



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



## **ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Η επίδραση του οξειδωτικού στρες στην γονιμοποιητική  
ικανότητα του σπέρματος. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών  
σκευασμάτων»**

Παπαθεοδώρου Κυριακούλα-Ελισσάβετ

Μαία

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Νταφόπουλος Κωνσταντίνος, Καθηγητής Μαιευτικής – Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Επιβλέπων Καθηγητής

Ζαχαρούλης Δημήτριος, Καθηγητής Γενικής Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου  
Θεσσαλίας, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Τζώρτζης Βασίλειος, Καθηγητής Ουρολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας,  
Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Λάρισα, 2023



**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF MEDICINE  
POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM  
NUTRITION IN HEALTH AND DISEASE**

---



## **DIPLOMA THESIS**

**“The effect of oxidative stress on sperm fertility: The role of antioxidants”**

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	10
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....	10
2.1 Οξειδωτικό στρες.....	10
2.1.1 Ορισμός.....	10
2.1.2 Οι ελεύθερες ρίζες.....	11
2.2 Γονιμοποιητική ικανότητα σπέρματος.....	14
2.2.1 Επίδραση του OS στο σπερματοζώαριο.....	15
2.2.1.1 Μέθοδοι προσδιορισμού OS.....	19
2.2.1.2 Ενδείξεις OS στις εξετάσεις ρουτίνας.....	21
2.2.2 OS, ανδρική υπογονιμότητα & διαγνωστικοί δείκτες.....	21
2.2.2.1 Γενικές οδηγίες για θεραπεία OS.....	22
2.3 Αντιοξειδωτικά σκευάσματα.....	23
2.3.1 Αντιοξειδωτικές οργανικές ουσίες.....	24
2.3.2 Αντιοξειδωτικά σκευάσματα.....	26
2.3.3 Ανάλυση SWOT για τη χρήση αντιοξειδωτικών ουσιών & σκευασμάτων.....	29
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	32
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	32
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	33
5. ΕΠΙΛΟΓΟΣ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	45
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	48

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Τα βασικότερα ROS .....	12
Εικόνα 2: Επιρροή των ROS σε λειτουργίες των κυττάρων.....	13
Εικόνα 3: Επίδραση του OS στο σπερματοζώαριο.....	16
Εικόνα 4: Ενδείξεις OS στις εξετάσεις ρουτίνας.....	21
Εικόνα 5: Αντιοξειδωτικά στο ανδρικό γεννητικό σύστημα .....	24
Εικόνα 6: Αλγόριθμος για τη διαγνωστική και θεραπευτική αξιολόγηση υπογονιμότητας σχετιζόμενης με Ο.Σ.....	25
Εικόνα 7: Ανάλυση SWOT για τα αντιοξειδωτικά.....	31
Εικόνα 8: Επιπτώσεις του OS στις ανδρικές ορμόνες αναπαραγωγής.....	40

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η ολοκλήρωση του παρόντος Μεταπτυχιακού Προγράμματος και της εν λόγω διπλωματικής εργασίας ήταν ένα όνειρο χρόνων που επιτέλους έγινε πραγματικότητα. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ειλικρινώς τον επιβλέποντά μου καθηγητή κο Νταφόπουλο Κωνσταντίνο για την υποστήριξή του και την συνεχή καθοδήγηση και βοήθειά του στην πραγματοποίηση της εργασίας μου. Επιπλέον, θερμές ευχαριστίες αξίζουν στον σύζυγό μου Κώστα, καθώς και στους γιους μου Χρήστο και Βασίλη για την ακούραστη στήριξη και την κατανόηση του πόσο σημαντικό ήταν το εγχείρημα αυτό για μένα.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μελέτη είναι πολύπλευρη και αποτελείται από τρεις βασικούς άξονες: το οξειδωτικό στρες, την επίδρασή του στην γονιμοποιητική ικανότητα του ανδρός, και τη σημαντικότητα (ή μη) του ρόλου των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων.

Το οξειδωτικό στρες (Oxidative Stress – OS) έχει οριστεί ως η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ελεύθερες ρίζες) και του αντιοξειδωτικού αμυντικού μηχανισμού, που μπορεί να οδηγήσει σε τραυματισμό ιστού. Συντριπτικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό στρες (OS) παίζει ζωτικό ρόλο στην αιτιολογία της ανδρικής υπογονιμότητας. Το οξειδωτικό στρες θα μπορούσε να οδηγήσει σε μη φυσιολογικές παραμέτρους του σπέρματος και σε υψηλά επίπεδα κατακερματισμού του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος του σπέρματος. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες – είτε οι οργανικές είτε τα σκευάσματα – προστατεύουν ποικιλοτρόπως το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα από το οξειδωτικό στρες, λειτουργώντας ωστόσο αλληλένδετα και συμπληρωματικά με άλλους παράγοντες.

Ο πρωτεύων σκοπός της εργασίας αυτής είναι η απόδοση της εικόνας ως υφίσταται επί της παρούσης και της τελικής επιβεβαίωσης ή απόρριψης του ενεργού ρόλου των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων. Τα ερευνητικά ερωτήματα, επομένως, που σχετίζονται με τον σκοπό, είναι τα εξής: i) Τι είναι το οξειδωτικό στρες και που οφείλεται; ii) Επιδρά το οξειδωτικό στρες στην γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος και σε ποιο βαθμό; iii) Τα αντιοξειδωτικά σκευάσματα μπορούν από μόνα τους να αντιμετωπίσουν σημαντικά το οξειδωτικό στρες ή ενεργούν καλύτερα σε συνδυασμό με σωστή διατροφή και άλλες ενέργειες;

Τα προσδοκώμενα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης εστιάζουν κατ' αρχάς στην όσο το δυνατόν πιο ολοκληρωμένη απάντηση των ερευνητικών της ερωτημάτων. Πιο συγκεκριμένα στο που οφείλεται το οξειδωτικό στρες και σε ποιο βαθμό επιδρά στη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος με αποτέλεσμα την ανδρική υπογονιμότητα, καθώς και στο κατά πόσο δύνανται τα αντιοξειδωτικά σκευάσματα να αντιμετωπίσουν από μόνα τους το οξειδωτικό στρες (ή χρειάζονται και την υποστήριξη άλλων παραγόντων όπως η σωστή διατροφή και ο ενεργός τρόπος ζωής).

**Λέξεις – κλειδιά: Οξειδωτικό στρες, ελεύθερες ρίζες, γονιμοποιητική ικανότητα σπέρματος, αντιοξειδωτικά σκευάσματα.**

## **ABSTRACT**

The present study is multifaceted and consists of three main axes: oxidative stress, its effect on a man's fertilization capacity, and the importance (or not) of the role of antioxidant formulas. Oxidative stress (OS) has been defined as the disruption of the balance between the production of active forms of oxygen (free radicals) and the antioxidant defense mechanism, which can lead to tissue injury. Overwhelming evidence suggests that oxidative stress (OS) plays a vital role in the etiology of male infertility. Oxidative stress could lead to abnormal sperm parameters and high levels of sperm deoxyribonucleic acid fragmentation. Antioxidants – either organic or formulas – protect the male reproductive system from oxidative stress in various ways, however, acting interrelated and complementary with other factors.

The primary purpose of this study is the rendering of the current situation and the final confirmation or rejection of the active role of antioxidant formulas. The research questions, therefore, related to the purpose, are the following: i) what is oxidative stress and what is it due to? ii) does oxidative stress affect the fertilization capacity of sperm and to what extent? iii) can antioxidant formulas by themselves significantly cope with oxidative stress or act better in combination with proper nutrition and other actions;

The expected results of this study focus first on the as complete as possible answer to its research questions. More specifically, what is due to oxidative stress and to what extent it affects the fertilization capacity of sperm resulting in male infertility, as well as whether antioxidants can cope with oxidative stress on their own (or need the support of other factors such as proper nutrition and active lifestyle).

**Keywords: Oxidative stress (OS), free radicals, fertilization capacity of sperm, antioxidant formulas**

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, η υπογονιμότητα συνιστά πρόβλημα που επηρεάζει περίπου 90 εκατομμύρια ζευγάρια παγκοσμίως, ήτοι το 15% των ζευγαριών, που παρόλο που κατά δήλωσή τους εμφανίζουν φυσιολογική συχνότητα ελευθέρων σεξουαλικών επαφών για διάστημα τουλάχιστον ενός έτους, αντιμετωπίζουν δυσκολίες στην τεκνοποίηση (WHO - Π.Ο.Υ., 2021). Όσον αφορά τους υπογόνιμους άνδρες, φαίνεται ότι φέρουν την αποκλειστική ευθύνη για την αδυναμία σύλληψης στο 25-30% των περιπτώσεων, ενώ εμφανίζουν συνυπαιτιότητα στο 50% των περιπτώσεων αντιστοίχως (EAU, 2019). Δεδομένου ότι η ανδρική υπογονιμότητα στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν παρουσιάζει ειδικά εμφανή συμπτώματα, όπως πόνο ή πυρετό, η βαθύτερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας της, έχει στρέψει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στην ανάλυσή της σε επίπεδο μοριακής βιολογίας, καθώς μέσω αυτής μπορεί να συσχετιστούν παθολογικές και μη καταστάσεις και ανωμαλίες που ήδη ενοχοποιούνται ως αιτίες του προβλήματος (Tournaie et al., 2017). Στο πλαίσιο αυτό, με την ανδρική υπογονιμότητα έχουν μεταξύ άλλων συσχετιστεί και τα αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες, που προκύπτει είτε ως συνέπεια του τρόπου ζωής (κάπνισμα, κακή διατροφή, κατάχρηση αλκοόλ κτλ) είτε εξαιτίας κλινικών καταστάσεων (κίρσοκήλη, λοιμώξεις, τραυματισμοί των όρχεων κτλ) (Durairajanayagam, 2018). Λόγω της διασύνδεσης αυτής του οξειδωτικού στρες με την ανδρική υπογονιμότητα, έχει συναχθεί η ερευνητική υπόθεση ότι η μείωσή του και η επαναφορά του στα φυσιολογικά επίπεδα μέσω της λήψης αντιοξειδωτικών ουσιών, μπορεί να εισφέρει πολύ θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του προβλήματος (Garolla et al., 2020-Πολύδωρος, 2022).

Η παρούσα μελέτη είναι πολύπλευρη και αποτελείται από τρεις βασικούς άξονες: το οξειδωτικό στρες, την επίδρασή του στην γονιμοποιητική ικανότητα του ανδρός, και τη σημαντικότητα (ή μη) του ρόλου των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων. Ο πρωτεύων σκοπός, επομένως, της μελέτης αυτής είναι η απόδοση της εικόνας ως υφίσταται επί της παρούσης και της τελικής επιβεβαίωσης ή απόρριψης του ενεργού ρόλου των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων.

Τα ερευνητικά ερωτήματα, επομένως, που σχετίζονται με τον προαναφερθέντα σκοπό, είναι τα κάτωθι:

1. Τι είναι το οξειδωτικό στρες και που οφείλεται;
2. Επίδρά το οξειδωτικό στρες στην γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος και σε ποιο βαθμό;
3. Τα αντιοξειδωτικά σκευάσματα μπορούν από μόνα τους να αντιμετωπίσουν σημαντικά το οξειδωτικό στρες ή ενεργούν καλύτερα σε συνδυασμό με σωστή διατροφή και άλλες ενέργειες;

Τα προσδοκώμενα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης εστιάζουν κατ' αρχάς στην όσο το δυνατόν πιο ολοκληρωμένη απάντηση των ερευνητικών της ερωτημάτων. Πιο συγκεκριμένα στο που



οφείλεται το οξειδωτικό στρες και σε ποιο βαθμό επιδρά στη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος με αποτέλεσμα την ανδρική υπογονιμότητα, καθώς και στο κατά πόσο δύνανται τα αντιοξειδωτικά σκευάσματα να αντιμετωπίσουν από μόνα τους το οξειδωτικό στρες (ή χρειάζονται και την υποστήριξη άλλων παραγόντων όπως η σωστή διατροφή και ο ενεργός τρόπος ζωής).

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

#### 2.1 Οξειδωτικό στρες

##### 2.1.1 Ορισμός

Το οξειδωτικό στρες (Oxidative Stress – OS) έχει οριστεί ως η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ελεύθερες ρίζες) και του αντιοξειδωτικού αμυντικού μηχανισμού, που μπορεί να οδηγήσει σε τραυματισμό ιστού (Halliwell, 1994· Adeoye et al., 2018).

Οι επιδράσεις του οξειδωτικού στρες στον ανθρώπινο οργανισμό φαίνεται να παρουσιάζουν ισχυρή συσχέτιση με μια σειρά παθολογικών καταστάσεων, που σχετίζονται κυρίως με την λειτουργία του κυκλοφορικού και του νευρικού συστήματος, αλλά και με την επιδείνωση ή την ένταση της αντίδρασης του οργανισμού σε άλλες κατηγορίες παθολογικών καταστάσεων. Αναλυτικότερα, μελέτες έχουν αποδείξει ότι επιτείνει την ιστική βλάβη που προκαλούν η έκθεση στην ακτινοβολία και η υπεροξία, ενώ παράλληλα φαίνεται να συσχετίζεται με ορισμένα καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως η καρδιακή ανεπάρκεια, η αθηροσκλήρωση και η στεφανιαία νόσος, αφού συμβάλλει στην δημιουργία αθηρωματικής πλάκας, λόγω της απελευθέρωσης της LDL στο αγγειακό ενδοθήλιο. Επιπλέον, φαίνεται να επιδεινώνει τις αντιδράσεις του οργανισμού σε καταστάσεις υποξίας μετά από αγγειακά εγκεφαλικά και θρομβοεμβολικά επεισόδια. Επιπλέον, έχει εντοπιστεί συσχέτιση με νεοπλασίες, παθήσεις του συνδετικού ιστού και άλλες χρόνιες νόσους, όπως το AIDS και η χρόνια κατάθλιψη. Τέλος, υπό διερεύνηση βρίσκεται η επιδραστική του σχέση με ορισμένες κατηγορίες νευροεκφυλιστικών παθήσεων (Alzheimer, Parkinson, χορεία του Huntington, νόσος Lou Gehrig) (Clark, Hunt & Cowden, 1986).

Πέραν αυτού, μια άλλη επίδραση του οξειδωτικού στρες αναφέρεται στο γεγονός ότι ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού και πιο συγκεκριμένα, την παραγωγή από τα φαγοκύτταρα αζωτούχων παραγόντων και δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS), συμπεριλαμβανομένων του υπεροξειδίου ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), του νιτρικού οξειδίου ( $\cdot\text{NO}$ ) και του περοξυνιτρικού οξέος ( $\text{ONOO}^-$ ) κατά την ανοσολογική ανταπόκριση. Παρά το γεγονός ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι εξαιρετικά δραστικοί παράγοντες που σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις δημιουργούν τοξικότητα (στην συγκεκριμένη περίπτωση οξείδωση), όταν οι τιμές τους κυμαίνονται σε φυσιολογικά επίπεδα έχουν ευεργετική επίδραση στην λειτουργία του οργανισμού. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η σηματοδότηση και η διευκόλυνση της οξειδοαναγωγής, αλλά και η αναστολή της γήρανσης μέσω της διαδικασίας της όρμησης (Hormesis), ως αποτέλεσμα της βραχείας έκθεσης των κυττάρων στο οξειδωτικό στρες, η οποία, σε αντίθεση με την επί μακρόν έκθεση σε στρεσογόνους παράγοντες που

μπορεί να είναι εξαιρετικά επιζήμια, λειτουργεί ευεργετικά (Aitken & Clarkson, 2004· Κάβουρας, 2009).

Περαιτέρω, διασυνδέοντας την ανδρική υπογονιμότητα με την οξειδωτική δράση των ελεύθερων ριζών (ROS), επισημαίνεται ότι η συσχέτιση αυτή προκύπτει από την επίδραση των τελευταίων στα βιομόρια και μέσω αυτών στα συστήματα του οργανισμού. Πιο αναλυτικά, η τοξική δράση των ROS, αναφέρεται στις περιπτώσεις εκείνες που τα επίπεδά τους ξεπερνούν την ικανότητα αντιοξειδωτικής άμυνας των ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών του οργανισμού, που δεν μπορούν να ουδετεροποιήσουν το σύνολο των ROS, με αποτέλεσμα την επί μακρόν παραμονή αυτών στα συστήματα του οργανισμού και την πρόκληση βλαβών στα βιομόριά του (Lelli et al., 1998). Η μέτρηση του επιπέδου και της επίδρασης του οξειδωτικού στρες λαμβάνει υπόψιν της αυτήν ακριβώς την συσχέτιση μεταξύ της ανοσολογικής κατάστασης του οργανισμού, του επιπέδου των ROS και της ευκολίας πρόσδεσής τους στις διάφορες κατηγορίες κυττάρων, αφού η συνδρομή ενός μόνο εξ αυτών των παραγόντων, δεν είναι ικανή να αυξήσει για μεγάλο διάστημα τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες τόσο, ώστε να προκληθεί βλάβη στην λειτουργία των συστημάτων του οργανισμού (Βενετίκου, 2013· Φτίκα, 2020).

### *2.1.2 Οι ελεύθερες ρίζες*

Οι ελεύθερες ρίζες, οι οποίες είναι εγγενώς ασταθή μόρια εξαιτίας της παρουσίας ηλεκτρονίων που είναι ασύζευκτα, σχηματίζονται σε μεγάλες ποσότητες ως αναπόφευκτο υποπροϊόν πολλών βιοχημικών διεργασιών και σε ορισμένες περιπτώσεις, σκόπιμα, όπως στα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα. Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να δημιουργηθούν στο σώμα ως απόκριση στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία από το περιβάλλον και να αποκτηθούν απευθείας ως οξειδωτικοί ρύποι όπως το όζον και το διοξείδιο του αζώτου. Εάν ο αντιοξειδωτικός αμυντικός μηχανισμός είναι ανεπαρκής, τότε μπορεί να προκληθεί βλάβη σε διάφορους ιστούς (Betteridge, 2000).

Στην επιστήμη της χημείας, ο όρος χημική (και αργότερα ελεύθερη) ρίζα χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια κατηγορία μορίων ή ιόντων εξαιρετικά δραστικών έναντι άλλων χημικών ουσιών, που δεν υφίστανται μεταβολές κατά την διάρκεια χημικών αντιδράσεων. Θεμελιωτής της θεωρίας των ελεύθερων ριζών στην χημική επιστήμη ήταν ο Μόουζες Γκόμπεργκ, που το 1900 ταυτοποίησε για πρώτη φορά την ελεύθερη ρίζα τριφαινυλομεθυλίου ( $\text{Ph}_3\text{C}\cdot$ ), ωστόσο, η παρουσία ελεύθερων ριζών στους ζωντανούς οργανισμούς επιβεβαιώθηκε για πρώτη φορά μόλις το 1954 (Commoner, Townsend & Page, 1954). Έκτοτε η γνώση αναφορικά με τις ελεύθερες ρίζες, τα παράγωγά τους και την επίδρασή τους στην κυτταρική λειτουργία διευρύνθηκε και εξελίχθηκε ταχύτατα, ενώ τα τελευταία χρόνια η έρευνα έχει εστιάσει στις ευεργετικές επιδράσεις που μπορεί να έχουν για τον οργανισμό. Πιο αναλυτικά, το 1956 ο Harman, εκκινώντας από την υπόθεση ότι οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν υποπροϊόντα της ενζυμικής δράσης μιας σειράς συστημάτων, τις χαρακτήρισε ως «Κουτί της

Πανδώρας», ενοχοποιώντας τες για μια σειρά βλαβών που προκαλούνται στα κύτταρα και τα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού, μεταξύ των οποίων ο καρκίνος, η μεταλλαξογένεση και η γήρανση. Συνεχίζοντας, το 1969 οι McCord and Fridovich ταυτοποίησαν την υπεροξειδική δισμουτάση (superoxide dismutase – SOD), με την μελέτη τους να συμβάλει καθοριστικά στην συσχέτιση των ελευθέρων ριζών με την πρόκληση ιστικής βλάβης υπό ορισμένες συνθήκες, όπως η έκθεση σε ακτινοβολία. Ωστόσο, η θεωρία των εν λόγω ερευνητών παράλληλα συνέβαλε στην επανεστίαση του ενδιαφέροντος της επιστημονικής κοινότητας στις ελεύθερες ρίζες και την ενδεχόμενη θετική επίδρασή τους στη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού. Άλλα σημεία τομής στην σύγχρονη θεωρία των ελευθέρων ριζών ήταν η δεκαετία του 1990, οπότε οι Storz et al. (1990) επιβεβαίωσαν την δράση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (hydrogen peroxide – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ως επαγωγού πολλών γονιδίων σε βακτηρίδια, ενώ οι Schreck και Baeuerle (1991) ανακοίνωσαν την συσχέτισή του με την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα μεταγραφής KB (NF-kB8) (Εικόνα 1).

Οξειδωτικό μέσο	Κυριότερα χαρακτηριστικά
•O <sub>2</sub> <sup>-</sup> , Υπεροξειδικό ανión	O <sub>2</sub> σε κατάσταση αναγωγής κατά ένα ηλεκτρόνιο. Παράγεται σε πολλές αντιδράσεις αυτοοξειδωσης καθώς και με την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Σχετικά ανενεργό αλλά μπορεί να απελευθερώσει Fe <sup>2+</sup> από πρωτεΐνες όπως η φερριτίνη. Παράγει H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> είτε αυθόρμητα είτε με ενζυματική κατάλυση και είναι πρόδρομος της καταλυόμενης από μέταλλα παραγωγής •OH.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Υπεροξειδίο του υδρογόνου	O <sub>2</sub> σε κατάσταση αναγωγής κατά δύο ηλεκτρόνια. Παράγεται από •O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ή με απευθείας αναγωγή του O <sub>2</sub> . Λιποδιαλυτό και επομένως ικανό να διαχέεται ανάμεσα στις κυτταρικές μεμβράνες.
•OH, Υδροξυλικό ιόν	O <sub>2</sub> σε κατάσταση αναγωγής κατά δύο ηλεκτρόνια. Παράγεται με την αντίδραση Fenton και αποδόμηση του περοξυνιτρικού. Ιδιαίτερα ενεργό, επιτίθεται στα περισσότερα συστατικά του κυττάρου.
ROOH, Οργανικό υδροπεροξειδίο	Παράγεται μετά από τη διαντίδραση των ριζών με συστατικά του κυττάρου όπως λιπίδια και νουκλεοτιδικές βάσεις.
RO•, Αλκόξυ και ROO•, περόξυ ρίζες	Οργανικές ρίζες με βάση το οξυγόνο. Οι λιπιδικές μορφές συμμετέχουν σε αντιδράσεις υπεροξειδωσης λιπιδίων. Παράγονται παρουσία οξυγόνου με προσθήκη ρίζας σε διπλούς δεσμούς ή με απόσπαση υδρογόνου.
HOCl, Υποχλωρικό οξύ	Παράγεται από H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> μέσω της μυελοπεροξειδάσης. Λιποδιαλυτό και ιδιαίτερα ενεργό. Οξειδώνει ευχερώς συστατικά στοιχεία πρωτεϊνών, όπως αμινομάδες και γλουταθειόνη.
ONOO <sup>-</sup> , Περοξυνιτρικό	Παράγεται με ταχύτατη αντίδραση μεταξύ •O <sub>2</sub> <sup>-</sup> and NO•. Λιποδιαλυτό και παρόμοιας ενεργότητας με το υποχλωρικό οξύ. Η προσθήκη πρωτονίων δημιουργεί περόξυνιτρικό οξύ, το οποίο μπορεί να παράγει υδροξυλική ρίζα και διοξειδίο του αζώτου.

Εικόνα 1: Τα βασικότερα ROS (Κάβουρας, 2009)

Σήμερα, έχει επιβεβαιωθεί η ικανότητα των οργανισμών να συμβιώνουν με τις ελεύθερες ρίζες, η παραγωγή των οποίων αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της μεταβολικής λειτουργίας, αλλά και επιβεβαιωθεί η ευεργετική συμβολή των τελευταίων στην φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού, με χαρακτηριστικότερα παραδείγματα την ρύθμιση του αγγειακού τόνου και την επιτάχυνση και τη βελτίωση της ανοσολογικής απόκρισης των T-λεμφοκυττάρων, μέσω της οξειδοαναγωγικής διεργασίας. Πέραν αυτού, έχει τεκμηριωθεί επαρκώς η ύπαρξη μηχανισμών εξισορρόπησης των επιδράσεων της οξειδωσης και της συνοδής με αυτήν βλαπτικής δράσης των ριζών στην ιστική λειτουργία, που ρυθμίζουν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του οργανισμού (redox). Σε περίπτωση αποτυχίας των αντιοξειδωτικών συστημάτων του οργανισμού ή όταν ο ρυθμός παραγωγής ελεύθερων ριζών ξεπερνά την δυνατότητά τους να τις εξουδετερώνουν, ο οργανισμός βρίσκεται σε κατάσταση οξειδωτικού στρες (Παπαγαλάνης, 2014).

