



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η επίδραση του οξειδωτικού στρες στην λειτουργία του
ωοθυλακικού υγρού και την γονιμότητα**

GRADUATE THESIS

The effect of oxidative stress on follicular fluid function and fertility

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

Βαρβάρα Λαγοπαναγιωτοπούλου

Varvara Lagopanagiotopoulou

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Πέτρος Καρκαλούσος

Petros Karkalousos

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2024



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences



Laboratory of Chemistry, Biochemistry, Cosmetology

GRADUATE THESIS

The effect of oxidative stress on follicular fluid function and fertility

VARVARA LAGOPANAGIOTOPOULOU
20678153
veralagou02@gmail.com

FIRST SUPERVISOR
PETROS KARKALOUSOS

SECOND SUPERVISOR
MARIA TRAPALI

THIRD SUPERVISOR
CHRISTINA FOUNTZOULA

AIGALEO 2024

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 07/10/2024

Όνόματα εξεταστών

Υπογραφή

1^{ος} Εξεταστής Πέτρος Καρκαλούσος

2^{ος} Εξεταστής Μαρία Τράπαλη

3^{ος} Εξεταστής Χριστίνα Φούντζουλα

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Βαρβάρα Λαγοπαναγιωτοπούλου του Γεωργίου, με αριθμό μητρώου 20678153 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα 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, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Όνομα φοιτητή

Βαρβάρα Λαγοπαναγιωτοπούλου

Υπογραφή φοιτητή



Ευχαριστίες

Με την παρούσα εργασία ολοκληρώνονται οι σπουδές μου στο τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Πέτρο Καρκαλούσο, για την καθοδήγηση που μας προσέφερε και το χρόνο που διέθεσε. Στο ίδιο πλαίσιο ευγνωμοσύνης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές με εξόπλισαν με γνώσεις και δεξιότητες τα τέσσερα χρόνια της φοίτησής μου. Οφείλω επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους εκείνους που συνέβαλαν είτε πρακτικά είτε ψυχικά στην ολοκλήρωση της εργασίας μου, τους συμφοιτητές μου, τους φίλους μου και την οικογένεια μου.

Περίληψη

Ο σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι να διερευνήσει τον ρόλο του οξειδωτικού στρες στο ωοθυλακικό υγρό (FF) και πώς αυτό επηρεάζει τη γονιμότητα και την αναπαραγωγική υγεία, με τη σύνθεση βιβλιογραφικών δεδομένων. Η υπερβολική παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) μπορεί να υπερβαίνει τις δυνατότητες των κυτταρικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών, προκαλώντας οξειδωτικό στρες και οδηγώντας σε βλάβες κυτταρικών δομών όπως πρωτεΐνες, DNA και λιπίδια. Αυτό συνδέεται με διάφορες ασθένειες, όπως καρκίνο, καρδιαγγειακές παθήσεις, και νευροεκφυλιστικές νόσους. Στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, τα ROS παίζουν σημαντικό ρόλο, με τις δράσεις τους να περιλαμβάνουν την ωοθυλακιογένεση, τη λειτουργία του ωχρού σωματίου και την ωορρηξία. Εντούτοις, η αυξημένη παραγωγή ROS μπορεί να οδηγήσει σε παθολογικές καταστάσεις όπως υπογονιμότητα και αποβολές. Παθολογικές καταστάσεις όπως η υδροσάλπιγγα, η ενδομητρίωση, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (ΣΠΩ) και η ιδιοπαθής υπογονιμότητα συνδέονται με την ανισορροπία μεταξύ ROS και αντιοξειδωτικών, επηρεάζοντας τη γονιμότητα.

Ειδικότερα, στην υδροσάλπιγγα, τα αυξημένα επίπεδα ROS στο υγρό που περιέχεται στη σάλπιγγα συνδέονται με την εμβρυοτοξικότητα και τη βλάβη στο DNA των ωαρίων. Στην ενδομητρίωση, η παρουσία φλεγμονής και οξειδωτικού στρες μπορεί να επιδεινώσει τη νόσο, ενώ η ανισορροπία των αντιοξειδωτικών ενζύμων και βιταμινών επηρεάζει αρνητικά την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Το οξειδωτικό στρες έχει σημαντικό ρόλο στην ιδιοπαθή υπογονιμότητα, με μελέτες να δείχνουν αυξημένα επίπεδα ROS και μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα στις γυναίκες που πάσχουν από αυτή την πάθηση. Παράλληλα, στο ΣΠΩ, το οξειδωτικό στρες προκαλεί σημαντικές διαταραχές στην ορμονική λειτουργία, επιδεινώνοντας τις αναπαραγωγικές επιπλοκές. Το οξειδωτικό στρες στο ωοθυλακικό υγρό έχει πολύπλευρες επιπτώσεις στη γονιμότητα και την αναπαραγωγική υγεία.. Η ισορροπία μεταξύ του οξειδωτικού στρες και των αντιοξειδωτικών είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της υγείας των ωαρίων και τη βέλτιστη εμβρυϊκή ανάπτυξη, κάτι που επισημαίνεται από πολυάριθμες μελέτες. Η κατανόηση των μηχανισμών που ρυθμίζουν το οξειδωτικό στρες στο FF μπορεί να οδηγήσει σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη βελτίωση της γονιμότητας και την αύξηση των πιθανοτήτων επιτυχούς εγκυμοσύνης.

