



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ:**

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ**

**ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΦΩΤΕΙΝΗ ΣΤΑΜΟΥ, ΜΑ 01498**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΕΙΡΗΝΗ ΗΛΙΑ - ΜΑΙΑ Π.Ε.**

**ΠΤΟΛΕΜΑΪΔΑ, 2022**



## ΕΝΤΥΠΟ ΠΕΡΙ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ

"Με πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω ενυπογράφως ότι είμαι αποκλειστικός συγγραφέας της παρούσας Πτυχιακής Εργασίας, για την ολοκλήρωση της οποίας κάθε βοήθεια είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Έχω αναφέρει πλήρως και με σαφείς αναφορές, όλες τις πηγές χρήσης δεδομένων, απόψεων, θέσεων και προτάσεων, ιδεών και λεκτικών αναφορών, είτε κατά κυριολεξία είτε βάση επιστημονικής παράφρασης.

Αναλαμβάνω την προσωπική και ατομική ευθύνη ότι σε περίπτωση αποτυχίας στην υλοποίηση των ανωτέρω δηλωθέντων στοιχείων, είμαι υπόλογος έναντι λογοκλοπής, γεγονός που σημαίνει αποτυχία στην Πτυχιακή μου Εργασία και κατά συνέπεια αποτυχία απόκτησης του Τίτλου Σπουδών, πέραν των λοιπών συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων.

Δηλώνω, συνεπώς, ότι αυτή η Πτυχιακή Εργασία προετοιμάστηκε και ολοκληρώθηκε από εμένα προσωπικά και αποκλειστικά και ότι, αναλαμβάνω πλήρως όλες τις συνέπειες του νόμου στην περίπτωση κατά την οποία αποδειχθεί, διαχρονικά, ότι η εργασία αυτή ή τμήμα της δε μου ανήκει διότι είναι προϊόν λογοκλοπής άλλης πνευματικής ιδιοκτησίας."

Όνομα και Επώνυμο Συγγραφέα : ΦΩΤΕΙΝΗ ΣΤΑΜΟΥ

ΑΜ: ΜΑ 01498

Υπογραφή:

Ημερομηνία:

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία πολλών αναπαραγωγικών επιπλοκών, συμπεριλαμβανομένων της γυναικείας και ανδρικής υπογονιμότητας, της αποβολής του εμβρύου, της προεκλαμψίας, του περιορισμού της ανάπτυξης του εμβρύου και του πρόωρου τοκετού. Τα σπερματοζώαρια είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στις βλαβερές συνέπειες των ROS. Το οξειδωτικό στρες επηρεάζει τη δραστηριότητά τους, βλάπτει τη δομή του DNA και επιταχύνει την απόπτωση, με αποτέλεσμα όλα αυτά να μειώνουν τον αριθμό τους, να εμποδίζουν την κινητικότητα και την ανάπτυξη της φυσιολογικής μορφολογίας και να βλάπτουν τη λειτουργία τους. Ο ανθρώπινος οργανισμός για να αντιμετωπίσει τις βλάβες αυτές έχει αναπτύξει έναν αντιοξειδωτικό μηχανισμό ο οποίος προστατεύει τα κύτταρα από αντιδράσεις υπεροξειδωσης, περιορίζοντας την κυτταρική βλάβη και βοηθώντας στη διατήρηση της ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης. Το προστατευτικό αντιοξειδωτικό σύστημα στο σπέρμα αποτελείται από ένζυμα, καθώς και από μη ενζυματικές ουσίες. Οι βλάβες του οξειδωτικού stress έχουν αντίκτυπο όχι μόνο στην γυναικεία υπογονιμότητα αλλά και στην διατήρηση και εξέλιξη μιας κύησης με ασφάλεια για την μητέρα και το έμβρυο. Η ισορροπημένη διατροφή της εγκύου και η χορήγηση συμπληρωμάτων έχουν θετικό αντίκτυπο απέναντι στις βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες.

**Λέξεις κλειδιά:** Ελεύθερες ρίζες, Οξειδωτικό stress, Αντιοξειδωτικά, Αναπαραγωγικό σύστημα, Γονιμότητα

## **ABSTRACT**

Oxidative stress is implicated in the pathophysiology of many reproductive complications, including female and male infertility, miscarriage, preeclampsia, fetal growth restriction, and preterm birth. Spermatozoa are particularly vulnerable to the damaging effects of ROS. Oxidative stress affects their activity, damages DNA structure, and accelerates apoptosis, all of which reduce their number, inhibit motility and development of normal morphology, and impair function. To deal with these damages, the human body has developed an antioxidant mechanism that protects cells from peroxidation reactions, limiting cell damage and helping to maintain the integrity of the cell membrane. The protective antioxidant system in sperm consists of enzymes, as well as non-enzymatic substances. Oxidative stress damage has an impact not only on female infertility but also on maintaining and developing a pregnancy safely for the mother and the fetus. The balanced diet of the pregnant woman and the administration of supplements has a positive impact against the damage caused by free radicals.

**Keywords:** Free radicals, Oxidative stress, Antioxidants, Reproductive system, Fertility

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Ελεύθερες ρίζες και αντιοξειδωτικά.....</b>	<b>10</b>
1.1 Ορισμός ελεύθερων ριζών.....	10
1.2 Παραγωγή ελεύθερων ριζών.....	12
1.3 Τα κυριότερα είδη ελεύθερων ριζών.....	14
1.4 Επιδράσεις των ελεύθερων ριζών.....	17
1.5 Οξειδωτικό stress: ορισμός.....	18
1.6 Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στην υγεία.....	19
1.6.1 Ταξινόμηση φυσικών αντιοξειδωτικών .....	20
1.6.2 Ταξινόμηση αντιοξειδωτικών που λαμβάνουμε από την διατροφή.....	25
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Αντιοξειδωτικά στην αναπαραγωγική λειτουργία.....</b>	<b>27</b>
2.1 Γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα.....	28
2.2 Επιπτώσεις του οξειδωτικού stress στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα....	29
2.2.1 Παθήσεις γυναικείας αναπαραγωγής.....	31
2.3 Αντιοξειδωτικά στην γυναικεία αναπαραγωγή.....	34
2.3.1 Αντιοξειδωτικά και ωοθήκες.....	35
2.4 Ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα.....	37
2.5 Οι επιπτώσεις του οξειδωτικού stress στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα....	38
2.6 Επίδραση των αντιοξειδωτικών στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα.....	42
2.6.1 Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά.....	43
2.6.2 Ενζυμικά αντιοξειδωτικά.....	45
2.7 Αντιοξειδωτικά στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.....	46
2.7.1 Πηγές ROS στην ART.....	46
2.7.2 Αντιοξειδωτικά προστατευτικά μέσα.....	48

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η επίδραση των αντιοξειδωτικών στην αναπαραγωγική έκβαση.....</b>	<b>51</b>
3.1 Οξειδωτικό stress στην παθολογία της κύησης.....	52
3.1.1 Οξειδωτικό stress και προεκλαμψία.....	53
3.1.2 Οξειδωτικό stress και περιορισμένη εμβρυική ανάπτυξη.....	54
3.1.3 Οξειδωτικό stress και σακχαρώδης διαβήτης κύησης (ΣΔΚ).....	55
3.1.4 Οξειδωτικό stress και ευσαρκία.....	55
3.1.5 Οξειδωτικό stress και πρόωρος τοκετός.....	56
3.2 Αντιοξειδωτικά στην πρόληψη των επιπλοκών της εγκυμοσύνης.....	57
3.2.1 Σελήνιο.....	58
3.2.2 Χαλκός.....	58
3.2.3 Ψευδάργυρος.....	59
3.2.5 Μαγγάνιο.....	59
3.2.5 Βιταμίνη C και E.....	60
3.3 Διατροφή και εγκυμοσύνη.....	60
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	64
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	65

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια, έχει προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον η μελέτη της επίδρασης των ελεύθερων ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς και η δράση του αντιοξειδωτικού συστήματος σε διάφορους τομείς της ιατρικής. Οι ελεύθερες ρίζες για τον οργανισμό μπορεί να είναι είτε χρήσιμες είτε επιβλαβείς. Όταν υπάρχει ανισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της απομάκρυνσης των ελεύθερων ριζών, τότε στο σώμα αναπτύσσεται μια κατάσταση που ονομάζεται οξειδωτικό stress. Για την προστασία από την βλαπτική επίδραση των ελεύθερων ριζών, ο οργανισμός έχει αναπτύξει ένα αντιοξειδωτικό σύστημα το οποίο βοηθάει στην μείωση διαφόρων νόσων που προκαλούνται από την βλάβη του οξειδωτικού stress στα βιομόρια μεταξύ και της γονιμότητας. Στα δύο φύλα, τα αναπαραγωγικά κύτταρα (γαμέτες), είναι ευαίσθητα σε μεταλλαξογόνους παράγοντες και καταστάσεις που επιδρούν στη δομή του γεννητικού υλικού.

Στην παρούσα εργασία, θα μελετήσουμε την δράση των ελεύθερων ριζών και πώς το οξειδωτικό stress επιδράει στη γυναικεία και ανδρική αναπαραγωγική λειτουργία, αλλά και πώς τα αντιοξειδωτικά καταπολεμούν διάφορες παθήσεις γονιμότητας και επηρεάζουν την εξέλιξη μιας ερχόμενης κύησης. Το πρώτο κεφάλαιο βασίζεται στην κατανόηση της ανάπτυξης, δομής και δράσης των ελεύθερων ριζών απέναντι στον ανθρώπινο οργανισμό αλλά και στην απάντηση του οργανισμού μέσω του αντιοξειδωτικού συστήματος που έχει αναπτύξει. Μεγάλο μέρος των αντιοξειδωτικών συντίθενται από τον ίδιο τον οργανισμό ωστόσο σημαντικό ρόλο παίζουν και τα αντιοξειδωτικά που λαμβάνονται από την διατροφή όπως το ασκορβικό οξύ και η τοκοφερόλη (βιταμίνη C και E).

Το δεύτερο κεφάλαιο, που αποτελεί το κύριο μέρος της εργασίας αυτής εμβαθύνει στις θετικές αλλά κυρίως στις αρνητικές επιπτώσεις των ελεύθερων ριζών στο αναπαραγωγικό σύστημα των δύο φύλων και πώς τα αντιοξειδωτικά ωφελούν τη γονιμότητα. Γυναικείες και ανδρικές παθήσεις όπως, το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), η ενδομητρίωση καθώς και η κισσοκήλη και η μειωμένη κινητικότητα του σπέρματος αντίστοιχα, εξαρτώνται άμεσα από την επίδραση οξειδωτικής και αντιοξειδωτικής αλληλεπίδρασης.



Το τρίτο και τελευταίο κεφάλαιο αναφέρεται στην επίδραση των αντιοξειδωτικών στην έκβαση της κύησης. Σκοπός δεν είναι μόνο η γονιμοποίηση του ωαρίου αλλά και η εξέλιξη της εγκυμοσύνης και ανάπτυξης του εμβρύου με ασφάλεια. Η περιγεννητική νοσηρότητα και θνητότητα μπορεί να προληφθεί με μειωμένη έκθεση σε παράγοντες που αυξάνουν το οξειδωτικό stress και με την κατάλληλη πρόσληψη αντιοξειδωτικών για την ενίσχυση του οργανισμού μέσα από ισορροπημένη διατροφή καθ' όλη την διάρκεια της κύησης.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

### 1.1 Ορισμός Ελεύθερων Ριζών

Τα άτομα αποτελούνται από τον πυρήνα στον οποίον υπάρχουν τα νετρόνια και τα πρωτόνια. Γύρω από τον πυρήνα του ατόμου βρίσκονται τα ηλεκτρόνια τα οποία περιστρέφονται σε διάφορα τροχιακά όπου σε κάθε τροχιακό τα ηλεκτρόνια λειτουργούν ως ζεύγη με αντιπαράλληλη περιστροφή και η δομή αυτή τους προσδίδει μεγαλύτερη σταθερότητα (Παπαγεωργίου, 2005).

Ένα μόριο ή ένα άτομο το οποίο έχει την δυνατότητα της αυτοδύναμης ύπαρξης και περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα μη συζευγμένα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα ορίζεται ως ελεύθερη ρίζα. Φυσιολογικά σε έναν ομοιοπολικό δεσμό υπάρχουν δύο ηλεκτρόνια σε κάθε μοριακή τροχιά, τα οποία είναι συζευγμένα και παρουσιάζουν αντίθετη στροφορμή ή αλλιώς αντιπαράλληλο spin. Ωστόσο, στην περίπτωση των ελεύθερων ριζών, ένα ή και περισσότερα ηλεκτρόνια είναι ασύζευκτα με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν παράλληλη στροφορμή και το κάθε ασύζευκτο ηλεκτρόνιο δίνει τη δυνατότητα στο μόριο είτε να δώσει είτε να λάβει ηλεκτρόνιο μέσω της ένωσης του με άλλα μόρια (Djordjevic, 2004).

Ο ορισμός αυτός περιλαμβάνει το μόριο του οξυγόνου ( $O_2$ ) που έχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια, το άτομο του υδρογόνου (H) που έχει ένα μη συζευγμένο ηλεκτρόνιο, το οξειδίο του αζώτου (NO) που έχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο καθώς και αρκετά μεταβολικά μέταλλα όπως ο  $Fe^{2+}$  και ο  $Fe^{3+}$  που έχουν 4 και 5 ασύζευκτα ηλεκτρόνια αντίστοιχα. Ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο παρουσιάζει μεγάλη έλξη στα ηλεκτρόνια των γύρω ατόμων ως εκ τούτου χημικές αντιδράσεις μεταξύ των μορίων με αποτέλεσμα την μεταφορά ηλεκτρονίων. Οι χημικές αυτές αντιδράσεις ονομάζονται οξειδωαναγωγικές, όπου κατά την οξείδωση ως αποτέλεσμα έχουμε την απώλεια ηλεκτρονίων και κατά την αναγωγή το μόριο προσλαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο από ένα άλλο μόριο (Alkadi, 2020).

Επομένως οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να σχηματιστούν με δύο τρόπους:

- 1) **Ομοιοπολική διάσπαση:** ο ομοιοπολικός δεσμός αποτελείται από ένα ζεύγος ηλεκτρονίων που κοινώνει μεταξύ δύο ατόμων. Με την διάσπαση ενός τέτοιου δεσμού, το ζεύγος ηλεκτρονίων μπορεί να παραμείνει στο ένα μόνο άτομο του μητρικού μορίου με αποτέλεσμα την δημιουργία ιόντων:

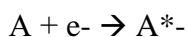


Ή να διαχωριστεί και κάθε άτομο να διατηρήσει ένα ηλεκτρόνιο από το ζεύγος και να παραχθούν δύο ελεύθερες ρίζες:

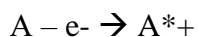


Γενικά, η διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού απαιτεί σημαντική ποσότητα ενέργειας όπως αυτή που προέρχεται από τις ακτινοβολίες UV, τις ακτινοβολίες ιοντισμού και την θερμότητα. Έτσι όταν ιοντισμένη ακτινοβολία προσπέσει σε βιολογικά υλικά προκαλεί μια ποικιλία από ελεύθερες ρίζες. Οι οργανικές ενώσεις όταν εκτίθενται σε μεγάλη θερμοκρασία, όπως είναι η φωτιά ή η άκρη του τσιγάρου που καίγεται παράγουν ένα πολύπλοκο μίγμα ελεύθερων ριζών. Ο καπνός που προέρχεται από το τσιγάρο που καίγεται, περιέχει μεγάλη ποσότητα σε ελεύθερες ρίζες (Παπαγεωργίου, 2005).

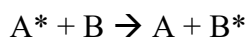
- 2) **Οξειδωαναγωγικές αντιδράσεις:** δηλαδή με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου σε ένα κανονικό μόριο (αναγωγή):



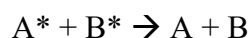
Η με την αφαίρεση ενός ηλεκτρονίου από ένα πλήρες μόριο (οξειδωση):



Οι ελεύθερες ρίζες, συνήθως χημικά είναι πολύ δραστικές, επειδή έχουν ισχυρή τάση να ζευγαρώσουν το ασύζευκτό τους ηλεκτρόνιο. Έτσι, εάν αντιδράσει μια ελεύθερη ρίζα με μια ένωση που δεν είναι ελεύθερη ρίζα, τότε θα παρουσιάσει μία νέα ρίζα:



Όταν όμως μια ελεύθερη ρίζα αντιδράσει με μια άλλη ελεύθερη ρίζα, τότε τα ασύζευκτα τους ηλεκτρόνια θα συζεύξουνε και η ένωση που θα προκύψει δεν θα αποτελεί πλέον ελεύθερη ρίζα:



Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να έχουν είτε αρνητικό, είτε θετικό, είτε ουδέτερο φορτίο και να μπορούν να προκαλέσουν διάφορες αντιδράσεις. Έτσι μπορούν να δώσουν ή να δεχτούν ένα ηλεκτρόνιο, να αφαιρέσουν υδρογόνο από οργανικές ενώσεις, να προκαλέσουν αντιδράσεις προσθήκης, να εξουδετερωθούν μεταξύ τους ή να αντιδράσουν μεταξύ τους σχηματίζοντας δυσανάλογα προϊόντα (Παπαγεωργίου, 2005).

## 1.2 Παραγωγή ελεύθερων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκύψουν τόσο από ενδογενείς όσο και από εξωγενείς μηχανισμούς:

- Ενδογενείς πηγές: Μια μεγάλη ποσότητα ελεύθερων ριζών δημιουργείται ενδογενώς δια μέσου της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, μιας διαδικασίας η οποία πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια και πιο συγκεκριμένα στην εσωτερική τους μεμβράνη (Venditti, 2001). Στον μηχανισμό αυτόν παράγεται η τριφωσφορική αδενοσίνη η αλλιώς το ATP και πολλά ηλεκτρόνια μπορεί να ξεφύγουν από την αναπνευστική αλυσίδα με αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων ριζών. Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες ανήκουν στις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) επειδή κατά την διεργασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης καταναλώνεται μεγάλη ποσότητα οξυγόνου. Εκτός από τις ROS μπορεί να παραχθεί και μονοξείδιο του αζώτου στα μιτοχόνδρια. Επιπρόσθετα, η αιμοσφαιρίνη, μια πρωτεΐνη των ερυθροκυττάρων η οποία είναι υπεύθυνη για την μεταφορά οξυγόνου στα κύτταρα, κάτω από συνθήκες έντονης άσκησης όπου οι απαιτήσεις οξυγόνου είναι πάρα πολύ μεγάλες, μπορεί να αυτοοξειδωθεί και να παράγει περαιτέρω ROS. Τέλος και οι φλεγμονώδεις αντιδράσεις μπορούν να συμβάλλουν στην δημιουργία ελεύθερων ριζών οξυγόνου όπως και τα μακροφάγα και ουδετερόφιλα ευθύνονται για παραγωγή περαιτέρω ROS (Thomas, 2000).

- Εξωγενείς πηγές: Σε αυτή την ομάδα πηγών συμπεριλαμβάνονται διάφοροι ετερογενείς παράγοντες όπως ο καπνός του τσιγάρου, η ρύπανση της ατμόσφαιρας, το όζον, τα βιοχημικά απόβλητα και η ηλιακή ή η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Επίσης διάφορα φάρμακα, εντομοκτόνα, τοξίνες όπως και το αλκοόλ ευθύνονται για την παραγωγή ROS (Gutteridge, 2015).

### **1.2.1 Σχηματισμός ROS κατά την φαγοκυττάρωση**

Τα φαγοκύτταρα, που απαρτίζονται από τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, όταν έρχονται αντιμέτωπα με ξένα σωματίδια αρχίζουν να καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες οξυγόνου, μεγαλύτερες από ότι χρησιμοποιούσαν στα μιτοχόνδρια κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση για την παραγωγή ενέργειας. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται οξειδωτική έκρηξη και χρησιμοποιείται από τα φαγοκύτταρα για την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου έτσι ώστε να καταστρέψουν τα παθογόνα μικρόβια. Οι δραστικές αυτές μορφές παράγονται από την NDPH οξειδάση, την δεισμυτάση του υπεροξειδίου (SOD), την σύνθεση του μονοξειδίου του αζώτου και την μυελοϋπεροξειδάση (Σπανίδης, 2015).

### **1.2.2 Σχηματισμός ROS με την οξειδάση της ξανθίνης**

Το φαινόμενο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, διακρίνεται κατά την αναερόβια άσκηση, όπου κατά την ισχαιμία παρατηρείται σημαντική μείωση του οξυγόνου. Την περίοδο της επαναιμάτωσης η μεγάλη αύξηση στη ροή του οξυγόνου έχει ως αποτέλεσμα και την αύξηση των ROS που επιφέρουν οξειδωτική καταστροφή των ιστών (McBride, 1999). Κατά το φαινόμενο αυτό συμμετέχει η οξειδάση της ξανθίνης. Η οξειδάση της ξανθίνης γίνεται κυρίως με την δεϋδρογονάση της ξανθίνης η οποία καταλύει την οξείδωση της υποξανθίνης και ξανθίνης σε ουρικό οξύ και έχουμε ταυτόχρονα σχηματισμό  $O_2\cdot^-$  (Σπανίδης, 2015).

### **1.2.3 Σχηματισμός ROS κατά την μετατροπή της αιμοσφαιρίνης**

Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παράγονται και κατά την μετατροπή της αιμοσφαιρίνης σε μεθαιμοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες κάθε μια από τις οποίες συνδέονται και με μια ομάδα αίμης. Η αίμη περιέχει στον δακτύλιο της σίδηρο ο οποίος βρίσκεται σε αναγωγική κατάσταση ( $Fe^{2+}$ ) και παραμένει στην κατάσταση αυτή ακόμα και όταν συνδέεται με το  $O_2$ . Παρ' όλα αυτά ορισμένα ηλεκτρόνια του σιδήρου υφίστανται μετατόπιση προς το  $O_2$  με αποτέλεσμα

την δημιουργία μιας ενδιάμεσης μορφής η διάσπαση της οποίας απελευθερώνει το σουπεροξειδίο ( $O_2^{\cdot-}$ ) (Brantley, 1993).

