Ιδιοπαθής ολιγοασθενοσπερμία

Πως αναγνωρίζεται και πως αντιμετωπίζεται

Γ. Σ. ΠΑΡΑΝΥΧΙΑΝΑΚΗΣ
Χειρουργός Ουρολόγος, ΙΚΑ Ηρακλείου, Ηράκλειο, Κρήτη

Εισαγωγή

Το θέμα της υπογονιμότητας απασχολεί την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα αρκετές δεκαετίες και είναι ιδιαίτερα αισθητό στην ελληνική κοινωνία λόγω του υπαρκτού δημογραφικού προβλήματος, αλλά και για τις συνέπειες που προκαλούνται, τόσο σε κοινωνικο-οικονομικό όσο και σε επίπεδο ψυχολογικής επιβάρυνσης των ζευγαριών που αφορά.

Ως υπογονιμότητα ορίζεται η αδυναμία σύλληψης από ένα σεξουαλικά ενεργό ζευγάρι, απουσία αντισύλληψης μετά από προσπάθεια τουλάχιστον 1 έτους με ελεύθερη επαφή, περίοδο στην οποία το 90% των ζευγαριών είναι επιτυχή. Τα ποσοστά επιτυχίας κυμαίνονται από 20-25% ανά μήνα, 75% σε 6 μήνες και 90% σε 1 έτος (Spira, 1986). Το 15% περίπου των ζευγαριών της αναπαραγωγικής ηλικίας αντιμετωπίζουν πρόβλημα στην απόκτηση παιδιού. Σε αυτά τα ζευγάρια, στο 40-50% των περιπτώσεων το πρόβλημα εντοπίζεται στον άνδρα, ενώ σε ποσοστό 10% περίπου υπάρχει πρόβλημα γονιμότητας και στα δύο μέλη του ζευγαριού[61]. Ένα στα έξι ζευγάρια στην Ευρώπη παρουσιάζει διαταραχή της γονιμότητας. Επιπροσθέτως, το 25% των υπογόνιμων ζευγαριών παρουσιάζεται στον ειδικό με διαταραχή του σπέρματος, που είναι η πρώτη παρατήρηση σε περιπτώσεις ανδρικής υπογονιμότητας[61]. Η ψυχολογική, κοινωνική και οικονομική σημασία του προβλήματος είναι προφανής. Αξιοσημείωτο είναι ότι στο ένα τρίτο των περιπτώσεων ανδρικής υπογονιμότητας δεν ανευρίσκεται κάποια αιτία, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν υπάρχει. Εάν στα παραπάνω προστεθεί και το γεγονός της υπογεννητικότητας στη χώρα μας, προβάλλει επιτακτική η ανάγκη κατανόησης των αιτιών με σκοπό την αποτελεσματική διερεύνηση και επίλυση των προβλημάτων γονιμότητας.

Το σπερματοζωάριο

Το επιθήλιο της επιδιδυμίδας είναι ικανό να παράγει 123 εκατομμύρια σπερματοζωάρια σε καθημερινή βάση, με τη διαδικασία της σπερματογέννεσης, η οποία βρίσκεται υπό ανδρογονικό έλεγχο (τεστοστερόνη). Τα αρχέγονα κύτταρα (σπερματογόνια) διαιρούνται σε κύτταρα για να διατηρήσουν τον αριθμό τους σταθερό αλλά και σε κύτταρα που έχουν την ικανότητα διαφοροποίησης σε σπερματοκύτταρα. Η τελική μεταμόρφωση των σπερματίδων σε ώριμα σπερματοζωάρια περιλαμβάνει την απώλεια κυτταροπλάσματος, το σχηματισμό του ακροσώματος και του μαστιγίου και τη μετανάστευση των κυτταρικών οργανιδίων στην τελική τους θέση στο ώριμο κύτταρο (εικόνα 1). Πρόκειται για ένα εξαιρετικά εξειδικευμένο κύτταρο, περίπου 60μm σε μήκος, με ωοειδή κεφαλή 4,5x3μm, που αποτελείται από τον πυρήνα, με τη συμπυκνωμένη χρωματίνη και το ακρόσωμα, που περιέχει τα απαραίτητα ένζυμα για τη διάτρηση του ωαρίου. Το μέσο τμήμα αποτελείται από μιτοχόνδρια σε ελικοειδή διάταξη και τη χαρακτηριστική 9+2 διάταξη των μικροσωληνίσκων του σπερματικού μαστιγίου. Οι εξωτερικές ίνες του αξονήματος είναι πλούσιες σε δισουλφιδικούς δεσμούς, που επιτρέπουν την απαραίτητη δομική σταθερότητα για την ταχεία πρόσθια κίνηση. Η όλη διαδικασία της σπερματογέννεσης διαρκεί περίπου 64 ημέρες (Clermont, 1972) με συγκεκριμένα στάδια που αντιστοιχούν στις μορφολογικές μετατροπές που υφίσταται το σπερματοκύτταρο. Βασικά στάδια που συνεισφέρουν στην ωρίμανση του σπερματοζωαρίου και στη βελτίωση της κινητικότητάς του λαμβάνουν χώρα στην επιδιδυμίδα (Moore, Bedford, 1979).

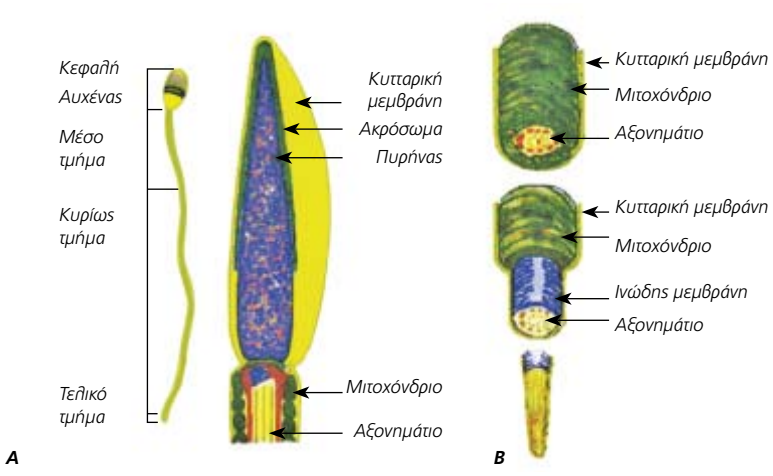
Η κυτταρική μεμβράνη φορτίζεται αρνητικά κατά το πέρασμα από την επιδιδυμίδα (Bedford, 1973), ενώ ομάδες σουλφυδριλίων της μεμβράνης της κεφαλής, αλλά και του μαστιγίου, συμμετέχουν σε οξειδωτικές αντιδράσεις, που πιθανόν να συμβάλλουν στη δομική ακεραιότητα που απαιτείται για επιτυχή κινητικότητα και διάτρηση των μεμβρανών του ωαρίου.

