

Κλινική μελέτη

Ο ρόλος του περιβάλλοντος και της γενετικής προδιάθεσης στην ιδιοπαθή υπογονιμότητα

Σ. Κίτσιου-Τζέλη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Υπογονιμότητα αντιμετωπίζει τουλάχιστον το 15% των ζευγαριών και στο 25% των περιπτώσεων θεωρείται ιδιοπαθής, αφού τα αίτια παραμένουν αδιευκρίνιστα. Βαθμιαίες διαφοροποιήσεις στο ευρύτερο περιβάλλον φαίνεται ότι συμβάλλουν στην ιδιοπαθή υπογονιμότητα, ως αποτέλεσμα της συσσώρευσης σε αέρα, νερό, χώμα και σε όλη την τροφική αλυσίδα πληθώρας ξενοβιοτικών παραγόντων, όπως εντομοκτόνα, ξενοοιστρογόνα, πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες κ.ά. Πολυάριθμες επιδημιολογικές παρατηρήσεις σε θηλαστικά και στον άνθρωπο έχουν συσχετίσει πολλούς περιβαλλοντικούς ρύπους με την προοδευτικά φθίνουσα υπογονιμότητα των ανδρών παγκοσμίως. Σύμφωνα με πειραματικές τοξικολογικές και ιστολογικές μελέτες τα γαμετικά κύτταρα του άρρενος είναι ιδιαίτερα ευπαθή σε διάφορους εξωγενείς ξενοβιοτικούς παράγοντες. Ακόμα και στην εμβρυϊκή ζωή, η έκθεση σε ξενοοιστρογόνα μπορεί να ανατρέψει την ομαλή διαφοροποίηση των όρχεων και της ουρογεννητικής οδού και να προκληθεί το σύνδρομο δυσγενεσίας όρχεων. Οι πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις στο DNA των γαμετοκυττάρων και μείωση του αριθμού ωοκυττάρων και κυττάρων Sertoli, επηρεάζοντας την εκφραστικότητα γονιδίων απαραίτητων για την ισορροπία μεταξύ της απόπτωσης και αντιαπόπτωσης. Επιπλέον, η γενετική προδιάθεση έχει προσδιοριστικό ρόλο, αφού ο μεταβολισμός και η κάθαρση των πολυκυκλικών υδρογονανθράκων, αλλά και άλλων περιβαλλοντικών ρύπων, προϋποθέτουν την επάρκεια ενζύμων, τα οποία καθορίζονται από γονιδιακούς πολυμορφισμούς.

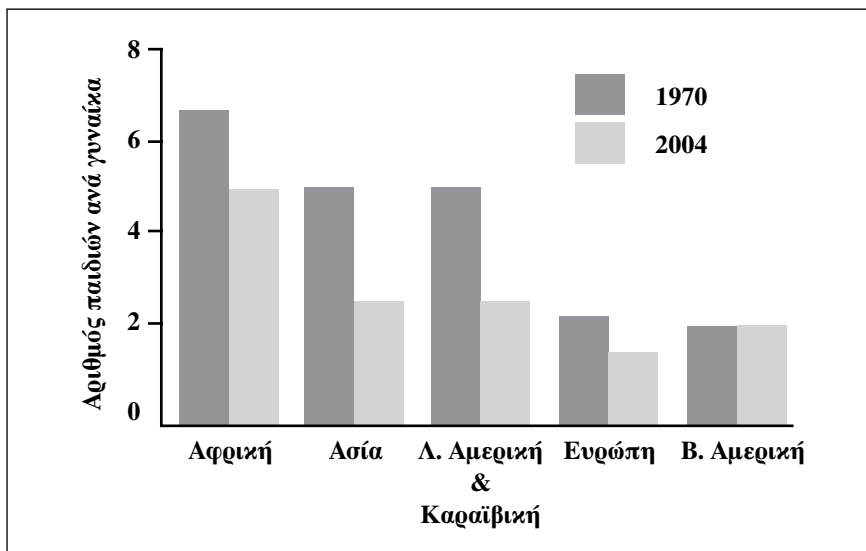
Όροι ευρητηρίου: υπογονιμότητα, περιβαλλοντικοί ρύποι, ξενοοιστρογόνα, γονιδιακοί πολυμορφισμοί.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΙΔΙΟΠΑΘΗ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ

Κατά τις τελευταίες δεκαετίες αυξάνει το ενδιαφέρον σχετικά με τη βλαπτική επίδραση του περιβάλλοντος στην υγεία του ανθρώπου, ιδιαίτερος όσον αφορά στην υπογονιμότητα, σοβαρό πρόβλημα για το δυτικό κόσμο τουλάχιστον στο 15% των ζευγαριών, ενώ στο 25% των περιπτώσεων τα αίτια παραμένουν αδιευκρίνιστα (ιδιοπαθής υπογονιμότητα). Στις παγκοσμίως παρατηρούμενες δημογραφικές αλλαγές στη γεννητικότητα (εικόνα 1) φαίνεται ότι συμβάλλει η υπογονιμότητα εκ παραλλήλου προς τις αντίξοες κοινωνικοοικονομικές συνθήκες, τις μοντέρνες αντιλήψεις

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής
Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής
Πανεπιστημίου Αθηνών
Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο,
Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία»

Αλληλογραφία:
Σ. Κίτσιου - Τζέλη
Θηβών και Λεβαδείας
115 27 Αθήνα
E-mail: skitsiou@med.uoa.gr
Κατατέθηκε: 02/09/07
Εγκρίθηκε: 20/12/07



Εικόνα 1. Τάσεις τεκνοποίησης στις κυριότερες περιοχές του κόσμου. World Fertility Report 2003 (UN Dept of Economic and Social Affairs, Population Division, NY 2004); www.un.org/esa/population/publications/worldfertility/WorldFertilityReport.htm.

για το μέγεθος της οικογένειας, καθώς και ορισμένες άλλες διαφοροποιήσεις που έχουν επέλθει βαθμιαίως στον καθημερινό τρόπο ζωής, όπως το κάπνισμα, το στρες, η καθιστική ζωή κ.ά.¹⁻³.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ

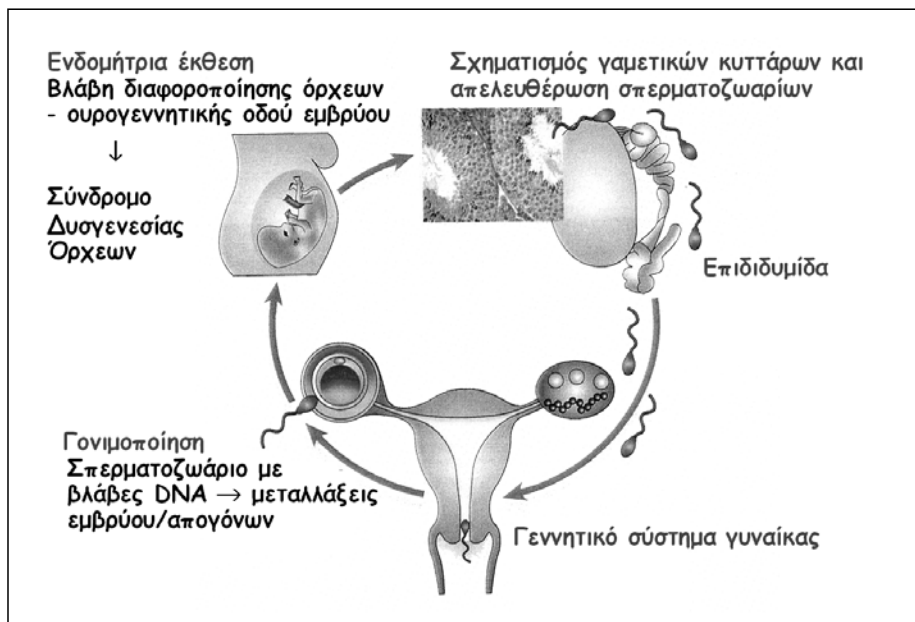
Τα τελευταία 50 χρόνια η αλματώδης επέκταση, της χημικής κυρίως βιομηχανίας, έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση πληθώρας χημικών ουσιών και βαρέων μετάλλων, που διαχέονται στον περιβάλλοντα χώρο (αέρα, νερό, χώμα και όλη την τροφική αλυσίδα) και καλούνται ξеноβιοτικοί παράγοντες: εντομοκτόνα, παραιοτοκτόνα, προϊόντα αισθητικής, συντηρητικά, καθαριστικά, φαρμακευτικά απόβλητα, παραπροϊόντα της βιομηχανίας κ.ά. Ορισμένες αγροτικές περιοχές επιβαρύνονται επιπροσθέτως λόγω της άμεσης επικοινωνίας του υδροφόρου ορίζοντα με τα αρδευτικά συστήματα, όπου συγκεντρώνονται υπολείμματα φυσικών αζωτούχων ενώσεων, φυτικών και αστικών αποβλήτων, διοξινών από χωματερές και άλλες χημικές ουσίες.

Για πολλές από τις ~100 χημικές ουσίες που ανιχνεύονται στο σώμα του ανθρώπου, οι συνολικές επιπτώσεις στην υγεία του είναι ακόμα άγνωστες⁵. Παλαιότερα υπήρχαν αρκετές παρατηρήσεις υπογονιμότητας σε ορισμένα θηλαστικά, υδροβία κυρίως, τα οποία είχαν μολυνθεί στον περιβάλλοντα χώρο τους από διάφορους χημικούς παράγοντες¹, όπως ανωμαλίες στα έξω γεννητικά όργανα σε κροκόδειλους που ζούσαν στη λίμνη Αροκκα της Κεντρικής Φλόριντα, όταν το 1980 μολύνθηκε με μεγάλες ποσότητες DDT και άλλα εντομοκτόνα⁶. Επίσης, στη βόρεια Ευρώπη, σε ύδατα ποταμών που είχαν ιδιαίτερα μεγάλη ρύπανση από βιομηχανικά και οικιακά απόβλητα (μεγάλες ποσότητες απορρυπα-

ντικών και μεταβολικών αντισυλληπτικών ορμονών), εμφανίστηκαν αμφίφυλα ψάρια με μειωμένη αναπαραγωγή^{2,7}.

Στον άνθρωπο αρκετές ανεξάρτητες μελέτες έχουν συσχετίσει την επαγγελματική έκθεση σε γεωργικά φάρμακα, βιομηχανικά παράγωγα και βαρέα μέταλλα με την πτωχή ποιότητα σπέρματος και τη μειωμένη γονιμότητα. Ακόμη όμως και για τις επιπτώσεις στο γενικό πληθυσμό υπάρχει ανησυχία, με βάση κυρίως τα στοιχεία που δείχνουν προοδευτικά αυξανόμενη υπογονιμότητα των ανδρών¹. Μετα-ανάλυση 61 μελετών σε σύνολο ~15.000 ανδρών (μέση ηλικίας 30 ετών) χωρίς ιστορικό στειρότητας, έδειξε ότι προοδευτικά μεταξύ των ετών 1940-1990 υποδιπλασιάστηκε ο μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων σε σπερμοδιαγράμματα (από $113 \times 10^6/\text{mL}$ σε $66 \times 10^6/\text{mL}$)^{1,8-11}. Μεγαλύτερη επίπτωση στον όγκο σπέρματος έχει η βόρεια Ευρώπη (με εξαίρεση τη Φινλανδία) και ακολουθεί η Αυστραλία, ενώ δεν διαπιστώθηκε σημαντική πτώση σε χώρες με μικρή βιομηχανική ανάπτυξη^{10,12,13}. Με ρυθμό ετήσιας πτώσης στη βόρεια Ευρώπη -5,3%/mL, στην Αυστραλία -3%/mL, στις ΗΠΑ -1,5%/mL και στον Καναδά -0,7%/mL, υπολογίζεται ότι σε λίγες δεκαετίες ο μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων σε σπερμοδιαγράμματα θα βρίσκεται στην κλίμακα του υπογόνιμου ή άγονου.

Όσον αφορά στις διαφορές στα σπερμοδιαγράμματα ανάλογα με τις γεωγραφικές περιοχές, η Δανία το 2000 κατείχε τη χαμηλότερη θέση στην Ευρώπη, αφού το 25% των ανδρών 18-20 ετών είχαν ολιγοσπερμία σε επίπεδο σοβαρής υπογονιμότητας (<20 εκ./mL) και μάλιστα διαπιστώθηκε πτώση κατά 25% μεγαλύτερη σε αστικούς πληθυσμούς^{14,15}. Αντίθετα, στη Φινλανδία τα σπερμοδιαγράμματα (<130 εκ./mL) είναι από τα καλύ-



Εικόνα 2. Ο κύκλος ζωής των γαμετικών κυττάρων άρρενος: στάδια ευπάθειας σε ξενοβιοτικούς παράγοντες. (Aitken RG, et al. Nature 2004; 432:48).

τερα διεθνώς. Επίσης, πριν τρία χρόνια τόσο στις ΗΠΑ, όσο και στη Γαλλία παρατηρήθηκαν επιπτώσεις ανάλογα με τη ρύπανση (π.χ. περισσότερη επιβάρυνση σε σπερμοδιαγράμματα κατοίκων του Παρισιού σε σχέση με της Τουλούζης και της πολιτείας της Νέας Υόρκης σε σχέση με της Καλιφόρνιας)¹.