#### **1.2.4 Σχηματισμός ROS κατά τον μεταβολισμό των εικοσανοειδών**

Ως εικοσανοειδές αναφέρονται οι προσταγλανδίνες, τα λευκοτριένια, τα θρομβοξάνια και οι προστακυκλίνες επειδή η βιοσύνθεση τους γίνεται στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με είκοσι άτομα άνθρακα. Η σημαντικότερη πρόδρομη ουσία τους είναι το αραχιδονικό οξύ, το οποίο απελευθερώνεται με τη δράση της φωσφολιπάσης A<sub>2</sub> από τα φωσφογλυκερίδια στις κυτταρικές μεμβράνες. Η μετατροπή του σε βιολογικά ενεργά εικοσανοειδή αποτελεί μια ενζυμική λιπιδική υπεροξειδωση.

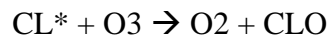
#### **1.2.5 Σχηματισμός ROS με οξειδωαναγωγικό κύκλο**

Στον οξειδωαναγωγικό κύκλο, η αναγωγή του  $O_2$  με ένα ηλεκτρόνιο προκαλείται κυρίως από εξωγενείς ουσίες οι οποίες ουσίες αρχικά ανάγονται στα κύτταρα από τις NADPH. Στη συνέχεια αντιδρά με το  $O_2$  και παράγουν το σουπεροξειδίο. Ο οξειδωαναγωγικός κύκλος εξηγεί την τοξικότητα πολλών ουσιών τοξικών, με κινουειδή σύνταξη, επειδή οι ουσίες αυτές μπορούν πολύ εύκολα να παράγουν στα κύτταρα των θηλαστικών το σουπεροξειδίο (Brantley, 1993).

### **1.3 Τα Κυριότερα Είδη Ελεύθερων Ριζών**

Μία από τις πιο σημαντικές ελεύθερες ρίζες αποτελούν τα μόρια που ως βάση έχουν το οξυγόνο. Ήδη το ατμοσφαιρικό οξυγόνο που αναπνέουμε αποτελεί μια ελεύθερη ρίζα καθώς αποτελείται από δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια και βρίσκονται σε δύο διαφορετικά αντιδραστικά τροχιακά. Τα ηλεκτρόνια αυτά για να ζευγαρώσουν είναι απαραίτητο το μόριο του οξυγόνου να έρθει σε επαφή με ένα άλλο μόριο το οποίο θα περιέχει και αυτό από δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια με παράλληλο spin. Η διαδικασία αυτή δεν είναι τόσο εύκολη δεδομένου ότι τα περισσότερα μόρια ή άτομα περιέχουν συνήθως μόνο ένα ζεύγος ηλεκτρονίων στο μοριακό ή ατομικό τους τροχιακό με αντιπαράλληλο spin και ως αποτέλεσμα το μόριο οξυγόνου να έχει περιορισμένη οξειδωτική ικανότητα. Η ικανότητα αυτή του οξυγόνου μπορεί να χρησιμοποιηθεί όταν αυτό αντιδράσει με ασύζευκτα ηλεκτρόνια άλλων μορίων/ατόμων (άλλες ελεύθερες ρίζες) αλλά και με την μετατόπιση ενός από τα δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια σε μια άλλη στιβάδα με αποτέλεσμα την σύζευξή τους (Παπαγεωργίου, 2005).

- I. **Όζον (O<sub>3</sub>):** Το μόριο του όζοντος, περιέχει τρία άτομα οξυγόνου και είναι ένα ερεθιστικό αέριο, ανοιχτού κυανού χρώματος, με χαρακτηριστική δριμεία οσμή. Το όζον είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό αέριο ελάχιστα διαλυτό στο νερό. Απαντάται κυρίως στα ανώτερα στρώματα της ατμόσφαιρας όπου σχηματίζεται με φωτοδιάσπαση του O<sub>2</sub> με την βοήθεια της υπεριώδους ακτινοβολίας σε ατομικό οξυγόνο το οποίο μετέπειτα αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο και προκύπτει το όζον. Το όζον αυτό, περιβάλλει την γη και έχει μεγάλη ζωτική σημασία καθώς απορροφά τις βλαπτικές για τους ζωντανούς οργανισμούς UV ακτινοβολίες. Οι χλωριοφθοριοάνθρακες (CF<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>, CFCL<sub>3</sub>) που περιέχονται στα αεροζόλ, καταστρέφουν την στοιβάδα του όζοντος στα ψηλά στρώματα της ατμόσφαιρας και με ομολυτική φωτοδιάσπαση των χλωριοφθοριοανθράκων παράγονται ρίζες χλωρίου οι οποίες αντιδρούν με το όζον και το διασπών (Mustafa, 1990).



- II. **Σουπεροξειδίο (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>):** Το σουπεροξειδίο είναι αποτέλεσμα την αναγωγής του οξυγόνου με ένα ηλεκτρόνιο και έτσι παράγεται ένα ανιόν της ρίζας του οξυγόνου. Ο συμβολισμός του σουπεροξειδίου ως O<sub>2</sub><sup>·-</sup> υποδηλώνει την ύπαρξη ενός ασύζευκτου ηλεκτρονίου με την τελεία αλλά και ότι έχει αρνητικό φορτίο με την παύλα. Το σουπεροξειδίο, σχηματίζεται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων η οποία είναι πλούσια σε ηλεκτρόνια κατά τη διάρκεια της λειτουργίας «της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων». Επίσης μπορεί να δημιουργηθεί και από τα φλαβοένζυμα ενδογενώς κατά την περίοδο ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, καθώς και από ένζυμα όπως η NADPH-οξειδάση των φαγοκυττάρων, η λιποοξυγενάση και η κλοοξυγενάση (Laurindo, 2008).
- III. **Υπεροξειδίο του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** Το υπεροξειδίο του υδρογόνου προκύπτει από την αναγωγή του οξυγόνου με δύο ηλεκτρόνια. Συνήθως είναι αποτέλεσμα της αντίδρασης δύο μορίων σουπεροξειδίου (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>). Αρκετά οξειδωτικά ένζυμα όπως είναι η οξειδάση του ουρικού, η οξειδάση της γλυκόζης, και οι οξειδάσες των D- αμινοξέων, παράγουν απευθείας H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> με μεταφορά δύο ηλεκτρονίων στο οξυγόνο. Ωστόσο υπεροξειδίο του υδρογόνου φαίνεται να παράγεται και σε αρκετά βακτήρια, στα φαγοκύτταρα και στους χλωροπλάστες. Το υπεροξειδίο του υδρογόνου παρόλο που δεν αποτελεί ελεύθερη ρίζα καθώς δεν έχει ασύζευκτα ηλεκτρόνια, μπορεί εύκολα να

διασπαστεί , ειδικά με την παρουσία μεταλλικών ιόντων, σχηματίζοντας έτσι μια ιδιαίτερα δραστική αλλά και πολύ τοξική για τα κύτταρα ελεύθερη ρίζα την υδροξειδική ρίζα ( $\text{HO}\cdot$ ) (Lee, 2000).

- IV. Υπεροξειδικές ρίζες ( $\text{ROO}\cdot$ ):** Οι υπεροξειδικές ρίζες σχηματίζονται όταν ένα μόριο οξυγόνου συνδέεται με οργανικές ελεύθερες ρίζες (ρίζες άνθρακα). Οι ρίζες αυτές έχουν την ικανότητα να αφαιρούν άτομα υδρογόνου από λιπίδια και να ενεργοποιούν την λιπιδική υπεροξειδωση προκαλώντας ισχυρή τοξικότητα. Ιόντα σιδήρου ( $\text{Fe}^{2+}$ ) και χαλκού ( $\text{Cu}^+$ ) διασπών τα  $\text{ROOH}$  και παράγουν αλκοξυλικές ρίζες (Παπαγαλάνης, 2014).
- V. Υδροξυλική ρίζα ( $\text{OH}\cdot$ ):** Μια ρίζα με μεγάλη δραστηριότητα και τοξικότητα είναι η υδροξυλική ρίζα καθώς μπορεί να προσβάλλει και να οξειδώσει μεγάλο μέρος των βιομορίων που βρίσκονται κοντά στον τόπο παραγωγής της αφού έχει την δυνατότητα να αφαιρεί τα άτομα υδρογόνου από τις οργανικές ενώσεις δημιουργώντας έτσι μια αλυσίδα από νέες ρίζες. Κύριο χαρακτηριστικό της είναι η αντίδραση της με την γουανιδίνη του DNA και η παραγωγή της 8-υδροξυγουανιδίνης ρίζας. Μια υδροξυλική ρίζα σχηματίζεται μετά από την έκθεση σε ακτινοβολία, την διάσπαση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  με  $\text{O}_2^{\cdot-}$  αλλά και με ιόντα μεταβολικών μετάλλων όπως ο σίδηρος και ο χαλκός. Τα ιόντα σιδήρου φαίνεται πως καταλύουν μεγάλες ποσότητες  $\text{O}_2^{\cdot-}$  προς  $\text{OH}\cdot$ .
- VI. Μονοξείδιο του αζώτου ( $\text{NO}\cdot$ ):** Το μονοξείδιο του αζώτου είναι ένα αέριο ελάχιστα υδατοδιαλυτό αλλά αρκετά διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες. Επειδή δεν έχει φορτίο, εύκολα μετακινείται μέσα στα κύτταρα αλλά και μεταξύ των κυττάρων. Ως ελεύθερη ρίζα είναι αρκετά σταθερό. Σε διαλύματα που περιέχουν οξυγόνο αντιδρά αυθόρμητα με αυτό και σχηματίζει το  $\text{NO}_2^-$ . Στον αέρα το μονοξείδιο του αζώτου οξειδώνεται εύκολα από το οξυγόνο και σχηματίζεται το διοξείδιο του αζώτου  $\text{NO}_2\cdot$ . Το  $\text{NO}\cdot$  φαίνεται να λαμβάνει μέρος σε βιολογικούς μηχανισμούς ζωτικής σημασίας για την καλή λειτουργία του κυττάρου όπως για παράδειγμα την χάλαση, τη φλεγμονή, την νευροδιαβίβαση και τον κυτταρικό θάνατο (Παπαγαλάνης, 2014).
- VII. Υποχλωριώδες οξύ ( $\text{HOCl}$ ):** Η ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων κυττάρων είναι υπεύθυνη για τον σχηματισμό του  $\text{HOCl}$ . Όταν ενεργοποιηθούν, ένα ένζυμο που εντοπίζεται στο κυτόπλασμα των φαγοκυττάρων, η μυελοϋπεροξειδάση, καταλύει τον σχηματισμό του  $\text{HOCl}$  από  $\text{H}_2\text{O}_2$  σε  $\text{Cl}^-$ . Παρ' όλο που το υποχλωριώδες οξύ είναι ασθενές οξύ, χημικά είναι πολύ



δραστικό και όταν βιολογικά διαλύματα περιέχουν σίδηρο ή σουπεροξειδίο, μπορούν να σχηματιστούν υδροξυλικές ρίζες από το HOCL (Παπαγεωργίου, 2005).

## **1.4 Επιδράσεις των ελεύθερων ριζών**

### **Αρνητικές επιδράσεις:**

Η υπέρμετρη κατανάλωση ελεύθερων ριζών ευθύνεται για την δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, την κόπωση και την μυϊκή καταστροφή (Nikolaidis 2008). Οι ελεύθερες ρίζες οξειδώνουν διάφορα βιομόρια όπως το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια και έχουν συσχετιστεί με διάφορες παθήσεις όπως τη νόσο του Alzheimer, τη γήρανση, τη κατάθλιψη και την υπογονιμότητα (Gutteridge, 2015).

### **Θετικές επιδράσεις:**

Οι ελεύθερες ρίζες είναι περισσότερο γνωστές για τις επιβλαβείς τους δράσεις στους ζωντανούς οργανισμούς, ωστόσο φαίνεται να λαμβάνουν μέρος και στις φυσιολογικές τους αντιδράσεις. Πολλές ελεύθερες ρίζες και κυρίως οι ρίζες οξυγόνου, συμμετέχουν στο ανοσοποιητικό σύστημα και τον αμυντικό μηχανισμό έναντι των αντιγόνων κατά την διάρκεια της φαγοκυττάρωσης (Jenkins, 1988). Οι ελεύθερες ρίζες συμμετέχουν στη διακυτταρική επικοινωνία (Reid, 2001), την απόπτωση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την έκφραση γονιδίων και την μυϊκή συστολή αλλά και κατά την διάρκεια μιας φλεγμονώδους αντίδρασης (Malm, 2001).

## ΛΙΠΙΔΙΑ

Τα λιπίδια είναι απαραίτητα δομικά συστατικά των κυττάρων και χρησιμοποιούνται κυρίως για την αποθήκευση ενέργειας επειδή κατά την διάσπαση τους απελευθερώνεται μεγάλο μέρος ενέργειας. Αποτελούν λιποδιαλυτά μόρια και τα συναντάμε σε τρεις κατηγορίες, τα ουδέτερα λίπη που χωρίζονται στα ακόρεστα και τα πολυακόρεστα, τα φωσφολιπίδια και τα στεροειδή. Τα λιπίδια είναι πολύ ευαίσθητα στην οξείδωση και μπορούν εύκολα να υποστούν βλάβες από ελεύθερες ρίζες (Young, 2001).

## ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες αποτελούν δομικά στοιχεία και είναι αποτέλεσμα συνδυασμού είκοσι διαφορετικών αμινοξέων που συντάσσονται στα ριβοσώματα. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν να οξειδώσουν τις δομικές πρωτεΐνες και να τροποποιήσουν την λειτουργία και δομή τους. Ως επακόλουθο της οξείδωσης των πρωτεϊνών είναι η δημιουργία οξειδωμένων αμινοξέων και καρβονυλίων που χρησιμοποιούνται συχνά ως δείκτες του οξειδωτικού stress (Levine, 2002).

## ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Το γενετικό υλικό ή αλλιώς DNA είναι ένα αρκετά σταθερό μόριο που όμως οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν να καταστρέψουν. Οι βλάβες που συνήθως παρακαλούνται από τις ROS αφορούν τροποποιήσεις στις βάσεις του, βλάβες στις πουρίνες και θραύσεις στις έλικες του. Όλες αυτές οι δομικές αλλαγές του γενετικού υλικού μετά από επίθεση ελεύθερων ριζών οδηγούν σε μεταλλάξεις επιβλαβείς για τον οργανισμό (Radak, 1996).

### **1.5 Οξειδωτικό stress: Ορισμός**

Ως Οξειδωτικό stress ορίζεται « η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών, προς όφελος των οξειδωτικών, που οδηγεί σε διακοπή του ελέγχου της οξειδωαναγωγικής βλάβης των μορίων» (Jones, 2007). Οι ελεύθερες ρίζες τόσο του αζώτου, αλλά κυρίως του οξυγόνου αποτελούν σημαντικά προϊόντα του μεταβολισμού που όταν βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό ενοχοποιούνται για εκτεταμένες βλάβες λόγω οξείδωσης των λιπιδίων, των μεμβρανών, του γενετικού υλικού και των πρωτεϊνών. Η μόνιμη τροποποίηση του γενετικού υλικού από οξειδωτική βλάβη οδηγεί σε καρκινογένεση, μεταλλαξογένεση καθώς και πρόωρη γήρανση. Το οξειδωτικό stress, μπορεί να προκληθεί από δύο λόγους:

1. Περιορισμένη δράση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών που μπορεί να δημιουργηθεί είτε λόγω μεταλλάξεων είτε μέσω τοξικών ενζύμων που επηρεάζουν την δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών.

2. Αυξημένη έκθεση των κυττάρων του οργανισμού σε ελεύθερες ρίζες αλλά και στην ύπαρξη παραγόντων που οδηγούν τον ίδιο τον οργανισμό σε αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών (Halliwell, 2006).



**ΕΙΚΟΝΑ 1. Βλάβη κυττάρων από ελεύθερες ρίζες**

(ΠΗΓΗ: <https://www.onmed.gr/vgeia/story/382519/>)

## 1.6 Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στην υγεία

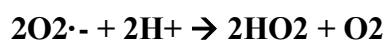
Ο οργανισμός από την πλευρά του, για να διατηρήσει το επίπεδο των οξειδωτικών σε ισορροπία και να περιορίσει τις βιολογικές βλάβες που αυτά προκαλούν, έχει αναπτύξει έναν μηχανισμό που αποτελείται από διάφορους τύπους αντιοξειδωτικών ενζύμων αλλά και αντιοξειδωτικών χαμηλής μοριακής μάζας, σχηματίζοντας έτσι ένα αντιοξειδωτικό δίκτυο. Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει μόνο ένα αντιοξειδωτικό που προφυλάσσει τον οργανισμό από όλων των ειδών τις ελεύθερες ρίζες, αλλά έχει δημιουργηθεί ένα σύμπλεγμα αντιοξειδωτικών όπου το κάθε ένα δρα κατά περίπτωση. Έτσι, η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού διαφέρει από ιστό σε ιστό και από κύτταρο σε κύτταρο. Η δράση των αντιοξειδωτικών στηρίζεται στην παρεμπόδιση της οξείδωσης των βιομορίων είτε προσφέροντας κάθε φορά τα ηλεκτρόνια ή τα υδρογόνα που έχουν σε έλλειψη οι ελεύθερες ρίζες, παρεμποδίζοντας έτσι την δράση τους, είτε ενεργοποιώντας μηχανισμούς αμυντικούς για την καταστροφή τους (Χαραλαμπίδου, 2020).

### 1.6.1 Ταξινόμηση φυσικών αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά που καταστέλλουν τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών αναφέρονται ως « πρώτης γραμμής προστασίας» και περιλαμβάνουν ορισμένες πρωτεΐνες όπως η τρανσφερρίνη, η αλβουμίνη, η σερούλοπλασμίνη κ.α. Δρουν σχηματίζοντας χημικές ενώσεις κυρίως με μεταλλικά ιόντα σιδήρου και χαλκού και παρεμποδίζουν τη δράση των ελεύθερων ριζών. Αντίθετα τα αντιοξειδωτικά « δεύτερης γραμμής» είναι εκείνα που καθαρίζουν της ελεύθερες ρίζες ή αποτρέπουν μια αλυσιδωτή αντίδραση. Τέτοιου είδους αντιοξειδωτικά είναι η ουβικινόνη, το ουρικό οξύ και η χολερυθρίνη και αναφέρονται ως χαμηλού μοριακού βάρους. Τα ένζυμα εκείνα που ευθύνονται για τις επιδιορθώσεις του γενετικού υλικού από την επίθεση των ελεύθερων ριζών, συμπεριλαμβάνονται στα αντιοξειδωτικά « τρίτης γραμμής προστασίας» συμβάλλοντας έτσι στην πρόληψη από μεταλλάξεις (Παπαγεωργίου, 2005).

#### ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ:

- **Δισμουτάσες του σουπεροξειδίου (SOD):** Οι δισμουτάσες του σουπεροξειδίου είναι μία ομάδα μεταλλοενζύμων που καταλύουν την αντίδραση του σουπεροξειδίου σε υπεροξείδιο του υδρογόνου. Αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των ελεύθερων ριζών του οξυγόνου χρησιμοποιώντας ιόντα μετάλλων που υπάρχουν στην ενεργή θέση των SODs. Ανάλογα με το μέταλλο που χρησιμοποιείται ταξινομούνται σε τέσσερις διακριτές τάξεις. 1) SODs-χαλκός-ψευδάργυρος (Cu,Zn-SOD), 2) SODs-σίδηρος ( Fe-SOD), 3) SODs-μαγγάνιο (Mn-SOD), SODs-νικέλιο. Το ένζυμο αυτό, χρησιμεύει ως αντιφλεγμονώδης παράγοντας αλλά αποτρέπει και την δημιουργία καρκινικών κυττάρων. Με την πάροδο των χρόνων στα επίπεδα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου στο σώμα του ανθρώπου αρχίζουν και φθίνουν κάνοντας τον οργανισμό πιο ευάλωτο σε ασθένειες που οφείλονται στο οξειδωτικό stress. Μερικά από τα προβλήματα υγείας που σχετίζεται αφορούν την κυστική ίνωση (CF), κακοήθεια του μαστού, επίκτητη ανοσοεπάρκεια (AIDS), καρκίνο, ισχαιμία και σακχαρώδη διαβήτη. Την ίδια αντίδραση καταλύουν και οι δισμουτάσες του σουπεροξειδίου (Ighodaro, 2018).



- **Καταλάσες:** Οι καταλάσες, είναι από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά ένζυμα και συναντώνται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο ήπαρ, και στα ερυθροκύτταρα εν αντιθέσει με τον εγκέφαλο, την καρδιά και τον μυϊκό ιστό. Οι καταλάσες διασπούν δύο μόρια υπεροξειδίου του υδρογόνου σε ένα μόριο οξυγόνου και δύο μόρια νερού. Υπάρχουν τρία είδη καταλάσης και διαχωρίζονται με βάση τις διαφορές στην αλληλουχία και τη δομή τους. 1) το μονολειτουργικό ένζυμο καταλάσης που περιέχει αίμη και είναι το πιο διαδεδομένο, 2) η διλειτουργική καταλάση - υπεροξειδάση λιγότερο άφθονη στη φύση περιέχει εξίσου αίμη, 3) καταλάση που περιέχει μαγγάνιο και δεν έχει αίμη. Στον ανθρώπινο οργανισμό συναντάται η μονολειτουργική καταλάση με μία αίμη και μια ομάδα πρωτοπορφιρίνης IX σιδήρου που αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η ανεπάρκεια σε καταλάσες φαίνεται να σχετίζεται με παθήσεις όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, η λεύκη και καρδιαγγειακές παθήσεις. Οι καταλάσες ανάγουν ένα μόριο H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε H<sub>2</sub>O με ταυτόχρονη οξείδωση ενός ακόμα μορίου H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε H<sub>2</sub>O (Ighodaro, 2018).