Κάθε είδους ενεργός ελεύθερη ρίζα αποτελεί δυνητικό αιτιολογικό παράγοντα οξειδωτικού στρες, υπό συγκεκριμένες προϋποθέσεις που σχετίζονται με τα επίπεδα συγκέντρωσής της στον οργανισμό ή στο σύστημα, την αποτελεσματικότητα της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας του οργανισμού, αλλά και τις μεμονωμένες ή διασταυρούμενες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστημάτων του οργανισμού και κυρίως των αξόνων του ενδοκρινικού συστήματος. Ωστόσο, ορισμένες εξ αυτών, όπως οι υδροξυλικές ρίζες είναι ιδιαίτερα ενεργές, με μικρό χρόνο ημίσειας ζωής, ενώ κάποιες άλλες παρουσιάζουν μεν λιγότερη δραστηριότητα, αλλά η διάρκεια δράσης τους είναι αρκετά μεγαλύτερη, με αποτέλεσμα να μπορούν να διαχέονται ευκολότερα και συνεπώς, σε περιπτώσεις που η συγκέντρωσή τους υπερβαίνει τα φυσιολογικά όρια, να μπορούν να προκαλέσουν βλάβη σε κύτταρα που βρίσκονται σε απόσταση από το σημείο παραγωγής τους ή/και σε άλλα συστήματα. Όπως αποτυπώνεται στην **Εικόνα 2**, οι ενεργές ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτική δραστηριότητα και συνοδές βλάβες σε ποικίλες κατηγορίες μορίων, όπως τις πρωτεΐνες (κυτταροπλασματικές ή δομικές), τις κυτταρικές, πυρηνικές και τις μιτοχονδριακές μεμβράνες, τα λιπίδια, τους υδατάνθρακες και τα νουκλεϊκά οξέα (Κάβουρας, 2009).

Δράση	Συνέπεια
Αναστολή αντιοξειδωτικών ενζύμων	Ελαττωμένη προστασία απέναντι στην βλαβερή επίδραση των ριζών
Αναστολή άλλων ενζύμων	Γενικότερη κυτταρική δυσλειτουργία
Αναστολή μεμβρανικών καναλιών	Διαταραχή ιοντικής ισορροπίας
Συνάθροιση πρωτεϊνών	Σχηματισμός Lewy bodys στα νευρικά κύτταρα
Βλάβη στο DNA	Βλάβη γονιδιώματος και κυτταρικός θάνατος
Μιτοχονδριακή δυσλειτουργία	Δημιουργία μιτοχονδριακών οξειδωτικών μέσων και ελεύθερων ριζών
Δυσλειτουργία μορίων κυτταρικής προσκόλλησης	Εντονότερη φλεγμονώδη απάντηση

**Εικόνα 2:** Επιρροή των ROS σε λειτουργίες των κυττάρων (Κάβουρας, 2009)

Επί του παρόντος δεν είναι δυνατή η άμεση μέτρηση των δραστικών μορφών οξυγόνου, επομένως οι προσπάθειες για την αξιολόγηση της παραγωγής ελεύθερων ριζών και της προοξειδωτικής/αντιοξειδωτικής ισορροπίας βασίζονται σε δείκτες οξειδωτικών αντιδράσεων συχνά σε δοκιμαστικά πειράματα (in vitro). Είναι σημαντικό να έχουμε κατά νου ότι οι διαφορετικές πειραματικές συνθήκες, για παράδειγμα, ο τύπος του χρησιμοποιούμενου υποστρώματος και η φύση των οξειδωτικών συνθηκών που εφαρμόζονται, θα έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία διαφορετικών προϊόντων. Σε γενικές γραμμές, το οξειδωτικό στρες μπορεί να εκτιμηθεί με μέτρηση προϊόντων αντίδρασης στην οξειδωτική βλάβη, για παράδειγμα, υπεροξειδωση λιπιδίων, οξείδωση DNA και οξείδωση πρωτεϊνών. Μια συμπληρωματική προσέγγιση είναι η μέτρηση της μείωσης των αντιοξειδωτικών όπως, για παράδειγμα, οι α-τοκοφερόλες, η βιταμίνη C και η θειόλη (Gutteridge & Halliwell, 1990).

## 2.2 Γονιμοποιητική ικανότητα σπέρματος

Η υπογονιμότητα ορίζεται ως η αδυναμία επίτευξης εγκυμοσύνης μετά από 1 χρόνο τακτικής σεξουαλικής επαφής χωρίς προστασία (Rowe et al., 1993). Οι αυξημένες δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) μαζί με μειωμένο αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό οδηγούν σε ανισορροπία οξειδοαναγωγικού δυναμικού (redox), μειωμένη κινητικότητα του σπέρματος και βλάβη του DNA του σπέρματος. Τα σπερματοζώαρια είναι πολύ ευαίσθητα στις βλαβερές επιδράσεις των ROS λόγω των μεγάλων ποσοτήτων ακόρεστων λιπαρών οξέων που βρίσκονται στις κυτταρικές τους μεμβράνες. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου προάγουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων, έχοντας ως αποτέλεσμα έντονο ενδοκυτταρικό οξειδωτικό φορτίο. Πιο λεπτομερώς, η αλληλουχία των γεγονότων περιλαμβάνει υπεροξειδωση λιπιδίων, απώλεια της ακεραιότητας της μεμβράνης με αυξημένη διαπερατότητα, μειωμένη κινητικότητα του σπέρματος, δομική βλάβη του DNA και απόπτωση (Henkel & Schill, 1998· Sanocka-Maciejewska et al., 2005· Schuppe et al., 2008). Αρκετοί ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες έχουν συσχετιστεί με αυξημένο οξειδωτικό στρες στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (Alahmar, 2019).

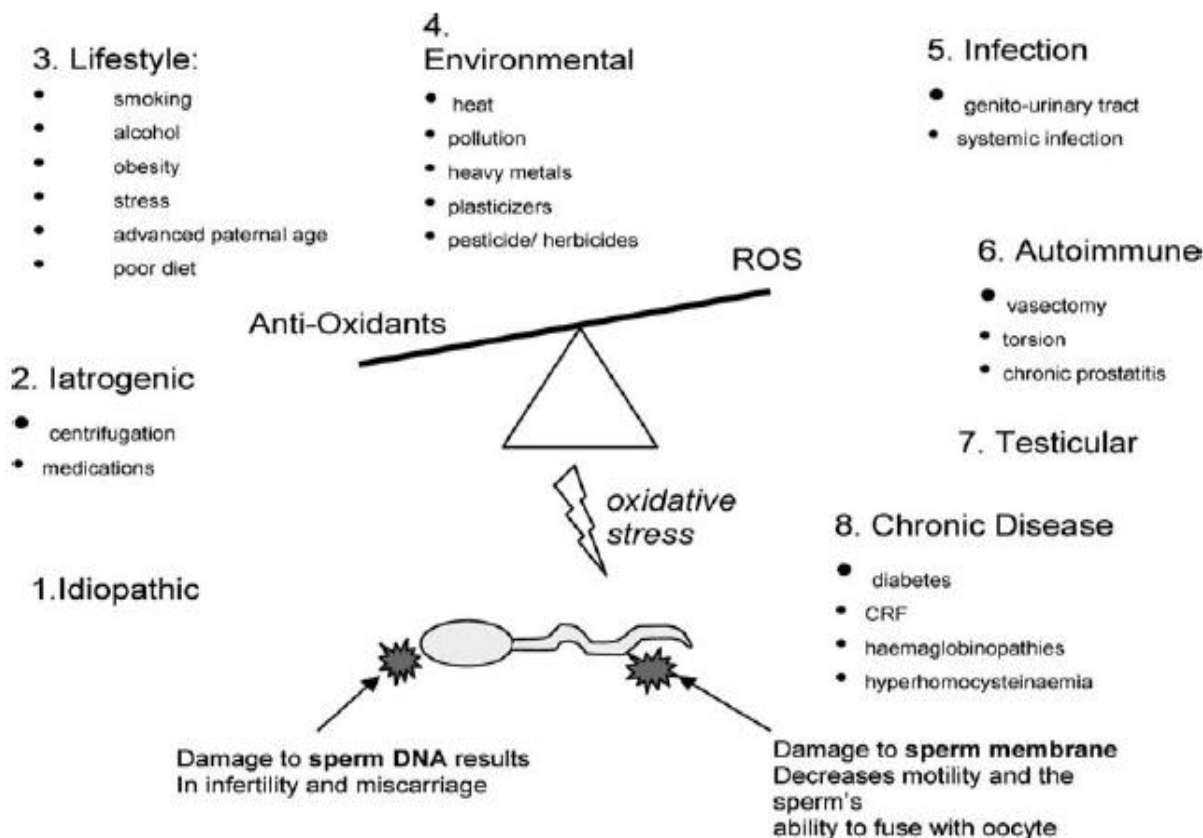
Πιο λεπτομερώς, το οξειδωτικό στρες συνδέεται με σπερματική λειτουργία του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος κατά την σπερματογένεση και την εκσπερμάτιση, και συγκεκριμένα με υπερβολική αναδίπλωση των σπερματοζωαρίων και με προβληματική παραγωγή ROS αντίστοιχα, ενώ παράλληλα οι τελευταίες ενοχοποιούνται για κατάτμηση του DNA των σπερματικών κυττάρων, ακολουθούμενη από ελαττωματική απόπτωσή τους, που προκαλείται λόγω της οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων στην κυτταρική τους μεμβράνη μέσω των ROS (Manicardi et al., 1995· Kodama et al., 1997· Lopes et al., 1998· Sakkas et al., 1999· Sakkas et al., 2002· Singh et al., 2003· Kühnert & Nieschlag, 2004· Moustafa et al., 2004). Επιπλέον, για σπερματική δυσλειτουργία ενοχοποιούνται και τα μιτοχόνδρια, που εξαιτίας της αυξημένης παραγωγής ROS συμβάλλουν

σημαντικά στην κατάτμηση του DNA, την ενεργοποίηση των προαπτωτικών μορίων και την απόπτωση. Παρά το γεγονός ότι η μείωση του ATP και η συνακόλουθη επιδείνωση της αναπαραγωγικής ικανότητας παρουσιάζει συσχέτιση με την καταστροφή του μιτοχονδριακού DNA εξαιτίας της οξειδωσης, φαίνεται ότι ο κυριότερος αιτιολογικός παράγοντας πρόκλησης βλαβών στην μορφολογία και την λειτουργία των σπερματικών κυττάρων είναι η καταστροφή του πυρηνικού DNA τους λόγω οξειδωτικού στρες (Angelorouli & Kyriazoglou, 2005).

Συνεπώς, συντριπτικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό στρες (OS) παίζει ζωτικό ρόλο στην αιτιολογία της ανδρικής υπογονιμότητας (Russo et al., 2006). Το οξειδωτικό στρες θα μπορούσε να οδηγήσει σε μη φυσιολογικές παραμέτρους του σπέρματος και σε υψηλά επίπεδα κατακερματισμού του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος του σπέρματος (Kumar & Singh, 2018). Πρόσφατα, έχει προταθεί η έννοια «ανδρική υπογονιμότητα από οξειδωτικό στρες» (male oxidative stress infertility – MOSI) και επισημάνθηκε ότι περίπου το 30%-80% των υπογόνιμων ανδρών έχουν αυξημένες δραστικές μορφές οξυγόνου στο σπέρμα, το οποίο επηρεάζει περίπου 37,2 εκατομμύρια υπογόνιμους άνδρες (Agarwal & Parekh, 2019).

### *2.2.1 Επίδραση του OS στο σπερματοζωάριο*

Το οξειδωτικό στρες και η επίδρασή του στο σπερματοζωάριο και συνεπώς στην ανδρική υπογονιμότητα συναρτώνται με μια σειρά ενδογενών ή εξωγενών παραγόντων, που συνοπτικά παρουσιάζονται στην παρακάτω Εικόνα (3).



Εικόνα 3: Επίδραση του OS στο σπερματοζώριο (Tremellen, 2008)

Βάσει αυτών που αναφέρονται στην παραπάνω εικόνα και ανάλογα με τον ενοχοποιητικό παράγοντα της υπογονιμότητας, αυτή κατηγοριοποιείται ως:

α) **Ιδιοπαθής** ανδρική υπογονιμότητα, που έχει συνδεθεί με την υπέρ του φυσιολογικού ορίου παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS) από σπερματοζώρια που παρουσιάζουν μορφολογικές ανωμαλίες, σε συνδυασμό με την μειωμένη αντιοξειδωτική τους ικανότητα (Said et al., 2005· Garrido et al., 2004).

β) **Ιατρογενής** ανδρική υπογονιμότητα, που μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα της χρήσης τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, που έχει συνδεθεί με την αύξηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών καθόλα τα στάδια της διαδικασίας (φυγοκέντρωση, έγχυση ή/και κρυοσυντήρηση του σπέρματος) πάνω από τα όρια των δυνατοτήτων των αντιοξειδωτικών συστημάτων του οργανισμού, και συνεπώς, με το οξειδωτικό στρες (Watson, 2000).

Στην κατηγορία της ιατρογενούς υπογονιμότητας εμπίπτει και η χρήση ορισμένων φαρμακευτικών παραγόντων όπως η κυκλοφωσφαμίδη, που μέσω πειραμάτων σε πειραματόζωα, έχει ενοχοποιηθεί για την αύξηση των επιπέδων μαλονδυαλδεΐδης (MDA) και την συνοδή ελάττωση της ορχικής καταλάσης (Das et al., 2002).



γ) Ανδρική υπογονιμότητα σχετιζόμενη με τον **τρόπο ζωής** του υποκειμένου αναφοράς. Στις περιπτώσεις αυτές, σε κύριους ενοχοποιητικούς παράγοντες αναδεικνύονται η αυξημένη ηλικία του άνδρα, το κάπνισμα, η κακή διατροφή, το ψυχολογικό στρες και η κατάχρηση αλκοόλ.

Η κατάχρηση αλκοόλ επιφέρει αύξηση των επιπέδων του οξειδωτικού στρες στα συστήματα του οργανισμού, επηρεάζοντάς τα πολλαπλώς. Πιο αναλυτικά, η αυξημένη συγκέντρωση αιθανόλης προκαλεί αύξηση στην παραγωγή ελεύθερων ριζών σε επίπεδα υψηλότερα της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού. Παράλληλα, μελέτες έχουν καταδείξει ότι οι συστηματικοί χρήστες αλκοόλ, λόγω του τρόπου ζωής τους, ακολουθούν διατροφή ανεπαρκή σε αντιοξειδωτικές ουσίες (Wu & Cederbaum, 2003· Koch et al., 2004). Επιπλέον, μελέτες έχουν καταδείξει την συσχέτιση μεταξύ της υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ και μειωμένης αναπαραγωγικής ικανότητας στους άνδρες, σημειώνοντας τις επιβλαβείς συνέπειες της αυξημένης παραγωγής ROS στα μιτοχόνδρια, καθώς και την πρόκληση προβληματικών επιγενετικών τροποποιήσεων στα γαμετικά κύτταρα (Manzo-Avalos & Saavedra-Molina, 2010· Rompala & Homanics, 2019). Τέλος, μελέτη σε δείγμα 46 ανδρών αναπαραγωγικής ηλικίας κατέδειξε μείωση της παραγωγής αντιοξειδωτικών ουσιών από τον οργανισμό και συνακόλουθη αύξηση του οξειδωτικού στρες στους όρχεις, αύξηση των υποπροϊόντων της αυξημένης οξείδωσης των λιπιδίων και σημαντική μείωση της τεστοστερόνης στο πλάσμα (Maneesh et al., 2006· Φτίκα, 2020).

Πιο αναλυτικά, έρευνες σε πειραματόζωα έχουν καταδείξει ότι στα μεγαλύτερης ηλικίας ζώα η παραγωγή ελεύθερων ριζών στα σπερματοζωάρια είναι αυξημένη, ενώ οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί λειτουργούν ανεπαρκώς, με αποτέλεσμα το οξειδωτικό στρες και διαμεσολαβούμενη βλάβη στην γονιμοποιητική ικανότητα των σπερματοζωαρίων (Weir & Robaire, 2007). Το κάπνισμα αφενός αυξάνει τον αριθμό των λεμφοκυττάρων (48%) και τα επίπεδα των ελεύθερων ριζών στο σπέρμα (107%), αφετέρου φαίνεται να μειώνει τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών μέσω του οργανισμού (Saleh et al., 2002a· Mostafa et al., 2006). Παρόμοιες φαίνεται να είναι οι επιδράσεις της πρόσληψης αυξημένων ποσοτήτων αλκοόλ και η έκθεση σε ψυχικά στρεσογόνους παράγοντες (Maneesh et al., 2006· Eskiocak et al., 2005). Όσον αφορά στη διατροφή, αξιοσημείωτη είναι η μελέτη AGES, που εξέτασε την επίδραση στην ανδρική υπογονιμότητα της μειωμένης πρόσληψης ορισμένων αντιοξειδωτικών μέσων, όπως οι βιταμίνες των ομάδων Β και Ε, η β-καροτίνη, το φολικό οξύ και ο ψευδάργυρος, συσχετίζοντάς τες με μειωμένη συγκέντρωση και μειωμένη κινητικότητα των σπερματοζωαρίων αντίστοιχα (Eskenaazi et al., 2005· Silver et al., 2005).

δ) Ανδρική υπογονιμότητα προκαλούμενη από έκθεση σε ορισμένους τοξικούς **περιβαλλοντικούς παράγοντες**, όπως βαρέα μέταλλα σε υψηλές συγκεντρώσεις (π.χ. κάδμιο, μόλυβδος), η μεθοξυαιθανόλη της ομάδας των γλυκολών που υπάρχει στα χημικά χρώματα και στα υγρά φρένων των οχημάτων, το 2,4,6-τρινιτροτολουένιο που χρησιμοποιείται ως βασικό συστατικό κατασκευής εκρηκτικών υλών και το διοξείδιο του θείου, που αποτελεί προϊόν της καύσης του πετρελαίου και των

παραγών του, που προκαλούν οξειδωτικό στρες, δυσλειτουργία στην σπερματογένεση και οξείδωση του DNA των σπερματοζωαρίων (Naha & Chowdhury, 2006).

ε) **Λοιμωξιογενής ή φλεγμονογενής** ανδρική υπογονιμότητα, με ορισμένες λοιμώξεις του ουροποιητικού (βλ. προστατίτιδα), αλλά και κάποιες συστηματικές λοιμώξεις όπως η ηπατίτιδα και το AIDS, να ενοχοποιούνται για πρόσκαιρη ή μόνιμη έκπτωση της αναπαραγωγικής ικανότητας του άνδρα. Επιπλέον, οι διάφοροι τύποι φλεγμονών των όρχεων έχουν συσχετιστεί ερευνητικά με μείωση των επιπέδων τεστοστερόνης, ανωμαλίες στην σπερματογένεση και αύξηση του ρυθμού απόπτωσης των σπερματοζωαρίων (Reddy et al., 2006).

στ) **Ορχική** ανδρική υπογονιμότητα, σχετιζόμενη με παθήσεις όπως η κρυπορχία, η οποία έχει επισημανθεί ως βασικός αιτιολογικός παράγοντας της μειωμένης παραγωγής σπερματοζωαρίων ως αποτέλεσμα της ανεπαρκούς ωρίμανσης των γονοκυττάρων σε τύπου A σπερματογόνια, αλλά και η κισσοκήλη (Huff et al., 1991). Παρόλα αυτά, στην έρευνα των Smith et al. (2007) παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών στους συμμετέχοντες άντρες παραμένουν αυξημένα και το DNA τους κατατετηγμένο, παρά την ορχεοπηξία στην οποία υποβλήθηκαν σε νεαρή ηλικία. Επιπλέον, η συστροφή του σπερματικού τόνου και ο τραυματισμός των όρχεων λόγω της βλάβης του μηχανισμού οξείας ισχαιμίας- επαναϊμάτωσης που προκαλείται ως αποτέλεσμα τραυματισμού, ενοχοποιείται για την πρόκληση βλαβών όχι μόνο στον όρχι που υπέστη τον τραυματισμό, αλλά και ετερόπλευρα, λόγω της αυξημένης παραγωγής λεμφοκυττάρων και πλεονάσματος ελεύθερων ριζών, που νεκρώνουν τα σπερματοζωάρια (Filho et al., 2004).

ζ) Ανδρική υπογονιμότητα σχετιζόμενη με την ύπαρξη **χρόνιων νοσημάτων**, όπως η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, οι αιμοσφαιρινοπάθειες (Moreno et al., 2005· Trimellen, 2008) και ο Σακχαρώδης Διαβήτης, που έχει συσχετιστεί με το οξειδωτικό στρες, την μειωμένη σπερματογένεση και προβλήματα στυτικής δυσλειτουργίας, λόγω των αυξημένων επιπέδων κατατετηγμένου DNA στους σακχαροδιαβητικούς ασθενείς (Agbaje et al., 2007· Κάβουρας, 2009).

Στο πλαίσιο αυτό, έχει μελετηθεί η επίδραση της αύξησης των επιπέδων ROS σε ασθενείς με μεταβολικές δυσλειτουργίες. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά σε διαβητικούς ασθενείς, η αύξηση της παραγωγής ROS παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με την μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού (Bloch-Damti et al., 2005). Παράλληλα, η διαταραχή της θυρεοειδικής λειτουργίας λόγω διαταραχών του επιπέδου των θυρεοειδικών ορμονών έχει συσχετιστεί με την αύξηση των ROS στα σπερματοζωάρια, ενώ μελέτη σε ενήλικες αρουραίους που είχαν προηγουμένως λάβει φαρμακευτική αγωγή που είχε οδηγήσει σε μείωση της T4 και υποθυρεοειδισμό, έδειξε σημαντική μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού και αύξηση των επιπέδων οξειδωτικού στρες (Resch et al., 2002· Φτίκα, 2020).

### 2.2.1.1 Μέθοδοι προσδιορισμού OS

#### **α) Άμεσες μέθοδοι**

Οι άμεσες μέθοδοι προσδιορισμού αποτυπώνουν το βιολογικό αποτέλεσμα μεταξύ της παραγωγής ROS και της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού, προκειμένου να προσδιορίσουν το μέγεθος της προκληθείσας βλάβης στο DNA ή την λιπιδική μεμβράνη των σπερματοζωαρίων λόγω του οξειδωτικού στρες. Η πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενη άμεση μέθοδος προσδιορισμού OS είναι η μέτρηση της συγκέντρωσης Μαλονδυαλδεΐδης (MDA) είτε στο σπέρμα είτε στον ορό του σπέρματος. Η διαφορά μεταξύ αυτών έγκειται στο γεγονός ότι για τη μεν μέτρηση της MDA στον ορό του σπέρματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί η φασματοφωτομετρία, ενώ για την μέτρησή της στο σπέρμα απαιτούνται μέθοδοι αυξημένης ευαισθησίας, όπως η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) (Shang et al., 2004), λόγω της αισθητά χαμηλότερης συγκέντρωσης (Tavilani, Doosti & Saeidi, 2005). Η αυξημένη MDA φαίνεται να παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την ανδρική υπογονιμότητα, δεδομένου ότι έχουν εντοπιστεί υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης της ουσίας σε άνδρες με διάγνωση υπογονιμότητας συγκριτικά με τους γόνιμους και τους νορμοσπερματικούς (Hsieh, Chang & Lin, 2006).

Περαιτέρω, μια ακόμα άμεση μέθοδος που έχει να επιδείξει πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα, χωρίς ωστόσο να χρησιμοποιείται επί του παρόντος σε μεγάλο εύρος, είναι η μέτρηση της συγκέντρωσης της 8-Ισοπροστάνης (8-Isoprostane) που παράγεται στην κυτταρική μεμβράνη ως αποτέλεσμα της επίδρασης των ROS στο αραχιδονικό οξύ (Khosrowbeygi & Zarghami, 2007).