Λέξεις κλειδιά: Οξειδωτικό στρες, ωοθυλακικό υγρό, υπογονιμότητα, ωοθυλάκιο, ωάριο

Abstract

The purpose of this thesis is to investigate the role of oxidative stress in follicular fluid (FF) and how it affects fertility and reproductive health by gathering bibliographic data. The excessive production of reactive oxygen species (ROS) can overwhelm the cellular antioxidant mechanisms, leading to oxidative stress that causes damage to cellular structures such as proteins, DNA, and lipids. This is associated with various diseases, including cancer, cardiovascular diseases, and neurodegenerative disorders. In the female reproductive system, ROS play a crucial role in procedures including folliculogenesis, corpus luteum function, and ovulation. However, increased ROS production can lead to pathological conditions such as infertility and miscarriages. Conditions like hydrosalpinx, endometriosis, polycystic ovary syndrome (PCOS), and idiopathic infertility are linked to an imbalance between ROS and antioxidants, affecting fertility.

Specifically, in hydrosalpinx, elevated ROS levels in the fluid within the fallopian tubes are associated with embryotoxicity and DNA damage in oocytes. In endometriosis, the presence of inflammation and oxidative stress can exacerbate the disease, while the imbalance of antioxidant enzymes and vitamins negatively impacts the body's antioxidant capacity. Oxidative stress plays a significant role in idiopathic infertility, with studies showing increased ROS levels and reduced antioxidant capacity in women suffering from this condition. Moreover, in PCOS, oxidative stress causes significant disturbances in hormonal function, worsening reproductive complications.

Oxidative stress in follicular fluid has multifaceted effects on fertility and reproductive health. The balance between oxidative stress and antioxidants is crucial for maintaining oocyte health and optimal embryonic development, as highlighted by numerous studies. Understanding the mechanisms that regulate oxidative stress in FF may lead to new therapeutic approaches to improve fertility and increase the chances of a successful pregnancy.

Key words: **Oxidative stress, follicular fluid, infertility, follicle, ovum**

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	V
Περίληψη	VI
Abstract	VII
Συνοτομογραφίες	IX
Πρόλογος.....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Εισαγωγή	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Το Οξειδωτικό Στρες.....	5
2.1. Ο ρόλος του οξυγόνου.....	5
2.2. Αντιδραστικές Μορφές Οξυγόνου.....	5
2.3. Οξειδωτικό στρες.....	9
2.3.1. Ορισμός.....	9
2.3.2. Εξωγενείς πηγές ROS.....	9
2.3.3. Επιπτώσεις του Οξειδωτικού Στρες στα Κύτταρα.....	10
2.4 Αντιοξειδωτικοί Μηχανισμοί.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Το Γυναικείο Αναπαραγωγικό Σύστημα.....	15
3.1. Ανατομία και Λειτουργία του Γυναικείου Αναπαραγωγικού Συστήματος.....	15
3.2. Ορμονικός Έλεγχος και Έμμηνος Κύκλος.....	16
3.2.1. ΩΟΘΗΚΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	16
3.2.2. ΜΗΤΡΙΑΙΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	18
3.2.3. Οι ορμόνες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος.....	19
3.3. Το Ωοθυλάκιο και ο Ρόλος του.....	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Τα ROS στο Γυναικείο Αναπαραγωγικό Σύστημα.....	23
4.1. Ο ρόλος των ROS.....	23
4.2 Επιπτώσεις και Παθολογία των ROS στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα...	26
4.3. Το οξειδωτικό στρες στο ωοθυλακικό υγρό.....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	32
Αναφορές.....	34
ΠΗΓΕΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	39

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
AMH	Anti Mullerian Hormone	Αντι-μυλλέριος ορμόνη
Apaf-1	Apoptotic protease activating factor 1	Παράγοντας ενεργοποίησης της απόπτωσης 1
ATP	Adenosine Triphosphate	Τριφωσφορική αδενοσίνη
Ca	Carbon	Ασβέστιο
CAT	Catalase	Καταλάση
Cu	Copper	Χαλκός
Cu, Zn-SOD	Copper zinc superoxide dismutase	Υπεροξειδική δισμουτάση χαλκού/ψευδαργύρου
Cyt c (P450)	Cytochrome c	Κυτόχρωμα c
ER	Endoplasmic Reticulum	Ενδοπλασματικό δίκτυο
GCL	Glutathione synthetase	Συνθετάση γλουταθειόνης
GPx	Glutathione hyperoxidase	Γλουταθειόνη υπεροξειδάση
GR	Glutathione reductase	Γλουταθειόνη αναγωγάση
GSH	Glutathione	Γλουταθειόνη
GST	Glutathione-S-transferase	Γλουταθειονική-S-μεταφοράση
Fe²⁺	Ferrous iron	Δισθενής σίδηρος
Fe³⁺	Ferric iron	Τρισθενής σίδηρος
FF	Follicular Fluid	Ωοθυλακικό υγρό
FSH	Follicle-Stimulating Hormone	Ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone	Γοναδοεκλυτίνη
hCG	Human Chorionic Gonadotropin	Χοριακή Γοναδοτροπίνη
HO⁻¹	Hemoxygenase -1	Αιμο οξυγενάση-1
HO₂ .	Hyperoxide Radicle	Υδροϋπεροξειδική Ρίζα
H₂O₂	Hydrogen Hyperoxide	Υπεροξείδιο του Υδρογόνου

