλάψει τη λειτουργία ολόκληρου του συστήματος. Η έλλειψη της διατροφικής πρόσληψης των αντιοξειδωτικών έχει αρνητική επίδραση σχετικά με την ακεραιότητα του αντιοξειδωτικού συστήματος (Mulla et al, 2018).

### Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στην γυναικεία γονιμότητα

Η λειτουργία των θηλυκών γεννητικών οργάνων μπορεί να διαταραχθεί εάν το αντιοξειδωτικό σύστημα έχει εξαντληθεί λόγω της υπερβολικής παραγωγής των ROS. Αυτό μπορεί να μεταβάλλει την ωρίμανση ωοκυττάρων, τη στεροειδογένεση, την ωορρηξία, και, επιπλέον μπορεί να επιταχύνει την απόπτωση των κυττάρων κοκκώδους και να οδηγήσει στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.

Τα πειράματα *in vitro* έχουν ορίσει σαφώς ότι η ανεπάρκεια της γλουταθειόνης στις ωοθήκες επηρεάζει το περιβάλλον των ωοθυλακίων, γεγονός που αντικατοπτρίζει την υψηλή ευαισθησία των ωοθυλακίων στο οξειδωτικό στρες. Το ίδιο ισχύει για τη διαδικασία γονιμοποίησης και την εμβρυϊκή ανάπτυξη. Μελέτες έχουν δείξει υψηλότερες τιμές των ROS σε γυναίκες με ανεξήγητη στειρότητα (Ruder et al, 2008).

Η φυσική συσσώρευση των ελευθέρων ριζών με την ηλικία μπορεί να εξηγήσει την φτωχότερη ποιότητα ωοκυττάρων που απαντώνται σε γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας

(Agarwal et al, 2012). Το ψυχολογικό άγχος μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση των ROS μέσω της υιοθέτησης της ανθυγιεινής συμπεριφοράς του τρόπου ζωής, όπως το κάπνισμα τσιγάρων (Prasad et al, 2016) Τα ROS, που προκύπτουν από το ψυχολογικό στρες θα διαταράξουν περαιτέρω τη λειτουργία των κυττάρων κοκκώδους, με μείωση των επιπέδων οιστραδιόλης και περαιτέρω μείωση της ποιότητας και του αριθμού των ωοκύτταρων (Mulla et al, 2018).

### **Μερικά από τα δημοφιλή αντιοξειδωτικά για το αναπαραγωγικό σύστημα**

*Βιταμίνη C και βιταμίνη E:* Η θεραπεία με τον συνδυασμό των 50mg/kg της βιταμίνης E και 20mg/kg της βιταμίνης C βοηθά στις βλάβες, που συμβαίνουν στο ενδομήτριο και στην απόπτωση (Güney et al, 2007). Ειδικά, η βιταμίνη E έχει αναφερθεί ότι έχει ευεργετικά αποτελέσματα, σαν σημαντικό αντιοξειδωτικό έναντι των αναπαραγωγικών διαταραχών (Mohd Mutalip et al, 2018).

*Σελήνιο:* Σύμφωνα τους Gargen και συνεργάτες, (2013), τα 75mg/kg κυκλοφωσφαμιδίου βρέθηκαν ότι προκαλούν αξιοσημείωτες εκφυλιστικές βλάβες σε φυσιολογικούς ωοθηκικούς ιστούς και αυτό μπορεί να μειωθεί από τη χορήγηση 200mg/kg ασκορβικού οξέος, 150mg/kg α-τοκοφερόλης και 40mg/kg/ppm/ημέρα σεληνίου και αυτά τα αντιοξειδωτικά ελαχιστοποιούν το επίπεδο των ελεύθερων ριζών. Επίσης, η έλλειψη σεληνίου προκαλεί επιπλοκές κατά τη διάρκεια της κύησης, αποβολές και χαμηλό βάρος γέννησης (Pieczyaska & Grajeta, 2015).

### **Συμπληρώματα για τη βελτίωση της γυναικείας γονιμότητας**

Αρκετά φυσικά συμπληρώματα έχουν χρησιμοποιηθεί σε όλο τον κόσμο για να βοηθήσουν την γυναικεία γονιμότητα (Πίνακας 2). Το εκχύλισμα κριθαριού έχουν δείξει πολλές μελέτες ότι μπορεί να αυξήσει τα ποσοστά της εγκυμοσύνης και να μειώσει τα προεμμηνορροϊκά συμπτώματα και άλλες ανωμαλίες του εμμηνορρησιακού κύκλου. Ένα ειδικό αμινοξύ, η L-αργινίνη, βοηθά στη βελτίωση της κυκλοφορίας στα αναπαραγωγικά όργανα. Η βιταμίνη B6, η βιταμίνη B12, το φυλλικό οξύ, το μαγνήσιο, το σελήνιο, ο σίδηρος, και ο ψευδάργυρος έχουν, επίσης, αποδειχθεί ότι βελτιώνουν τη γυναικεία γονιμότητα (Westphal et al, 2004).



**Πίνακας 2: Δοσολογίες Φυσικών Συμπληρωμάτων και οι Επιδράσεις τους στη Γυναικεία Γονιμότητα**

**Πηγή: [ΠΙΟ ΑΠΛΟΠΟΙΗΜΕΝΗ Η ΑΝΑΦΟΡΑ](http://www.kerrhealth.com/uploads/Natural%20Supplements%20to%20Improve%20Fertility%206-3-11.pdf)**

<http://www.kerrhealth.com/uploads/Natural%20Supplements%20to%20Improve%20Fertility%206-3-11.pdf>

<i>Φυσικό Συμπλήρωμα</i>	<i>Δόση</i>
Λυγαριά	20-40mg / ημερησίως
Χαλκός	900-1.300 mcg / ημερησίως
Φυλλικό οξύ	400-600mcg / ημερησίως
Πράσινο τσάι	3 -10 κούπες / ημερησίως
Σίδηρος	18mg / ημερησίως
L – αργινίνη	400-6.000mg / ημερησίως
Μαγνήσιο	600-1.200mg / ημερησίως
Σελήνιο	100-200mcg / ημερησίως
Βιταμίνη Β6	1.3-2mg / ημερησίως
Βιταμίνη Β12	2.4-2.8mcg / ημερησίως
Βιταμίνη Ε	300mg / 2 φορές ημερησίως ή 400mg / ημερησίως
Ψευδάργυρος	66-500mg / ημερησίως