Όσον αφορά στις μεθόδους άμεσου προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες και της επίδρασής τους στην ανδρική υπογονιμότητα μέσω της μέτρησης της βλάβης στο DNA του σπερματοζωαρίου, η πιο αξιόπιστη από αυτές αφορά στον έλεγχο μέσω υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης των επιπέδων του οξειδωμένου δεοξυνουκλεοτιδίου 8-OHdG στο σπέρμα ή στον ορό, που φαίνεται να παρουσιάζει αντίστροφη συσχέτιση με την ανδρική αναπαραγωγική ικανότητα (Loft et al., 2003). Ωστόσο, θα πρέπει να επισημανθεί ότι, παρά το γεγονός ότι τα αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες στον οργανισμό για ικανό διάστημα συμβάλλουν καθοριστικά στην πρόκληση βλαβών στο DNA των σπερματοζωαρίων, ο έλεγχος της βλάβης αυτής δεν αποτελεί απολύτως ακριβή μέθοδο προσδιορισμού του OS, καθώς αντίστοιχες βλάβες μπορεί να προκληθούν και από άλλους αιτιολογικούς παράγοντες, όπως ανωμαλίες στην λειτουργία της απόπτωσης (Ozmen et al., 2007).

#### **β) Έμμεσες μέθοδοι**

Ο έλεγχος της Ολικής Αντιοξειδωτικής Ικανότητας (TAC) στο σπέρμα είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί με την χρήση ποικίλων έμμεσων μεθόδων μέτρησης, μεταξύ των οποίων η φασματοφωτομετρία και η χημειοφωταυγεία.

Πιο αναλυτικά, μια εκ των πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενων έμμεσων μεθόδων μέτρησης του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό εν γένει και ελέγχου της παραγωγής ROS στο σπέρμα ειδικότερα,

είναι αυτή της χημειοφωταύγειας, που πραγματοποιείται με τη χρήση ιχνηθετών, όπως η λουμινόλη. Οι μέθοδοι αυτές είναι ιδιαίτερα διαδεδομένες, λόγω της ευαισθησίας των χρησιμοποιούμενων ιχνηθετών, η οποία επιτρέπει την μέτρηση της οξειδοαναγωγικής δραστηριότητας στα σπερματικά κύτταρα σε ποσοτικούς δείκτες με ιδιαίτερη ακρίβεια (Aitken, Baker & O'Bryan, 2004).

Η λουμινόλη ( $C_8H_7N_3O_2$ ) είναι μια χημική ουσία μη υδατοδιαλυτή, που παρουσιάζει ιδιαίτερη ευαισθησία σε αντιδράσεις με ποικίλες ελεύθερες ρίζες, όταν βρίσκεται σε περιβάλλον ουδέτερου pH. Η αντίδραση της λουμινόλης με τις ελεύθερες ρίζες έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ενός φωτεινού σήματος, το οποίο μέσω της χρήσης ειδικού εξοπλισμού (λουμινόμετρο) μετατρέπεται σε ηλεκτρικό σήμα, που προσδιορίζει την συγκέντρωση ROS στο δείγμα. Η χημειοφωταυγεία με την χρήση λουμινόλης ορίζει ως φυσιολογικές τιμές των ROS από 0,10 έως  $1.0 \times 10^6$  μετρούμενα φωτόνια ανά λεπτό (cpm) ανά  $20 \times 10^6$  σπερματοζώαρια. Το πλεονέκτημα της χρήσης της λουμινόλης κατά την διαδικασία της χημειοφωταυγείας εν συγκρίσει με άλλους ιχνηθέτες, έγκειται στο γεγονός ότι αυτή μπορεί να μετρά τόσο την εξωκυττάρια όσο και την ενδοκυττάρια υπεροξειδωση. ενώ ο ταυτόχρονος συνδυασμός της με άλλους ιχνηθέτες, φαίνεται να εξάγει υψηλότερης ακρίβειας αποτελέσματα ως προς την απελευθέρωση ROS τόσο στο ενδοκυτταρικό όσο και στο εξωκυτταρικό περιβάλλον. Στα μειονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου αποτελεί η ακρίβεια του λουμινόμετρου (Sakkas et al., 2002).

Όσον αφορά στις φασματομετρικές μεθόδους, αυτές περιλαμβάνουν την παραγωγή στο εργαστήριο ενός είδους ρίζας και την μέτρηση της αντιοξειδωτικής αντίδρασης του ληφθέντος δείγματος, μετά την έκθεσή του σε αυτήν. Οι πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενες μέθοδοι αυτής της κατηγορίας, αφορούν στην αντίδραση του ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphate) στις ελεύθερες ρίζες, που προκαλούν αλλαγή του χρώματός του. Κατά την διαδικασία αυτή, το αναγμένο μόριο ABTS οξειδώνεται μέσω της χρήσης υπεροξειδίου του υδρογόνου και μετατρέπεται σε ABTS<sup>+</sup>. Η αντίδραση αυτή προκαλεί την αλλαγή του χρώματος του μορίου, που από διαυγές τρέπεται σε μπλε ή πράσινο χρώμα. Η αλλαγή αυτή ελέγχεται με φασματόμετρο στα 600nm. Στην συνέχεια, εάν το μπλε-πράσινο ABTS<sup>+</sup> αναμειχθεί με κάθε είδους ουσίας που μπορεί να οξειδωθεί, αποχρωματίζεται επανερχόμενο στην αρχική διαυγή μορφή του. Η παρουσία αντιοξειδωτικών στο σπέρμα περιορίζουν την αλλαγή αυτή του χρώματος του ABTS<sup>+</sup>, ανάλογα με τα επίπεδα συγκέντρωσής του στο δείγμα που ελέγχεται, αποτυπώνοντας την οξειδωτική ικανότητα του σπέρματος. Τα βασικότερα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι η ευκολία με την οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί η μέτρηση και το χαμηλό κόστος (Erel, 2004· Κάβουρας, 2009).

### γ) Εξετάσεις ρουτίνας

Στην παρακάτω υποενότητα παρουσιάζονται οι πιο σημαντικές ενδείξεις από εξετάσεις ρουτίνας για τη διερεύνηση ύπαρξης OS στο σπερματοζώαριο. Σε ένα πρώτο επίπεδο ανάλυσης, θα πρέπει αρχικά να επισημανθεί ότι παρά το γεγονός ότι η επιδείνωση οποιασδήποτε εκ των παραμέτρων που

εξετάζουν την ποιότητα και την λειτουργία του σπέρματος και των σπερματοζωαρίων (αριθμός, μορφολογία, κινητικότητα) αποτελεί συχνότατα παρατηρούμενο σύμπτωμα σε υπογόνιμους άνδρες που εμφανίζουν υψηλά επίπεδα αντιοξειδωτικού στρες, κρισιμότερος δείκτης θεωρείται η ανθοσπερμία (Kao et al., 2008· Κάβουρας, 2009).

#### 2.2.1.2 Ενδείξεις OS στις εξετάσεις ρουτίνας

Στην **Εικόνα 4** απεικονίζονται οι ενδείξεις ύπαρξης αυξημένων επιπέδων οξειδωτικού στρες στα σπερματοζωάρια που δύνανται να εντοπιστούν μέσα από εξετάσεις ρουτίνας. Από τους δείκτες αυτούς, ο κρισιμότερος φαίνεται να είναι η ανθοσπερμία, παρόλο που η διαταραχή σε οποιονδήποτε παράγοντα σχετίζεται με την μορφολογία, τον αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων αποτελεί συχνά παρουσιαζόμενο σύμπτωμα (Kao et al., 2008· Κάβουρας, 2009).

- 1.Ελαττωμένη κινητικότητα
- 2.Τερατοσπερμία
- 3.Αυξημένος αριθμός κυλινδρικών κυττάρων στο σπέρμα
- 4.Αυξημένο ιξώδες
- 5.Πτωχή γονιμοποίηση στη συνήθη IVF
- 6.Πτωχή κινητικότητα σπερματοζωαρίου μετά επώαση με ωκύτταρο
- 7.Πτωχή ανάπτυξη βλαστοκύστης με απουσία ενοχοποιητικού παράγοντα από το θήλυ φύλο (π.χ. αυξημένη μητρική ηλικία)

**Εικόνα 4:** Ενδείξεις OS στις εξετάσεις ρουτίνας (Κάβουρας, 2009)

#### 2.2.2 OS, ανδρική υπογονιμότητα & διαγνωστικοί δείκτες

Ωστόσο, αξίζει να υπογραμμιστεί ότι πρόσφατες μελέτες έχουν καταδείξει έναν νέο δείκτη παραμετροποίησης που εντοπίζεται στα 2/3 των περιπτώσεων ανεξήγητης υπογονιμότητας και που σχετίζεται με την ύπαρξη αυξημένων επιπέδων οξειδωτικού στρες σε άνδρες (MOSI – Male Oxidative Stress Infertility), που στις εξετάσεις τους οι ως άνω αναφερόμενοι δείκτες είναι κατά τα λοιπά φυσιολογικοί και οι οποίοι μέχρι πρότινος κατηγοριοποιούνταν ως πάσχοντες από ιδιοπαθή υπογονιμότητα (Agarwal et al., 2019).

Οι Agarwal et al. (2019) πρότειναν τον όρο MOSI προκειμένου να περιγράψουν τους υπογόνιμους άνδρες που είχαν προηγουμένως ταξινομηθεί ως πάσχοντες από ιδιοπαθή ανδρική υπογονιμότητα, ενώ πάσχουν από αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες. Εξάλλου, μελέτες έχουν ήδη καταδείξει ότι οποιαδήποτε διαταραχή στην ομοιοστατική ισορροπία μεταξύ των επιπέδων ROS και του αντιοξειδωτικού συστήματος του οργανισμού και της αντιοξειδωτικής ικανότητας παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την μείωση της ανδρικής αναπαραγωγικής ικανότητας, εφόσον οδηγεί σε βλάβες στο σπέρμα, που προκαλούνται από υπεροξειδωση λιπιδίων, τον κατακερματισμό του DNA του

σπέρματος και την δυσλειτουργική διαδικασία απόπτωσης των σπερματοζωαρίων. Πιο λεπτομερώς, δεδομένου ότι η μεμβράνη του πλάσματος του σπέρματος σχηματίζεται κυρίως από λιπίδια, τα σπερματοζωάρια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε βλάβες που προκαλούνται από την υπεροξειδωση λόγω υψηλής συγκέντρωσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη μεμβράνη πλάσματος του σπερματοζωαρίου και των χαμηλών συγκεντρώσεων των κυτταροπλασματικών ενζύμων (Alvarez & Storey, 1995). Η μαλονδιαλδεΐδη (MDA) είναι ένα από τα υποπροϊόντα της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, η παρουσία της οποίας σε υψηλές συγκεντρώσεις έχει συσχετιστεί στην κλινική πραγματικότητα με προβλήματα υπογονιμότητας στους άνδρες (Aitken, Clarkson & Fishel, 1989· Marwan, Martinez & Parekh, 2020).

Όσον αφορά στους υπογόνιμους άνδρες με παθολογικές παραμέτρους σπέρματος, ένας από τους πιο χρήσιμους δείκτες διαφορικής διάγνωσης για την συσχέτιση της υπογονιμότητας με το οξειδωτικό στρες, είναι η μέτρηση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού (ORP – Oxidation Reduction Potential), που μετρά τα επίπεδα αντιοξειδωτικών και οξειδωτικών ουσιών στα βιολογικά υγρά (Agarwal et al., 2016· Agarwal et al., 2017· Agarwal et al., 2019).

Η μεθοδολογία που χρησιμοποιείται στην εξέταση Oxidation Reduction Potential και στην αξιολόγηση του MiOXSYS (Οξειδωτικό Σύστημα Ανδρικής Υπογονιμότητας – Male Infertility Oxidative System) θεωρείται αξιόπιστη, λόγω της επαναληψιμότητας των αποτελεσμάτων που έδωσε σε μετρήσεις των επιπέδων του οξειδοαναγωγικού δυναμικού σε δείγματα σπέρματος που ελήφθησαν σε πραγματικό χρόνο, σε πλάσμα σπέρματος, καθώς και σε κρυοκατεψυγμένο σπέρμα. Μελέτες δείχνουν ότι τα υψηλά επίπεδα ORP παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση με τον αριθμό, την φυσιολογική μορφολογία και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Παράλληλα, φαίνεται να σχετίζεται με επιδείνωση του κατακερματισμού του DNA του σπέρματος (SDF), χωρίς ωστόσο να επιβεβαιώνεται η αμφίδρομη σχέση των δύο αυτών παραμέτρων, αφού φυσιολογικά επίπεδα SDF δεν συνεπάγονται αυτομάτως και την απουσία οξειδωτικού στρες (Homa et al. 2019). Ένα εξαιρετικά σημαντικό εργαλείο είναι η οριακή τιμή 1,34 (mV/106sperm/mL) που σηματοδοτεί / διαχωρίζει τα φυσιολογικά από τα παθολογικά σπερματικά δείγματα στους άνδρες με υπογονιμότητα, με ευαισθησία 98.1%, ειδικότητα 40.6%, θετική προγνωστική αξία 94.7% και αρνητική προγνωστική αξία 66.6% (Agarwal et al., 2016· Χαραλαμπίδου, 2020).

### *2.2.2.1 Γενικές οδηγίες για θεραπεία OS*

Δεδομένου ότι οι παράγοντες που ενοχοποιούνται για την εμφάνιση οξειδωτικού στρες ποικίλλουν, το πρώτο βήμα προκειμένου να σχεδιαστεί μια αποτελεσματική θεραπευτική παρέμβαση σε εξατομικευμένο επίπεδο, είναι η λήψη ενός λεπτομερούς ιστορικού του ασθενούς, με στόχο την διερεύνηση των ιδιαίτερων αιτιολογικών παραγόντων που το προκαλούν κατά περίπτωση (Tremellen, 2008). Βάσει αυτού, καταρχήν συστήνεται αλλαγή του τρόπου ζωής του ασθενούς και μεταστροφή

των επιβλαβών για την ομοιοστατική ισορροπία του οργανισμού συνηθειών, όπως το κάπνισμα, η κατάχρηση ουσιών, η κακή διατροφή και το ψυχολογικό στρες (Saleh et al., 2002a· Eskenazi et al., 2005· Wu & Cederbaum, 2003· Koch et al., 2004).

Εξάλλου, μελέτες έχουν καταδείξει τη βελτιωτική επίδραση που μπορεί να έχουν στην μείωση του οξειδωτικού στρες και της έκτασης ορισμένων αναστρέψιμων βλαβών που προκαλούνται εξαιτίας αυτού στον οργανισμό, η διακοπή του καπνίσματος, η αποχή από τη χρήση ψυχοτρόπων ουσιών, όπως το αλκοόλ και τα ναρκωτικά, η βελτίωση της διατροφής μέσω της συμπερίληψης στην καθημερινή διατροφική ρουτίνα του ασθενούς φρούτων και λαχανικών και η διατήρηση φυσιολογικού βάρους, σε συνδυασμό με την άσκηση και την μείωση της έντασης των ρυθμών ζωής (Tremellen, 2008). Στο ίδιο πλαίσιο, ορισμένη ευεργετική επίδραση φαίνεται να έχουν η μείωση της συχνότητας και του βαθμού έκθεσης του ασθενούς στην περιβαλλοντική ρύπανση, τα βαρέα μέταλλα και άλλες τοξίνες, καθώς και σε ακραίες θερμοκρασίες (καύσωνα ή παγετό) (Acharya et al., 2003).

Σε ένα πιο ειδικό επίπεδο, όταν η υπεροξειδωση στο αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα οφείλεται σε κάποια υποκείμενη μόλυνση του ουροποιητικού συστήματος του οργανισμού και τη συνακόλουθη αύξηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων, η θεραπευτική παρέμβαση εστιάζει στην αντιμετώπιση της παθολόγου κατάστασης με την χρήση αντιβιοτικών. Εφόσον ολοκληρωθεί ο κύκλος της θεραπείας, συστήνεται επανέλεγχος του επιπέδου OS (Ochsendorf, 1999· Potts et al., 2000a,b). Έχει επιβεβαιωθεί ερευνητικά ότι οι φαρμακευτικές θεραπείες για την αντιμετώπιση του ουρεοπλάσματος και των χλαμυδίων βελτιώνουν τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες και ακολούθως την ποιότητα του σπέρματος, αυξάνοντας την αναπαραγωγική ικανότητα του άνδρα (Omu et al., 1998· Vicari, 2000).

Πέραν αυτών, μελέτες έχουν υποδείξει την ευεργετική επίδραση που μπορεί να έχει στην μείωση του οξειδωτικού στρες η λήψη αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων διατροφής. Ωστόσο, δεν υπάρχουν επαρκείς σε αριθμό, δείγμα και εμπεριστατωμένη ερευνητική μεθοδολογία μελέτες που να μπορούν να καταδείξουν αντίστοιχη συσχέτιση μεταξύ της θεραπείας με αντιοξειδωτικά σκευάσματα και της βελτίωσης του αριθμού, της κινητικότητας και της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων. Η συγκεκριμένη άποψη έχει υποστηριχθεί από ορισμένες μελέτες περιορισμένου δείγματος και βεληνεκούς, ωστόσο, σε καμία περίπτωση δεν μπορούν να θεωρηθούν επαρκείς, ώστε να είναι δυνατή η γενίκευση των αποτελεσμάτων τους, που αποτυπώνουν μια κάποια θετική συσχέτιση (Agarwal et al., 2004). Ως εκ τούτου, στο πεδίο αυτό εντοπίζεται ερευνητικό κενό, που απαιτεί περισσότερες συστηματικές μελέτες που να εξετάζουν τόσο την επίδραση της λήψης αντιοξειδωτικών σκευασμάτων στην βελτίωση της ποιότητας του σπέρματος, όσο και την ενδεδειγμένη κατά περίπτωση δοσολογία και διάρκεια χορήγησής τους (Φτίκα, 2020).

### **2.3 Αντιοξειδωτικά σκευάσματα**

### 2.3.1 Αντιοξειδωτικές οργανικές ουσίες

Ο ανθρώπινος οργανισμός διαθέτει ένα οπλοστάσιο ενζυμικών και μη ενζυμικών μορίων, προκειμένου για την αντιοξειδωτική του προστασία έναντι των ελεύθερων ριζών, που είναι ιδιαίτερα τοξικές για τον οργανισμό, όταν παράγονται επί μακρόν και σε επίπεδα τέτοια, που να ξεπερνούν την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού (Πολύδωρος, 2022). Τα αντιοξειδωτικά, λοιπόν, είναι χημικές ουσίες ενζυματικές και μη, οι οποίες παρεμποδίζουν την υπεροξείδωση των κυττάρων και των συστημάτων του οργανισμού, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) και καταπολεμώντας το οξειδωτικό στρες. Αυτή η διαδικασία της «εξουδετέρωσης» περιγράφει τον μηχανισμό μέσω του οποίου τα αντιοξειδωτικά αδρανοποιούν τα ιδιαίτερα δραστικά μόρια ROS. Ο πίνακας στην **Εικόνα 5** παρουσιάζει αναλυτικά τα κύρια αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, προστατεύοντάς το (Χαραλαμπίδου, 2020).

Αντιοξειδωτικό	Μηχανισμός δράσης	Επίδραση
GSH/GPX*	Απομακρύνει τις ελεύθερες ρίζες	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση, βελτιώνει τα χαρακτηριστικά της μεμβράνης του σπερματοζωαρίου
SOD	Εξουδετερώνει τα ανιόντα σουπεροξειδίου	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση
Καταλάση	Διασπά το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) σε H <sub>2</sub> O και O <sub>2</sub>	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση
Vit. E	Εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση και βελτιώνει την δράση των άλλων αντιοξειδωτικών
Vit. C	Εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες	Προστατεύει τη ζωτικότητα και την κινητικότητα
Καρνιτίνη	Εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και δρα ως πηγή ενέργειας	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση και την βλάβη του DNA
Καροτενοειδή	Απομονώνει το μονήρες οξυγόνο ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση
Κυστεΐνες	Αυξάνει το ποσοστό της συνθετικής GSH	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση
Πεντοξυφυλλίνη	Αποτρέπει την διάσπαση του cAMP** και καταστέλλει τη σύνθεση προ-φλεγμονωδών παραγόντων	Αποτρέπει την λιπιδική υπεροξείδωση

\*GSH/GPX: glutathione reductase/glutathione peroxidase,

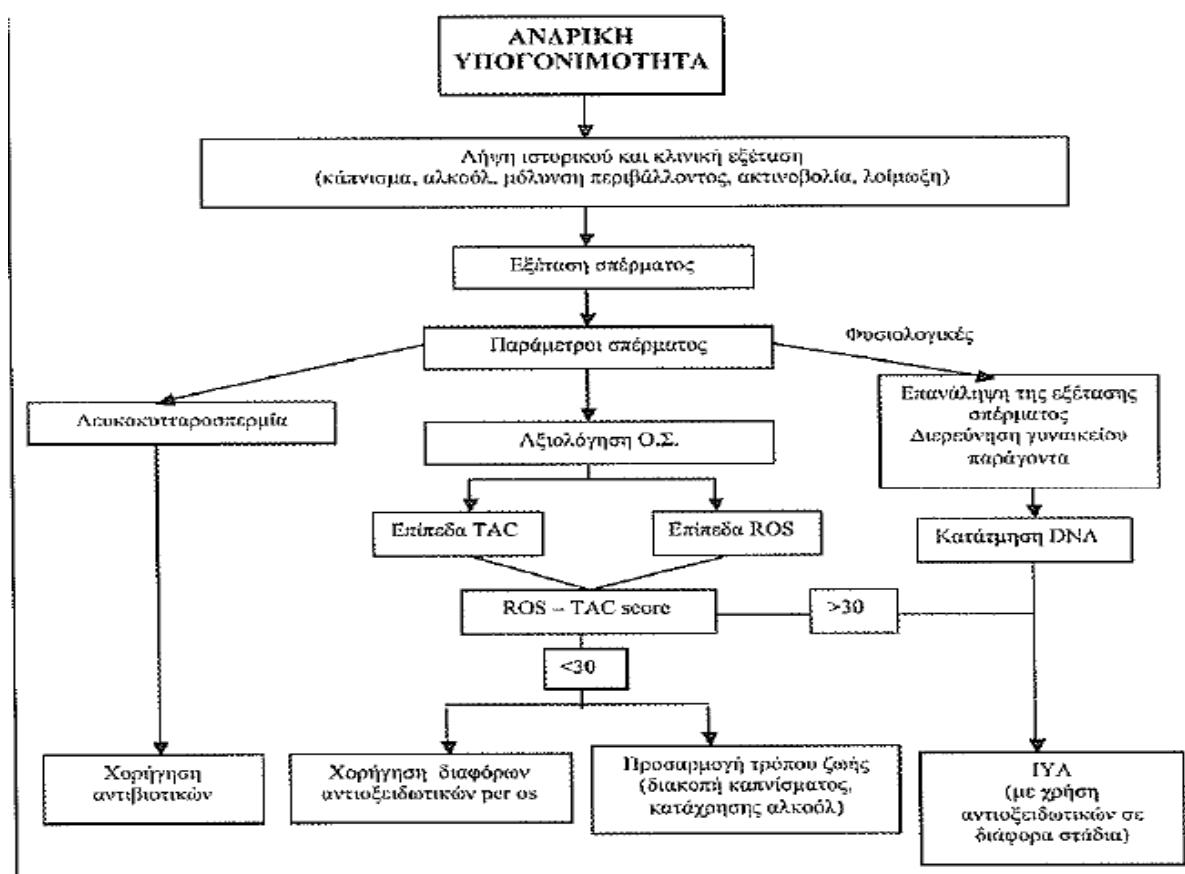
\*\* cAMP: cyclic adenosine 3',5'- monophosphate (Agarwal et al. 2014)

**Εικόνα 5:** Αντιοξειδωτικά στο ανδρικό γεννητικό σύστημα (Χαραλαμπίδου, 2020)

Τα αντιοξειδωτικά προστατεύουν ποικιλοτρόπως το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα από το οξειδωτικό στρες, λειτουργώντας ωστόσο αλληλένδετα και συμπληρωματικά με άλλους παράγοντες.