HOCl	Hypochlorous Acid	Υποχλωριώδες οξύ
HRT	Hormone replacement therapy	Ορμόνες αντικατάστασης
HSF	hydrosalpinx fluid	Υγρό υδροσάλπιγγας
iNOS	Nitrogen monoxide synthetase	Συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου
IVF	In Vitro Fertilization	Εξωσωματική γονιμοποίηση
LH	Luteinizing Hormone	Ωχρινοποιητική Ορμόνη
LPO	Lipid Peroxidation	Λιπιδική υπεροξειδωση
MDA	Malondialdehyde	Μαλονδιαλδεΐδη
Mn-SOD	Manganese superoxide dismutase	Μαγγανιούχος υπεροξειδική δισμουτάση
MPO	Myeloperoxidase	Μυελοπεροξειδάση
MPTP	1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine	1-μεθυλ-4-φαινυλ-1,2,3,6-τετραϋδροπυριδίνη (Πόρος διαπερατότητας)
MS	Meiotic Spindle	Μειώτική άτρακτος
NAC	N-acetyl-L-cysteine	N-ακετυλο-L-κυστεΐνη
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase	Φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινω-δινουκλεοτίδιο
NO.	Nitrogen Monoxide	Μονοξείδιο του αζώτου
NO₂ .	Nitrogen Dioxide	Διοξείδιο του αζώτου
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	Πυρηνικός παράγοντας ερυθροειδούς 2
¹O₂	Singlet Oxygen	Μονήρες Οξυγόνο
O₂	Oxygen	Οξυγόνο
O₂ .⁻	Hydrogen Peroxide	Ανιόν Υπεροξειδίου
O₃	Ozone	Όζον
OH	Hydroxyl	Ρίζα Υδροξυλίου
ONOO⁻	Peroxynitrite	Περοξυνιτρικό
PCOS	Polycystic Ovarian Syndrome	Σύνδρομο των Πολυκυστικών Ωοθηκών (ΣΠΩ)
PRL	Prolactin	Προλακτίνη
RF	Resting Follicle	Ωοθυλάκιο σε κατάσταση ηρεμίας

RO.	Alcoholate Radicle	Ρίζα Αλκοξειδίου
ROO.	Hydrogen Radicle	Ρίζα Υπεροξειδίου
ROOH	Organic Hyperoxide	Οργανικά Υδροπεροξειδία
ROS	Reactive Oxygen Species	Δραστικές μορφές οξυγόνου
SOD	Superoxide Dimutase	Υπεροξειδική Δισμουτάση
TAC	Total Antioxidant Capacity	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα
TFI	Tubal factor infertility	Σαλπινγκική υπογονιμότητα
TFR	Total Fertility Rate	Ολικό Ποσοστό Γονιμότητας
Trx	Thioredoxine	Θειορεδοξίνη
UPR	Unfolded Protein Response	Απόκριση στις μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες
3β-HSD	3β-Hydroxysteroid dehydrogenase	3β-υδροξυστεροειδική αφυδρογονάση

Πρόλογος

Η εξέλιξη των ερευνών σχετικά με την ανθρώπινη αναπαραγωγή και τη γονιμότητα αναδεικνύει την ουσιώδη σημασία της κατανόησης των παραγόντων που επηρεάζουν τη φυσιολογία του ανθρώπινου σώματος. Σε αυτό το πλαίσιο, το οξειδωτικό στρες έχει αναδειχθεί ως σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την λειτουργία του ανθρώπινου αναπαραγωγικού συστήματος.

Φυσιολογικά, κατά τον μεταβολισμό του ανθρώπινου σώματος δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και παράγονται δραστικά είδη οξυγόνου (ROS). Στα ROS περιλαμβάνονται μεταξύ άλλων, ανιόντα υπεροξειδίου (O_2^-), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και ιόντα υδροξυλίου (OH^-) (Borowiecka, et al., 2012). Η παρουσία τους διαδραματίζει εξαιρετικά σημαντικό ρόλο σε διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα σε πολλά συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού, όπως το αμυντικό σύστημα (Agarwal, et al., 2017). Για να μένουν σε σταθερές ποσότητες τα οξειδωτικά προϊόντα, τα οποία είναι τοξικά σε μεγάλες ποσότητες, ο ανθρώπινος οργανισμός παράγει αντιοξειδωτικές ουσίες οι οποίες μπορούν να τα εξουδετερώσουν, διατηρώντας έτσι μια ισορροπία μεταξύ τους. Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι είτε ενζυμικής, είτε μη ενζυμικής μορφής και ο ρόλος τους είναι να μετατρέπουν τα ROS σε H_2O . Γνωστό αντιοξειδωτικό είναι η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), υπεύθυνη για τον καθαρισμό των ριζών υπεροξειδίου (Agarwal, et al., 2017).