### 4.3 Αντιοξειδωτική θεραπεία στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα, που ρυθμίζουν την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, μπορούν να χορηγηθούν είτε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ART, ώστε να μειωθεί ο σχηματισμός υπερβολικού αριθμού των ROS ή να χορηγηθούν στην γυναίκα ή / και στον άντρα, αρκετούς μήνες πριν από έναν κύκλο ART, σε μια προσπάθεια προκειμένου να εξουδετερωθούν τα επιβλαβή αποτελέσματα της υπερβολικής παραγωγής των ROS, με επακόλουθο την καλή ποιότητα των γαμετών. Τα κοινά διαιτητικά αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν τις βιταμίνες E και C, το φυλλικό οξύ, το συνένζυμο Q10 (CoQ10), τα ιχθυοστοιχεία, τα καροτενοειδή, το λυκοπένιο και το β-καροτένιο (Agarwal et al., 2014).

#### 1. Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή αντιοξειδωτική ένωση, η οποία καθαρίζει τον οργανισμό από τα  $\bullet\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , και  $\bullet\text{OH}$  (Agarwal et al., 2004) και ενεργεί στην καταστροφή, που προκαλείται από τα ROS κατά την υπεροξείδωση λιπιδίων. Η πιο βιολογική ενεργή μορφή της βιταμίνης E είναι η άλφα-τοκοφερόλη, η οποία αναστέλλει τη βλάβη που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες (Mora-Estevés & Shin 2013). Η χορήγηση της βιταμίνης E με 400 IU / ημέρα σε γυναίκες, που υποβλήθηκαν σε ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών ακολουθούμενη από ενδομήτρια σπερματέγχυση αύξησε το πάχος του ενδομητρίου, αλλά τα ποσοστά εμφύτευσης και εγκυμοσύνης σε αυτές τις γυναίκες δεν ήταν υψηλότερα από τα ποσοστά των γυναικών, που δεν έλαβαν βιταμίνη E (Cicek et al, 2012).

#### 2. Βιταμίνη C

Η βιταμίνη C (1-ασκορβικό οξύ ή ασκορβικό) είναι ένα υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό, το οποίο δρα ως αναγωγικός παράγοντας για τα ιόντα των μεταβατικών μετάλλων και τις ελεύθερες ρίζες. Η βιταμίνη C διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα και της τρυπτοφάνης σε σεροτονίνη, καθώς και στην ενεργοποίηση της βιταμίνης B και του φυλλικού οξέος (Chambial et al, 2013). Σε μια προοπτική μελέτη σε γυναίκες που υποβάλλονται σε γονιμοποίηση in vitro και

εμβρυομεταφορά, δόθηκε βιταμίνη C (500 mg / ημέρα) βραδείας απελευθέρωσης σε 19 καπνίστριες γυναίκες και 19 μη καπνιστές. Οι γυναίκες, που έλαβαν συμπλήρωμα της βιταμίνης C είχαν υψηλότερα επίπεδα του ασκορβικού οξέος στα θυλάκια τους. Τα ποσοστά εγκυμοσύνης στις γυναίκες, που έλαβαν συμπληρώματα με Βιταμίνη C, ήταν υψηλότερες μεταξύ των μη καπνιστών από ό, τι στις καπνίστριες (Crha et al, 2003).

### 3. Φυλλικό οξύ

Το φυλλικό οξύ είναι μια φυσική μορφή της βιταμίνης B9 που βρίσκεται στα τρόφιμα. Αναστέλλει την υπεροξειδωση λιπιδίων μέσω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του (Joshi et al, 2001). Το φυλλικό οξύ, ένας μεθυλ-δότης, είναι ένα βασικό υπόστρωμα στη σύνθεση DNA και στην σύνθεση του πρόδρομου RNA. Είναι, επίσης, απαραίτητο για την επαναμεθυλίωση της ομοκυστεΐνης στη μεθειονίνη. Η κοβαλαμίνη (βιταμίνη B12) είναι ο συν-παράγοντας συνθετάσης της μεθειονίνης εξαρτώμενη από το φυλλικό οξύ. Η έλλειψη της κοβαλαμίνης μπορεί να επηρεάσει τη σύνθεση του DNA και να αυξήσει τα επίπεδα της ολικής ομοκυστεΐνης στο αίμα (Varela-Moreiras et al, 2009).

Διεξήχθη μια τυχαιοποιημένη μελέτη για την εκτίμηση των επιδράσεων της χαμηλής δόσης του φυλλικού οξέος (0,4μg / Ημέρα) στην απόκριση των ωοθηκών σε ήπια και συμβατική διέγερση μεταξύ των στειρών γυναικών (Twigt et al, 2011). Οι γυναίκες, που έλαβαν χαμηλή δόση φυλλικού οξέος, είχε μειωμένη ανταπόκριση των ωοθυλακίων στη συμβατική διέγερση, ανεξάρτητα από τον αριθμό των ωοθυλακίων ή τα επίπεδα αντιμυλεριανικής ορμόνης στον ορό. Επίσης, οι ενδοκρινικές απαντήσεις μειώθηκαν. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι το φυλλικό οξύ ασκεί κυρίως τα αποτελέσματά του κατά την πρόωμη ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

Ορισμένες μελέτες έχουν διερευνήσει τις επιπτώσεις της χρήσης συμπληρώματος φυλλικού οξέος στις γυναίκες που υποβάλλονται in vitro γονιμοποίηση. Οι Szymanski και Kazderka-Zieminska, (2003), έδειξαν την αποτελεσματικότητα του συμπληρώματος του φυλλικού οξέος στη μείωση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο ωοθυλακικό υγρό σε 40 γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε εμβρυομεταφορά. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, οι γυναίκες, που έλαβαν το συμπλήρωμα, είχαν ωοκύτταρα με καλύτερη ποιότητα και πιο ώρια, καθώς και χαμηλότερα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο ωοθυλακικό υγρό και στον ορό.

