



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας  
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

## Προσδιορισμός βιοχημικών δεικτών στο σπερματικό υγρό διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων

GRADUATE THESIS

### Determination of biochemical markers in seminal fluid of diabetic and non-diabetic individuals



ΟΝΟΜΑΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS  
**Αναστασία Κατσιπόδη, Γαρυφαλλιά Μαυροειδή**  
Anastasia Katsipodi, Garyfallia Mavroeidi

ΟΝΟΜΑΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR  
**Μαρία Τράπαλη**  
MariaTrapali

AIGALEO 2024



Faculty of Health and Caring Professions  
Department of Biomedical Sciences



Laboratory of Chemistry, Biochemistry, Cosmetology

GRADUATE THESIS

## **Determination of biochemical markers in seminal fluid of diabetic and non-diabetic individuals**

ANASTASIA KATSIPODI

20678109

[sia.katsipodi@gmail.com](mailto:sia.katsipodi@gmail.com)

GARYFALLIA MAVROEIDI

20678184

[lianamavroeidi2002@gmail.com](mailto:lianamavroeidi2002@gmail.com)

FIRST SUPERVISOR

MARIA TRAPALI

SECOND SUPERVISOR

PETROS KARKALOUSOS

THIRD SUPERVISOR

PETROS PAPALEXIS

AIGALEO 2024

II



## Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 07/10/2024

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Μαρία Τράπαλη	
2 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Πέτρος Καρκαλούσος	
3 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Πέτρος Παπαλέξης	

## Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Αναστασία Κατσιπόδη του Νικολάου, με αριθμό μητρώου 20678109 και Γαρυφαλλιά Μαυροειδή του Παναγιώτη με αριθμό μητρώου 20678184 φοιτήτριες του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνουμε ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής/ διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας»


Αναστασία Κατσιπόδη

Γαρυφαλλιά Μαυροειδή

Υπογραφή φοιτητή/των



Αναστασία  
Κατσιπόδη.



Γαρυφαλλιά  
Μαυροειδή

## Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε ιδιαίτερα την επιβλέπουσα καθηγήτριά μας, την Λέκτορα Βιοχημείας κα Μαρία Τράπαλη για τη πολύτιμη βοήθεια και συνεχή καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών της παρούσας ερευνητικής διπλωματικής εργασίας.

Επιπλέον, θέλουμε να εκφράσουμε τις θερμές μας ευχαριστίες, στα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Πέτρο Καρκαλούσο και τον Ακαδημαϊκό Υπότροφο κ. Πέτρο Παπαλέξη για τις σημαντικές παρατηρήσεις τους που συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Τέλος, οφείλουμε να ευχαριστήσουμε τις οικογένειές μας και τους φίλους μας για την συνεχή στήριξη και τη βοήθεια τους. Χωρίς εκείνους, τίποτα δεν θα ήταν εφικτό.

## Αφιέρωσεις

*Στις οικογένειές μας...*

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Ο Σακχαρώδης Διαβήτης αποτελεί μία πλέον συνηθισμένη μεταβολική ασθένεια με χαρακτηριστικό την επιρροή πληθώρας βιοχημικών τιμών του οργανισμού. Δεδομένης της συσχέτισης του ως μία πιθανή αιτία υπογονιμότητας του ανδρός, κρίνεται αναγκαία περαιτέρω μελέτη.

**Σκοπός:** Η παρούσα ερευνητική εργασία αποσκοπεί στην in-vitro αξιολόγηση των βιοχημικών δεικτών που ανευρίσκονται στο πλάσμα του σπέρματος.

**Μέθοδος:** Το παραπάνω εγχείρημα πραγματοποιήθηκε μέσω φωτομετρικής μεθόδου, φροντίζοντας παράλληλα για την διαφύλαξη της ποιότητας του σπερματικού πλάσματος, ώστε να προκύψουν ακριβέστερα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό φρουκτόζης, κιτρικού οξέος και ολικών φαινόλων, μετρώντας την απορρόφηση υπό ορισμένο, κάθε φορά, μήκος κύματος ανάλογα με τον προς ανάλυση δείκτη. Γνωρίζοντας παράλληλα, ότι το οξειδωτικό στρες λαμβάνει εξαιρετικό ρόλο στην ανάπτυξη διαβητικών επιπλοκών, επιχειρήθηκε ο υπολογισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της μεθόδου FRAP.

### Αποτελέσματα:

Τα αποτελέσματα μας συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Ουσίες που προσδιορίστηκαν	t-test p-value	Συγκέντρωση μη διαβητικών (M.O ± SD)	Συγκέντρωση διαβητικών (M.O ± SD)
Κιτρικό οξύ	<0,001	4,7 ± 0,44 mg/mL	3,2 ± 0,28 mg/mL
Φρουκτόζη	<0,001	0,5 ± 0,1 mg/mL	0,3 ± 0 mg/mL
Ολικές φαινόλες	<0,001	774,5 ± 110,96 mg/L	511,5 ± 67,70 mg/L
Αντιοξειδωτική ικανότητα	<0,001	3355,33 ± 640,14 μM	1631,5 ± 151,75 μM

**Συμπεράσματα:** Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, καταλήγουμε στην σαφή, πλέον, επιρροή του Σακχαρώδους Διαβήτη στα βιοχημικά χαρακτηριστικά του σπερματικού πλάσματος, καθώς οι παθολογικές τιμές εμφανίζονται μειωμένες. Οι αναλυόμενοι αυτοί δείκτες, σχετίζονται άμεσα με την λειτουργία του αναπαραγωγικού συστήματος, εφόσον ο καθένας διαδραματίζει καθορισμένη λειτουργία σε αντίστοιχο όργανο. Εν κατακλείδι, η συσχέτιση με την ικανότητα γονιμοποίησης μπορεί να θεωρηθεί δεδομένη.

**Λέξεις κλειδιά:** Σακχαρώδης Διαβήτης, υπογονιμότητα, φωτομετρία, φρουκτόζη, κιτρικό οξύ, ολικές φαινόλες, οξειδωτικό στρες, FRAP



## Abstract

**Introduction:** Diabetes Mellitus is a common metabolic disease, characterized by the influence of a variety of organism's biochemical values. Given its association as a possible cause of male infertility, further study is necessary.

**Purpose:** The present research work aims to evaluate in vitro the biochemical markers found in the seminal plasma of diabetic and non diabetic individuals. The possibility of negative impact of these in an upcoming fertilization attempt will also be commented.

**Method:** The above project was carried out using a photometric method, while taking care to preserve the quality of the seminal plasma in order to obtain more accurate results. In particular, it was applied to the determination of fructose, citric acid and total phenols, measuring the absorbance at a specific wavelength depending on the marker to be analysed. At the same time, knowing that oxidative stress plays an important role in the development of diabetic complications, an attempt was made to calculate the total antioxidant capacity by means of the FRAP method.

### Results:

Our results are summarised in the table below:

The identified substances	t-test p-value	Concentration of non diabetics (average $\pm$ SD)	Concentration of diabetics (average $\pm$ SD)
Citric Acid	<0,001	4,7 $\pm$ 0,44 mg/mL	3,2 $\pm$ 0,28 mg/mL
Fructose	<0,001	0,5 $\pm$ 0,1 mg/mL	0,3 $\pm$ 0 mg/mL
Total phenols	<0,001	774,5 $\pm$ 110,96 mg/L	511,5 $\pm$ 67,70 mg/L
Antioxidant Power	<0,001	3355,33 $\pm$ 640,14 $\mu$ M	1631,5 $\pm$ 151,75 $\mu$ M

**Conclusions:** Based on the above results, we conclude that Diabetes mellitus has a clear influence on the biochemical characteristics of the seminal plasma, since the abnormal values appear to be reduced. These analyzed markers are directly related to the function of the reproductive system, since each of them plays a defined role in a respective organ. In conclusion, the correlation with fertility can be taken for granted.

**Key words:** Diabetes mellitus, infertility, photometry, fructose, citric acid, total phenols, oxidative stress, FRAP

# Περιεχόμενα

## Contents

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας.....	v
Ευχαριστίες .....	vi
Αφιερώσεις .....	vii
Περίληψη .....	viii
Abstract .....	ix
Περιεχόμενα .....	x
Συνομογραφίες .....	xii
Πρόλογος.....	1
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή .....	3
1.1 Σακχαρώδης διαβήτης .....	3
1.2 Διάκριση Σακχαρώδους διαβήτη .....	4
1.3 Επιδημιολογία .....	5
1.4 Διαβήτης και υπογονιμότητα.....	6
1.5 Διαβήτης και οξειδωτικό στρες.....	8
1.6 Έλεγχος αντρικού αναπαραγωγικού συστήματος με βιοχημικούς δείκτες .....	9
1.6.1 Έλεγχος προστάτη.....	9
1.6.2 Έλεγχος σπερματοδόχων κύστεων .....	11
1.6.3 Έλεγχος επιδιδυμίδας.....	13
1.6.4 Έλεγχος ορχέων .....	14
Κεφάλαιο 2. Πειραματικό Μέρος .....	16
2.1 Σκοπός .....	16
2.2 Προσδιορισμός κιτρικού οξέος .....	16
2.2.1 Αρχή μεθόδου .....	16
2.2.2 Οργανολογία- Αντιδραστήρια .....	16
2.2.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού.....	17
2.3 Προσδιορισμός Φρουκτόζης.....	18
2.3.1 Αρχή μεθόδου .....	18
2.3.2 Οργανολογία- Αντιδραστήρια .....	18
2.3.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού.....	19
2.4 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολών.....	21

2.4.1 Αρχή μεθόδου .....	21
2.4.2 Οργανολογία- Αντιδραστήρια .....	21
2.4.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού.....	22
2.5 Προσδιορισμός συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας- FRAP.....	23
2.5.1 Αρχή μεθόδου .....	23
2.5.2 Οργανολογία –αντιδραστήρια .....	23
2.5.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού FRAP .....	24
Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα.....	26
Κεφάλαιο 4. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	33
Αναφορές.....	35

## Συντομογραφίες

	<b>Αγγλική ορολογία</b>	<b>Ελληνική ορολογία</b>
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus	Σακχαρώδης Διαβήτης
<b>ΣΔτ1</b>	Type 1 Diabetes Mellitus	Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1
<b>ΣΔτ2</b>	Type 2 Diabetes Mellitus	Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2
<b>ΣΔΚ</b>	Gestational Diabetes Mellitus	Σακχαρώδης Διαβήτης Κύησης
<b>ΗΠΑ</b>	United States of America	Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής
<b>ACP</b>	Acid Phosphatase	Όξινη φωσφατάση
<b>AGEs</b>	Advanced glycation end-product	Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης
<b>CAT</b>	Catalase	Καταλάση
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Antioxidant Power	Συνολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα
<b>GLUT</b>	Glucose transporters	Μεταφορέας Γλυκόζης
<b>GOD</b>	Glucose oxidase enzyme	Ένζυμο Γλυκόζο Οξειδάση
<b>GSH</b>	Glutathione	Γλουταθειόνη
<b>HbA1c</b>	Hemoglobin A1C	Γλυκοζυλιωμένη Αιμοσφαιρίνη
<b>hK3</b>	Human kallikrein type 3	Ανθρώπινη καλλικρεΐνη τύπου 3
<b>PKC</b>	Protein kinase C	Πρωτεϊνική κινάση C
<b>POD</b>	Peroxidase enzyme	Ένζυμο Υπεροξειδάση
<b>PSA</b>	Prostate Specific Antigen	Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο
<b>RNS</b>	Reactive Nitrogen Species	Αντιδραστικά είδη αζώτου
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Species	Αντιδραστικά είδη οξυγόνου
<b>SCs</b>	Sertoli Cells	Κύτταρα Sertoli
<b>SGLT</b>	Sodium-glucose transport proteins	Νάτριο-μεταφορέας γλυκόζης
<b>SOD</b>	Super Oxide Dismutase	Υπεροξειδική δισμουτάση
<b>TCA</b>	Citric acid cycle	Κύκλος του Κρεμπς
<b>TCA</b>	Trichloroacetic acid	Διάλυμα τριχλωροξεϊκού οξέος
<b>Zn</b>	Zincum	Ψευδάργυρος

## Πρόλογος

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) αποτελεί μια χρόνια διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης με σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία. Περιλαμβάνει τόσο μικροαγγειακές, όσο και μακροαγγειακές επιπλοκές. Είναι άμεσα συνδεδεμένος με την παχυσαρκία, αίτιο της σταδιακής αύξησης του επιπολασμού του, ενώ λόγω της πρόωρης νοσηρότητας, της θνησιμότητας, του μειωμένου προσδόκιμου ζωής και του αυξημένου οικονομικού κόστους, ο διαβήτης απασχολεί πλήρως την δημόσια υγεία (Forouhi and Wareham 2010).

Χαρακτηριστική είναι η εμφάνιση υπεργλυκαιμίας, η αντίσταση στην ινσουλίνη και οι διαταραχές στον μεταβολισμό των υδατανθράκων, του λίπους και των πρωτεϊνών. Οι επιδράσεις του διαβήτη περιλαμβάνουν την αμφιβληστροειδοπάθεια, τη νεφροπάθεια και τη νευροπάθεια. Ωστόσο, υπάρχει κίνδυνος για νοσήματα καρδιάς, καταρράκτη, στυτική δυσλειτουργία, μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος και για φυματίωση (World Health Organization 2019). Στις καρδιαγγειακές επιδράσεις του μεταβολικού συνδρόμου και στην παθοφυσιολογία του, εμπλέκεται κατά ένα μεγάλο ποσοστό το οξειδωτικό στρες. Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα μπορεί να προσδιοριστεί με την μέθοδο FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Bitla, και συν. 2012).

Παράλληλα, μία από τις συχνές επιπλοκές που καλούνται να αντιμετωπίσουν οι ασθενείς με διαβήτη, είναι η υπογονιμότητα. Ιδιαίτερα στην αναπαραγωγική ηλικία, παρατηρείται ένα μεγάλο ποσοστό ζευγαριών να αντιμετωπίζει δυσκολίες στην γονιμοποίηση. Το πρόβλημα αποδίδεται κυρίως στον αντρικό πληθυσμό (Basmatzou και Hatziveis 2016).