Το σπερματικό υγρό

Η σύσταση του σπέρματος καθορίζεται από την ανάμιξη του εκκρίματος της επιδιδυμίδας, που περιέχει και τα σπερματοζωάρια, και των εκκρίσεων των επικουρικών γεννητικών αδένων. Το σπερματικό υγρό παράγεται από τα σπερματικά σωληνάρια, τις σπερματοδόχους κύστεις, τον προστάτη και τους βολβο-ουρηθρικούς αδένες. Παρουσιάζει μία ψευδο-πλαστική συμπεριφορά παρά τις ιδιότητες ενός Νευτώνειου συστήματος υγρών[55]. Οι Mendeluk και συν. έδειξαν ότι το φαινομενικό ιξώδες μειώνεται επί αύξησης των εναλλαγών της τάσεως του σπερματικού υγρού με φαρμακολογικά μέσα (EDTA, τρυψίνη, αμυλάση). Αυτή η συμπεριφορά υποδεικνύει την ύπαρξη συμπλοκών μορίων επί του μέσου. Αποτελείται, μεταξύ άλλων, από περισσότερες από 30 πρωτεΐνες που περιλαμβάνουν ηπκτικά και υγροποιητικά στοιχεία[20]. Περιέχει κιτρικό οξύ, φρουκτόζη, πολυαμίνες, προσταγλανδίνες, χοληστερόλη, φωσφορυλχολίνη και φωσφολιπίδια. Ένζυμα όπως το PSA, οι καλλικρεΐνες 2 και L-1 και ενεργοποιητές του πλασμινογόνου συμμετέχουν ενεργά στις φάσεις πήξης και υγροποίησης της εκσπερμάτισης. Σύμφωνα με τους Mann και συν. (1981)[50] επικρατεί μια διπλή φάση υγροποίησης. Κατά τη δεύτερη φάση, εμπλέκεται το PSA, μια σερινοπρωτεάση με δομικές ιδιότητες όμοιες με της καλλικρεΐνης και λειτουργικές με αυτές της χυμοθρυψίνης, που προκαλεί πρωτεολυτική αποδόμηση δύο κύριων πρωτεϊνών του σπερματικού υγρού, των σεμενογελλίνης 1 και 2 (σπερματικές λήκυθοι) καθώς και της φιμπρονεκτίνης που είναι συνδεδεμένη με αυτές[17,45]. Περιέχει επίσης συστήματα αποδόμησης ελευθέρων ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS), όπως είναι ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), η καταλάση και δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), καθώς και αντιοξειδωτικά όπως ασκορβικό, ουρικό, αλβουμίνη, γλουταθειόνη και ταυρίνη. Το σπερματοζωάριο κατά την έξοδο από την επιδιδυμίδα περιέχει όλα τα απαραίτητα στοιχεία για τη δομική του σταθερότητα, τα οποία όμως τροποποιούνται από τα συστατικά του σπερματικού υγρού, προερχόμενα από την επιδιδυμίδα και τους επικουρικούς γεννητικούς αδένες κατά την εκσπερμάτωση[20]. Η διαδικασία αυτή απαιτεί την αρτιότητα του γονιδιώματος, των μιτοχονδρίων, του συστήματος μικροσωληνίσκων του ουραίου τμήματος, του ακροσώματος και των περιεχομένων σε αυτό ενζύμων και της κυτταρικής μεμβράνης[20]. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) ανανέωσε το 1999 τις φυσιολογικές παραμέτρους αξιολόγησης του σπερματικού υγρού (πίνακας 1).

Αίτια ανδρικής υπογονιμότητας

Η υπογονιμότητα στον άνδρα αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο. Η αναγνώριση του ανδρικού παράγοντα σε ένα ζευγάρι με προβλήματα τεκνοποίησης καθυστερεί, καθώς, σχεδόν παραδοσιακά, η γυναίκα υπόκειται συνήθως πρώτη σε πληθώρα εργαστηριακών και άλλων εξετάσεων. Ο άνδρας συχνά αντιλαμβάνεται εσφαλμένα την υπογονιμότητα ως αδυναμία στύσης ή εκσπερμάτισης και έτσι καθυστερούν στην αναζήτηση ιατρικής συμβουλής.



Εικόνα 1. *Το ώριμο σπερματοζωάριο σε* ***(A)*** *επιμήκη και* ***(B)*** *εγκάρσια διατομή.*

Πίνακας 1. Ανάλυση των σημαντικοτερων παραμετρων του σπερματικου υγρου (WHO 1999)

• Όγκος (ml)	≥2
• pH	7,2-8,0
• Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων (εκ./ml)	≥20
• Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων (εκ./εκσπερμάτιση)	≥40
• Μορφολογία (% φυσιολογικά)	≥30
• Ζωτικότητα (% ζώντα)	≥75
• Κινητικότητα α τάξης	≥25
• Κινητικότητα α+β τάξης	≥50

Πίνακας 2. Κατηγοριε αιτιων υπογονιμοτητα με βαση τη σπερματικη αναλυση

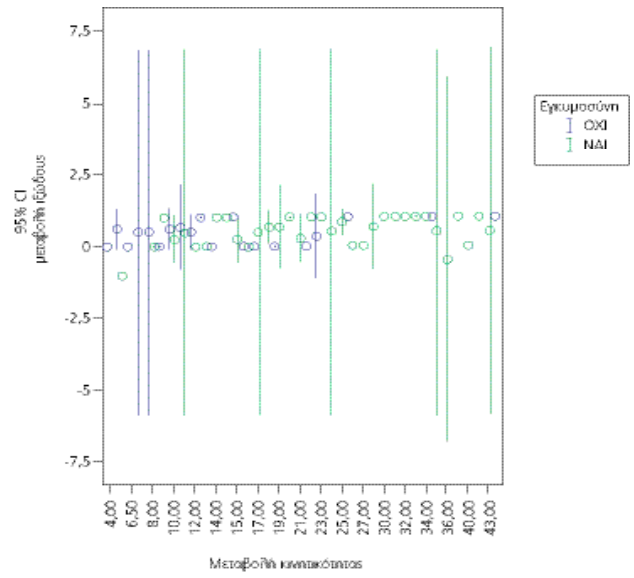
Χαμηλός όγκος σπέρματος	Αζωοσπερμία	Ολίγο-ασθενοσπερμία	Φυσιολογικές παράμετροι χωρίς γονιμότητα	Ασθενοσπερμία
Φάρμακα	Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός	Κιρσοκήλη	Γυναικολογική παθολογία	Δομικές διαταραχές του σπερματοζωαρίου
Απόφραξη του εκσπερματιστικού πόρου(ων)	Χρωμοσωμικές ανωμαλίες	Κρυψορχία	Προβλήματα συνουσίας	Παρατεταμένη αποχή
Σακχαρώδης διαβήτης	Χρωμόσωμα Υ	Ιδιοπαθής	Αντισπερματικά αντισώματα	Ιδιοπαθής
Οπισθοπεριτοναϊκή ή χειρουργική επέμβαση	Κιρσοκήλη	Ενδοκρινοπάθεια	Διαταραχή του ακροσώματος	Λοίμωξη ουροποιογεννητικού
Κάκωση νωτιαίου μυελού	Συστροφή	Τοξίνες		Κιρσοκήλη
Ψυχολογικοί παράγοντες	Ορχίτιδα	Φάρμακα		Αντισπερματικά αντισώματα
Ελλιπής συλλογή δείγματος	Ιδιοπαθής	Ζεστό περιβάλλον		
Ιδιοπαθής	Απόφραξη του σπερματικού πόρου	Λοίμωξη		