Οι γυναίκες, που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση και λαμβάνουν φυλλικό οξύ έχουν χαμηλότερα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο ωοθυλακικό υγρό και στον ορό. Επίσης, οι γυναίκες παράγουν ωοκύτταρα καλύτερης ποιότητας και πιο ώριμα και έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης στα θυλάκια (Boxmeer et al, 2008). Η ποιότητα του εμβρύου είναι χαμηλότερη όταν οι συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης στο ωοθυλακικό υγρό είναι υψηλές (Ebisch et al., 2006), και αυτό πιθανόν οφείλεται στο οξειδωτικό στρες των ωοθυλακίων. Ως εκ τούτου, τα χαμηλότερα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο ωοθυλακικό υγρό σχετίζονται με υψηλότερες πιθανότητες κλινικής εγκυμοσύνης (Ocal et al, 2012).

Οι γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών έχουν ωοκύτταρα χαμηλής ποιότητας και χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης. Σε μια μελέτη, σε γυναίκες με PCOS και υποβλήθηκαν σε υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, τα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο θυλακικό υγρό σχετίζονται αρνητικά με το φυλλικό υγρό των ωοθυλακίων, τα επίπεδα της βιταμίνης B12 και τη γονιμοποίηση αλλά συσχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα MDA των ωοθυλακίων. Οι γυναίκες με υψηλότερα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο υγρό των ωοθυλακίων είχαν χαμηλότερα επίπεδα της βιταμίνης B12 και υψηλότερο αριθμό εμβρύων βαθμού 3 σε σύγκριση με έμβρυα βαθμού 1 και 2 (Berker et al, 2009). Η μυοϊνοσιτόλη βελτιώνει την ωορρηκτική λειτουργία και βοηθά στην ωρίμανση των ωαρίων, αυξάνοντας την ποιότητα των ωαρίων και τον αριθμό των ωοκυττάρων, που συλλέχθηκαν μετά την διέγερση των ωοθηκών σε ασθενείς με εξωσωματική γονιμοποίηση. Οι γυναίκες, που έλαβαν 2g μυοϊνοσιτόλης και 400μg φυλλικού οξέος είχαν μικρότερους αριθμούς βλαστικών κυττάρων και εκφυλισμένα ωοκύτταρα στην ωοθηκική λήψη, χωρίς να επηρεάζεται το σύνολο των ανακτημένων ωοκυττάρων (Papaleo et al, 2009). Οι γυναίκες, που έλαβαν 2g μυοϊνοσιτόλης και τα 200μg φυλλικού οξέος είχαν μικρότερους αριθμούς ανώριμων ωοκυττάρων στη λήψη ωαρίων (Ciotta et al, 2011).

#### *4. Συνένζυμο Q10*

Το συνένζυμο Q10 (CoQ10) είναι ένα λιποδιαλυτό στοιχείο, που υπάρχει ως τμήμα της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια. Το CoQ10 δρα ως ισχυρό αντιοξειδωτικό

(Lanzafame et al, 2009) και χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή κυρίως από τους άντρες (Agarwal & Durairajanayagam, 2017).

##### *5. Ιχνοστοιχεία*

Οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου και του σεληνίου σχετίζονται θετικά με την ανάπτυξη των όρχεων και των ωοθηκών, στη γαμετογένεση και τη γονιμοποίηση. Η λήψη του σεληνίου από το στόμα φαίνεται να έχει θετική επίδραση στα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης (Mirone et al, 2013). Πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι η χορήγηση από το στόμα σεληνίου μπορεί να μειώσει την επίπτωση της προεκλαμψίας σε έγκυες γυναίκες (Rayman et al, 2014).

##### *6. Βιταμίνη D*

Μια συγχρονική μελέτη, που αξιολόγησε την επικράτηση της ανεπάρκειας της βιταμίνης D σε άτομα, που υποβλήθηκαν σε υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, έδειξε ότι οι ασθενείς είχαν χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης (Irani & Merhi, 2014). Επίσης, οι γυναίκες με PCOS είχαν χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης (Irani & Merhi, 2014; Lerchbaum & Rabe, 2014). Επιπλέον, η ανεπάρκεια της βιταμίνης D μπορεί να σχετίζεται με αντίσταση στην ινσουλίνη, την παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν στην ωορρηκτική δυσλειτουργία (Irani et al, 2014). Μια μελέτη των Ozkan και συνεργάτες, (2010), έδειξε ότι τα υψηλά επίπεδα της βιταμίνης D στον ορό και στο ωοθυλακικό υγρό σχετίζονται με την επιτυχημένη κλινική εγκυμοσύνη μετά από IVF.

## Συμπεράσματα

Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες στην γυναικεία γονιμότητα και υπογονιμότητα είναι ένας τομέας που αξίζει να συνεχιστεί η έρευνα. Τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι το οξειδωτικό στρες επηρεάζει ολόκληρο το αναπαραγωγικό γυναικείο σύστημα. Το OS παίζει ρόλο σε πολλαπλές φυσιολογικές διαδικασίες από την ωρίμανση των ωαρίων μέχρι τη γονιμοποίηση και την ανάπτυξη εμβρύων. Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση επιχειρήθηκε η διερεύνηση της συσχέτισης του οξειδωτικού στρες και της γυναικείας γονιμότητας, όπως και η δράση της αντιοξειδωτικής διατροφής στην αντιμετώπιση της υπογονιμότητας.

Το OS μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα της υπερβολικής παραγωγής ελεύθερων ριζών και / ή του εξασθενημένου αντιοξειδωτικού αμυντικού μηχανισμού. Ένας αυξανόμενος αριθμός δημοσιευμένων μελετών έδειξε την αυξανόμενη σημασία του ρόλου του OS στην αναπαραγωγή των γυναικών. Υπάρχουν στοιχεία ότι το OS παίζει ρόλο σε καταστάσεις όπως οι αποβολές, η προεκλαμψία, οι παθήσεις του εμβρύου, ο πρόωρος τοκετός και ο διαβήτης κύησης, γεγονός που οδηγεί σε τεράστιο βάρος της μητρικής και εμβρυϊκής νοσηρότητας και θνησιμότητας. Τονίζεται ότι οι ελεύθερες ρίζες έχουν σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες στη γυναικεία αναπαραγωγική οδό, καθώς και αλλά η υπερβολική ποσότητά τους οδηγεί σε παθολογία της γυναικείας αναπαραγωγικής οδού.

