

Vpliv izpostavljenosti nekaterim onesnaževalom na kakovost semena moških v Sloveniji

Predstavitev raziskovalne tematike

Čedomir Joksimović

Mentor: Prof. dr. Andrej Cör

Opis tematike

- Z raziskavo želimo ugotoviti kakšen je vpliv onesnaženega zraka na poškodbe DNK (fragmentacija) v moškem semenu na območju Slovenije
- Interdisciplinarna raziskava – reprodukcija, ekologija in celična biologija
- Po naših podatkih prva raziskava v Sloveniji, ki bo ugotavljala morebitne posledice slabe kakovosti zraka na plodnost moških po posameznih regijah Slovenije

Reprodukivni vidik

- Neplodnost je globalni in naraščajoči pojav
- 15% vseh parov se spopada z neplodnostjo, kar pomeni skoraj 50 milijonov parov
- Zdravljenje neplodnosti predstavlja velike stroške za posameznika in zdravstveni sistem (30.000 – 50.000€/par)
- 4% otrok v Sloveniji je rojenih z OBMP
- 30% - moški faktor

Global infertility prevalence estimates

2022 global infertility prevalence estimates are:

Approximately **one in six** people have experienced infertility at some stage in their lives, globally.



17.5%

Estimated lifetime prevalence of infertility (95% confidence interval: 15.0, 20.3).

Lifetime prevalence is defined as the proportion of a population who have ever experienced infertility in their life.

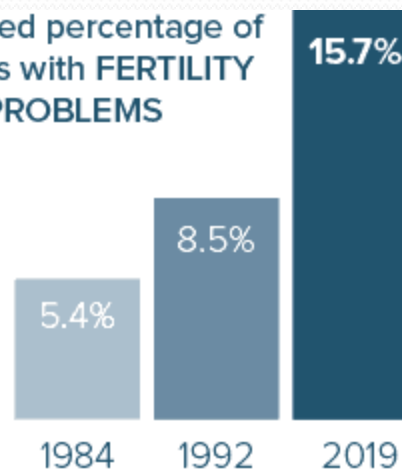


12.6%

Estimated period prevalence of infertility (95% confidence interval: 10.7, 14.6).

Period prevalence is defined as the proportion of a population with infertility at a given point or interval in time, which may be current or in the past.

Estimated percentage of couples with FERTILITY PROBLEMS



Ekološki vidik

- Po oceni Evropske agencije za okolje predstavlja onesnaženost zraka največje okoljsko tveganje za zdravje v Evropi
- Leta 2020 je bilo 96 % mestnega prebivalstva v EU izpostavljenih koncentracijam drobnih delcev ($PM_{2.5}$) nad priporočeno ravno SZO, ki znaša 5 mikrogramov na kubični meter ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) zraka.
- Glavni viri onesnaževanja zraka predstavljajo produkti izgorevanja fosilnih goriv (izpusti motornih vozil, tovarne, gospodinjstva, kmetijstvo in požari)