- **Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης που περιέχουν σελήνιο(GPx):** Η υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης αφορούν μια ομάδα ενζύμων που προάγουν τον μεταβολισμό του υπεροξειδίου του υδρογόνου και προστατεύουν την κυτταρική μεμβράνη από οξειδωτική βλάβη. Στους ιστούς των θηλαστικών έχουν εντοπιστεί 8 GPxs (GPxs1-GPxs8) όπου παρουσιάζουν γενετικές και δομικές διαφορές και δρουν κοινά ή ξεχωριστά. Μεταξύ αυτών υπάρχουν και πέντε ισοένζυμα GPx που εξαρτώνται από το σελήνιο και έχουν παρόμοια καταλυτική δράση και αποτελούνται από: α) την υπεροξειδάση του κυτοδιαλύματος, β) την γαστρεντερική υπεροξειδάση, γ) την υπεροξειδάση του πλάσματος, δ) την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και ε) την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης του πυρήνα του σπέρματος.
- **Τρανσφεράσες-S της γλουταθειόνης (GSTs):** Οι GSTs αποτελούν μια οικογένεια ενζύμων με σημαντικό ρόλο στην αποτοξίνωση του οργανισμού από ηλεκτρονιόφιλες εξωγενώς χορηγούμενες ουσίες. Έχουν την δυνατότητα να μεταβολίζουν μια μεγάλη ποικιλία τοξικών χημικών ενώσεων

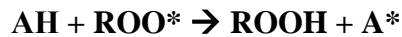
συμπεριλαμβανομένων χημικοθεραπευτικών φαρμάκων, περιβαλλοντικών ρύπων και προϊόντα του οξειδωτικού stress. Οι πολυκυκλικοί αρωματικού υδρογονάνθρακες (PAH) που χρησιμοποιούνται σε φαρμακευτικά, γεωργικά θερμοσκληρυνόμενα πλαστικά και λιπαντικά υλικά, κατηγορούνται για την καρκινογόνο και μεταλλαξογόνο δράση τους. Τροφές που μαγειρεύονται σε μεγάλες θερμοκρασίες, ψήσιμο στη σχάρα, τηγάνισμα, κάπνισμα αποτελούν επίσης πηγές PAH. Επομένως οι GSTs παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποτοξίνωση των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (Dasari, 2018).

- **DT-διαφοράση (NADPH):** Η NADPH αποτελείται από δύο υποομάδες όμοιες μεταξύ τους. Το ένζυμο αυτό καταλύει την αναγωγή των κινουαίων ενώσεων προσφέροντας δύο ηλεκτρόνια. Μεταξύ των κινουαίων ενώσεων καλύτερα υποστρώματα για την DT-διαφοράση είναι εκείνα που δεν περιέχουν στον κινουαίο δακτύλιο πλάγια αλυσίδα. Η ουβικινόνη 10 (συνένζυμο Q10) η οποία έχει μεγάλες πλάγιες αλυσίδες δεν μπορεί να καταλυθεί από το ένζυμο αυτό (Lee, 2012).
- **Υπεροξειδοξίνες (Prdx):** Οι υπεροξειδοξίνες αποτελούν μια ομάδα 6 ισόμορφων οι οποίες έχουν ως βάση την κυστεΐνη και εμπλέκονται σε διάφορες βιολογικές λειτουργίες. Τα Prdx αντιδρούν με υπεροξείδιο του υδρογόνου και άλλα υδρουπεροξείδια. Οι υπεροξειδάσες εντοπίζονται κυρίως στο κυτοσόλη αλλά και σε άλλα μέρη του κυττάρου σε υψηλά επίπεδα (Cox, 2010).
- **Θειορεδοξίνες και αναγωγή της θειορεδοξίνης (Trx):** Το σύστημα θειορεδοξίνης και αναγωγής της θειορεδοξίνης αποτελεί σημαντικό αντιοξειδωτικό σύστημα κατά του οξειδωτικού stress καθώς μέσω της αναγωγής δισουλφιδίου ρυθμίζεται η ισορροπία της πρωτεΐνης διθειόλης/δισουλφιδίου. Το σύστημα Trx παρέχει ηλεκτρόνια στις υπεροξειδοξίνες για γρήγορη απομάκρυνση των ενεργών ειδών οξυγόνου και αζώτου. Ως αντιοξειδωτικό, οι Trx συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA και των πρωτεϊνών αλλά και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απάντηση του οργανισμού απέναντι σε μόλυνση από κάποιον ιό. Η διαθεσιμότητα του σεληνίου είναι ένας βασικός παράγοντας που καθορίζει τη δραστηριότητα των Trx. Τόσο οι θειορεδοξίνες όσο και η αναγωγή της

θειορεδοξίνης, παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία έναντι του οξειδωτικού τραυματισμού, της κυτταρικής ανάπτυξης και της ανακύκλωσης του ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) από την οξειδωτική του μορφή (Παπαγεωργίου, 2005).

### ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΠΟΥ Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΓΙΝΕΤΑΙ IN VIVO

Για την αποφυγή των επιπτώσεων των ελεύθερων ριζών, τα κύτταρα χρησιμοποιούν μια σειρά ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους. Η εξουδετέρωση αυτών γίνεται με την απόδοση ενός ατόμου υδρογόνου. Οι ενώσεις λοιπόν αυτές που δρουν ως αντιοξειδωτικά μόρια, έχουν την δυνατότητα να αποδίδουν εύκολα άτομα υδρογόνου (AH)



- **Γλουταθειόνη (GSH):** Η γλουταθειόνη, μια μη πρωτεϊνική θειόλη μικρού μοριακού βάρους, είναι ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό που προστατεύει τα κύτταρα από βλάβες που προκαλούνται από τα υπεροξειδία των λιπιδίων, τα δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου. Η γλουταθειόνη είναι ένα τριπεπτίδιο που περιέχει θειόλη και συνίσταται από L-γλουταμινικό, κυστεΐνη και γλυκίνη. Υπάρχει σε αφθονία στα θηλαστικά κύτταρα ωστόσο φαίνεται ότι αυξημένες τιμές γλουταθειόνης συναντώνται σε καρκινικά κύτταρα και συμβάλει σημαντικά στην παθολογία του καρκίνου και στην αντίσταση στην θεραπεία του (Zhang, 2020).
- **Ουβικινόνη:** Η ουβικινόνη η αλλιώς το συνένζυμο Q, δρα ως συστατικό της μοτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας και προστατεύει τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης αλλά και την λιποπρωτεΐνη του ορού από υπεροξείδωση των λιπιδίων. Μπορεί να αναστείλει την έναρξη και την πρόοδο της λιπιδικής υπεροξείδωσης τόσο στις LDL όσο και στις κυτταρικές μεμβράνες. Επίσης, η ουβικινόνη αναγεννά την τοκοφερόλη (βιταμίνη E) (Ernster, 1995).
- **Λιπαϊκό οξύ:** Το α-λιπαϊκό οξύ, παίζει σημαντικό ρόλο στις αντιδράσεις της μοτοχονδριακής αφυδρογονάσης. Αντιδρά με δραστικά είδη οξυγόνου και προστατεύει τις μεμβράνες αλληλοεπιδρώντας με την βιταμίνη C και την

γλουταθειόνη. Η εξωγενής χορήγηση λιπαϊκού οξέος έχει αποδειχθεί ωφέλιμη έναντι του οξειδωτικού stress, του σακχαρώδη διαβήτη, της ενεργοποίησης του HIV και του νευροεκφυλισμού από ακτινοβολία (Packer, 1995).

- **Μελατονίνη:** Η μελατονίνη, μειώνει σημαντικά το οξειδωτικό stress στα γηραιά κύτταρα και στα κύτταρα που εκτίθενται σε τοξίνες. Είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό με μεγαλύτερη συγκέντρωση στα μιτοχόνδρια. Η βιοσύνθεση της γίνεται από την σεροτονίνη κυρίως τις βραδινές ώρες (Rodriguez, 2004).
- **Χολερυθρίνη:** Η σύνθεση της χολερυθρίνης ενεργοποιείται κάτω από συνθήκες οξειδωτικού stress και προτάσσεται ως φυσικό αντιοξειδωτικό. In vitro μελέτες δείχνουν ότι αναστέλλει την παραγωγή του σουπεροξειδίου, εξουδετερώνει το μονήρες οξυγόνο και είναι ισχυρός εκκαθαριστής της υπεροξειδικής ρίζας. Η αλβουμίνη και τα λιπαρά οξέα συνδέονται με την χολερυθρίνη και προστατεύονται από την επίδραση των ελεύθερων ριζών και κάτω από συνθήκες οξειδωτικού stress (Rodriguez, 2004).
- **Οιστρογόνα:** Η οιστραδιόλη, οιστρόνη και οιστριόλη αναστέλλουν την λιπιδική υπεροξειδωση που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες και η αντιοξειδωτική του ικανότητα προέρχεται από το φαινολικό υδροξύλιο που περιέχουν. Ωστόσο οι συγκεντρώσεις p/mol που χρειάζονται για να δράσουν ως αντιοξειδωτικά είναι πολύ μεγάλες σε σχέση με την φυσιολογική τους συγκέντρωση στον οργανισμό. Όταν τα οιστρογόνα αντιδρούν με ROO\* παράγονται φαινοξυλικές ρίζες οι οποίες μπορούν να βλάψουν το DNA και πρωτεΐνες. Έτσι παρά την αντιοξειδωτική τους ικανότητα μπορούν να δράσουν και ως προ-οξειδωτικές ενώσεις. Η συνθετική διαιθυλο-στιλβοιστρόλη παρά την επίδραση έναντι της λιπιδικής υπεροξειδωσης, χαρακτηρίζεται ως καρκινογόνος ουσία για τον άνθρωπο για αυτό χρειάζεται μεγάλη προσοχή στη χορήγηση για θεραπευτικούς σκοπούς (Bellanti, 2013).
- **α-Κετοξέα:** Κετοξέα όπως το α-κετογλουταρικό και το πυρουβικό, αντιδρούν μη ενζυμικά και εκκαθαρίζουν το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Παπαγεωργίου, 2005).



## 1.6.2 Ταξινόμηση αντιοξειδωτικών που λαμβάνονται από την διατροφή

Διάφορες ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση έχουν εντοπιστεί σε μια μεγάλη κατηγορία φυτών. Οι ενώσεις αυτές περιλαμβάνουν το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), τα καροτενοειδή, τις τοκοφερόλες, τις αρωματικές αλκοόλες και τα φαινολικά οξέα. Τα παραπάνω αντιοξειδωτικά ανευρίσκονται σε διάφορα φρούτα, λαχανικά, βότανα, στο σιτάρι, το κρασί και ποικίλα καρυκεύματα

- **Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη-C):** Το ασκορβικό οξύ, είναι ένα απαραίτητο συστατικό για τον άνθρωπο με μεγάλη αντιοξειδωτική δράση λόγω της δυνατότητάς του να προμηθεύει ηλεκτρόνια σε οξειδωτικές ενώσεις αλλά και σε ένζυμα. Έτσι μετατρέπει το σουπεροξειδίο, τις υδροξυλικές ενώσεις, το υποχλωριώδες οξύ και άλλες μορφές οξυγόνου μέσα και έξω από τα κύτταρα. Το ασκορβικό οξύ, υποστηρίζει τη λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών προστατεύοντας το κύτταρο από το περιβαλλοντικό οξειδωτικό stress. Επίσης προάγει τη μικροβιακή θανάτωση μέσω των φαγοκυττάρων ενισχύοντας τη χημειοταξία. Σοβαρή έλλειψη ασκορβικού οξέος οδηγεί σε μια δυνητικά θανατηφόρα νόσο, το σκορβούτο. Τα άτομα που πάσχουν από σκορβούτο παρουσιάζουν ευαισθησία σε λοιμώξεις κυρίως του αναπνευστικού συστήματος και φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Η βιταμίνη C προστατεύει το ανοσοποιητικό σύστημα, μειώνει τη σοβαρότητα των αλλεργικών αντιδράσεων και καταπολεμά τις λοιμώξεις (Carr, 2017).
- **Βιταμίνη E:** Η βιταμίνη E αποτελείται από μια ομάδα τοκοφερόλων και τοκοτριενόλων με την α-τοκοφερόλη να έχει την υψηλότερη βιολογική δράση. Η βιταμίνη E δρα ως αντιοξειδωτικό που θρυμματίζει την αλυσίδα και εμποδίζει την διάδοση αντιδράσεων των ελεύθερων ριζών. Η ονομασία τοκοφερόλη δόθηκε μετά από την παρατήρηση ότι η έλλειψη της από τη διατροφή των επιμύων οδηγούσε σε εσωτερική αποβολή στα έμβρυα που κυοφορούσαν. Έτσι είναι σημαντική για τη διατήρηση μιας εγκυμοσύνης. Υπάρχουν τέσσερις τύποι τοκοφερόλων και τέσσερις τύποι τοκοτριενόλων που μοιράζονται όλοι μια κοινή κεφαλή χρωμανόλης. Η βιταμίνη E θεωρείται ως η σημαντικότερη λιποδιαλυτή

αντιοξειδωτική ένωση που προστατεύει τον άνθρωπο από τις επιπτώσεις του οξειδωτικού stress (Lee, 2019).

- **Καροτενοΐδη:** Τα καροτενοΐδη αποτελούν μια ομάδα λιποδιαλυτών φυτικών χρωστικών που απαρτίζονται σε περισσότερες από 600 ενώσεις, οι οποίες δίνουν στα φρούτα και τα λαχανικά το χαρακτηριστικό κόκκινο, κίτρινο ή πορτοκαλί χρώμα. Πολλά καροτενοΐδη είναι πρόδρομες ενώσεις της βιταμίνης Α ή της ρετινόλης με το πιο γνωστό και σημαντικό για τον άνθρωπο το β-καροτένιο. Τα καροτενοΐδη είναι ισχυροί απενεργοποιητές του μονήρους οξυγόνου και εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες. Τα καροτενοΐδη αλληλοεπιδρούν με το O<sub>2</sub> είτε μέσω ενός φυσικού μηχανισμού με τον οποίο η διεγερμένη ενέργεια του O<sub>2</sub> μεταφέρεται στο εκάστοτε καροτενοΐδες και μετά σκορπά στο περιβάλλον με την μορφή θερμότητας, είτε με χημική εξουδετέρωση κατά την οποία το καροτενοΐδες καταστρέφεται με την εισαγωγή του O<sub>2</sub> σε έναν διπλό δεσμό (Παπαγεωργίου, 2005).
- **Πολυφαινόλες:** Οι πολυφαινόλες είναι μια μεγάλη τάξη ενώσεων που ανήκουν στα φυσικά αντιοξειδωτικά και περιλαμβάνουν τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή, τα στιλβένια και τις λιγνάνες. Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινόλων γίνεται με δύο τρόπους α) εκκαθαρίζοντας τις ρίζες του σουπεροξειδίου και β) εξουδετερώνοντας τις λιπο-υπεροξειδικές ρίζες. Οι πολυφαινόλες λειτουργούν είτε ως αναστολείς της λιπιδικής υπεροξειδωσης είτε ως εκκαθαριστές των ελεύθερων ριζών είτε σχηματίζουν χημικές ενώσεις με ιόντα μετάλλων (Παπαγεωργίου, 2005).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Το οξειδωτικό stress φαίνεται να εμπλέκεται τόσο στην ανδρική όσο και στην γυναικεία υπογονιμότητα. Οι ανδρικές και γυναικείες γενετικές γραμμές είναι εύαλotes απέναντι στο οξειδωτικό stress. Στα σπερματοζώαρια πυροδοτεί έναν καταρράκτη υπεροξειδωσης λιπιδίων που καταλήγει στη δημιουργία ηλεκτροφιλικών λιπιδικών αλδεϋδών οι οποίες συνδέονται με το γενετικό υλικό και μιας σειράς πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην παροχή λειτουργικών κυττάρων (Agarwal, 2014).

Όταν συμβαίνει αυτή η αλληλεπίδραση, η παραγωγή μιτοχονδριακών ελεύθερων ριζών οξυγόνου ενισχύονται οδηγώντας στη συνεχή δημιουργία οξειδωτικής βλάβης. Τέτοιες βλάβες επηρεάζουν όλες τις πτυχές του σπέρματος συμπεριλαμβανομένης της κινητικότητας, της αναγνώρισης σπέρματος-ωαρίου, της ακροσωμικής εξοκυτόρωσης και της σύνταξης του σπέρματος με το ωοκύτταρο. Οι πιθανές οδοί δημιουργίας αντιδραστικών ειδών οξυγόνου σε αρσενικά γεννητικά κύτταρα, θα μπορούσαν να περιλαμβάνουν ενισχυμένη δραστηριότητα λιποξυγενάσης, ενεργοποίηση οξειδάσης NADPH και διαρροή ηλεκτρονίων από μιτοχόνδρια (Aitken, 2006).

Ομοίως στη γυναικεία αναπαραγωγική λειτουργία, τόσο η πρόκληση γήρανσης των ωαρίων μετά την ωορρηξία όσο και η υποβάθμιση της ποιότητας των ωαρίων με την αυξημένη ηλικία της γυναίκας φαίνεται να συμβάλλουν στη δημιουργία οξειδωτικής βλάβης στα κύτταρα αναπαραγωγής. Τα μιτοχόνδρια αποτελούν σημαντική πηγή ελεύθερων ριζών που διακυβεύουν τη βιωσιμότητα, τη γονιμοποίηση του ωοκυττάρου και παρεμποδίζουν τον κανονικό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά την διάρκεια της μειωτικής διαίρεσης του κυττάρου (Aitken, 2006).

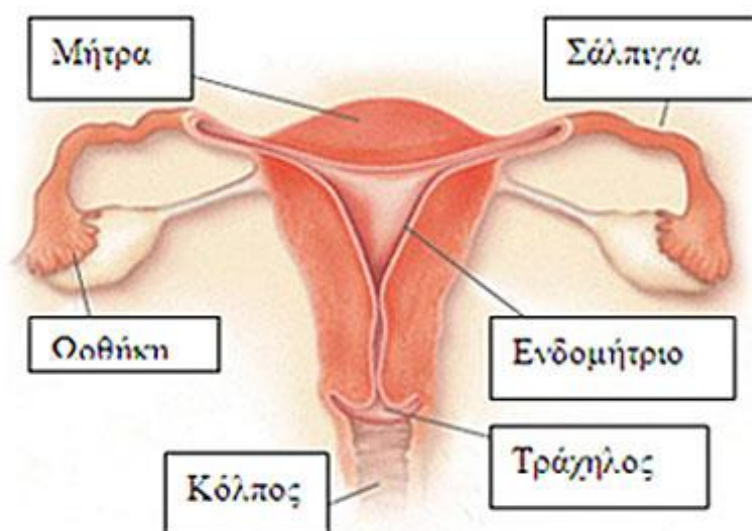
Η αναπαραγωγική τοξικότητα που προκύπτει από την έκθεση σε τοξικές περιβαλλοντικές ουσίες και η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, δημιουργεί στο ανδρικό φύλο κλινικές παθήσεις όπως κισσοκήλη και στρέψη των όρχεων οδηγώντας στην υπογονιμότητα από οξειδωτικές βλάβες. Το οξειδωτικό stress ως αίτιο της γυναικείας υπογονιμότητας φαίνεται υπεύθυνο για παθήσεις όπως το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, την ενδομητρίωση και την πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια (Rader, 2008).

Η επίπτωση της οξειδωτικής βλάβης, υπάρχει ακόμα και μετά από μια επιτυχής γονιμοποίηση και επίτευξη εγκυμοσύνης επηρεάζοντας το έμβρυο και την ενδομήτρια ζωή με παθήσεις που αφορούν τον πλακούντα, την πρόωρη ρήξη υμένων και τον ενδομήτριο εμβρυικό θάνατο (Agarwal, 2012).

## 2.1 Γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα

### Ανατομία

Το αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας απαρτίζεται από τις δύο ωοθήκες, τους δυο ωαγωγούς ή αλλιώς σάλπιγγες, την μήτρα (σώμα, τράχηλος), τον κόλπο και το αιδοίο. Τα όργανα αυτά διακρίνονται στα α) έσω, όπου βρίσκονται στην ελάσσονα πύελο (ωοθήκες, ωαγωγοί, μήτρα) και β) στα έξω τα οποία βρίσκονται εκτός των πυελικών ορίων (αιδοίο) (Νικολοπούλου-Σταμάτη, 2001).



ΕΙΚΟΝΑ 2. Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα

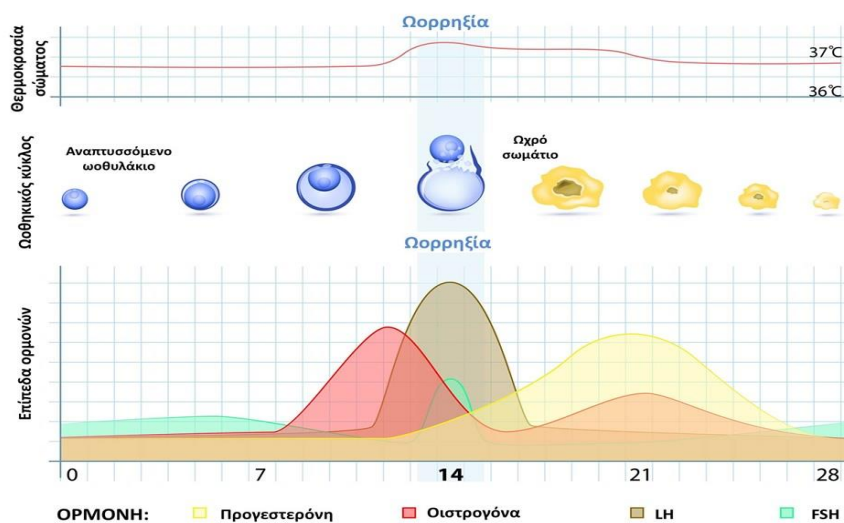
(ΠΗΓΗ: <https://www.mama365.gr/16962/osa-den-xerete-gia-to-anaparagogiko-systhma-ths.html>)

### Φυσιολογία

Ο εμμηνορυσιακός κύκλος, αποτελεί έναν μηχανισμό της γυναικείας αναπαραγωγής όπου περιγράφει τις φυσιολογικές αλλαγές που συμβαίνουν στην γυναίκα κατά την περίοδο αυτή και η ολοκλήρωση ενός κύκλου διαρκεί περίπου 28 ημέρες. Σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι η γονιμοποίηση και αναπαραγωγή του φύλου και

συμμετέχουν μια πληθώρα ορμονών και συστημάτων με βασικότερα την τριάδα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκη. Ο εμμηνορρυσιακός κύκλος χωρίζεται σε τρεις φάσεις: την παραγωγική, την φάση της ωορρηξίας και την ωχρινική φάση.