Πινακα 3. Τα κριτηρια με βαση τα οποια εγινε η διαλογη των ασθενων

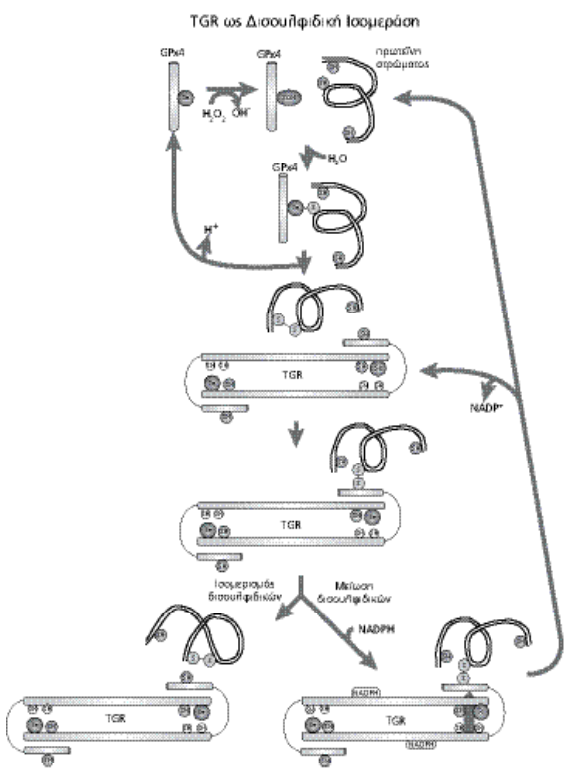
1. ΗΛΙΚΙΑ 18-52
2. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΣ
3. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ (Φυσική εξέταση)
4. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ (Φυσική εξέταση, Υπερηχογράφημα)
5. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΤΥΠΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
6. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ (Γενική, Βιοχημικές ήπατος, Λιπιδαιμικό προφίλ)
7. ΟΡΜΟΝΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ (FSH, LH, DHT, DHEAS, PROLACTIN)
8. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΠΕΡΜΑΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ (συμβατά με τον ορισμό της ιδιοπαθούς ολιγοασθενοσπερμίας)

Όγκος (ml)	≥2
pH	7,2-8,0
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων (εκ./ml)	≤20
Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων (εκ./εκσπερμάτιση)	≤40
Μορφολογία (% φυσιολογικά)	≤30
Ζωτικότητα (% ζώντα)	≤75
Κινητικότητα α τάξης	≤25
Κινητικότητα α+β τάξης	≤50

9. ΑΠΟΥΣΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ / ΟΥΡΟΠΟΙΟΓΕΝΝΗΤΙΚΗΣ ΟΞΕΙΑΣ / ΧΡΟΝΙΑΣ ΝΟΣΟΥ
10. ΣΥΝΤΡΟΦΟΣ ΙΚΑΝΗ ΓΙΑ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ
11. ΑΔΥΝΑΜΙΑ ΣΥΛΛΗΨΗΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ 1 ΕΤΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΕΠΑΦΗΣ



Εικόνα 2. *Ομαδικό ραβδόγραμμα σφάλματος για τη σχέση μεταξύ της απόλυτης συχνότητας μεταβολής του ιξώδους και της απόλυτης συχνότητας μεταβολής της κινητικότητας.*



Εικόνα 3. *Θεωρητικό μοντέλο δημιουργίας δισουλφιδικών δεσμών από TRs M.*

Η προσέγγιση των παραγόντων που συμβάλλουν στη μειωμένη γονιμοποιητική δυναμική του άνδρα μπορεί να γίνει με βάση τις παραμέτρους του σπέρματος. Περαιτέρω κατηγοριοποίηση απαιτεί τη χρήση πιο εξειδικευμένων εξετάσεων που προκύπτουν κατόπιν της αρχικής αξιολόγησης (πίνακας 2).

Ιδιοπαθής ολιγοασθενοσπερμία

Η ιδιοπαθής ολιγοασθενοσπερμία ορίζεται ως συνολικός αριθμός σπερματοζωαρίων <20 εκ./ml σπέρματος, σε συνδυασμό με τάξεως α κινητικότητα των σπερματοζωαρίων <25% μετά 60min από την εκσπερμάτιση και πρόσθια κίνηση των σπερματοζωαρίων τάξεως β<50% μετά 60min, με ή χωρίς μορφολογικές αλλοιώσεις[20], χωρίς να ανευρίσκεται συγκεκριμένη αιτία. Είναι ενδιαφέρον ότι ο όρος περικλείει όλους τους πιθανούς ενδιάμεσους συνδυασμούς και, συνολικά, η ιδιοπαθής υπογονιμότητα ευθύνεται για το 60-75% των περιπτώσεων. Έχουν ενοχοποιηθεί, μεταξύ άλλων, το χρόνιο stress, ενδοκρινικές διαταραχές σχετιζόμενες με τις περιβαλλοντικές συνθήκες, γενετικές ανωμαλίες και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.

Ελάχιστες μελέτες έχουν ασχοληθεί με την αλληλεπίδραση των σπερματοζωαρίων και του σπερματικού υγρού και πιο συγκεκριμένα την επίδραση του αυξημένου ιξώδους στη γονιμοποιητική δυναμική[23,35,46]. Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότεροι ερευνητές στρέφονται προς την κατεύθυνση της διερεύνησης αυτής της σχέσης[45,46] και ιδιαίτερα με μια καινούρια έννοια, την ιξωδοπάθεια του σπερματικού υγρού[54]. Ο σχεδιασμός της μελέτης μας είχε ως σκοπό να διερευνηθεί η σχέση μεταξύ της ιδιοπαθούς ολιγοασθενοσπερμίας και του ιξώδους του σπερματικού υγρού σε ασθενείς με ιδιοπαθή υπογονιμότητα πριν την έναρξη και μετά το πέρας θεραπευτικής αγωγής με το συνδυασμό N-ακετυλοκυστεϊνης, καρνιτίνης και ταμοξιφένης. Ως καθοριστικός παράγοντας αποτελεσματικότητας ορίστηκε το ποσοστό εγκυμοσύνης μετά το πέρας της θεραπείας, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας (EAU).

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα κριτήρια διαλογής των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη. Κατά τη χρονική περίοδο 1996-2004, 117 ασθενείς ηλικίας 22-46 ετών (μέσος όρος ηλικίας: 34,3) με ιδιοπαθή ολιγοασθενοσπερμία συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη μας. Ο χαρακτηρισμός των σπερματικών παραμέτρων πραγματοποιήθηκε με βάση τα κριτήρια του WHO (World Health Organisation, 1999)[66]. Οι παράμετροι που διερευνήθηκαν ήταν η ταχεία πρόσθια κίνηση (τάξεως α: κινητικότητα >25% μετά 60min από την εκσπερμάτιση) και η πρόσθια κίνηση των σπερματοζωαρίων (τάξεως β: >50% μετά 60min), ο συνολικός αριθμός και η μορφολογία των σπερματοζωαρίων και ο όγκος και το ιξώδες του σπερματικού υγρού. Το κοινό χαρακτηριστικό αυτής της ομάδας των ασθενών ήταν η υπογονιμότητα-ολιγοασθενοσπερμία, με ελαττωμένη ταχεία πρόσθια κίνηση των σπερματοζωαρίων. Επίσης, το 66,7% (78 ασθενείς) είχαν αυξημένο ιξώδες του σπερματικού υγρού. Από τη μελέτη μας εξαιρέθηκαν οι ασθενείς με χρωμοσωμικές ανωμαλίες και παθολογικά νοσήματα του ουροποιογεννητικού συστήματος. Οι σύντροφοι των ασθενών είχαν υποβληθεί σε έλεγχο και ήταν όλες υγιείς.