Η πρόσληψη αντιοξειδωτικών θρεπτικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης πολυβιταμινών, επηρεάζει τη δημιουργία ROS και μπορεί να παίζει ωφέλιμο ρόλο στη γυναικεία γονιμότητα. Η αναγνώριση τροποποιήσιμων παραγόντων για τη μείωση του οξειδωτικού στρες στο γυναικείο σύστημα μπορεί να είναι μια ανέξοδη και μη επεμβατική θεραπεία για την αύξηση της γονιμότητας.

## Βιβλιογραφία

- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A, (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor* 10:RA141–RA147
- Abenhaim HA, Kinch RA, Morin L, Benjamin A, Usher R, (2007). Effect of prepregnancy body mass index categories on obstetrical and neonatal outcomes. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 275:39–43
- Agarwal A, Durairajanayagam D, (2017). Antioxidant Therapy in Assisted Reproductive Technologies. K.H. Al-Gubory, I. Laher (eds.), *Nutritional Antioxidant Therapies: Treatments and Perspectives*. Springer International Publishing. p 137-158
- Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS, (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *World Journal of Men's Health* 32:1–17
- Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S, (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology* 10:31
- Agarwal A, Gupta S, Sekhon L, Shah R, (2008). Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxidants & Redox Signaling* 10:1375–403
- Agarwal A, (2006). Role of oxidative stress in endometriosis. *Reproductive BioMedicine Online* 13:126–34
- Agarwal A, Gupta S, Sikka S, (2006). The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* 18:325–32
- Agarwal A, Gupta S, Sharma RK, (2005a). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology* 3:28
- Agarwal A, Gupta S, Sharma R, (2005b). Oxidative stress and its implications in female infertility - a clinician's perspective. *Reproductive BioMedicine Online* 11:641–50
- Agarwal A, Allamaneni SS, (2004). Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reproductive BioMedicine Online* ;9:338–47
- Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C, (2010). The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 42:1634–50

Albrecht ED, Babischkin JS, Lidor Y, Anderson LD, Udoff LC, Pepe GJ, (2003). Effect of estrogen on angiogenesis in co-cultures of human endometrial cells and microvascular endothelial cells. *Human Reproduction* 18:2039–47

Altmae S, Stavreus-Evers A, Ruiz JR, Laanpere M, Syvanen T, Yngve A, et al, (2010). Variations in folate pathway genes are associated with unexplained female infertility. *Fertility and Sterility* 94(1):130–7

Aly DG, Shahin RS, (2010). Oxidative stress in lichen planus. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica* 19(1):3–11

Amer J, Ghoti H, Rachmilewitz E, Koren A, Levin C, Fibach E, (2006). Red blood cells, platelets and polymorphonuclear neutrophils of patients with sickle cell disease exhibit oxidative stress that can be ameliorated by antioxidants. *British Journal of Haematology* 132(1):108–113

Anderson K, Nisenblat V, Norman R, (2010). Lifestyle factors in people seeking infertility treatment - A review. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 50:8–20

Arican O, Kurutas EB, (Mar 2008). "Oxidative stress in the blood of patients with active localized vitiligo". "Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat. 17 (1): 12–6

Baker MA, Aitken RJ, (2005). Reactive oxygen species in spermatozoa: methods for monitoring and significance for the origins of genetic disease and infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology* 3:67

Banks WJ, (1981). *Applied veterinary histology*. 2nd ed. Baltimore, MD: William and Wilkins

Battista N, Pasquariello N, Di Tommaso M, Maccarrone M, (2008). Interplay between endocannabinoids, steroids and cytokines in the control of human reproduction. *Journal of Neuroendocrinology* 20(1):82–89

Bedaiwy M, Elnashar SA, Goldberg JM, Sharma R, Mascha EJ, Arrigain S, Agarwal A, Falcone T, (2012). Effect of follicular fluid oxidative stress parameters on intracytoplasmic sperm injection outcome. *Gynecological Endocrinology* 28:51–55

Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR, Agarwal A, (2002). Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Human Reproduction* 17:426–31



- Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S, (2001). Oxidative stress and the ovary. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 8:S40–S42
- Berker B, Kaya C, Aytac R, Satiroglu H, (2009). Homocysteine concentrations in follicular fluid are associated with poor oocyte and embryo qualities in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction. *Human Reproduction* 24:2293–302
- Bernal AB, Vickers MH, Hampton MB, Poynton RA, Sloboda DM, (2010). Maternal undernutrition significantly impacts ovarian follicle number and increases ovarian oxidative stress in adult rat offspring. *PLoS One* 5:e15558
- Berti C, Biesalski HK, Gartner R, Lapillonne A, Pietrzik K, Poston L, et al, (2011). Micronutrients in pregnancy: current knowledge and unresolved questions. *Clinical Nutrition* 30(6):689–701
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O, (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal* 5:9-19
- Bloomer RJ, Fisher-Wellman KH, (2009). Systemic oxidative stress is increased to a greater degree in young, obese women following consumption of a high fat meal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2:19–25
- Bodri D, Vernaev V, Figueras F, Vidal R, Guillén JJ, Coll O, (2006). Oocyte donation in patients with Turner's syndrome: a successful technique but with an accompanying high risk of hypertensive disorders during pregnancy. *Human Reproduction* 21(3):829–832
- Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R (2008). Atherosclerosis and oxidative stress. *Histology and Histopathology* 23:381–9
- CDC, (2014). Assisted reproductive technology (ART). Division of Reproductive Health, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Διαθέσιμο στο: <http://www.cdc.gov/art/>
- Cicek N, Eryilmaz OG, Sarikaya E, Gulerman C, Genc Y, (2012). Vitamin E effect on controlled ovarian stimulation of unexplained infertile women. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 29:325–8
- Ciotta L, Stracquadiano M, Pagano I, Carbonaro A, Palumbo M, Gulino F, (2011). Effects of myo-inositol supplementation on oocyte's quality in PCOS patients: a double blind trial. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 15:509–14

Chambial S, Dwivedi S, Shukla KK, John PJ, Sharma P, (2013). Vitamin C in disease prevention and cure: an overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 28:314–28