Η ΕΥΠΑΘΕΙΑ ΤΟΥ ΑΡΡΕΝΟΣ

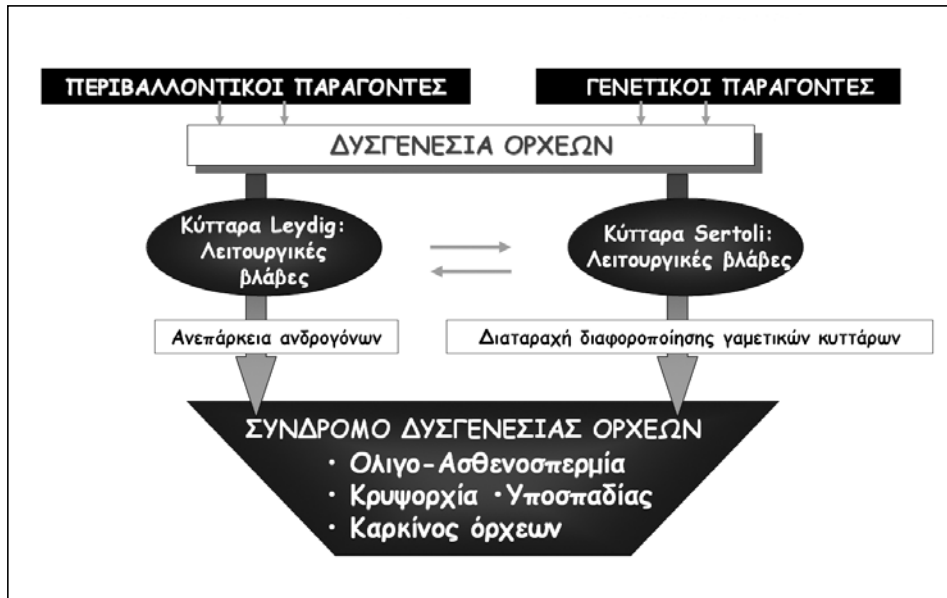
Τα γαμετικά κύτταρα του άρρενος είναι ιδιαίτερα ευπαθή σε διάφορους εξωγενείς-ξενοβιοτικούς παράγοντες του περιβάλλοντος, πιθανόν διότι έχουν τη μεγαλύτερη μιτωτική δραστηριότητα από κάθε άλλο ιστό². Ανάλογα δε με το στάδιο ανάπτυξης που διανύουν αυτά, διαφέρουν και οι επιπτώσεις στη γονιμότητα (εικόνα 2)^{2,16}. Κατά τη διάρκεια του σχηματισμού τους στο σπερματικό επιθήλιο και μέχρι την εφηβεία τα γαμετοκύτταρα δεν διαθέτουν πλέον ούτε την ικανότητα αυτοκαταστροφής ή επιδιορθωσης τυχόν βλάβης στο DNA, ούτε έχουν την προστασία που τους παρείχαν τα κύτταρα Sertoli^{16,17}. Κάθε κύτταρο Sertoli υποστηρίζει την ανάπτυξη μικρού αριθμού σπερματοκυττάρων και είναι ιδιαίτερα ευάλωτο κατά τους πρώτους 9 μήνες μετά τη γέννηση και στην προεφηβεία. Τα ώριμα σπερματοζωάρια αφού απελευθερωθούν κατά την εκσπερμάτιση και κατά το διάστημα που παραμένουν στην επιδιδυμίδα ή αργότερα μέσα στο γεννητικό σύστημα της γυναίκας (έως 6 ημέρες πριν τη γονιμοποίηση), είναι ακόμα πιο τρωτά σε ξενοβιοτικούς παράγοντες για βλάβες στο DNA, διότι είναι απογυμνωμένα από το κυτταροπλάσμα, το οποίο διαθέτει και ορισμένα προστατευτικά ένζυμα, όπως η καταλάση². Εάν δε συμβεί

να γονιμοποιήσει ωάριο ένα σπερματοζωάριο με βλάβες στο DNA που δεν έχουν επιδιορθωθεί, υπάρχει κίνδυνος μεταλλάξεων ή μεταβολών στο πρότυπο μεθύλισης των γονιδίων, με διάφορες συνέπειες για το ίδιο το έμβryo, αλλά και ίσως για τους απογόνους του, όπως η υπογονιμότητα. Αυτό σημαίνει ότι μπορεί να κληροδοτούνται στα γονίδια ή γύρω από αυτά οι επιπτώσεις που προκάλεσε το περιβάλλον στα σπερματοζωάρια του πατέρα ή και των προγόνων του πατέρα².

Ακόμα και πριν τη γέννηση του άρρενος εμβρύου μπορεί το περιβάλλον να επιδράσει στη γονιμότητα μέσω της έκθεσης της εγκύου. Οι περισσότεροι ξενοβιοτικοί παράγοντες, όπως το αλκοόλ, ουσίες καπνού, ναρκωτικά, DDT, PCBs, κ.ά. μπορούν να διαχέονται στην αμνιακή κοιλότητα και ακόμα να ανιχνεύονται σε εμβρυϊκούς ιστούς. Έχει μάλιστα αποδειχθεί τουλάχιστον σε θηλαστικά έγκυα πειραματόζωα ότι μπορεί να ανατραπεί όχι μόνο η ομαλή διαφοροποίηση των εμβρυϊκών όρχεων, αλλά και σωματικών ιστών του άρρενος εμβρύου, όπως η ουρογεννητική οδός, με αποτέλεσμα να προκύψει ένα μορφολειτουργικό σύνδρομο γνωστό ως Σύνδρομο Δυσγενεσίας Όρχεων (Testicular Dysgenesis Syndrome, TDS), για το οποίο ευθύνονται κυρίως τα ξενοοιστρογόνα^{15,18-20}.

ΞΕΝΟ-ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ: Νονυλφαινόλη, Γενιστεΐνη, Διοξίνες, Φθαλικοί εστέρες, Πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs), Αλδρίνη, DDT και άλλα γεωργικά φάρμακα

Τα «ξενο-οιστρογόνα» (xenoestrogens) δρουν σε αρκετούς μοριακούς στόχους αθροιστικά και προκαλούν



Εικόνα 3. Η αλληλουχία ιστολογικών αλλοιώσεων στο Σύνδρομο Δυσγενεσίας Όρχεων. (Asklund C et al. BJU 2004; 93:6/Virtanen HF, et al. Toxicol Appl Pharmacol 2005; 207:501).

σε πειραματόζωα αλλά και στον άνθρωπο με διάφορους μηχανισμούς ορμονική απορρύθμιση (endocrine disruption). Έχουν παρατηρηθεί επίσης και μεταλλάξεις στο DNA μέσω οξειδωτικού στρες (σύνδεση στο DNA) ή μέσω παραγωγής οξειδωτικών ριζών, π.χ. 8-υδροξυ-2-δεοξυγουανίνη κ.ά. Επιπροσθέτως, ορισμένα ξeno-οιστρογόνα μπορεί να καταστέλλουν την έκφραση παραγόντων αύξησης μέσα στους εμβρυϊκούς όρχεις (Insulin-like Growth Factor-3, IGF-3 κ.ά.), ενώ σε μικρότερο ίσως βαθμό επηρεάζουν και το αναπαραγωγικό σύστημα των θηλέων εμβρύων^{1,2,16,24-26}.

Νονυλφαινόλη

Ανήκει στα φαινολικά μείγματα που χρησιμοποιούνται σε διάφορες βιομηχανίες (πλαστικών κ.ά.), ως επιφανειοδραστικά ή αντιοξειδωτικά υλικά. Αποτελούν πολύ κοινό ρύπο, του υδρόβιου κυρίως περιβάλλοντος².