Η συλλογή και επεξεργασία των δειγμάτων του σπέρματος πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο του WHO (1999)[66]. Το υλικό εξετάστηκε χρησιμοποιώντας μικροσκοπική ανάλυση και με τη χρήση CASA (computer assisted semen analysis) πριν και μετά την αγωγή. Η θεραπευτική αγωγή περιλάμβανε αγωγή με N-acetylcysteine, 600mgr, bid, L-carnitine 1gr, bid και Tamoxifene 20mgr άπαξ ημερησίως, για χρονικό διάστημα 80 ημερών.

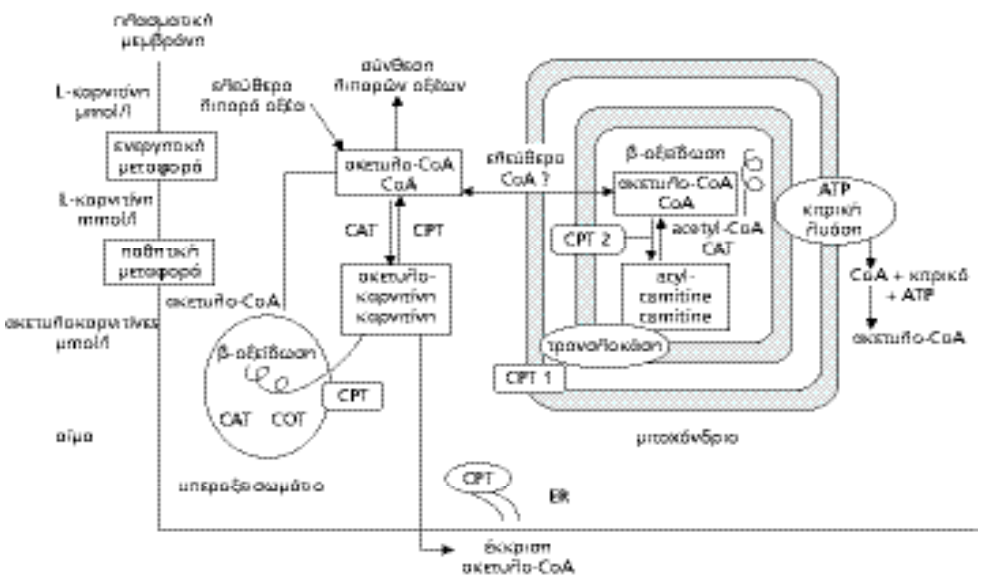
Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του λογισμικού SPSS 13.0 χρησιμοποιώντας γραμμική διμεταβλητή συσχέτιση και πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση (ANOVA). Ως όριο θετικής συσχέτισης ορίστηκε p<0,05.

Αποτελέσματα

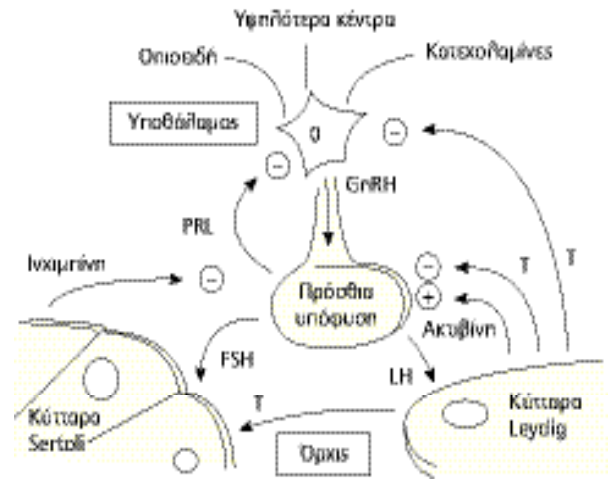
Σημειώθηκε σημαντική βελτίωση της ταχείας πρόσθιας κίνησης, εύρους 0%-40% προ της αγωγής (13%+/-8,45 SD) σε 31,55%+/-11,75 SD, 3 μήνες μετά το πέρας της αγωγής, εύρους 10%-90% (απόλυτη συχνότητα μεταβολής κινητικότητας 18,54%+/-9,76 SD). Ο συνολικός αριθμός σπερματοζωαρίων κυμαινόταν από 200 σπερματοζωάρια έως 290 εκ. (68,42+/-80,91 SD), ενώ 3 μήνες μετά το πέρας της αγωγής το εύρος αυξήθηκε σε 1,8-459,2 εκ. (85,96+/-80,23 SD). Το ιξώδες του σπερματικού υγρού βρέθηκε αρχικά αυξημένο σε 78 ασθενείς (66,7%) και εντός φυσιολογικών ορίων σε 39 (33,3%), ενώ κατόπιν της αγωγής 97 ασθενείς παρουσίασαν φυσιολογικές τιμές (82,9%) και 20 (17,1%) αυξημένες (απόλυτη συχνότητα μεταβολής ιξώδους 51,3%, n=60). Το ποσοστό σύλληψης μετά την αγωγή ήταν 60,7% (n=71). Στατιστικά σημαντική συσχέτιση διαπιστώθηκε μεταξύ ποσοστού εγκυμοσύνης και βελτίωσης της ταχείας πρόσθιας κίνησης (p<0,01), καθώς επίσης και με την απόλυτη συχνότητα μεταβολής της κινητικότητας (p<0,01) (πίνακας 1). Θετική συσχέτιση διαπιστώθηκε επίσης μεταξύ της απόλυτης συχνότητας μεταβολής του ιξώδους και της απόλυτης συχνότητας μεταβολής της κινητικότητας (p<0,05) (εικόνα 2). Δεν παρουσιάστηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες από τη συγχορήγηση των φαρμάκων.