Κατά την παραγωγική φάση η οποία ξεκινάει από την πρώτη ημέρα της εμμηνορρυσίας και τελειώνει με την ωορρηξία, ένα ωοθυλάκιο ξεκινά να ωριμάζει υπό την επίδραση της ωοθηλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) που εκκρίνεται στην υπόφυση. Ταυτόχρονα τα κύτταρα του ωοθυλακίου παράγουν τα οιστρογόνα τα οποία συμβάλλουν στον εκ νέου πολλαπλασιασμό του ενδομητρίου. Περί την 14<sup>η</sup> ημέρα του κύκλου, η υπόφυση αυξάνει την συγκέντρωση της ωχρινοτρόπου ορμόνη (LH) η οποία προκαλεί την ωοθηλακιορρηξία. Στην ωχρινική περίοδο, το ωχρό σωματίο (πρώην ωοθυλάκιο) ξεκινά να παράγει προγεστερόνη η οποία προκαλεί πάχυνση του βλεννογόνου της μήτρας έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί η εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου. Σε περίπτωση που δεν γίνει η σύλληψη, το ωχρό σωματίο εκφυλίζεται, τα επίπεδα της προγεστερόνης πέφτουν και το ενδομήτριο αποπίπτει (Νικολοπούλου-Σταμάτη, 2001).



ΕΙΚΟΝΑ 3. Ο φυσιολογικός καταμήνιος κύκλος (ΠΗΓΗ: <https://paidiatreio.gr/el/goneis-2/efivos>)

## 2.2 Επιπτώσεις του οξειδωτικού stress στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα

Κάθε μήνα, μια ομάδα ωοκυττάρων αρχίζει να αναπτύσσεται σε μια από τις δυο ωοθήκες αλλά μόνο ένα από αυτά καταφέρνει να ωριμάσει και περνάει στην μειωτική διαίρεση I, το κυρίαρχο ωάριο. Αυτή η διαδικασία έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία

και αύξηση ελεύθερων ριζών η δράση των οποίων φυσιολογικά αναστέλλεται υπό την επίδραση των αντιοξειδωτικών. Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου που παράγονται από το πρω-ωορρηκτικό ωοθυλάκιο με την βοήθεια των παραγόμενων στεροειδών, θεωρούνται σημαντικοί επαγωγείς της ωοθηλακιορρηξίας. Η στέρηση οξυγόνου διεγείρει την αγγειογένεση των ωοθυλακίων, η οποία είναι σημαντική για την ανάπτυξη τους (Shiotani, 1991).

Οι ωοθηλακικές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου προάγουν την απόπτωση, ενώ η GSH και η ωοθηλακιοτρόπος ορμόνη (FSH) αντισταθμίζουν αυτή τη δράση στο αναπτυσσόμενο ωοθυλάκιο. Ως απάντηση στην FSH, ξεκινά η παραγωγή των οιστρογόνων που πυροδοτούν την δημιουργία καταλάσης στο κυρίαρχο ωοθυλάκιο αποτρέποντας έτσι την απόπτωση. Η απότομη αύξηση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) κατά την απελευθέρωση του ωαρίου από το ωοθυλάκιο δημιουργεί άφθονες φλεγμονώδους αντιδράσεις με αποτέλεσμα την παραγωγή ROS. Το πλέον ωχρο σωματίο, μετά την ωορρηξία, ξεκινά την παραγωγή προγεστερόνης, μιας ορμόνης απαραίτητης για την γονιμοποίηση του ωαρίου αλλά και την συγκράτηση του κήματος. Το Cu,Zn-SOD πληθύνεται στο ωχρο σωματίο κατά την πρώιμη έως τη μέση ωχρινική φάση και μειώνεται στη φάση της παλινδρόμησης (Behram., 2001) .

Αυτή η δραστηριότητα της παλινδρόμησης όπου η συγκέντρωση της προγεστερόνης μειώνεται, είναι αντίθετη με τα επίπεδα του υπεροξειδίου των λιπιδίων το οποίο αυξάνεται. Η μείωση στη συγκέντρωση του Cu,Zn-SOD θα μπορούσε να επεξηγήσει την αύξηση της συγκέντρωσης των ROS κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης του κυττάρου. Άλλες πιθανές εξηγήσεις για τη μείωση Cu,Zn-SOD είναι η αύξηση της προσταγλανδίνης F2-alpha ή των μακροφάγων και η μείωση της ροής του αίματος στις ωοθήκες. Η προσταγλανδίνη F2-alpha προκαλεί την παραγωγή του ανιόντος SO από τα ωχρινικά κύτταρα και τα φαγοκυτταρικά λευκοκύτταρα στο ωχρο σωματίο. Η μειωμένη ροή αίματος στις ωοθήκες προκαλεί βλάβη στους ιστούς και παραγωγή ROS. Οι συγκεντρώσεις Mn-SOD στο ωχρο σωματίο κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης αυξάνονται για να καθαρίσουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που παράγονται στα μιτοχόνδρια από φλεγμονώδους αντιδράσεις και κυτοκίνες. Η πλήρης διάσπαση του ωχρού σωματίου προκαλεί μείωση του Mn-SOD στο παλίνδρομο κύτταρο. Το ένζυμο Cu,Zn-SOD σχετίζεται στενά με την παραγωγή προγεστερόνης, ενώ το Mn-SOD προστατεύει τα ωχρινικά κύτταρα από τη φλεγμονή που προκαλείται από το οξειδωτικό stress (Ruder, 2008).

Με την πάροδο της ηλικίας της γυναίκας η ποιότητα των ωαρίων μειώνεται σημαντικά. Το οξειδωτικό stress, τα αποθέματα σιδήρου, τα λιπίδια του αίματος και το σωματικό λίπος αυξάνονται κυρίως μετά την εμμηνόπαυση. Η διακοπή της εμμήνου ρύσεως οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων σιδήρου σε όλο το σώμα τα οποία μπορούν να οδηγήσουν σε οξειδωτική ανισορροπία. Η εμμηνόπαυση επίσης οδηγεί σε μείωση των οιστρογόνων και απώλεια των προστατευτικών τους επιδράσεων έναντι της οξειδωτικής βλάβης του ενδομήτριου. Επομένως το οξειδωτικό stress θεωρείται υπεύθυνο για την έναρξη ή την ανάπτυξη παθολογικών καταστάσεων στην γυναικεία αναπαραγωγή όπως η εμβρυική απορρόφηση, η απώλεια της κύησης, η προεκλαμψία, ο ενδομήτριος θάνατος και η ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (IUGR). Ωστόσο φυσιολογικά επίπεδα ROS παίζουν σημαντικό ρόλο στη ωοθηλακογένεση, την ωρίμανση του ωαρίου και του ωχρού σωματίου αλλά και την ανάπτυξη του πλακούντα (Fortune, 1994).

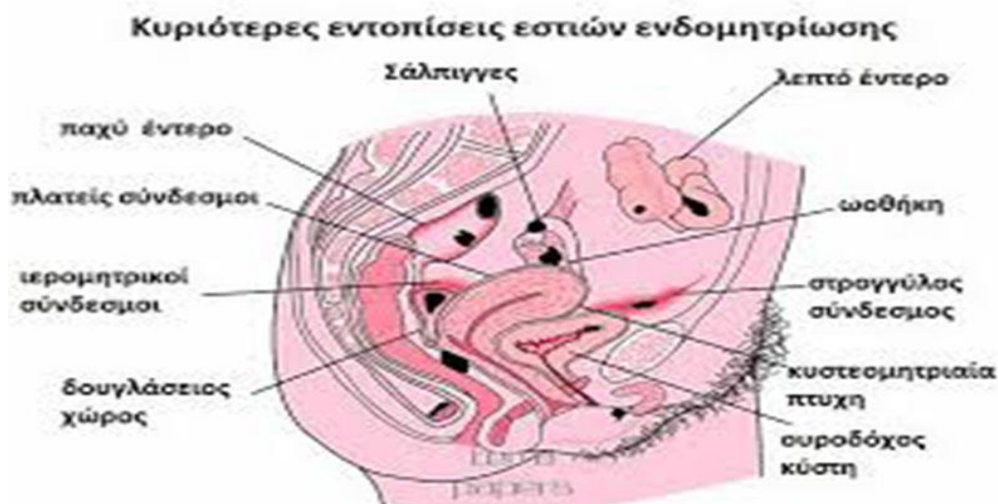
### 2.2.1 Παθήσεις γυναικείας αναπαραγωγής

**-Ενδομητρίωση:** Η ενδομητρίωση αποτελεί μια καλοήγητη, οιστρογονοεξαρτώμενη χρόνια γυναικολογική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενδομήτριου ιστού εκτός της ενδομητρικής κοιλότητας. Οι βλάβες εντοπίζονται κυρίως αμφοτερόπλευρα των ωοθηκών ωστόσο μπορούν να βρεθούν και σε άλλες περιοχές όπως τα κοιλιακά σπλάχνα, οι πνεύμονες και το ουροποιητικό σύστημα. Η ενδομητρίωση σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας σχετίζεται με χρόνια πυελικό άλγος και στειρότητα. Ο μηχανισμός που πιθανά μπορεί να εξηγήσει την παθογένεση την ενδομητρίωσης είναι η θεωρία της ανάδρομης εμμηνορρυσίας και εμφύτευσης ενδομητρικού ιστού (Scutiero, 2017).

Παρόμοια με τα καρκινικά κύτταρα, τα ενδομητρικά κύτταρα έχουν επιδείξει αυξημένες συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών οξυγόνου και επακόλουθο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ο σίδηρος μεσολαβεί στην παραγωγή ROS μέσω της αντίδρασης Fenton\* και προκαλεί οξειδωτικό stress. Στο περιτόναιο ασθενών με ενδομητρίωση, η συσσώρευση σιδήρου και αίμας γύρω από τις ενδομητρικές βλάβες, διεγείρει την σύνθεση NO από τους περιτοναϊκούς μακροφάγους. Οι χρόνιες οξειδωτικές προσβολές

από την συσσώρευση σιδήρου εντός των ενδομητρικών βλαβών ενισχύει την ανάπτυξη της νόσου. Οι ενδομητρικές κύστες περιέχουν υψηλά επίπεδα ελεύθερου σιδήρου ως αποτέλεσμα της επαναλαμβανόμενης κυκλικής αιμορραγίας. Οι μεγάλες συγκεντρώσεις υπεροξειδίων λιπιδίων και αντιοξειδωτικών δεικτών στις κύστες, υποδεικνύουν υπεροξειδωση λιπιδίων, βλάβη του DNA και ρυθμισμένη προς τα πάνω αντιοξειδωτική άμυνα. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν έντονα αλλοιωμένη κατάσταση οξειδοαναγωγής στις ενδομητρικές κύστες. Παρά τις εκτεταμένες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την επίπτωση της ενδομητρίωσης στην γυναικεία γονιμότητα δεν υπάρχουν ξεκάθαρες απαντήσεις. Γυναίκες με ενδομητρίωση τείνουν να έχουν χαμηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης από τις γυναίκες χωρίς την νόσο αυτή. Το περιτοναϊκό υγρό στις γυναίκες αυτές περιέχει χαμηλές συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών ασκορβικό οξύ και υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPx). Η μείωση των επιπέδων GPx ευθύνεται για μειωμένη απόκριση προγεστερόνης στα κύτταρα του ενδομητρίου αποτρέποντας έτσι την επιτυχή εμφύτευση ενός γονιμοποιημένου ωαρίου (Agarwal, 2012).

**\*Αντίδραση Fenton:  $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^- + OH\cdot + Fe^{3+}$**



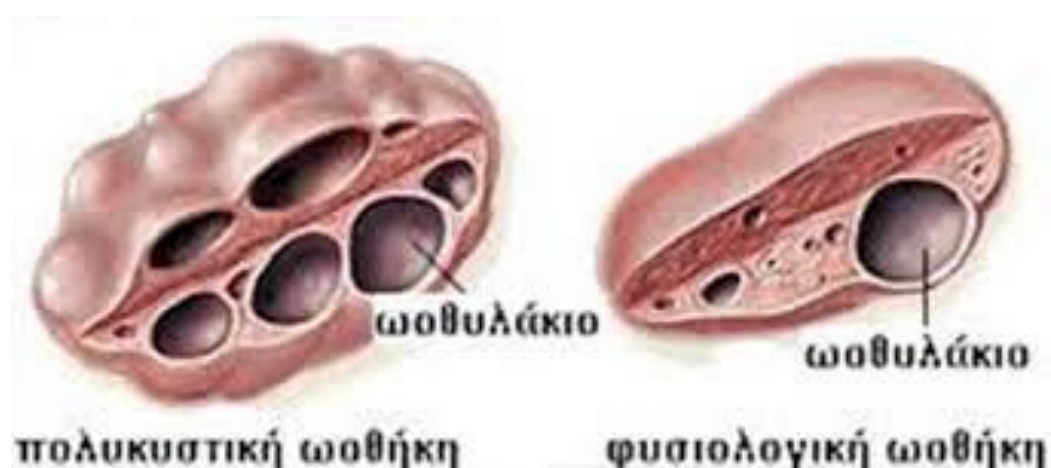
**ΕΙΚΟΝΑ 4.** Κυριότερες εντοπίσεις εστιών ενδομητρίωσης

(ΠΗΓΗ: <https://skartadosnikolaos.gr/endomitriosi.html>)



**-Πολυκυστικές Ωοθήκες:** Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) είναι μια πολυπαραγοντική διαταραχή που επηρεάζει πολλές γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας και χαρακτηρίζεται από υπερινσουλιναιμία, υπερανδρογοναιμία, δυσλειτουργική ωοθλακιορρηξία και εικόνα πολυκυστικών ωοθηκών σε απεικονιστικό έλεγχο. Κάθε μια από τις κύστες που βρίσκονται στις ωοθήκες, πρόκειται ουσιαστικά για ωοθυλάκια με ανώριμα ωάρια τα οποία δεν κατάφεραν να αναπτυχθούν και να ολοκληρώσουν την διαδικασία της ωορρηξίας (Murri, 2013).

Οι κλινικές εκδηλώσεις των πολυκυστικών ωοθηκών περιλαμβάνουν συνήθως διαταραχές της εμμήνου ρύσεως οι οποίες κυμαίνονται από περιόδους αμηνόρροιας και μηνορραγίας, ακμή, υπερτρίχωση αλλά και υπογονιμότητα. Δεδομένου ότι το σύνδρομο αυτό σχετίζεται με μειωμένες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών, θεωρείται οξειδωτική πάθηση. Η μείωση της κατανάλωσης μιτοχονδριακού O<sub>2</sub> και των επιπέδων GSH, σε συνδυασμό με την αυξημένη παραγωγή ROS εξηγεί την μιτοχονδριακή δυσλειτουργία σε ασθενείς με πολυκυστικές ωοθήκες. Η φυσιολογική υπεργλυκαιμία δημιουργεί αυξημένα επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα μονοπύρρηνα κύτταρα. Το προκύπτουν οξειδωτικό stress δημιουργεί ένα φλεγμονώδες περιβάλλον που αυξάνει την αντίσταση στην ινσουλίνη και συμβάλλει στον υπερανδρογονισμό. Η αντίσταση στην ινσουλίνη οδηγεί σε αντισταθμιστική υπερινσουλιναιμία η οποία με την σειρά της αυξάνει την παραγωγή ανδρογόνων και οδηγεί σε γυναικεία υπογονιμότητα (Zhang, 2008).



**ΕΙΚΟΝΑ 5.** Πολυκυστικές ωοθήκες

(ΠΗΓΗ: <https://dr-dimitrakopoulos.com/2017/03/dr-dimitrakopoulos-gynaikologos-glyfada-153/>)

**-Ανεξήγητη υπογονιμότητα:** Ως ανεξήγητη υπογονιμότητα ορίζεται η αδυναμία σύλληψης μετά από 12 μήνες σεξουαλικής επαφής χωρίς προστατευτικά μέσα σε ζευγάρια που έχουν αποκλειστεί γνωστά αίτια υπογονιμότητας. Η παθοφυσιολογία της παραμένει ασαφής, ωστόσο σε γυναίκες με ανεξήγητη υπογονιμότητα φαίνεται να συμβάλλουν τα αυξημένα επίπεδα ROS ειδικά τα επίπεδα του δείκτη της υπεροξειδάση λιπιδίων σε σύγκριση με τη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Οι αυξημένες ποσότητες ελεύθερων ριζών σε συνδυασμό με την μειωμένη αντιοξειδωτική άμυνα μπορεί να είναι καθοριστικός παράγοντας για την παθογένεση της ιδιοπαθούς υπογονιμότητας (Agarwal, 2012).

### **2.3 Αντιοξειδωτικά στη γυναικεία αναπαραγωγή**

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα έχει αναπτύξει ένα πολύπλοκο αντιοξειδωτικό μηχανισμό με σκοπό τον περιορισμό της παραγωγής ελεύθερων ριζών και την προστασία των κυττάρων από βλάβες του οξειδωτικού stress. Τα αντιοξειδωτικά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα. Το όφελος ως προς την γυναικεία γονιμότητα περιλαμβάνει την προστασία των ωοκυττάρων, την βελτίωση της κυκλοφορίας του αίματος στη ενδομήτρια κοιλότητα, την ρύθμιση της στεροειδογένεσης και του υπερανδραγονισμού ιδιαίτερα σε γυναίκες που πάσχουν από το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (Thomson, 2012).

Τα κύρια αντιοξειδωτικά που απαρτίζουν το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα περιλαμβάνουν την ομάδα βιταμινών A, C, D και E, τη δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), τον ψευδάργυρο, το σελήνιο την N-ακετυλοκυστεΐνη, την L-αργινίνη και το συνένζυμο Q10. Οι βιταμίνες φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση των ωαρίων αφού η ανεπάρκεια της φαίνεται να σχετίζεται με προβλήματα στην γονιμότητα των θηλέων. Η βιταμίνη E θεωρείται ότι βελτιώνει την ανάπτυξη του επιθηλίου στα αιμοφόρα αγγεία και στο ενδομήτριο. Η N-ακετυλοκυστεΐνη βελτιώνει την τραχηλική βλέννα και βοηθά στην ωορρηξία και την διείσδυση του σπέρματος. Η L-αργινίνη αυξάνει την ροή αίματος στο ενδομήτριο για επιτυχή εμφύτευση ενώ η μυοϊνσιτόλη βελτιώνει την λειτουργία των ωοθηκών μειώνοντας τα επίπεδα ανδρογόνων και αυξάνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Ruder, 2008).

### **2.3.1 Αντιοξειδωτικά και Ωοθήκες**

#### **Καταλάση**

Η καταλάση παίζει κρίσιμο ρόλο στο μεταβολισμό των ROS. Η καταλάση βρίσκεται κυρίως στα υπεροξεισώματα. Η έκφραση της καταλάσης στα ωάρια είναι χαμηλή σε σύγκριση με άλλους τύπους κυττάρων στα ωοθυλάκια. Στον πυρήνα του ωοκυττάρου, χρωμοσωμικά ελαττώματα όπως η κακή ευθυγράμμιση των χρωμοσωμάτων και η βλάβη του DNA μπορούν να προκληθούν μετά την αναστολή της καταλάσης (Peterson, 1992).

Η κατανομή και η ταλάντωση της καταλάσης κατά τη διάρκεια διαφορετικών ωοθηκικών κύκλων φαίνεται να σχετίζονται με τη ρύθμιση των γοναδοτροπίνων. Οι γοναδοτροπίνες, όπως η FSH, έχουν γνωστές λειτουργίες που είναι πρωτίστως σημαντικές για την ωρίμανση των ωοθυλακίων, τη διαφοροποίηση και τη στεροειδογένεση. Καθώς είναι γνωστό ότι τα οιστρογόνα φθάνουν στην υψηλότερη συγκέντρωση στα κυρίαρχα ωοθυλάκια, η ταυτόχρονη αύξηση της καταλάσης και της οιστραδιόλης ως απόκριση στην FSH μπορεί να υποδηλώνει τον ρόλο της καταλάσης στην επιλογή των ωοθυλακίων και στην πρόληψη της απόπτωσης. Μετά τον αποκλεισμό της ωοθηλακιορρηξίας, η δραστηριότητα της καταλάσης αυξάνεται σημαντικά σε ολόκληρο το ωοθυλάκιο καθώς και στα θηλυκά κύτταρα (Park, 2016).

Στη στεροειδογενή βιογένεση, παράγονται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου όπως το υπεροξείδιο και στη συνέχεια καταλύονται από SOD σε H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Κατά συνέπεια, η καταλάση δρα ως προστατευτικός παράγοντας για την εξουδετέρωση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> για τη διατήρηση της ισορροπίας των ROS και των φυσιολογικών επιπέδων στεροειδών. Αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι η καταλάση συμβάλλει στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων, στον οιστρικό κύκλο και στα στεροειδογενή συμβάντα στις ωοθήκες (Peterson, 1992).

#### **Δισμουτάση του υπεροξειδίου**

Η υπερβολική παραγωγή ROS σε ωοθυλάκια πριν την ωορρηξία μπορεί να έχει επιβλαβείς επιπτώσεις στα ωάρια. Ένα ωοκύτταρο στο πρω-ωορρηκτικό ωοθυλάκιο αποκτά αναπτυξιακή ικανότητα και πολύ ενεργό μεταβολισμό και κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας μπορεί να δημιουργηθεί μεγάλη ποσότητα ROS. Έτσι,

απαιτείται SOD για την εξουδετέρωση του  $O_2^{\bullet-}$  στο κυτταρόπλασμα των ωοκυττάρων και ως εκ τούτου, το SOD πρέπει να διατηρείται σε ένα ορισμένο επίπεδο συγκέντρωσης και δραστηριότητας εντός των ωοθυλακίων για να εγγυάται μια ισορροπία μεταξύ  $O_2^{\bullet-}$  και  $H_2O_2$  για φυσιολογική κυτταρική λειτουργία. Συμπερασματικά, μια ορισμένη ποσότητα SOD όχι μόνο εξασφαλίζει μια λειτουργική συγκέντρωση ROS για την ωορρηξία αλλά επίσης προστατεύει τα ωοκύτταρα από το OS. Μετά την ωορρηξία, τα SOD είναι πολύ ενεργά στο ωχρο σωματίο, επειδή η λειτουργία του ωχρού σωματίου σχετίζεται με τα επίπεδα προγεστερόνης. Είναι ενδιαφέρον ότι η διακύμανση της προγεστερόνης στην ωχρινική φάση συσχετίζεται θετικά με τη δραστηριότητα SOD. Η μείωση του SOD κατά την παλινδρόμηση του ωχρού σωματίου συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα ROS (Suzuki, 1999).