Chandra K, Syed SA, Abid M, Sweety R, Najam AK, (2015). Protection Against FCA Induced Oxidative Stress Induced DNA Damage as a Model of Arthritis and In vitro Anti-arthritic Potential of *Costus speciosus* Rhizome Extract. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 7(2):383–389

Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WCA, (2009). prospective study of dietary carbohydrate quantity and quality in relation to risk of ovulatory infertility. *European journal of clinical nutrition* 63:78-86

Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC, (2008a). Protein intake and ovulatory infertility. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 198(2):210.e1-7

Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC, (2008b). Use of multivitamins, intake of B vitamins, and risk of ovulatory infertility. *Fertility and Sterility* 89(3):668–76

Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC, (2006). Iron intake and risk of ovulatory infertility. *Obstetrics & Gynecology* 108(5):1145–52

Codner E, Merino PM, Tena-Sempere M, (2012). Female reproduction and type 1 diabetes: From mechanisms to clinical findings. *Human Reproduction Update* 18(5):568–585

Crha I, Hrubá D, Ventruba P, Fiala J, Totusek J, Visnova H, (2003). Ascorbic acid and infertility treatment. *Central European Journal of Public Health* 11:63–7

de Diego-Otero Y, Romero-Zerbo Y, el Bekay R, Decara J, Sanchez L, Rodriguez-de Fonseca F, del Arco-Herrera I, (2009). Alpha-tocopherol protects against oxidative stress in the fragile X knockout mouse: an experimental therapeutic approach for the Fmr1 deficiency. *Neuropsychopharmacology* 34(4):1011–26

Dechanet C, Anahory T, Mathieu Daude JC, Quantin X, Reyftmann L, Hamamah S, Hedon B, Dechaud H, (2011). Effects of cigarette smoking on reproduction. *Human Reproduction Update* 17(1):76–95

Du BT, Takahashi K, Ishida GM, Nakahara K, Saito H, Kurachi H, (2006). Usefulness of intralovarian artery pulsatility and resistance indices measurement on the day of follicle aspiration for the assessment of oocyte quality. *Fertility and Sterility* 85:366–70

du Plessis SS, Makker K, Desai NR, Agarwal A, (2008). Impact of oxidative stress on IVF. *Expert Review of Obstetrics & Gynecology* 3:539–54

Evans MD, Cooke MS, (2004). Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays* 26(5):533–42

Fauser B, Chang J, Azziz R, Legro R, Dewailly D, Franks S, Tarlatzis BC, Fauser B, Balen A, Bouchard P, et al, (2004). Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction* 19:41–7

Fisher-Wellman K, Bell HK, Bloomer RJ, (2009). Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2:43–5

Fisher-Wellman K, Bloomer RJ, (2008). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* 8:1

Fujii J, Iuchi Y, Okada F, (2005). Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reproductive Biology and Endocrinology* 3: 43

Galano JM, Mas E, Barden A, Mori TA, Signorini C, De Felice C, Barrett A, Opere C, Pinot E, Schwedhelm E, Benndorf R, Roy J, Le Guennec JY, Oger C, Durand T, (2013). Isoprostanes and neuroprostanes: Total synthesis, biological activity and biomarkers of oxidative stress in humans. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 107: 95–102

Gargen SG, Erdoayan D, Elmas C, Kaplanoaylu GT, Ozer C, (2013). Chemoprotective effect of ascorbic acid, tocopherol, and selenium on cyclophosphamide-induced toxicity in the rat ovary. *Nutrition* 29:777-784

Gaskins AJ, Chavarro JE, (2018). Diet and fertility: a review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 218(4):379-389

Gems D, Partridge L, (2008). Stress-response hormesis and aging: "that which does not kill us makes us stronger. *Cell Metabolism* 7(3):200–3

Girotti AW, (2001). Photosensitized oxidation of membrane lipids: reaction pathways, cytotoxic effects, and cytoprotective mechanisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 63:103–13

- Goud AP, Goud PT, Diamond MP, Gonik B, Abu-soud HM, (2008). Reactive oxygen species and oocyte aging: role of superoxide, hydrogen peroxide, and hypochlorous acid. *Free Radical Biology & Medicine* 44:1295–304
- Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B, Ushio-Fukai M, (2000). Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20:2175–83
- Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y, (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update* 7:175–189
- Gupta S, Malhotra N, Sharma D, Chandra A, Agarwal A, (2009). Oxidative stress and its role in female infertility and assisted reproduction: clinical implications. *International Journal of Fertility & Sterility* 2:147–64
- Gupta S, Agarwal A, Banerjee J, Alvarez JG, (2007). The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstetrical & Gynecological Survey* 262:335–47
- Güney M, Oral B, Demirin H, Özgüner M, Take G, et al, (2007). Evaluation of caspase-dependent apoptosis during methyl parathion-induced endometrial damage in rats: Ameliorating effect of Vitamins E and C. *ETP* 23:221-227
- Gurgan T, Salman C, Demiroglu A, (2008). Pregnancy and assisted reproduction techniques in men and women after cancer treatment. *Placenta* 29(B):152–9
- Halliwell B, (2007). Oxidative stress and cancer: have we moved forward?. *Biochemical Journal* 401(1):1–11
- Hamilton-Fairley D, (2004). *Obstetrics and Gynaecology*. Lecture notes. Second Edition. Blackwell Publishing Ltd
- Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Kimura M, Noma K, Hara K, Matsuura H, Goto C, Oshima T, Chayama K. et al, (2003). Low body mass index is a risk factor for impaired endothelium-dependent vasodilation in humans: role of nitric oxide and oxidative stress. *Journal of the American College of Cardiology* 42:256–263
- Hilali N, Vural M, Camuzcuoglu H, Camuzcuoglu A, Aksoy N, (2013). Increased prolidase activity and oxidative stress in PCOS. *Clinical Endocrinology* 79:105–10

Homan GF, Davies M, Norman R, (2007). The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment: a review. *Human Reproduction Update* 13:209–23

Hohos NM, Skaznik-Wikiel ME, (2017). High-Fat Diet and Female Fertility. *Endocrinology* 158(8):2407-2419.