Συζήτηση

Η ιξωδοπάθεια του σπερματικού υγρού έχει φανεί ότι σχετίζεται με την ανδρική υπογονιμότητα[24]. Το σπερματικό υγρό παρουσιάζει μία ψευδο-πλαστική συμπεριφορά παρά τις ιδιότητες ενός Νευτώνειου συστήματος υγρών, τόσο με φυσιολογικό όσο και με αυξημένο ιξώδες[55]. Οι Mendeluk και συν. έδειξαν ότι το φαινομενικό ιξώδες μειώνεται επί αύξησης των εναλλαγών της τάσεως του σπερματικού υγρού με φαρμακολογικά μέσα (EDTA, τρυψίνη, αμυλάση). Αυτή η συμπεριφορά υποδεικνύει την ύπαρξη συμπλοκών μορίων επί του μέσου. Σύμφωνα με τους Mann και συν. (1981)[50] επικρατεί μια διπλή φάση υγροποίησης. Κατά τη δεύτερη φάση, εμπλέκεται το PSA, μια σερινοπρωτεάση με δομικές ιδιότητες όμοιες με την καλλικρεΐνη και λειτουργικές με αυτές της χυμοθρυψίνης, που προκαλεί πρωτεολυτική αποδόμηση δύο κύριων πρωτεϊνών του σπερματικού υγρού, των σεμενογελλίνης 1 και 2 (σπερματικές λήκυθοι), καθώς και της φιμπρονεκτίνης που είναι συνδεδεμένη με αυτές[17,45]. Οι Mendeluk και συν. κατέληξαν ότι ένα πολύ εξειδικευμένο δίκτυο συμπλεγμάτων πρωτεϊνών και ολιγοσακχαριτών ευθύνεται για τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του σπερματικού υγρού, ιδιαίτερα σε ασθενείς με υψηλό ιξώδες, όπου εμπλέκονται και οι διαπρωτεϊνικοί δισουλφιδικοί δεσμοί που επηρεάζονται από την οξειδοαναγωγική ισορροπία του περιβάλλοντος[55,63]. Η όλη επίδραση φαίνεται να καταλήγει στην παρεμπόδιση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων, είτε με δομικές επί αυτών αλλαγές[40,54], είτε μέσω απώλειας ενέργειας[54]. Η σχεδίαση της προτεινόμενης αγωγής βασίζεται στη σχέση ενέργεια-κίνηση των σπερματοζωαρίων και την αλληλεπίδραση με το περιβάλλον του σπερματικού πλάσματος. Κατά την κίνηση προκαλείται τριβή, η οποία εξαρτάται από την ταχύτητα των επιφανειών ($T_{o\eta} = n \times F_k$, όπου $T_{o\eta}$: τριβή ολισθήσεως, n: συντελεστής τριβής, F_k: κάθετη ασκούμενη δύναμη). Θεωρητικά, κάθε παράγοντας που αυξάνει την τριβή έχει ως συνέπεια μεγαλύτερη δαπάνη ενέργειας από το κινούμενο σώμα. Η αύξηση του ιξώδους του σπερματικού πλάσματος, όπως θα φανεί στη συνέχεια, εξαρτάται από την επιρροή ελευθέρων ριζών οξυγόνου σε διαπρωτεϊνικούς δισουλφιδικούς δεσμούς, με συνέπεια αυξημένη τριβή ολισθήσεως, απώλεια ενέργειας και τη σπερματική δυσλειτουργία, σε επίπεδο τουλάχιστον μορφολογίας και κινητικότητας. Σε πρόσφατη μελέτη των Su, Novoselov, Sun και συν. (2005)[63] ερευνήθηκε η δραστηριότητα της οικογένειας των ρυθμιστικών ενζύμων της αναγωγάσης της θιορεδοξίνης του σπέρματος (Thioredoxin reductases, TRs) στην ωρίμανση των σπερματοζωαρίων. Αυτά τα ένζυμα καταλύουν διαπρωτεϊνικούς δισουλφιδικούς δεσμούς σε πρωτεΐνες υπεύθυνες για την επιμήκυνση των σπερματίδων και τη δομική ακεραιότητα του σπερματοζωαρίου, ιδίως δια της επίδρασης επί της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GpX4/



Εικόνα 4. *Ο μεταβολισμός της ελεύθερης L-καρνιτίνης, του CoA και η θέση των ακετυλοτρανφεράσων της καρνιτίνης στο κύτταρο[22].*



Εικόνα 5. *Ο υποφυσιακός - υποθαλαμικός άξονας των γεννητικών ορμονών[61].*

PHGPx), μιας σελενιοπρωτεΐνης. Ειδικότερα, στη δημιουργία των μιτοχονδριακών ελύτρων στο μέσο τμήμα του σπερματοζωαρίου συνεισφέρει η οξειδωτική διασύνδεση δομικών πρωτεϊνών μέσω της GpX4/PHGPx, η οποία ακολούθως αυτό-οξειδώνεται και εμπεριέχεται στο σύμπλοκο (εικόνα 3). Επιπλέον, φαίνεται ότι όλο το σπερματικό μαστίγιο σταθεροποιείται από δισουλφιδικούς δεσμούς, ενώ ένα παρόμοιο φαινόμενο συμπυκνώνει τη χρωματίνη του πυρήνα του σπερματοζωαρίου[63]. Ως τελικό αποτέλεσμα είναι η δημιουργία ποικίλων πυρηνικών και επικουρικών στοιχείων του σπερματοζωαρίου που διασυνδέονται με ενδο- και δια- μοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς και οι οποίοι διατηρούνται έως τη γονιμοποίηση. Να σημειωθεί ότι οι δεσμοί είναι αλληλένδετοι με μεμβρανικά οξειδοαναγωγικά συστήματα που με τη σειρά τους εξαρτώνται από αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων και μοριακό οξυγόνο[63]. Χαμηλά επίπεδα του συνενζύμου Q10 έχουν προταθεί ως παθογενετικός μηχανισμός στην ιδιοπαθή ολιγοασθενοσπερμία[16].

Ο ρόλος της ακετυλοκυστεΐνης στη θεραπευτική αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς ολιγοασθενοσπερμίας έχει ερευνηθεί in vitro[58]. Ο αερόβιος μεταβολισμός του ανθρωπίνου σπέρματος παράγει διάφορα ελεύθερα παράγωγα υπό μορφή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS), που πιθανώς είναι βλαβερές για τη σπερματική κυτταρική μεμβράνη, που περιέχει υψηλά ποσοστά πολυακόρεστων λιπαρών οξέων[6,7,38,62]. Με τη μέθοδο της υψηλής αναλυτικής χρωματογραφίας η φωσφατιδυλχολίνη βρέθηκε να είναι το επικρατέστερο λιπίδιο της σπερματικής μεμβράνης, η σφιγγομυελίνη επικρατεί στο σπερματικό υγρό, ενώ η φωσφατιδυλινοσιτόλη ανευρίσκεται σε μικρότερο ποσοστό[30]. Το σπερματικό υγρό περιέχει συστήματα ROS αποδόμησης, όπως Cu, Zn, καταλάση και δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)[13,14], καθώς και αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως ασκορβικό, ουρικό, αλβουμίνη, γλουταθειόνη και ταυρίνη[34,64].

Η έλλειψη διατήρησης της ισορροπίας μεταξύ των παραγόμενων και των αποδομούμενων ROS αποτελεί παράγοντα οξειδωτικού stress στο σπερματικό υγρό, με επιπτώσεις στην κυτταρική μεμβράνη και συνοδές λειτουργικές συνέπειες, όπως στην κινητικότητα[12]. Έχει επίσης διερευνηθεί η επίδραση των ROS και του ιξώδους στην ακεραιότητα του σπερματικού DNA[6,7,29]. Πρόσφατα, οι Siciliano, Tarantino, Longobardi και συν. (2001)[60] έδειξαν ότι η ολιγοασθενοσπερμία μπορεί να σχετίζεται με την έλλειψη αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Αρκετές μελέτες επίσης αναδεικνύουν αυξημένη δραστηριότητα σε ασθενείς με υπογονιμότητα[4,33,36]. Η κύρια πηγή ROS είναι τα λευκά πολυμορφοπύρηνα αιμοσφαίρια[10]. Η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) είναι ο επικρατών αποδομητικός μηχανισμός στα σπερματοζωάρια[14,40]. Ωστόσο, δεν υπάρχει σε υψηλά επίπεδα, καθότι προκαλεί την αυξημένη μετατροπή ελευθέρων ριζών σε υπεροξείδιο του υδρογόνου[11,68], με αποτέλεσμα να δικαιολογείται η σκέψη της υποκατάστασης[58]. Το αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα της N-ακετυλοκυστεΐνης παρουσιάζεται από την παρακάτω αντίδραση (1), όπου διαφαίνεται και μια ομοιότητα με το σύστημα της γλουταθειόνης (2).