Μελέτες έχουν δείξει πως ένα από τα βιολογικά υγρά του ανθρώπου που παρουσιάζει διαφοροποιήσεις στη χημική σύστασή του, εξαιτίας της διαβητικής νόσου, είναι το σπέρμα. Συγκεκριμένα, φυσικοί χαρακτήρες του σπέρματος, όπως ο όγκος, αλλά και η κινητικότητα με τη μορφολογία, είναι σημαντικά χαμηλότεροι στους διαβητικούς ασθενείς (Bhattacharya, Ghosh και Nandi 2013).

Από όσα προαναφέρθηκαν, προκύπτει η ανάγκη να συλλεχθούν νέα δεδομένα σχετικά με την επιρροή της νόσου στη λειτουργία του αντρικού αναπαραγωγικού συστήματος. Ορισμένοι βιοχημικοί δείκτες που ανιχνεύονται στο πλάσμα σπέρματος

μπορούν να συσχετιστούν με συγκεκριμένα όργανα του συστήματος. Πιο ειδικά, ο ψευδάργυρος (Zn), το κιτρικό οξύ και η όξινη φωσφατάση (ACP) ανιχνεύονται για τον έλεγχο του προστάτη, η φρουκτόζη ανιχνεύεται για τον έλεγχο των σπερματοδόχων κύστεων και η ουδέτερη α-γλυκοσιδάση για τον έλεγχο της επιδιδυμίδας, με την τελευταία να ανευρίσκεται στον ορό (Καρκαλούσος, Γενική Εξέταση Ούρων, Σπέρματος και Άλλων Βιολογικών Υγρών 2013). Σημαντικός είναι και ο ρόλος της γλυκόζης στην λειτουργική ανάπτυξη των όρχεων, η οποία επίσης εντοπίζεται στον ορό. Τα κύτταρα Sertoli (SCs) διαμορφώνουν στους όρχεις ένα προστατευμένο περιβάλλον, μέσω του μεταβολισμού της γλυκόζης (Dias, και συν. 2013). Η γλυκόζη και η ουδέτερη α-γλυκοσιδάση είναι απαραίτητο να μελετηθούν, καθώς αποτελούν τους δείκτες της τελικής διάγνωσης για τον σακχαρώδη διαβήτη. Η γλυκόζη στην σύνδεση της με την αιμοσφαιρίνη, μέσω ομοιοπολικού δεσμού, οδηγεί στη παραγωγή της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c), η οποία λειτουργεί ως εξαιρετικός δείκτης της μέσης χρονικής συγκέντρωσης της γλυκόζης αίματος, καλύπτοντας προηγούμενο χρονικό διάστημα 3-12 εβδομάδων. Αποτελεί βασικό διαγνωστικό κριτήριο και παράμετρος για την παρακολούθηση της θεραπείας του διαβήτη (Kamal, και συν. 2021). Η ουδέτερη α-γλυκοσιδάση βοηθάει ιδιαίτερα στη διαχείριση του διαβήτη, κυρίως σε συσχέτιση με τις ολικές φαινόλες, οι οποίες αναστέλλουν σημαντικά τη δράση της (Jaiballah, Lji και Alamgei 2020).

Η παρούσα διπλωματική εργασία θα ερευνήσει τις διαφοροποιήσεις ορισμένων δεικτών από την μία περίπτωση στην άλλη, χρησιμοποιώντας πλάσμα σπέρματος.

## Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

### 1.1 Σακχαρώδης διαβήτης

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί μία χρόνια διαταραχή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, των λιπών και των πρωτεϊνών. Χαρακτηριστικά γνωρίσματα του διαβήτη είναι η μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη και η υπεργλυκαιμία, τα οποία προκύπτουν από την σχετική ή την ολοκληρωτική ανεπάρκεια ινσουλίνης. Ο ΣΔ αναφέρεται συνήθως ως «σάκχαρο» και είναι η πιο κοινή ενδοκρινική διαταραχή, η οποία εμφανίζεται και πιο σπάνια, λόγω της αντίστασης στη δράσης της ινσουλίνης (Singh, et al. 2016).

Τα συμπτώματα του ΣΔ έχουν διαφορετική βαρύτητα ανάλογα με τον τύπο και την διάρκεια του. Μερικοί από τους ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί, ειδικά εκείνοι με διαβήτη τύπου 2 κατά τα πρώτα χρόνια της νόσου, άλλοι παρουσιάζουν έντονη υπεργλυκαιμία και ειδικά παιδιά με απόλυτη ανεπάρκεια ινσουλίνης, υποφέρουν από πολυουρία, πολυδιψία, πολυφαγία, απώλεια βάρους και θολή όραση (Kharroubi και Darwish 2015). Εάν ο διαβήτης αφεθεί χωρίς θεραπεία, μπορεί να προκαλέσει πολλές επιπλοκές που χωρίζονται σε οξείες και μακροχρόνιες. Οι οξείες μπορεί να περιλαμβάνουν διαβητική κετοξέωση, υπερωσμωτική υπεργλυκαιμική κατάσταση ή ακόμη και θάνατο. Στις σοβαρές μακροχρόνιες επιπλοκές εντάσσονται τα καρδιαγγειακά νοσήματα, το εγκεφαλικό, η χρόνια νεφρική νόσος, τα έλκη στα πόδια, οι βλάβες στο νευρικό σύστημα και στα μάτια και η γνωστική δυσλειτουργία (Dwivedi και Pandey 2020).

Πολλοί παράγοντες κινδύνου εμπλέκονται στην εμφάνιση της νόσου, όπως η γενετική, η ατμόσφαιρα, η απώλεια της πρώτης φάσης που σχετίζεται με την εκτόξευση ινσουλίνης, η καθιστική ζωή, η έλλειψη σωματικής άσκησης, το κάπνισμα, τα αλκοολούχα ποτά, η δυσλιπιδαιμία, η μειωμένη ευαισθησία στα β-κύτταρα, η υπερινσουλιναίμία και η βελτιωμένη δραστηριότητα της γλυκαγόνης. Αυτοί οι παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντίσταση στην ινσουλίνη ή στη χαμηλή λειτουργικότητά της, με αποτέλεσμα την πρόοδο της νόσου. Περίπου το 90% των περιπτώσεων ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, σχετίζονται με υπερβολικό σωματικό βάρος. Επίσης, ορισμένες κατηγορίες φαρμάκων (διουρητικά, ανοσοκατασταλτικά, β-αναστολείς), μπορούν να προκαλέσουν διαβήτη (Alam, et al. 2021).

Γενικά, θεωρείται ότι ένας διαβητικός ασθενής θα είναι πάντα διαβητικός, ωστόσο είναι δυνατόν να μειωθούν οι επιπλοκές του. Αν αναλογιστούμε τους παράγοντες κινδύνου, εύκολα καταλήγουμε στο ότι με αλλαγή στην διατροφή, με σωματική άσκηση και με συχνή παρακολούθηση του προφίλ των λιπιδίων, ο διαβήτης μπορεί να περάσει σε ένα πολύ καλό στάδιο ύφεσης. Η φαρμακευτική αγωγή είναι το τελευταίο βήμα στη διαχείριση της νόσου (Alam, et al. 2021).

## 1.2 Διάκριση Σακχαρώδους διαβήτη

Η διάκριση του ΣΔ μπορεί να γίνει στις εξής τέσσερις κατηγορίες:

- I. Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1 (ΣΔτ1): Συμβαίνει αυτοάνοση εξόντωση του παγκρεατικού β-κυττάρου χωρίς παραγωγή ινσουλίνης (Alam, et al. 2021). Τα άτομα με διαβήτη τύπου 1 πρέπει να χρησιμοποιούν ενέσεις ινσουλίνης για τον έλεγχο του αίματος τους, γι' αυτό και ονομάζονται ινσουλινοεξαρτώμενα. Ο τύπος αυτός περιλαμβάνει το 5-10% των συνολικών ασθενών με διαβήτη και εμφανίζεται κυρίως σε άτομα κάτω των 30 ετών, αλλά μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία (Dwivedi και Pandey 2020).
- II. Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 (ΣΔτ2): Ο τύπος αυτός προκαλείται λόγω ανεπαρκούς παραγωγής ινσουλίνης ή απευαισθητοποίησης των υποδοχέων ινσουλίνης που εμποδίζει την είσοδο γλυκόζης στο κύτταρο (Alam, et al. 2021). Αποτελεί το 95% των περιπτώσεων και εμφανίζεται συχνότερα σε άτομα άνω των 40 ετών, αλλά μπορεί να εμφανιστεί και σε παιδική ηλικία εάν υπάρχουν παράγοντες κινδύνου. Είναι δυνατόν να ελέγχεται με συνδυασμό δίαιτας, διαχείρισης βάρους και άσκησης. Ωστόσο, η θεραπεία μπορεί να περιλαμβάνει από του στόματος φάρμακα για τη μείωση της γλυκόζης, ή ενέσεις ινσουλίνης (Dwivedi και Pandey 2020).
- III. Σακχαρώδης Διαβήτης Κύησης (ΣΔΚ): Εμφανίζεται μόνο κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, με τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα να είναι υψηλότερα από το φυσιολογικό. Σε ποσοστό 16% οι γυναίκες επηρεάζονται από τον ΣΔΚ, με λίγα συμπτώματα να παρουσιάζονται. Συνήθως, εγκυμονούσες γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό διαβήτη ή εθνικό υπόβαθρο έχουν υψηλότερες πιθανότητες εμφάνισης της νόσου. Τα παιδιά που ανήκουν σε μητέρες με διαβήτη κύησης, είναι σε αρκετά υψηλό κίνδυνο για παιδική παχυσαρκία και



ΣΔτ2 αργότερα στη ζωή, ωστόσο αυτό μπορεί να προληφθεί με υγιεινή διατροφή και άσκηση (Dwivedi και Pandey 2020).

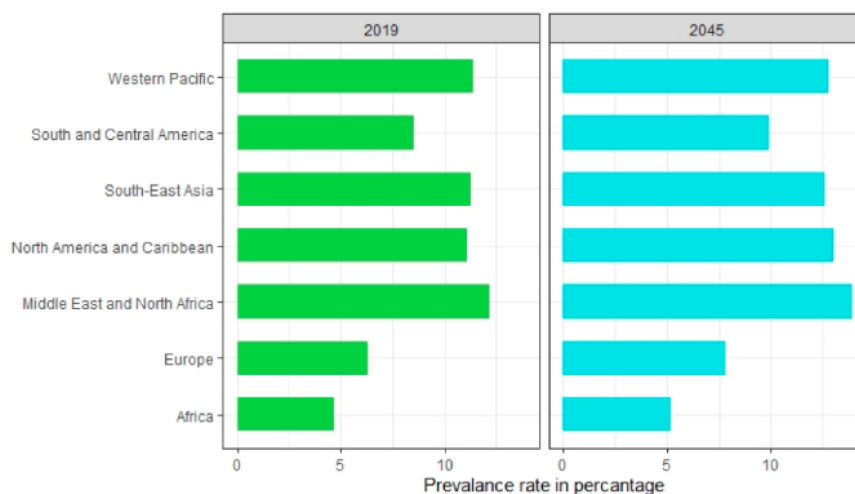
- IV. Συγκεκριμένοι τύποι διαβήτη που οφείλονται σε άλλες αιτίες, όπως σύνδρομα μονογονικού διαβήτη (χωρίζεται σε νεογνικό ΣΔ και οικογενής ΣΔ ή αλλιώς διαβήτη ωριμότητας των νέων), παθήσεις του εξωκρινούς παγκρέατος (όπως κυστική ίνωση και παγκρεατίτιδα) και ορισμένοι τύποι που προκαλούνται από φάρμακα ή χημικά (όπως με χρήση γλυκοκορτικοειδών για τη θεραπεία του HIV/AIDS ή μετά από μεταμόσχευση οργάνων) (American Diabetes Association 2020).

### 1.3 Επιδημιολογία

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί μία νόσο που απασχολεί ιδιαίτερα την παγκόσμια υγεία καθώς αυξάνεται σταδιακά σε κάθε χώρα, λόγω της παράλληλης αύξησης του επιπολασμού της παχυσαρκίας και του ανθυγιεινού τρόπου ζωής. Οι πιο πρόσφατες εκτιμήσεις έχουν δείξει ένα ποσοστό επιπολασμού 11,1% ατόμων με διαβήτη το 2019, που πρόκειται να αυξηθεί στο 13% έως το 2045 στη Βόρεια Αμερική και τις περιοχές της Καραϊβικής. Το ποσοστό επικράτησης είναι πιο έντονο στη Μέση Ανατολή και τη Βόρεια Αφρική, οι οποίες προβλέπεται να αυξηθούν κατά 13,9% έως το 2045. Το χαμηλότερο ποσοστό επιπολασμού παρατηρείται στην Αφρική με 4,7%, ωστόσο αναμένεται αύξηση στο 5,2% έως το 2045. Γενικά, οι χώρες της Νοτιοανατολικής Ασίας και της Νότιας Αμερικής έχουν είτε υψηλές είτε ενδιάμεσες συχνότητες (Alam, και συν. 2021).

Σύμφωνα με μελέτη που διεξήχθη το 2019, καταγράφηκε παγκόσμιος επιπολασμός 463 εκατομμυρίων διαβητικών ασθενών, που αποτελεί το 9,3% του παγκόσμιου πληθυσμού. Μέχρι το 2030, εκτιμάται ότι αυτό το ποσοστό θα φτάσει το 10,2% και έως το 2045 το 10,9%. Ο επιπολασμός του διαβήτη σε στρωματοποιημένη περιοχή υπολογίζεται για πολλές χώρες που αποτελούν τις χώρες με τον υψηλότερο αριθμό διαβητικών ασθενών το 2019. Έχουν προσδιοριστεί οι 10 κορυφαίες χώρες για τον αριθμό των ατόμων με διαβήτη. Πρώτη έρχεται η Κίνα με 116 εκατομμύρια διαβητικούς ασθενείς, ύστερα η Ινδία με 77 εκατομμύρια, ακολουθούμενη από τις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ) με 31 εκατομμύρια. Οι ΗΠΑ αποτελούν τον μεγαλύτερο κίνδυνο για αύξηση του διαβήτη την επόμενη δεκαετία. Το Πακιστάν, η

Βραζιλία και το Μεξικό έχουν αριθμούς διαβητικών 19 εκατομμύρια, 16 εκατομμύρια και 12 εκατομμύρια αντίστοιχα. Τέλος, το Μπαγκλαντές έχει το μικρότερο αριθμό διαβητικών ασθενών από αυτή τη λίστα, ωστόσο λόγω του συνεχούς αυξανόμενου πληθυσμού της χώρας και των χαμηλά σχεδιασμένων μέσων παρέμβασης, ενδέχεται να κινδυνέψει σε ποσοστό, όπως οι ΗΠΑ (Alam, και συν. 2021).