Συγκεκριμένες ποσότητες ROS είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη και την ωρίμανση των ωαρίων στο μικροπεριβάλλον του ωοθυλακίου, καθώς και την σύντηξη ωαρίου-σπερματοζωαρίου. Η παρουσία των ROS στις ωοθήκες πηγάζει από μακροφάγα, ουδετερόφιλα κύτταρα και στεροειδογόνα κύτταρα. Επίσης, προέρχονται και από ενδοκυττάρια πηγές, όπως είναι η μιτοχονδριακή μεταφορά ηλεκτρονίων, τα συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσω της πυρηνικής μεμβράνης, το ενδοπλασματικό δίκτυο και οι πλασματικές μεμβράνες (Agarwal, et al., 2017). Όταν διατηρείται η ισορροπία στον ιστό των ωοθηκών τα οξειδωτικά έχουν ρυθμιστικό ρόλο σε διάφορες διαδικασίες, όπως την ωρίμανση των ωαρίων, τη ωοθυλακιόγένεση, τη στεροειδογένεση των ωοθηκών και την ωχρινόλυση. Για παράδειγμα, το H_2O_2 φαίνεται να συμμετέχει στη δημιουργία προσταγλανδινών μέσω ενζυματικών και μη μηχανισμών (Gupta, et al., 2009).

Ωστόσο, όταν η ισορροπία μεταξύ των οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών προϊόντων διαταράσσεται, δηλαδή υπάρχει υπερπαραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου ή μείωση αντιοξειδωτικών ουσιών ή και τα δύο, επικρατεί μια κατάσταση οξειδωτικού στρες, η οποία σχετίζεται με κυτταρική και ιστική βλάβη και κατ' επέκταση με επιβλαβείς συνέπειες για τον οργανισμό (Rashid, et al., 2013). Σε αυτές τις συνθήκες παρατηρείται συσσώρευση ενεργών ειδών οξυγόνου στον ιστό των ωοθηκών, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχές στην ισορροπία του

ορμονικού συστήματος και βλάβη στις ωοθήκες (Agarwa, 2007) (Tamura, et al., 2007) (Aitken, 2020). Αυξημένα επίπεδα ROS εντός του ωοθυλακικού υγρού μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο την ικανότητα των ωαρίων και υπονομεύουν τις πιθανότητες επιτυχούς γονιμοποίησης και ανάπτυξης εμβρύου. Το ωοθυλακικό υγρό αποτελεί ένα καθοριστικό στοιχείο στην επιτυχημένη λειτουργία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Αυτό το υγρό, το οποίο παράγεται από τις ωοθήκες, παρέχει το ιδανικό περιβάλλον για την ωρίμανση του ωαρίου και την επικοινωνία του με τα σπερματοζωάρια κατά τη διαδικασία της γονιμοποίησης (Gosden, et al., 1988). Εφόσον, γενικά, το οξειδωτικό στρες έχει συσχετισθεί με παθολογικές καταστάσεις του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος, όπως το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, την ενδομητρίωση και την ανεξήγητη στειρότητα, είναι απαραίτητο να διερευνηθεί η επίδραση που αυτό έχει στο ωοθυλακικό υγρό (Gurta, et al., 2009).

Η παρούσα πτυχιακή εργασία επιδιώκει μέσα από τη σύνθεση επιστημονικών ερευνών και βιβλιογραφίας να εξετάσει με ποιον τρόπο μπορεί να επηρεαστεί η λειτουργία και η ποιότητα του ωοθυλακικού υγρού, η ωρίμανση του ωαρίου και η γονιμοποίηση από το οξειδωτικό στρες, διότι είναι φαινόμενο για το οποίο δεν υπάρχουν εξακριβωμένες πληροφορίες καθώς είναι ελάχιστα διερευνημένο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Εισαγωγή

Ανατρέχοντας τις σελίδες της ιστορίας μας φαίνεται ότι η υπογονιμότητα έχει απασχολήσει την ανθρωπότητα από την αρχαιότητα. Θεωρείται από τα αρχαϊκά χρόνια μια «θεϊκή τιμωρία», ένα κοινωνικό στίγμα και συχνά αντιμετωπίζεται με δεισιδαιμονία. Πρώτες αναφορές και θεραπείες της υπογονιμότητας βρίσκονται σε αρχαία αιγυπτιακά, όπως είναι ο Πάπυρος του Ebers (1550 π.Χ.) και αρχαία ελληνικά ιατρικά κείμενα. Μάλιστα, στην αρχαία Ελλάδα πρώτη αναφορά στην υπογονιμότητα έγινε από τον Ιπποκράτη (460-370 π.Χ.) που έσπευσε στην κατανόηση της φυσιολογίας του γυναικείου και ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος και την αιτία της υπογονιμότητας. Η Ιπποκρατική συλλογή περιλαμβάνει περίπου 60 ιατρικά κείμενα στα οποία είναι καταγεγραμμένες οι παρατηρήσεις του Ιπποκράτη για το ανθρώπινο σώμα και σχετίζονται με τη διδασκαλία του.

Οι προτεινόμενες θεραπείες περιορίζονται σε θρησκευτικές τελετουργίες, διάφορα βότανα και φυτικά φάρμακα μέχρι την εποχή της Αναγέννησης (14ος-17ος αιώνας), η οποία φέρνει νέες προοπτικές στην ιατρική, με την αναβίωση των αρχαίων ελληνικών και ρωμαϊκών κειμένων και την ανάπτυξη της επιστημονικής μεθόδου. Σημαντική ήταν η ανακάλυψη του Regner de Graaf που στο έργο του *“De mulierum organis generationi inservientibus tractatus novus”* (1672), που αποδεικνύει τις προηγούμενες υποθέσεις των Jan Swammerdam, Johannes Van Horne of Leiden και Niels Stensen, ότι η ωοθήκη είναι το όργανο στο οποίο παράγεται το ωάριο (Longo & De Graaf, 1996).