(1) $RS\text{-}SR + R_1SH \rightarrow R_1S\text{-}SR + RSH$

(2) $2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O + 2H^+$

Να σημειωθεί ότι η πρώτη αντίδραση παρουσιάζει και το μηχανισμό με τον οποίο μειώνεται το ιξώδες των βρογχικών εκκρίσεων κατόπιν αλληλεπίδρασης σουλφυδρυλίου - δισουλφιδίων, που αποτελεί την κύρια εφαρμογή της ακετυλοκυστεΐνης (NAC)[59]. Σε μεγάλο αριθμό μελετών φαίνεται ότι η ακετυλοκυστεΐνη μειώνει τα επίπεδα των ROS in vitro[19,31] και επιδρά στη λειτουργία του σπέρματος, δηλαδή στην κινητικότητα, τη μορφολογία και την αντίδραση διάφανης ζώνης in vivo[39,42]. Ο ρόλος των ROS στην εξωσωματική γονιμοποίηση έχει πρόσφατα διερευνηθεί, συσχετίζοντας αρνητικά τα υψηλά επίπεδα με τη γονιμοποίηση κατόπιν ενδοκυτταροπλασματικής έκχυσης[69]. Βάσει της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, η μελέτη μας αποτελεί την πρώτη αναφορά που συσχετίζει άμεσα τη χρήση της N-ακετυλοκυστεΐνης σε ιδιοπαθή ολιγοασθενοσπερμία με κλινικό αποτέλεσμα, δηλαδή τη σύλληψη και τεκνοποίηση, που συνδέεται με αύξηση της ταχείας πρόσθιας κίνησης των σπερματοζωαρίων και ελάττωση του ιξώδους του σπερματικού υγρού.

Η L-καρνιτίνη είναι αναπόσπαστο μέρος της β-οξείδωσης των λιπαρών οξέων που λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια και παίζει σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση των σπερματοζωαρίων εντός των γεννητικών οδών του άρρενος. Παράγεται από τα ηπατοκύτταρα, απελευθερώνεται στο αίμα και λαμβάνεται από τα κύτταρα της επιδιδυμίδας, περνώντας στη συνέχεια στον αυλό με ενεργητική μεταφορά. Κατόπιν εστεροποιείται μερικώς σε ακετυλοκαρνιτίνη και προσλαμβάνεται από τα σπερματοζωάρια καθώς αυτά διέρχονται την επιδιδυμίδα[21,25,67] (εικόνα 4).

Η κύρια πηγή ενέργειας για την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων βασίζεται στη β-οξείδωση των λιπαρών οξέων που είναι εξαρτώμενη της καρνιτίνης. Σε μια πολυκεντρική μελέτη[22], φάνηκε ότι η καρνιτίνη επιφέρει σημαντικές βελτιώσεις σε πολλές σπερματικές παραμέτρους, όπως στη μορφολογία και στην ταχεία πρόσθια κίνηση των σπερματοζωαρίων. Αυτό το συμπέρασμα υποστήριξε την ιδέα ότι η καρνιτίνη μπορεί να λειτουργήσει ως «καύσιμο» για τα σπερματοζωάρια. Έκτοτε, πληθώρα εργαστηριακών και κλινικών μελετών ασχολήθηκαν με τη χρησιμότητα της καρνιτίνης, τόσο ως θεραπεία υποκατάστασης[43,44,48,49], όσο και σαν δείκτη σοβαρότητας της ολιγοασθενοσπερμίας[48,52]. Στο σύνολό τους αναδεικνύουν την καρνιτίνη ως καθοριστικό παράγοντα της διαμόρφωσης των απαραίτητων χαρακτηριστικών που κάνουν το σπερματοζωάριο ικανό για γονιμοποίηση[48]. Μελέτη των Jeulin & Lewin (1996)[37] ασχολείται διεξοδικά με το ρόλο της καρνιτίνης στην ωρίμανση των σπερματοζωαρίων. Πρόσφατες διπλά τυφλές τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές[43,44] παρουσιάζουν βελτίωση όλων των παραμέτρων και κυρίως της μορφολογίας και της συνολικής αλλά και επιμέρους εκτίμησης της κινητικότητας, ειδικά σε ασθενείς με ασθενοσπερμία.

Η προσθήκη ταμοξιφένης σε θεραπευτικά σχήματα που αποσκοπούν στη βελτίωση της γονιμοποιητικής ικανότητας ασθενών με ολιγοασθενοσπερμία έχει κερδίσει έδαφος τα τελευταία χρόνια. Σε μια αναδρομική συγκριτική μελέτη του Cochrane (2004) εξετάστηκε αριθμός κλινικών δοκιμών από το 1996 που χρησιμοποίησαν τα αντι-οιστρογόνα για τη βελτίωση του ποσοστού συλλήψεων[65]. Το συμπέρασμα κατέληξε σε αδυναμία στατιστικής συσχέτισης μεταξύ θεραπείας και αποτελέσματος, ωστόσο ανέδειξε ένα ευεργετικό αποτέλεσμα στο ενδοκρινολογικό προφίλ των ασθενών. Τα αντι-οιστρογόνα παρεμβαίνουν στη φυσιολογική παλίνδρομη ρύθμιση της παραγωγής ανδρογόνων σε υποφυσιακό και υποθαλαμικό επίπεδο, αυξάνοντας ενδογενώς την παραγόμενη GnRH και τις FSH, LH (εικόνα 5). Με τη σειρά τους, οι FSH και LH διεγείρουν τα κύτταρα Leydig των όρχεων, με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή τεστοστερόνης και την εκθετική αύξηση της σπερματογέννεσης. Είναι επίσης δυνατόν να υπάρχει και άμεση δράση στη σπερματογέννεση, κάτι που όμως δεν έχει αποδειχθεί.

Η ταμοξιφένη έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορα σχήματα, κυρίως με καλλικρεΐνη[49] και με τεστοστερόνη[1,2,3] με ιδιαίτερη επιτυχία (ποσοστά συλλήψεων 37% και 33,9% αντίστοιχα). Το ποσοστό σύλληψης στην παρούσα μελέτη είναι σχεδόν το διπλάσιο και φτάνει το 60,7%. Ωστόσο μέχρι σήμερα, σύμφωνα και με τη βιβλιογραφία, η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη αναφορά συνδυαστικής αγωγής στην ιδιοπαθή ολιγοασθενοσπερμία. Με την ταυτόχρονη χρήση των συγκεκριμένων σκευασμάτων πραγματοποιείται μια προσπάθεια να αντιμετωπιστεί σφαιρικά μια πολυπαραγοντική παθολογική οντότητα.

Συμπεράσματα

Η αλληλεπίδραση μεταξύ των σπερματοζωαρίων και του σπερματικού υγρού είναι πιθανό να επιφέρει σημαντικές αλλαγές στη μορφολογία και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Η ιδιοπαθής ολιγοασθενοσπερμία είναι πιθανό να συνδέεται τόσο με ιξωδοπάθεια του σπερματικού υγρού όσο και με δυσλειτουργία του μεταβολισμού των ενεργών ριζών οξυγόνου. Ο κεντρικός ρόλος των ROS αφορά τις δομικές μετατροπές επί του σπερματοζωαρίου, καθώς και την επιρροή τους στις ρεολογικές ιδιότητες του σπερματικού υγρού. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου προωθούν τη διαπρωτεϊνική σύξευξη μέσω δισουλφιδικών δεσμών, δημιουργώντας έτσι συνθήκες αυξημένου ιξώδους. Επί αυξημένου ιξώδους τα σπερματοζωάρια παρουσιάζουν τρομώδη κίνηση ώστε να σημειώνεται απώλεια ενέργειας δίκην θερμότητας δια τριβής ολισθήσεως, και ως εκ τούτου της γονιμοποιητικής τους δυναμικής. Το προτεινόμενο θεραπευτικό σχήμα είναι το μοναδικό που προσεγγίζει το ιξώδες του σπερματικού υγρού, την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και το απόθεμα ενέργειας που απαιτείται, αλλά και τη διαδικασία ωρίμανσής τους. Με τη βελτίωση του ιξώδους και των σπερματικών παραμέτρων φαίνεται να συσχετίζεται θετικά η αύξηση του ποσοστού εγκυμοσύνης, τόσο με την ελεύθερη επαφή όσο και κατά τη χρήση IVF. Είναι ασφαλές να συμπεράνουμε ότι η ιδιοπαθής ολιγοασθενοσπερμία αποτελεί μια σύνθετη οντότητα που στο μεγαλύτερο ποσοστό οφείλεται σε ρεολογικές ανωμαλίες του σπερματικού υγρού. Το μικροπεριβάλλον αυτό σχετίζεται άμεσα και επηρεάζει τη δυνατότητα των σπερματοζωαρίων για γονιμοποίηση. Με βάση τα αποτελέσματά μας παρουσιάζεται η ανάγκη περαιτέρω μελετών που να εστιάζονται στη χρήση συνδυασμένης θεραπείας για την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας σε ασθενείς με ιδιοπαθή ολιγοασθενοσπερμία.