Εικόνα 1. Επιπολασμός του διαβήτη το 2019 και το 2045(εκτίμηση) (Alam, και συν. 2021)

#### 1.4 Διαβήτης και υπογονιμότητα

Ένας αυξημένος αριθμός του αντρικού πληθυσμού με σακχαρώδη διαβήτη παρατηρείται στην αναπαραγωγική ηλικία. Τόσο ο ΣΔτ1, όσο και ο ΣΔτ2 περιλαμβάνουν έναν ανησυχητικό αριθμό παιδιών και εφήβων. Πολλές σύγχρονες μελέτες έχουν δείξει ότι και οι δύο τύποι έχουν αρνητική επίδραση στην αναπαραγωγική υγεία των αντρών και τη γονιμοποίηση των ζευγαριών (Condorelli, et al. 2018).

Έχει αποδειχθεί ότι η πλασματική μεμβράνη και το ακρόσωμα του σπέρματος επηρεάζονται από τα επίπεδα ινσουλίνης στον ορό. Έτσι, στον ΣΔ, κατά την διάρκεια της αντίστασης στην ινσουλίνη ή της ανεπάρκειάς της, η σπερματογένεση μεταβάλλεται (Condorelli, et al. 2018).

Σε έρευνα που διεξήχθη το 2018, μελετήθηκαν 38 ασθενείς με ΣΔτ1 και 55 ασθενείς με ΣΔτ2 με ιστορικό ιδιοπαθούς υπογονιμότητας μεγαλύτερη των 12 μηνών και 100 υγιή γόνιμα άτομα. Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν σε οπτικά μικροσκόπια και με κυτταρομετρία ροής. Οι ασθενείς και των δύο τύπων εμφάνισαν στατιστικά σημαντική

μείωση της συγκέντρωσης του σπέρματος (ειδικότερα εκείνοι με τύπο 2) και της προοδευτικής κινητικότητας (ειδικότερα εκείνοι με τύπο 1, όταν μάλιστα η διάρκεια της νόσου ήταν μεγαλύτερη από 10 χρόνια σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες με μικρότερη διάρκεια ασθένειας). Ο όγκος του σπερματικού υγρού ήταν σημαντικά χαμηλότερος στους ασθενείς με ΣΔτ1 ( $p < 0,05$ ), ενώ δεν φάνηκε να υπήρχαν διαφορές στους ασθενείς με ΣΔτ2 με τους υγιείς. Το ποσοστό των σπερματοζωαρίων με φυσιολογική μορφή ήταν χαμηλότερο στους διαβητικούς ασθενείς από ότι στους μάρτυρες ( $p < 0,05$ ) και μόνο οι ασθενείς με ΣΔτ2 εμφάνισαν σημαντική μείωση της ζωτικότητας με ταυτόχρονη αύξηση των σπερματοζωαρίων στην όψιμη απόπτωση σε σύγκριση με τους μη πάσχοντες. Τέλος, εκείνοι με ΣΔτ2, είχαν υψηλότερο ποσοστό σπερματοζωαρίων κατακερματισμού του DNA σε σχέση με ασθενείς με ΣΔτ1 και μάρτυρες ( $p < 0,05$ ) και υπήρχε αυξημένο ποσοστό σπερματοζωαρίων με μη φυσιολογική μιτοχονδριακή λειτουργία σε ασθενείς με ΣΔτ1, ειδικά όταν η διάρκεια της νόσου ξεπερνούσε τα 5 χρόνια (Conadorelli, et al. 2018).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους (Lu, et al. 2017), αναλύθηκαν 60 δείγματα σπέρματος, 30 από μη διαβητικούς εθελοντές και 30 από ασθενείς με ΣΔ. Το ποσοστό της προοδευτικής κινητικότητας του σπέρματος, η ζωτικότητα, ο ρυθμός επιβίωσης, ο ρυθμός φυσιολογικής μορφολογίας, ο όγκος, το pH και η πυκνότητα του σπέρματος των αντρών με ΣΔ βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα από αυτά των φυσιολογικών ( $p < 0,05$ ). Επίσης, ενδιαφέρον προκαλούν τα αυξημένα επίπεδα ιντερλευκίνης (IL)-17 και IL-18 του σπέρματος που σημειώθηκαν σε άντρες με ΣΔ, τα οποία συσχετίστηκαν θετικά με το επίπεδο γλυκόζης στο αίμα και τον δείκτη κατακερματισμού του DNA του σπέρματος. Άρα, ο ΣΔ αύξησε τα επίπεδα γλυκόζης στο σπέρμα, προκαλώντας την ανώμαλη έκφραση της IL-17 και της IL-18. Η μη φυσιολογική έκφραση αυτών στο σπέρμα, μείωσε την ποιότητά του και οδήγησε στο συμπέρασμα πως σχετίζεται με την ανδρική υπογονιμότητα.

Τέλος, οι (Inih, et al. 2018) χρησιμοποίησαν στην έρευνα τους δείγμα μελέτης 150 αντρών, από τους οποίους οι 108 είχαν ΣΔτ2 και οι 56 ήταν μη πάσχοντες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο υπογοναδισμός ήταν παρών στο 38,9% στους άντρες με ΣΔτ2, ενώ στους μη διαβητικούς στο 3,6%. Οι ασθενείς με διαβήτη παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό σπερματοζωαρίων, μειωμένη κινητικότητα σπέρματος με

αυξημένες μη φυσιολογικές μορφές από τους μάρτυρες ( $p < 0,001$ ). Μόνο το 8,5% των ασθενών δεν εμφάνισε καμία ανωμαλία στη λειτουργία των όρχεων.

Ο επιπολασμός του ΣΔ σε υπογόνιμους άντρες κυμαίνεται από 0,7% έως 1,4%, ενώ ο επιπολασμός της υπογονιμότητας στους άντρες με ΣΔ, που έχει αξιολογηθεί από αρκετές μελέτες, κυμαίνεται από 35% έως 51%. Ο αρσενικός ΣΔ φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση στην γονιμότητα των ζευγαριών, ενώ αντίστοιχα, άντρες που είναι άτεκνοι ή υπογόνιμοι, είναι πιθανό στο μέλλον να εμφανίσουν διαβήτη (Lotti και Maggi 2022).

### 1.5 Διαβήτης και οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες αναφέρεται στη κατάσταση ανισορροπίας μεταξύ της οξείδωσης, δηλαδή του σχηματισμού ελεύθερων ριζών και της αντιοξειδωτικής άμυνας στο σώμα, με τάση οξείδωσης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη φλεγμονώδη διήθηση ουδετερόφιλων, την αυξημένη έκκριση πρωτεΐνης και τη παραγωγή μεγάλου αριθμού οξειδωτικών ενδιάμεσων. Οι ελεύθερες ρίζες είναι τα ενεργά παράγωγα μορίων οξυγόνου, όπως τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και μόρια αζώτου, όπως το αντιδραστικό άζωτο (RNS) και το υπεροξυνιτρικό. Εμπλέκονται σε πολλές μοριακές οδούς στο σώμα, μέσα στις οποίες εντάσσονται η ενδοκυτταρική σηματοδότηση, η ανοσολογική άμυνα, η κυτταρική ανάπτυξη, η αυτοφαγία, η απόπτωση και η γήρανση (Huang, et al. 2024).

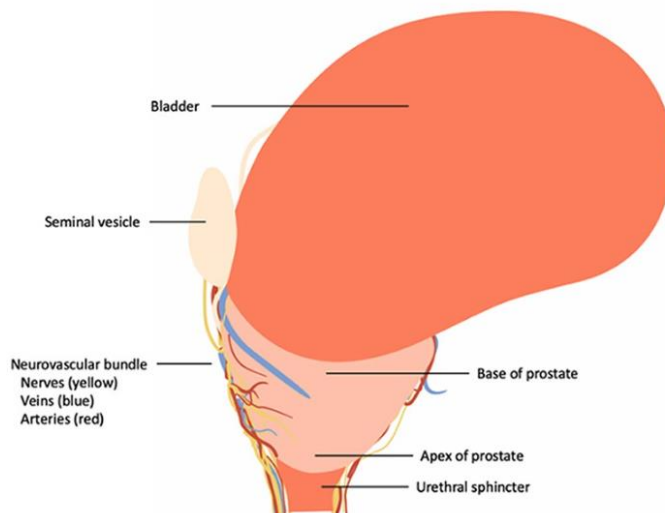
Η αντιοξειδωτική άμυνα εξαρτάται από ποικίλα αντιοξειδωτικά ένζυμα στο κύτταρο, τα οποία το προστατεύουν από βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες. Τέτοια ένζυμα είναι η γλουταθειόνη (GSH), η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και η καταλάση (CAT). Όταν λοιπόν, η παραγωγή ελεύθερων ριζών ξεπερνά τη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων, προκαλείται οξειδωτικό στρες. Η παραγωγή ROS αποτελεί μονοπάτι πολυόλης, γλυκοζυλίωση πρωτεΐνης και αυτοοξείδωση γλυκόζης. Αυτές οι οδοί, έχει αποδειχθεί, πως υπερενεργοποιούνται στην υπεργλυκαιμία του διαβήτη, με αποτέλεσμα την υπερβολική παραγωγή ROS και την οξειδωτική βλάβη των ιστών. Κλινικές μελέτες και πειράματα έχουν δείξει ότι η κύρια οδός της οξειδωτικής βλάβης των παγκρεατικών β-κυττάρων και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας είναι μια ακόμη πηγή αύξησης του ROS και του οξειδωτικού στρες στον σακχαρώδη διαβήτη (Huang, et al. 2024).

Επίσης, αποτελέσματα από πολλές έρευνες παρουσιάζουν την αύξηση του ROS και του οξειδωτικού στρες, σαν κύρια αιτία της ανδρικής υπογονιμότητας που παρουσιάζεται στον ΣΔ. Γενικά, το σπέρμα λειτουργεί κανονικά όσο τα επίπεδα ROS είναι χαμηλά. Στη σπερματογένεση και κατά τη μετακίνηση του σπέρματος από τον όρχι στη συνάντηση με το ωάριο, τα χαμηλά επίπεδα ROS είναι σημαντικά, ώστε να λειτουργήσει σωστά το σπέρμα, να προωθηθεί η χωρητικότητα, η ωρίμανση και η γονιμοποίησή του. Ωστόσο, το σπέρμα του ανθρώπου είναι ευάλωτο σε οξειδωτική βλάβη. Όταν τα μιτοχόνδρια του σπέρματος παράγουν υψηλά επίπεδα ROS ώστε να υπερβούν την αντιοξειδωτική ικανότητά του, επιδεινώνεται το οξειδωτικό στρες και συμβαίνει οξειδωτική βλάβη (Huang, et al. 2024).

## 1.6 Έλεγχος αντρικού αναπαραγωγικού συστήματος με βιοχημικούς δείκτες

### 1.6.1 Έλεγχος προστάτη

Ο προστάτης αποτελεί όργανο του αντρικού αναπαραγωγικού συστήματος με εξαιρετική σημασία στην υγεία αυτού. Πρόκειται για έναν επικουρικό αδένα με ανατομική θέση κάτω από την ουροδόχο κύστη, γύρω από την ουρήθρα και μπροστά του ορθού. Το σχήμα του παραπέμπει σε κάστανο και διαιρείται σε 5 λοβούς (πρόσθιο, οπίσθιο, 2 πλευρικούς και 1 μεσαίο) και 5 ζώνες (κεντρική, περιφερειακή, μεταβατική, πρόσθιο ινομυϊκό στρώμα και την κάψουλα). Το προϊόν έκκρισης αυτού, ονομαζόμενο προστακτικό υγρό αποτελεί μέσω κίνησης για τα σπερματοζώαρια και τα προστατεύει από το όξινο περιβάλλον του κόλπου, έτσι ώστε να επιμηκυνθεί ο χρόνος ζωής τους και να φτάσουν μέχρι την θέση του ωαρίου (Singh και Bolla 2022). Η σύσταση του συντελείται από πρωτεΐνες και ένζυμα.



**Εικόνα 2.** Τοπογραφική θέση του προστάτη και της συσχέτισής του με την ουροδόχο κύστη, τη νευροαγγειακή δέσμη και το ουρολογικό σύμπλεγμα του σφιγκτήρα (Hoeh, και συν. 2022)

Οι σημαντικότεροι βιοδείκτες που προσδιορίζονται στον προστάτη είναι:

- **Ψευδάργυρος.** Σταθεροποιεί τις σπερματικές πρωτεΐνες και εμφανίζει τιμή αναφοράς στα  $\geq 2,4$   $\mu\text{Mol}$  / εκσπερμάτιση ή  $> 156$   $\mu\text{g}/\text{εκσπερμάτιση}$  (Καρκαλούσος, Γενική Εξέταση Ούρων, Σπέρματος και Άλλων Βιολογικών Υγρών 2013). Ο ψευδάργυρος (Zn) αποτελεί σημαντικό ιχνοστοιχείο για τη λειτουργία περισσότερων από τριακοσίων ενζύμων. Η ανωμαλία στην ομοιόσταση του, μπορεί να συσχετιστεί άμεσα με τον διαβήτη. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ο ψευδάργυρος είναι σημαντικός για τη σταθεροποίηση της χρωματίνης του σπέρματος και της ακροσίνης. Σε έρευνα που διεξήχθη το 2020, η συγκέντρωσή του Zn στο σπερματικό πλάσμα ήταν σημαντικά χαμηλότερη ( $p < 0,05$ ) στη διαβητική ομάδα σε σύγκριση με τη μη διαβητική. Έτσι, γίνεται αντιληπτό πως η χορήγησή του, μπορεί να βοηθήσει στη μείωση της υπεργλυκαιμίας και του οξειδωτικού στρες που εμφανίζονται στο διαβήτη (Ghasemi, και συν. 2016). Αντίθετα, υπάρχουν και μελέτες που παρατηρούν υψηλότερα επίπεδα ψευδαργύρου στο πλάσμα του σπέρματος στους διαβητικούς ασθενείς, οπότε απαιτείται περαιτέρω έρευνα για επιβεβαίωση (Ma, Han και Deng, και συν. 2020).
- **Κιτρικό οξύ:** Σταθεροποιεί κυρίως το pH και εμφανίζει τιμή αναφοράς στα  $\geq 52\mu\text{Mol}/\text{εκσπερμάτιση}$  (Καρκαλούσος, Γενική Εξέταση Ούρων, Σπέρματος και Άλλων Βιολογικών Υγρών 2013). Αποτελεί σημαντικό παράγοντα για τη

φυσιολογική λειτουργία του προστάτη. Είναι το πρώτο προϊόν του κύκλου του Κρεμπς (TCA) και συνεισφέρει στη κινητικότητα του σπέρματος, στη διατήρηση του pH του και στον μεταβολισμό του (Hou, et al. 2023). Αναφέρεται σε ποικίλλες έρευνες πως η περιεκτικότητά του σε ασθενείς με αζωοσπερμία ή ασθενοσπερμία είναι χαμηλότερη σε σχέση με τα μη διαβητικά άτομα (Ma, Han και Cui, και συν. 2022).