### **Ανακύκλωση GSH**

Η GSH διατηρεί τα κύτταρα σε μειωμένη κατάσταση και λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων για ορισμένα αντιοξειδωτικά ένζυμα. Η GSH εμπλέκεται σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένου του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της απόπτωσης (Kaneko, 2001).

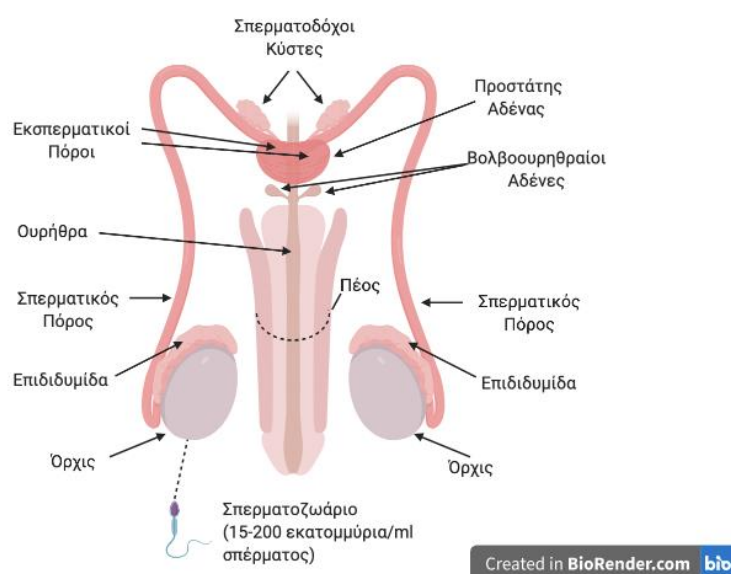
Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η GSH αυξάνει τη βιωσιμότητα των γαμετών και τη γονιμοποίηση. Επιπλέον, η υψηλή περιεκτικότητα σε GSH στα ωάρια κατά την ανάπτυξη των ωοθυλακίων σχετίζεται με βελτιωμένη ικανότητα ανάπτυξης του ωοθυλακίου. Εκτός από την GSH, η GPX έχει αναφερθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη γαμετογένεση και στην εξωσωματική γονιμοποίηση. Η δραστηριότητα της GPX στο ωοθυλακικό υγρό των ωοθυλακίων που στη συνέχεια γονιμοποιήθηκαν ήταν υψηλότερη από εκείνη στο υγρό από μη γονιμοποιημένα ωοθυλάκια. Κατά τη διάρκεια του κύκλου GSH, το GR, το οποίο ανακυκλώνει το GSSG πίσω στο GSH, μπορεί επίσης να διαδραματίσει κεντρικό ρόλο στη λειτουργία των ωοθηκών διατηρώντας την GSH σε μειωμένα επίπεδα (Fortune, 1994).

Τα ROS πιστεύεται ότι εμπλέκονται στην έναρξη της απόπτωσης, καθώς τα επίπεδα ROS αυξάνονται πριν από οποιονδήποτε άλλο δείκτη απόπτωσης στα ωοθυλάκια.

## 2.4 Ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα

### Ανατομία

Το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα απαρτίζεται από τα έξω και τα έσω γεννητικά όργανα. Τα έξω γεννητικά όργανα αποτελούνται από το πέος, τους όρχεις, τις επιδιδυμίδες και το όσχεο ενώ στα εσωτερικά ανήκουν οι σπερματικοί πόροι, οι σπερματοδόχες κύστες, οι εκσπερματικοί πόροι και ο προστάτης (Creasy, 2013).



**ΕΙΚΟΝΑ 6.** Ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (ΠΗΓΗ:<https://www.bio-logia.gr/post/enamnadiko-systhma-dhmiourgos-ths-zwhs-to-andriko-systhma>)

### Φυσιολογία

Στα αρσενικά η μείωση των γαμετικών κυττάρων ξεκινά με την έναρξη της ήβης και στόχος είναι ο σχηματισμών εκατομμύρια γαμετών που απαιτούνται για την ανδρική γονιμότητα. Η σπερματογένεση είναι μια συνεχής διαδικασία που λαμβάνει χώρα εντός των σπερματογωγών σωληνάρων στους όρχεις σε στενή σχέση με τα σωματικά κύτταρα του σπερματοφόρου επιθήλιο, τα κύτταρα Sertoli. Με την ολοκλήρωση της σπερματογένεσης, τα ώριμα σπερματοζώαρια απελευθερώνονται στον αυλό του σπερματοφόρου σωληναρίου και προχωρούν μέχρι να εισέλθουν στην επιδιδυμίδα. Η

ενδοκρινολογική ρύθμιση της σπερματογένεσης επιτυγχάνεται μέσω της τριάδας υποθάλαμος-υπόφυση-όρχεις, με τις ορμόνες των γονοδατροπινών της ωχρινότροπου και της θηλακιοτρόπου να έχουν το σημαντικότερο ρόλο (O' Donnell, 2006).

## **2.5 Οι επιπτώσεις του οξειδωτικού stress στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα**

Σχεδόν οι μισές περιπτώσεις υπογονιμότητας προκαλούνται από παθολογίες της ανδρικής αναπαραγωγής. Στους άνδρες, ο ρόλος του οξειδωτικού stress ως αίτιο των παθολογικών καταστάσεων της στειρότητας στο φύλο έχει αναγνωριστεί εδώ και καιρό. Άνδρες με υψηλά επίπεδα οξειδωτικών και σπέρμα με κατεστραμμένο γενετικό υλικό είναι πολύ πιθανό να είναι υπογόνιμοι. Οι βασικοί παράγοντες της ικανότητας γονιμοποίησης είναι ο αριθμός και η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Αυτοί οι παράγοντες μπορούν να διαταραχθούν από την δράση των ελεύθερων ριζών και έχει δοθεί μεγάλη σημασία στην επίδραση του οξειδωτικού stress ως σπερματικός παράγοντας που συμβάλλει στην υπογονιμότητα στους άνδρες (Cilio, 2022).

Τα χαμηλά επίπεδα ελεύθερων ριζών είναι απαραίτητα για την βελτιστοποίηση της ωρίμανσης και της λειτουργίας των σπερματοζωαρίων. Οι κύριες πηγές σπερματικού ROS είναι να ανώριμα σπερματοζωάρια και τα λευκοκύτταρα. Επιπλέον, οι αντιδράσεις ακροσωμάτων, η κινητικότητα, η χωρητικότητα του σπέρματος και η σύνταξη της μεμβράνης του σπέρματος και του ωλέμματος εξαρτώνται ιδιαίτερα από την παρουσία ελεύθερων ριζών. Από την άλλη πλευρά, τα υψηλά επίπεδα ROS που παράγονται από τα σπερματοζωάρια, πυροδοτούν την υπεροξειδωση των λιπιδίων, η οποία καταστρέφει την πλασματική μεμβράνη του σπέρματος και προκαλεί οξειδωτικό stress. Τα μη φυσιολογικά και μη βιώσιμα σπερματοζωάρια μπορούν να αυξήσουν επιπλέον την συγκέντρωση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου και αζώτου τα οποία με τη σειρά τους διαταράσσουν την κανονική ανάπτυξη και ωρίμανση του σπέρματος και να οδηγήσουν σε απόπτωση. Συγκεκριμένα, το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και το ανιόν SO θωρούνται ως κύριοι υποκινητές της ελαττωματικής λειτουργίας του σπέρματος σε υπογόνιμα αρσενικά. Η ασυνήθιστα υψηλή παραγωγή σπερματικού ROS μπορεί να αλλάξει την κινητικότητα και την μορφολογία του σπέρματος μειώνοντας έτσι την ικανότητα τους να γονιμοποιήσουν. Τα σπερματοζωάρια είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στις βλαβερές συνέπειες των ROS (Sikka, 2001).

## Ενδογενείς πηγές ROS στο σπερματικό πλάσμα

- **Λευκά αιμοσφαίρια:** Τα θετικά στην υπεροξειδωση λευκοκύτταρα και ψαροφάγα προέρχονται από τον αρσενικό προστάτη και τα σπερματοδόχα κυστίδια. Οι μολυσματικές ή φλεγμονώδεις αποκρίσεις μπορούν να παράγουν 100 φορές περισσότερες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου από το κανονικό ως μέρος των αμυντικών μηχανισμών και αυξάνουν την παραγωγή των NADPH. Η λευκοκυτταροσπερμία είναι μια διαταραχή που διαταράσσει το σπέρμα που χαρακτηρίζεται από την παρουσία >1 εκατομμυρίου θετικών στην υπεροξειδάση λευκοκυττάρων ανά ml σπέρματος. Μια αύξηση στις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η ιντερλευκίνη με ταυτόχρονη μείωση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) μπορεί να οδηγήσει σε αναπνευστική έκρηξη, παραγωγή μεγάλων συγκεντρώσεων ελεύθερων ριζών οξυγόνου και τελικά οξειδωτικό stress. Το οξειδωτικό stress εφόσον τα σπερματικά λευκοκύτταρα είναι ασυνήθιστα υψηλά θα οδηγήσει σε βλάβες του σπέρματος (Agarwal, 2014).
- **Ανώριμα σπερματοζωάρια:** Υπό κανονικές συνθήκες, το κυτταρόπλασμα εξωθείται από τα αναπτυσσόμενα σπερματοζωάρια για να προετοιμαστεί για γονιμοποίηση. Όμως, η διακοπή της σπερματογένεσης μπορεί να οδηγήσει σε καταρράκτη περίσσειας κυτταροπλάσματος γύρω από το μεσαίο τμήμα του κατεστραμμένου σπερματοζωαρίου. Η περίσσεια υπολειμματικού κυτταροπλάσματος είναι ικανή να ενεργοποιήσει το σύστημα NADPH μέσω της παροχέτευσης εξόνης-μονομοσφωρίνης, η οποία είναι πηγή ηλεκτρονίων για την παραγωγή ROS και ενδεχομένως οξειδωτικού stress (Takahara, 2012).
- **Κιρσοκήλη:** Ως κιρσοκήλη, χαρακτηρίζεται η μη φυσιολογική φλεβική διάταση στο πλέγμα γύρω από το σπερματικό λώρο και πιστεύεται ότι είναι η κύρια αιτία της ανδρικής υπογονιμότητας. Η υπερθερμία και η υποξία των όρχεων είναι οι πιο κοινά αποδεκτές θεωρίες που οδηγούν σε δυσλειτουργία των όρχεων που προκαλείται από οξειδωτικό stress. Σε δείγματα σπέρματος από υπογόνιμους άνδρες με κιρσοκήλη δείχνουν υψηλά ποσοστά ROS. Επομένως όσο υψηλότερος

είναι ο βαθμός της κίρσοκλήλης τόσο μεγαλύτερο είναι και το επίπεδο των ROS που ανιχνεύεται (Takahara, 2012).

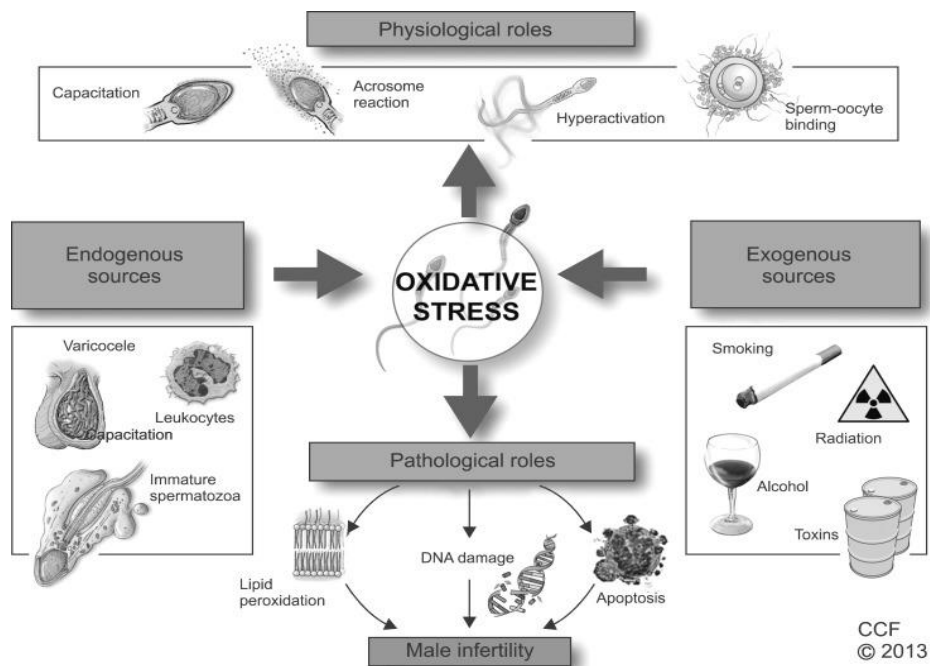
## **Εξωγενείς πηγές ROS**

Η ακτινοβολία από τα κινητά τηλέφωνα μπορεί να προκαλέσει παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου στο ανθρώπινο σπέρμα ως αποτέλεσμα την μείωση της ποιότητας του σπέρματος, και ελάττωση του αριθμού της κινητικότητας αλλά και της ζωτικότητας του σπέρματος. Τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα ραδιοσυχνοτήτων μπορούν να βλάψουν την ενδοκυτταρική ροή ηλεκτρονίων κατά μήκος των εσωτερικών μεμβρανών λόγω των πολυάριθμων κυτταροπλασματικών φορτισμένων μορίων διαταράσσοντας έτσι την κανονική λειτουργία των γεννητικών κυττάρων. Οι τοξίνες από βιομηχανικά ή οικιακά προϊόντα μπορεί να επηρεάσουν το σώμα και να προκαλέσουν παραγωγή ROS στους όρχεις επηρεάζοντας έτσι την δομή και λειτουργία του σπέρματος. Οι φθαλικοί εστέρες, καθώς και μέταλλα όπως το κάδμιο, το χρώμιο, ο μόλυβδος, το μαγγάνιο και ο υδράργυρος, έχει βρεθεί ότι βλάπτουν τη σπερματογένεση. Το κάπνισμα επίσης προκαλεί ανισορροπία μεταξύ των ελεύθερων ριζών οξυγόνου και των αντιοξειδωτικών στο σπέρμα των καπνιστών. Το κάπνισμα μπορεί να αυξήσει τις συγκεντρώσεις των σπερματικών λευκοκυττάρων κατά 48% και τα επίπεδα του σπερματικού ROS μέχρι και 107%. Επιπλέον το κάπνισμα προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου και μόλυβδου στο αίμα και το σπέρμα γεγονός που επηρεάζει την κινητικότητα του. Από την άλλη, το αλκοόλ είναι ένας παραγωγέας ελεύθερων ριζών και δρα έναντι στον αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό. Η ακεταλδεΐδη, ένα προϊόν του μεταβολισμού της αιθανόλης, μπορεί να παράγει ελεύθερες ρίζες αλληλοεπιδρώντας με πρωτεΐνες και λιπίδια, καταστρέφοντας έτσι τα κυτταρικά συστατικά και μειώνοντας το ποσοστό των φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (Sikka, 1995).



## **Επιδράσεις των ROS σε διαφορετικές λειτουργίες του σπέρματος:**

- **Υπεροξειδωση λιπιδίων (LPO):** Το σπερματοζώαριο περιέχει υψηλά επίπεδα λιπιδίων στην πλασματική μεμβράνη. Καθώς τα ενδοκυτταρικά επίπεδα των ελεύθερων ριζών αυξάνονται ανεξέλεγκτα, ξεκινούν έναν καταρράκτη αντιδράσεων που τελικά καταλήγουν σε υπεροξειδωση των λιπιδίων. Όταν συμβαίνει LPO χάνεται σχεδόν το 60% των λιπαρών οξέων της μεμβράνης μειώνοντας την ρευστότητα της μεμβράνης, ενισχύοντας τη μη ειδική διαπερατότητα στα ιόντα και αναστέλλοντας επίσης τις δράσεις των υποδοχέων και των ενζύμων. Η LPO είναι μια αυτό-πολλαπλασιαζόμενη χημική αντίδραση που οδηγεί σε ανώμαλη γονιμοποίηση.
- **Βλάβη του DNA:** Αρκετές επιβλαβείς αντιδράσεις των ROS στο πυρηνικό DNA του σπέρματος είναι εμφανείς λόγω του αυξημένου κατακερματισμού του γενετικού υλικού, της διασύνδεσης της χρωματίνης, των τροποποιήσεων του ζεύγους βάσεων και των χρωμοσωμικών μικροδιαγραφών. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αναστέλλουν την παραγωγή ενέργειας στα σπερματοζώαρια κυρίως μέσω μεταλλάξεων του μιτοχονδριακού DNA με αποτέλεσμα την ελάττωση της κινητικότητάς του. Η βλάβη σε τουλάχιστον ένα από τα 13 γονίδια που κωδικοποιούν το σύστημα μεταφοράς αλυσίδας ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια θα μειώσει την παραγωγή τριφωσφορικής αδενοσίνης και θα προκαλέσει την ενδοκυτταρική παραγωγή ελεύθερων ριζών.
- **Απόπτωση:** Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι ικανές να διαταράσσουν τις εσωτερικές και εξωτερικές μιτοχονδριακές μεμβράνες απελευθερώνοντας το κυτόχρωμα C. Το κυτόχρωμα C με τη σειρά του ενεργοποιεί τις αποπτωτικές κασπάσες. Αυτός ο μηχανισμός πρόκλησης απόπτωσης στα σπερματοζώαρια από τις ROS είναι εμφανείς σε υπογόνιμους άνδρες, καθώς υψηλά επίπεδα κυτοχρώματος C έχουν βρεθεί στο σπερματικό πλάσμα των υπογόνιμων ανδρών, το οποίο είναι δείκτης σοβαρής μιτοχονδριακής βλάβης (Sikka, 1995).



**EIKONA 7. Oxidative stress in male reproduction (ΠΗΓΗ:**  
[https://www.researchgate.net/figure/Oxidative-stress-in-male-reproduction\\_fig2\\_262694896](https://www.researchgate.net/figure/Oxidative-stress-in-male-reproduction_fig2_262694896))

## 2.6 Επίδραση των αντιοξειδωτικών στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα

Το προστατευτικό αντιοξειδωτικό σύστημα στο σπέρμα αποτελείται τόσο από ενζυμικούς όσο και από μη ενζυμικούς παράγοντες καθώς και από ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους με ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα τα οποία αλληλοεπιδρούν στενά μεταξύ τους προκειμένου να διασφαλιστεί η βέλτιστη προστασία έναντι του οξειδωτικού stress. Φαίνεται ότι η ανεπάρκεια οποιουδήποτε από αυτά μπορεί να προκαλέσει μείωση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος (Showell, 2014).

Το κύριο ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα στο σπέρμα ονομάζεται ενζυμική τριάδα και περιλαμβάνει την υπεροξειδική δισμουτάση, την καταλάση και την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Οι δισμουτάσες υπεροξειδίου όπως γνωρίζουμε και από το κεφάλαιο 1, είναι μεταλλοένζυμα που καταλύουν αντιδράσεις του ανιόντος υπεροξειδίου και υπάρχουν τόσο σε ενδοκυτταρική όσο και σε εξωκυτταρική μορφή. Δύο από τις ενδοκυτταρικές μορφές είναι το SOD-χαλκού-ψευδαργύρου, το οποίο εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα, και το SOD-μαγγανίου, το οποίο εντοπίζεται στη μιτοχονδριακή μήτρα. Το SOD επιδεικνύει

υψηλή δραστηριότητα στο σπερματικό πλάσμα. Η καταλάση (CT), καταλύει την αποσύνθεση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε μοριακό οξυγόνο και νερό. Ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα της δομής της είναι ένα σύστημα αίμης με ένα κεντρικά τοποθετημένο άτομο σιδήρου. Η δραστηριότητά της έχει αποδειχθεί στα υπεροξεισώματα, τα μιτοχόνδρια, το ενδοπλασματικό δίκτυο και το κυτταρόπλασμα σε πολλούς τύπους κυττάρων. Στο σπέρμα, βρέθηκε στα σπερματοζωάρια καθώς και στο σπερματικό πλάσμα όπου η κύρια πηγή του είναι ο προστάτης. Η καταλάση ενεργοποιεί τη χωρητικότητα των σπερματοζωαρίων που προκαλείται από το μονοξειδίο του αζώτου, ο οποίος είναι ένας περίπλοκος μηχανισμός που χρησιμοποιεί υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX), καταλύει το υπεροξειδίο του υδρογόνου και των οργανικών υπεροξειδίων. Στη δραστική του θέση περιέχει σελήνιο με τη μορφή σεληνοκυστεΐνης. Στο σπέρμα εντοπίζεται κυρίως στη μιτοχονδριακή μήτρα αλλά έχει βρεθεί και μια πυρηνική μορφή που προστατεύει το γενετικό υλικό του σπέρματος από οξειδωτική βλάβη και συμμετέχει στη διαδικασία συμύκνωσης της χρωματίνης. Η παρουσία GPX έχει επίσης αποδειχθεί στο σπερματικό πλάσμα, υποδηλώνοντας έτσι την προέλευση του από τον προστάτη (Aitken, 2014).

### **2.6.1 Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά**

Σημαντικό ρόλο και στο προστατευτικό αντιοξειδωτικό σύστημα παίζουν και στα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά χαμηλού μοριακού βάρους που βοηθούν στην ενζυμική δραστηριότητα. Αυτά περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων την γλουταθειόνη, τα καροτενοειδή, την καρνιτίνη, το συνένζυμο Q10 αλλά και ένα σύμπλεγμα βιταμινών A, E, C, B καθώς και μέταλλα όπως ο ψευδάργυρος, το σελήνιο και ο χαλκός.