Hwang O (2013). Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Experimental Neurobiology* 22:11–7

Igosheva N, Abramov AY, Poston L, Eckert JJ, Fleming TP, Duchen MR, McConnell J, (2010). Maternal diet-induced obesity alters mitochondrial activity and redox status in mouse oocytes and zygotes. *PLoS One* 5:e10074

Irani M, Merhi Z, (2014). Role of vitamin D in ovarian physiology and its implication in reproduction: a systematic review. *Fertility and Sterility* 102(2):460–468 e3

Jauniaux E, Gulbis B, Burton GJ. (2003). The human first trimester gestational sac limits rather than facilitates oxygen transfer to the foetus--a review. *Placenta* 24(A):S86–93

Joseph N, Zhang-James Y, Perl A, Faraone SV, (2015). Oxidative Stress and ADHD: A Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders* 19:915–24

Kajihara H, Yamada Y, Kanayama S, Furukawa N, Noguchi T, Haruta S, Yoshida S, Sado T, Oi H, Kobayashi H, (2011). New insights into the pathophysiology of endometriosis: from chronic inflammation to danger signal. *Gynecological Endocrinology* 27:73–9

Karayiannis D, Kontogianni MD, Mendorou C, Mastrominas M, Yiannakouris N, (2018). Adherence to the Mediterranean diet and IVF success rate among non-obese women attempting fertility. *Human Reproduction* 33(3):494-502

Karasu T, Marczylo TH, MacCarrone M, Konje JC, (2011). The role of sex steroid hormones, cytokines and the endocannabinoid system in female fertility. *Human Reproduction Update* 17(3):347–361

Kazemi A, Ramezanzadeh F, Nasr-Esfahani MH, Saboor Yaraghi AA, Ahmadi M, (2013). Does dietary fat intake influence oocyte competence and embryo quality by inducing oxidative stress in follicular fluid? *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 11:1005–1012

Kennedy G, Spence VA, McLaren M, Hill A, Underwood C, Belch JJ, (2005). Oxidative stress levels are raised in chronic fatigue syndrome and are associated with clinical symptoms. *Free Radical Biology & Medicine* 39(5):584–9

Klemmensen AK, Tabor A, Osterdal ML, Knudsen VK, Halldorsson TI, Mikkelsen TB, Olsen SF, (2009). Intake of vitamin C and E in pregnancy and risk of pre-eclampsia: prospective study among 57 346 women. *BJOG* 116:964–74

Kovacic B, Sajko MC, Vlasisavljevic V, (2010). A prospective, randomized trial on the effect of atmospheric versus reduced oxygen concentration on the outcome of intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertility and Sterility* 94:511–9

Lampiao F, (2012). Free radicals generation in an in vitro fertilization setting and how to minimize them. *World Journal of Obstetrics and Gynecology* 1:29–34

Lanzafame FM, La Vignera S, Vicari E, Calogero AE, (2009). Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. *Reproductive BioMedicine Online* 19:638–59

Larkindale J, Knight MR, (2002). Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. *Plant Physiology* 128:682–95

Lasa JS, Zubiaurre I, Soifer LO, (2014). Risk of infertility in patients with celiac disease: a meta-analysis of observational studies. *Archives of Gastroenterology (Meta-Analysis Review)* 51(2):144–50

Lee JY, Baw CK, Gupta S, Aziz N, Agarwal A, (2010). Role of Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome. *Current Women's Health Reviews* 6:96–107

Leelarungrayub D, Saidee K, Pothongsunun P, Pratanaphon S, YanKai A, Bloomer RJ, (2011). Six weeks of aerobic dance exercise improves blood oxidative stress status and increases interleukin-2 in previously sedentary women. *Journal of Bodywork and Movement Therapies* 15:355–362

Lerchbaum E, Rabe T, (2014). Vitamin D and female fertility. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 26(3):145–50

Lennon SV, Martin SJ, Cotter TG, (1991). Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Proliferation* 24(2):203–14

- Leridon H, (2004). Can assisted reproduction technology compensate for the natural decline in fertility with age? A model assessment. *Human Reproduction* 19(7):1548–53
- Li YQ, Zhang ZX, Xu YJ, Ni W, Chen SX, Yang Z, Ma D, (2006). N-acetyl-L-cysteine and pyrrolidine dithiocarbamate inhibited nuclear factor-kappa B activation in alveolar macrophages by different mechanisms. *Acta Pharmacologica Sinica* 27:339–46
- Lu J, Wang Z, Cao J, Chen Y, Dong Y, (2018). A novel and compact review on the role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology* 16(1):80
- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA, (2012). National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLOS Med* 9(12):e1001356
- Madazli R, Benian A, Aydin S, Uzun H, Tolun N, (2002). The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 22:477–80
- Matsubara K, Higaki T, Matsubara Y, Nawa A, (2015). Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. *International Journal of Molecular Sciences* 16:4600–14
- McGrice M, Porter J, (2017). The Effect of Low Carbohydrate Diets on Fertility Hormones and Outcomes in Overweight and Obese Women: A Systematic Review. *Nutrients* 9(3): E204
- Meloni GF, Dessole S, Vargiu N, Tomasi PA, Musumeci S, (1999). The prevalence of coeliac disease in infertility. *Human Reproduction* 14(11):2759–61
- Menon R, Fortunato SJ, Yu J, Milne GL, Sanchez S, Drobek CO, Lappas M, Taylor RN, (2011). Cigarette smoke induces oxidative stress and apoptosis in normal term fetal membranes. *Placenta* 32:317–22
- Miesel R, Drzejczak PJ, Kurpisz M, (1993). Oxidative stress during the interaction of gametes. *Biology of Reproduction* 49:918–923
- Mohd Mutalip SS, Ab-Rahim S, Rajikin MH, (2018). Vitamin E as an Antioxidant in Female Reproductive Health. *Antioxidants (Basel)* 7(2). pii: E22
- Mora-Esteves C, Shin D, (2013). Nutrient supplementation: improving male fertility fourfold. *Seminars in Reproductive Medicine* 31:293–300