Βιβλιογραφία

1. Adamopoulos DA, Pappa A, Billa E, Nicopoulou S, Koukkou E, Michopoulos J: Effectiveness of combined tamoxifen citrate and testosterone undecanoate treatment in men with idiopathic oligozoospermia. Fertil Steril. 2003 Oct; 80(4):914-920.
2. Adamopoulos DA, Nicopoulou S, Koukkou E, Pappa A, Billa E: Responsiveness to tamoxifen citrate and testosterone undecanoate is independent of the severity of idiopathic oligozoospermia. J Androl. 2005 Sep-Oct; 26(5):565-566.
3. Adamopoulos DA, Nicopoulou S, Kapolla N, Karametzanis M, Andreou E: The combination of testosterone undecanoate and tamoxifen citrate enhances the effects of each agent given independently on seminal parameters in men with idiopathic oligozoospermia. Fertil Steril 1997Apr; 67(4):756-62.
4. Agarwal A, Ikemoto I, Loughlin KR: Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens. J Urol, 1994; 152:107-110.
5. Agarwal A, Said TM: Carnitines and male fertility. Reprod Biomed Online 2004; 8:376-384.
6. Agarwal A, Saleh Ra: Utility of oxidative stress in the male infertility clinic. Zhonghua Nan Ke Xue 2002; 8:1-9.
7. Agarwal A, Saleh Ra: Role of antioxidants in male infertility: Rationale, significance and treatment. Urol Clin North Am 2002 Nov; 29(4):817-827.
8. Aitken RJ: The role of free oxygen radicalsand sperm function. Int J Androl, 1989; 12:95-97.
9. Aitken RJ, Clarkson JS, Fischel S: Generation of reactive oxygen species, lipid peroxida-