- Τα καροτενοειδή αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά υπεύθυνα για την ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών που ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων και συμμετέχουν στη ρύθμιση της σπερματογένεσης. Η μειωμένη διατροφική τους πρόσληψη μπορεί να οδηγήσει σε ελάττωση της κινητικότητας του σπέρματος.
- Η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη), προστατεύει κυρίως τα συστατικά της μεμβράνης των σπερματοζωαρίων από βλάβες και σε μικρότερο βαθμό μειώνει την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Μελέτες *in vitro*, έχουν δείξει ότι η

βιταμίνη E αποτρέπει την μειωμένη κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και επίσης βελτιώνει την ικανότητα τους να γονιμοποιήσουν ένα ωάριο. Η βιταμίνη E, έχει ενισχυμένη επίδραση στην κινητικότητα του σπέρματος ιδιαίτερα όταν συνχορηγείται με σελήνιο. Το σελήνιο, είναι απαραίτητο μικροθρεπτικό συστατικό υπεύθυνο για τη φυσιολογική ανάπτυξη των όρχεων, την σπερματογένεση, τη κινητικότητα και τη φυσιολογική λειτουργία του σπέρματος. Η έλλειψη σεληνίου οδηγεί σε ατροφία του σπερματοφόρου επιθηλίου, διαταραχές της σπερματογένεσης και ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα και μείωση του όγκου των όρχεων. Οι συγκεντρώσεις τόσο σεληνίου όσο και χαλκού και ψευδαργύρου στο σπερματικό πλάσμα σχετίζεται με την καλή ποιότητα του σπέρματος στους άνδρες (Walczak–Jedrzejowska, 2013).

- Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι μια υδατοδιαλυτή ουσία της οποίας οι συγκεντρώσεις στο σπερματικό πλάσμα είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερες από ότι στον ορό του αίματος. Αυτή η βιταμίνη έχει υψηλή αντιοξειδωτική δράση, η οποία είναι πολύτιμη για την προστασία του γενετικού υλικού του σπέρματος από τις βλάβες του οξειδωτικού stress. Μειωμένα επίπεδα ασκορβικού οξέος και αυξημένα επίπεδα ελεύθερων ριζών οξυγόνου έχουν βρεθεί στο σπερματικό πλάσμα ανδρών με ασθενοζωοσπερμία.
- Η γλουταθειόνη, επίσης ως αντιοξειδωτικό προστατεύει τις κυτταρικές μεμβράνες από την οξείδωση των λιπιδίων και εμποδίζει τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Έλλειψη γλουταθειόνης οδηγεί σε αστάθεια του μεσαίου τμήματος του σπερματοζωαρίου και οδηγεί σε προβλήματα της κινητικότητάς του. Η λήψη συμπληρωμάτων γλουταθειόνης σε άνδρες με μονόπλευρη κισσοκήλη ή φλεγμονή του ουρογεννητικού συστήματος οδηγεί σε σημαντική βελτίωση των παραμέτρων του σπέρματος (Aitken, 2014).
- Το συνένζυμο Q10 είναι ένας απαραίτητος συμπαράγοντας για την παραγωγή ενέργειας και έχει υψηλές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Αποτελεί συστατικό της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας που ρυθμίζει την παραγωγή των ελεύθερων ριζών και την επίδραση του οξειδωτικού stress προστατεύοντας έτσι την κυτταρική μεμβράνη από την βλάβη που προκαλείται από την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Για επαρκή κινητικότητα τα σπερματοζωάρια απαιτούν υψηλή ενεργειακή βιωσιμότητα η οποία παράγεται στα μιτοχόνδρια μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Στα μιτοχόνδρια, το σύμπλεγμα Q10

εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις του συμπλέγματος στο σπερματικό πλάσμα έχουν συσχετισθεί με μειωμένες παραμέτρους του σπέρματος όπως η κινητικότητα.

- Οι καρνιτίνες συντίθενται από τον οργανισμό και βρίσκονται στο σπερματικό πλάσμα σε μεγαλύτερες ποσότητες από ότι στα σπερματοζώαρια. Το ισομερές L-καρνιτίνης (LC) αποτελεί τη βιοδραστική μορφή με κεντρικό ρόλο στη μιτοχονδριακή β-οξειδάση ενεργώντας ως μεταφορά των ενεργοποιημένων λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας στα μιτοχόνδρια. Τα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας παρέχουν ενέργεια στα σπερματοζώαρια και κατά την ωρίμανση και κατά τη σπερματογενή διαδικασία (Aitken, 2014).

## 2.6.2 Ενζυμικά Αντιοξειδωτικά

Στα ενζυμικά αντιοξειδωτικά του οργανισμού περιλαμβάνονται η γλουταθειόνη, η δισμουτάση του υπεροξειδίου αλλά και η καταλάση.

- Η γλουταθειόνη δρα ως αντιοξειδωτικός εκκαθαριστής στους όρχεις και στις επιδιδυμίδες αφού καταλύουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου, μειώνουν την λιπιδική υπεροξειδωση και βελτιώνουν τα γνωρίσματα της κυτταρικής μεμβράνης (Lannou, 1994). Κυρίως συναντάται στα μιτοχόνδρια του σπερματοζωαρίου ωστόσο μπορεί να βρεθεί και στον πυρήνα του κυττάρου προστατεύοντας το από αλλοιώσεις του γενετικού υλικού από οξειδωτικές βλάβες (Pfeifer, 2001).
- Η δισμουτάση του υπεροξειδίου, ως μεταλλοένζυμο καταλύει του σουπεροξειδίου και συναντάται σε ενδοκυττάρια (Cu,Zn-SOD) αλλά και εξωκυττάρια μορφή (MnSOD). Η SOD, έχει μεγάλη δραστηριότητα στο σπερματικό πλάσμα με το μεγαλύτερο ποσοστό να απαντάται στην ενδοκυττάρια μορφή της (Peeker, 1997).
- Η καταλάση έχει δράση κυρίως στα μιτοχόνδρια, στο ενδοπλασματικό δίκτυο, στο κυτταρόπλασμα και στα υπεροξειδιοσώματα. Η καταλάση έχει ανευρεθεί στα σπερματικά κύτταρα του και στο σπερματικό πλάσμα, και φαίνεται ο προστάτης να είναι η κύρια πηγή της. Η καταλάση ενεργοποιεί το μονοξειδίου του αζώτου (NO) το οποίο με την σειρά του ενεργοποιεί τα σπερματοζώαρια (Agarwal, 2014).

## 2.7 Αντιοξειδωτικά στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Η τεχνολογία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) αποτελεί θεραπεία επιλογής για πολλά ζευγάρια που αντιμετωπίζουν προβλήματα υπογονιμότητας γνωστής ή και άγνωστης αιτίας και που οφείλεται σε γυναικείο ή ανδρικό παράγοντα, είτε σε ιδιοπαθή. Ωστόσο η χρήση των τεχνικών της ART τεχνολογίας εμπεριέχει και τις δικές της προκλήσεις καθώς το *in vitro* περιβάλλον δεν είναι τόσο ιδανικό όσο το *in vivo* και αυτό διότι δεν περιέχει τον δικό του αντιοξειδωτικό μηχανισμό έναντι των οξειδωτικών βλαβών. Παρ' όλο που φυσιολογικές ποσότητες ελεύθερων ριζών οξυγόνου είναι απαραίτητες για την αναπαραγωγική λειτουργία *in vivo*, ο *in vitro* χειρισμός των γαμετών και εμβρύων εκθέτει τα κύτταρα αυτά σε υπερβολική παραγωγή ROS και οφείλεται είτε σε ενδογενείς είτε σε εξωγενείς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Πολλαπλοί εξωγενείς παράγοντες δρουν ως πιθανές πηγές ROS συμπεριλαμβανομένης της έκθεσης στο ορατό φως, της σύνθεσης των μέσων καλλιέργειας, του pH, της θερμοκρασίας, της συγκέντρωσης οξυγόνου, της φυγοκέντρωσης κατά την προετοιμασία των σπερματοζωαρίων κ.α.. Επομένως, η χρήση ενός αντιοξειδωτικού μηχανισμού για την πρόληψη από τις οξειδωτικές βλάβες που προκαλούνται στις τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής χρήζουν απαραίτητες (Agarwal, 2014).

### 2.7.1 Πηγές ROS στην ART

- i. **Ορατό φως:** Ο χειρισμός γαμετών και εμβρύων *in vitro*, περιλαμβάνει την αναπόφευκτη έκθεση τους στο ορατό φως τόσο από το μικροσκόπιο όσο και από το φυσικό περιβάλλον. Το φως, εντός του ορατού φάσματος έχει επιβλαβή αποτελέσματα τόσο στους γαμέτες όσο και στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Η αρνητική επίδραση εξαρτάται από την ένταση, την διάρκεια της έκθεσης και την φασματική σύνθεση του φωτός (Ottosen, 2007).
- ii. **Μέσα καλλιέργειας:** Η ανάπτυξη ελεύθερων ριζών οξυγόνου εντός των κυττάρων στα μέσα καλλιέργειας μπορεί να προκληθεί μέσω της παρουσίας μεταλλικών ιόντων. Ωστόσο, ο ρυθμός σχηματισμού ROS διαφοροποιείται ανάλογα με τη σύνθεση των μέσων καλλιέργειας. Η ποιότητα των εμβρύων που θα καθορίσουν σε μεγάλο βαθμό την επιτυχία της ART, εξαρτάται και από την

σύνθεση των μέσων που χρησιμοποιήθηκαν στην καλλιέργεια των ωαρίων και εμβρύων πριν από την διαδικασία της εμφύτευσης (Agarwal, 2006). Η προσθήκη στα μέσα καλλιέργειας αντιοξειδωτικών ενώσεων (π.χ. βιταμίνη C, άλφα-τοκοφερόλη) θα μπορούσε να βοηθήσει στην απαλλαγή των δυσμενών επιπτώσεων των ROS στους γαμέτες (Androl, 2004).

- iii. **pH:** Η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, η ωρίμανση των ωαρίων και η ανάπτυξη ενός νεοσύστατου εμβρύου, αποτελούν καταστάσεις που επηρεάζονται αρνητικά από τις διάφορες διακυμάνσεις στην συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου (pH) στα μέσα καλλιέργειας. Προκειμένου τα επίπεδα του pH στα μέσα καλλιέργειας να διατηρηθούν, πρέπει τα επίπεδα του  $\text{CO}_2$  στον επωαστήρα να παραμείνουν σταθερά, καθώς χαμηλά επίπεδα  $\text{CO}_2$  τείνουν να αυξάνουν το pH των μέσων καλλιέργειας οδηγώντας τα κύτταρα σε συνθήκες οξειδωτικού stress.
- iv. **Συγκέντρωση οξυγόνου:** Τα προεμφυτευτικά έμβρυα, που καλλιεργούνται στο εργαστήριο της ART κατά τη διάρκεια της εξωσωματικής γονιμοποίησης, χρησιμοποιούν συνήθως ατμοσφαιρικές (~20%) ή πιο χαμηλές (~5%) συγκεντρώσεις οξυγόνου. Ωστόσο, όταν χρησιμοποιούνται συγκεντρώσεις ατμοσφαιρικού οξυγόνου, ενισχύεται η ανάπτυξη ελεύθερων ριζών οξυγόνου που οδηγεί τελικά σε συνθήκες οξειδωτικού stress επηρεάζοντας έτσι της ποιότητα των εμβρύων. Αυτό προκύπτει επειδή οι συγκεντρώσεις οξυγόνου στις σάλπιγγες και στη μήτρα βρίσκονται σε χαμηλότερα επίπεδα (~5%) (Agarwal, 2012).
- v. **Φυγοκέντρωση:** Η φυγοκέντρωση αποτελεί μια διαδικασία ρουτίνας η οποία χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση του σπερματικού πλάσματος στις τεχνικές παρασκευής σπερματοζωαρίων. Ωστόσο η φυγοκέντρωση ως διαδικασία από μόνη της συμβάλει στην ανάπτυξη ROS, με σημαντικό ρόλο να παίζει και διάρκεια του χρόνου της φυγοκέντρωσης καθώς η διάρκεια επηρεάζει τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος φυγοκέντρωσης των σπερματοζωαρίων, τόσο μεγαλύτερες είναι οι βλάβες που προκαλούνται στις παραμέτρους του σπέρματος ανεξαρτήτως της αρχικής τους ποιότητας καθώς εκτίθενται σε υψηλές θερμοκρασίες.
- vi. **Τεχνική ART:** Η ίδια η διαδικασία της εξωσωματικής γονιμοποίησης απαιτεί μεγάλο χρόνο επώασης των σπερματοζωαρίων, του ωοκυττάρου και των

κυττάρων του σφρευμένου όγκου οι οποίοι αποτελούν πιθανές γεννήτριες ROS στο μέσο γονιμοποίησης.

### 2.7.2 Αντιοξειδωτικά προστατευτικά μέσα

Σε ένα περιβάλλον ART, τα αντιοξειδωτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση των επιβλαβών επιδράσεων της περίσσειας ROS στους γαμέτες και τα έμβρυα. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικά ή προστατευτικά μέσα και να χορηγηθούν με δύο τρόπους, είτε ως συμπλήρωμα από το στόμα σε υπογόνιμα ζευγάρια για αρκετό καιρό πριν από τον πρώτο κύκλο ART, είτε in vivo ως συμπλήρωμα στα μέσα καλλιέργειας κατά της διάρκεια των τεχνικών της ART. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή είναι πράγματι πολύ σημαντικός. Για παράδειγμα, σε υπογόνιμους άνδρες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση, τα μεγάλα επίπεδα σπερματικού ROS συσχετίζονται αρνητικά με τη μορφολογία και τη ζωτικότητα των σπερματοζωαρίων και τα ποσοστά γονιμοποίησης, ενώ αντίθετα τα αυξημένα επίπεδα αντιοξειδωτικών του σπέρματος έδειξαν θετική συσχέτιση με τα ποσοστά γονιμοποίησης (Plessis, 2008).

#### Ενζυμικά αντιοξειδωτικά

- i. **Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD):** Οι νορμοζωοσπερμικοί άνδρες έχουν υψηλότερη σπερματική δραστηριότητα SOD σε σύγκριση με τους άνδρες με μη φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος. Η δραστηριότητα SOD του σπέρματος συσχετίζεται θετικά με τη συγκέντρωση και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και αντιστρόφως τόσο με τον κατακερματισμό του DNA του σπέρματος όσο και με τον όγκο του σπέρματος (Zhang 2014). Γυναίκες με υπογονιμότητα σαλπινγικού παράγοντα που απέτυχαν να συλλάβουν είχαν χαμηλότερη δραστηριότητα SOD στα κοκκιώδη κύτταρα τους και μείωση στην ποιότητα του εμβρύου. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η υψηλότερη δραστηριότητα SOD σε κύτταρα σωρό από γυναίκες με υπογόνιμους συντρόφους οδηγεί σε καλύτερη έκβαση της ART. Έτσι, η δραστηριότητα SOD μπορεί να είναι ενδεικτική ενός ωοκυττάρου καλύτερης ποιότητας κατά την επιλογή ωοκυττάρου (Almeida, 2009).
- ii. **Καταλάση:** Η καταλάση, που προέρχεται κυρίως από τον αδένα του προστάτη, υπάρχει στο σπερματικό υγρό και στα κινητικά σπερματοζωάρια. Η χαμηλή δραστηριότητα της σπερματικής καταλάσης ενέχει μεγαλύτερο κίνδυνο



αποτυχίας μετά τη γονιμοποίηση σε υπογόνιμα ζευγάρια που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση. Η καταλάση που προστέθηκε στα μέσα παρασκευής σπερματοζωαρίων είχε ως αποτέλεσμα μειωμένα επίπεδα κατακερματισμού ROS και DNA και αυξημένο ρυθμό αντίδρασης ακροσωμάτων σε σπερματοζωάρια από νορμοζωοσπερμικούς άνδρες (Agarwal, 2014).

- iii. **Γλουταθειόνη:** Η δραστηριότητα της σπερματικής GPx είναι χαμηλότερη σε υπογόνιμους άνδρες με μη φυσιολογική ποιότητα σπερματοζωαρίων, αλλά δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της GPx και της δυνατότητας γονιμοποίησης των σπερματοζωαρίων ή των ποσοστών εγκυμοσύνης στην εξωσωματική γονιμοποίηση (Agarwal, 2014).

### Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά

- i. **Βιταμίνη E:** Οι *in vitro* επιδράσεις της βιταμίνης E σε φυσιολογικά και μη φυσιολογικά σπερματοζωάρια κατά τη διάρκεια της κρυοσυντήρησης είναι βελτιωμένη κινητικότητα μετά την απόψυξη και ακεραιότητα DNA, ενώ η προσθήκη κατά την επώαση βελτίωσε την κινητικότητα και τη βιωσιμότητα των μη φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (Agarwal, 2014).
- ii. **Σελήνιο:** Το σελήνιο, ένα απαραίτητο μικροθρεπτικό συστατικό και ένας καθαριστής ελεύθερων ριζών, λειτουργεί συνεργικά με τη βιταμίνη E για να προστατεύει τα σπερματοζωάρια από τις επιπτώσεις της οξειδωσης και να βελτιώνει την κινητικότητα, τη μορφολογία και τα ποσοστά εγκυμοσύνης. Βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στον ιστό των όρχεων, το σελήνιο απαιτείται για τη σύνθεση και τη σπερματογένεση τεστοστερόνης (Flohe, 2007).
- iii. **Βιταμίνη C:** Το ασκορβικό οξύ που λαμβάνεται ως διαιτητική πρόσληψη ή θεραπεία από το στόμα, βελτιώνει την ποιότητα των σπερματοζωαρίων. Η λήψη συμπληρωμάτων βιταμίνης C από το στόμα σε γυναίκες που είτε υποβάλλονταν σε θεραπεία IVF είτε με ελαττώματα ωχρινικής φάσης, οδηγούν σε αυξημένα ποσοστά εγκυμοσύνης. Η προσθήκη βιταμίνης C στα κρυομέσα

βελτιώνει την κινητικότητα και μειώνει τη βλάβη του DNA στα σπερματοζωάρια μετά την απόψυξη (Agarwal, 2014).

- iv. **Βιταμίνη B – φυλλικό οξύ:** Το φυλλικό οξύ (βιταμίνη B9) είναι η φυσική διατροφική μορφή, ενώ το φυλλικό οξύ είναι το συνθετικό του ισοδύναμο. Τα επίπεδα φυλλικού οξέος στο σπερματικό πλάσμα είναι υψηλότερα από ό,τι στον ορό και στους γόνιμους άνδρες σε σύγκριση με τους υπογόνιμους άνδρες. Σε υπογόνιμες γυναίκες με PCOS που υποβάλλονται σε πρόκληση ωορρηξίας για IVF, η από του στόματος θεραπεία με μυοινοσιτόλη (συστατικό της οικογένειας βιταμινών B) και φυλλικό οξύ μειώνει τον αριθμό των ανώριμων ωαρίων κατά τη λήψη (Ciotta, 2011).
- v. **Συνένζυμο Q10:** Η από του στόματος χορήγηση συμπληρωμάτων με συνένζυμο Q<sub>10</sub> αυξάνει τα επίπεδα του σπερματικού συνενζύμου Q<sub>10</sub>, τη συγκέντρωση και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ

Κατά την διάρκεια μια φυσιολογικά εξελισσόμενη κύησης, η ανάπτυξη των ιστών και των οργάνων του εμβρύου απαιτεί την πρόσληψη επαρκούς ποσότητας θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου. Οι αντιδραστικές μορφές του που παράγονται στο σώμα της μητέρας και του εμβρύου επηρεάζουν την αναπαραγωγή, την διαφοροποίηση και την ωρίμανση των αναπτυσσόμενων κυττάρων. Η ισορροπημένη δραστηριότητά τους και η διατήρηση της ισορροπίας των οξειδωτικών διεργασιών είναι απαραίτητος παράγοντας για τη σωστή λειτουργία και ανάπτυξη του νεοσύστατου οργανισμού (Back, 2013).

Την περίοδο της κύησης, πολλές ανατομικές, φυσιολογικές και μεταβολικές αλλαγές συμβαίνουν στο σώμα της μητέρας οι οποίες υποστηρίζουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου, ιδιαίτερα στο δεύτερο μισό της εγκυμοσύνης. Αυτό οφείλεται κυρίως στον αυξημένο μεταβολισμό και την κατανάλωση οξυγόνου καθώς και την χρήση λιπαρών οξέων ως την κύρια πηγή ενέργειας για τους περισσότερους μητρικούς οπισθοπλακουντιακούς ιστούς. Το τελευταίο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, χαρακτηρίζεται ως μια περίοδος αυξημένης αντίστασης της ινσουλίνης, καταβολισμού λίπους και απελευθέρωσης λιπαρών οξέων. Αυτές οι διαδικασίες οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (Dujig, 2016).

Σε μια φυσιολογικά αναπτυσσόμενη εγκυμοσύνη, το φαινόμενο της ανοσολογικής ανοχής της μητέρας απέναντι στα αντιγόνα του εμβρύου, που επιτρέπει στο έμβρυο να αναπτυχθεί στη μήτρα παρά την ικανότητα της εγκύου να απορρίπτει το ξένο αντιγόνο, είναι μια εξαιρετικά σημαντική πτυχή. Οι κύριες παραδοχές αυτού του φαινομένου είναι η μερική αναστολή του ανοσοποιητικού συστήματος της μητέρας κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, η ανεπαρκής παρουσία εμβρυικών αντιγόνων, και ο πλακούντας ως σημαντικό στοιχείο που διαχωρίζει τη μητέρα από το έμβρυο. Επομένως, η ανοσολογική ανοχή σχηματίζεται από τα κύτταρα της εμφυτευμένης τροφοβλάστης, το

ανοσοποιητικό σύστημα της εγκύου καθώς και το μικροπεριβάλλον του εμφυτευμένου εμβρύου. Το οξειδωτικό stress, έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην εγκυμοσύνη για την υγεία την γυναίκας και του αναπτυσσόμενου εμβρύου. Φαίνεται πως είναι αιτία λανθασμένης εμφύτευσης εμβρύων, αποβολών, πρόωρων τοκετών, χαμηλού βάρους γέννησης και δυσπλασιών. Επίσης αποδυναμώνει την ανοσία της εγκυμοσύνης και την αναπνευστική προσαρμογή των νεογνών μετά την γέννηση τους. Ο κύριος λόγος αυτών των διαταραχών είναι η ανεπαρκής πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου στο έμβρυο που προκύπτει κυρίων από την υποπλασία και μη φυσιολογική λειτουργία του πλακούντα (Bak, 2013; Aiken, 2017).