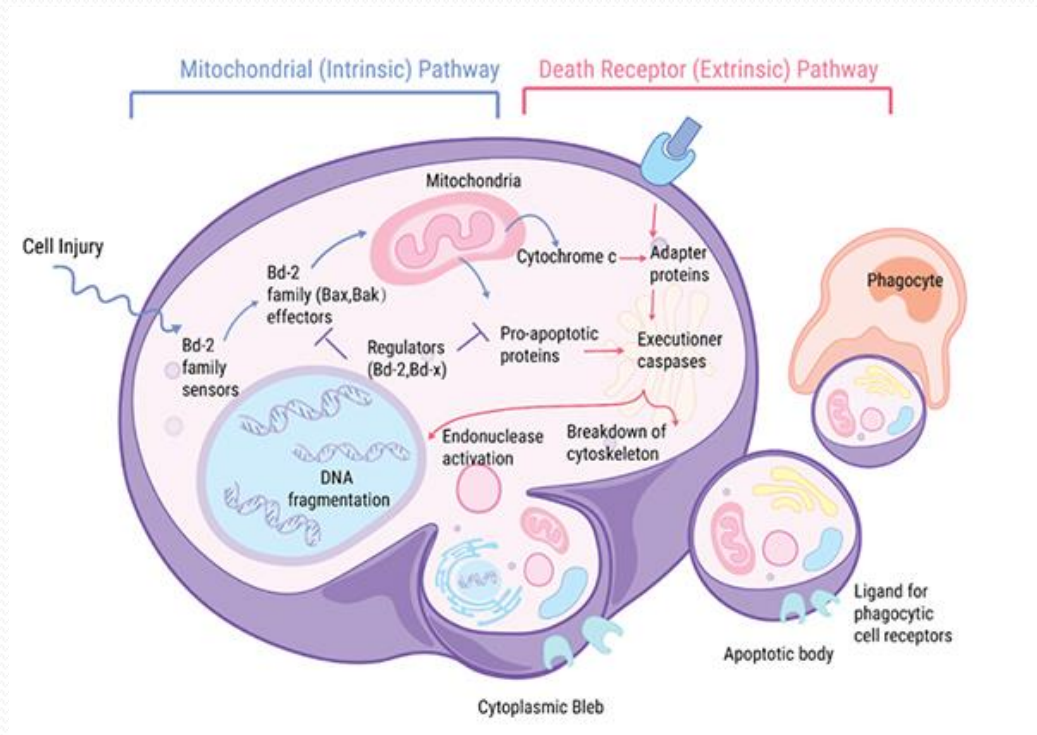
Celični vidik

Apoptoza

- Programirana celična smrt
- Homeostatski proces, ki uravnava celično populacijo v tkivih (npr. spermatogoniji v testisih, maligne celice v tumorjih)
- Oksidativni stres, ionizirajoča sevanja in kemoterapevtiki sprožijo proces apoptoze
- Kaspaze (3, 6, 7, 8, 9)

Fragmentacija DNK

- Faza apoptoze
- Pretrganje ali ločenje ene ali obeh vijačnic na 180 bp velike oligomere



Cilji

Z namenom ugotoviti morebiten vpliv onesnaževal v različnih regijah Slovenije smo si zadali sledeče delovne hipoteze:

- **Glavna hipoteza: Delež semenčic s fragmentirano DNK je višji pri moških, ki so bili v času spermatogeneze izpostavljeni višjim vrednostim onesnaževal**
- Sekundarna hipoteza: Izpostavljenost višjim vrednostim onesnaževal je povezano s slabšo giblivostjo semenčic
- Sekundarna hipoteza: Izpostavljenost višjim vrednostim onesnaževal je povezano s slabšo morfologijo semenčic

Utemeljitev I

- Na kakovost moškega semena vplivajo tako genetski kot okoljski dejavniki.
 - Številne raziskave opisujejo negativen vpliv onesnaževal v zraku na moški reproduktivni sistem, kjer povzročajo spremembe v morfologiji semenčic, slabšo gibljivost in poškodbo DNK
- Zhao Y, Zhu Q, Lin J, Cai J. Association of Exposure to Particulate Matter Air Pollution With Semen Quality Among Men in China. *JAMA Netw Open*. 2022;5(2):e2148684. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.48684
 - Nateghian Z, Aliabadi E (2020) Aspects of Environmental Pollutants on Male Fertility and Sperm Parameters. *J Environ Treat Tech* 8(1):299–309. <http://www.jett.dormaj.com>
 - Selvaraju V, Baskaran S, Agarwal A, Henkel R (2021) Environmental contaminants and male infertility: effects and mechanisms. *Andrologia* 53(1):e13646. <https://doi.org/10.1111/and.13646>
 - Kumar, N., Singh, A.K. Impact of environmental factors on human semen quality and male fertility: a narrative review. *Environ Sci Eur* 34, 6 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00585-w>
 - <http://www.okolje.info/index.php/kakovost-zraka>
 - Jurewicz, J., Dziewirska, E., Radwan, M. *et al.* Air pollution from natural and anthropic sources and male fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 16, 109 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0430-2>
 - Jurewicz J, Dziewirska E, Radwan M, Hanke W (2018) Air pollution from natural and anthropic sources and male fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 16(1):109. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0430-2>

Utemeljitev II

- Polutanti imajo tudi neposreden učinek na steroidogenezo, zavirajo delovanje Sertolijevih celic - slabšajo funkcionalnost semenčic, kar vodi v zmanjšano plodnost moških