Οι φαινόλες δρουν ανταγωνιστικά προς τους υποδοχείς φυσικών οιστρογόνων και ενοχοποιούνται για τη θηλεοποίηση υδρόβιων οργανισμών, όπως τα ψάρια. Επιπροσθέτως, σε αρουραίους που εκτέθηκαν σε φαινόλες πριν ή μετά τη γέννησή τους έχουν εμφανισθεί και βλάβες του όρχεος, λόγω οξειδωτικού στρες².

Γενιστεΐνη και ισοφλαβόνες

Ανιχνεύονται σε διάφορα χορταρικά όπως και σε επεξεργασμένα προϊόντα σόγιας²⁴.

Η γενιστεΐνη σε μοριακό επίπεδο δρα ανταγωνιστικά σε υποδοχείς οιστρογόνων, με αποτέλεσμα μείωση της GnRH και της FSH της υπόφυσης του εμβρύου. Στην περίπτωση αυτή θεωρητικά βλάπτονται αμετάκλητα τα κύτταρα Sertoli και επηρεάζεται αρνητικά η

διαφοροποίηση των σπερμοκυττάρων¹. Διαπιστώθηκε, όμως, σε πειραματόζωα (τόσο άρρενα, όσο και θήλεα) ότι για να προκληθούν τοξικές βλάβες χρειάζεται καθημερινή έκθεση σε τουλάχιστον 40πλάσιες ποσότητες από τις συνήθεις σε επεξεργασμένα τρόφιμα²⁴.

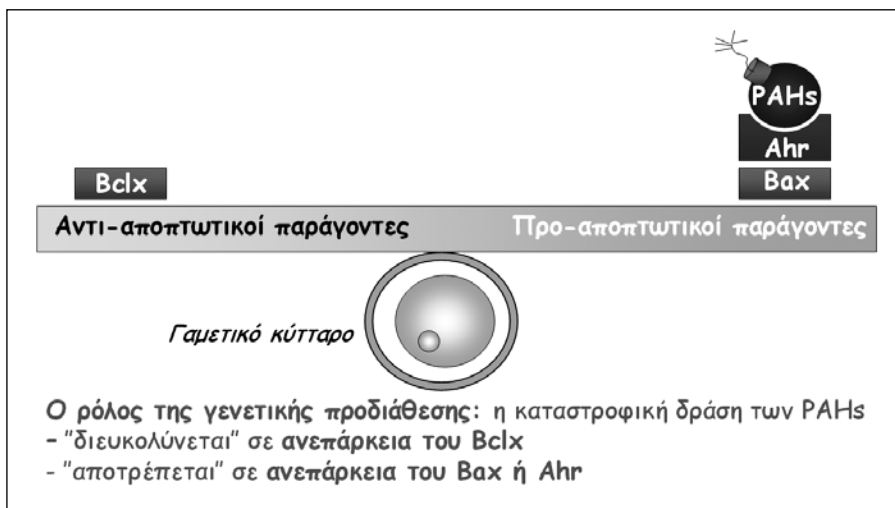
Διοξίνες (όπως η 2,3,7,8-τετραχλωροδιβενζο -διοξίνη, TCDD)

Αποτελούν διάφορα πολυχλωριωμένα χημικά μείγματα και εκλύονται στο περιβάλλον (αέρας, σκόνη) ως παραπροϊόντα καύσης σε χώρους βιομηχανικής επεξεργασίας στερεών αποβλήτων, χωματερές ή αποτεφρωτήρες απορριμμάτων. Επίσης ανευρίσκονται και στα απόβλητα βιομηχανιών λεύκανσης χαρτοπολτού ή παρασκευής παρασιτοκτόνων και ζιζανιοκτόνων²⁵. Ο χρόνος ημίσειας ζωής των διοξινών είναι 6-11 χρόνια και ανιχνεύονται σε τρόφιμα με ζωικό λίπος, κυρίως κρεατικά και γάλα^{1,2,24}.

Οι διοξίνες έχουν αντιανδρογονική δράση είτε μέσω πρόσδεσης σε υποδοχείς ανδρογόνων, είτε διότι επηρεάζουν τη διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig. Επίσης, ενδιάμεσοι μεταβολίτες τους (π.χ. κινόνες) συνδέονται στο DNA και παράγονται οξειδωτικές ρίζες τοξικές για τα γαμετοκύτταρα^{1,12}.

Φθαλικοί εστέρες

Αποτελούν τάξη περιβαλλοντικών χημικών με τη μεγαλύτερη έκθεση παγκοσμίως^{5,3}. Υπάρχουν σε πολλά καταναλωτικά προϊόντα, όπως πλαστικά είδη (παιχνίδια κ.ά.), ακόμη και σε σκευάσματα προσωπικής υγιεινής, όπως σαπούνια, σαμπουάν, αρώματα, βερνίκια νυχιών^{2,3}. Μεταβολίτες αρκετών φθαλικών ανιχνεύονται



Εικόνα 4. Μηχανισμός πρόκλησης υπογονιμότητας από PAHs. Διαταραχή της ισορροπίας αντι-αποπτωτικών (Bclx) και προ-αποπτωτικών παραγόντων (Bax), μέσω πρόδρασης στον υποδοχέα Ahr. (Matzuk MM, Lamb DJ. Nature Cell Biol and Nature Med 2000; S41-S49/Matikainen TM, et al. Endocrinology 2002; 143:615).

σε υψηλότερα επίπεδα στο αίμα γυναικών 20-40 ετών σε σχέση με τις νεότερες ομάδες⁵.

Οι φθάλκιοι εστέρες σε μοριακό επίπεδο ασκούν αντιανδρογονική δράση και προκαλούν μείωση της σύνθεσης της τεστοστερόνης^{1-3,19,24,25}.

Πολυχλωριωμένα δι-φαινόλια (PCBs)

Ανιχνεύονται σε ψάρια, κυρίως λιμνών μολυσμένων από απόβλητα υλικών κλειστών κυκλωμάτων, ενώ ίχνη ανευρίσκονταν παλαιότερα και σε άλλα τρόφιμα, όπως λάδι¹².

Τα PCBs συσχετίστηκαν παλαιότερα με υπογονιμότητα σε γυναίκες-κατοίκους της Λίμνης Οντάριο (Καναδάς), ενώ το 2002 στην Ολλανδία μετρήθηκαν τα επίπεδα PCBs στον ορό υπογόνιμων ανδρών και διαπιστώθηκε μεγαλύτερη αύξηση σε σχέση με τον υπόλοιπο πληθυσμό¹².

Σε μοριακό επίπεδο προκαλούν ορμονική απορρύθμιση μέσω αναστολής του ενζύμου σουλφοτρανσφεράση της οιστραδιόλης (SULT 1E1), επί εδάφους όμως ενός γενετικά καθοριζόμενου πολυμορφισμού του ενζύμου αυτού, που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας της οιστραδιόλης^{12,18,25}.