### **3.1 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ**

Η εγκυμοσύνη από μόνη της μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό stress ως αποτέλεσμα της αυξημένης μεταβολικής δραστηριότητας. Η επιτυχής έναρξη της εγκυμοσύνης απαιτεί την ωορρηξία ενός ώριμου ωαρίου, την παραγωγή ενός ικανού σπέρματος, την εγγύτητα του σπέρματος και του ωαρίου στην αναπαραγωγική οδό, την γονιμοποίηση του ωαρίου, την μεταφορά του ζυγωτού στη μήτρα και την εμφύτευση του εμβρύου σε ένα κατάλληλα προετοιμασμένο, υγιές ενδομήτριο. Μια δυσλειτουργία σε ένα από τα παραπάνω πολύπλοκα βιολογικά στάδια μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς συνθήκες για την ανάπτυξη του εμβρύου (Ruder, 2008).

Το πρόβλημα των γενετικών ανωμαλιών στο έμβρυο αφορά περίπου το 4-6% των ζωντανών νεογνών και την πλειοψηφία των αποβολών στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Είναι επίσης η πιο κοινή αιτία βρεφικής θνησιμότητας και αναπηρίας. Το οξειδωτικό stress, ως αποτέλεσμα της υπερβολικής παραγωγής προϊόντων υπεροξειδάσης οξυγόνου, επιτίθεται στα νεοαναπτυσσόμενα κύτταρα καταστρέφοντας έτσι τις δομές τους στα πρώιμα στάδια της εμβρυογένεσης. Ως συνέπεια είναι οι ανωμαλίες στη δομή του γενετικού υλικού που οδηγεί σε πρώιμες αποβολές, προεκλαμψία ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης αλλά και εμβρυικές γενετικές ανωμαλίες. Το οξειδωτικό stress

καταστρέφει το γενετικό υλικό δημιουργώντας μεταλλάξεις στη δομή του με αποτέλεσμα και τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Οι αναλύσεις αρκετών δεικτών οξειδωτικού stress στο αίμα εγκύων, στο αμνιακό υγρό και στους ιστούς του εμβρύου, έδειξαν ξεκάθαρα τη συσχέτιση του με την τρισωμία 21 (σύνδρομο down) (Xiang, 2014).

Η σημασία της σωστής διατροφής πριν και καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι από καιρό γνωστή για τη βελτιστοποίηση της υγείας και της ευημερίας τόσο της μητέρας όσο και του μωρού. Η εγκυμοσύνη είναι μια περίοδος αυξημένων μεταβολικών απαιτήσεων με αλλαγές στη φυσιολογία της γυναίκας και τις απαιτήσεις ενός αναπτυσσόμενου εμβρύου. Η ανεπαρκής παροχή απαραίτητων βιταμινών και μικροθρεπτικών συστατικών μπορεί να οδηγήσει σε κατάσταση βιολογικού ανταγωνισμού μεταξύ της μητέρας και της σύλληψης, που μπορεί να είναι επιζήμια για την κατάσταση της υγείας και των δύο. Η ανεπάρκεια ιχνοστοιχείων κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης σχετίζεται στενά με τη θνησιμότητα και τη νοσηρότητα. Οι ελλείψεις συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών ενεργειών που σχετίζονται με τα μικροθρεπτικά συστατικά σελήνιο, χαλκό, ψευδάργυρο και μαγγάνιο μπορεί να οδηγήσουν σε κακή έκβαση της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένου του περιορισμού της ανάπτυξης του εμβρύου, της προεκλαμψίας και του σχετικού αυξημένου κινδύνου ασθενειών στην ενήλικη ζωή, συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών παθήσεων και διαβήτη τύπου 2.

### **3.1.1 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΠΡΟΕΚΚΛΑΜΨΙΑ**

Η προεκλαμψία, εκτιμάται ότι εμφανίζεται στο ~3% όλων των κύσεων και είναι η κύρια αιτία μητρικής και προγεννητικής θνησιμότητας και νοσηρότητας στον δυτικό κόσμο. Είναι μια ασθένεια στην οποία η μητέρα αναπτύσσει υψηλή αρτηριακή πίεση (>140/90mm/hg) μετά την 20<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης και συνοδεύεται με ύπαρξη πρωτεΐνης στα ούρα, αλλοιώσεις στις αιματολογικές εξετάσεις και κλινικά συμπτώματα όπως κεφαλαλγία, κοιλιακό άλγος και οπτικές διαταραχές. Η μόνη διαθέσιμη θεραπεία για την αντιμετώπιση της

προεκλαμψίας είναι ο τοκετός, ο οποίος μπορεί να αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα για το έμβρυο εάν η εγκυμοσύνη δεν είναι προχωρημένη και το έμβρυο είναι πρόωρο. Το οξειδωτικό stress παρέχει μια εξήγηση για την παθογένεση της προεκλαμψίας, καθώς οδηγεί σε υπεροξειδωση των λιπιδίων που συνοδεύεται από ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Δηλαδή αποτελεί συνέπεια περιόδων ισχαιμίας-επαναιμάτωσης που δημιουργούνται από αποτυχημένη αναδιαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών κατά την περίοδο της πλακουντοποίησης. Ένας φαύλος κύκλος ενισχυμένου οξειδωτικού stress του πλακούντα μπορεί να επιτρέψει την απελευθέρωση λευκοκυττάρων, ουδετερόφιλων και κυτοκινών από τον πλακούντα, καθώς και περαιτέρω ελεύθερες ρίζες οξυγόνου στην μητρική κυκλοφορία με αποτέλεσμα μια μαζική, συστηματική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Σε περίπτωση μεγάλης ενδοθηλιακής βλάβης, η αρτηριακή συμμόρφωση είναι χαμηλότερη και η αγγειακή αντίσταση είναι υψηλότερη (Binder, 2020).

### **3.1.2 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ**

Η περιορισμένη εμβρυϊκή ανάπτυξη (FGR) και η ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης (IUGR) αποτελούν μια κοινή παθολογία της εγκυμοσύνης κατά την οποία το έμβρυο αδυνατεί να επιτύχει το γενετικά καθορισμένο δυνητικά μέγεθός του. Τα έμβρυα με περιορισμένη ανάπτυξη βρίσκονται κάτω από το δέκατο εκατοστό του εκτιμώμενου βάρους τους σε σύγκριση με τα τυπικά βάρη σε μια δεδομένη ηλικία κύησης (Simmon, 2018).

Τα έμβρυα αυτά ενέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο μακροχρόνιων επιπλοκών, όπως κακή γνωστική απόδοση, καθυστέρηση της ανάπτυξης, καθώς και δια βίου κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων και μεταβολικού συνδρόμου. Δεδομένου ότι η κύρια αιτία είναι η δυσλειτουργία του πλακούντα, έχει συσχετισθεί με αυξημένο οξειδωτικό stress. Οι πλακούντες κύησης με έμβρυα περιορισμένης ανάπτυξης έχουν σημαντικά μειωμένη έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στη μιτοχονδριακή λειτουργία και την οξειδωτική φωσφορυλίωση αλλά και υψηλότερους δείκτες οξειδωτικού stress (Biri, 2007).

### **3.1.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ (ΣΔΚ)**

Ο σακχαρώδης διαβήτης κύησης είναι συνήθως μια παροδική υπεργλυκαιμική κατάσταση που προκαλείται από την εγκυμοσύνη και συνδέεται με δυσλειτουργία της ινσουλίνης. Κλινικά ορίζεται ως δυσανεξία στον υδατάνθρακες μεταβλητής βαρύτητας με έναρξη ή πρόωμη αναγνώριση κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης (Tamas, 2001). Υπολογίζεται ότι παγκοσμίως μια στις επτά γυναίκες πάσχουν από υπεργλυκαιμία εκ των οποίων το 83% των περιπτώσεων αντιστοιχεί σε σακχαρώδη διαβήτη κύησης (WHO 2016). Ωστόσο, ο ΣΔΚ και διαβήτης τύπου 2 μοιράζονται μια κοινή παθογένεια που σχετίζεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και την δυσλειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος. Αυτή η διαταραχή που πρωτοεμφανίζεται κατά περίοδο της εγκυμοσύνης, φαίνεται να επηρεάζει και το υπόλοιπο της ζωής των γυναικών αυτών καθώς έως και οι μισές με ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη κατά την διάρκεια της κύησης θα αναπτύξουν διαβήτη τύπου 2 πέντε με δέκα χρόνια μετά τον τοκετό (Zhang, 2016).

Όπως και στην προεκλαμψία, η αύξηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου και η χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, συμβαίνουν κάτω από ένα αλλοιωμένο μητρικό περιβάλλον και ο ΣΔΚ σχετίζεται συχνά με συστηματική και χρόνια φλεγμονή. Έχει παρατηρηθεί ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη μειώνει την μιτοχονδριακή αναπνοή και ότι τα μεσεγχοματικά στρωματικά κύτταρα του ανθρώπινου ομφάλιου λώρου από ασθενείς με ΣΔΚ έχουν φαινοτύπους πρόωρης γήρανσης και μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας. τα αυξημένα επίπεδα ROS σχετίζονται με τη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση των μακροφάγων παράγοντας τελικά προϊόντα γλυκοζυλίωσης τα οποία οδηγούν σε περαιτέρω οξειδωτικό stress, φλεγμονώδεις και θρομβωτικές αντιδράσεις (Sisay, 2020).

### **3.1.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΕΥΣΑΡΚΙΑ**

Σύμφωνα με το Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, η παχύσκια αναγνωρίζεται ως παγκόσμια επιδημία ένας δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) πάνω από 25kg/m<sup>2</sup>

θεωρείται υπέρβαρος και πάνω από 30mg/m<sup>2</sup> είναι παχύσαρκος (WHO 2016). Ως εκ τούτου, οι παχύσαρκες γυναίκες έχουν 2-3 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν προεκλαμψία (Hebert, 2021) καθώς οι μεταβολικοί παράγοντες που σχετίζονται με την παχυσαρκία (λιπίδια, ινσουλίνη, γλυκόζη) ενισχύουν τη δυσλειτουργία του πλακούντα και του ενδοθηλίου. Η παχυσαρκία προκαλεί μια κατάσταση μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και αυξάνει το οξειδωτικό stress (Sen, 2019).

Το NO αυξάνει την ροή αίματος χαλαρώνοντας τους λείους αγγειακούς μύες και την κοιλιακή χώρα και η κεντρική παχυσαρκία οδηγεί σε ανισορροπημένη παραγωγή μεταβολικών προϊόντων, ορμονών και αδιττοκινών που προέρχονται από το λίπος και προδιαθέτουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, ενεργοποιώντας το NDPH. Η παχυσαρκία τροποποιεί επίσης το ανοσοποιητικό σύστημα. Το περιβάλλον της μήτρας των παχύσαρκων γυναικών δείχνει φυσικά κύτταρα δολοφόρους που προάγουν την απόπτωση των πολλαπλασιαστικών τροφοβλαστών (Higashi, 2010).

### **3.1.5 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΠΡΟΩΡΟΣ ΤΟΚΕΤΟΣ**

Ως πρόωρος τοκετός (PPROM) ορίζεται ο τοκετός που πραγματοποιείται πριν από τις 37 εβδομάδες κύησης και αποτελεί την κύρια αιτία νεογνικής νοσηρότητας και θνητότητας με ποσοστό μεταξύ 5% και 12% αντίστοιχα σε παγκόσμιο επίπεδο (Agarwal, 2012). Ο πρόωρος μπορεί να είναι είτε αυθόρμητος είτε προκαλούμενος εξαιτίας μητρικών ή εμβρυϊκών καταστάσεων. Ένας αυθόρμητος πρόωρος τοκετός μπορεί να οφείλεται σε ισχαιμία, υπερδιέγερση της μήτρας, τραχηλική νόσο, λοίμωξη, ενδοκρινικές διαταραχές αλλά και αιμορραγία. Ωστόσο κύριος παράγοντας της πρόωρης ρήξης των υμένων και του πρόωρου τοκετού θεωρούνται η φλεγμονή και η ενδομήτρια μόλυνση.

Η ίδια η διαδικασία του τοκετού από μόνη της προκαλεί διάφορες μεταβολές στις χοριοαμνιακές μεμβράνες, οι οποίες παρά την απουσία ιστολογικών ενδείξεων φλεγμονής, φαίνεται να είναι υπεύθυνες για την δημιουργία φλεγμονωδών αποκρίσεων. Δεδομένα υποδεικνύουν ότι η κατάσταση του



τοκετού, είτε πρόωρου είτε προκαλούμενη με όρο, απαιτεί τις δράσεις της GPx να περιορίσει την οξείδωση των λιπιδίων και συνδέεται με μια μείωση της αντιοξειδωτικής άμυνας που προκαλείται από τα ROS (Agarwal, 2012). Η πρόωρη ρήξη εμβρυϊκών υμένων φέρει κινδύνους μόλυνσης από τη μητέρα και το έμβρυο. Η παραγωγή προσταγλανδινών, αντιδραστικών ειδών οξυγόνου, πρωτεασών και προφλεγμονωδών κυτοκινών έχει ενοχοποιηθεί στην έναρξη του πρόωρου τοκετού. Το οξειδωτικό στρες παίζει ρόλο στην αιτιολογία της χοριοαμνιώσεως. Ο πρόωρος τοκετός έχει συσχετιστεί με τη χοριοαμνιονίτιδα και η ιστολογική μόλυνση βρέθηκε ότι σχετίζεται με την αυξημένη έκφραση mRNA του Mn-SOD σε εμβρυϊκές μεμβράνες γυναικών σε πρόωρο τοκετό. Οι αυξημένες εκφράσεις Mn-SOD mRNA μπορεί να είναι αντισταθμιστική απόκριση στην παρουσία αυξημένου OS και φλεγμονή σε πρόωρο τοκετό (Agarwal, 2012).

Μια φλεγμονώδης κατάσταση ενεργοποιεί την παραγωγή των ROS και να οδηγήσει σε εμφανές OS προκαλώντας έτσι βλάβη στον ιστό με αποτέλεσμα τον πρόωρο τοκετό.

Η μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα σε μητέρες οι οποίες έχουν προσβληθεί από αυξημένες ποσότητες ελεύθερων ριζών, τις καθιστά πιο ευαίσθητες στις βλάβες που προκαλούνται από το οξειδωτικό stress. Επομένως, η αντιοξειδωτική συμπλήρωση φαίνεται να μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της πρόωρης ρήξης των υμένων και του πρόωρου τοκετού που συνδέεται με τη φλεγμονή. Λόγω των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων των μελετών, δεν είναι σαφές εάν η μητρική αντιοξειδωτική συμπλήρωση παίζει κάποιο ρόλο στην πρόληψη της εμφάνισης του πρόωρου τοκετού (Agarwal, 2012).

### **3.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΩΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΛΟΚΩΝ ΤΗΣ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗΣ**

Η εγκυμοσύνη είναι μια περίοδος που θέτει αυξημένες απαιτήσεις από την μητέρα να παρέχει επαρκή θρεπτικά συστατικά μέσω της διατροφής στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Η ανεπαρκής παροχή απαραίτητων θρεπτικών

βιταμινών και μικροθρεπτικών συστατικών με αντιοξειδωτική δράση όπως το σελήνιο, ο χαλκός, το μαγγάνιο, ο ψευδάργυρος και η βιταμίνες Β και Ε μπορούν να οδηγήσουν και κακή έκβαση. Η έγκυος μητέρα πρέπει να παρέχει μια πλούσια πηγή τροφής και ανταλλαγής αερίων για να επιτρέψει τη μέγιστη εμβρυική ανάπτυξη, ενώ ταυτόχρονα προετοιμάζει και το σώμα της για τον τοκετό και τις μετέπειτα απαιτήσεις της γαλουχίας. Ποικίλα μικροθρεπτικά συστατικά και βιταμίνες είναι γνωστό ότι χρησιμεύουν ως αντιοξειδωτικά ή είναι βασικοί συμπαράγοντες για τα αντιοξειδωτικά ένζυμα.

### **3.2.1 ΣΕΛΗΝΙΟ**

Το σελήνιο είναι βασικό ιχνοστοιχείο που παίζει σημαντικό καθοριστικό ρόλο στο αντιοξειδωτικό σύστημα, στον κυτταρικό κύκλο και στη λειτουργία του ανοσοποιητικού λόγω της συμβολής του στις σεληνοπρωτεΐνες. Ενσωματώνεται σε πρωτεΐνες για την παραγωγή σεληνοπρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων των αντιοξειδωτικών ενζύμων υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, των αναγωγασών θειορεδοξίνης και της σεληνοπρωτεΐνης-P. Επιπλέον, το σελήνιο είναι απαραίτητο για την παραγωγή ενεργών θυρεοειδικών ορμονών και είναι απαραίτητο για τη φυσιολογική λειτουργία του θυρεοειδούς. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, οι συγκεντρώσεις σεληνίου της μητέρας και η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης μειώνονται. Η μειωμένη συγκέντρωση σεληνίου οδηγεί σε μειωμένη δραστηριότητα υπεροξειδάσης γλουταθειόνης με αποκορύφωμα μειωμένη αντιοξειδωτική προστασία των βιολογικών μεμβρανών και του DNA κατά τα πρώιμα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Σελήνιο βρίσκεται σε ένα ευρύ φάσμα τροφών συμπεριλαμβανομένων των βραζιλιάνικων ξηρών καρπών, των δημητριακών ολικής άλεσης, των ψαριών, του βόειου κρέατος και των αυγών (Thomson, 2004).

### **3.2.2 ΧΑΛΚΟΣ**

Ο χαλκός είναι ένας απαραίτητος συμπαράγοντας για έναν αριθμό ενζύμων που εμπλέκονται στις μεταβολικές αντιδράσεις, την αγγειογένεση, τη μεταφορά οξυγόνου και την αντιοξειδωτική προστασία, συμπεριλαμβανομένης της καταλάσης, της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και οξειδάση του

κυτοχρώματος . Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, οι συγκεντρώσεις χαλκού στο πλάσμα αυξάνονται σημαντικά, επιστρέφοντας σε φυσιολογικές τιμές μη εγκύου μετά τον τοκετό. Ο χαλκός είναι απαραίτητος για την εμβρυϊκή ανάπτυξη. Η μητρική διατροφική ανεπάρκεια μπορεί να οδηγήσει τόσο σε βραχυπρόθεσμες συνέπειες, συμπεριλαμβανομένου του πρώιμου εμβρυϊκού θανάτου και των σοβαρών δομικών ανωμαλιών, όσο και σε μακροπρόθεσμες συνέπειες όπως αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και μειωμένα ποσοστά γονιμοποίησης. Η σοβαρή ανεπάρκεια χαλκού μπορεί να οδηγήσει σε αναπαραγωγική ανεπάρκεια και πρώιμο εμβρυϊκό θάνατο, ενώ η ήπια ή μέτρια ανεπάρκεια έχει μικρή επίδραση είτε στον αριθμό των ζώντων γεννήσεων είτε στο βάρος του νεογνού. Η συγκέντρωση χαλκού έχει αποδειχθεί ότι είναι υψηλότερη στο μητρικό πλάσμα από ότι στο πλάσμα του ομφάλιου λώρου (Grzeszczak, 2020).

### **3.2.3 ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ**

Ο ψευδάργυρος είναι βασικό συστατικό περισσότερων από 200 μεταλλοενζύμων που συμμετέχουν στον μεταβολισμό των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών, στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων, στις αντιοξειδωτικές λειτουργίες (μέσω Cu-Zn SOD.), και άλλες ζωτικές λειτουργίες όπως η κυτταρική διαίρεση και διαφοροποίηση, καθιστώντας το απαραίτητο για την επιτυχή εμβρυογένεση. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, ο ψευδάργυρος χρησιμοποιείται επίσης για να βοηθήσει το έμβρυο να αναπτύξει τον εγκέφαλο και επίσης να βοηθήσει τη μητέρα που γεννά. Η απαίτηση σε ψευδάργυρο κατά το τρίτο τρίμηνο είναι περίπου διπλάσια από αυτή σε μη έγκυες γυναίκες . Η αλλαγή στην ομοιόσταση του ψευδαργύρου μπορεί να έχει καταστροφικές επιπτώσεις στην έκβαση της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένου του παρατεταμένου τοκετού, του περιορισμού της ανάπτυξης του εμβρύου ή του εμβρυϊκού ή εμβρυϊκού θανάτου. Τα οφέλη των συμπληρωμάτων περιλαμβάνουν μειωμένη συχνότητα εμφάνισης υπέρτασης που προκαλείται από εγκυμοσύνη ή χαμηλού βάρους γέννησης (Grzeszczak, 2020).

### **3.2.4 ΜΑΓΓΑΝΙΟ**

Το μαγγάνιο είναι ένας σημαντικός συμπαράγοντας για έναν αριθμό ενζύμων, συμπεριλαμβανομένου του αντιοξειδωτικού υπεροξειδίου του μαγγανίου

δισμουτάση (Mn-SOD). που μπορεί να προστατεύσει τον πλακούντα από το οξειδωτικό στρες αποτοξινώνοντας ανιόντα υπεροξειδίου. Οι συγκεντρώσεις μαγγανίου στο πλήρες αίμα έχουν αποδειχθεί χαμηλότερες σε γυναίκες με περιορισμό της εμβρυϊκής ανάπτυξης σε σύγκριση με υγιείς γυναίκες, υποδεικνύοντας ότι αυτό το μικροθρεπτικό συστατικό μπορεί να είναι σημαντικό για τη διατήρηση της εμβρυϊκής ανάπτυξης (Habibi, 2020).