Τον 19ο αιώνα, οι επιστήμονες άρχισαν να κατανοούν καλύτερα τις ενδοκρινικές και φυσιολογικές αιτίες της υπογονιμότητας. Ο Γερμανός γυναικολόγος Friedrich Wilhelm Scanzoni (1821-1891), εισήγαγε μεθόδους για τη διάγνωση και τη θεραπεία της γυναικείας υπογονιμότητας. Ο επόμενος αιώνας, ωστόσο, γνώρισε τεράστιες προόδους στην κατανόηση και την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας. Το 1920-1940 αναπτύχθηκαν οι πρώτες ορμονικές θεραπείες, όπως η χρήση εξωγενών γοναδοτροπινών για την πρόκληση ωορρηξίας, ενώ το 1950-1970 οι τεχνικές της λαπαροσκόπησης και της υστεροσκόπησης εισήχθησαν στη γυναικολογία, επιτρέποντας καλύτερη διάγνωση και θεραπεία ανατομικών ανωμαλιών του αναπαραγωγικού συστήματος. Οι πρόοδοι αυτοί στην γυναικολογία αναγράφονται στο βιβλίο *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility* των Leon Speroff και Marc A. Fritz (1973). Τέλος, ορόσημο στην αναπαραγωγική ιατρική αποτέλεσε η γέννηση της Louise Brown το 1978, η οποία ήταν το πρώτο «παιδί του σωλήνα», δηλαδή το πρώτο παιδί που γεννήθηκε μέσω εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF), από τους Robert Edwards και Patrick Steptoe. Η επιτυχία αυτή άνοιξε τον δρόμο για την ανάπτυξη των σύγχρονων τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART).

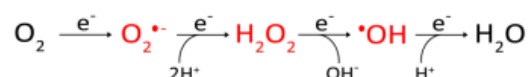
Τα τελευταία χρόνια και συγκεκριμένα από το 1965 παρατηρείται μια συνεχής μείωση του ολικού ποσοστού γονιμότητας (TFR). Από το 1965 που το TFR ήταν περίπου 5 γεννήσεις ανά γυναίκα, το 2023 έχει πέσει περίπου στις 2 γεννήσεις ανά γυναίκα¹. Εφόσον η υπογονιμότητα είναι πραγματικό φαινόμενο και μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη δημογραφική δομή των κοινωνιών, συμπεριλαμβανόμενων των πληθυσμιακών τάσεων και της γήρανσης του πληθυσμού είναι απαραίτητο εκτός από την αντιμετώπιση της, να διερευνηθούν και οι αιτίες που την προκαλούν. Οι παράγοντες μπορεί να είναι γυναικείας, αλλά και αντρικής φύσης. Ένας παράγοντας που έχει συσχετισθεί με την αντρική και γυναικεία υπογονιμότητα είναι το οξειδωτικό στρες. Έρευνες έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα ωάρια και το σπέρμα, επηρεάζοντας αρνητικά την αναπαραγωγική υγεία. Ωστόσο το φαινόμενο δεν είναι αρκετά μελετημένο σε γυναίκες. Το αν και πώς το οξειδωτικό στρες επηρεάζει τη φυσιολογική λειτουργία του αναπαραγωγικού συστήματος της γυναίκας και κατά συνέπεια την γονιμότητα θα μελετηθεί παρακάτω.

¹ Δεδομένα από το Worldometer (<https://www.worldometers.info/demographics/world-demographics/#tfr>)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Το Οξειδωτικό Στρες

2.1. Ο ρόλος του οξυγόνου

Το οξυγόνο αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ύπαρξη ζωής και ο άνθρωπος ως αερόβιος οργανισμός, χρειάζεται το οξυγόνο, καθώς αυτό υποστηρίζει την παραγωγή ενέργειας (ATP) και τη διατήρηση των κυτταρικών λειτουργιών. Συμμετέχει σε βασικές βιοχημικές οδούς οξείδωσης θρεπτικών συστατικών και στον αερόβιο καταβολισμό, όπως είναι η γλυκόλυση (οξείδωση υδατανθράκων), η β-οξείδωση (οξείδωση λιπών), στον κύκλο του Krebs, στη μεταφορά ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα και την οξειδωτική φωσφορυλίωση, και χρησιμεύει σε αυτές ως τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων. Ένα ποσοστό του O₂ που καταναλώνεται στα μιτοχόνδρια (υπολογίζεται μεταξύ του 0.2 και του 2%) ανάγεται, ακόμα και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, με διαδοχικά μονά ηλεκτρόνια, όπως απεικονίζεται σχηματικά στο Σχήμα:



2.2. Αντιδραστικές Μορφές Οξυγόνου

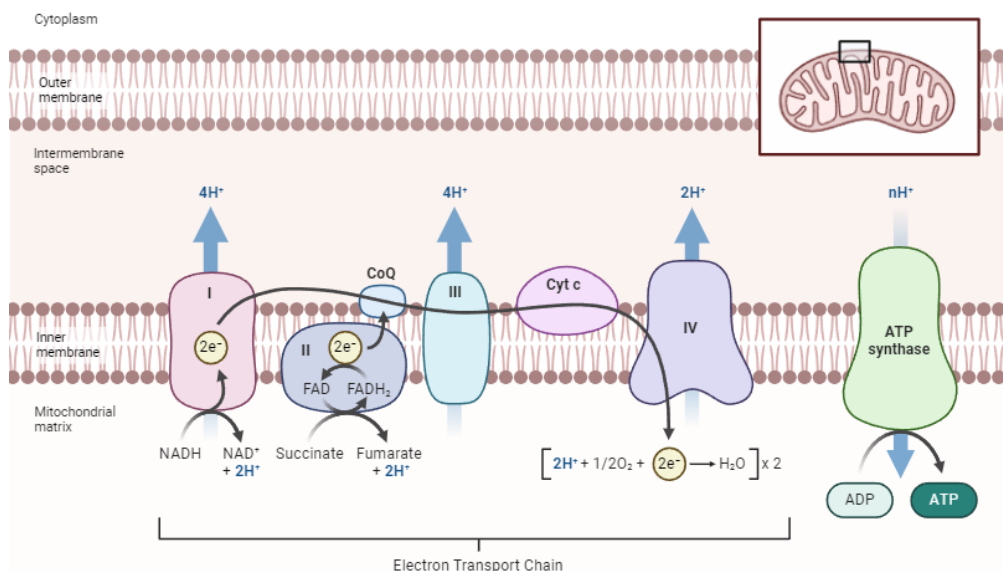
Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) είναι μόρια με υψηλή αντιδραστικότητα που προκύπτουν από τον μεταβολισμό του οξυγόνου και είναι ενδιάμεσα προϊόντα της αναγωγής του. Μπορούν να βρεθούν είτε ως ελεύθερες ρίζες είτε ως μη-ρίζες. Ο όρος “ρίζα” στη χημεία εκφράζει, συνήθως, μια ομάδα ατόμων τα οποία συμπεριφέρονται ως μια ενιαία μονάδα, π.χ. η ρίζα του ανθρακικού (CO₃²⁻) ή η ρίζα του νιτρικού (NO₃⁻). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, όμως, έχουμε έναν νέο ορισμό: Ελεύθερη ρίζα (free radical) ονομάζεται κάθε άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα, σε αντίθεση με τις μη-ελεύθερες ρίζες, οι εξωτερικές στιβάδες των οποίων καλύπτονται από ζεύγη ηλεκτρονίων με αντίθετη στροφορμή (spin). Αυτές οι ενώσεις έχουν την τάση να αποσπούν ηλεκτρόνια από άλλες ενώσεις, προκαλώντας καταστροφικές αλυσιδωτές αντιδράσεις μέσα στα κύτταρα (Agarwal, et al., 2017). Τα κύρια ROS είναι τρία: ανιόντα υπεροξειδίου (O₂⁻), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) και ιόντα υδροξυλίου (OH⁻). Στον πίνακα 1 απεικονίζονται οι πιο γνωστές δραστικές μορφές οξυγόνου.

Πίνακας 1 Δραστικές μορφές O₂ (ROS)

Ένωση	Όνομα
	Ελεύθερες ρίζες
O ₂ ⁻	ανιόν υπεροξειδίου
HO ₂ ⁻	υδροϋπεροξειδική ρίζα
OH	ρίζα υδροξυλίου
RO ⁻	ρίζα αλκοξειδίου
ROO ⁻	ρίζα υπεροξειδίου
NO ₂ ⁻ και NO	διοξειδίο και μονοξείδιο του αζώτου

	Μη-ελεύθερες ρίζες
H ₂ O ₂	υπεροξειδίο του υδρογόνου
ROOH	οργανικά υδροπεροξειδία
¹ O ₂	μονήρες οξυγόνο
O ₃	όζον
HOCl	υποχλωριώδες οξύ
ONOO ⁻	περοξυνιτρικό

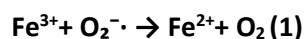
Αυτές οι ενώσεις μπορούν να λειτουργήσουν ως σήματα για σημαντικές κυτταρικές διαδικασίες αλλά ταυτόχρονα να προκαλέσουν βλάβες όταν η συγκέντρωσή τους αυξάνεται αρκετά. Η παραγωγή των ROS στο σώμα συμβαίνει μέσω ενδογενών μηχανισμών. Παράγονται κυρίως μέσα στα μιτοχόνδρια και το ενδοπλασματικό δίκτυο, ενώ επίσης δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της φαγοκυττάρωσης μέσω της ενεργοποίησης της NADPH οξειδάσης. Τα μιτοχόνδρια είναι η κύρια πηγή παραγωγής ROS κατά τη διάρκεια της αερόβιας αναπνοής. Το ανιόν του υπεροξειδίου (O₂⁻) σχηματίζεται όταν τα ηλεκτρόνια διαρρέουν από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και αντιδρούν με το οξυγόνο. Η οξειδάση του κυτοχρώματος c (Cyt c) ή σύμπλοκο IV καταλύει τη μεταφορά ηλεκτρονίων από το κυτόχρωμα c στο οξυγόνο και ανάγει το οξυγόνο σε νερό (εικόνα 1). Ωστόσο πολλές φορές το οξυγόνο παίρνει μόνο ένα ηλεκτρόνιο και μετατρέπεται σε ένα πολύ ασταθές και δραστικό μόριο (O₂⁻). Τα κύτταρα έχουν αναπτύξει μηχανισμούς, ώστε να ανάγονται οι πιο δραστικές μορφές οξυγόνου σε λιγότερο επικίνδυνες. Έτσι μέσω της δράσης της δισμουτάσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου (SOD) μπορεί το O₂⁻ να μετατραπεί σε υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂), μια λιγότερο δραστική μορφή ROS (Cadenas & Davies, 2000).