DDT, Αλδρίνη, Διελδρίνη, Φουράνια, Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα και άλλα γεωργικά φάρμακα

Τα περισσότερα από τα γεωργικά τοξικά φάρμακα έχουν αποσυρθεί από τη δεκαετία του 70 στις περισσότερες βιομηχανοποιημένες χώρες, όπως το DDT (δι-χλωρο-διφαινυλ-τριχλωροαιθάνιο), η αλδρίνη και η διελδρίνη^{1,12,25}. Δυστυχώς, όμως, η απαγόρευσή τους δεν είναι παγκόσμια, αφού σε ορισμένα κράτη της Ευρώπης επιτρεπόταν έως πρόσφατα η παραγωγή τους, όπως στην Ισπανία και η χρήση τους, όπως στην Ιταλία. Ως αποτέλεσμα, συνεχίζουν να αθροίζονται και να διασπείρονται παντού, είτε μέσω τροφίμων που εισάγονται

από το εξωτερικό, είτε με το μολυσμένο αέρα και το νερό. Έτσι, οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα μπορεί να ανιχνεύονται σε ανώτερα όρια των επιτρεπόμενων στις πατάτες, τα καρότα και τα ψάρια ιχθυοκαλλιέργειών¹.

Το πλέον τοξικό από τα μυκητοκτόνα είναι το DBCP (1,2-διβρωμο-3-χλωροπροπάνιο), το οποίο προ τριακονταετίας περίπου συσχετίστηκε με την υπογονιμότητα που παρατηρήθηκε σε συζύγους αγροτών και εργαζομένων σε βιομηχανίες παραγωγής του^{21,22}. Σύντομα επιβεβαιώθηκαν οι καταστροφικές και μόνιμες βλάβες που προκαλούνται στο σπέρμα (αζωοσπερμία). Αμέσως μετά τη διαπίστωση σε θηλαστικά πειραματόζωα ότι προκαλεί μεταλλάξεις στο DNA αποσύρθηκε από το εμπόριο^{21,23}, αλλά παρόλ' αυτά σε ορισμένες χώρες, κυρίως του τρίτου κόσμου, δυστυχώς εξακολουθεί να κυκλοφορεί.

Όσον αφορά στα νεότερης γενιάς γεωργικά φάρμακα χρειάζεται επιφύλαξη, διότι ο χρόνος ημίσειας ζωής των περισσότερων είναι έως 20 χρόνια, ενώ σχεδόν όλα εγκαθίστανται στο λιπώδη ιστό όλου του ζωικού βασιλείου. Για παράδειγμα ο μεταβολίτης DDE του DDT παραμένει ενεργός στο περιβάλλον τουλάχιστον επί μία 10ετία²² και κατάλοιπά του ανιχνεύονται σε όλο το οικοσύστημα^{5,12}.

ΞΕΝΟ-ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΛΥΣΓΕΝΕΣΙΑΣ ΟΡΧΕΩΝ (ΣΔΟ)

Το Σύνδρομο Δυσγενεσίας Όρχεων (ΣΔΟ) περιλαμβάνει μείωση και κακή ποιότητα σπέρματος, κρυψορχία, υποσπαδία και καρκίνο όρχεων (εικόνα 3). Στις ΗΠΑ και τον Καναδά, μαζί με την προοδευτικά αυξανόμενη υπογονιμότητα, συγχρόνως παρατηρείται ανησυχητική αύξηση του υποσπαδία και της κρυψορχίας, με ετήσιο ρυθμό 3,3-4,3% και 1,6-3,5% αντιστοίχως^{1,12}. Στη Δανία μεταξύ των ετών 1961-1999 η συχνότητα κρυ-

ψορχίας τετραπλασιάστηκε (2% και 8,5% αντιστοίχως) και στη Μεγάλη Βρετανία σχεδόν διπλασιάστηκε μεταξύ των ετών 1964 και 1992 (2,5% και 4% αντιστοίχως), σε αντίθεση με τη Φιλανδία, όπου η συχνότητα κρυψορχίας παραμένει χαμηλή²⁷.

Το ΣΔΟ συσχετίζεται με τον καρκίνο όρχεων (στο 95% των περιπτώσεων αναπτύσσεται σε έδαφος προϋπάρχοντος καρκινώματος in situ προγεννητικής προέλευσης)²⁸, διότι υπάρχουν ενδείξεις ότι παρατηρείται σε μεγαλύτερη συχνότητα από το γενικό πληθυσμό σε άνδρες με ιστορικό υπογονιμότητας ή κρυψορχίας ή υποσπαδία²⁰.

Φαίνεται ότι στο ΣΔΟ υπάρχει μία αλληλουχία ιστολογικών αλλοιώσεων, οι οποίες πρέπει να είναι αλληλένδετες αιτιολογικές και παθογενετικές βάσει των εξής ενδείξεων^{2,12,20,24,29}:

α) Προοδευτική επιδείνωση στην ποσότητα/ποιότητα σπέρματος τα τελευταία 50 χρόνια (ΗΠΑ, Ευρώπη), η οποία συμβαδίζει με την αύξηση στη συχνότητα καρκίνου των όρχεων σε πολλούς πληθυσμούς της Καναδάς φυλής στο δυτικό κόσμο (ετήσια αύξηση 2% στις ΗΠΑ και Καναδά και 5% στην Ευρώπη).

β) Γεωγραφική συσχέτιση μεταξύ του ΣΔΟ και της υπογονιμότητας σε δύο σκανδιναβικές χώρες, τη Φινλανδία και τη Δανία. Στη Φινλανδία, η ποιότητα σπέρματος είναι αρίστη, ενώ η συχνότητα καρκίνου όρχεος είναι ~4 φορές μικρότερη σε σχέση με τη Δανία (2,8:100.000 και 10,4:100.000 αντιστοίχως), όπου η ποιότητα του σπέρματος είναι κακή.

Πρέπει, όμως, να αναφερθούν όσον αφορά στην επίδραση των ξενο-οιστρογόνων και ορισμένες πιο μετριοπαθείς ή και εκ διαμέτρου αντίθετες απόψεις. Το κυριότερο επιχείρημα είναι ότι η βιολογική δραστηριότητα των ξενο-οιστρογόνων είναι ασθενέστερη από τις φυσικές ή και τις συνθετικές ορμόνες, όπως τα αντισυλληπτικά φάρμακα, η καθημερινή λήψη των οποίων από του στόματος εκθέτει τη γυναίκα σε οιστρογονική δραστηριότητα κατά 10 δισεκατομμύρια φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τη συνήθη πρόσληψη μέσω τροφών οργανοχλωριούχων ενώσεων (π.χ. DDT ή διοξινών)³⁰. Εν προκειμένω το DDT έχει βιοδραστικότητα 100.000-1.000.000 φορές μικρότερη από την ανθρώπινη ορμόνη οιστραδιόλη 17β (E₂-17β)². Ένα ακόμα καθησυχαστικό δεδομένο είναι ότι το άρρεν έμβρυο αν και εκτίθεται σε πολύ υψηλά επίπεδα ισχυρών οιστρογόνων που παράγονται από τον πλακούντα, εντούτοις αναπτύσσει φυσιολογικά το φύλο του. Τέλος, τα ανωτέρω υποστηρίζονται από νεότερα επιδημιολογικά δεδομένα για το ισχυρότατο συνθετικό ορμονικό σκεύασμα διαθυλοστυλβεστρολή (DES), το οποίο κατά το διάστημα που κυκλοφόρησε και μέχρι να αποσυρθεί από την κυκλοφορία (1940-1971) υπολογίζεται ότι είχε χορηγηθεί σε > 1εκ. εγκύους στις ΗΠΑ¹. Αν και αποδεδειγμένα συσχετίστηκε με τον απώτερο κίνδυνο ανάπτυξης αδeno-