Καταρχάς, οι αντιοξειδωτικές ουσίες προστατεύουν τα σπερματοζώαρια από τις ελεύθερες ρίζες, καταστρέφοντας τις ρίζες οξυγόνου (ROS) που εκκρίνονται από λευκοκύτταρα, ενώ παράλληλα συμβάλλουν αφενός στο να ενεργοποιηθούν τα σπερματοζώαρια, αναστέλλοντας την πρόωρη ωρίμανσή τους και, αφετέρου, συμβάλλουν σημαντικά στην βελτίωση της ποιότητάς τους στις περιπτώσεις ανθρώπων που λόγω καπνίσματος, κατάχρησης ουσιών, διατροφής και γενικότερα τρόπου ζωής, έχουν την τάση να εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, προλαμβάνουν σε σημαντικό βαθμό την κατάτμηση του DNA των σπερματοζωαρίων, μειώνουν την βλάβη που ενδέχεται να υποστούν κατά την κρυοκατάψυξη και βελτιώνουν την αποτελεσματικότητα των μεθόδων της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Ευγενή, Phil, & Λυμπερόπουλος, 2010). Οι Agarwal, Prabakaran & Said (2005) δημιούργησαν έναν πρωτοποριακό αλγόριθμο για την αξιολόγηση της σχετιζόμενης με το οξειδωτικό στρες ανδρικής υπογονιμότητας (Εικόνα 6).



Εικόνα 6: Αλγόριθμος για τη διαγνωστική και θεραπευτική αξιολόγηση υπογονιμότητας σχετιζόμενης με Ο.Σ.

(Agarwal, Prabakaran & Said, 2005, στο Ευγενή, Phil, & Λυμπερόπουλος, 2010)

### 2.3.2 Αντιοξειδωτικά σκευάσματα

Η χρήση αντιοξειδωτικών σκευασμάτων για την καταπολέμηση του υπερβολικού οξειδωτικού στρες στη θεραπεία της υπογονιμότητας αποτελεί μια ιδιαίτερα πιθανή επιλογή. Μάλιστα, πολλές έρευνες έχουν αναφερθεί στα ευεργετικά αποτελέσματα των δια του στόματος αντιοξειδωτικών πάνω στο σπέρμα. Τα συμπληρωματικά όπως η εξωγενής L-καρνιτίνη, η ακετυλο-L-καρνιτίνη, η Ουβικινόλη, το συνένζυμο-Q10, το σελήνιο, ο ψευδάργυρος, η Βιταμίνη E, η Βιταμίνη C, η N-ακετυλοκυστεΐνη (NAC), το Φυλλικό οξύ, και το Λυκοπένιο, όλα έχουν ευεργετικά αποτελέσματα στο σπέρμα. Ωστόσο, υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα διαθέσιμα για τα ποσοστά κήσεων κατά τις παρεμβάσεις με αντιοξειδωτικά (Majzoub et al., 2017· Arafa & Agarwal, 2017· Omar et al., 2019· Noh et al., 2020· Ali et al., 2020· Li et al., 2022). Παρακάτω αναλύονται πιο επισταμένως τα προαναφερθέντα αντιοξειδωτικά:

#### L-Καρνιτίνη & L-Ακετυλ-Καρνιτίνη

Η L-Καρνιτίνη είναι ένα υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό που προστατεύει τόσο το DNA όσο και την κυτταρική μεμβράνη του σπέρματος από οξειδωτικές βλάβες, ενώ παράλληλα οδηγεί στην αποτροπή ύπαρξης λιπιδικής υπεροξειδωσης. Με τον τρόπο αυτό, βελτιώνει την συγκέντρωση και την κινητικότητα του σπέρματος και το προστατεύει από την κατάτμηση του DNA του (Sharma & Agarwal, 1996).

Η L-Ακετυλ-Καρνιτίνη έχει την ιδιότητα ότι μπορεί να διευκολύνει την δημιουργία γλουταθειόνης, καθώς δρα ως πρόδρομη ένωση αυτής που ενεργοποιεί το σχηματισμό της. Κατά αυτόν τον τρόπο, μειώνει την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου, μπορεί να αποτρέψει ή/και να βελτιώσει την κινητικότητα και την συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων, ενώ δύναται να μειώσει την ενδεχόμενη βλάβη του DNA του λόγω αυξημένων επιπέδων οξειδωτικού στρες (Agarwal et al., 2004).

#### Ουβικινόλη

Η Ουβικινόλη είναι μια αντιοξειδωτική ουσία που μειώνει τις ελεύθερες ρίζες των λιπιδίων καταστρέφοντας τους μονήρεις δεσμούς των μορίων οξυγόνου (singlet oxygen), προστατεύοντας έτσι τα σπερματοζωάρια από τις επιπτώσεις της λιπιδικής υπεροξειδωσης (Sikka, 1996).

#### Συνένζυμο Q-10

Το Συνένζυμο Q-10 είναι ακόμα μια αντιοξειδωτική ουσία με προστατευτική δράση ενάντια στη λιπιδική υπεροξειδωση, συμβάλλοντας στην καλύτερη κυκλοφορία της βιταμίνης E, ενώ η αντιοξειδωτική του δράση ξεκινά ήδη από το στάδιο της προ-οξειδωτικής δραστηριότητας των σπερματοζωαρίων. Επίσης, σε νορμοσπερμικούς άνδρες παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την βελτίωση των αποτελεσμάτων γονιμοποίησης με ενδοκυτταροπλασματική έγχυση (ICSI) (Agarwal et al., 2008).

### Σελήνιο (Selenium)

Το σελήνιο είναι ένα από τα πιο σημαντικά ιχνοστοιχεία με επαρκώς αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική δράση, το οποίο ανήκει στην ενζυμική ομάδα των σεληνοενζύμων, τα οποία στην ενδεδειγμένη συγκέντρωση λειτουργούν καταλυτικά στην βελτίωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού, κυρίως μέσω της αύξησης της δράσης της γλουταθειόνης (Majzoub & Agarwal, 2018). Επιπλέον, ενδεδειγμένες ποσότητες σεληνίου λειτουργούν ευεργετικά στην ανάπτυξη, την προστασία και την διατήρηση της δομικής ακεραιότητας του κυττάρου, παρέχοντας αυξημένα επίπεδα χημειοπροστασίας έναντι ουσιών με κυτταροτοξική δράση, ικανών να βλάψουν τις κυτταρικές πρωτεΐνες και μεμβράνες (Torres-Arce et al., 2021). Όσον αφορά στην επίδραση του σεληνίου στην βελτίωση της ανδρικής αναπαραγωγικής ικανότητας, μελέτες έχουν καταδείξει την προστατευτική του δράση για το DNA των σπερματοζωαρίων, αλλά και την βελτιωτική του επίδραση στην σύνθεση της τεστοστερόνης από τον οργανισμό (Alahmar, 2018). Παρόλα αυτά, θα πρέπει να επισημανθεί ότι ο μηχανισμός μέσω του οποίου το σελήνιο δρα ή εμπλέκεται στην σπερματογένεση, δεν έχει καταστεί επαρκώς κατανοητός έως σήμερα, ενώ κρίσιμη παράμετρο αποτελεί ο προσδιορισμός της ενδεδειγμένης δοσολογίας και της διάρκειας λήψης του συμπληρώματος από τον ασθενή, αφού η συγκέντρωση σεληνίου πάνω από ένα ορισμένο επίπεδο στον οργανισμό έχει αποδειχθεί εξαιρετικά τοξική (Majzoub & Agarwal, 2018).

### Ψευδάργυρος (Zn)

Ο ψευδάργυρος είναι ένα από τα πιο σημαντικά ιχνοστοιχεία, του οποίου η επίδραση στις κυτταρικές λειτουργίες μελετάται εκτενώς και συστηματικά από τις επιστήμες της φαρμακευτικής και της βιολογίας τις τελευταίες δεκαετίες. Πιο αναλυτικά, κρίσιμος έχει αποδειχθεί ο ρόλος του ψευδαργύρου σε ποικίλες ενζυμικές διεργασίες του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος, όπως η σηματοδότηση του DNA των σπερματοζωαρίων, η φυσιολογική ανάπτυξη και ωρίμανσή τους, η απόπτωση και η γονιδιακή έκφραση, καθώς και η διαχείριση της υπεροξειδωσής στα μιτοχόνδρια (Torres-Arce et al., 2021). Η αντιοξειδωτική του δράση αναφέρεται στην ικανότητα μείωσης της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου και ελεύθερων ριζών υδροξυλίου, αδρανοποιώντας βαρέα μέταλλα με πολύ δραστική οξειδοαναγωγική δράση, όπως ο χαλκός και ο σίδηρος (Majzoub & Agarwal 2018).

### A-Τοκοφερόλη (Βιταμίνη E)

Η Α-Τοκοφερόλη ανήκει στην ομάδα των τοκοφερολών, μια ομάδα λιποδιαλυτών οργανικών ενώσεων παρόμοιας χημικής δομής (ομόλογες ενώσεις), των οποίων τα οργανικά μόρια περιέχουν μεθυλικές ομάδες και που είναι ευρέως γνωστές για την ισχυρή αντιοξειδωτική τους δράση. Εξαιτίας της δομής της πλευρικής λιποειδούς τους αλυσίδας και της μη διαλυτότητάς τους στο νερό, έχουν την

ικανότητα να βρίσκονται εντός της φωσφολιποειδικής μεμβράνης των κυττάρων του οργανισμού και συνεπώς και των σπερματοζωαρίων. Κατ' αυτόν τον τρόπο, η Βιταμίνη E περιορίζει σε σημαντικό βαθμό την υπεροξειδωση της πλασματικής μεμβράνης των σπερματοζωαρίων, αδρανοποιώντας τις ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου και υπεροξειδίου, γεγονός που συναρτάται ευθέως με την βελτίωση της κινητικότητά τους (Amorini et al., 2021).

### Ασκορβικό Οξύ (Βιταμίνη C)

Το ασκορβικό οξύ, ευρέως γνωστή ως βιταμίνη C, είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη που έχει χημική δομή υδατάνθρακα και προκύπτει από την διαδικασία μεταβολισμού της γλυκόζης που βρίσκεται σε διάφορα τρόφιμα, κυρίως φρούτα και φυλλώδη λαχανικά. Παρόλο που η βιταμίνη C αποτελεί ένα εκ των πολυπληθέστερων και πλέον απαραίτητων αντιοξειδωτικών ουσιών που εντοπίζονται στους ιστούς των θηλαστικών, ο οργανισμός των περισσότερων πρωτεύοντων – μεταξύ των οποίων και του ανθρώπου – δεν μπορεί να την συνθέσει, με αποτέλεσμα η πρόσληψή της να εξαρτάται αποκλειστικά από την διατροφή ή/και την λήψη αντίστοιχων σκευασμάτων. Η αντιοξειδωτική και αντιγηραντική της δράση, αλλά και οι επιπτώσεις στην υγεία του οργανισμού σε περιπτώσεις σοβαρής έλλειψής της (σκορβούτο), είναι γνωστές παλαιότεν, ενώ τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας έχει εστιαστεί στην διερεύνηση της ενδεχόμενης ευεργετικής για την υγεία του οργανισμού επίδρασης της πρόσληψης συμπληρωμάτων Βιταμίνης C (Amorini et al., 2021). Όσον αφορά στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, επισημαίνεται ότι το ασκορβικό οξύ ανευρίσκεται στο σπέρμα σε δεκαπλάσια συγκέντρωση από ότι στον ορό, ενώ η αντιοξειδωτική του δράση όσον αφορά στην αντιμετώπιση της υπεροξειδωσης του σπέρματος εντοπίζεται στην ικανότητά του να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες υπεροξειδίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου (Majzoub & Agarwal, 2018).

### N-ακετυλοκυστεΐνη (NAC)

Η N-ακετυλοκυστεΐνη είναι ένα θειϊκό αμινοξύ, το οποίο μέσω μεταβολικών διεργασιών μετατρέπεται στους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού σε κυστεΐνη, που αποτελεί απαραίτητο πρόδρομο μόριο για την παραγωγή γλουταθειόνης. Η γλουταθειόνη αποτελεί υδρόφιλο φυσικό αντιοξειδωτικό χαμηλού μοριακού βάρους, που ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να συνθέσει (Amorini et al., 2021). Οι ευεργετικές για τον οργανισμό ιδιότητες της N-ακετυλοκυστεΐνης περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα επιδράσεων, από την διέγερση της παραγωγής T4 λεμφοκυττάρων μέχρι την θωράκιση και την προστασία των συστημάτων του οργανισμού από ποικίλες τοξικές ουσίες. Όσον αφορά στην αντιμετώπιση των προβλημάτων ανδρικής υπογονιμότητας οφειλόμενης στο οξειδωτικό στρες, μελέτες έχουν καταδείξει ότι η NAC έχει την ικανότητα να αδρανοποιεί απευθείας τις ελεύθερες ρίζες

υποχλωριώδους οξέος και υδροξυλίου, μειώνοντας την υπεροξειδωση των σπερματοζωαρίων και βελτιώνοντας το πρόβλημα (Majzoub & Agarwal 2018).

#### Φυλλικό Οξύ (Folate ή Folacin, B9)

Το φυλλικό οξύ είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη, που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή του DNA, καθώς λαμβάνει μέρος στην σύνθεση της θυμίνης από ουρακίλη, προστατεύοντάς το από σπασίματα και μεταλλάξεις της αλυσίδας του. Επιπλέον, παίζει ρόλο στη μίτωση, τη διεργασία της μεθυσίωσης του DNA και την ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, αποτρέποντας τις χρωμοσωμικές μεταλλάξεις που οφείλονται είτε στον πολλαπλασιασμό ανώμαλων χρωμοσωμάτων είτε στην διαγραφή (έλλειψη) τμημάτων του μιτοχondριακού DNA (Torres-Arce et al., 2021). Επίσης, φαίνεται να συνδέεται με την βελτίωση της αναλογίας της ανηγμένης γλουταθειόνης προς την οξειδωμένη γλουταθειόνη, καθώς έχει αυξημένη ικανότητα αδρανοποίησης των δραστικών ελεύθερων ριζών. Μέσω αυτών των μηχανισμών φαίνεται να επιδρά θετικά στη βελτίωση των παραμέτρων του σπέρματος, αν και ο βαθμός συσχέτισης αυτών θα πρέπει να διερευνηθεί σε μεγαλύτερο βάθος (Majzoub & Agarwal 2018).

#### Λυκοπένιο (lycopene)

Το λυκοπένιο είναι ένας πολυακόρεστος υδατάνθρακας που αποτελεί πρόδρομο ένωση της βιοσύνθεσης όλων των κατηγοριών καροτενοειδών, που ανευρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στους όρχεις και στο σπέρμα. Λόγω της πολυακορεστότητας της δομής του, αποτελεί μια από τις ισχυρότερες αντιοξειδωτικές ουσίες, με ανοσορρυθμιστικές και αντιφλεγμονικές ιδιότητες, οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην μίτωση και στις διαδικασίες που συντελούνται στα μιτοχόνδρια (Torres-Arce et al., 2021). Η πρόσληψη της ενδεδειγμένης ποσότητας λυκοπενίου εξαρτάται αποκλειστικά από την διατροφή, αφού η βιοσύνθεση του λυκοπενίου συντελείται μόνο στους φυτικούς οργανισμούς (Πολύδωρος, 2022).

#### *2.3.3 Ανάλυση SWOT για τη χρήση αντιοξειδωτικών ουσιών & σκευασμάτων*

Ένας πολύ βοηθητικός τρόπος για την καλύτερη κατανόηση του εάν είναι καλύτερα ή όχι να γίνει χρήση αντιοξειδωτικών ουσιών και σκευασμάτων είναι η καταγραφή των πλεονεκτημάτων και των μειονεκτημάτων τους καθώς και των ευκαιριών που γεννώνται από τη χρήση τους αλλά και των πιθανών απειλών από αυτή για την υγεία των ανδρών.

#### **1. Δυνατά σημεία**

Η λήψη αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων για τη θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας διερευνάται όλο και περισσότερο κατά την διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας. Από την βιβλιογραφική ανασκόπηση των σχετικών μελετών προκύπτει ότι αυτές υποδεικνύουν ότι χρησιμοποιήθηκαν

διαφορετικά αντιοξειδωτικά σκευάσματα για τη βελτίωση της ποιότητας και της λειτουργίας του σπέρματος σε υπογόνιμους άνδρες υπό διάφορες κλινικές συνθήκες κατά περίπτωση. Οι ευεργετικές αυτές επιδράσεις αποτυπώνονται σε αναπαραγωγικά αποτελέσματα μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας, όπως το ποσοστό εγκυμοσύνης. Επιπρόσθετα, ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών έχει διερευνήσει την επίδραση της αντιοξειδωτικής θεραπείας στα επίπεδα του οξειδωτικού στρες, γεγονός που ίσως να υποδεικνύει ότι είναι μια εφικτή θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με διαταραχές του οξειδοαναγωγικού δυναμικού του σπέρματος (Agarwal et al., 2021).

## **2. Αδύνατα σημεία**

Τα αντιφατικά αποτελέσματα στα οποία καταλήγουν αρκετές μελέτες που έχουν ασχοληθεί με την επίδραση της λήψης αντιοξειδωτικών σκευασμάτων στην βελτίωση της ανδρικής αναπαραγωγικής ικανότητας, μπορούν να θεωρηθούν ως ο κύριος παράγοντας που περιορίζει την εκτεταμένη χρήση αντιοξειδωτικών ως θεραπευτικής μεθόδου για την αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας. Ωστόσο, σε αυτές τις μελέτες, ελήφθη ως δεδομένο ότι η χορήγηση της αντιοξειδωτικής θεραπείας, θα βελτιώσει αυτό καθαυτό το αναπαραγωγικό αποτέλεσμα, χωρίς να λαμβάνονται υπόψη και άλλοι ενδεχόμενοι αιτιολογικοί παράγοντες της αδυναμίας σύλληψης. Επιπλέον, κλινικές μελέτες που κατέδειξαν όφελος από την λήψη αντιοξειδωτικών σκευασμάτων έχουν επισημανθεί ως μη επαρκώς τεκμηριωμένες, λόγω μη ομοιογενούς σχεδιασμού των μελετών ή ασυνέπειας στα θεραπευτικά σχήματα (μεμονωμένα ή συνδυασμένα) που χρησιμοποιήθηκαν στους συμμετέχοντες στην έρευνα. Επιπλέον, η πλειονότητα αυτών των μελετών απέτυχε να προσαρμόσει τους συγχυτικούς παράγοντες (π.χ. παράγοντες που σχετίζονται με την γυναικεία αναπαραγωγική ικανότητα), που όμως είναι ουσιώδους σημασίας για τη σύλληψη (Agarwal et al., 2021).

## **3. Ευκαιρίες**

Η επιλογή των κατάλληλων υποψηφίων για χορήγηση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων μετά από έλεγχο του επιπέδου του οξειδωτικού στρες φαίνεται να αποτελεί μια λογική προσέγγιση (Arafa & Agarwal, 2020). Πράγματι, όπως έχει ήδη επισημανθεί στο σχετικό κεφάλαιο της βιβλιογραφικής ανασκόπησης, πρόσφατα προτάθηκε η έννοια του MOSI, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό μιας συγκεκριμένης ομάδας υπογόνιμων ανδρών που έχουν ταξινομηθεί ως πάσχοντες από ιδιοπαθή υπογονιμότητα, οι οποίοι είναι πιθανότερο να ωφεληθούν από τη θεραπεία (Agarwal et al., 2019). Δεύτερον, η αξιολόγηση του πρωτεώματος του σπέρματος των ιδιοπαθών υπογόνιμων ανδρών πριν και μετά τη χορήγηση οξειδωτικών σκευασμάτων προσφέρει ένα παράθυρο για την καλύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που σχετίζονται με τη λειτουργία του σπέρματος (Agarwal et al., 2019). Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να αποτελέσουν μια εναλλακτική, οικονομικά αποδοτική

θεραπευτική επιλογή για τα υπογόνιμα ζευγάρια που επιθυμούν να αποφύγουν την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.

#### 4. Απειλές

Παρά την ύπαρξη μελετών που υποδεικνύουν ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών σκευασμάτων μπορεί να βελτιώσει τις παραμέτρους του σπέρματος και την πιθανότητα εγκυμοσύνης, η έλλειψη επαρκούς τεκμηρίωσης από συστηματικές μελέτες σε δείγμα μεγάλου εύρους, εξακολουθεί να προκαλεί διχογνωμία μεταξύ των εκπροσώπων της ιατρικής κοινότητας αναφορικά με την χρησιμότητα της αντιοξειδωτικής θεραπείας και το εύρος των επιδιωκόμενων αποτελεσμάτων (Smits et al., 2019). Επιπλέον, η ποικιλομορφία των εφαρμοζόμενων θεραπευτικών σχημάτων εγείρει ανησυχίες σχετικά με την υπερβολικά ένθερμη χρήση των αντιοξειδωτικών για την θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας. Σε αυτό έρχεται να προστεθεί και το γεγονός ότι οι επιβλαβείς επιδράσεις του αναγωγικού στρες μπορεί να είναι εξίσου ζημιογόνες με εκείνες του οξειδωτικού στρες (Henkel, Sandhu & Agarwal, 2019). Επιπλέον, η συχνά απρόβλεπτη έκβαση όσον αφορά στο αναπαραγωγικό αποτέλεσμα μετά τη χορήγηση αντιοξειδωτικών, δεδομένης της ενδεχόμενης συνδρομής στην υπογονιμότητα πολλαπλών συγχυτικών παραγόντων, μπορεί να καθυστερήσει την οριστική θεραπεία, ιδίως για ζευγάρια μεγαλύτερης ηλικίας (Agarwal et al., 2021).



Εικόνα 7: Ανάλυση SWOT για τα αντιοξειδωτικά (Agarwal et al., 2021)

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η εν λόγω μελέτη αποτελεί ουσιαστικά ανασκόπηση της βιβλιογραφίας πάνω στην επίδραση του οξειδωτικού στρες στη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος, πράγμα που σημαίνει ότι είναι δευτερογενής (Creswell, 2003). Βασικά, αποτελεί ένα συστηματικό review το οποίο θα βασιστεί στην ανάλυση διαφόρων πρωτογενών ερευνών που ασχολήθηκαν με το θέμα καθώς και με τον ρόλο που παίζουν τα αντιοξειδωτικά σκευάσματα και σε τι βαθμό βοηθούν στην αντιμετώπιση της αντρικής υπογονιμότητας. Κατά την ερευνητική μεθοδολογία, οι ερευνητές πρέπει να επιλέξουν συνήθως μεταξύ δύο βασικών μεθοδολογικών τύπων, της ποσοτικής και της ποιοτικής. Σύμφωνα με τους Miles & Huberman (1994) οι δύο αυτοί τύποι της μεθοδολογίας φυσικά και έχουν πολλές διαφορές αλλά η πιο σημαντική εξ αυτών είναι ότι η μεν ποιοτική ερευνητική μεθοδολογία είναι υποκειμενική ενώ η δε ποσοτική, είναι αντικειμενική.

Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα, η ερευνητική μεθοδολογία της παρούσας μελέτης είναι ποιοτική και στοχεύει στη συγκέντρωση, καταγραφή, παράθεση και ανάλυση των δεδομένων που αφορούν το θέμα που πραγματεύεται, μέσα από διάφορα άρθρα (PubMed, Elsevier κοκ), πρωτογενείς έρευνες/εργασίες, ιατρική βιβλιογραφία, και φυσικά το διαδίκτυο (Καραγιάννης, 2012). Η εν λόγω εργασία, εκτός από την ποιοτική μεθοδολογία, χρησιμοποιεί και τη μελέτη περίπτωσης ως μεθοδολογικό εργαλείο.

Περαιτέρω, οι περιπτώσιολογικές μελέτες δύνανται να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με το επίπεδο ανάλυσης, την στόχευσή τους και ακολούθως τα χρησιμοποιούμενα ερευνητικά εργαλεία σε ενδεικτικές, διερευνητικές, συσσωρευμένες και περιπτώσιολογικές μελέτες κρίσιμης περίπτωσης. Βάσει της ταξινόμησης αυτής και σε συνάρτηση με τους στόχους και τα ερευνητικά ερωτήματα της παρούσας μελέτης, αυτή μπορεί να χαρακτηριστεί διερευνητική (Shuttleworth, 2008).

Μάλιστα, αποτελεί αξιολογική μελέτη περίπτωσης, η οποία σύμφωνα με τον Basse (1999) αφορά την εξαγωγή κάποιας αξιολογικής κρίσης κατόπιν ανάλυσης των δευτερογενών δεδομένων. Τη στιγμή, επομένως, που η μελέτη πραγματεύεται τον ρόλο των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων και στοχεύει στην αξιολόγηση αυτών, μπορεί να χαρακτηριστεί ως αξιολογική μελέτη περίπτωσης.