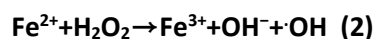
Εικόνα 1 Electron Transport Chain (ETC). Η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (e⁻) αποτελείται από μια σειρά ενώσεων που μεταφέρουν ηλεκτρόνια από δότες ηλεκτρονίων σε αποδέκτες ηλεκτρονίων μέσω αντιδράσεων οξειδοαναγωγής και συνδέουν αυτή την μεταφορά με τη μεταφορά πρωτονίων (ιόντα H⁺) σε μια μεμβράνη. Αυτό δημιουργεί μια ηλεκτροχημική κλίση πρωτονίων που οδηγεί στη σύνθεση ATP. Τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων στην ETC είναι το μοριακό οξυγόνο (O₂) (Created with BioRender.com)

Μία ακόμη πολύ σημαντική πηγή παραγωγής ROS είναι η φαγοκυττάρωση. Όταν ένας ξένος μικροοργανισμός εισέρχεται στο σώμα, ενεργοποιούνται οι αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού για να τον καταπολεμήσουν. Στην πρώτη γραμμή άμυνας συμμετέχουν τα φαγοκύτταρα, όπως τα μακροφάγα και τα πολυπύρρηνα ουδετερόφιλα, τα οποία κατευθύνονται προς την περιοχή της φλεγμονής μέσω χημειοτακτικών σημάτων. Όταν ένα φαγοκύτταρο διεγείρεται, ενεργοποιείται το ένζυμο NADPH οξειδάση, το οποίο αυξάνει ραγδαία την κατανάλωση οξυγόνου για την παραγωγή του O_2^- . Το φαινόμενο αυτό αναφέρεται συχνά ως «αναπνευστική έκρηξη» (respiratory burst) και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση του παθογόνου. Το παραγόμενο O_2^- στη συνέχεια μετατρέπεται σε H_2O_2 , είτε μέσω της δράσης της SOD είτε με μη ενζυματικούς μηχανισμούς. Ωστόσο, το O_2^- και το H_2O_2 δεν είναι αρκετά ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες για να καταστρέψουν μόνοι τους τα βακτήρια και άλλους παθογόνους οργανισμούς. Έτσι, τα φαγοκύτταρα εκκρίνουν επίσης το περιεχόμενο ειδικών κυτταροπλασματικών κυστιδίων, που περιλαμβάνουν το ένζυμο μυελοπεροξειδάση (MPO). Η μυελοπεροξειδάση χρησιμοποιεί το παραγόμενο H_2O_2 ως υπόστρωμα για την οξείδωση των ιόντων χλωρίου, σχηματίζοντας το υποχλωριώδες οξύ (HOCl). Το HOCl έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να οξειδώσει μια σειρά από χημικές ενώσεις συμβάλλοντας στην εξουδετέρωση των εισβολέων. Επιπλέον μια άλλη ισχυρή προοξειδωτική ένωση, το περοξυνιτρίλιο ($ONOO^-$), σχηματίζεται από την αντίδραση του O_2^- με το μονοξείδιο του αζώτου (NO), το οποίο παράγεται από την επαγόμενη μορφή της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) (Babior, 2000).

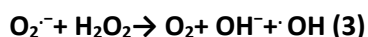
Περαιτέρω μία ακόμη οξειδοαναγωγική αντίδραση είναι γνωστό ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε βιολογικά συστήματα και ιδιαίτερα στην παραγωγή ROS και ελεύθερων ριζών. Αυτή είναι η αντίδραση Haber-Weiss, η οποία περιγράφει την αλληλεπίδραση μεταξύ του O_2^- και του H_2O_2 , παρουσία ενός μεταλλικού ιόντος, συνήθως σιδήρου, που λειτουργεί ως καταλύτης. Το αποτέλεσμα αυτής της αλληλεπίδρασης είναι η παραγωγή εξαιρετικά δραστικών ριζών υδροξυλίου ($\cdot OH$). Η αντίδραση Haber-Weiss μπορεί να διαχωριστεί σε δύο βασικά στάδια: τη μείωση του τρισθενούς σιδήρου (Fe^{3+}) σε δισθενή σίδηρο (Fe^{2+}) και την αντίδραση Fenton. Στην πρώτη αντίδραση το ανιόν του σουπεροξειδίου λειτουργεί ως αναγωγικός παράγοντας, δωρίζοντας ένα ηλεκτρόνιο στο Fe^{3+} και μειώνοντάς το σε Fe^{2+} (εξίσωση 1).



Η αντίδραση Fenton ο δισθενής σίδηρος αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου, καταλύοντα της αποσύνθεσής του και οδηγώντας στον σχηματισμό της ρίζας υδροξυλίου ($\cdot OH$) και ενός ιόντος υδροξυλίου (OH^-) (εξίσωση 2).



Συνδυάζοντας τα **(1)** και **(2)** έχουμε τη συνολική αντίδραση Haber-Weiss:



Η ρίζα υδροξυλίου που παράγεται από αυτές τις αντιδράσεις είναι ένας από τους πιο ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες στα κύτταρα και μπορεί να προκαλέσει σοβαρές βλάβες σε λιπίδια, πρωτεΐνες και DNA.