καρκινώματος του κόλπου στα θήλεα που είχαν εκτεθεί προγεννητικά, τα αγόρια των μητέρων δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αύξηση της υπογονιμότητας ή της συχνότητας καρκίνου όρχεων, ενώ η παρατηρηθείσα αυξημένη συχνότητα κρυψορχίας, μικρών όρχεων και κύστεων επιδιδυμίδος δεν μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά στην οιστρογονική δράση του DES^{1,2}.

Τέλος, όσον αφορά στα ξενοοιστρογόνα σε σχέση με τη φυλετική ανάπτυξη του θήλεος εμβρύου, η εμβρυϊκή ωοθήκη, σε αντίθεση με τον εμβρυϊκό όρχη, φαίνεται να παραμένει ανεπηρέαστη, αφού στον άνθρωπο βρέθηκε μόνο ότι το DDT και ελάχιστα άλλα συσχετίζονται με την πρόωμη ήβη^{1,3,25,27,31}.

ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (PAHs)

Το βενζο-[α]-πυρένιο και άλλοι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) αποτελούν κοινούς ατμοσφαιρικούς ρύπους. Εκλύονται στο περιβάλλον από διάφορες πηγές, όπως ο καπνός των τσιγάρων, οι εκπομπές καυσαερίων από εξατμίσεις αυτοκινήτων, χαλυβουργία και βιομηχανίες πετρελαιοειδών και χρωμάτων. Προκαλούν μείωση στο βάρος των ωοθηκών και στον αριθμό των ωοθυλακίων, ενώ επίσης επηρεάζουν την ποιότητα του σπέρματος μέσω οξειδωτικής βλάβης. Σε εργάτες χώρων με μεγάλη ρύπανση από PAHs, έχει παρατηρηθεί υπογονιμότητα, αλλά και έως 4πλάσια συχνότητα αποβολών, καθώς 10πλάσιος κίνδυνος για απώτερη ανάπτυξη καρκίνου όρχεος ή και λευχαιμίας στους απογόνους τους.

Σε θηλαστικά άρρενα πειραματόζωα, οι ατμοσφαιρικοί ρύποι περιοχών επιβαρυσμένων από εκπομπές βιομηχανιών, πετρελαιοκινήτων και κεντρικής θέρμανσης προκαλούν ενός τύπου μεταλλάξεις (εκτεταμένων-απλών-επαναλαμβανομένων αλληλουχιών, expanded-simple-tandem-repeats, ESTRs), οι οποίες μέσω των σπερματοζωαρίων μεταβιβάζονται στην επόμενη γενιά³². Εάν υποθεθεί ότι το ίδιο ισχύει και για τον άνθρωπο, τότε τα εισπνεόμενα μικροσωματίδια που μεταφέρουν PAHs, βαρέα μέταλλα και άλλα χημικά, αφού διεισδύσουν βαθιά στους πνεύμονες και μέσω της κυκλοφορίας μεταβολιστούν στο ήπαρ σε μόρια ενεργά και βλαπτικά για το DNA, στη συνέχεια θα προκαλέσουν μεταλλάξεις στα προμειωτικά σπερμογόνα και απώτερα στους απογόνους³³.

Μελέτες επίσης σε ενήλικες άνδρες δείχνουν ότι η ατμοσφαιρική ρύπανση μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις στο DNA των γαμετοκυττάρων³⁴, όπως συμβαίνει και με το κάπνισμα τσιγάρων που αποτελεί μία ακόμα πηγή PAHs³⁵.

Για το αναπτυσσόμενο έμβρυο υπάρχουν περιορισμένα επιδημιολογικά στοιχεία που, όμως, δεν επεκτείνονται στο θέμα της απώτερης γονιμότητας. Συγκεκρι-

μένα, σε εγκύους που ζουν σε περιοχές αυξημένων ρύπων παρατηρήθηκε μεγαλύτερος κίνδυνος καθυστέρησης της ανάπτυξης του εμβρύου και επίσης αύξηση των σωματικών αλλά όχι των γαμετικών (κληρονομικών) μεταλλάξεων στα παιδιά τους^{28,36}.

Τέλος, όσον αφορά στον καπνό των τσιγάρων, που αποτελεί έναν από τους τοξικότερους περιβαλλοντικούς ρύπους με τις ήδη γνωστές βλαπτικές δράσεις στο αναπτυσσόμενο έμβryo, διαπιστώθηκε ότι αυξάνει και ο κίνδυνος ολιγο/αριαυοσπερμίας στα αγόρια που θα γεννηθούν και ακόμη ο κίνδυνος πρώιμης εμμηνόπαυσης στα κορίτσια. Συγκεκριμένα, η προγεννητική έκθεση σε >20 τσιγάρα ημερησίως προκαλεί καταστροφή των άωρων γαμετοκυττάρων μέσω των πολυκυκλικών υδρογονανθράκων^{3,37-40}.

ΑΔΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ ΚΑΙ ΓΟΝΙΔΙΩΝ: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχουν τα αποτελέσματα τελευταίων μελετών σχετικά με το ρόλο της γενετικής προδιάθεσης στις απώτερες επιπτώσεις ορισμένων περιβαλλοντικών ρύπων και κυρίως συστατικών του καπνού, όπως τα PAHs στις γονάδες του εμβρύου. Ο μηχανισμός δράσης των PAHs στα γαμετοκύτταρα έγκειται στη διαταραχή της απαραίτητης για την επιβίωσή τους (τόσο προγεννητικώς, όσο και μετά τη γέννηση) ισορροπίας μεταξύ αντι-αποπτωτικών παραγόντων (Bclx) και προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών (Bax)⁴¹. Εκλυτικό αίτιο για αυτή τη διαταραχή αποτελεί η περίσσεια των PAHs, τα οποία μέσω πρόσδεσης στον υποδοχέα Ahr ενεργοποιούν την υπερέκκριση του Bax (εικόνα 4). Επακόλουθο της συσσώρευσης της πρωτεΐνης Bax στα εμβρυϊκά γαμετοκύτταρα είναι η απώλεια μεγάλου αριθμού τους μέσω μηχανισμού απόπτωσης^{41,42}. Τα ανωτέρω αποτελούν μια πρόσθετη επιβεβαίωση ότι το περιβάλλον και εν προκειμένω τα PAHs, μπορεί να επηρεάσει την εκφραστικότητα γονιδίων.