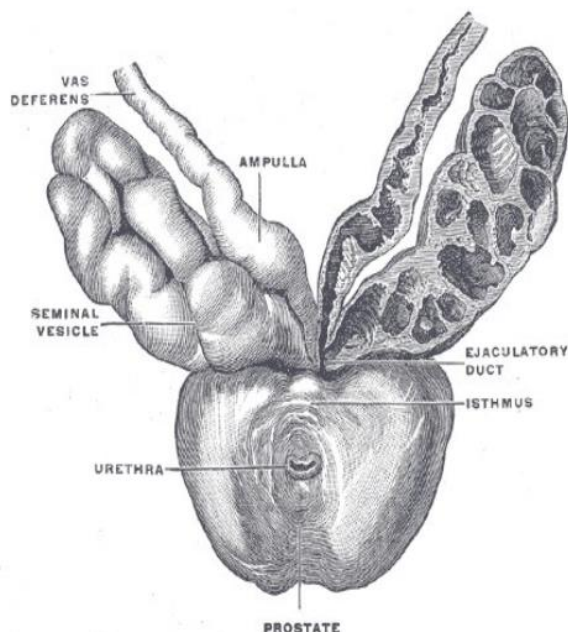
- **Όξινη φωσφατάση (ACP):** Είναι πολύ σταθερός δείκτης και χρησιμοποιείται κυρίως ως ιατροδικαστικός δείκτης για την επιβεβαίωση ύπαρξης σπέρματος. Εμφανίζει τιμές αναφοράς στα  $\geq 200$  IU/εκσπερμάτιση (Καρκαλούσος, Γενική Εξέταση Ούρων, Σπέρματος και Άλλων Βιολογικών Υγρών 2013). Είναι σημαντική για τον μεταβολισμό των σπερματοζωαρίων, την δομή τους και τη μεταφορά τους. Σε έρευνα που διεξήχθη το 2020, παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα της ACP σε διαταραχή του προστάτη ή σε αζωοσπερμία, ωστόσο και σε αυτόν τον δείκτη, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση (Al-Fartosy, Al-Sawaad and Al-khazali 2020).

#### 1.6.2 Έλεγχος σπερματοδόχων κύστεων

Οι σπερματοδόχες κύστες είναι άμεσα συνδεδεμένες με την προστατική περιοχή, αφού τοποθετούνται στην βάση του προστάτη, μεταξύ ουροδόχου κύστης και ορθού. Σχηματικά, χαρακτηρίζονται ως απιοειδείς-σακοειδείς και παρατηρούνται δύο επιφάνειες (πρόσθια-οπίσθια), δύο χείλη (έσω-έξω) και δύο άκρα. Επιπρόσθετα, διακρίνεται ο βλεννογόνος, το υποβλεννογόνιο στρώμα και η κάψα, τα οποία σαν σύνολο είναι υπεύθυνα για την παραγωγή της κύριας έκκρισης αυτού του συστήματος, του σπέρματος, που περιέχει ως κύριο χαρακτηριστικό την φρουκτόζη, πηγή ενέργειας σπερματοζωαρίων (McKay, et al. 2023).

Η φρουκτόζη συντίθεται από τη γλυκόζη του αίματος που απορροφάται από το σπέρμα. Έρευνες που έχουν διεξαχθεί, αναφέρουν σημαντική αύξηση του επιπέδου της φρουκτόζης σε σπέρμα διαβητικών ασθενών σε σχέση με μη διαβητικά άτομα (Ma, Han και Deng, και συν. 2020), ενώ άλλες, αναφέρουν μειωμένη της συγκέντρωσής της σε άτομα με ολιγοζωοσπερμία και αζωοσπερμία (Ahmed, και συν. 2010). Η υπεργλυκαιμία που εμφανίζεται στον διαβήτη, μπορεί να μειώσει τον όγκο της έκκρισης και να

προκαλέσει ατροφία των αδένων, η οποία προκαλείται από την απόπτωση των αδενικών επιθηλιακών κυττάρων (Dong, και συν. 2022).



**Εικόνα 3.** Οι σπερματοδόχεις κύστες με τον προστάτη (McKay, και συν. 2023)

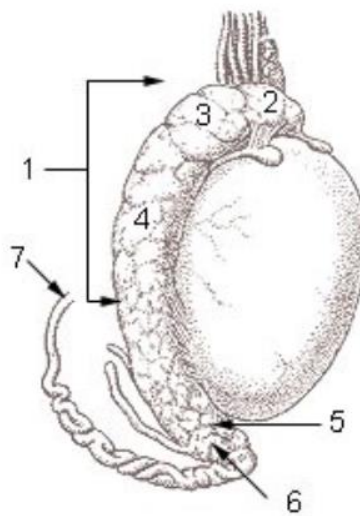
**Πίνακας 1.** Παράμετροι σπέρματος και όρια αναφοράς (ΙΜΟΠ (Ινστιτούτο Μελέτης Ουρολογικών Παθήσεων) 2011)

Όγκος δείγματος	$\geq 1,4\text{mL}$
pH	$\geq 7,2$
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων	$\geq 16.000.000/\text{mL}$
Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων στο δείγμα	$\geq 39.000.000$
Πρωθητική κίνηση (ταχεία και νωθρή κίνηση)	$\geq 30\%$
Συνολική κινητικότητα (ταχεία, νωθρή και επιτόπια κίνηση)	$\geq 42\%$
Τυπική μορφολογία	$\geq 4\%$
Ζωτικότητα	$\geq 54\%$
Λευκά κύτταρα (WBC)	$< 1.000.000/\text{mL}$



### 1.6.3 Έλεγχος επιδιδυμίδας

Η επιδιδυμίδα ή αλλιώς η εκφορητική οδός του σπέρματος, αποτελεί μέσω σύνδεσης του όρχι, ραχιαία αυτού, με τον σπερματικό πόρο. Αποτελούμενη από την κεφαλή, την ουρά και το σώμα, χαρακτηρίζεται ως σωληνώδης με μέσο μήκος στα 5-6 cm. Βασική λειτουργία της, είναι η ωρίμανση και η ανοσολογική προστασία των σπερματοζωαρίων, πέραν της μεταφοράς τους. Υπάρχουν διάφορες λοιμώξεις που μπορεί να ταλαιπωρήσουν την υγεία της συγκεκριμένης ανατομικής δομής, με κυριότερη όμως εξ αυτών, την επιδιδυμίτιδα (Boskey 2024).



**Εικόνα 4.** Σχηματική απεικόνιση επιδιδυμίδας:1.Επιδιδυμίδα, 2.Κεφαλή, 3.Λοβοί, 4.Σώμα, 5.Ουρά, 6.Αγωγός, 7.Σπερματικός πόρος (National Cancer Institute n.d.)

Ο βιοχημικός έλεγχος της επιδιδυμίδας περιλαμβάνει τον προσδιορισμό της ουδέτερης α-γλυκοσιδάσης η οποία έχει δύο μορφές: α) όξινη και προστατικής προέλευσης και β) ουδέτερη και επιδιδυμικής προέλευσης. Η δεύτερη, εκκρίνεται κυρίως στο σώμα της επιδιδυμίδας και σχετίζεται με την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων. Ως βιοδείκτες για την λειτουργία της επιδιδυμίδας, έχουν μελετηθεί και η L-καρνιτίνη και η γλυκερινοφωσφορυλοχολίνη, ωστόσο η ουδέτερη α-γλυκοσιδάση θεωρείται τώρα ο πιο ευαίσθητος και αξιόπιστος δείκτης της επιδιδυμίδας (Mera, et al. 2023).

Μελέτη που διεξήχθη από τους (Ma, Han, et al. 2020) έδειξε πως η ουδέτερη α-γλυκοσιδάση σε σπερματικό πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα των διαβητικών ατόμων σε σχέση με τα μη διαβητικά. Ωστόσο, άλλες μελέτες έχουν βρει

χαμηλότερα επίπεδα στον ίδιο δείκτη σε διαβητικούς ασθενείς ή υπέρβαρα άτομα, οπότε χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση (Mera, et al. 2023).

Ενδιαφέρον προκαλεί η σημαντική συσχέτιση της ουδέτερης α-γλυκοσιδάσης με τις ολικές φαινόλες. Έρευνα των (Jaiballah, Lji και Alamyel 2020), έδειξε πως οι φαινόλες αναστέλλουν τη δράση της α-γλυκοσιδάσης, μεταξύ άλλων, συμβάλλοντας σε αντιυπεργλυκαιμικές ιδιότητες. Μία επιπλέον μελέτη ανέφερε θετική συσχέτιση των ολικών φαινολών και της ανασταλτικής δράσης έναντι της α- γλυκοσιδάσης και λιγότερο της α-αμυλάσης. Η αναστολή αυτή, οδηγεί σε επιβράδυνση της υδρόλυσης του αμύλου, με αποτέλεσμα την καθυστερημένη αύξηση της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας και αυτό μπορεί να αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο στη διαχείριση του διαβήτη τύπου 2 (Molan και Mahdy 2016).

#### 1.6.4 Έλεγχος ορχέων

Οι όρχεις αποτελούνται από δύο χείλη (πρόσθιο-οπίσθιο), δύο άκρα (άνω-κάτω) και δύο επιφάνειες (μέσα-έξω). Η περιβολή τους γίνεται από μία σειρά χιτώνων που από έξω προς τα μέσα είναι οι εξής: το όσχεο, ο δαρτός, η κρεμαστήρια περιτονία, ο έξω κρεμαστήρας μυς, ο κοινός ελυτροειδής χιτώνας και ο ιδίως ελυτροειδής χιτώνας. Η αιμάτωση αυτού επιτυγχάνεται με την έσω σπερματική αρτηρία. Τα δευτερογενή ανδρικά χαρακτηριστικά είναι άμεσα αλληλένδετα με την λειτουργία αυτών, καθώς ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-όρχεις μαζί με τον φλοιό των επινεφριδίων αποτελούν το ορμονικό γεννητικό σύστημα, υπεύθυνος για την παραγωγή γονατροπικών ορμονών αλλά κυρίως τεστοστερόνης. Φυσικά, η βασικότερη ικανότητα των όρχεων είναι η πραγματοποίηση της σπερματογένεσης, δηλαδή ο σχηματισμός των σπερματοζωαρίων από άωρα γεννητικά κύτταρα μέσω ενός συνδυασμού μιτωτικών και μειωτικών διαιρέσεων (Jones 2023).

Η δυσλειτουργία των όρχεων αποτελεί τον πιο κοινό μηχανισμό της ανδρικής υπογονιμότητας. Μπορεί να αφορά βλάβη που σχετίζεται με το σπέρμα (διαταραχή της σπερματογένεσης και εξασθένηση της λειτουργίας) ή βλάβη στο μικροπεριβάλλον του σπέρματος, το οποίο περιλαμβάνει πολλές πτυχές. Πειράματα καλλιέργειας D-γλυκόζης in vitro με θραύσματα όρχεων ποντικού έδειξαν πως οι αυξημένες συγκεντρώσεις D-γλυκόζης οδηγούν σε αδύναμη λειτουργία των υποστηρικτικών κυττάρων και σε αναστολή του πολλαπλασιασμού, μειώνοντας την ρύθμιση της σπερματογένεσης. Μια

σύγκριση των χωρικών χαρτών των όρχεων μεταξύ διαβητικών και μη ποντικών, έδειξε καταστροφή των χωρικών κυττάρων και ιστών των σπερματογόνων σωληναρίων σε εκείνα με τον διαβήτη, με αποτέλεσμα σπερματογόνες διαταραχές (Huang, και συν. 2024).

Γενικά, ο διαβήτης είναι δυνατόν να προκαλέσει ιστολογικές αλλαγές στις φλέβες των όρχεων και στη διάμετρο των κυττάρων τους, οδηγώντας στη μείωση της αιμάτωσης των ιστών και στην επίδραση στη λειτουργία των όρχεων. Η γλυκόζη, δείκτης που σχετίζεται με τον διαβήτη, αποτελεί σημαντικό παράγοντα στη σπερματογένεση. Τα σπερματοζωάρια εξαρτώνται από τη γλυκόζη και τη χρησιμοποιούν ως καύσιμο ώστε να διατηρήσουν τη κυτταρική δραστηριότητα, τη κινητικότητα και τη γονιμοποίηση. Η μεταφορά της μεταξύ του αίματος και των ιστών πραγματοποιείται με μεμβρανικές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένης της ενεργού μεταφοράς, εξαρτώμενη από το νάτριο-μεταφορέα γλυκόζης (SGLT) και της παθητικής μεταφοράς, εξαρτώμενη από τον μεταφορέα γλυκόζης (GLUT). Στους ασθενείς με διαβήτη, αυξάνεται η κατανάλωση GLUT και μειώνεται η έκφραση. Η μεταφορά της γλυκόζης ελέγχεται από τον αιματογενή φραγμό που διαμεσολαβείται από την GLUT, άρα είναι επιρρεπής σε επιπλοκές κατά τη διαβητική κατάσταση. Συγκεκριμένα, στον ΣΔ, ο μεταβολισμός της γλυκόζης του σπέρματος είναι μειωμένος, με αποτέλεσμα τη χαμηλή γονιμότητα και δεν αποκλείεται η στειρότητα (Huang, και συν. 2024).