#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ιδιαίτερα κρίσιμης σημασίας αναδεικνύεται η διερεύνηση της ενδεχόμενης συσχέτισης της ανδρικής υπογονιμότητας με τα ανώτερα του φυσιολογικού επίπεδα του οξειδωτικού στρες, σε περιπτώσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, δεδομένου ότι αρκετές από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται κατά την διάρκεια της διαδικασίας μπορεί να προκαλέσουν αυτές καθαυτές οξειδωτικό στρες, επιδεινώνοντας περαιτέρω προϋπάρχουσα δυσλειτουργία και ως εκ τούτου την γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος (Bedaiwy et al., 2004· Showell et al., 2014). Στην περίπτωση αυτή, ο σαφής προσδιορισμός και η εφαρμογή μιας εξατομικευμένης θεραπευτικής προσέγγισης στοχευμένης στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες, μπορεί να διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στην επιτυχή έκβαση της διαδικασίας υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Bedaiwy et al., 2004).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων βιταμίνης E μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένα ποσοστά γονιμοποίησης κατά την εξωσωματική γονιμοποίηση σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, ιδίως σε άνδρες με ιστορικό αποτυχίας εξωσωματικής γονιμοποίησης (Geva et al., 1996· Suleiman et al., 1996· Greco et al., 2005). Μια άλλη διπλή τυφλή μελέτη των Tremellen et al. (2007) που συμπεριελάμβανε τυχαιοποίηση και έλεγχο με εικονικό φάρμακο, διερεύνησε την επίδραση στην γονιμοποιητική ικανότητα μιας συνδυαστικής αντιοξειδωτικής αγωγής (“Menevit Capsules”) με λυκοπένιο (6mg/ημερησίως), βιταμίνη E (400IU/ημερησίως), βιταμίνη C (100mg/ημερησίως), ψευδάργυρο (25mg/ημερησίως), σελήνιο (26mg/ημερησίως), φολικό οξύ (0,5mg/ημερησίως) και σκόρδο (1gr/ημερησίως) σε 60 ζευγάρια που υποβοηθήθηκαν με μικρογονιμοποίηση. Η μελέτη διαπίστωσε μη σημαντικές στατιστικές διαφορές ανάμεσα στα χαρακτηριστικά των υποκειμένων των 2 ομάδων (π.χ. σε συγκέντρωση και κινητικότητα σπέρματος, στη μορφολογία και στον κατακερματισμό) αλλά διαπίστωσε και σημαντική βελτίωση του ποσοστού βιώσιμης εγκυμοσύνης στην ομάδα θεραπείας με την αντιοξειδωτική αγωγή (38,5%) σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (16%). Η χορήγηση συμπληρώματος του συνένζυμου Q10 ειδικότερα, φαίνεται να έχει συσχετιστεί με βελτίωση του αριθμού και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων, και συνακόλουθα με την αύξηση των ποσοστών επιτυχίας της μικρογονιμοποίησης (Lewin & Lavon, 1997· Safarinejad & Safarinejad, 2009· Safarinejad et al., 2012).

Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν εξετάσει τις επιδράσεις αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων και συνδυαστικών σκευασμάτων που διατίθενται στο εμπόριο, στις παραμέτρους του σπέρματος, τον κατακερματισμό του DNA του σπερματοζωαρίου λόγω της υπεροξειδωσης, καθώς και στα ποσοστά εγκυμοσύνης. Παρά το γεγονός ότι τα αποτελέσματα των εν λόγω ερευνών είναι πολύ ενθαρρυντικά, η τεκμηρίωση που παρέχουν δεν θεωρείται επαρκής, αφού η ερευνητική μεθοδολογία που χρησιμοποιήσαν διαθέτει σημαντικούς περιορισμούς, συμπεριλαμβανομένων του μικρού δείγματος και της ετερογένειας του πληθυσμού των ασθενών (Steiner et al., 2020). Μάλιστα οι Steiner et al. (2020) στην ίδια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη μελέτη σε 9 κέντρα γονιμότητας, που την έχουν

ονομάσει MOXI – Male, antioxidants and Infertility – και όπου συμμετείχαν 174 ετερόφυλα ζευγάρια χωρισμένα σε 2 βασικές ομάδες (μία όπου έπαιρναν αντιοξειδωτικά σκευάσματα και μία με placebo), εκ των οποίων οι άντρες παρουσίαζαν συγκέντρωση σπέρματος  $\leq 15$  εκατομμύρια/ml (δηλ. ολιγοσπερμία), ολική κινητικότητα  $\leq 40\%$  (δηλ. ασθενοσπερμία), φυσιολογική μορφολογία  $\leq 4\%$  (δηλ. τερατοσπερμία) ή κατακερματισμό DNA σε ποσοστό ίσο ή άνω του 25%. Μετά, λοιπόν, από 3 μήνες θεραπείας, η μεταβολή της συγκέντρωσης σπέρματος διέφερε μεταξύ της αντιοξειδωτικής ομάδας [-4,0 (-12,0, 5,7) M/ml] και της ομάδας εικονικού φαρμάκου [+2,4 (-9,0, 15,5) M/ml] ( $p=0,03$ ). Ωστόσο, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων στη μεταβολή της μορφολογίας του σπέρματος, της κινητικότητας ή του κατακερματισμού του DNA. Μεταξύ των 66 ολιγοσπερμικών ανδρών κατά την τυχαιοποίηση, η συγκέντρωση σπέρματος δεν διέφερε ιδιαίτερα στους 3 μήνες [8, 5 (4,8, 15,0) M/ml έναντι 15,0 (6,0, 24,0) M/ml,  $p=0, 08$ ] ανάμεσα στους άντρες των δύο ομάδων. Από τους 75 ασθενοσπερμικούς άνδρες, η κινητικότητα δεν διέφερε στους 3 μήνες ( $34\pm 16,3\%$  έναντι  $36,4\pm 15,8\%$ ·  $p=0, 53$ ). Επίσης, ο κατακερματισμός του DNA δεν διέφερε σε 3 μήνες μεταξύ των 44 ανδρών με υψηλό κατακερματισμό DNA [29,5 (21,6, 36,5)% έναντι 28,0 (20,6, 36,4)% ,  $p=0, 58$ ]. Σε ολόκληρη την κοόρτη, η σωρευτική γέννηση ζωντανών εμβρύων δεν διέφερε στους 6 μήνες μεταξύ των ομάδων με τη θεραπεία με τα αντιοξειδωτικά και με τα εικονικά φάρμακα (15% έναντι 24%·  $p=0, 14$ ). Ουσιαστικά, η εν λόγω μελέτη συμπέρανε πως τα αντιοξειδωτικά δεν βελτιώνουν τις παραμέτρους του σπέρματος ή την ακεραιότητα του DNA μεταξύ των ανδρών με υπογονιμότητα. Αν και περιορίζεται από το μέγεθος του δείγματος, τέλος, η μελέτη αυτή υποδηλώνει ότι η αντιοξειδωτική θεραπεία του ανδρός δεν βελτιώνει την *in vivo* εγκυμοσύνη ή το ποσοστό ζωντανών γεννήσεων, και τονίζει για μια ακόμη φορά τη σημαντικότητα του να πραγματοποιηθούν περισσότερες μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό συμμετεχόντων, ώστε αν καταστούν πιο έγκυρα τα εκάστοτε αποτελέσματα.

Επιπλέον, αρκετές είναι οι κλινικές μελέτες που καταλήγουν σε αντιφατικά ευρήματα, με αποτέλεσμα οι περισσότεροι ειδικοί σε θέματα γονιμότητας να επισημαίνουν ότι δεν υπάρχει συναίνεση μεταξύ της επιστημονικής κοινότητας σχετικά με τα οφέλη της χορήγησης αντιοξειδωτικών σκευασμάτων στη θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας. Μια πρόσφατη προοπτική κλινική μελέτη αξιολόγησε ένα αντιοξειδωτικό συμπλήρωμα που διατίθεται στο εμπόριο, χορηγώντας το σε δείγμα 148 ανδρών με ιδιοπαθή υπογονιμότητα και υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες. Η μελέτη έδειξε ότι δεν υπήρξαν παρενέργειες που να σχετίζονται με τη χορήγηση της εν λόγω θεραπείας, ενώ παρουσιάστηκε σημαντική βελτίωση στις παραμέτρους του σπέρματος (αριθμός, κινητικότητα και μορφολογία σπερματοζωαρίων). Επιπλέον, αναφέρθηκε μείωση του κατακερματισμού του DNA του σπέρματος κατά 39,47% (Agarwal et al., 2019). Ως εκ τούτου, οι μελετητές επισημαίνουν ότι η επιλογή των ασθενών και η εξατομικευμένη θεραπευτική παρέμβαση αποτελούν βασικές συνιστώσες για την

επιτυχία της θεραπευτικής παρέμβασης με την χορήγηση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων (Marwan, Martinez & Parekh, 2020).

Επιπλέον, έχει φανεί ότι το συμπλήρωμα βιταμίνης E είχε ευεργετική επίδραση στη λειτουργία του σπέρματος *in vitro*, καθώς και στα ποσοστά γονιμοποίησης στην εξωσωματική γονιμοποίηση σε σύγκριση με τις ομάδες εικονικού φαρμάκου (Suleiman et al., 1996· Geva et al., 1996), αφού διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση 200mg βιταμίνης E ημερησίως μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της μηλονδιαλδεΐδης (από  $12.6 \pm 9.4$  nmol/10<sup>8</sup> σπερματοζώα στα κανονικά επίπεδα  $7.8 \pm 4.2$  nmol/10<sup>8</sup> σπερματοζώα μετά από 1 μήνα θεραπείας) και βελτίωσε τα ποσοστά γονιμοποίησης με εξωσωματική, από  $19.3 \pm 23.3$  σε  $29.1 \pm 22.2$ , ειδικά σε ασθενείς με προηγούμενο ιστορικό αποτυχίας (Geva et al., 1996). Σε παρόμοιο πλαίσιο, σε σχετική μελέτη τους οι Kessoroulou et al. (1995) ενέταξαν τυχαία 30 άνδρες που παρουσίαζαν υψηλά επίπεδα ROS στο σπέρμα σε δύο ομάδες θεραπείας εκ των οποίων η μία λάμβανε 600mg βιταμίνης E ημερησίως, ενώ η άλλη το εικονικό φάρμακο για διάστημα 3 μηνών. Η μελέτη εντόπισε ότι ένα μήνα μετά, παρά το γεγονός ότι δεν αναφέρθηκε σημαντική επίδραση στις βασικές παραμέτρους του σπέρματος, οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με συμπλήρωμα βιταμίνης E παρουσίασαν σημαντική βελτίωση της *in vitro* λειτουργίας του σπέρματος που χαρακτηριζόταν από καλύτερη πρόσδεση του σπερματοζωαρίου στην διαφανή ζώνη που περιβάλλει το ωοκύτταρο (zona pellucida) (Tremellen et al., 2007· Majzoub & Agarwal, 2018). Πιο λεπτομερώς, σχετικά με τις βασικότερες αντιοξειδωτικές ουσίες, επισημαίνεται ότι η βιταμίνη E έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως σε συνδυασμό με άλλες βιταμίνες και μέταλλα. Μία από τις παλαιότερες μελέτες που διερεύνησε την επίδραση της χορήγησης συμπληρώματος βιταμίνης E κατ' αποκλειστικότητα (300mg ημερησίως) σε 380 υπογόνιμους άνδρες, ανέφερε σημαντική βελτίωση της κινητικότητας του σπέρματος (Suleiman et al., 1996).

Στο ίδιο πλαίσιο, μια συγκριτική προοπτική μελέτη με τυχαιοποίηση του δείγματος σε ομάδες εξέτασε την αποτελεσματικότητα αφενός της αποκλειστικής χορήγησης είτε βιταμίνης E είτε κιτρικής κλομφαίνης, αφετέρου της λήψης ενός συνδυασμού και των δύο θεραπειών στις παραμέτρους του σπέρματος 90 ασθενών με ιδιοπαθή ολιγοασθενοσπερμία (OAT). Η μελέτη έδειξε ότι μετά από τη θεραπεία διάρκειας 6 μηνών παρουσιάστηκε σημαντική βελτίωση της συγκέντρωσης ( $P = 0,001$ ) και της κινητικότητας του σπέρματος ( $P < 0,001$ ) στους ασθενείς που έλαβαν το συνδυαστικό θεραπευτικό σχήμα. Για την ακρίβεια, οι ασθενείς στην ομάδα με τη Βιταμίνη E είχαν ποσοστό  $28.07 \pm 9.65\%$  ( $p = 0.000$ ), εκείνοι της ομάδας κιτρικής κλομφαίνης  $33.33 \pm 14.10\%$  ( $p = 0.003$ ) ενώ οι ασθενείς του συνδυαστικού σχήματος είχαν ποσοστά  $40.50 \pm 17.54\%$  ( $p = 0.000$ ) (ElSheikh et al., 2015).

Μια άλλη μελέτη παρατήρησης διερεύνησε την επίδραση της χορήγησης σε ημερήσια βάση ενός συνδυαστικού θεραπευτικού σχήματος, που περιλάμβανε βιταμίνη E (400mg/ημερησίως) και σελήνιο (200μg/ημερησίως) για μια περίοδο 100 ημερών, σε 690 υπογόνιμους άνδρες με ιδιοπαθή

ασθενοτερατοσπερμία. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι οι 362 (52,6% των ασθενών) παρουσίασαν σημαντική βελτίωση της κινητικότητας ή της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων ή και των δύο παραμέτρων. Πιο συγκεκριμένα, οι 144 περιπτώσεις παρουσίασαν (πριν & μετά τη θεραπεία) βελτίωση κινητικότητας της τάξεως του 5%, οι 155 βελτίωση κινητικότητας της τάξεως του 10%, οι 21 περιπτώσεις μόνο μορφολογική βελτίωση κατά μέσο όρο μετά τη θεραπεία 6% ενώ οι 42 εκ των περιπτώσεων παρουσίασαν βελτίωση αμφοτέρων κινητικότητας και μορφολογίας (προ θεραπείας 10-30% - μετά θεραπείαν 15-35%) (Moslemi & Tavanbakhsh, 2011). Σε παρόμοιο πλαίσιο, οι Comhaire et al. (2000) σε μια προοπτική μελέτη σε δείγμα 27 υπογόνιμων ανδρών, έδειξαν ότι ο συνδυασμός χορήγησης βιταμίνης E, βιταμίνης A και των σημαντικότερων λιπαρών οξέων είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της συγκέντρωσης σπέρματος σε ολιγοσπερμικούς άνδρες. Ωστόσο, δεν υπήρξε καμία αλλαγή στην κινητικότητα ή τη μορφολογία του σπέρματος (Kessoroulou et al., 1995· Moilanen & Honvatta, 1995). Από την άλλη πλευρά, οι προαναφερθείσες μελέτες απέτυχαν να υποδείξουν οποιαδήποτε σημαντική επίδραση στις παραμέτρους του σπέρματος χρησιμοποιώντας συμπληρώματα βιταμίνης E ως μεμονωμένη θεραπεία ή σε συνδυασμό με άλλα αντιοξειδωτικά (Rolf et al., 1999). Η αποκλειστική χορήγηση βιταμίνης C διερευνήθηκε σε προηγούμενη μελέτη των Dawson et al. (1992). Πιο συγκεκριμένα, οι ερευνητές χορήγησαν σε τρεις ομάδες 90 ανδρών που ήταν βαρείς καπνιστές ημερήσια δόση 200mg βιταμίνης C, 1000mg βιταμίνης C ή το εικονικό φάρμακο για διάστημα 1 μήνα, αναφέροντας σημαντική δοσοεξαρτώμενη βελτίωση της ποιότητας του σπέρματος μόνο στις ομάδες που έλαβαν συμπλήρωμα βιταμίνης C. Συγκεκριμένα, με το πέρας του ενός μηνός το μέσο επίπεδο της Βιταμίνης C αυξήθηκε στο πρώτο γκρουπ (200mg) κατά 134% και στο δεύτερο (1000mg) κατά 142%. Μια άλλη μελέτη, εξέτασε την επίδραση λήψης σκευασμάτων βιταμίνης C από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε κίρσοκληκτομή. Συνολικά, 115 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν είτε 500mg βιταμίνης C ημερησίως είτε εικονικό φάρμακο για συνολικά 3 μήνες μετά την κίρσοκληκτομή. Τα ευρήματα υπέδειξαν στατιστικά σημαντική βελτίωση της κινητικότητας του σπέρματος (20,8 vs 12,6· P = 0,041) και της μορφολογίας του (23,2 vs 10,5· P < 0,001) στην ομάδα θεραπείας σε σύγκριση με την ομάδα που έλαβε το εικονικό φάρμακο (Cyrus et al., 2015). Περαιτέρω, παρά την έλλειψη εύαριθμων μελετών που να εξετάζουν την επίδραση της βιταμίνης C ως μεμονωμένου παράγοντα για τη θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας, έχουν διερευνηθεί τα θεραπευτικά αποτελέσματα διάφορων αντιοξειδωτικών σκευασμάτων που περιέχουν μεταξύ άλλων και βιταμίνη C. Πιο αναλυτικά, οι Omu et al. (2008) σε σχετική μελέτη τους ανέφεραν σημαντική βελτίωση της κινητικότητας του σπέρματος μετά τη λήψη σκευάσματος που περιείχε συνδυασμό ψευδαργύρου, βιταμίνης E και βιταμίνης C. Μια άλλη μελέτη των Galatioto et al. (2008) εξέτασε την επίδραση μιας αντιοξειδωτικής αγωγής με σκεύασμα που περιείχε N-ακετυλοκυστεΐνη (NAC) και βιταμίνη C σε ασθενείς με κίρσοκήλη και επίμονη ολιγοσπερμία 6 μήνες μετά τον ραδιογραφικό εμβολισμό (radiographic embolisation). Συνολικά, 20 ασθενείς έλαβαν θεραπεία με αντιοξειδωτικά

και συγκρίθηκαν με 22 άτομα της ομάδας ελέγχου. Τα ευρήματα της μελέτης έδειξαν ότι παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων ( $P = 0,009$ ) μόνο στην ομάδα θεραπείας, χωρίς σημαντική επίδραση στην κινητικότητα ή τη μορφολογία του σπέρματος. Αντίθετα, μια τυχαιοποιημένη διπλή τυφλή μελέτη των Rolf et al. (1999) δεν κατάφερε να δείξει βελτίωση των παραμέτρων του σπέρματος σε υπογόνιμους άνδρες μετά τη χορήγηση συμπληρωμάτων βιταμίνης C (1000mg/ημερησίως) και βιταμίνης E (800mg/ημερησίως) για 56 ημέρες.

Συνεχίζοντας, η Καρνιτίνη αποδείχθηκε ότι έχει σημαντική επίδραση, κυρίως όσον αφορά την κινητικότητα του σπέρματος (Lenzi et al., 2004· Cavallini et al., 2004· Balercia et al., 2005). Πιο συγκεκριμένα, μια διπλή τυφλή μελέτη με τυχαιοποίηση και έλεγχο με εικονικό φάρμακο που συνέκρινε τη χορήγηση συνδυαστικού θεραπευτικού σχήματος αποτελούμενο από συμπληρώματα L-Καρνιτίνης – LC (2gr/ημερησίως) και L-Ακετυλο-Καρνιτίνης – LAC (1gr/ημερησίως) για διάστημα 2 μηνών σε άνδρες με ολιγοασθενοσπερμία, με την ομάδα ελέγχου που έλαβε το εικονικό φάρμακο, έδειξε σημαντική βελτίωση σε όλες τις παραμέτρους του σπέρματος, με τη σημαντικότερη να αφορά στην βελτίωση της κινητικότητας του σπέρματος (τόσο προς τα εμπρός όσο και συνολικά) (Lenzi et al., 2004). Οι Balercia et al. (2005) επιβεβαίωσαν αυτή την ανταπόκριση στη θεραπεία, ειδικά μεταξύ ασθενών με χαμηλότερες αρχικές τιμές κινητικότητας. Σε παρόμοιο πλαίσιο, οι Cavallini et al. (2004) διερεύνησαν περιπτώσεις ασθενών με κισσοκίλη χαμηλού βαθμού και ιδιοπαθή υπογονιμότητα, αναφέροντας σημαντική βελτίωση όλων των παραμέτρων σπέρματος μεταξύ των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με L-Καρνιτίνη και L-Ακετυλο-Καρνιτίνη, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Επιπροσθέτως, μια διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη και ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη διερεύνησε την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με χορήγηση συμπληρώματος L-Καρνιτίνης στη βελτίωση της ποιότητας του σπέρματος σε 30 υπογόνιμους άνδρες. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν είτε LC είτε εικονικό φάρμακο για 2 μήνες. Μετά από μια περίοδο έκπλυσης ίδιας διάρκειας, οι δύο ομάδες άλλαξαν θεραπεία για επιπλέον 2 μήνες, με τους ερευνητές να αναφέρουν σημαντικές βελτιώσεις στη μέση συγκέντρωση σπέρματος στο τέλος της περιόδου μελέτης (Peivandi, Karimpour & Moslemizadeh, 2010). Αντιθέτως, οι Sigman et al. (2006) χορήγησαν σε 26 αζωοσπερμικούς άνδρες LC (1000mg) και LAC (500mg) ημερησίως για διάστημα 12 εβδομάδων, χωρίς να επιτύχουν να υποδείξουν σημαντική βελτίωση στην κινητικότητα του σπέρματος.

Όσον αφορά στο συνένζυμο Q10, έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει σημαντικά τον αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε ομάδες ανδρών στους οποίους χορηγήθηκε θεραπεία, σε σύγκριση με ομάδες ελέγχου που έλαβαν το εικονικό φάρμακο (Safarinejad, 2009). Αναλυτικότερα, ο εν λόγω ερευνητής τυχαιοποίησε δείγμα 212 υπογόνιμων άνδρες με ιδιοπαθή ολιγοσπερμία, έτσι ώστε να λάβουν είτε 300mg του συνενζύμου Q10 ημερησίως, είτε το εικονικό φάρμακο για 26 εβδομάδες. Τα ευρήματα της μελέτης ανέφεραν σημαντική βελτίωση του αριθμού και της κινητικότητας των

σπερματοζωαρίων στα υποκείμενα που έλαβαν την θεραπεία ( $P = 0,01$ ). Στο ίδιο πλαίσιο, μια διπλή τυφλή κλινική μελέτη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, η οποία εξέτασε την επίδραση του συνενζύμου Q10 στις παραμέτρους του σπέρματος και στα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων στο πλάσμα, έδειξε σημαντική βελτίωση της μορφολογίας του σπέρματος ( $P = 0,037$ ), της καταλάσης ( $P = 0,041$ ) και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου ( $P < 0,001$ ) στην ομάδα θεραπείας σε σύγκριση με την ομάδα εικονικού φαρμάκου (Nadjarzadeh et al., 2014). Επιπλέον, μια συστηματική ανασκόπηση τριών τυχαιοποιημένων και ελεγχόμενων με εικονικό φάρμακο κλινικών μελετών σε 332 υπογόνιμους άνδρες, αποκάλυψε ότι η θεραπεία με την λήψη συμπληρώματος συνενζύμου Q10 με δοσολογία 200 έως 300mg ημερησίως οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης σπέρματος (με μέση διαφορά 200-300mg ημερησίως) και οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης (RR 5.33, 95 % CI 4.18 έως 6.47,  $I^2 = 58\%$ ) και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων (RR 4.50, 95 % CI 3.92 έως 5.08,  $I^2 = 0\%$ ) στην ομάδα που έλαβε την θεραπεία (Lafuente et al., 2013).

Διερευνώντας τη θεραπευτική δυνατότητα του φυλλικού οξέος (της σταθερής, συνθετικής μορφής του φυλλικού οξέος στα συμπληρώματα διατροφής), μια διπλή τυφλή μελέτη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο εξέτασε δείγμα 108 γόνιμων και 103 υπογόνιμων ανδρών, τυχαιοποιημένων σε τέσσερις ομάδες εκ των οποίων η πρώτη έλαβε μόνο φυλλικό οξύ, η δεύτερη μόνο ψευδάργυρο, η τρίτη συνδυασμό φυλλικού οξέος και ψευδαργύρου και η τέταρτη (ομάδα ελέγχου) το εικονικό φάρμακο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά από 26 εβδομάδες θεραπείας, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της τάξεως του 74% στο συνολικό αριθμό των φυσιολογικών σπερματοζωαρίων στους ασθενείς της υπογόνιμης ομάδας στην οποία χορηγήθηκε η συνδυασμένη αντιοξειδωτική αγωγή (Wong et al., 2002).