Εκτός από το κάπνισμα κατά την κύηση, σε θηλαστικά πειραματόζωα (ποντίκια) έχει διαπιστωθεί ότι και άλλες τοξικές ουσίες του περιβάλλοντος, όπως η διοξίνη, δρουν με τον ίδιο τρόπο και συσχετίζονται με τη γέννηση θήλεων που έχουν μειωμένο αριθμό ωοκυττάρων και αρένων με μειωμένο αριθμό κυττάρων Sertoli⁴¹.

Και στις δύο περιπτώσεις προσδιοριστικός είναι ο ρόλος της γενετικής προδιάθεσης, αφού σε διαγονιδιακά θηλαστικά πειραματόζωα φάνηκε ότι η πρόκληση ανεπάρκειας του Bclx «διευκολύνει» την καταστροφική δράση του καπνίσματος (και άλλων περιβαλλοντικών ρύπων) στα γαμετικά κύτταρα, ενώ η ανεπάρκεια Ahr ή Bax την «αποτρέπει».

Τη σημασία του γενετικού υποστρώματος επαυξάνει η γνώση ότι ο μεταβολισμός και η κάθαρση των PAHs, αλλά και άλλων ξеноβιοτικών παραγόντων όπως PCBs,

διοξίνες, οργανοχλωριωμένες ενώσεις κ.ά., προϋποθέτει την επάρκεια ενζύμων (κυτόχρωμα P450, GSTM, SUIT 1E1 κ.ά.), η οποία καθορίζεται από γενετικούς πολυμορφισμούς^{2,15,43-45}. Ανάλογα δηλαδή με τους γενετικούς πολυμορφισμούς που διαθέτει κάθε άτομο, καθίσταται λιγότερο ή περισσότερο ευάλωτο στους ξеноβιοτικούς παράγοντες^{2,3,46,47}.

Επίσης, ένζυμα επιδιόρθωσης της βλάβης του DNA, πρωτεΐνες διακυτταρικής μεταβίβασης μηνυμάτων και υποδοχής πρωτεϊνών ρυθμίζονται με βάση το γενετικό μας κώδικα². Επομένως, αποφασιστικής σημασίας για τις επιπτώσεις των περιβαλλοντικών ρύπων είναι και οι ποικιλομορφίες άλλων γονιδίων και πρωτεϊνών.

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι το περιβάλλον, αρχίζοντας από τη στιγμή της γονιμοποίησης και καθ' όλη τη διάρκεια όλου του αναπαραγωγικού μας κύκλου, επηρεάζει σε κάποιο βαθμό τη γονιμότητα.

Πιστεύεται ότι οι πραγματικές επιπτώσεις της μόλυνσης του περιβάλλοντος στο γενικό πληθυσμό και όχι μόνο σε ειδικές ομάδες εργαζομένων, θα φανούν μόνο μετά την ολοκλήρωση σωστά σχεδιασμένων προοπτικών επιδημιολογικών μελετών, που θα περιλαμβάνουν και παιδιά που γεννήθηκαν μετά από επιβεβαιωμένη έκθεση του πατέρα ή της μητέρας⁵.

Επίσης, ένα νέο πεδίο έρευνας αποτελεί η εντόπιση ακριβώς των γενετικών πολυμορφισμών και ιδιαίτερα το γενετικό προφίλ σε ένζυμα-κλειδιά, όπως το κυτόχρωμα P450 και η γλουταθειόνη-S-τρανσφεράση, που εμπλέκονται στο μεταβολισμό περιβαλλοντικών ρύπων^{2,3}. Ο επιστημονικός κλάδος που ασχολείται με το θέμα αυτό λέγεται Αναπαραγωγική Φαρμακογονιδιοματική (Reproductive Pharmacogenomics) και έχει στόχο να γίνει δυνατή η εντόπιση γονότυπων υψηλού ή χαμηλού κινδύνου⁴⁸. Έτσι, με τις προόδους στην αναπαραγωγική φαρμακογονιδιοματική θα μπορεί να καθορίζεται, ως ένα τουλάχιστον σημείο, ο βαθμός της ευπάθειας των ατόμων που εκτίθενται ιδιαίτερα σε τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες για λόγους επαγγελματικούς ή άλλους. Κατ' επέκταση σε αυτό το μελλοντικό στάδιο θα μπορεί να σχεδιαστεί η πρωτοβάθμια πρόληψη των ατόμων υψηλού κινδύνου, ώστε να μειωθούν οι επιπτώσεις του σύγχρονου τρόπου ζωής και του περιβάλλοντος στη γονιμότητα.

Summary

Kitsiou-Tzeli S

The role of environmental pollutants and genetic predisposition in idiopathic infertility

Helen Obstet Gynecol 20(1):39-47, 2008

Infertility is faced by at least 15% of couples and it

is considered as idiopathic in 25% of cases. Progressive changes in the environment mainly because of the industrial development contribute to the idiopathic infertility. Plethora of xenobiotic factors, as pesticides, insecticides, xenoestrogens, polycyclic aromatic hydrocarbons accumulate to the air, water, soil and food chain. There is a growing evidence from epidemiologic studies in mammal animals and humans that many environmental pollutants are related to the inclined fertility in most regions of the world. Experimental, toxicologic and histologic studies have shown that the male germ cells are highly sensitive to various exogenous factors. Such an exposure to specific pollutants called xenoestrogens during pregnancy may turn over the normal differentiation of the fetal testes and urogenital tract resulting in testicular dysgenesis syndrome. Polycyclic aromatic hydrocarbons may provoke DNA mutations in germ cells and decrease the number of oocytes as well as Sertoli cells by interference with the expression of genes controlling the balance between apoptosis and anti-apoptosis. Furthermore, the genetic predisposition plays a major role, since the metabolism and clearance of many xenobiotics prerequisite the enzymes sufficiency which is controlled by genetic polymorphisms.

Key words: *infertility, environment pollutants, xenoestrogens, genetic polymorphisms.*