Η υπεργλυκαιμία που προκαλείται στον ΣΔ, οδηγεί σε βλάβη στα αναπαραγωγικά όργανα του άντρα, όπως οι όρχεις, μέσω τριών οδών: οδός σχηματισμού τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs), οδός διακυλογλυκερόλης-πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) και διαδρομής πολυόλης. Μελέτες έχουν δείξει πως οι οδοί σχηματισμού AGEs είναι πιο κοινές ως μηχανισμοί τραυματισμού. Στον διαβήτη, η τυχαία ομοιοπολική δέσμευση μεταξύ σακχάρων και αμινομάδων πρωτεϊνών συμβαίνει χωρίς την παρουσία ενζύμων και σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας, οδηγώντας σε υπερβολική συσσώρευση AGEs. Τέλος, τα AGEs μπορούν να ενεργοποιήσουν και το οξειδωτικό στρες στον διαβήτη μέσω του σχηματισμού διασταυρούμενων δεσμών που αλλάζουν τη δομή και τη λειτουργία της πρωτεΐνης (Huang, και συν. 2024).

## Κεφάλαιο 2. Πειραματικό Μέρος

### 2.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η *in vitro* αξιολόγηση των βιοχημικών δεικτών που ανευρίσκονται στο πλάσμα του σπέρματος μη διαβητικών ατόμων και η σύγκρισή τους με τα άτομα που πάσχουν από διαβήτη. Για την διεξαγωγή της παρακάτω έρευνας, συλλέξαμε δείγματα σπέρματος κυρίως από το οικογενειακό και φιλικό μας περιβάλλον. Το ηλικιακό εύρος των συμμετεχόντων κυμαίνεται μεταξύ 18-62 ετών, πασχόντων και μη. Το διάστημα συλλογής σημειώθηκε από 05/05/2024 έως 16/06/2024. Για την υλοποίηση αυτού του εγχειρήματος, απαραίτητη ήταν η λήψη άδειας χειρισμού των δειγμάτων που περιέχουν γενετικό υλικό, από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας. Έτσι, εξασφαλίστηκε η ανωνυμία και η πλήρη προφύλαξη προσωπικών δεδομένων των συμμετεχόντων.

Να σημειωθεί πως τα δείγματα σπέρματος που συλλέχθηκαν, φυγοκεντρήθηκαν στα 2.500rpm με σκοπό τον διαχωρισμό του πλάσματος. Η αποθήκευση αυτού, έγινε στους -20 °C μέχρι την ανάλυση, όπου κάθε φορά, συνέβαινε απόψυξη και καλή ανάδευση.

### 2.2 Προσδιορισμός κιτρικού οξέος

#### 2.2.1 Αρχή μεθόδου

Βασίζεται στην αντίδραση του κιτρικού οξέος με το χλωριούχο σίδηρο και έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός κίτρινου συμπλόκου που μπορεί να φωτομετρηθεί στα 390-410nm. Οι τιμές αναφοράς ανά εκσπερμάτιση υπολογίζονται στα  $\geq 10$  mg.

#### 2.2.2 Οργανολογία- Αντιδραστήρια

Οργανολογία:

- Πιπέτα θετικής αναρρόφησης
- Σωληνάκια 1,5 mL (Eppendorf)
- Φυγόκεντρος (Econospin Sorvall Instrument)
- Πλάκα 96 φρεατίων και αναδευτήρας της
- Αναγνώστης πλακών (Elisa Reader Diachel)

Αντιδραστήρια:

- Διάλυμα χλωριούχου σιδήρου 13 mL  $1 \times 10^{-1}$
- Διάλυμα ισοπροπανόλης 100% 10 mL
- Πρότυπο διάλυμα κιτρικού οξέος (4 mg/mL). Απαιτούνται 1,5mL και παρασκευάζεται ζυγίζοντας 3mg κιτρικού οξέος και αραιώνοντας το σε 1,5mL απεσταγμένο νερό.
- Απεσταγμένο νερό

### 2.2.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού

- 1) -Μεταφέρονται 100  $\mu$ L κάθε δείγματος σε σωληνάριο 1,5 mL
- 2) Προσθέτουμε στο προηγούμενο σωληνάριο 100 $\mu$ L ισοπροπανόλης.
- 3) Φυγοκεντρούμε το δείγμα σε 2.500rpm.
- 4) Μεταφέρουμε 50 $\mu$ L και τα τοποθετούμε σε ένα κενό φρεάτιο της πλάκας των 96 φρεατίων.
- 5) Μεταφέρουμε 50 $\mu$ L νερού και τα τοποθετούμε σε ξεχωριστό κενό για να χρησιμοποιηθεί ως τυφλό.
- 6) Σε κάθε ένα από τα παραπάνω φρεάτια προσθέτουμε ακριβώς 5 σταγόνες (200 $\mu$ L) από διάλυμα χλωριούχου σιδήρου και τοποθετούμε την πλάκα στον αναδευτήρα της για καλή ανάμειξη σε χρονικό διάστημα 5 λεπτών.
- 7) Μετά το πέρας του χρόνου επώασης, φωτομετρούμε στα 390 nm.
- 8) Η τελική ποσότητα του κιτρικού οξέος προκύπτει από τον γνωστό νόμο του Lambert-Beer:

Ποσότητα κιτρικού οξέος=  $\{(M.O.A_{\text{δείγματος}} - M.O.A_{\text{τυφλού}}) / (M.O.A_{\text{πρότυπου}} - M.O.A_{\text{τυφλού}})\} \times 4 \text{ mg/mL}$

Όπου:

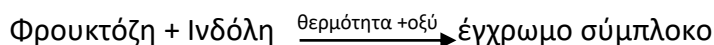
M.O.A.: Μέσος Όρος Απορρόφσεων.

Το 4 εκφράζει τη συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος (World Health Organization 2021) (το πρωτόκολλο τροποποιήθηκε πειραματικά για ερευνητικούς σκοπούς).

## 2.3 Προσδιορισμός Φρουκτόζης

### 2.3.1 Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος προσδιορισμού της φρουκτόζης βασίζεται στο ότι η φρουκτόζη υπό την επίδραση της θερμότητας και του όξινου pH σχηματίζει ένα έγχρωμο σύμπλοκο με την ινδόλη το οποίο απορροφά φως μήκους κύματος 470nm.



Η τιμή αναφοράς για την φρουκτόζη είναι  $\geq 13 \mu\text{Mol/}$  εκσπερμάτωση ή  $\geq 2,4\text{mg/}$  εκσπερμάτωση.

### 2.3.2 Οργανολογία- Αντιδραστήρια

Οργανολογία:

- Φυγόκεντρος (Fisherbrand)
- Πιπέτα θετικής αναρρόφησης
- Σωληνάρια 1,5ml (Eppendorf)
- Κλίβανος (Wtc Binder, 7200 Tuttlingen Germany, Type E 115, No 900246)
- Πλάκα 96 φρεατίων
- Υδατόλουτρο (Elma S 60 Elmasonic)
- Αναγνώστης πλακών (ElisaReaderDiachel)
- Απαγωγός
- Αυτοκόλλητη εργαστηριακή ταινία

Αντιδραστήρια:

- Αποπρωτεϊνικός παράγοντας 1 ( $63\mu\text{Mol/L ZnSO}_4$ ): διαλύουμε 1,8 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  σε 100mL απεσταγμένου νερού.
- Αποπρωτεϊνικός παράγοντας 2 ( $1 \text{ mol/L NaOH}$ ): διαλύουμε 0,4 g NaOH σε 100mL απεσταγμένου νερού.
- Χρωμογόνο αντιδραστήριο (ινδόλη  $2\mu\text{Mol/L}$  σε βενζοϊκό συντηρητικό  $16\mu\text{Mol/L}$ ): διαλύουμε 200mg βενζοϊκού οξέος σε 90 mL απεσταγμένου νερού ανακινώντας το σε υδατόλουτρο στους  $60^\circ\text{C}$ . Διαλύουμε 25 mg ινδόλης σε αυτό και συμπληρώνουμε στα 100 mL με απεσταγμένο νερό. Φιλτράρουμε ( $0,45 \mu\text{M}$  μεγέθους πόρου) και αποθηκεύουμε στους  $4^\circ\text{C}$ .

- Πρότυπο φρουκτόζης (3,2 mg/mL): διαλύουμε 32mg D-φρουκτόζης σε 10mL απεσταγμένο νερό. Το αποθηκεύουμε στους 4°C ή το καταψύχουμε σε επιμέρους κλάσματα.
- Απεσταγμένο νερό

### 2.3.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού

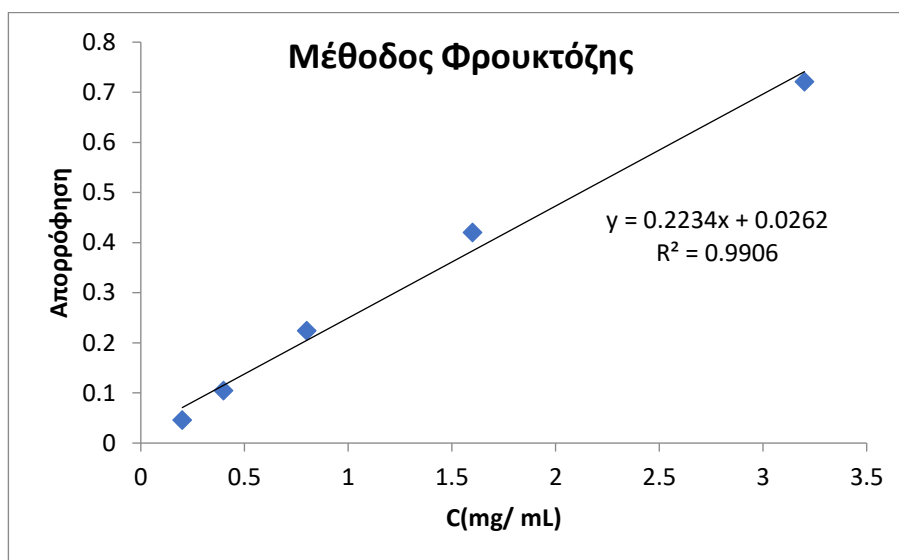
- 1) Θα διεξαχθούν τρεις φορές οι παρακάτω αραιώσεις κάθε δείγματος σπερματικού πλάσματος: στα 50 μL απεσταγμένου νερού, προσθέτουμε 5μL σπερματικού πλάσματος με πιπέτα θετικής αναρρόφησης και αναδεύουμε.
- 2) Αποπρωτείνωση: στο δείγμα των πλέον 55 μL, προσθέτουμε 12,5 μL από τα 63μMol/L ZnSO<sub>4</sub> και 12,5 μL από τα 1 mol/L NaOH και αναδεύουμε. Αφήνουμε για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, ύστερα φυγοκεντρούμε στα 8000 g για 5 λεπτά.
- 3) Μεταφέρουμε 50 μL του υπερκειμένου από κάθε δείγμα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα. Σε αυτό το στάδιο θα συμπεριλάβουμε δείγματα του τυφλού αντιδραστηρίου (50 μL νερού) καθώς και τα πρότυπα (50 μL από το κάθε ένα).
- 4) Προσθέτουμε 50 μL διαλύματος ινδόλης σε κάθε σωλήνα και αναδεύουμε.
- 5) Προσθέτουμε 0,5mL 32% v/v υδροχλωρικό οξύ (HCL) σε κάθε δείγμα προσεκτικά σε απαγωγό, καλύπτουμε με αυτοκόλλητη εργαστηριακή ταινία και αναδεύουμε.
- 6) Θερμαίνουμε για 20 λεπτά στους 50°C σε υδατόλουτρο. Αναμιγνύουμε και τοποθετούμε σε παγωμένο νερό για 15 λεπτά.
- 7) Προσεκτικά μεταφέρουμε 250 μL με πιπέτα θετικής αναρρόφησης σε μια πλάκα 96 πηγαδιών σε απαγωγό.
- 8) Καλύπτουμε τη πλάκα των 96 πηγαδιών με διάφανη εργαστηριακή μεμβράνη ώστε να προστατέψουμε το φασματοφωτόμετρο από το οξύ.
- 9) Διαβάζουμε την πλάκα σε μήκος κύματος 470 nm.
- 10) Υπολογίζουμε την συγκέντρωση της φρουκτόζης σε κάθε δείγμα χρησιμοποιώντας την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης (Toragall, et al. 2019) (το πρωτόκολλο τροποποιήθηκε πειραματικά για ερευνητικούς σκοπούς).



**Εικόνα 5.** Πείραμα φρουκτόζης στο εργαστήριο. Χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα από την επίδραση της θερμότητας και του όξινου pH, η ένταση του οποίου αλλάζει για κάθε δείγμα (προσωπικό αρχείο)

### Παρασκευή πρότυπης καμπύλης φρουκτόζης

Διαλύουμε το πρότυπο 3,2 mg/mL με απεσταγμένο νερό για να παρασκευάσουμε τέσσερα νέα πρότυπα των 1,6, 0,8, 0,4, 0,2 mg/mL.



**Εικόνα 6.** Πρότυπη καμπύλη της μεθόδου φρουκτόζης

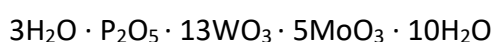


## 2.4 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολών

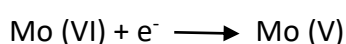
### 2.4.1 Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος προσδιορισμού που χρησιμοποιείται για τις ολικές φαινόλες, είναι η Folin-Ciocalteu (FC). Αποτελεί μία φωτομετρική τεχνική βασισμένη στην αναγωγική δράση που παρατηρείται παρουσία πολυφαινολικών ομάδων. Προκαλείται μια χρωματομετρική οξειδοαναγωγική αντίδραση, με την οποία προσδιορίζεται το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του δείγματος, χωρίς όμως διαχωρισμό μεταξύ των μονομερών, των διμερών ή και των μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών.