- Mirone M, Giannetta E, Isidori AM, (2013). Selenium and reproductive function. A systematic review. *Journal of Endocrinological Investigation* 36:28–36
- Morgan S, Anderson RA, Gourley C, Wallace WH, Spears N, (2012). How do chemotherapeutic agents damage the ovary? *Human Reproduction Update* 18(5):525–35
- Mulla AA, Fazari A, Elkhoully M, Moghaddam N, (2018). Role of Antioxidants in Female Fertility. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology* 8:85-91
- Mumford SL, Chavarro JE, Zhang C, Perkins NJ, Sjaarda LA, Pollack AZ, Wactawski-Wende J, (2016). Dietary fat intake and reproductive hormone concentrations and ovulation in regularly menstruating women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 103(3):868–77
- Myatt L, Cui XL, (2004). Oxidative stress in the placenta. *Histochemistry and Cell Biology* 122:369–82
- NICE, (2013). *Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems*. NICE clinical guideline CG156. Ανάκτηση από: <https://www.nice.org.uk/guidance/CG156>
- Nelson LR, Bulun SE, (2001). Estrogen production and action. *Journal of the American Academy of Dermatology* 45(3): S116–24
- Nunez-Calonge R, Cortes S, Gutierrez Gonzalez LM, Kireev R, Vara E, Ortega L, Caballero P, Rancan L, Tresguerres J, (2016). Oxidative stress in follicular fluid of young women with low response compared with fertile oocyte donors. *Reproductive Biomedicine Online* 32:446–456
- Oner-Iyidogan Y, Kocak H, Gurdol F, Korkmaz D, Buyru F, (2004). Indices of oxidative stress in eutopic and ectopic endometria of women with endometriosis. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 57:214–7
- Ornoy A, (2007). Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. *Reproductive Toxicology* 24:31–41
- Ota H, Igarashi S, Tanaka T, (2001). Xanthine oxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertility and Sterility* 75:785–90
- Ottosen LD, Hindkjær J, Ingerslev J, (2007). Light exposure of the ovum and preimplantation embryo during ART procedures. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 24:99–103



Ozkan S, Jindal S, Greenseid K, Shu J, Zeitlian G, Hickmon C, et al, (2010). Replete vitamin D stores predict reproductive success following in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 94(4):1314–9

Parellada M, Moreno C, Mac-Dowell K, Leza JC, Giraldez M, Bailón C, Castro C, Miranda-Azpiazu P, Fraguas D, Arango C, (2012). Plasma antioxidant capacity is reduced in Asperger syndrome. *Journal of Psychiatric Research* 46:394–401

Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, Chiu TT, (2009). Contribution of myo-inositol to reproduction. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive* 147:120–3

Perucci LO, Correa MD, Dusse LM, Gomes KB, Sousa LP, (2017). Resolution of inflammation pathways in preeclampsia-a narrative review. *Immunologic Research* 65:774–89

Pieczyaska J, Grajeta H, (2015). He role of selenium in human conception and pregnancy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 29: 31-38

Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, (2008). Smoking and Infertility. *Fertility and Sterility* 90(5):S254–9

Preutthipan S, Chen SH, Tilly JL, Kugu K, Lareu RR, Dharmarajan AM, (2004). Inhibition of nitric oxide synthesis potentiates apoptosis in the rabbit corpus luteum. *Reproductive BioMedicine Online* 9:264–70

Prasad S, Tiwari M, Pandey AN, Shrivastav TG, Chaube SK, (2016). Impact of Stress on Oocyte Quality and Reproductive Outcome. *Journal of Biomedical Science* 23: 36

Quaas A, Dokras A, (2008). Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Reviews in Obstetrics & Gynecology* 1:69–76

Qublan HS, Eid SS, Ababneh HA, et al. (2006). Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure. *Human Reproduction* 21(10):2694–8

Raijmakers MTM, Peters WHM, Steegers EAP, Poston L, (2004). NAD(P)H oxidase associated superoxide production in human placenta from normotensive and pre-eclamptic women. *Placenta* 25:S85–9

Rakhit M, Gokul SR, Agarwal A, du Plessis SS, (2013). Antioxidant *strategies to overcome OS in IVF Embryo transfer*. Studies on women's health. New York, NY: Humana Press

Ramond A, Godin-Ribuot D, Ribuot C, Totoson P, Koritchneva I, Cachot S, Levy P, Joyeux-Faure M, (2011). Oxidative stress mediates cardiac infarction aggravation induced by intermittent hypoxia. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 27(3):252–261

Rayman MP, Searle E, Kelly L, Johnsen S, Bodman-Smith K, Bath SC, Mao J, et al, (2014). Effect of selenium on markers of risk of pre-eclampsia in UK pregnant women: a randomised, controlled pilot trial. *British Journal of Nutrition* 12:99–111

Restrepo B, Cardona-Maya W, (2013). Antisperm antibodies and fertility association. *Actas Urologicas Espanolas* 37(9):571–578

Richards JS, (1994) Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocrine Reviews* 15:725–51

Romá-Mateo C, Aguado C, García-Giménez JL, Ibáñez-Cabellos JS, Seco-Cervera M, Pallardó FV, Knecht E, Sanz P, (2015). Increased oxidative stress and impaired antioxidant response in lafora disease. *Molecular Neurobiology* 51:932–46

Rosendahl M, Andersen C, La Cour Freiesleben N, Juul A, Løssl K, Andersen A, (2010). Dynamics and mechanisms of chemotherapy-induced ovarian follicular depletion in women of fertile age. *Fertility and Sterility* 94(1):156–166

Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J, Goldman MB, (2008) Oxidative Stress and Antioxidants: Exposure and Impact on Female Fertility. *Human Reproduction Update* 14:345-357

Rutstein SO, Iqbal HS, (2004). "Infecundity, Infertility, and Childlessness in Developing Countries. *DHS Comparative Reports* 9(2004):1-57

Ruder EH, Hartman TJ, Goldman MB, (2009). Impact of oxidative stress on female fertility. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 21:219–222

Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J, Goldman MB, (2008). Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Human Reproduction Update* 14:345–357

Sart, (2014). The Society for Assisted Reproductive Technology Clinic summary report. Διαθέσιμο στο:

[https://www.sartcorsonline.com/rptCSR\\_PublicMultYear.aspx?ClinicPKID=0](https://www.sartcorsonline.com/rptCSR_PublicMultYear.aspx?ClinicPKID=0)

Schafer FQ, Buettner GR, (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology & Medicine* 30 (11): 1191–212