### **3.2.5 BITAMINH C και E**

Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι μια απαραίτητη υδατοδιαλυτή βιταμίνη που βρίσκεται ευρέως στα φρούτα και τα λαχανικά. Έχει σημαντικούς ρόλους στη σύνθεση κολλαγόνου, την επούλωση τραυμάτων, την πρόληψη της αναιμίας και ως αντιοξειδωτικό καθώς μπορεί να σβήσει μια ποικιλία ενεργών ειδών οξυγόνου και δραστικών ειδών αζώτου σε υδατικά περιβάλλοντα. Η βιταμίνη E ( $\alpha$ -τοκοφερόλη) είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη που δρα με τη λιπιδική μεμβράνη και με συνεργικές αλληλεπιδράσεις με τη βιταμίνη C. Καθώς η βιταμίνη C και η βιταμίνη E δεν μπορούν να παραχθούν ενδογενώς από τον άνθρωπο, η μόνη πηγή αυτών των βιταμινών είναι μέσω της διατροφικής πρόσληψης. Ενώ οι μειωμένες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών που παρατηρούνται σε γυναίκες με προεκλαμψία είναι πιθανό να οφείλονται σε αυξημένο μεταβολισμό λόγω των απαιτήσεων του οξειδωτικού στρες. Συμπληρώματα βιταμίνης C και βιταμίνης E σε γυναίκες με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο προεκλαμψίας (Rumbold, 2015).

### **3.3 Διατροφή και εγκυμοσύνη**

Η σημασία της σωστής διατροφής πριν και καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι από καιρό γνωστή για τη βελτιστοποίηση της υγείας και της ευημερίας τόσο της μητέρας όσο και του μωρού. Η εγκυμοσύνη είναι μια περίοδος αυξημένων μεταβολικών απαιτήσεων με αλλαγές στη φυσιολογία της

γυναίκας και τις απαιτήσεις ενός αναπτυσσόμενου εμβρύου. Η ανεπαρκής παροχή απαραίτητων βιταμινών και μικροθρεπτικών συστατικών μπορεί να οδηγήσει σε κατάσταση βιολογικού ανταγωνισμού μεταξύ της μητέρας και της σύλληψης, που μπορεί να είναι επιζήμια για την κατάσταση της υγείας και των δύο (Jardi, 2019).

Η ανεπάρκεια ιχνοστοιχείων κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης σχετίζεται στενά με τη θνησιμότητα και τη νοσηρότητα. Οι ελλείψεις συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών ενεργειών που σχετίζονται με τα μικροθρεπτικά συστατικά σελήνιο, χαλκό, ψευδάργυρο και μαγγάνιο μπορεί να οδηγήσουν σε κακή έκβαση της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένου του περιορισμού της ανάπτυξης του εμβρύου, της προεκλαμψίας και του σχετικού αυξημένου κινδύνου ασθενειών στην ενήλικη ζωή, συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών παθήσεων και διαβήτη τύπου. Ο ρόλος των μικροθρεπτικών συστατικών στην εγκυμοσύνη και ιδιαίτερα τις επιπτώσεις τόσο της μητρικής υποτροφής όσο και της υπερτροφής στη μακροπρόθεσμη υγεία των απογόνων. Ένας αριθμός υποθέσεων έχει προταθεί για να εξηγήσει τη συμβολή της μητρικής διατροφής κατά την εμβρυϊκή και εμβρυϊκή περίοδο και τον προγραμματισμό του καρδιαγγειακού και μεταβολικού συστήματος των απογόνων. Εκτός από τη συμβολή της μακροθρέψης στην επιτυχή εγκυμοσύνη, πιο πρόσφατα μελέτες άρχισαν να επικεντρώνονται στον ρόλο των βασικών ειδικών μικροθρεπτικών συστατικών, που ονομάζονται έτσι επειδή είναι απόλυτη απαίτηση και απαιτούνται μόνο σε μικρές ποσότητες καθημερινά

Η έγκυος μητέρα πρέπει να παρέχει μια πηγή τροφής και ανταλλαγής αερίων για να επιτρέψει τη μέγιστη εμβρυϊκή και εμβρυϊκή ανάπτυξη, ενώ ταυτόχρονα προετοιμάζει το σώμα της για τον τοκετό και τον τοκετό και τις μετέπειτα απαιτήσεις της γαλουχίας. Επιπλέον, πρέπει να διατηρηθεί μια προσεκτική ισορροπία μεταξύ της παροχής ανοσολογικής επιτήρησης για την προστασία της μητέρας από μόλυνση και επιτρέποντας ταυτόχρονα την εμφύτευση και την επιβίωση της σύλληψης. Η ανάπτυξη και η εγκαθίδρυση του πλακούντα και του κυκλοφορικού του συστήματος είναι ζωτικής σημασίας για την επιτυχή διατήρηση της υγείας της μητέρας και, επίσης, για την ανάπτυξη του εμβρύου και την ανάπτυξη του εμβρύου (Jardi, 2019).

Η εγκαθίδρυση της εμβρυοπλακουντικής κυκλοφορίας απαιτεί την εισβολή τροφοβλάστης που προέρχεται από τον πλακούντα από τις στήλες κυτταροτροφοβλαστών που αγκυροβολούν μέσω του μητρικού ντεκέντου και στις μητρικές σπειροειδείς αρτηρίες. Κατά τη διάρκεια των πρώτων 8 εβδομάδων της εγκυμοσύνης, απελευθερώνονται βύσματα τροφοβλάστης εντός των σπειροειδών αρτηριών που υπάρχουν για να προστατεύουν το εμβρυϊκό DNA από βλάβη από οξειδωτικό στρες επιτρέποντας την έναρξη της κυκλοφορίας του πλακούντα. Η απελευθέρωση βυσμάτων τροφοβλάστης με ροή αίματος στον μεσολάχινο χώρο οδηγεί στη δημιουργία οξειδωτικού στρες. Ωστόσο, ο πλακούντας είναι οπλισμένος με αντιοξειδωτικές άμυνες, συμπεριλαμβανομένων των υπεροξειδασών γλουταθειόνης που εξαρτώνται από το σελήνιο, των αναγωγασών θειορεδοξίνης, της σεληνοπρωτεΐνης-P και των δισμουτάσες υπεροξειδίου χαλκού/ψευδαργύρου και μαγγανίου (Cu/Zn και Mn SODs), που προστατεύουν τον πλακούντα από οποιαδήποτε αδικαιολόγητη βλάβη. Καθώς τα εξωλάχινα κύτταρα τροφοβλάστης μεταναστεύουν μέσω του σπειροειδούς τοιχώματος της αρτηρίας, εμπλέκονται στη διαδικασία της φυσιολογικής μετατροπής, η οποία χρησιμεύει για τη μεγέθυνση του αυλού του αγγείου μεγιστοποιώντας έτσι την παροχή αίματος στον μεσολαχνικό χώρο, επιτρέποντας τη μέγιστη διάχυση θρεπτικών ουσιών και αερίων μέσω του πλακούντα συγκυτιοτροφοβλάστη. Η ανεπαρκής εισβολή εξωλάχνης τροφοβλάστης σχετίζεται με μειωμένη αναδιαμόρφωση σπειροειδούς αρτηρίας που οδηγεί σε μειωμένη ροή αίματος και αυξημένο οξειδωτικό στρες εντός του πλακούντα και είναι γνωστό ότι είναι το κύριο ελάττωμα που εμφανίζεται στην προεκλαμψία, στον περιορισμό της ανάπτυξης του εμβρύου. και σποραδικές αποβολές. Επιπλέον, η προεκλαμψία έχει επίσης συσχετιστεί με μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικής ενζυμικής προστασίας που προκαλεί περαιτέρω βλάβη στον πλακούντα (Agarwal, 2012).

Πίνακας 1. Τροφές πλούσιες σε αντιοξειδωτικά και συνιστάμενη δοσολογία.

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ	ΤΡΟΦΙΜΑ	ΣΥΝΙΣΤΑΜΕΝΗ ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ
ΒΙΤΑΜΙΝΗ C (ασκορβικό οξύ)	Ακτινίδιο, πανάγια, μαϊντανός, φράουλες, μπρόκολο, μάγκο, εσπεριδοειδή, κόκκινη πιπεριά, λάχανο, ανανάς αγγούρι, ντομάτα, σπανάκι, αρακάς.	200mg ημερησίως 1000mg για την θεραπεία διαφόρων νόσων
ΒΙΤΑΜΙΝΗ E (τοκοφερόλες)	Ηλιέλαιο, σογιέλαιο, ελαιόλαδο, ξηροί καρποί, σπόροι, όσπρια	15mg ημερησίως 19mg στη κύηση και τον θηλασμό
Β-ΚΑΡΟΤΕΝΙΟ	Καρότο, γλυκοπατάτα, πράσινα φυλλώδη λαχανικά, τομάτα, πορτοκάλι, κολοκύθα, κόκκινη-κίτρινη-πορτοκαλί πιπεριά, βερίκοκο, μπρόκολο δαμάσκηνο, καλαμπόκι	650μg ημερησίως 700-1300μg στην κύηση και τον θηλασμό αντίστοιχα
ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ	Μήλο, γαρίφαλο, κρεμμύδια, τσάι, καφές, πορτοκάλι, κεράσια, κόκκινο κρασί, κακάο, σόγια	30mg ημερησίως

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το οξειδωτικό στρες είναι σαφώς ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας της λειτουργικότητας τόσο στις ανδρικές όσο και στις γυναικείες βλαστικές γραμμές. Στην ανδρική βλαστική σειρά, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι ένα χαμηλό επίπεδο παραγωγής ROS είναι ευεργετικό για τη λειτουργία του σπέρματος, επιτυγχάνοντας μια σειρά λειτουργιών από τη διασύνδεση της χρωματίνης του σπέρματος έως την ενίσχυση της χωρητικότητας του σπέρματος. Ωστόσο, σε διάφορες καταστάσεις (κρυοσυντήρηση, έκθεση σε τοξικές ουσίες, ηλικία κ.λπ.) η παραγωγή των ROS γίνεται υπερ-φυσιολογική και υπερισχύει της περιορισμένης αντιοξειδωτικής άμυνας αυτών των κυττάρων, επιταχύνοντας μια κατάσταση οξειδωτικού στρες που μπορεί να βλάψει τόσο την παραγωγή όσο και τη λειτουργία του σπέρματος και τελικά επηρεάζουν την πορεία της υγείας των απογόνων. Αν και έχουμε κάνει κάποια πρόοδο στην κατανόηση των διαφόρων πηγών ROS σε αυτά τα κύτταρα, εξακολουθούμε να περιμένουμε μια πλήρη εξήγηση του γενετικού, επιγενετικού και περιβαλλοντικού παράγοντες που ευθύνονται για το οξειδωτικό στρες που παρατηρείται σε υπογόνιμα αρσενικά.

Στη γυναικεία βλαστική σειρά, δεν έχει προταθεί θετικός ρόλος για το ROS. Ωστόσο, είναι σαφές ότι τα ωκύτταρα είναι ευάλωτα στις καταστροφικές επιπτώσεις αυτών των τοξικών μεταβλητών εάν η έκθεση είναι έντονη και/ή επαρκώς παρατεταμένη. Δεδομένης της ευαισθησίας της αναπαραγωγής στο οξειδωτικό στρες, τα αντιοξειδωτικά θα πρέπει να έχουν θεμελιώδη σημασία για τη διατήρηση της λειτουργικής ακεραιότητας της ανδρικής και γυναικείας αναπαραγωγικής λειτουργίας.

Ακρογωνιαίος λίθος για την αντιμετώπιση την υπογονιμότητας η οποία οφείλεται σε βλάβες του οξειδωτικού stress είναι η αντιμετώπιση της αιτίας που την προκαλεί. Τα αντιοξειδωτικά ναί μεν είναι ωφέλημα για τον περιορισμό των επιπτώσεων του οξειδωτικού stress ωστόσο πρέπει να δίνονται συμπληρωματικά μαζί με την κατάλληλη θεραπεία των ανδρικών και γυναικείων ασθενειών που την προκαλούν.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B. J., Shaman, A., & Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive biology and endocrinology*, 10(1), 1-31.

Agarwal, A., Durairajanayagam, D., & Du Plessis, S. S. (2014). Utility of antioxidants during assisted reproductive techniques: an evidence based review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), 1-19.

Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., & Du Plessis, S. S. (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *The world journal of men's health*, 32(1), 1-17.

Aitken, R. J. (2020). Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction*, 159(4), R189-R201.

Aitken, R. J., & Baker, M. A. (2006). Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Molecular and cellular endocrinology*, 250(1-2), 66-69.

Aitken, R. J., Smith, T. B., Jobling, M. S., Baker, M. A., & De Iuliis, G. N. (2014). Oxidative stress and male reproductive health. *Asian journal of andrology*, 16(1), 31.

Alkadi, H. (2020). A review on free radicals and antioxidants. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 20(1), 16-26.

Behrman, H. R., Kodaman, P. H., Preston, S. L., & Gao, S. (2001). Oxidative stress and the ovary. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 8(1\_suppl), S40-S42.

Bellanti, F., Matteo, M., Rollo, T., De Rosario, F., Greco, P., Vendemiale, G., & Serviddio, G. (2013). Sex hormones modulate circulating antioxidant enzymes: impact of estrogen therapy. *Redox biology*, 1(1), 340-346.

Biri, A., Bozkurt, N., Turp, A., Kavutcu, M., Himmetoglu, Ö., & Durak, I. (2007). Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecologic and obstetric investigation*, 64(4), 187-192.

- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), 1211.
- Cilio, S., Rienzo, M., Villano, G., Mirto, B. F., Giampaglia, G., Capone, F., ... & Crocetto, F. (2022). Beneficial Effects of Antioxidants in Male Infertility Management: A Narrative Review. *Oxygen*, 2(1), 1-11.
- Cox, A. G., Winterbourn, C. C., & Hampton, M. B. (2010). Mitochondrial peroxiredoxin involvement in antioxidant defence and redox signalling. *Biochemical Journal*, 425(2), 313-325.
- Creasy, D. M., & Chapin, R. E. (2013). Male reproductive system. *Haschek and Rousseaux's handbook of Toxicologic Pathology*, 2493-2598.
- Darché, R. L., Ruder, E. H., Blumberg, J., Hartman, T. J., & Goldman, M. B. (2017). Antioxidants in Reproductive Health and Fertility. *Nutritional Antioxidant Therapies: Treatments and Perspectives*, 113-136.
- Dasari, S., Ganjayi, M. S., Yellanurkonda, P., Basha, S., & Meriga, B. (2018). Role of glutathione S-transferases in detoxification of a polycyclic aromatic hydrocarbon, methylcholanthrene. *Chemico-biological interactions*, 294, 81-90.
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2018). Harmful and beneficial role of ROS 2017. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Djordjevic, V. B. (2004). Free radicals in cell biology. *International review of cytology*, 237(237), 57-89.
- Du Plessis, S. S., Makker, K., Desai, N. R., & Agarwal, A. (2008). Impact of oxidative stress on IVF. *Expert review of obstetrics & gynecology*, 3(4), 539-554.
- Duhig, K., Chappell, L. C., & Shennan, A. H. (2016). Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstetric medicine*, 9(3), 113-116.
- Ernster, L., & Dallner, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1271(1), 195-204.

- Formoso, G., Baldassarre, M. P., Ginestra, F., Carlucci, M. A., Bucci, I., & Consoli, A. (2019). Inositol and antioxidant supplementation: Safety and efficacy in pregnancy. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 35(5), e3154.
- Fortune, J. E. "Ovarian follicular growth and development in mammals." *Biology of reproduction* 50, no. 2 (1994): 225-232.
- Grzeszczak, K., Kwiatkowski, S., & Kosik-Bogacka, D. (2020). The role of Fe, Zn, and Cu in pregnancy. *Biomolecules*, 10(8), 1176.
- Habibi, N., Grieger, J. A., & Bianco-Miotto, T. (2020). A review of the potential interaction of selenium and iodine on placental and child health. *Nutrients*, 12(9), 2678.
- Halliwell, B. B., & Poulsen, H. E. (2006). Oxidative stress. In *Cigarette smoke and oxidative stress* (pp. 1-4). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Jardí, C., Aparicio, E., Bedmar, C., Aranda, N., Abajo, S., March, G., ... & ECLIPSES Study Group. (2019). Food consumption during pregnancy and post-partum. ECLIPSES study. *Nutrients*, 11(10), 2447.
- Kaneko, T., Iuchi, Y., Kawachiya, S., Fujii, T., Saito, H., Kurachi, H., & Fujii, J. (2001). Αλλαγή της έκφρασης της αναγωγάσης της γλουταθειόνης στα γυναικεία αναπαραγωγικά όργανα κατά τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου. *Biology of Reproduction*, 65 (5), 1410-1416.
- Kennedy, L., Sandhu, J. K., Harper, M. E., & Cuperlovic-Culf, M. (2020). Role of glutathione in cancer: From mechanisms to therapies. *Biomolecules*, 10(10), 1429.
- Laurindo, F. R., Fernandes, D. C., & Santos, C. X. (2008). Assessment of superoxide production and NADPH oxidase activity by HPLC analysis of dihydroethidium oxidation products. *Methods in enzymology*, 441, 237-260.
- Lee, I. T., & Yang, C. M. (2012). Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases. *Biochemical pharmacology*, 84(5), 581-590.

- Lee, M., Heikes, B. G., & O'Sullivan, D. W. (2000). Hydrogen peroxide and organic hydroperoxide in the troposphere: a review. *Atmospheric Environment*, 34(21), 3475-3494.
- Lee, P., & Ulatowski, L. M. (2019). Vitamin E: Mechanism of transport and regulation in the CNS. *IUBMB life*, 71(4), 424-429.
- Lu, J., & Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. *Free Radical Biology and Medicine*, 66, 75-87.
- Mistry, H. D., & Williams, P. J. (2011). The importance of antioxidant micronutrients in pregnancy. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2011.
- Murri, M., Luque-Ramírez, M., Insenser, M., Ojeda-Ojeda, M., & Escobar-Morreale, H. F. (2013). Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update*, 19(3), 268-288.
- Mustafa, M. G. (1990). Biochemical basis of ozone toxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(3), 245-265.
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- O'Donnell, L., Meachem, S. J., Stanton, P. G., & McLachlan, R. I. (2006). Endocrine regulation of spermatogenesis. In *Knobil and Neill's physiology of reproduction* (pp. 1017-1069). Academic Press.
- Packer, L., Witt, E. H., & Tritschler, H. J. (1995). Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free radical biology and medicine*, 19(2), 227-250.
- Pereira, A. C., & Martel, F. (2014). Oxidative stress in pregnancy and fertility pathologies. *Cell biology and toxicology*, 30(5), 301-312.
- Peterson, S. L., & Stevenson, P. M. (1992). Changes in catalase activity and concentration during ovarian development and differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1135(2), 207-214.

Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., & Reiter, R. J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of pineal research*, 36(1), 1-9.

Ruder, E. H., Hartman, T. J., Blumberg, J., & Goldman, M. B. (2008). Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Human reproduction update*, 14(4), 345-357.

Rumbold, A., Ota, E., Nagata, C., Shahrook, S., & Crowther, C. A. (2015). Vitamin C supplementation in pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (9).

Sabatini, L., Wilson, C., Lower, A., Al-Shawaf, T., & Grudzinskas, JG (1999). Δραστηριότητα υπεροξειδίου δισμουτάσης σε ανθρώπινο ωοθυλακικό υγρό μετά από ελεγχόμενη υπερδιέγερση των ωοθηκών σε γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση. *Fertility and sterility* , 72 (6), 1027-1034.

Scutiero, G., Iannone, P., Bernardi, G., Bonaccorsi, G., Spadaro, S., Volta, C. A., ... & Nappi, L. (2017). Oxidative stress and endometriosis: a systematic review of the literature. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.

Shiotani, M., Noda, Y., Narimoto, K., Imai, K., Takahide, M., Fujimoto, K., & Ogawa, K. (1991). Ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός υπεροξειδικής δισμουτάσης στην ανθρώπινη ωοθήκη. *Ανθρώπινη αναπαραγωγή* , 6 (10), 1349-1353.

Showell, M. G., Mackenzie-Proctor, R., Brown, J., Yazdani, A., Stankiewicz, M. T., & Hart, R. J. (2014). Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (12).

Sies, H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), 916-921.

Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852.

Sikka, S. C., Rajasekaran, M. A. H. A. D. E. V. A. N., & Hellstrom, W. J. (1995). Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *Journal of andrology*, 16(6), 464-468.

- Suzuki, T., Sugino, N., Fukaya, T., Sugiyama, S., Uda, T., Takaya, R., ... & Sasano, H. (1999). Superoxide dismutase in normal cycling human ovaries: immunohistochemical localization and characterization. *Fertility and Sterility*, 72(4), 720-726.
- Walczak–Jedrzejowska, R., Wolski, J. K., & Slowikowska–Hilczer, J. (2013). The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Central European journal of urology*, 66(1), 60.
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*, 12(3), 88.
- Zhang, D., Luo, W. Y., Liao, H., Wang, C. F., & Sun, Y. (2008). The effects of oxidative stress to PCOS. *Sichuan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Sichuan University. Medical Science edition*, 39(3), 421-423.
- Zhang, M. L., Wu, H. T., Chen, W. J., Xu, Y., Ye, Q. Q., Shen, J. X., & Liu, J. (2020). Involvement of glutathione peroxidases in the occurrence and development of breast cancers. *Journal of translational medicine*, 18(1), 1-11.

#### ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Μοσχοπούλου, Α. (2019) Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης σε πολυφαινολικά εκχυλίσματα από ποικιλία φυτών την ελληνικής χλωρίδας.
- Νικολοπούλου-Σταμάτη, Π., & Πίτσος, ΜΑ (2001). Η επίδραση των ενδοκρινικών αδιατάρακτων στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα. *Ενημέρωση ανθρώπινης αναπαραγωγής*, 7 (3), 323-330.
- Παπαγεωργίου, Γ.Ε. (2005). Βιοχημεία Ελεύθερων Ριζών: Αντιοξειδωτικά και Λιπιδική Υπεροξείδωση
- Παπαγαλάνης, Ν. (2014). Οξειδωτικό στρες και ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα Ι. Δραστικές ρίζες οξυγόνου-Oxidative stress and the endogenous antioxidant system. I. Reactive oxygen species. *Ελληνική Νεφρολογία-Hellenic Nephrology*, 26(3).
- Σωτηριάδης, Θ.Γ. (2004). Ελεύθερες ρίζες, αντιοξειδωτικά και υγεία.
- Χαραλαμπίδου, Σ. (2020). Οξειδωτικό στρες και ανδρική υπογονιμότητα.
- Χλιούμπη, Δ. (2020). Οξειδωτικό στρες και υπογονιμότητα (Μεταπτυχιακή εργασία).