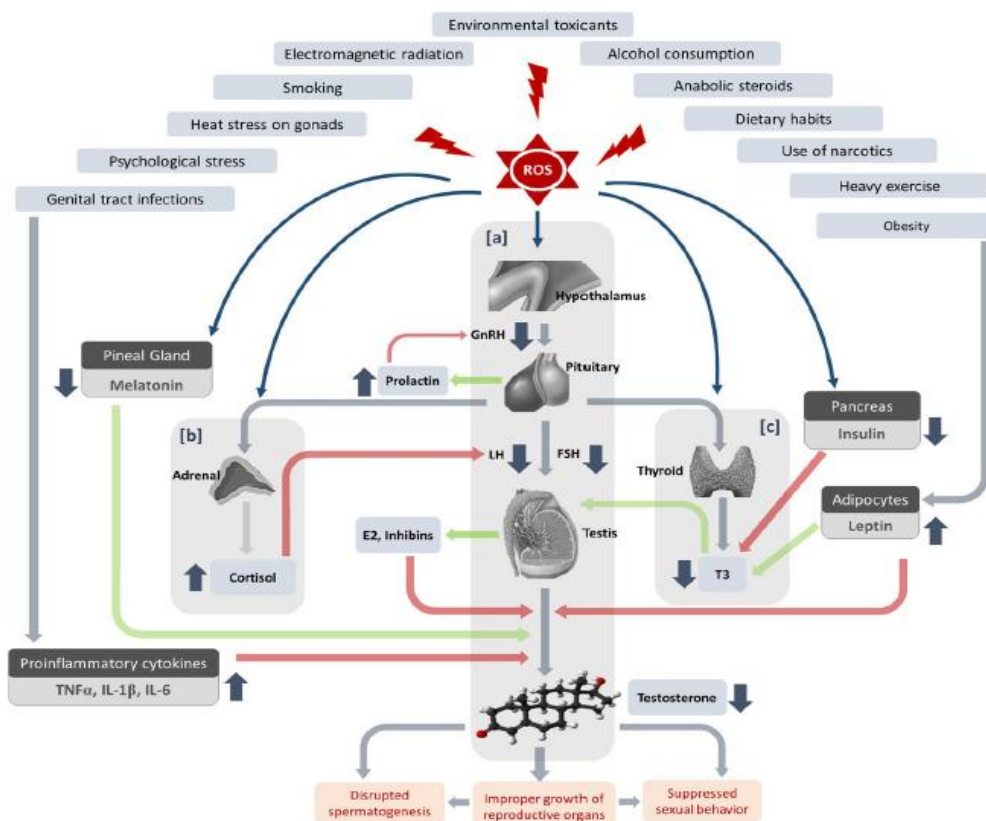
Από την άλλη πλευρά, το σελήνιο και οι επιδράσεις του στην αναπαραγωγική ικανότητα των υπογόνιμων ανδρών έχει διερευνηθεί λιγότερο. Πιο λεπτομερώς, μια κλινική μελέτη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο (Safarinejad & Safarinejad, 2009) τυχαιοποίησε σε τέσσερις ομάδες 468 υπογόνιμους άνδρες με ιδιοπαθή ολιγοσπερμία, οι οποίοι έλαβαν θεραπεία είτε αποκλειστικά με σελήνιο (200mg/ημερησίως), είτε αποκλειστικά με N-ακετυλοκυστεΐνη (600mg/ημερησίως), είτε με συνδυασμό και των δύο συμπληρωμάτων, είτε με εικονικό φάρμακο για 26 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική βελτίωση σε όλες τις παραμέτρους του σπέρματος στους υπογόνιμους άνδρες των τριών ομάδων θεραπείας σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του αθροίσματος των συγκεντρώσεων σεληνίου και NAC και του μέσου αριθμού σπερματοζωαρίων ( $r=0,67$ ,  $P=0,01$ ), της κινητικότητάς τους ( $r=0,64$ ,  $P=0,01$ ) και του ποσοστού φυσιολογικής μορφολογίας τους ( $r=0,66$ ,  $P=0,01$ ). Η συνδυαστική θεραπεία με συμπληρώματα σεληνίου και βιταμίνης E είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της κινητικότητας του σπέρματος (Vezina et al., 1996· Keskes-Ammar et al., 2003). Από την άλλη πλευρά, άλλη μελέτη έδειξε ότι η θεραπεία αποκλειστικά με σελήνιο (300mg/ημερησίως για 48

εβδομάδες) δεν φάνηκε να έχει σημαντική επίδραση στις παραμέτρους του σπέρματος μιας ομάδας νορμοσπερμικών ανδρών (Hawkes, Alkan & Wong, 2009).

Από την άλλη πλευρά, σε μια προοπτική μελέτη που έγινε σε δείγμα υπογόνιμων ανδρών με αζωοσπερμία, συγκρίθηκε η επίδραση της χορήγησης συμπληρώματος ψευδαργύρου (zinc) για 3 μήνες, σε σχέση με την μη χορήγηση θεραπείας. Τα αποτελέσματα της μελέτης υπέδειξαν σημαντική βελτίωση της συγκέντρωσης του σπέρματος ( $P<0,02$ ), της προοδευτικά αυξανόμενης κινητικότητας των σπερματοζωαρίων ( $P<0,05$ ) και της γονιμοποιητικής ικανότητάς τους ( $P<0,01$ ), καθώς και μείωση της συχνότητας εμφάνισης αντισωμάτων κατά του σπέρματος ( $P<0,01$ ) (Omu et al., 2008). Σε παρόμοιο πλαίσιο, έχει φανεί ότι η χορήγηση συμπληρώματος ψευδαργύρου αποκατέστησε με επιτυχία τη σπερματική δραστηριότητα που σχετίζεται με τα επίπεδα καταλάσης, βελτιώνοντας παράλληλα προοδευτικά τον αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε μια ομάδα αζωοσπερμικών ανδρών (Hadwa, Almashhedy & Alsalman, 2015).

Στο ίδιο πλαίσιο και δεδομένης της έλλειψης σαφών κατευθυντήριων οδηγιών για την ορθή χρήση των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων, αλλά και του υπαρκτού κινδύνου της μη ορθολογικής χρήσης τους από υπογόνιμους άνδρες, καθίσταται αναγκαία η διενέργεια ιατρικών εξετάσεων που θα αποτυπώνουν την οξειδωτική κατάσταση του ασθενούς πριν την έναρξη της όποιας θεραπευτικής παρέμβασης, ούτως ώστε να διασφαλιστεί ότι τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται μόνο στις περιπτώσεις εκείνες που υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις ότι θα φέρουν πραγματικό όφελος στην αναπαραγωγική ικανότητα του ανδρός. Για τον ίδιο λόγο, απαραίτητες είναι οι σχετικές διαγνωστικές εξετάσεις στις περιπτώσεις ιδιοπαθούς ανδρικής υπογονιμότητας με στόχο τον εντοπισμό και τον σχεδιασμό της κατάλληλης θεραπευτικής παρέμβασης, εφόσον κατά την διάρκεια του προκαταρκτικού ελέγχου διαγνωστούν υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες στο σπερματοζωάριο του ασθενούς. Οι σχετικές συστάσεις προβλέπουν ότι η μέτρηση του οξειδωτικού στρες σε άνδρες για τους οποίους η αρχική εξέταση δεν τεκμηρίωσε την συσχέτισή του με την υπογονιμότητα, δεν θα πρέπει να επαναλαμβάνεται εντός διαστήματος μικρότερου από αυτό των τριών μηνών από την αρχική εξέταση, ενώ ως συνήθης συνιστώμενος χρόνος επανεξέτασης ορίζεται στις έξι με οκτώ εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας, προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά της, αλλά και η αλλαγή του τρόπου ζωής του ασθενούς, ώστε τα φυσιολογικά επίπεδα οξειδωτικού στρες να είναι μακροπρόθεσμα διατηρήσιμα (Agarwal et al., 2019). Συμπερασματικά, οι ως άνω αναφερόμενες συστάσεις προβλέπουν την χορήγηση θεραπείας με αντιοξειδωτικά σκευάσματα στους άνδρες των οποίων η ανδρική υπογονιμότητα έχει συσχετιστεί με υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες πριν την έναρξη της διαδικασίας της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, για τουλάχιστον τρεις μήνες από την εξάλειψη των αιτιολογικών παραγόντων του οξειδωτικού στρες κατά περίπτωση. Αντιθέτως, η χορήγηση αντιοξειδωτικής θεραπείας θα πρέπει να αποφεύγεται σε ασθενείς για τους οποίους δεν υπάρχουν επαρκείς σχετικές ενδείξεις, καθώς ενδέχεται να επιδεινώσουν την υπογονιμότητα.

Περαιτέρω, το οξειδωτικό στρες έχει ενοχοποιηθεί για την αρνητική επίδραση που έχει στην αναπαραγωγική λειτουργία, καθώς διαταράσσει την ομαλή λειτουργία και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων, των λοιπών ορμονικών αξόνων του ενδοκρινικού δικτύου, προκαλώντας με τον τρόπο αυτό έμμεσα ή άμεσα μείωση της ανδρικής αναπαραγωγικής ικανότητας. Το άνω τμήμα της **Εικόνας 8** αποτυπώνει τους αιτιολογικούς παράγοντες της δημιουργίας αυξημένων επιπέδων ενεργών ριζών οξυγόνου, ενώ στο κάτω μέρος απεικονίζονται συνοπτικά οι επιπτώσεις του στο ενδοκρινικό δίκτυο (Darbandi et al., 2018). Ως εκ τούτου, παρατηρείται ότι οι ελεύθερες ρίζες, η δημιουργία των οποίων πυροδοτείται εξαιτίας της συνδρομής είτε ενδογενών είτε εξωγενών αιτιολογικών παραγόντων, επιδρούν καθοριστικά στην λειτουργία των ενδοκρινών αδένων μεμονωμένα και του ενδοκρινικού συστήματος συσχετιστικά, και μέσω αυτού στην ανδρική αναπαραγωγική ικανότητα (Darbandi et al. 2018). Πιο συγκεκριμένα, οι ενεργές ελεύθερες ρίζες μέσω της δυσμενούς επίδρασής τους στην ενδοκρινική λειτουργία ενοχοποιούνται για την μειωμένη βιοσύνθεση τεστοστερόνης, η οποία ακολούθως ως πρωταρχικός ρυθμιστής της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς του άνδρα, αποτυγχάνει να ρυθμίσει φυσιολογικά την παραγωγή γονιμοποιητικά ικανών σπερματοζωαρίων άμεσα, αλλά και έμμεσα μέσω της μη φυσιολογικής ανάπτυξης και λειτουργίας άλλων οργάνων σχετιζόμενων με την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων. Τέλος, τα χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης οδηγούν σε μείωση της σεξουαλικής ορμής των ανδρών (Χαραλαμπίδου, 2020).



**Εικόνα 8:** Επιπτώσεις του OS στις ανδρικές ορμόνες αναπαραγωγής (Darbandi et al., 2018)



Η αξιοσημείωτη έρευνα των Darbandi et al. (2018), όπως προαναφέρθηκε, που μελέτησε τις επιδράσεις του οξειδωτικού στρες στις ανδρικές ορμόνες αναπαραγωγής κατέληξε σε μια σειρά συμπερασμάτων αναφορικά με τις αλληλεπιδραστικές τους σχέσεις. Πιο συγκεκριμένα, η έρευνα επισήμανε την επίδραση των ενεργών ελεύθερων ριζών στον άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Γονάδες (ΥΥΓ) που, όπως αναφέρουν και προγενέστερες μελέτες, σχετίζονται με την μειωμένη έκκριση των ανδρικών αναπαραγωγικών ορμονών, όπως η τεστοστερόνη. Περαιτέρω, οι ROS επιδρούν δυσμενώς στην ανδρική αναπαραγωγική ικανότητα μέσω του άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Επινεφρίδια, αυξάνοντας την παραγωγή κορτιζόλης, η οποία με τη σειρά της μειώνει την έκκριση της ωχρινότροπου ορμόνης (LH). Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες επιδρά και στον άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Θυροειδής Αδένας, αφού τα αυξημένα επίπεδα ελευθέρων ριζών έχουν συσχετιστεί με μειωμένη παραγωγή ολικής τριωδοθυρονίνης (T3) και συνακόλουθα με την μη φυσιολογική λειτουργία του θυροειδούς που μέσω των διασταυρούμενων αλληλεπιδράσεων των αξόνων Υποθάλαμος-Υπόφυση-Θυροειδής και Υποθάλαμος-Υπόφυση-Γονάδες, έχει ως αποτέλεσμα την μειωμένη παραγωγή τεστοστερόνης.

Μέσω των ίδιων αξόνων τα υψηλά επίπεδα αντιοξειδωτικού στρες στον οργανισμό φαίνεται να επιδρούν δυσμενώς και στην ικανότητα του παγκρέατος να παράγει ινσουλίνη, που επίσης μειώνει την παραγωγή ολικής τριωδοθυρονίνης (T3) και συνεπώς τα επίπεδα τεστοστερόνης. Επιπλέον, μείωση της βιοσύνθεσης τεστοστερόνης προκαλεί η παχυσαρκία, λόγω της άμεσης αύξησης των επιπέδων της λεπτίνης με την οποία συνδέεται.

Πέραν αυτών, το οξειδωτικό στρες ενοχοποιείται για την μειωμένη σύνθεση μελατονίνης και την αυξημένη παραγωγή προφλεγμονοδών κυτοκινών λόγω των λοιμώξεων του αναπαραγωγικού συστήματος με τις οποίες παρουσιάζουν θετική συσχέτιση. Οι δύο αυτές δυσλειτουργίες επηρεάζουν την λειτουργία του άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Γονάδες, με αποτέλεσμα και πάλι την μείωση των επιπέδων της τεστοστερόνης στον οργανισμό. Τέλος, όταν τα συστήματα του οργανισμού βρίσκονται σε κατάσταση οξειδωτικού στρες, αυξάνεται η έκκριση προλακτίνης και οιστραδιόλης, που με τη σειρά τους μειώνουν αντίστοιχα την έκκριση της GnRH ορμόνης και της τεστοστερόνης (Darbandi et al. 2018· Χαραλαμπίδου, 2020).

Τα υψηλά επίπεδα ROS ασκούν αρνητικές επιδράσεις όχι μόνο στο πυρηνικό DNA του σπέρματος, αλλά και στο μιτοχονδριακό DNA των σπερματοζωαρίων, την κυτταρική τους μεμβράνη και τους μηχανισμούς απόπτωσης (Agarwal et al., 2017). Επιπλέον, έχει καταδειχθεί ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των υψηλών επιπέδων παραγωγής ROS και του κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων (Sperm DNA Fragmentation – SDF), αφού φαίνεται ότι τα υψηλά επίπεδα SDF προκαλούνται από την παραγωγή ROS πέραν της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού (Aitken & Koppers, 2011). Σε παρόμοιο πλαίσιο, οι Majzoub et al. (2018) αξιολόγησαν το δυναμικό της οξειδοαναγωγής του σπέρματος (ORP) και του κατακερματισμού του DNA των

σπερματοζωαρίων, σε συνάρτηση με τη μορφολογία του σπέρματος. Τα ευρήματα έδειξαν ότι οι υπογόνιμοι άνδρες είχαν σημαντικά υψηλότερες ανωμαλίες στην κεφαλή των σπερματοζωαρίων (54% έναντι 48%,  $P < 0,05$ ), συγκρινόμενοι με αυτούς της γόνιμης ομάδας, καταδεικνύοντας την ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του ORP και του SDF με τις ανωμαλίες της κεφαλής των σπερματοζωαρίων. Ομοίως, τα αυξημένα επίπεδα ROS και ο κατακερματισμός του DNA των σπερματοζωαρίων φαίνεται να παρουσιάζουν αρνητική (αντίστροφη) συσχέτιση με την κινητικότητα και τη ζωικότητα του σπέρματος (Homa et al., 2019).

Όπως προαναφέρθηκε, στους υπογόνιμους άνδρες, ο κατακερματισμός του DNA του σπέρματος παρουσιάζει υψηλή συσχέτιση με την οξειδωτική κατάσταση του σπέρματος. Επιπλέον, το SDF συναρτάται σε μεγάλο βαθμό με τα επίπεδα Μηλονδιαλδεΐδης (MDA), της δισμουτάσης του υπεροξειδίου και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (Dorostghoal et al., 2017). Σε μια άλλη μελέτη, παρατηρήθηκαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα υπεροξειδίου του υδρογόνου, ανιόντων υπεροξειδίου και κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων σε άνδρες με ιδιοπαθή υπογονιμότητα, εν συγκρίσει με αυτά των γόνιμων ανδρών (Zandieh, Vatannejad & Doosti, 2018). Επιπλέον, σε μελέτη των Sakamoto et al. σε δείγμα υπογόνιμων ανδρών με αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες και κίρσοκλήλη, διαπιστώθηκε σημαντική μείωση των δραστηριοτήτων του μονοξειδίου του αζώτου και άλλων σημαντικών ενζύμων μετά από κίρσοκληκτομή (Sakamoto et al., 2008). Επομένως, η χειρουργική απολίνωση έσω σπερματικών φλεβών μειώνει τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες και βελτιώνει τον κατακερματισμό του DNA των σπερματοζωαρίων.

Συνεχίζοντας, έχει καταδειχθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα δραστικών ελεύθερων ριζών οξυγόνου έχουν αντίκτυπο στον μηχανισμό επαγωγής της απόπτωσης. Τα σπερματοζωάρια όταν βρίσκονται σε κατάσταση οξειδωτικού στρες επιστρέφουν σε μια ενδογενή αποπτωτική οδό, με αποτέλεσμα την οξειδωτική βλάβη του DNA τους από την ενεργοποίηση της κασπάσης και τη συσσώρευση ROS στα μιτοχόνδρια (Aitken et al., 2016). Επιπλέον, το κυτόχρωμα C, το οποίο απελευθερώνεται κατά τη διάσπαση της εσωτερικής και της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης από τις ROS, ενεργοποιεί τις κασπάσες που είναι υπεύθυνες για την απόπτωση των κυττάρων (Aitken, Baker, & Nixon, 2015; Marwan, Martinez & Parekh, 2020).

Θα πρέπει να επισημανθεί ότι με βάση την διεθνή βιβλιογραφία και τις πρόσφατες επιστημονικές μελέτες, δεν είναι σαφής ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ της λήψης αντιοξειδωτικών φαρμακευτικών σκευασμάτων και της βελτίωσης των επιπέδων ανδρικής γονιμότητας. Οι λόγοι για τους οποίους η συσχέτιση αυτή δεν έχει έως σήμερα τεκμηριωθεί σαφώς μπορεί να είναι πολλοί, ωστόσο, ως σημαντικότερος εξ αυτών αξιολογείται το γεγονός ότι το οξειδωτικό στρες δεν αποτελεί την μοναδική αιτία υπογονιμότητας στους άνδρες. Η αντιοξειδωτική θεραπεία μπορεί να έχει θετικά αποτελέσματα στους υπογόνιμους ασθενείς, εφόσον μετά από ενδελεχή ιατρικό έλεγχο αποδειχθεί η αιτιώδης σχέση οξειδωτικού στρες και υπογονιμότητας στην περίπτωση του εκάστοτε ασθενούς, ενώ κρίσιμης

σημασίας είναι και ο εντοπισμός των αιτών που προκαλούν το οξειδωτικό στρες αυτό καθαυτό, ώστε να αντιμετωπιστεί το ζήτημα όχι σε επίπεδο συμπτώματος, αλλά πρωτογενούς αιτίου. Για παράδειγμα, στις περιπτώσεις λοιμώξεων ή φλεγμονών του αναπαραγωγικού συστήματος, η θεραπευτική προσέγγιση είναι απαραίτητο να περιλαμβάνει την θεραπεία των νόσων που ενοχοποιούνται για την αύξηση των επιπέδων του οξειδωτικού στρες, ενώ η ενδεχόμενη λήψη αντιοξειδωτικών φαρμάκων μπορεί στην περίπτωση αυτή να λειτουργήσει μόνο συμπληρωματικά. Το ίδιο ισχύει και στην περίπτωση που η υπογονιμότητα οφείλεται σε οξειδωτικό στρες λόγω του τρόπου ζωής του ασθενούς (π.χ. κάπνισμα).

Μια πρόσφατη μελέτη διαπίστωσε ότι η βιταμίνη E, ο ψευδάργυρος, η βιταμίνη C, το φολικό οξύ και το σελήνιο ήταν τα πιο κοινώς χρησιμοποιούμενα συστατικά στα εμπορικά διαθέσιμα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα (Kuchakalla et al., 2020). Δεδομένου ότι προηγούμενες έρευνες έχουν καταδείξει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του κατακερματισμού του DNA του σπέρματος και της γονιμοποιητικής του ικανότητας, έχουν διεξαχθεί διάφορες μελέτες για να εκτιμηθεί κατά πόσον η θεραπεία του οξειδωτικού στρες με αντιοξειδωτικά συμπληρώματα μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση των παραμέτρων του σπέρματος και, στη συνέχεια, των αποτελεσμάτων της ανδρικής γονιμότητας (Agarwal et al., 2016· Lewis, Aitken & Conner, 2013· Saleh et al., 2003· Saleh et al., 2003a).

Αρκετές μελέτες με δείγμα μικρού μεγέθους, οι οποίες εξετάζουν την επίδραση των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων διατροφής στον κατακερματισμό του DNA των σπερματοζωαρίων φαίνονται να είναι ενθαρρυντικές (Gil-Villa et al., 2009· Greco, et al., 2005· Ménézso et al., 2007· Tremellen et al., 2007). Οι Gual-Frau et al. (2015) αναφέρουν ότι σε άνδρες που εμφάνιζαν ταυτόχρονα υψηλό βαθμό κατακερματισμού και μικρής έκτασης κισσοκίλη, συνδυαστικό θεραπευτικό σχήμα που περιλάμβανε L-καρνιτίνη, βιταμίνη C, συνένζυμο Q10, βιταμίνη E, ψευδάργυρο, φολικό οξύ, σελήνιο και βιταμίνη B12 έχει δείξει να επιφέρει σημαντική μείωση του κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων, καθώς και βελτίωση της συγκέντρωσης σπέρματος. Σε παρόμοιο πλαίσιο, άλλη μελέτη τυχαιοποιημένου δείγματος που περιλάμβανε έλεγχο με εικονικό φάρμακο, φάνηκε ότι η συνδυαστική αντιοξειδωτική θεραπεία με 1gr βιταμίνης C και 1gr βιταμίνης E ημερησίως για 2 μήνες είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση του κατακερματισμού του DNA του σπέρματος, χωρίς, ωστόσο να αναφέρει βελτίωση των παραμέτρων του σπέρματος (Greco, et al., 2005). Πέραν αυτών, άλλες μελέτες αναφέρουν ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων καρροτενοειδών σε υπογόνιμους άνδρες με ολιγοσπερμία, αζωοσπερμία, τερατοσπερμία και υψηλότερη αρχική συγκέντρωση σπέρματος έχουν επίσης συσχετιστεί με θετικά αποτελέσματα όσον αφορά τη βελτίωση των δεικτών αναπαραγωγικής ικανότητας σε ζευγάρια, όπως η αύξηση των ποσοστών εγκυμοσύνης και η βελτίωση της συγκέντρωσης σπέρματος (Gupta & Kumar, 2002). Παρομοίως, σε άνδρες με ολιγοσπερμία, η συμπληρωματική χορήγηση φυτοθεραπευτικών συστατικών οδήγησε σε υψηλότερα επίπεδα δισμουτάσης του υπεροξειδίου, καταλάσης και λιπιδικής υπεροξειδωσίας στο σπέρμα (Lara et al., 2008).