Table 1 Effect of Environmental Factors on Semen Quality and Male Fertility: A Comparison of Human and Animal Studies

From: [Impact of environmental factors on human semen quality and male fertility: a narrative review](#)

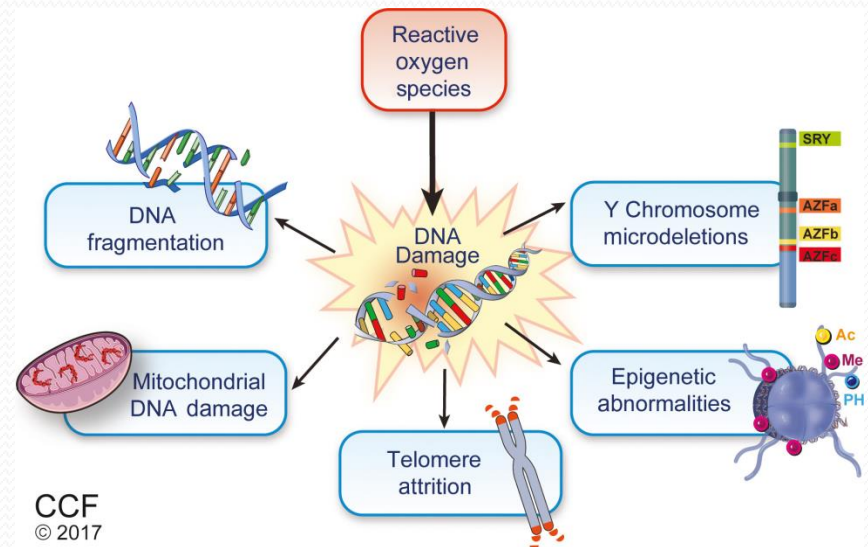
S. no	Predisposing factor	Source/cause	Human studies	Animal studies
1	Air Pollution	Motor vehicles exhaust, factories, fire, household, agriculture, waste treatment, oil refineries, natural sources, such as volcanic eruptions, wind, etc.	PM _{2.5} in the air is directly associated with total sperm number and concentration [25, 128] PM ₁₀ is related to semen volume and typical forms and inversely related to atypical forms [25, 129] SO ₂ exposure at the time of sperm development causes oxidative damage to sperm [5] Air pollution negatively affects testosterone levels [129]	PM _{2.5} exposure in mice causes a significant fall in sperm concentration, motility, serum testosterone levels, an increased percentage of morphological abnormalities in sperms [130] •PM _{2.5} causes severe testicular damage on histopathology [131]
2	Chemicals			
	i. Dioxins/Furans	Produced as a by-product of industrial and natural processes, such as smelting, chlorine bleaching of paper and pulp, production of pesticides, biomedical and plastic waste incineration	Reduced sperm concentration and motility [47] Ejaculate of infertile men had 2.2–2.3 times higher content of dioxins and furans as compared to their fertile counterparts [49]	Reduced daily sperm production, epididymis sperm counts, and dose-dependent histological changes in the testes [132] Fall in plasma concentrations of testosterone, and LH [132]
	ii. Bicinhenol A	A major component of nlastic and released	Pro-oxidative/anontotic mitochondrial	Reduced sperm production, motility increased

Kumar, N., Singh, A.K. Impact of environmental factors on human semen quality and male fertility: a narrative review. *Environ Sci Eur* 34, 6 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00585-w>

Utemeljitev III

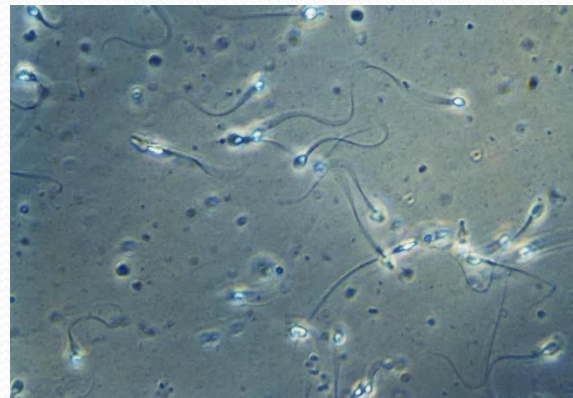
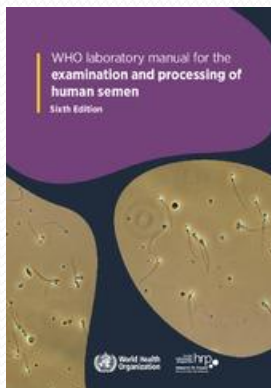
Reaktivne kisikove zvrsti (ROS)