Segal AW, (2005). How neutrophils kill microbes. *Annual Review of Immunology* 23(5):197–223

Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S, Kurachi H, (2002). Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertility and Sterility* 77:1184–90

Sharma RK, Agarwal A, (2004). Role of reactive oxygen species in gynecologic diseases. *Reproductive Medicine and Biology* 3:177–99

Sinha A, Gupta S, (2018). Lipid Peroxidation and its Impact on Infertility. *Women's Health & Gynecology* 4(1): 82 (1-10)

Sińska B, Kucharska A, Dmoch-Gajzlerska E, (2014).The diet in improving fertility in women. *Polski Merkurusz Lekarski* 36(216):400-2

Shkolnik K, Tadmor A, Ben-Dor S, Nevo N, Galiani D, Dekel N, (2011). Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:1462–7

Sikka SC, (2004). Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *Journal of Andrology: List of Issues* 25:5–18

Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K, (2013). Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. *Reproductive Toxicology* 42:116–124

Singh N, Dhalla AK, Seneviratne C, Singal PK, (1995). Oxidative stress and heart failure. *Molecular and Cellular Biochemistry* 147(1):77–81

Sloboda DM, Hickey M, Hart R, (2010). Reproduction in females: the role of the early life environment. *Human Reproduction Update* 17(2):210–227

Smith R, Maiti K, Aitken RJ, (2013). Unexplained antepartum stillbirth: a consequence of placental aging? *Placenta* 34:310–3

Sultana Z, Maiti K, Aitken J, Morris J, Dedman L, Smith R, (2017). Oxidative stress, placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Reproductive Immunology* 77: e12653

Sultan C, Biason-Lauber A, Philibert P, (2009). Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: recent clinical and genetic findings. *Gynecological Endocrinology* 25(1):8–11

Suzuki N, Mittler R, (2006). Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. *Plant Physiology* 126:45–51

Suzuki T, Sugino N, Fukaya T, Sugiyama S, Uda T, Takaya R, Yajima A, Sasano H, (1999). Superoxide dismutase in normal cycling human ovaries: immunohistochemical localization and characterization. *Fertility and Sterility* 72:720–6

Szpera-Gozdziejcz A, Breborowicz GH, (2014). Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Frontiers in Bioscience-Landmark* 19:734–46

Szmulowicz ED, Stuenkel CA, Seely EW, (2009). Influence of menopause on diabetes and diabetes risk. *Nature Reviews Endocrinology* 5:553–558

Szymanski W, Kazdepka-Zieminska A, (2003). Effect of homocysteine concentration in follicular fluid on a degree of oocyte maturity. *Ginekologia polska* 74(10):1392–6

Tamura H, Takasaki A, Nakamura Y, Numa F, Sugino N, (2014). A pilot study to search possible mechanisms of ultralong gonadotropin-releasing hormone agonist therapy in IVF-ET patients with endometriosis. *Journal of Ovarian Research* 7:100

Tersigni C, Castellani R, de Waure C, Fattorossi A, De Spirito M, Gasbarrini A, Scambia G, Di Simone N, (2014). Celiac disease and reproductive disorders: meta-analysis of epidemiologic associations and potential pathogenic mechanisms. *Human Reproduction Update (Meta-Analysis. Review)* 20(4):582–93

Tichelli A, Rovó A, (2013). Fertility Issues Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Expert Review of Hematology* 6(4):375–388

Tremellen K, Miari G, Froiland D, Thompson JA, (2007). randomised control trial examining the effect of an antioxidant (Menevit) on pregnancy outcome during IVF-ICSI treatment. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 47:216–21

- Ushio-Fukai M, Alexander RW, (2004). Reactive oxygen species as mediators of angiogenesis signaling - role of NAD(P)H oxidase. *Molecular and Cellular Biochemistry* 264:85–97
- Uzun H, Benian A, Madazli R, Topcuoglu MA, Aydin S, Albayrak M, (2005). Circulating oxidized low-density lipoprotein and paraoxonase activity in preeclampsia. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 60:195–200
- Valckx SD, Van Hoeck V, Arias-Alvarez M, Maillo V, Lopez-Cardona AP, Gutierrez-Adan A, Berth M, Cortvrindt R, Bols PE, Leroy JL, (2014). Elevated non-esterified fatty acid concentrations during in vitro murine follicle growth alter follicular physiology and reduce oocyte developmental competence. *Fertility and Sterility* 102:1769–1776A
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J, (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39(1):44–84
- Valko M, Morris H, Cronin MT, (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* 12(10):1161–208
- Vander Borgh M, Wyns C, (2018). Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry* S0009-9120(18)30220-0
- Waddington EI, Croft KD, Sienuarine K, Latham B, Puddey IB, (2003). Fatty acid oxidation products in human atherosclerotic plaque: an analysis of clinical and histopathological correlates. *Atherosclerosis* 167(1):111-20
- Wang Y, Walsh SW, (1998). Placental mitochondria as a source of oxidative stress in pre-eclampsia. *Placenta* 19:581–6
- Westphal LM, Polan ML, Trant AS, Mooney SB, (2004). A Nutritional Supplement for Improving Fertility in Women. *The Journal of Reproductive Medicine* 289-293
- Will MA, Clark NA, Swain JE, (2011). Biological pH buffers in IVF: help or hindrance to success. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 28:711–24
- Witorsch RJ, (2016). Effects of elevated glucocorticoids on reproduction and development: relevance to endocrine disruptor screening. *Critical Reviews in Toxicology* 46:420–36

Wojsiat J, Korczynski J, Borowiecka M, Zbikowska HM, (2017). The role of oxidative stress in female infertility and in vitro fertilization. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej* 71:359–66

World Health Organization (WHO), (2013). *Health Topics: Infertility*. Ανάκτηση από: <http://www.who.int/topics/infertility/en/>

Wu F, Tian FJ, Lin Y, (2015). Oxidative stress in placenta: health and diseases. *BioMed Research International* 2015:293271

Yang HW, Hwang KJ, Kwon HC, Kim HS, Choi KW, Oh KS, (1998). Detection of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in human fragmented embryos. *Human Reproduction* 13:998–1002

Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, van der Poel S, (2009). The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. *Human Reproduction* 24(11):2683–2687