Επιπρόσθετα, σε άλλη μελέτη αξιολογήθηκαν 20 υπογόνιμοι άνδρες με αζωοσπερμία και τερατοσπερμία, οι οποίοι για 3 μήνες υπεβλήθησαν σε αντιοξειδωτική θεραπεία, με L-καρνιτίνη (1.500mg/ημερησίως), βιταμίνη C (60mg/ημερησίως), συνένζυμο Q10 (20mg/ημερησίως), βιταμίνη E (10mg/ημερησίως), ψευδάργυρο (10mg/ημερησίως), βιταμίνη B9 (200ug/ημερησίως), σελήνιο (50ug/ημερησίως) και βιταμίνη B12 (1gr/ημερησίως). Οι μελετητές μέτρησαν τα επίπεδα κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων κατά διαφορετικά χρονικά διαστήματα (0, 2, 6, 8 και 24 ώρες) στους 37°C πριν και μετά τη χορήγηση αντιοξειδωτικών. Τα ευρήματα υπέδειξαν ότι ο κατακερματισμός του DNA του σπέρματος μειώθηκε σημαντικά μετά την χορήγηση της αντιοξειδωτικής αγωγής. Ομοίως, μια συστηματική ανασκόπηση 19 τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών και 10 προοπτικών μελετών αξιολόγησε πολλά από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα συστατικά των αντιοξειδωτικών που διατίθενται στο εμπόριο και τη συνιστώμενη ημερήσια δοσολογία τους. Οι μελέτες αφορούσαν σε συμπληρώματα διατροφής που περιελάμβαναν βιταμίνη E (400mg/ημερησίως), βιταμίνη C (500 έως 1000mg/ημερησίως), καρνιτίνες (500 έως 1000mg/ημερησίως), N-ακετυλοκυστεΐνη (600mg/ημερησίως), συνένζυμο Q10 (100 έως 300mg/ημερησίως), ψευδάργυρο (25 έως 400mg/ημερησίως), σελήνιο (200mg/ημερησίως), φολικό οξύ (0,5mg/ημερησίως) και λυκοπένιο (6 έως 8mg/ημερησίως). Οι 26 από τις 29 μελέτες αναφέρουν μείωση του κατακερματισμού του DNA του σπέρματος και των επιπέδων των δραστικών ελευθέρων ριζών οξυγόνου μετά την χορήγηση της αντιοξειδωτικής αγωγής στην συνιστώμενη δοσολογία για ικανό διάστημα. Επιπλέον, φάνηκε ότι βελτιώθηκαν οι παράμετροι του σπέρματος, τα αποτελέσματα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και τα ποσοστά γεννήσεων ζωντανών εμβρύων (Majzoub et al., 2018· Marwan, Martinez & Parekh, 2020).

Επιπλέον, η Χαραλαμπίδου (2020) στην έρευνά της τονίζει και τα παρακάτω: δεδομένου ότι κάθε κατηγορία αντιοξειδωτικών στοχεύει στην εξουδετέρωση διαφορετικών ριζών, καθώς και του γεγονότος ότι για την καταπολέμηση του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό απαιτείται η εξουδετέρωση ποικίλων ελεύθερων ριζών που μπορούν να επηρεάζουν πολλαπλώς την αναπαραγωγική ικανότητα του άνδρα, στις περισσότερες περιπτώσεις ο συνδυασμός των αντιοξειδωτικών κατά την θεραπεία αποδεικνύεται πολύ αποτελεσματικός. Αντίθετα, η χορήγηση ενός μόνο αντιοξειδωτικού συνιστάται μόνο όταν οι ιατρικές εξετάσεις έχουν εντοπίσει έλλειψη ενός μόνο φυσικού αντιοξειδωτικού από τον οργανισμό, οπότε το μεμονωμένο συμπλήρωμα χρησιμοποιείται για να καλύψει μια μεμονωμένη έλλειψη. Επιπρόσθετα, αξίζει να αναφερθεί ότι η δοσολογία λήψης του αντιοξειδωτικού είναι καθοριστικής σημασίας, αφού όπως προαναφέρθηκε, ορισμένες κατηγορίες ελεύθερων ριζών σε φυσιολογική συγκέντρωση είναι ευεργετικές για τον οργανισμό. Ως εκ τούτου, η λήψη αντιοξειδωτικών σε ποσότητες που περιορίζουν τις ελεύθερες ρίζες σε επίπεδα κατώτερα του φυσιολογικού ή λειτουργούν ως προ-οξειδωτικά προκαλούν βλάβες

ανάλογες του οξειδωτικού στρες, οι οποίες θα είχε ενδιαφέρον να μελετηθούν μέσω πειραματικών *in vitro* ερευνών.

## 5. ΕΠΙΛΟΓΟΣ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας προκύπτει ότι προκειμένου να εκληφθούν τα εμπορικά διαθέσιμα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα διατροφής ως σχήματα θεραπευτικά της ανδρικής υπογονιμότητας, θα πρέπει να μπορούν να επιδεικνύουν σε σταθερή και επαρκώς τεκμηριωμένη βάση βελτίωση των παραμέτρων του σπέρματος (συγκέντρωση, κινητικότητα και μορφολογία), της ποιότητας των σπερματοζωαρίων και των γεννήσεων ζώντων εμβρύων. Επί του παρόντος, η χορήγηση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων φαίνεται σε ορισμένες περιπτώσεις και κατηγορίες υπογόνιμων ανδρών να φέρει ενθαρρυντικά αποτελέσματα όσον αφορά στον περιορισμό των βλαβών στο σπέρμα και τα σπερματοζωάρια που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες. Ωστόσο, η τρέχουσα βιβλιογραφία που διερευνά το ζήτημα υποστηρίζοντας αυτήν την άποψη, περιλαμβάνει κυρίως μελέτες που έχουν εξετάσει μια ποικιλία συνδυαστικών αντιοξειδωτικών σχημάτων και επομένως είναι αρκετά ετερογενής. Επιπλέον, δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί επακριβώς οι κατάλληλες κατά περίπτωση βασικές δοσολογίες των αντιοξειδωτικών αυτών. Η έλλειψη τυποποίησης μεταξύ των παρόντων σχεδίων μελέτης στη βιβλιογραφία δημιουργεί ένα πρόσθετο εμπόδιο στην επίτευξη ομοφωνίας επί του θέματος. Η τρέχουσα τάση συνταγογράφησης αντιοξειδωτικών αφειδώς σε όλους τους άνδρες που παρουσιάζουν προβλήματα υπογονιμότητας είναι ανησυχητική και οι κλινικοί γιατροί θα πρέπει να γνωρίζουν τον κίνδυνο υπερσυνταγογράφησης αντιοξειδωτικών, καθώς οι υψηλές δόσεις μπορεί να οδηγήσουν σε αναγωγικό στρες, το οποίο μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τις παραμέτρους του σπέρματος, επιδεινώνοντας το πρόβλημα, αντί να το βελτιώσει (Marwan, Martinez & Parekh, 2020).

Επίσης, δεν έχουν ακόμη τεκμηριωθεί επαρκώς τα οφέλη, καθώς και οι παρενέργειες των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων. Αυτά, πλέον, μπορούν εύκολα να αγοραστούν μέσω του διαδικτύου ή πέραν του Φαρμακείου και των εμπορικών καταστημάτων ενώ θεωρούνται *a priori* φυσικής προέλευσης και ως εκ τούτου υγιή. Αυτή η γενική υπόθεση ενισχύεται και από το επιθετικό μάρκετινγκ μιας βιομηχανίας πολλών δισεκατομμυρίων δολαρίων, αλλά δεν ρυθμίζεται / ελέγχεται από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων & Φαρμάκων (FDA). Μια πρόσφατη ομόφωνη κατευθυντήρια οδηγία από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας τόνισε ότι επί του παρόντος δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να υποστηρίζουν τη χρήση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων (Barratt et al., 2017).

Επιπλέον, το όποιο φαρμακευτικό σκεύασμα, καθώς και ο ενδεχόμενος συνδυασμός φαρμάκων θα πρέπει να λαμβάνεται σε ευθεία συνάρτηση με το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα και με την προϋπόθεση ότι η συσχέτισή τους είναι επαρκώς τεκμηριωμένη. Όσον αφορά στις περιπτώσεις υπογόνιμων

ασθενών, είναι απαραίτητος ο τακτικός έλεγχος της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού που χορηγείται στο πλάσμα του σπέρματος, τόσο για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της θεραπείας όσο και για να διασφαλιστεί ότι ο ασθενής λαμβάνει την δοσολογία που χρειάζεται και για όσο χρόνο χρειάζεται. Κλείνοντας, υπογραμμίζεται ότι ένα από τα κυριότερα προβλήματα όσον αφορά στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών στην θεραπεία της υπογονιμότητας, είναι η ικανότητα αυτόματης βελτίωσης του σπέρματος από μηχανισμούς του ίδιου του οργανισμού. Με άλλα λόγια, δεν αποκλείεται η ποιότητα του σπέρματος να παρουσιάσει βελτίωση μετά από μία περίοδο λήψης αντιοξειδωτικών σκευασμάτων, αλλά η βελτίωση αυτή να οφείλεται στις φυσιολογικές διακυμάνσεις ποικίλων βιολογικών παραγόντων του οργανισμού αυτού καθαυτού.

Εν κατακλείδι, οι γνώσεις και τα ερευνητικά δεδομένα αναφορικά με την ανδρική υπογονιμότητα και την επίδραση της λήψης αντιοξειδωτικών σε αυτήν, φαίνεται να υποστηρίζουν την χρήση τους ως θεραπευτικά εργαλεία υπό τις προϋποθέσεις που αναλύθηκαν στην παρούσα εργασία, ενώ για την περαιτέρω τεκμηρίωση της αποτελεσματικότητάς τους σε κάθε ξεχωριστή κατηγορία ασθενών ή την ενδεχόμενη συμπληρωματικότητά τους με άλλες θεραπευτικές μεθόδους σε περιπτώσεις συνδρομής και παθολογικών αιτιών που προκαλούν μειωμένη αναπαραγωγική ικανότητα, απαιτείται η διεξαγωγή περισσότερων ερευνών (Agarwal et al., 2004· Χαραλαμπίδου, 2020).

Κλείνοντας, θα ήταν καλό να γίνει μια συμπερασματική αναφορά στα ερευνητικά ερωτήματα (τα οποία αναφέρθηκαν στο εισαγωγικό μέρος της εν λόγω μελέτης) και στο κατά πόσο αυτά απαντώνται ή όχι.

### **Τι είναι το οξειδωτικό στρες και που οφείλεται;**

Σύμφωνα με την προηγούμενη ανάλυση της βιβλιογραφίας το Οξειδωτικό Στρες (Oxidative Stress – OS) ορίζεται ως η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ελεύθερες ρίζες – ROS) και του αντιοξειδωτικού αμυντικού μηχανισμού, που μπορεί να οδηγήσει σε τραυματισμό ιστού. Οι επιδράσεις του οξειδωτικού στρες είναι πολλές και σχετίζονται κατά βάση με τη λειτουργία του νευρικού και του κυκλοφορικού συστήματος καθώς και με νεοπλασίες και χρόνιες νόσους (όπως AIDS και κατάθλιψη) αλλά και με ορισμένες νευροεκφυλιστικές παθήσεις, όπως Alzheimer και Parkinson. Όταν αναφερόμαστε στις ελεύθερες ρίζες ως βασική αιτία οξειδωτικού στρες, εννοούμε τα αυξημένα επίπεδα συγκέντρωσής τους στον οργανισμό με αποτέλεσμα την μεγάλη δραστηριοποίησή τους και την πρόκληση βλαβών σε γειτονικά κύτταρα ή συστήματα του οργανισμού.

**Επιδρά το οξειδωτικό στρες στην γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος και σε ποιο βαθμό;**  
Φυσικά και επηρεάζει και συντριπτικά στοιχεία στη διεθνή βιβλιογραφία υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό στρες (OS) παίζει ζωτικό ρόλο στην αιτιολογία της ανδρικής υπογονιμότητας. Οι

αυξημένες δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) συνδυαστικά με τον μειωμένο αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό οδηγούν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό (redox) σε ανισορροπία, καθώς και σε μειωμένη σπερματική κινητικότητα αλλά και σε βλάβη του σπερματικού DNA. Τα σπερματοζώαρια επηρεάζονται σε τεράστιο βαθμό από τις ελεύθερες ρίζες εξαιτίας των μεγάλων ποσοτήτων από ακόρεστα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στις μεμβράνες των κυττάρων τους. Οι ROS ουσιαστικά προάγουν την υπεροξείδωση των λιπιδίων, με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα έντονο οξειδωτικό φορτίο εντός των κυττάρων αυτών. Έτσι, λοιπόν, δημιουργείται υπεροξείδωση λιπιδίων, απώλεια της ακεραιότητας της μεμβράνης με αυξημένη διαπερατότητα, μειωμένη κινητικότητα του σπέρματος, δομική βλάβη του DNA και απόπτωση. Τέλος, για τη δυσλειτουργία του σπέρματος ενοχοποιούνται και τα μιτοχόνδρια, τα οποία συμβάλλουν στα προαναφερθέντα προβλήματα. Άρα, το Οξειδωτικό Στρες καταστρέφει το πυρηνικό DNA των κυττάρων του σπέρματος, προκαλώντας βλάβες σε αμφότερες την μορφολογία και τη λειτουργία τους, και οδηγώντας, έτσι, στην ανδρική γονιμοποιητική ανικανότητα.

**Τα αντιοξειδωτικά σκευάσματα μπορούν από μόνα τους να αντιμετωπίσουν σημαντικά το οξειδωτικό στρες ή ενεργούν καλύτερα σε συνδυασμό με σωστή διατροφή και άλλες ενέργειες;** Οι έρευνες και οι έως σήμερα μελέτες δεν έχουν καταλήξει κάπου ομόφωνα. Σίγουρα τα αντιοξειδωτικά σκευάσματα βοηθούν, από μόνα τους όμως δεν φαίνεται να μπορούν να αντιμετωπίσουν δραστικά το Οξειδωτικό Στρες. Ο τρόπος που αντιδρά κάθε οργανισμός είναι διαφορετικός και εξαρτάται από πολλές φυσικές και τεχνικές διεργασίες, εντός και εκτός αυτού, καθώς και από τον τρόπο διατροφής του άντρα, τον τρόπο ζωής του (κάπνισμα, χρήση απαγορευμένων ή αναβολικών ουσιών, παχυσαρκία, καθιστική ζωή), του εάν ασκείται συστηματικά ή καθόλου και από το σε ποιες αντιοξειδωτικές ουσίες (φυσικές ή σκευάσματα) ανταποκρίνεται ο οργανισμός του (σπέρμα) καλύτερα.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

- Acharya, U.R., Acharya, S., & Mishra, M. (2003). Lead acetate induced cytotoxicity in male germinal cells of Swiss mice. *Ind Health.*, 41(3), 291-4.
- Adeoye, O., Olawumi, J., Opeyemi, A., & Christiania, O. (2018). Review on the role of glutathione on Oxidative Stress and infertility. *JBRA Assist Reprod.*, 22, pp.61-6.
- Agarwal, A., Nallella, K., Allamaneni, S. & Said, T. (2004). Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod. Biomed. Online.*, 8(6), 616-27.
- Agarwal, A., Prabakaran, S.A. and Said, T.M. (2005). Prevention of Oxidative Stress injury to sperm. *Journal of Andrology*, 26, 654-660.
- Agarwal, A., Makker, K. & Sharma, R. (2008). Clinical Relevance of Oxidative Stress in Male Factor Infertility, An Update. *Am J Reprod Immunol.*, 59(1), 2-11.
- Agarwal, A., Roychoudhury, S., Bjugstad, K.B. & Cho, C.L. (2016). Oxidation-reduction potential of semen: what is its role in the treatment of male infertility? *Ther. Adv. Urol.*, 8, 302-18.
- Agarwal, A., Roychoudhury, S., Sharma, R., Gupta, S., Majzoub, A. & Sabanegh, E. (2017). Diagnostic application of oxidation-reduction potential assay for measurement of oxidative stress: clinical utility in male factor infertility. *Reprod Biomed. Online*, 34, 48-57.
- Agarwal, A., Cho, C.L., Esteves, S.C., & Majzoub, A. (2017). Reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation. *Transl. Androl. Urol.*, 6(Suppl 4), S695-S696.
- Agarwal, A., Parekh, N., Panner Selvam, M. K., Henkel, R., Shah, R., Homa, S. T., Ramasamy, R., Ko, E., Tremellen, K., Esteves, S., Majzoub, A., Alvarez, J. G., Gardner, D. K., Jayasena, C. N., Ramsay, J. W., Cho, C. L., Saleh, R., Sakkas, D., Hotaling, J. M., Lundy, S. D., ... Harley, A. (2019). Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *The world journal of men's health*, 37(3), 296–312.
- Agarwal, A., Panner Selvam, M.K., Samanta, L., Vij, S.C., Parekh, N., Sabanegh, E., et al. (2019). Effect of antioxidant supplementation on the sperm proteome of idiopathic infertile men. *Antioxidants* (Basel), 8, 488.
- Agarwal, A., Leisegang, K., Majzoub, A., Henkel, R., Finelli, R., Panner Selvam, M. K., Tadros, N., Parekh, N., Ko, E.Y., Cho, C.L., Arafa, M., Alves, M.G., Oliveira, P.F., Alvarez, J.G., & Shah, R. (2021). Utility of Antioxidants in the Treatment of Male Infertility: Clinical Guidelines Based on a Systematic Review and Analysis of Evidence. *The world journal of men's health*, 39(2), 233–290.
- Agbaje, I.M., Rogers, D.A., McVicar, C.M., McClure, N., Atkinson, A.B., Mallidis, C. & Lewis, S.E. (2007). Insulin dependant diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Hum Reprod.*, 22, 1871-1877.
- Aitken, R.J., Baker, M.A., & O'Bryan, M. (2004). Shedding light on chemiluminescence: the application of chemiluminescence in diagnostic andrology. *J. Androl.*, 25, 455-65.
- Aitken, R.J. & Clarkson, J.S. (2004). Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 81, 459-469.



- Aitken, R.J., Clarkson, J.S., & Fishel, S. (1989). Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biology of Reproduction*, *41*(1), 183-197.
- Aitken, R.J., & Koppers, A.J. (2011). Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian Journal of Andrology*, *13*(1), 36-42.
- Aitken, R.J., Baker, M.A., & Nixon, B. (2015). Are sperm capacitation and apoptosis the opposite ends of a continuum driven by oxidative stress? *Asian Journal of Andrology*, *17*(4), 633-639.
- Aitken, R.J., Gibb, Z., Baker, M. A., Drevet, J., & Gharagozloo, P. (2016). Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reproduction, Fertility, and Development*, *28*(1-2), 1-10.
- Alahmar, A. (2018). The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligoasthenoeratozoospermia. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, *45*(2), 57-66.
- Alahmar, A. (2019). Role of oxidative stress in male infertility: An updated review. *J Hum Reprod Sci.*, *12*, p.4-18.
- Ali, M., Martinez, M., & Parekh, N. (2020). Are antioxidants a viable treatment option for male infertility? *Andrologia*, *53*, e13644.
- Alvarez, J.G., & Storey, B.T. (1995). Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development*, *42*(3), 334-346.
- Amorini, A., Listorti, I., Bilotta, G., Pallisco, R., Saab, M., Mangione, R., Manca, B., Lazzarino, G., Tavazzi, B., Lazzarino, G. & Bilotta, P. (2021). Antioxidant-based therapies in male infertility: Do we have sufficient evidence supporting their effectiveness? *Antioxidants*, *10*(2), 220-251.
- Angelopoulou, R., & Kyriazoglou, M. (2005). Sperm oxidative damage and the role of reactive oxygen species in male infertility. *Arch. Hellen. Med.*, *22*, 433-446.
- Arafa, M., & Agarwal, A. (2020). Efficacy of antioxidant supplementation on conventional and advanced sperm function tests in patients with idiopathic male infertility. *Antioxid (Basel)*, *9*, 219.
- Balercia, G., Regoli, F., Armeni, T., Koverech, A., Mantero, F., & Boscaro, M. (2005). Placebo controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenoeratozoospermia. *Fertil. Steril.*, *84*, 662-71.
- Barratt, C.L.R., Björndahl, L., De Jonge, C.J., Lamb, D.J., Osorio Martini, F., McLachlan, R., Oates, R.D., van der Poel, S., St John, B., Sigman, M., Sokol, R., & Tournaye, H. (2017). The diagnosis of male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance-challenges and future research opportunities. *Human reproduction update*, *23*(6), 660-680.
- Bassey, M. (1999). *Case study research in educational settings*. Buckingham: Open University press.
- Bedaiwy, M.A., Falcone, T., Mohamed, M.S., Aleem, A.A., Sharma, R.K., Worley, S.E., Thornton, J. & Agarwal, A. (2004). Differential growth of human embryos in vitro: role of reactive oxygen species. *Fertility and sterility*, *82*(3), 593-600.
- Βενετίκου, Μ.Σ. (2013). Οξειδωτικό Stress: Τεχνικές μελέτης και επίδραση στη γοναδική λειτουργία. *Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής*, *30*(2), 177-185.

- Betteridge, D.J. (2000). What is Oxidative Stress? *Metabolism*, 49(2), Suppl.1 (February), pp.3-8.
- Bloch-Damti, A., & Bashan, N. (2005). Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxid. Redox. Signal.*, 7(11-12), 1553-67.
- Cavallini, G., Ferraretti, A.P., Gianaroli, L., Biagiotti, G., & Vitali, G. (2004). Cinnoxicam and L-carnitine / acetyl-L-carnitine treatment for idiopathic and varicocele-associated oligoasthenospermia. *J. Androl.*, 25, 761-72.
- Clark, I.A., Hunt, N.H. & Cowden, W.B. (1986). Oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of parasitic disease. *Adv Parasito.*, 25, 1-44.
- Comhaire, F.H., Christophe, A.B., Zalata, A.A., Dhooge, W.S., Mahmoud, A.M., & Depuydt, C.E. (2000). The effects of combined conventional treatment, oral antioxidants and essential fatty acids on sperm biology in subfertile men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 63, 159-65.
- Commoner, B., Townsend, J. & Page, G.E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, 174, 689-691.
- Creswell, J.W. (2003). *Research Design: Qualitative, Quantitative and Mixed Method Approaches*. California: Sage Publications.
- Cyrus, A., Kabir, A., Goodarzi, D., & Moghimi, M. (2015). The effect of adjuvant vitamin C after varicocele surgery on sperm quality and quantity in infertile men: a double blind placebo controlled clinical trial. *Int. Braz. J. Urol.*, 41, 230-8.
- Darbandi, M., Darbandi, S., Agarwal, A., Sengupta, P., Durairajanayagam, D., Henkel, R. & Sadeghi, M.R. (2018). Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reprod Biol Endocrinol.*, 16(1), 87.
- Das, U.B., Mallick, M., Debnath, J.M. & Ghosh, D. (2002). Protective effect of ascorbic acid on cyclophosphamide-induced testicular gametogenic and androgenic disorders in male rats. *Asian J. Androl.*, 4, 201-207.
- Dawson, E.B., Harris, W.A., Teter, M.C., & Powell, L.C. (1992). Effect of ascorbic acid supplementation on the sperm quality of smokers. *Fertil Steril.*, 58, 1034-9.
- Dorostghoal, M., Kazeminejad, S. R., Shahbazian, N., Pourmehdi, M., & Jabbari, A. (2017). Oxidative stress status and sperm DNA fragmentation in fertile and infertile men. *Andrologia*, 49(10), e12762.
- Durairajanayagam, D. (2018). Lifestyle causes of male infertility. *Arab Journal of Urology*, 16(1), 10-20.
- ElSheikh, M.G., Hosny, M.B., Elshenoufy, A., Elghamrawi, H., Fayad, S., & Abdelrahman, S. (2015). Combination of vitamin E and clomiphene citrate in treating patients with idiopathic oligoasthenozoospermia: a prospective, randomized trial. *Andrology*, 3, 864-7.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Biochem.*, 37, 277-285.
- Eskenazi, B., Kidd, S.A., Marks, A.R., Slotter, E., Block, G. & Wyrobek, A.J. (2005). Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Hum Reprod.*, 20, 1006-1012.

Eskiocak, S., Gozen, A.S., Yapar, S.B., Tavas, F., Kilic, A.S. & Eskiocak, M. (2005). Glutathione and free sulphhydryl content of seminal plasma in healthy medical students during and after exam stress. *Hum Reprod.*, 20, 2595-2600.

EAU (2019). *Guidelines on male infertility* [Online]. Available from: <https://d56bochluxqnz.cloudfront.net/media/EAU-Guidelines-on-Male-Infertility-2019.pdf>

Ευγενή, Ε.Α. & Λυμπερόπουλος, Γ.Ι. (2010). Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες στην ποιότητα του ανδρικού σπέρματος: Παθοφυσιολογία – Διαγνωστική αξιολόγηση. *ANHP*, 12(3), Πολυθεματικό τεύχος, 45-62. Ελληνική Ανδρολογική Εταιρεία: Αθήνα.