- Trdni delci in spojine v onesnaženem zraku povzročajo povečano količino prostih radikalov (PR), ki poškodujejo celične membrane in organele kar vodi v apoptozo
- 25-40% vzorcev semena neplodnih moških ima močno povečane vrednosti ROS
- PR lahko tudi neposredno poškodujejo DNK v jedru in mitohondrije



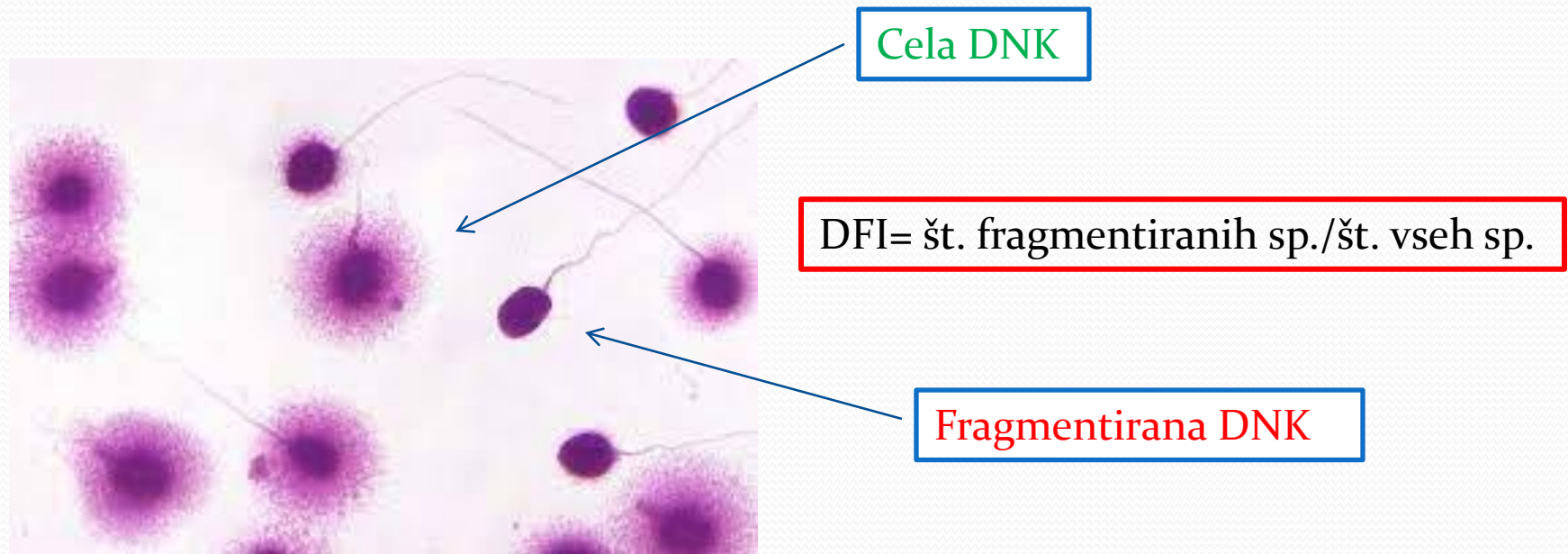
Zasnova raziskave I

- Prospektivna študija
- Vključeni bodo moški v postopku diagnostike ali zdravljenja neplodnosti
- Klasičen pregled semena (WHO 6th Edition)
- Vprašalnik o življenjskem slogu