Η οξείδωση των φαινολών πραγματοποιείται με τη ταυτόχρονη αναγωγή του διαλύματος φωσφορομολυβδενικού και του φωσφοροβολφραϊμικού οξέος (Folin-Ciocalteu reagent) με τις εξής δομές:



Το FC επομένως, είναι ένα διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά και φωσφο-βολφραϊμικά ετεροπολυμερή οξέα. Σαν προϊόν, παράγεται ένα σύμπλεγμα μολυβδαινίου-βολφραϊμίου (Mo-W), με χαρακτηριστικό μπλε χρώμα, το οποίο απορροφάται στα 725nm. Συμβαίνουν δυο αμφίδρομες αναγωγικές αντιδράσεις ενός ή δύο ηλεκτρονίων:



### 2.4.2 Οργανολογία- Αντιδραστήρια

Οργανολογία:

- Πιπέτα θετικής αναρρόφησης
- Φωτόμετρο (Elisa Reader Diachel)
- Ζυγός
- Αναδευτήρας Vortex (Velp Scientifica)

Αντιδραστήρια:

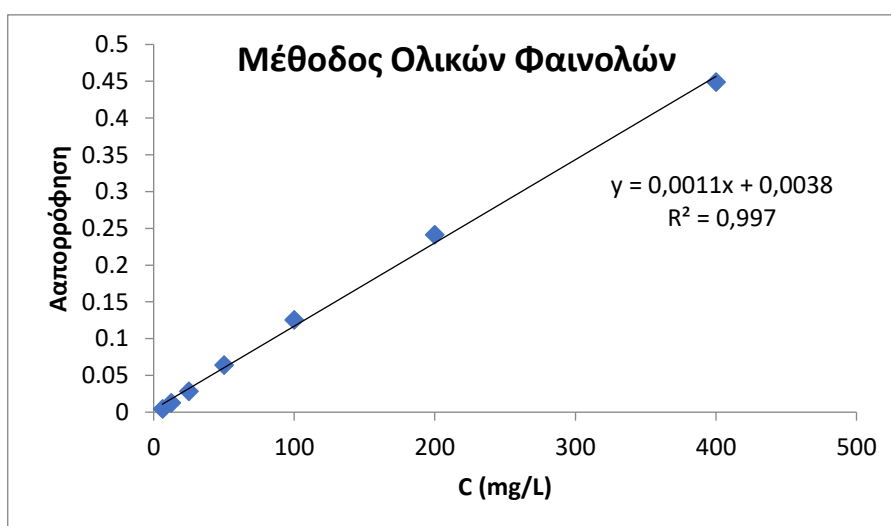
- Γαλλικό οξύ 10-400 ppm ή 10-400 mg/L: Για την παρασκευή των 400 mg/L, ζυγίζουμε 4 mg GA και 10 mL MeOH
- 0,5 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 35%: σε 25 mL H<sub>2</sub>O προσθέτουμε 8,7 gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (καλή διάλυση)
- Απεσταγμένο νερό

### 2.4.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού

- 1) Σε δοκιμαστικούς σωλήνες, μεταφέρουμε 100  $\mu\text{L}$  από το κάθε δείγμα και προσθέτουμε σε αυτά 2,5 mL απεσταγμένο νερό.
- 2) Προσθέτουμε επίσης, 250  $\mu\text{L}$  από το διάλυμα Folin 1N, αναδεύουμε καλά και τα αφήνουμε να επώασουν σε θερμοκρασία δωματίου για 3 λεπτά.
- 3) Προσθέτουμε 0,5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  35% και ύστερα, 1,65 mL απεσταγμένο νερό. Αναδεύουμε πολύ καλά μέχρι να παρατηρήσουμε την αλλαγή του χρώματος και αφήνουμε τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα για επώαση.
- 4) Πραγματοποιήθηκε αραίωση των δειγμάτων 1:3 διότι ήταν πολύ πυκνά: 400  $\mu\text{L}$  δείγματος και 800  $\mu\text{L}$  απεσταγμένου νερού.
- 5) Φωτομέτρηση των δειγμάτων στα 725 nm.
- 6) Υπολογίζουμε την συγκέντρωση των ολικών φαινολών σε κάθε δείγμα χρησιμοποιώντας την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης και στο τέλος πολλαπλασιάζουμε με 3, λόγω της αραίωσης που προηγήθηκε (Ibrahim, et al. 2024) (το πρωτόκολλο τροποποιήθηκε πειραματικά για ερευνητικούς σκοπούς).

### Παρασκευή πρότυπης καμπύλης ολικών φαινολών

Διαλύουμε το πρότυπο 400 mg/L με απεσταγμένο νερό για να παρασκευάσουμε έξι νέα πρότυπα των 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 mg/L (διαδοχικές αραιώσεις) .



Εικόνα 7. Πρότυπη καμπύλη της μεθόδου ολικών φαινολών

## 2.5 Προσδιορισμός συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας- FRAP

### 2.5.1 Αρχή μεθόδου

Ένας εξίσου σημαντικός δείκτης στην ανάλυση του σπερματικού πλάσματος είναι και η μέτρηση της αντιοξειδωτικής του ικανότητας. Αυτό λαμβάνει χώρα μέσω της αναγωγής του συμπλόκου  $\text{Fe}^{3+}$  - TPTZ σε  $\text{Fe}^{2+}$  - TPTZ από τα αντιοξειδωτικά του πλάσματος δίνοντας σε όξινα περιβάλλοντα ένα έντονο μπλε χρώμα.

Η απορρόφηση θα μετρηθεί στα 593nm και φαίνεται πως σχετίζεται με την αναγωγική ικανότητα των αντιοξειδωτικών που κυκλοφορούν στο μείγμα της αντίδρασης.

### 2.5.2 Οργανολογία –αντιδραστήρια

Οργανολογία:

- Πιπέτα θετικής αναρρόφησης
- Υδατόλουτρο (Elma S 60 Elmasonic)
- Φωτόμετρο (Elisa Reader Diachel)

Αντιδραστήρια:

- Διάλυμα οξικού 300mM pH 3,6: 3,1g τριένυδρου οξικού νατρίου ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) διαλύονται σε 16mL οξικού οξέος ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) με τελικό όγκο 1L με χρήση απεσταγμένου νερού.
- Διάλυμα TPTZ 10x (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) με M.W. 312.34: 100 mM (0,312g σε τελικό όγκο 10mL) και διάλυμα HCl 37% (M.W. 36.46) 12.07M με αραιώση 1:10 ώστε να γίνει 1,2M. Για να φτιαχτεί το διάλυμα TPTZ 10x (100mM) και το διάλυμα HCl (400mM) με τελικό όγκο 10mL που χρειάζεται για το αντιδραστήριο FRAP, θα διαλυθούν: 0,312g σε 9,7mL ddH<sub>2</sub>O και σε αυτά θα προστεθούν 0,33mL HCl 12,07M ή 0,312g σε 6,7mL ddH<sub>2</sub>O και σε αυτά θα προστεθούν 3,3mL HCl 1,2 M.
- Διάλυμα  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  200Mm (M.W. 270.30): 0,54g σε 10mL ddH<sub>2</sub>O. Χρησιμοποιείται στα 20mM, άρα το stock είναι 10X. Γίνεται αραιώση 1:10.

Για την παρασκευή του FRAP θα γίνει ανάμειξη των παραπάνω διαλυμάτων (1x) σε αναλογία 10:1:1 αντίστοιχα.

- Απεσταγμένο νερό.

Να σημειωθεί ότι κάθε φορά η ανάμειξη γίνεται αυθημερόν.

### 2.5.3 Πρωτόκολλο προσδιορισμού FRAP

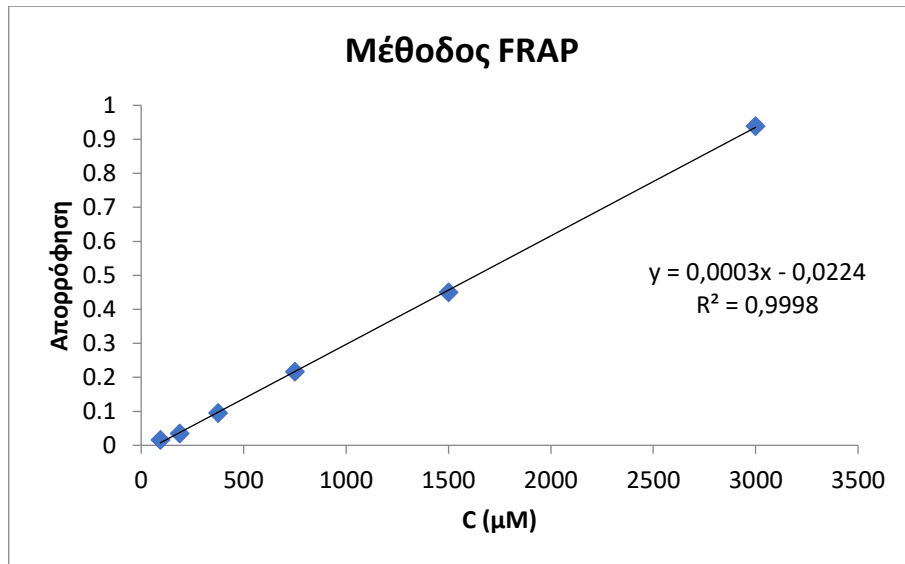
- 1) Σε 1,2mL αντιδραστηρίου FRAP προσθέτουμε 40μL πλάσματος σπέρματος.
- 2) Επωάζουμε τα δείγματα για 6min στους 40°C.
- 3) Φωτομετρούμε στα 593nm.
- 4) Υπολογίζουμε με την εξίσωση που προκύπτει από την πρότυπη καμπύλη  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , τη συγκέντρωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του κάθε δείγματος (World Health Organization 2021).



**Εικόνα 8.** Μέθοδος FRAP στο εργαστήριο: 1) Χαρακτηριστικό μπλε χρώμα, η ένταση του οποίου αλλάζει ανάλογα την αντιοξειδωτική ικανότητα του καθενός δείγματος και 2) Φωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης (προσωπικό αρχείο)

#### Παρασκευή πρότυπης καμπύλης FRAP

- Χρησιμοποιήθηκε  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  3mM με ζύγιση 17mg σε 20mL  $\text{H}_2\text{O}$
- Πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις 1:2 του  $\text{FeSO}_4$ , ξεκινώντας από 3000μM έως το 93,75μM.
- Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετήθηκαν 40μL  $\text{FeSO}_4$  από κάθε αραιώση με προσθήκη του 1,2mL του αντιδραστηρίου FRAP και σε έναν άλλον, 40μL νερού με ίδια ποσότητα αντιδραστηρίου FRAP, το οποίο αποτελούσε το τυφλό διάλυμα.
- Επώαστηκαν οι δοκιμαστικοί σωλήνες για 6min στους 40°C.
- Πραγματοποιείται φωτομέτρηση στα 593 nm, αφού πρώτα μηδενίζεται το φωτόμετρο με το τυφλό διάλυμα.



Εικόνα 9. Πρότυπη καμπύλη της μεθόδου FRAP

### Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα

Όλες οι μετρήσεις έγιναν 3 φορές για κάθε δείγμα. Στους παρακάτω πίνακες δίνονται περιληπτικά όλες οι μετρήσεις. Η συγκέντρωση τους υπολογίζεται από την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης της βιβλιογραφίας, εκτός από την μέθοδο του κιτρικού οξέος, στην οποία η συγκέντρωση υπολογίστηκε από το νόμο του Lambert-Beer.

Σε όλες τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν 9 δείγματα από μη διαβητικούς ασθενείς και 6 δείγματα από διαβητικούς ασθενείς. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το SPSSv.29 (ακαδημαϊκή άδεια).

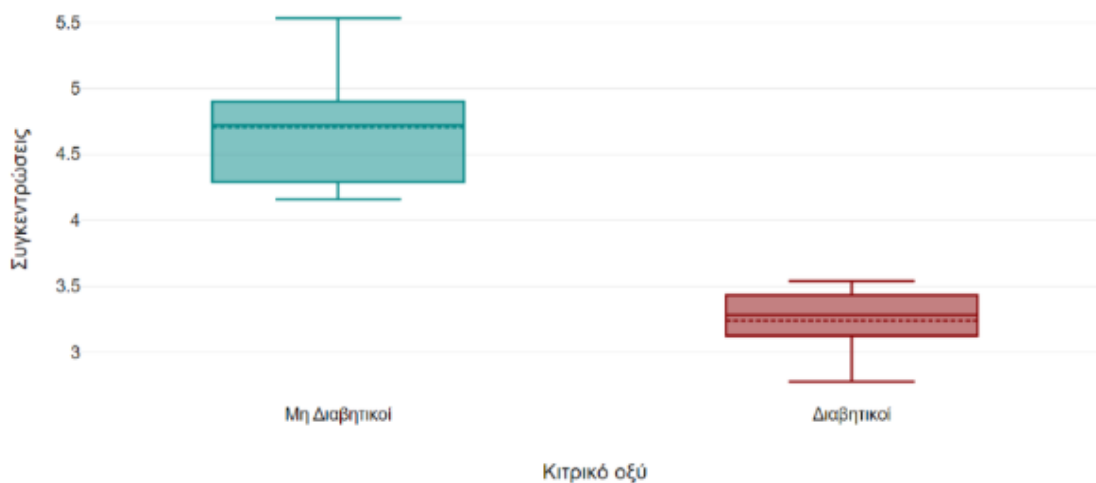
#### Προσδιορισμοί κιτρικού οξέος

**Πίνακας 2.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις του κιτρικού οξέος στα δείγματα σπέρματος **μη διαβητικών ασθενών** από την εξίσωση προσδιορισμού: Συγκέντρωση =  $\{(M.O.A \text{ δείγματος} - M.O.A \text{ τυφλού}) / (M.O.A \text{ προτύπου} - M.O.A \text{ τυφλού})\} \times 4 \text{mg/mL}$

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C (κιτρικού οξέος) (mg/mL)
1	0,856	0,912	0,792	0,853	4,68
2	0,895	1,082	0,701	0,892	4,9
3	0,757	0,861	0,658	0,758	4,16
4	0,866	0,781	0,952	0,866	4,75
5	0,911	0,988	0,835	0,911	5,04
6	1,022	1,005	0,995	1,007	5,53
7	0,859	0,813	0,908	0,860	4,72
8	0,796	0,742	0,809	0,782	4,29
9	0,740	0,791	0,801	0,777	4,27

**Πίνακας 3.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις του κιτρικού οξέος στα δείγματα σπέρματος **διαβητικών ασθενών** από την εξίσωση προσδιορισμού: Συγκέντρωση =  $\{(M.O.A \text{ δείγματος} - M.O.A \text{ τυφλού}) / (M.O.A \text{ προτύπου} - M.O.A \text{ τυφλού})\} \times 4 \text{mg/mL}$

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C(κιτρικού οξέος) (mg/mL)
1	0,624	0,658	0,597	0,626	3,44
2	0,621	0,642	0,608	0,623	3,42
3	0,558	0,562	0,587	0,569	3,12
4	0,607	0,672	0,655	0,644	3,54
5	0,496	0,502	0,522	0,506	2,78
6	0,543	0,592	0,588	0,574	3,15



**Εικόνα 10. Θηκόγραμμα τιμών κιτρικού οξέος** για τις δύο περιπτώσεις της μελέτης, όπου παρατηρούνται για τους μη διαβητικούς: τιμές max= 5,53, min=4,16, τεταρτημόρια q1= 4,29, q3=4,9, διάμεσος= 4,72 και για τους διαβητικούς : τιμές max= 3,54, min=2,78, τεταρτημόρια q1= 3,12, q3=3,44, διάμεσος= 3,29.