Filho, D.W., Torres, M.A., Bordin, A.L., Crezcynski-Pasa, T.B. & Boveris, A. (2004). Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med.*, 25, 199-210.

Galatioto, G., Gravina, G.L., Angelozzi, G., Sacchetti, A., Innominato, P.F., Pace, G., et al. (2008). May antioxidant therapy improve sperm parameters of men with persistent oligospermia after retrograde embolization for varicocele? *World J Urol.*, 26, 97-102.

Garolla, A., Petre, G., Francini-Pesenti, F., De Toni, L., Vitagliano, A., Di Nisio, A. and Foresta, C. (2020). Dietary supplements for male infertility: A critical evaluation of their composition. *Nutrients*, 12(5), 1472-1487.

Garrido, N., Meseguer, M., Alvarez, J., Simon, C., Pellicer, A., Remohi, J. (2004). Relationship among standard semen parameters, glutathione peroxidase/glutathione reductase activity, and mRNA expression and reduced glutathione content in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile men. *Fertil Steril.*, b82 (Suppl 3), 1059-1066.

Geva, E., Bartoov, B., Zabludovsky, N., Lessing, J. B., Lerner-Geva, L., & Amit, A. (1996). The effect of antioxidant treatment on human spermatozoa and fertilization rate in an in vitro fertilization program. *Fertility and Sterility*, 66(3), 430-434.

Gil-Villa, A.M., Cardona-Maya, W., Agarwal, A., Sharma, R., & Cadavid, A. (2009). Role of male factor in early recurrent embryo loss: Do antioxidants have any effect? *Fertility and Sterility*, 92(2), 565-571.

Greco, E., Iacobelli, M., Rienzi, L., Ubaldi, F., Ferrero, S., & Tesarik, J. (2005). Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. *Journal of Andrology*, 26(3), 349-353.

Gual-Frau, J., Abad, C., Amengual, M. J., Hannaoui, N., Checa, M. A., Ribas-Maynou, J., Lozano, I., Nikolaou, A., Benet, J., García-Peiró, A., & Prats, J. (2015). Oral antioxidant treatment partly improves integrity of human sperm DNA in infertile grade I varicocele patients. *Human fertility (Cambridge, England)*, 18(3), 225–229.

Gupta, N.P., & Kumar, R. (2002). Lycopene therapy in idiopathic male infertility – a preliminary report. *International Urology and Nephrology*, 34(3), 369-372.

Gutteridge, J.M.C., & Halliwell, B. (1990). The measurement and mechanisms of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci.*, 15, pp.129-135.

- Hadwa, M.H., Almashhedy, L.A., & Alsalman, A.R. (2015). Oral zinc supplementation restores superoxide radical scavengers to normal levels in spermatozoa of Iraqi asthenospermic patients. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 85, 165-73.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence. *Lancet*, 344, pp.721-724.
- Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 11, 298-300.
- Hawkes, W.C., Alkan, Z., & Wong, K. (2009). Selenium supplementation does not affect testicular selenium status or semen quality in North American men. *J. Androl.*, 30, 525-33.
- Henkel, R., & Schill, W.B. (1998). Sperm separation in patients with urogenital infections. *Andrologia*, 30, Suppl. 1, pp.91-7.
- Henkel, R., Sandhu, I.S., & Agarwal, A. (2019). The excessive use of antioxidant therapy: a possible cause of male infertility? *Andrologia*, 51, e13162.
- Homa, S.T., Vassiliou, A.M., Stone, J., Killeen, A.P., Dawkins, A., Xie, J., Gould, F. & Ramsay, J.W.A. (2019). A comparison between two assays for measuring seminal oxidative stress and their relationship with sperm DNA fragmentation and semen parameters. *Genes (Basel)*, 10(3), e236.
- Hsieh, Y.Y., Chang, C.C., & Lin, C.S. (2006). Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *Int. J. Biol. Sci.*, 2, 23-29.
- Huff, D.S., Hadziselimovic, F., Snyder, H.M. 3<sup>rd</sup>, Blyth, B., Duckett, J.W. (1991). Early postnatal testicular maldevelopment in cryptorchidism. *J Urol.*, 146, 624-626.
- Κάβουρας, Α. (2009). Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες στην υπογονιμότητα σε ασθενείς με κίρσοκήλη. Διπλωματική εργασία στις Βασικές Ιατρικές Επιστήμες, στο Πανεπιστήμιο Πατρών.
- Kao, S.H., Chao, H.T., Chen, H.W., Hwang, T.I., Liao, T.L. & Wei, Y.H. (2008). Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility. *Fertil Steril.*, 89, 1183-90.
- Καραγιάννης, Θ. (2012). *Συστηματικές ανασκοπήσεις–Μετα-αναλύσεις: Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Α.Π.Θ.* Μάθημα: Ιατρική βασισμένη στην τεκμηρίωση. Ανακτήθηκε από: [http://promesi.med.auth.gr/mathimata/8\\_karagianis\\_therapeia2\\_16\\_05\\_2012.pdf](http://promesi.med.auth.gr/mathimata/8_karagianis_therapeia2_16_05_2012.pdf)
- Keskes-Ammar, L., Feki-Chakroun, N., Rebai, T., Sahnoun, Z., Ghozzi, H., Hammami, S., et al. (2003). Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Arch Androl.*, 49, 83-94.
- Kessopoulou, E., Powers, H.J., Sharma, K.K., Pearson, M.J., Russell, I.D., Cooke, I.D., & Barratt, C.L. (1995). A double-blind randomized placebo crossover controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil. Steril.*, 64, 825-31.
- Khosrowbeygi, A., & Zarghami, N. (2007). Levels of oxidative stress biomarkers in seminal plasma and their relationship with seminal parameters. *BMC Clin. Pathol.*, 7, 6.

- Koch, O.R., Pani, G., Borrello, S., Colavitti, R., Cravero, A., Farrè, S., & Galeotti, T. (2004). Oxidative stress and antioxidant defences in ethanol-induced cell injury. *Mol. Aspects Med.*, 25(1-2), 191-8.
- Kodama, H., Yamaguchi, R., Fukuda, J., Kasai, H., & Tanaka, T. (1997). Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil. Steril.*, 68(3), 519-24.
- Kuchakalla, M., Soni, Y., Patel, P., Parekh, N., & Ramasamy, R. (2020). A systematic review and evidence-based analysis of ingredients in popular male fertility supplements. *Urology*, 136, 133-141.
- Kühnert, B., & Nieschlag, E. (2004). Reproductive functions of the ageing male. *Hum. Reprod. Update*, 10(4), 327-39.
- Kumar, N., & Singh, A.K. (2018). Reactive Oxygen Species in seminal plasma as a cause of male infertility. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.*, 47, pp.565-72.
- Lafuente, R., Gonzalez-Comadra, M., Sola, I., Lopez, G., Brassesco, R., Carreras, R., et al. (2013). Coenzyme Q10 and male infertility: a metaanalysis. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 30, 1147-56.
- Lara, L.V., Pasqualotto, E. B., Borges, E., Braga, D., Salvador, M., & Pasqualotto, F.F. (2008). Flavonoids may increase semen quality in infertile men with oligospermia? *Fertility and Sterility*, 90, S190-S191.
- Lelli, J.L.Jr., Becks, L.L., Dabrowska, M.I., & Hinshaw, D.B. (1998). ATP converts necrosis to apoptosis in oxidant-injured endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.*, 25(6), 694-702.
- Lenzi, A., Sgro, P., Salacone, P., Paoli, D., Gilio, B., Lombardo, F., et al. (2004). A placebo controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. *Fertil Steril.*, 81, 1578-84.
- Lewin, A., & Lavon, H. (1997). The effect of coenzyme Q10 on sperm motility and function. *Molecular Aspects of Medicine*, 18(Suppl), S213-S219.
- Lewis, S.E., Aitken, R., Conner, S.J., Iulius, G.D., Evenson, D.P., Henkel, R., Giwercman, A., & Gharagozloo, P. (2013). The impact of sperm DNA damage in assisted conception and beyond: recent advances in diagnosis and treatment. *Reproductive biomedicine online*, 27(4), 325-337.
- Li, K.-P., Yang, X.-S., and Wu, T. (2022) The effect of antioxidants on sperm quality parameters and pregnancy rates for idiopathic male infertility: A network meta-analysis of randomized controlled trials. *Front. Endocrinol.*, 13, e810242.
- Loft, S., Kold-Jensen, T., Hjollund, N.H., Giwercman, A., Gyllemborg, J., Ernst, E., Olsen, J., Scheike, T., Poulsen, H.E., & Bonde, J.P. (2003). Oxidative DNA damage in human sperm influences time to pregnancy. *Hum. Reprod.*, 18, 1265-1272.
- Lopes, S., Jurisicova, A., Sun, J.G., & Casper, R.F. (1998). Reactive oxygen species: potential cause for DNA fragmentation in human spermatozoa. *Hum. Reprod.*, 13(4), 896-900.
- Majzoub, A., Agarwal, A., & Esteves, S.C. (2017). Antioxidants for elevated sperm DNA fragmentation: A mini review. *Transl Androl Urol.*, 6, s649-s53.

- Majzoub, A. & Agarwal, A. (2018). Systematic review of antioxidant types and doses in male infertility: Benefits on semen parameters, advanced sperm function, assisted reproduction and live-birth rate. *Arab Journal of Urology*, 16(1), 113-124.
- Majzoub, A., Arafa, M., Mahdi, M., Agarwal, A., Al Said, S., Al-Emadi, I., El Ansari, W., Alattar, A., Al Rumaihi, K., & Elbardisi, H. (2018). Oxidation-reduction potential and sperm DNA fragmentation, and their associations with sperm morphological anomalies amongst fertile and infertile men. *Arab journal of urology*, 16(1), 87–95.
- Maneesh, M., Dutta, S., Chakrabarti, A. & Vasudevan, D.M. (2006). Alcohol abuse-duration dependent decrease in plasma testosterone and antioxidants in males. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 50, 291-296.
- Manicardi, G.C., Bianchi, P.G., Pantano, S., Azzoni, P., Bizzaro, D., Bianchi, U., & Sakkas, D. (1995). Presence of endogenous nicks in DNA of ejaculated human spermatozoa and its relationship to chromomycin A3 accessibility. *Biol. Reprod.*, 52(4), 864-7.
- Manzo-Avalos, S., & Saavedra-Molina, A. (2010). Cellular and mitochondrial effects of alcohol consumption. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 7(12), 4281-304.
- Marwan, A., Martinez, M., & Parekh, N. (2020). Are antioxidants a viable treatment option for male infertility? Invited Review, *Andrologia*, 00, 1-12.
- McCord, J.M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244, 6049-6055.
- Ménézo, Y.J., Hazout, A., Panteix, G., Robert, F., Rollet, J., Cohen-Bacrie, P., Chapuis, F., Clément, P., & Benkhalifa, M. (2007). Antioxidants to reduce sperm DNA fragmentation: an unexpected adverse effect. *Reproductive biomedicine online*, 14(4), 418–421.
- Miles, M., & Huberman, M. (1994). *Qualitative data analysis*. N. York: Sage Publications.
- Moilanen, J., & Hovatta, O. (1995). Excretion of alpha-tocopherol into human seminal plasma after oral administration. *Andrologia*, 27, 133-6.
- Moreno, J.M., Ruiz, M.C., Ruiz, N., Gomez, I., Vargas, F., Asensio, C. & Osuna, A. (2005). Modulation factors of oxidative status in stable renal transplantation. *Transplant Proc.*, 37, 1428-1430.
- Moslemi, M.K., & Tavanbakhsh, S. (2011). Selenium-vitamin E supplementation in infertile men: effects on semen parameters and pregnancy rate. *Int. J. Gen. Med.*, 4, 99-104.
- Mostafa, T., Tawadrous, G., Roaia, M.M., Amer, M.K., Kader, R.A. & Aziz, A. (2006). Effect of smoking on seminal plasma ascorbic acid in infertile and fertile males. *Andrologia*, 38, 221-224.
- Moustafa, M.H., Sharma, R.K., Thornton, J., Mascha, E., Abdel-Hafez, M.A., Thomas, A.J.Jr., & Agarwal, A. (2004). Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum. Reprod.*, 19(1), 129-38.
- Nadjarzadeh, A., Shidfar, F., Amirjannati, N., Vafa, M.R., Motevalian, M.R., Gohari, M.R., et al. (2014). Effect of Coenzyme Q10 supplementation on antioxidant enzymes activity and oxidative stress of seminal plasma: a double-blind randomised clinical trial. *Andrologia*, 46, 177-83.

- Naha, N. & Chowdhury, A.R. (2006). Inorganic lead exposure in battery and paint factory: effect on human sperm structure and functional activity. *J UOEH.*, 28, 157-171.
- Noh, S., Go, A., Kim, D.B., Park, M., Jeon, H.W., & Kim, B. (2020). Role of antioxidant natural products in management of infertility: A review of their medicinal potential. *Antioxid (Basel)*, 9, pp.957.
- Ochsendorf, F.R. (1999). Infections in the male genital tract and reactive oxygen species. *Hum. Reprod. Update*, 5(5), 399-420.
- Omar, M.I., Pal, R.P., Kelly, B.D., Bruins, H.M., Yuan, Y., Diemer, T., et al. (2019). Benefits of empiric nutritional and medical therapy for semen parameters and pregnancy and live birth rates in couples with idiopathic infertility: A systematic review and meta-analysis. *Eur Urol.*, 75, pp.615-25.
- Omu, A.E., al-Othman, S., Mohamad, A.S., al-Kaluwby, N.M., Fernandes, S. (1998). Antibiotic therapy for seminal infection. Effect on antioxidant activity and T-helper cytokines. *J. Reprod. Med.*, 43(10), 857-64.
- Omu, A.E., Al-Azemi, M.K., Kehinde, E.O., Anim, J.T., Oriowo, M.A., & Mathew, T.C. (2008). Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy. *Med Princ. Pract.*, 17, 108-16.
- Ozmen, B., Koutlaki, N., Youssry, M., Diedrich, K., & Al-Hasani, S. (2007). DNA damage of human spermatozoa in assisted reproduction: origins, diagnosis, impacts and safety. *Reprod Biomed. Online*, 14, 384-395.
- Παπαγαλάνης, Ν. (2014). Οξειδωτικό στρες και ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα: Ι. Δραστικές ρίζες οξυγόνου. *Ελληνική Νεφρολογία*, 26(3), 151-194.
- Peivandi, S., Karimpour, A., & Moslemizadeh, N. (2010). Effects of L-carnitine on infertile men's spermogram; a randomized clinical trial. *J. Reprod. Infertil.*, 10, 245-51.
- Πολύδωρος, Σ. (2022). Οξειδωτικό στρες, ποιότητα σπέρματος και ανδρική υπογονιμότητα. Διπλωματική εργασία στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
- Potts, R.J., Notarianni, L.J., & Jefferies, T.M. (2000). Seminal plasma reduces exogenous oxidative damage to human sperm, determined by the measurement of DNA strand breaks and lipid peroxidation. *Mutat. Res.*, 447(2), 249-56.
- Reddy, M.M., Mahipal, S.V., Subhashini, J., Reddy, M.C., Roy, K.R., Reddy, G.V., Reddy, P.R. & Reddanna, P. (2006). Bacterial lipopolysaccharide-induced oxidative stress in the impairment of steroidogenesis and spermatogenesis in rats. *Reprod Toxicol.*, 22, 493-500.
- Resch, U., Hesel, G., Tatzber, F., & Sinzinger, H. (2002). Antioxidant status in thyroid dysfunction. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 40(11), 1132-4.
- Rolf, C., Cooper, T.G., Yeung, C.H., & Nieschlag, E. (1999). Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin C and vitamin E: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Hum. Reprod.*, 14, 1028-33.
- Rompala, G.R., & Homanics, G.E. (2019). Intergenerational effects of alcohol: A review of paternal preconception ethanol exposure studies and epigenetic mechanisms in the male germline. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 43(6), 1032-1045.

Rowe, P., Comhaire, F.H., & Hargreave, T. (1993). *WHO manual for the standardized investigation of the infertile couple*. Cambridge: Cambridge University Press.

Russo, A., Troncoso, N., Sanchez, F., Garbarino, J.A., & Vanella, A. (2006). Propolis protects human spermatozoa from DNA damage caused by Benzo[a]Pyrene and exogenous Reactive Oxygen Species. *Life Sci.*, 78, pp.1401-6.

Safarinejad, M.R. (2009). Efficacy of coenzyme Q10 on semen parameters, sperm function and reproductive hormones in infertile men. *J. Urol.*, 182, 237-48.

Safarinejad, M.R., & Safarinejad, S. (2009). Efficacy of selenium and/or N-acetyl cysteine for improving semen parameters in infertile men: A double-blind, placebo controlled, randomized study. *Journal of Urology*, 181(2), 741-751.

Safarinejad, M.R., Safarinejad, S., Shafiei, N., & Safarinejad, S. (2012). Effects of the reduced form of coenzyme Q10 (ubiquinol) on semen parameters in men with idiopathic infertility: A double-blind, placebo controlled, randomized study. *Journal of Urology*, 188(2), 526-531.

Said, T.M., Agarwal, A., Sharma, R.K., Thomas, A.J. Jr. & Sikka, S.C. (2005). Impact of sperm morphology on DNA damage caused by oxidative stress induced by betanicotinamide adenine dinucleotide phosphate. *Fertil. Steril.*, 83, 95-103.

Sakkas, D., Mariethoz, E., Manicardi, G., Bizzaro, D., Bianchi, P.G., & Bianchi, U. (1999). Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa. *Rev. Reprod.*, 4(1), 31-7.

Sakkas, D., Moffatt, O., Manicardi, G.C., Mariethoz, E., Tarozzi, N., & Bizzaro, D. (2002). Nature of DNA damage in ejaculated human spermatozoa and the possible involvement of apoptosis. *Biol. Reprod.*, 66(4), 1061-7.

Saleh, R.A., Agarwal, A., Sharma, R.K., Nelson, D.R., & Thomas, A.J.Jr. (2002a). Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil. Steril.*, 78(3), 491-9.

Saleh, R.A., Agarwal, A., Sharma, R.K., Said, T.M., Sikka, S.C., & Thomas, A.J.Jr. (2003). Evaluation of nuclear DNA damage in spermatozoa from infertile men with varicocele. *Fertility and Sterility*, 80(6), 1431-1436.

Saleh, R.A., Agarwal, A., Nada, E.A., El-Tonsy, M. H., Sharma, R.K., Meyer, A., Nelson, D.R., & Thomas, A.J. (2003a). Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertility and sterility*, 79 Suppl 3, 1597–1605.

Sanocka-Maciejewska, D., Ciupińska, M., & Kurpisz, M. (2005). Bacterial infection and semen quality. *J Reprod Immunol.*, 67, pp.51-6.

Schuppe, H.C., Meinhardt, A., Allam, J.P., Bergmann, M., Weidner, W., Haidl, G., et al. (2008). Chronic orchitis: A neglected cause of male infertility? *Andrologia*, 40, pp.84-91.

Shang, X.J., Li, K., Ye, Z.Q., Chen, Y.G., Yu, X., & Huang, Y.F. (2004). Analysis of lipidperoxidative levels in seminal plasma of infertile men by high-performance liquid chromatography. *Arch. Androl.*, 50, 411-416.



- Sharma, R. & Agarwal, A. (1996). Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*, *48*(6), 835-50.
- Showell, M.G., Mackenzie-Proctor, R., Brown, J., Yazdani, A., Stankiewicz, M.T. & Hart, R.J. (2014). Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.*, *12*, CD007411.
- Shuttleworth, M. (2008). *Quantitative Research Design: Experiment Resources*. Available from: <https://explorable.com/quantitative-research-design>
- Sigman, M., Glass, S., Campagnone, J., & Pryor, J.L. (2006). Carnitine for the treatment of idiopathic asthenospermia: a randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. *Fertil. Steril.*, *85*, 1409-14.
- Sikka, S. (1996). Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci.*, *1*, E78-86.
- Silver, E.W., Eskenazi, B., Evenson, D.P., Block, G., Young, S. & Wyrobek, A.J. (2005). Effect of antioxidant intake on sperm chromatin stability in healthy nonsmoking men. *J. Androl.*, *26*, 550-556.
- Singh, N.P., Muller, C.H., & Berger, R.E. (2003). Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. *Fertil. Steril.*, *80*(6), 1420-30.
- Smith, G.R., Kaune, G.H., Parodi, Ch.D., Madariaga, A.M., Morales, D.I., Rios, S.R. & Castro, G.A. (2007). Extent of sperm DNA damage in spermatozoa from men examined for infertility. Relationship with oxidative stress. *Rev Med Chil.*, *135*, 279-286.
- Smits, R.M., Mackenzie-Proctor, R., Yazdani, A., Stankiewicz, M.T., Jordan, V., & Showell, M.G. (2019). Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst. Rev.*, *3*, CD007411.
- Steiner, A. Z., Hansen, K. R., Barnhart, K. T., Cedars, M. I., Legro, R. S., Diamond, M. P., Krawetz, S. A., Usadi, R., Baker, V. L., Coward, R. M., Huang, H., Wild, R., Masson, P., Smith, J. F., Santoro, N., Eisenberg, E., Zhang, H., & Reproductive Medicine Network (2020). The effect of antioxidants on male factor infertility: the Males, Antioxidants, and Infertility (MOXI) randomized clinical trial. *Fertility and sterility*, *113*(3), 552–560.
- Storz, G., Tartaglia, L.A., & Ames, B.N. (1990). Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation. *Science*, *248*, 189-194.
- Suleiman, S. A., Ali, M. E., Zaki, Z. M., Eel-Malik, E. M., & Nasr, M. A. (1996). Lipid peroxidation and human sperm motility: Protective role of vitamin E. *Journal of Andrology*, *17*(5), 530-537.
- Tavilani, H., Doosti, M., & Saeidi, H. (2005). Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters. *Clin. Chim. Acta.*, *356*, 199-203.
- Torres-Arce, E., Vizmanos, B., Babio, N., Márquez-Sandoval, F. & Salas-Huetos, A., 2021. Dietary antioxidants in the treatment of male infertility: Counteracting Oxidative Stress. *Biology*, *10*(3), 241-280.
- Tournaye, H., Krausz, C. & Oates, R. (2017). Novel concepts in the aetiology of male reproductive impairment. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, *5*(7), 544-553.
- Tremellen, K., Miari, G., Froiland, D., & Thompson, J. (2007). A 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*(3), 216-221.

- Tremellen, K. (2008). Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. *Human reproduction update*, 14(3), 243-258.
- Vezina, D., Mauffette, F., Roberts, K.D., & Bleau, G. (1996). Selenium-vitamin E supplementation in infertile men. Effects on semen parameters and micronutrient levels and distribution. *Biol. Trace Elem. Res.*, 53, 65-83.
- Vicari, E. (2000). Effectiveness and limits of antimicrobial treatment on seminal leukocyte concentration and related reactive oxygen species production in patients with male accessory gland infection. *Hum. Reprod.*, 15(12), 2536-44.
- Watson, P.F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci.*, 60-61, 481-492.
- Weir, C.P. & Robaire, B. (2007). Spermatozoa have decreased antioxidant enzymatic capacity and increased reactive oxygen species production during aging in the Brown Norway rat. *J. Androl.*, 28, 229-240.
- WHO (Π.Ο.Υ. – 2021). *Infertility* [Online]. Available from: [https://www.who.int/health-topics/infertility#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/infertility#tab=tab_1)
- Wong, W.Y., Merkus, H.M., Thomas, C.M., Menkveld, R., Zielhuis, R.P., Steegers, Theunissen, R.P. (2002). Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebocontrolled trial. *Fertil Steril.*, 77, 491-8.
- Wu, D., & Cederbaum, A.I. (2003). Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res. Health*, 27(4), 277-84.
- Φτίκα, Στ. (2020). *Η επίδραση του Οξειδωτικού Στρες στην ανδρική υπογονιμότητα*. Διπλωματική εργασία στο ΠΜΣ Αναπαραγωγική – Αναγεννητική Ιατρική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Χαραλαμπίδου, Σ. (2020). *Οξειδωτικό στρες και ανδρική υπογονιμότητα*. Διπλωματική εργασία στην Ανθρώπινη Αναπαραγωγή, στο Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης.
- Zandieh, Z., Vatannejad, A., Doosti, M., Zabihzadeh, S., Haddadi, M., Bajelan, L., Rashidi, B., & Amanpour, S. (2018). Comparing reactive oxygen species and DNA fragmentation in semen samples of unexplained infertile and healthy fertile men. *Irish journal of medical science*, 187(3), 657–662.