tion and human sperm function. Biol Reprod, 1989; 40:183-197.
10. Aitken RJ, West KM: Analysis of the relationship between reactive oxygen species production and leukocyte infiltration in fractions of human semen separated on Percoll gradients. Int J Androl 1990; 13:433-451.
11. Aitken RJ, Buckingham D, Harkiss D: Use of xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa. J Reprod Fertil 1993; 97:441-450.
12. Aitken RJ: Mechanism and prevention of lipid peroxidation in human spermatozoa. In: Human sperm acrosome reaction. P. Fenichel, J. Perinaud (Eds), Colloques INSERM, John Libbey Eurotext Ltd 1995; 236:339-353.
13. Aitken RJ, Buckingham D, Carreras A, Irvine DS:Superoxide dismutase in human sperm suspension: relationship with cellular composition, oxidative stress and sperm function. Free Radie Med, 1996; 21:495-504.
14. Alvarez JG, Touchstone JC, et al: Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and Superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectantagainst oxygen toxicity. J Androl 1987; 8:338-348.
15. Baker HW, Brindle J, Irvine DS, Aitken RJ: Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated PMNs. Fertil Steril. Feb 1996; 65(2):411-419.
16. Balercia G, Arnaldi G, Fazioli F, Serresi M, Alleva R et al: Coenzyme Q10 levels in idiopathic and varicocele associated asthenozoospermia. Andrologia 2002 Apr; 34(2):107-11.
17. Bjartell A, Malm J, Moller C et al: Distribution and tissue expression of semenogellin 1 and 2 in man as demonstrated by in situ hybridization and immunocytochemistry. J Androl 1996; 17:17-26.
18. Bruns KA, Casillas ER: The metabolism of acetylcarnitine and acetate by bovine and hamster epididymal spermatozoa. Biol Reprod 1989, 41:218-226.
19. Brzezinska-Slebodzinska E, Slebodzinski AB, Pietras B, Wieczorek G: Antioxidant effect of Vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. Biol Tr El Res 1995;2 47:69-74.
20. Campbell's Urology, 8th ed., Vol. 2, Saunders, ISBN 0-7216-9058-0.
21. Casillas ER: Accumulation of carnitine by bovine spermatozoa during maturation in the epididymis. J Biol Chem 1973; 248:8227-8232.
22. Costa M, D. Canale, M. Filicori, S. D' Iddio, A. Lenzi (Italian study group on carnitine and male infertility): L-carnitine in idiopathic asthenozoospermia: a multicenter study. Andrologia 1994; 26:155-159.
23. Dun PF, Picologlou BF: Investigation of the Theological properties of human semen. Biorheology. 1977; 14:277-292.
24. Elzanaty S, Malm J, Giwercman A: Visco-elasticity of seminal fluid in relation to the epididymal and accessory sex gland function and its impact on sperm motility. Int J Androl. 2004; 27(2):94-100.
25. Enomoto A, Wemoe M.F, Tsuchida H et al: Molecular identification of a novel carnitine transporter specific to human testis: Insights into the mechanism of carnitine recognition. J Biol Chem 2002; 277(39):36262-36271.
26. Erkilla K, Hirvonen V, Wuokko E, Parvinen M, Dunkel L: N-acetyl-L-cysteine inhibits apoptosis in human male germ cells in vitro. J Clin Edocrinol Metab., Jul 1998; 83(7):2523-31.
27. Garolla A, Maiorino M, Roverato A, Roveri A, Ursini F, Foresta C: Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermoc men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels. Fertil Steril 2005 Feb; 83(2):355-61.
28. Gonzales GF, Kortebani G, Mazolli AB: Hyperviscosity and hypofunction of the seminal vesicles. Arch Androl, Jan 1993; 30(1):63-68.
29. Gopalkrishnan K, Padwal V, Balaiah D: Does seminal fluid viscosity influence sperm chromatin integrity? Arch Androl 2000; 45:99-103.
30. Grizard G, Sion B, Bauchart D, Boucher D: Separation and quantification of cholesterol and major phospholipid classes in human semen by high-performance liquid chromatography and lighy scattering detection. J Chromatogr B Biomed Sei Appl. 2000 Mar 31; 740(l):101-7.
31. Griveau JF, Le Lannou DL: Effects of antioxidants on human sperm preparation techniques. Int JAndrol, 1994, 17:225-231.
32. Gurbuz B, Yalti S, Ficicioglu C, Zehir K: Relationship between semen quality and seminal plasma total carnitine in infertile men. J Obstet Gynaecol 2003; 23(6):653-6.
33. Henkel R, Ichikawa T, Sanchez R, Miska W, Ohmori H, Schul WB: Differentiation of ejaculates showing reactive oxygen species by spermatozoa or leukocytes. Andrologia, 1997.
34. Holmes RP, Goodman HO et al: The taurine and hypotaurine content of human semen. JAndrol 1992; 13:289-292.
35. Hubner HM, Heidi R, Krause W: Investigation of flow behavior (viscosity) from human seminal fluid with a rotational viscosimeter. Andrologia 1985; 17:592-597.
36. Iwasaki A, Gagnon C: Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. Fertil.Steril. 1992; 57:409-416.
37. Jeulin C, Lewin M, Lawrence: Role of free L-carnitine and acetyl-L-carnitine in post gonadal maturation of mammalian spermatozoa. Human Reproduction Update, 1996; 2(2):87-102.
38. Jones R, Mann T, Scherins R: Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxidases and protectiveaction of seminal plasma. Fertil.Steril. 1979; 31:531-537.
39. Kessopoulou E, Rüssel JM, Powers HJ et al: A double blind randomized placebo crossover controlled trial using the antioxidant Vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. Fertil. Steril. 1995; 64:825-831.
40. Kobayashi T, Miyazaki T, Natori M, Nozawa S: Protective role of Superoxide dismutase in human sperm motility: Superoxide dismutase activity and lipid peroxide in human seminal plasma and spermatozoa. Human Reprod, 1991; 6:987-991.
41. de Lamirande E, Gagnon C: Capacitation associated production of Superoxide anion by human spermatozoa. Free Radie Biol Med, 1995; 18:487-495.
42. Lenzi A, Lombardo F, Gandini L et al: Glutathione therapy for male infertility.Arch Androl 1992; 29:65-68.
43. Lenzi A, Lombardo F, Sgro P, Salakone P, Caponecchia L, Dondero F, Gandini L: Use of camitine therapy in selected cases of male factor infertility: A double-blind crossover trial. Fertil. Steril. 2003; 79(2):292-300.
44. Lenzi A, Sgro P, Salakone P, Paoli D, Gilio B, Lombardo F, Santulli M, Agarwal A, Gandini L: A placebo controlled double blind randomized trial of the use of combined 1-carnitine and 1-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. Fertil Steril. Jun2004; 81(6):1578-84.
45. Lilja H, Oldbring J, Rannevik G, Laurell CB: Seminal vesicle secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. J Clin Invest. Aug 1998; 80(2):281-285.
46. Lin MC, Tsai TC, Yang YS: Measurement of viscosity of human semen with a rotational viscosimeter. J Formos Med Assoc, 1992; 91:419-423.
47. Lombarde F, Gandini L, Agarwal A, Sgro P, Dondero F, Lenzi A: A prospective double-blind placebo controlled over trial of carnitine therapy in selected cases of male infertility. Fertil. Steril. 2002; 78(3):S68-S69.
48. Π. Λοΐζου, Ι. Γεωργίου, Κ. Ζηκόπουλος, Μ. Κωνσταντέλλη, Δ. Λώλης: Τα επίπεδα της L- καρνιτίνης στο σπερματικό πλάσμα σε φυσιολογικούς, ασθενοσπερμικούς και αζωοσπερμικούς άνδρες. Η εξωγενής δόση L- καρνιτίνης βελτιώνει την ποιότητα του σπέρματος. Ιατρικά Χρονικά, Τόμος ΙΗ΄, Τεύχος 4, Απρίλιος 1995, Σελ. 200-202.
49. Maier U, Hienert G: Tamoxifen and kallikrein in therapy of oligoasthenozoospermia: results of a randomized study. Eur Urol 1990; 17(3):223-225.
50. Mann T, Lutwak-Mann C: Male reproductive function and semen. Themes and Trends in physiology, biochemistry and investigative andrology. Berlin: Springer; 1981.
51. Matalliotakis I, Koumantaki Y, Evageliou A, Matalliotakis G, Goumenou A, Koumantakis E: L-carnitine levels in the seminal plasma of fertile and infertile men: correlation with sperm quality. Int.J.Fertil.Wom.Med. 2000; 45(3):236-240.
52. Menchini-Fabris F, Canale D, Izzo PL, Olivieri L, Bartelloni M: Free L-carnitine in human semen: its variability in different andrologic pathologies. FertiLSteril. Aug 1984; 42:2129,263-267.
53. Mendeluk G, Blanco A, Bregni C: Viscosity of human seminal fluid: Role of lysozyme. Arch Androl Jan 1997; 38(1):7-11.
54. Mendeluk G, Munuce MJ, Carizza C, Sardi M, Bregni C: Sperm motility and ATP content in seminal hyreviscosity. Arch Androl Nov/Dec 1997; 39(3):223-227.
55. Mendeluk G., F. Luis Gonzalez Flécha, P. R. Castello, C. Bregni: Factors involved in the biochemical etiology of human seminal plasma hyperviscosity. Journal of Andrology 2000; 21:262-267.
56. Mimic S, Bila S, Ilic V, Sulovic V: Treatment of men with oligoasthenozoospermia with kallikrein.Acta Eur Fertil 1985; 16(l):51-54.
57. Mimic S, Lalic N, Bojanic N: Carnitine treatment of oligospermic men in IUI/IVF procedure. J Androl Suppl 2002; No Supplement, p.54.
58. Oeda T, Henkel R, Ohmori H, Schill WB: Scavenging effect of N-acetyl-L-cysteine against reactive oxygen species in human seman: a possibla therapeutic modality for male factor infertility? Andrologia 1997; 29:125-131.
59. Shefmer AL: The reduction in vitro in viscosity of mucoprotein solutions by a new mucolytic agent, N-acetyl-L-cysteine. Ann NY Acad Sei 1963; 106:298-310.
60. Siciliano L, Tarantino P, Longobardi F, Rago V, De Stefane C, Carpino A: Impaired seminal antioxidant capacity in human semen with hyperviscosity or oligoasthenospermia. Journal of Andrology Sep/Oct 2001; 22(5):798-803.
61. Smith's General Urology, 15th ed., Lange, ISBN 0-07-112006-8.
62. Storey BT. Biochemistry of the induction and prevention of lipoperoxidative damage in human spermatozoa. Mol Hum Reprod 1997; 3:203-213.
63. Su D, Novoselov VS, Sun QA et al: Mammalian selenoproteinthioredoxin-glutathione reductase: Roles in disulfide bond formation and sperm maturation. The Journal of Biological Chemistry Jul 2005; 280(28):26491-26498.
64. Thiele SA, Friesleben HJ et al: Ascorbic acid and urate in human seminal plasma: determination and interrelationships with chemiluminescence in washed semen. Hum Reprod 1995; 10:110-115.
65. Vandekerckhove P, Lilford R, Vail A, Hughes E : Clomiphene or Tamoxiphene for idiopathic oligo/asthenospermia - A Cochrane Review Abstract: Evidence Based Medicine reviews based primarily on meta-analysis of controlled trials. Jul 2004.
66. World Health Organization. Laboratory Manual for the examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1999.
67. Yeung CH, Cooper TG, Waites GMH: Carnitine transport into perfused epididymis of the rat: regional differences, stereospecificity, stimulation by choline and effect of other luminal factors. Biol Reprod 1980; 23:294-304.
68. Zalata A, Hafez T Comhaire F: Evaluation of the role of reactive oxygen species in male infertility. Hum Reprod, 1995; 10:1444-1451.
69. Zorn B, Vidmar G, Meden-Vrtovec II: Seminal reactive oxygen species as predictors of fertilization, embryo quality and pregnancy rates after conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Int J Androl. 2003; 26(5):279-285.