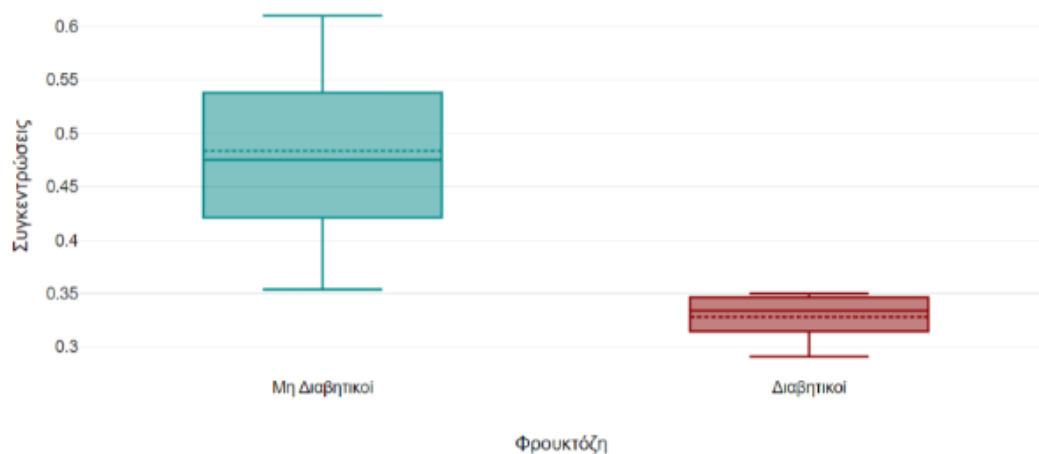
### Προσδιορισμοί Φρουκτόζης

**Πίνακας 4.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις της φρουκτόζης στα δείγματα σπέρματος μη διαβητικών ασθενών από την εξίσωση προσδιορισμού:  $y = 0,223x + 0,026$

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C (φρουκτόζης) (mg/mL)
1	0,148	0,166	0,173	0,162	0,610
2	0,128	0,150	0,161	0,146	0,538
3	0,113	0,127	0,134	0,125	0,444
4	0,119	0,124	0,116	0,120	0,421
5	0,092	0,134	0,122	0,116	0,403
6	0,130	0,158	0,141	0,143	0,525
7	0,161	0,147	0,159	0,156	0,583
8	0,132	0,117	0,148	0,132	0,475
9	0,100	0,094	0,120	0,105	0,354

**Πίνακας 5.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις της φρουκτόζης στα δείγματα σπέρματος **διαβητικών ασθενών** από την εξίσωση προσδιορισμού:  $y = 0,223x + 0,026$

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C (φρουκτόζης) (mg/mL)
1	0,106	0,112	0,093	0,104	0,350
2	0,096	0,120	0,084	0,100	0,332
3	0,096	0,085	0,104	0,095	0,309
4	0,119	0,090	0,095	0,101	0,336
5	0,112	0,102	0,099	0,104	0,350
6	0,085	0,089	0,100	0,091	0,291



**Εικόνα 11.** Θηκόγραμμα τιμών φρουκτόζης για τις δύο περιπτώσεις της μελέτης, όπου παρατηρούνται για τους μη διαβητικούς: τιμές  $\max=0,61$ ,  $\min=0,35$ , τεταρτημόρια  $q1=0,42$ ,  $q3=0,54$ , διάμεσος= $0,48$  και για τους διαβητικούς : τιμές  $\max=0,35$ ,  $\min=0,29$ , τεταρτημόρια  $q1=0,31$ ,  $q3=0,35$ , διάμεσος= $0,33$ .



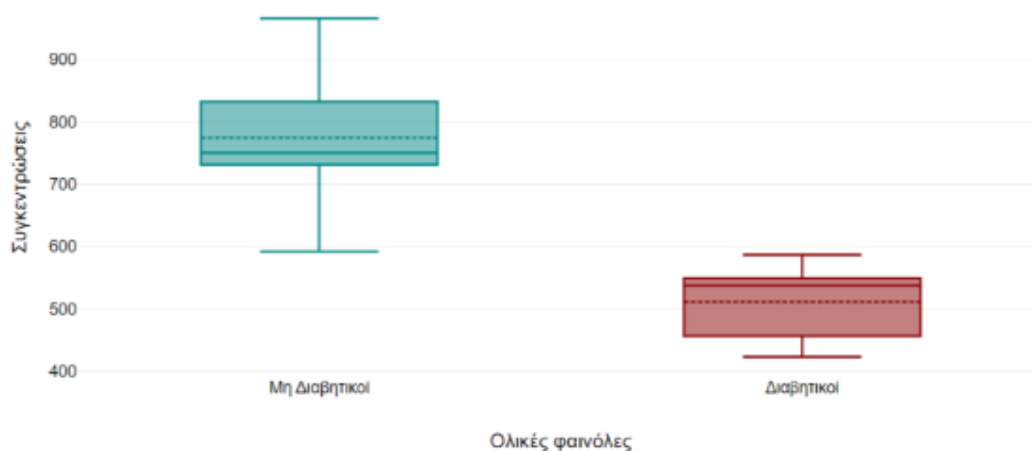
## Προσδιορισμοί Ολικών Φαινολών

**Πίνακας 6.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις των ολικών φαινολών στα δείγματα σπέρματος μη διαβητικών ασθενών από την εξίσωση προσδιορισμού:  $y = 0,0011x + 0,0038$ . Οι συγκεντρώσεις θα υπολογιστούν επί 3, λόγω της αραιώσης 1:3 που προηγήθηκε στα πυκνά δείγματα.

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C (ολικών φαινολών) (mg/L)	C x 3
1	0,300	0,330	0,291	0,307	275,64	826,92
2	0,324	0,390	0,359	0,358	322	966
3	0,285	0,221	0,310	0,272	243,82	731,46
4	0,200	0,286	0,262	0,249	222,91	668,73
5	0,171	0,250	0,243	0,221	197,45	592,35
6	0,277	0,262	0,298	0,279	250,18	750,54
7	0,272	0,301	0,251	0,275	246,54	739,62
8	0,288	0,329	0,343	0,320	287,45	862,35
9	0,262	0,341	0,326	0,309	277,45	832,35

**Πίνακας 7.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις των ολικών φαινολών στα δείγματα σπέρματος διαβητικών ασθενών από την εξίσωση προσδιορισμού:  $y = 0,0011x + 0,0038$ . Οι συγκεντρώσεις θα υπολογιστούν επί 3, λόγω της αραιώσης 1:3 που προηγήθηκε στα πυκνά δείγματα.

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C (ολικών φαινολών) (mg/L)	C x 3
1	0,210	0,189	0,200	0,199	177,45	532,35
2	0,196	0,245	0,216	0,219	195,64	586,92
3	0,166	0,153	0,168	0,162	143,82	431,46
4	0,223	0,182	0,212	0,206	183,82	551,46
5	0,187	0,214	0,207	0,203	181,09	543,27
6	0,170	0,158	0,150	0,159	141,09	423,27



**Εικόνα 12. Θηκόγραμμα τιμών ολικών φαινολών** για τις δύο περιπτώσεις της μελέτης, όπου παρατηρούνται για τους μη διαβητικούς: τιμές  $\max=966$ ,  $\min=592,35$ , τεταρτημόρια  $q1=731,46$ ,  $q3=832,35$ , διάμεσος= $750,54$  και για τους διαβητικούς : τιμές  $\max=586,92$ ,  $\min=423,27$ , τεταρτημόρια  $q1=431,46$ ,  $q3=551,46$ , διάμεσος= $537,81$  .

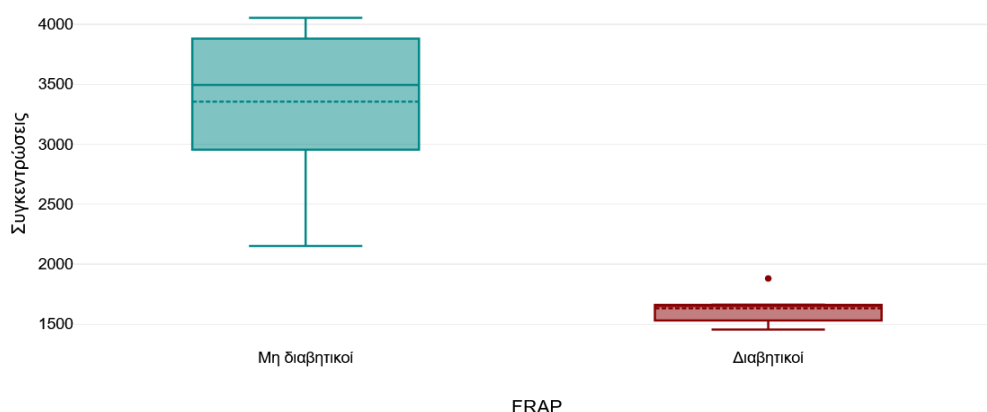
### Προσδιορισμοί Αντιοξειδωτικής ικανότητας - Κινητική μέθοδος FRAP

**Πίνακας 8.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα σπέρματος **μη διαβητικών ασθενών** από την εξίσωση προσδιορισμού:  $y=0,0003x-0,0224$

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C(αντιοξειδωτικής ικανότητας) ( $\mu M$ )
1	1,134	1,149	1,144	1,142	3881
2	1,189	1,175	1,185	1,183	4018
3	0,925	0,865	1,792	1,194	4054
4	0,829	0,899	0,865	0,864	2954
5	1,082	1,100	1,096	1,092	3714
6	0,905	0,876	0,894	0,891	3044
7	0,923	1,088	1,067	1,026	3494
8	0,654	0,586	0,629	0,623	2151
9	0,859	0,834	0,841	0,844	2888

**Πίνακας 9.** Απορροφήσεις και συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα σπέρματος **διαβητικών ασθενών** από την εξίσωση προσδιορισμού:  $y=0,0003x- 0,0224$

A/A	A1	A2	A3	Μέσος όρος Abs	C (αντιοξειδωτικής ικανότητας) (μM)
1	0,544	0,408	0,470	0,474	1654
2	0,505	0,582	0,539	0,542	1881
3	0,392	0,464	0,420	0,425	1491
4	0,543	0,404	0,471	0,472	1648
5	0,507	0,481	0,441	0,476	1661
6	0,401	0,452	0,389	0,414	1454



**Εικόνα 13.** Θηκόγραμμα τιμών αντιοξειδωτικής ικανότητας για τις δύο περιπτώσεις της μελέτης, όπου παρατηρούνται για τους μη διαβητικούς: τιμές  $max=4054$ ,  $min=2151$ , τεταρτημόρια  $q1=2954$ ,  $q3=3881$ , διάμεσος= $3494$  και για τους διαβητικούς : τιμές  $max=1881$ ,  $min=1454$ , τεταρτημόρια  $q1=1491$ ,  $q3=1661$ , διάμεσος= $1651$

Ελέγχθηκε η κανονικότητα των αποτελεσμάτων διαβητικών και μη διαβητικών ατόμων με την μέθοδο Kolmogorov-Smirnov (KS) στις μεταβλητές των συγκεντρώσεων των Πινάκων 2-10. Οι τιμές P της δοκιμασίας KS ήταν παντού  $>0,05$ , δηλαδή όλες οι μεταβλητών των συγκεντρώσεων ακολουθούν κανονική κατανομή (normal distribution). Ο έλεγχος των μέσων τιμών των αποτελεσμάτων των Πινάκων 2-10 για κάθε μεθοδολογία χωριστά έγινε με την δοκιμασία t-test για ανεξάρτητα δείγματα. Η διαφορά των μέσων τιμών ήταν παντού στατιστικά σημαντική  $<0,01$ .

**Πίνακας 10.** Συγκεντρωτικά αποτελέσματα

Ουσίες που προσδιορίστηκαν	Μη διαβητικά άτομα			Διαβητικά άτομα		
	Μέσος όρος C	Τυπική απόκλιση	Διάμεσος	Μέσος όρος C	Τυπική απόκλιση	Διάμεσος
Κιτρικό οξύ  (Τιμές αναφοράς: 1,92-9,61 mg/mL)	4,7	0,44	4,72	3,2	0,28	3,28
Φρουκτόζη  (Τιμές αναφοράς: 1,0-5,0 mg/mL)	0,5	0,1	0,47	0,3	0	0,33
Ολικές φαινόλες  (Τιμές αναφοράς: 0,5-2 mg/L)	774,5	110,96	750,54	511,5	67,70	537,81
Αντιοξειδωτική ικανότητα  (Τιμές αναφοράς: 690-1100 μM στο πλάσμα)	3355,33	640,14	3494	1631,5	151,75	1651

## Κεφάλαιο 4. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Όπως προαναφέρθηκε, οι άνδρες που πάσχουν από την διαβητική νόσο, αντιμετωπίζουν δυσκολίες στην προσπάθεια γονιμοποίησης (Temidayo and Stefan 2018). Μετά το πέρας της ολοκλήρωσης της πειραματικής διαδικασίας προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

Οι διαβητικοί ασθενείς παρουσίασαν χαμηλότερη συγκέντρωση κιτρικού οξέος ( $3,2 \pm 0,28$  mg/mL) σε σχέση με τους μη διαβητικούς ( $4,7 \pm 0,44$  mg/mL). Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική ( $p < 0,001$ ). Ως σημαντικός παράγοντας για την ορθή λειτουργία του προστάτη, το κιτρικό οξύ σε χαμηλές συγκεντρώσεις δηλώνει ότι τα άτομα με διαβήτη, πιθανόν να εμφανίσουν επιπλοκές στην υγεία τους. Ειδικότερα, ο ρόλος του κιτρικού οξέος προσδιορίζεται κατά βάση στην μείωση της γλυκόζης στο αίμα και του δείκτη αντίστασης στην ινσουλίνη, καθώς και αύξηση της ευαισθησίας σε αυτή, προκαλώντας διάφορες μορφές διαβητικής νόσου (Yadikar, et al. 2022). Ενδέχεται, επίσης, να παρουσιαστούν αλλαγές στην κινητικότητα του σπέρματος, στην διατήρηση του pH και στον μεταβολισμό του (Tu, et al. 2020).