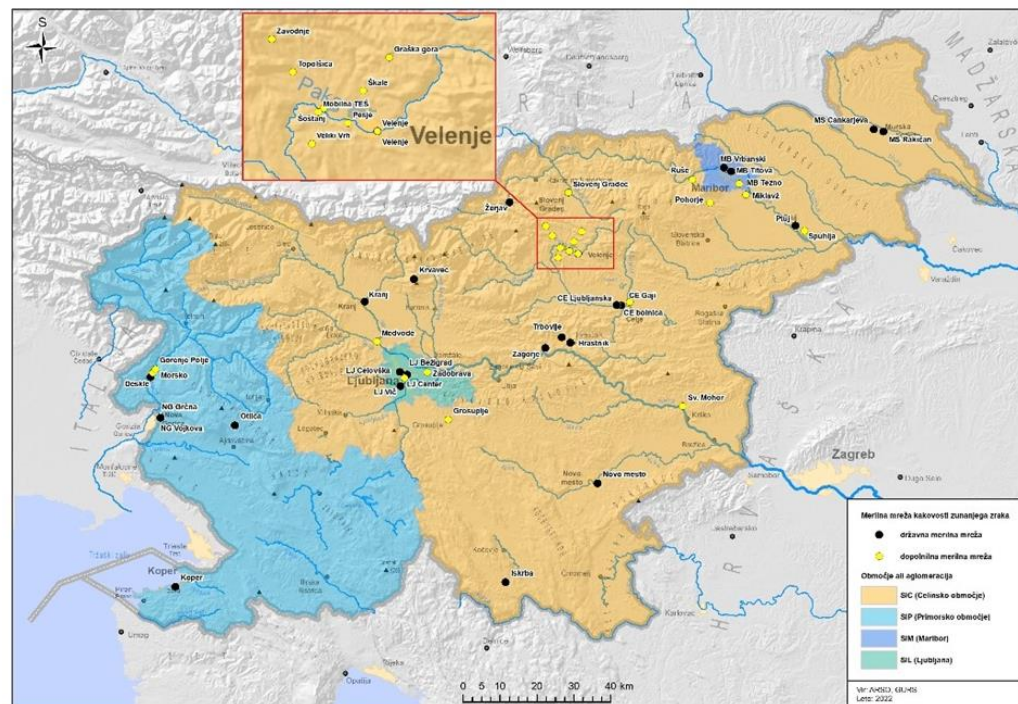
Zasnova raziskave II

- Test fragmentacije DNK - SCD (Sperm Chromatin Dispersion) HT-HSG2 proizvajalca Halotech DNA Sl, Madrid



Zasnova raziskave III

- ARSO (sektor za kakovost zraka) beleži urne in dnevne koncentracije polutantov v zraku
- 22 merilnih postaj
- Delci PM₁₀
- Delci PM_{2,5}
- SO₂
- NO₂
- Ozon



Zasnova raziskave V

- Kot referenčno merilno postajo bomo izbrali lokacijo najbližjo stalnemu prebivališču pacienta
- Zanimala nas bo tudi lokacija prebivališča glede na poseljenost, promet in industrijo (bližina prometnic, tovarn, mestno ali ruralno okolje,...)

Zasnova raziskave VI

Zanima nas obdobje 90 dni pred pregledom semena kakor tudi 3 ključne faze v ravoju semenčic:

- **S₃**: 0-9 dni – zorenje semenčic v nadmodku
- **S₂**: 10-14 dni – razvoj gibalne sposobnosti semenčic
- **S₁**: 70-90 dni – spermatogeneza

Zasnova raziskave VII

- Izračunali bomo morebitno korelacijo med vrednostjo določenega onesnaževala in indeksom fragmentacije DNK semenčic v skupnem obdobju razvoja semenčic ter tudi po posameznih časovnih periodah (S_1 , S_2 in S_3).
- Predvidevamo, da bomo v raziskavo vključili 300 vzorcev.

Pričakovani rezultati

- Z raziskavo želimo ugotoviti ali izpostavljenost nekaterih onesnaževal v zraku vpliva na poškodbe DNK v semenčicah moških v Sloveniji.
- Glede na dostopno literaturo pričakujemo, da bomo potrdili vse tri delovne hipoteze ter opredelili območja v Sloveniji s povečanim vplivom slabe kakovosti zraka na celovitost DNK v moških zarodnih celicah ter posledično zmanjšane plodnosti.
- Pričakujemo, da bodo rezultati raziskave osvetlili vzroke za slabšanje kakovosti moškega semena v Sloveniji in pripomogli tudi k preventivnim ukrepom za varovanje reproduktivnega zdravja.