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Joffe M. Infertility and environmental pollutants. *Br Med Bulletin* 2003; 68:47-70.
- Aitken RJ, Koopman P, Lewis SEM. Seeds of concern. *Nature* 2004; 432:48-53.
- Sharpe RM, Franks S. Environment lifestyle and infertility - an inter-generational issue. *Nature Cell Biology* 2002; 4(S1):S33-S40.
- Briggs D. Environmental pollution and the global burden of disease. *Brit Med Bulletin* 2003; 68:1-24.
- Stokstad E. Pollution gets persona. *Science* 2004; 304:1892-1894.
- Semenza JC, Tollbert PE, Rubin CH, Guillette U, Jackson RJ. Reproductive toxins and alligator abnormalities at Lake Apoca, Florida. *Environ Health Perspect* 1997; 105:1030-1032.
- Jobling S, Casey D, Rogers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawlowski S, et al. Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquat Toxicol* 2004; 66:207-222.
- Carisen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br Med J* 1992; 305:609-613.
- Carisen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Declining semen quality and increasing incidence of testicular cancer is there a common cause? *Environ Health Perspect* 1995; 103:137-139.
- Swan S, Elkin EP, Fenster L. Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. *Environ Health Perspect* 1997; 105:1228-1232.
- Panidis DK, Asseo PP, Papatoucas AC. Semen parameters in 114 fertile men. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1984; 16:411-420.
- Solomon GM, Schettler T. Environment and health: Endocrine disruption and potential human health implications. *Canad Med Ass J* 2000; 163(11):1471-1476.
- Irvine S, Cawood E, Richardson D, McDonald E, Aitken J. Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *Br Med J* 1996; 312:467-471.
- Andersen AG, Jensen TK, Carisen E, et al. High frequency sub-optimal semen quality in unselected populations of young men. *Hum Reprod* 2000; 15:366-372.
- Sharpe RM. Environment lifestyle and male infertility. *Baillieres Clin Endocr Metabol* 2000; 14:489-503.
- Robaire B, Hales BF. The male germ cell as a target for drug and toxicant action. In: Cagnon C, editor. *The Male Gamete: From Basic Science to Clinical Applications*. Vienna: IL Cache River, 1999.
- Robaire B, Hales BF. *Advances in Male Mediated Developmental Toxicity*. Kluwer/Plenum, New York 2003.
- Boisen KA, Main KM, Rajpert-de Meyets E, Skakkebaek NE. Are male reproductive disorders a common entity? The testicular dysgenesis syndrome. *Ann NY Acad Sci* 2001; 948:90-99.
- Fisher S, Macpherson DS, Marchetti N, Sharpe RM. Human «testicular dysgenesis syndrome»: a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutylphthalate. *Hum Reprod* 2003; 18:1383-1394.
- Asklund C, Jorgensen N, Kold Jensen T, Skakkebaek NE. Biology and epidemiology of testicular dysgenesis syndrome. *BJU* 2004; 93(Suppl):6-11.
- Whorton D, Milby TH, Krauss RM, Stubbs HA. Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. *J Occup Med* 1979; 21:161-166.
- Kelce WR, Stone CR, Law SC, Gray LE, Kempainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p, p-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995; 375:581-585.
- Whorton D, Folliart D. DBCP: eleven years later. *Reprod Toxicol* 1998; 2:155-161.
- Sharpe RM. Lifestyle and environment contri-

- bution to mate fertility. *Br Med Bulletin* 2000; 56(3):630-642.
25. Gray LE, Ostby J, Furr J, Wolf CJ, Lambright CL, Parks L, et al. Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. *Hum Reprod Update* 2001; 7(3):248-264.
 26. Nicolopoulou-Stamati P, Prtsos MA. The impact of endocrine disrupters on the female reproductive system. *Hum Reprod Update* 2001; 7(3):23-30.
 27. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P et al. Mate reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect* 1996; 104(Suppl 4):741-803.
 28. Perera FP, Hemminki K, Jedrychowski W, Whyatt R, Campbell U, Hsu Y, et al. In Utero DNA damage from environmental pollution is associated with somatic gene mutation in newborns. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11:1139-1137.
 29. Virtanen HF, Raipert-De Meyts E, Man KM, Skakkebaek NF, Toppari J. Testicular dysgenesis syndrome and the development and occurrence of male reproductive disorders. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 1(207) (suppl):501-505.
 30. Safe SH. Environment and dietary estrogens and human health: is there a problem? *Environ Health Perspect* 1995; 103:346-351.
 31. Krstevska - Konstantinova M, Charlier C, Craen M, DuCaja M, Heinrichs C, de Beaufort C, et al. Sexual precocity after immigration from developing countries to Belgium: evidence of previous exposure to organochlorine pesticides. *Hum Reprod* 2001; 16:1020-1026.
 32. Somers CM, McCarry BE, Matek F, Quinn JS. Reduction of particulate air pollution lowers the risk of heritable mutations in mice. *Science* 2004; 304:1008-1010.
 33. Samet JM, DeMarini DM, Mailing HV. Do airborne particles induce heritable mutations? *Science* 2004; 304:971-972.
 34. Sclevan SQ, Borkorec L, Stott VI, Zudova Z, Rubes J, Evenson DP, et al. Semen quality and reproductive health of young Czech men exposed to seasonal air pollution. *Environ Health Perspect* 2000; 108:887-94.
 35. De Marini DM. Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate: a review. *Mutat Res* 2004; 567(2-3):447-74.
 36. Perera FP, Rauh V, Tsai WY, Kinney P, Camann D, Barr D, et al. Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. *Environ Health Perspect* 2003; 111:201-5.
 37. Miller WC, Ford CA, Morris M, Hancock MS, Schmilz JL, Hobbs MM, et al. Prevalence of chlamydial and gonococcal infections among young adults in United States. *JAMA* 2004; 291(18):2229-2236.
 38. Azziz R. PCOS: a diagnostic challenge. *Reprod Biomed Online* 2004; 8(6):644-648.
 39. Storgaard L, Bonde JP, Ernst E, Spano M, Andersen CY, Frydenberg M, Olsen J. Does smoking during pregnancy affect son's sperm counts? *Epidemiology* 2003; 14(3):278-286.
 40. Jensen TK, Henriksen TB, Hjollund NH, Schiøtte T, Kolstad T, Givergman A, et al. Adult and prenatal exposures to tobacco smoke as risk indicators of fertility among 430 Danish couples. *Am J Epidemiol* 1998; 148:992-997.
 41. Matzuk MM, Lamb DJ. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. *Nature Cell Biol & Nature Medicine* 2002; S41-S49.
 42. Matikainen TM, Moriyama T, Morita Y, Perez GI, Kosmeyer J, Sherr DH, et al. Ligand activation of the aromatic hydrocarbon receptor transcription factor drives Bax-dependent apoptosis in developing fetal ovarian germ cells. *Endocrinology* 2002; 143:615-620.
 43. Dallinga JW, Moonen EJC, Dumoulin JCM, Evers JLH, Geraets JPM, Kleijnans JCS. Decreased semen quality and organochlorine compounds in blood. *Hum Reprod* 2002; 17(18):1973-1979.
 44. Kester MH, Bulduk S, Tibboel D, Meinel W, Glatt H, Falany CN, et al. Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated PCB metabolites: a novel pathway explaining the estrogenic activity of PCBs. *Endocrinology* 2000; 141:1897-1900.
 45. Kester MH, Bulduk S, van Toor H, Tibboel D, Meinel W, Glatt H, et al. Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated metabolites of polyhalogenated aromatic hydrocarbons reveals alternative mechanism for estrogenic activity of endocrine disrupters. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 87:1142-1150.
 46. Zheng W, Xie D, Cerhan JR, Sellers TA, Wen W, Foison AR. Sulfotransferase 1A1 polymorphism, endogenous estrogen exposure, well-done meat intake and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10:89-94.
 47. Schuppe HC, Wieneke P, Donat S, Pritsche E, Kohn FM, Abel J. Xenobiotic metabolism, genetic polymorphism and male fertility. *Andrologia* 2000; 32:255-262.
 48. Butler D. The fertility riddle. *Nature* 2004; 432:38-39.