Σχετικά με τον δείκτη φρουκτόζη, οι διαβητικοί ασθενείς εμφάνισαν μειωμένη συγκέντρωση ( $0,3 \pm 0$  mg/mL) συγκριτικά με τους μη διαβητικούς ( $0,5 \pm 0,1$  mg/mL). Το αποτέλεσμα, παρά την φαινομενικά μικρή διαφορά, κρίθηκε στατιστικά σημαντικό ( $p < 0,001$ ). Τα ευρήματά μας, συμπίπτουν με την έρευνα των (Ahmed, και συν. 2010) σχετικά με τα άτομα με ολιγοαζωοσπερμία και αζωοσπερμία, τα οποία παρουσιάζουν χαμηλές τιμές φρουκτόζης, που σχετίζονται με απόφραξη της ανδρικής αναπαραγωγικής οδού. Ωστόσο υπάρχουν και έρευνες που εντοπίζουν τα επίπεδα του βιοδείκτη υψηλότερα στους διαβητικούς ασθενείς (Ma, Han και Deng, και συν. 2020). Η φρουκτόζη είναι ο κύριος υδατάνθρακας των σπερματοδόχων κύστεων και παρέχει ενέργεια για την κίνηση των σπερματοζωαρίων. Χαμηλά επίπεδα αυτής συνεπάγονται υπογονιμότητα (Ahmed, et al. 2010). Συμπεραίνουμε λοιπόν, πως οι διαγνωσμένοι διαβητικοί κατέχουν πιο αδύναμες σπερματοδόχεις κύστες. Δεδομένης της λειτουργίας της για παροχή ενέργειας στο σπέρμα, τα χαρακτηριστικά αυτού αλλοιώνονται επίσης .

Στις ολικές φαινόλες, παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στις δύο ομάδες. Συγκεκριμένα, στην διαβητική ομάδα η συγκέντρωση βρέθηκε  $511,5 \pm 67,70$  mg/L και

στη μη διαβητική  $774,5 \pm 110,96$  mg/L. Επομένως, το αποτέλεσμα κρίθηκε και σε αυτή την περίπτωση στατιστικά σημαντικό ( $p < 0,001$ ). Όπως έγινε λόγος, οι ολικές φαινόλες αναστέλλουν την δράση της α-γλυκοσιδάσης, η οποία αποτελεί σημαντικό δείκτη της επιδιδυμίδας (Purvis and Egdetveit 1993). Με το δεδομένο αυτό, εξάγεται το συμπέρασμα ότι η χαμηλή τιμή των ολικών φαινολών στους διαβητικούς, οδηγεί ταυτόχρονα σε αύξηση της α-γλυκοσιδάσης στο πλάσμα του σπέρματος. Και σε αυτή τη περίπτωση οι απόψεις δίστανται, καθώς έρευνες παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα της α-γλυκοσιδάσης (που συμφωνεί με την δική μας έρευνα) στην διαβητική ομάδα (Ma, Han και Deng, και συν. 2020) ενώ κάποιες άλλες χαμηλότερα (Mera, και συν. 2023).

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα, οι διαβητικές συγκεντρώσεις ( $1631,5 \pm 151,75$   $\mu$ M) παρουσιάζουν αισθητή μείωση σε σχέση με τις μη διαβητικές ( $3355,33 \pm 640,14$   $\mu$ M). Ορίζεται για μία ακόμη φορά η στατιστική σημαντικότητα ( $p < 0,001$ ). Η χαμηλή αυτή αντιοξειδωτική ικανότητα, υποδηλώνει ότι στους διαβητικούς ασθενείς υπάρχει αυξημένο οξειδωτικό στρες (Peiro, et al. 2023) που απορρέει στην οξειδωτική βλάβη των ιστών και στη μειωμένη έκκριση ινσουλίνης (Luc, et al. 2019). Συνεπώς, καθίσταται μια σημαντική αιτία και αποτέλεσμα του σακχαρώδους διαβήτη, μιας που οι κυτταρικές αλλαγές που υφίστανται οι ιστοί οδηγούν σε διαβητικές επιπλοκές (Thakur, Kumar and Kumar 2018).

Συνοψίζοντας, οι διαβητικοί ασθενείς παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα σε όλους τους βιοχημικούς δείκτες που ερευνήθηκαν στο σπερματικό πλάσμα. Η σύνδεση του κάθε δείκτη με το αντίστοιχο όργανο του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος και η ταυτόχρονη μείωση όλων των δεικτών σε κάθε διαβητικό ασθενή που μελετήθηκε, μας κάνει να θεωρούμε το ενδεχόμενο υπογονιμότητας δεδομένο. Παρόλα αυτά, ο μικρός αριθμός δειγμάτων, κρίνει αναγκαία τη περαιτέρω μελέτη σε μεγαλύτερη πληθυσμιακή ομάδα για πιο επικυρωμένα αποτελέσματα.

## Αναφορές

Ahmed, Zahoor, Muhammad Shoaib Khan, Mudassir Ahmad Khan, Amin ul Haq, και Jamil ur Rahman. «Seminal Fructose in Various Classes of Intertile Patients.» *Pakistan Journal of Physiology*, June 2010: 36-38.

Alam, Saruar, Md. Kamrul Hasan, Sharif Neaz, Nazmul Hussain, Md. Faruk Hossain, και Tania Rahman. «Diabetes Mellitus: Insights from Epidemiology, Biochemistry, Risk Factors, Diagnosis, Complications and Comprehensive Management.» *Diabetology*, 16 April 2021: 36-50.

Al-Fartosy, Adnan Jassim Mohammed, Hadi Z. Al-Sawaad, και Idrees H. Abogalc Al-khazali. «Seminal Biochemical Markers and Serum Fertility Hormones in Men with or without Infertility/ Basrah-Iraq.» *International Medical Journal* 25, αρ. 04 (April 2020): 2129-2140.

American Diabetes Association. «Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes- 2020.» *Diabetes Care*, 2020: 14-31.

Basmatzou, Thaleia, και Konstantinos Hatziveis. «Diabetes Mellitus and Influences on Human Fertility.» *International Journal of Caring Sciences*, 2016: 371-379.

Bhattacharya, Sudhindra Mohan, Mainak Ghosh, και Nupur Nandi. «Diabetes mellitus and abnormalities in semen analysis.» *The Journal Of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2013: 167-171.

Bitla, Aparna R., και συν. «Antioxidant status in patients with metabolic syndrome as measured by ferric reducing ability of plasma(FRAP) assay.» *Journal of Clinical and Scientific Research*, 2012: 114-120.

Boskey, Elizabeth. *The Anatomy of the Epididymis*. verywell health, 2024.

Condorelli, Rosita A., Sandro La Vignera, Laura M. Mongioi, Angela Alamo, και Aldo E. Calogero. «Diabetes Mellitus and Infertility: Different Pathophysiological Effects in Type 1 and Type 2 on Sperm Function.» *frontiers in Endocrinology*, 2018: 1-9.

Dias, R., και συν. «Glucose Transport and Metabolism in Sertoli Cell: Relevance for Male Fertility.» *Current Chemical Biology*, 2013: 282-293.

Dong, Bingzheng, και συν. «Quercetin ameliorates oxidative stress-induced cell apoptosis of seminal vesicles via activating Nrf2 in type 1 diabetic rats.» *Biomedicine and Pharmacotherapy* 151 (July 2022): 1-6.

Dwivedi, Mahendra, και Aadya Raj Pandey. «Diabetes Mellitus and Its Treatment: An Overview.» *Journal of Advancement in Pharmacology*, 2020: 48-58.

Forouhi, Nita Gandhi, και Nicholas J. Wareham. «Epidemiology of diabetes.» *Medicine*, November 2010: 602-606.

Ghasemi, Hassan, και συν. «Seminal plasma zinc and magnesium levels and their relation to spermatozoa parameters in semen of diabetic men.» *International Journal of Diabetes in Developing Countries* 36 (2016): 34-39.

Hoeh, Benedikt, και συν. «Anatomical Fundamentals and Current Surgical Knowledge of Prostate Anatomy Related to Functional and Oncological Outcomes for Robotic-Assisted Radical Prostatectomy.» *Frontiers in surgery*, February 2022.

Hou, Yuyang, και συν. «Comprehensive metabolomics profiling of seminal plasma in asthenozoospermia caused by different etiologies.» *Clinica Chimica Acta* 548 (August 2023).

Huang, Runchun, Jiawang Chen, Buyu Guo, Chenjun Jiang, και Weiming Sun. «Diabetes-induced male infertility: potential mechanisms and treatment options.» *Molecular Medicine* 30 (January 2024): 1-15.

Ibrahim, Ghada S., Sahar S. Mohamed, Amal I. Hassan, και Mona A.M. Ghoneim. «The possible effect of crude phenolic-rich extract from mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on infertility induced by streptozotocin in rats fed a high-fat diet as a model of type 2 diabetes.» *Bulletin of the National Research Centre* 48 (June 2024): 1-16.

Inih, Onung Samuel, Young Ekenechukwu Esther, Fasanmade Olufemi Adetola, Anyanwu Anthony Chinedu, Nwatu Chidinma Brenda, και Ohwovoriole Augustine Efedaye. «Testicular Dysfunction is a Common Feature in Men with Type 2 Diabetes Mellitus in a Nigerian Tertiary Hospital.» *Current Diabetes Reviews*, 2018: 298-306.

Jaiballah, Zainab A., Naji M. Lji, και Fathi B. Alamyel. «Effect of Moringa Oleifera Extract On Some Sperm Parameters And Testis In Diabetic Rats.» *Journal of Pure and Applied Sciences* 18,19, αρ. 3 (September 2020): 18-22.

Jones, Oliver. *The Testes and Epididymis*. TeachMe Anatomy, 2023.

Kamal, Emad E., Aya Y. Badran, Walaa A. Khalifa, Angham H. Mahgoob, Mohammed Zakaria, και Reham M. Abdel Gaber. «Semen parameters in Egyptian diabetic patients and its correlation with glycosylated hemoglobin level: A case- control study.» *Human Andrology*, April 2021: 1-6.

Kharroubi, Akram T, και Hisham M Darwish. «Diabetes mellitus: The epidemic of the century.» *World Journal of Diabetes*, 2015: 850-867.

Lotti, Francesco, και Mario Maggi. «Effects of diabetes mellitus on sperm quality and fertility outcomes: Clinical evidence.» *Andrology* 11, αρ. 2 (2022): 399-416.

Lu, Xiaosheng, Yonggang Huang, Huina Zhang, και Junzhao Zhao. «Effect of diabetes mellitus on the quality and cytokine content of human semen.» *Journal of Reproductive Immunology*, 2017: 1-2.



- Luc, K., A. Schramm-Luc, T.J. Guzic, και T.P. Mikolajczyk. «Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes.» *Journal of physiology and pharmacology*, December 2019: 809-824.
- Ma, Jing, και συν. «Effect of diabetes mellitus on semen quality.» *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2020: 7910-7919.
- Ma, Jing, και συν. «Effects of high serum uric acid levels on oxidative stress levels and semen parameters in male infertile patients.» *Medicine*, 2022: 1-6.
- McKay, Alastair C., Nkiruka Odeluga, Jay Jiang, και Sandeep Sharma. *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Seminal Vesicle*. StatPearls, 2023.
- Mera, Reham Attalla Mahmoud, Zakaria Mahran Obaid, Tarek Mustafa Emran, και Ramadan Mohamed Eldahshan. «Evaluation of Male Accessory Gland Markers and Seminal Parameters in Obese Infertile Men.» *INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICAL ARTS* 5, αρ. 6 (June 2023).
- Molan, Abdul-Lateef, και Abdulkhaliq Saleh Mahdy. «Total Phenolics, Antioxidant Activity and Anti-Diabetic Capacities of Selected Iraqi Medicinal Plants.» *American Journal of Life Sciences Researches* 4, αρ. 2 (April 2016): 26-32.
- National Cancer Institute. «Anatomy of the Testis.»
- Peiro, Maria Perez, Mariela Alvarado Miranda, Clara Martin Ontiyuelo, Diego A. Rodriguez-Chiaradia, και Esther Barreiro. «Nitrosative and Oxidative Stress, Reduced Antioxidant Capacity, and Fiber Type Switch in Iron- Deficient COPD Patients : Analysis of Muscle and Systemic Compartments.» *Nutrients*, March 2023: 1-20.
- Purvis, K., και I. Egdetveit. «Segmental distribution of a-glucosidase, ornithine decarboxylase and polyamines in the human epididymis.» *Journal of Reproduction and Fertility*, 1993: 575-580.
- Singh, Nishita, Roohi Keshewani, Arun Kumar Tiwari, και Dilip Kumar Patel. «A review on diabetes mellitus.» *The Pharma Innovation*, 2016: 36-40.
- Singh, Omesh, και Srinivasa Rao Bolla. *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Prostate*. National Library of Medicine, 2022.
- Temidayo, Omolaoye, και Plessis Stefan. «Diabetes mellitus and male infertility.» *Asian Pacific Journal of Reproduction*, January 2018: 6-14.
- Thakur, Parul, Ashwini Kumar, και Awanish Kumar. «Targeting oxidative stress through antioxidants in diabetes mellitus.» *Journal of Drug Targeting*, January 2018: 766-776.
- Toragall, Makhadumsab M., Sanat K. Satapathy, Girish G. Kadadevaru, και Murigendra B. Hiremath. «Evaluation of Seminal Fructose and Citric Acid Levels in Men with Fertility Problem.» *Journal of Human Reproductive Sciences* 12, αρ. 3 (September 2019): 199-203.

Tu, Chaofeng, Weili Wang, Tongyao Hu, Guangxiu Lu, Ge Lin, και Yue-Qiu Tan. «Genetic underpinnings of asthenozoospermia.» *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 34, αρ. 6 (December 2020): 1-16.

World Health Organization. *Classification of diabetes mellitus*. 2019.

—. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 2021.

Yadikar, Nigary, και συν. «Exploring the mechanism of citric acid for treating glucose metabolism disorder induced by hyperlipidemia.» *Journal of Food Biochemistry*, September 2022: 1-8.

ΙΜΟΠ (Ινστιτούτο Μελέτης Ουρολογικών Παθήσεων). *Βιοχημικός έλεγχος του σπέρματος*. 2011. <https://www.imop.gr/diagnwstikes-eksetaseis/viochmikos-elegchos-spermatos> (πρόσβαση Ιούνιος 16, 2024).

Καρκαλούσος, Πέτρος. *Γενική Εξέταση Ούρων, Σπέρματος και Άλλων Βιολογικών Υγρών*. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, 2013.