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις τα ROS μπορούν ακόμη να λειτουργήσουν ως σημαντικά μόρια σήμανσης που ρυθμίζουν πολλές κυτταρικές διαδικασίες, όπως είναι ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση κυττάρων (Mittler, et al., 2011). Οι ROS συμμετέχουν στην ενεργοποίηση των πρωτεϊνών κινάσης, οι οποίες ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και την ανάπτυξη των κυττάρων. Επιπλέον, επηρεάζουν τη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων και τη διαδικασία επούλωσης των πληγών. Ακόμα, οι ROS ενεργοποιούν μονοπάτια σηματοδότησης που ενισχύουν την απόκριση του κυττάρου στο οξειδωτικό στρες, ενεργοποιώντας γονίδια που εμπλέκονται στην άμυνα κατά των ελεύθερων ριζών. (Kirilin, et al., 1999) (Lee, et al., 1999). Μπορούν να ενεργοποιήσουν το μονοπάτι Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), κύριο ρυθμιστή της κυτταρικής αντίδρασης στο οξειδωτικό στρες, μέσω της φωσφορυλίωσης που προκαλείται από την πρωτεΐνη κινάση RNA-like kinase (PERK). Αυτή η ενεργοποίηση προκαλεί την απομάκρυνση του Nrf2 από το σύμπλεγμα Nrf2-Keap1 και επιτρέπει στο Nrf2 να μεταβεί στον πυρήνα, όπου ενεργοποιεί την έκφραση γονιδίων που περιέχουν στοιχεία απόκρισης στα αντιοξειδωτικά (ARE). Αυτά τα γονίδια βοηθούν στην πρόληψη του οξειδωτικού στρες μέσω της επαγωγής αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών, όπως η αιμο οξυγενάση-1 (HO^{-1}) και η γλουταθειόνη συνθετάση (GCL), η οποία είναι κρίσιμη για τη σύνθεση του αντιοξειδωτικού GSH (γλουταθειόνη) (Redza-Dutordoir & Averill-Bates, 2016).

Τα ROS, ακόμη, να προκαλέσουν ελαφρύ στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), το οποίο στη συνέχεια ενεργοποιεί το UPR (Unfolded Protein Response). Το UPR είναι μια προσαρμοστική απόκριση που ενεργοποιείται όταν υπάρχει ήπιο οξειδωτικό στρες, βοηθώντας στη διατήρηση και επιβίωση των κυττάρων. Λειτουργεί για να μειώσει τη συσσώρευση των κακώς διπλωμένων πρωτεϊνών, αυξάνοντας την ικανότητα δίπλωσης των κακώς διπλωμένων πρωτεϊνών και ενισχύοντας τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς του κυττάρου. Επιπλέον, συμμετέχουν στην ρύθμιση φλεγμονωδών αντιδράσεων μέσω της ενεργοποίησης των φλεγμονωδών κυτοκινών και ενζύμων. (Hetz & Papa, 2018)

2.3. Οξειδωτικό στρες

2.3.1. Ορισμός

Το οξειδωτικό στρες είναι μία κατάσταση που προκύπτει όταν υπάρχει ανισορροπία μεταξύ της παραγωγής ελεύθερων ριζών και της ικανότητας του οργανισμού να εξουδετερώνει ή να επιδιορθώνει τη ζημιά που προκαλούν αυτές οι ρίζες με τη βοήθεια αντιοξειδωτικών. Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια που παράγονται κατά τη διάρκεια των φυσιολογικών μεταβολικών διαδικασιών, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αλλά μπορούν να προκληθούν και από εξωτερικούς παράγοντες, όπως η ακτινοβολία, η μόλυνση του περιβάλλοντος, και το κάπνισμα.

2.3.2. Εξωγενείς πηγές ROS

Η παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου μπορεί να διεγερθεί και από εξωτερικούς παράγοντες, οι οποίοι συμβάλλουν στην αύξηση του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό. Ένας από τους κύριους παράγοντες είναι η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) από τον ήλιο, η οποία μπορεί να προκαλέσει βλάβες στο δέρμα και τους ιστούς. Η UV ακτινοβολία, κυρίως UVB, προκαλεί φωτοχημικές αντιδράσεις στα κύτταρα. Όταν τα φωτόνια της UV ακτινοβολίας απορροφώνται από το δέρμα, προκαλούν διέγερση μορίων οξυγόνου και παραγωγή μονηρών και τριπλέτων οξυγόνου, τα οποία αντιδρούν για να δημιουργήσουν υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-) και υδροξυλορίζες ($\cdot OH$) μέσω αντιδράσεων που περιλαμβάνουν φωτοοξείδωση (Jager, et al., 2017). Επίσης η ατμοσφαιρική ρύπανση μπορεί να οδηγήσει σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες ενεργοποιώντας έτσι φλεγμονώδεις αποκρίσεις στα κύτταρα. Το όζον (O_3), αντιδρά άμεσα με λιπίδια και πρωτεΐνες στην επιφάνεια των κυττάρων, προκαλώντας λιπιδική οξείδωση. Παρομοίως, τα οξείδια του αζώτου και άλλα σωματίδια από την ατμοσφαιρική ρύπανση παράγουν νιτροοξειδωτικά είδη (όπως το υπεροξειδονιτρίδιο), που συμβάλλουν στην οξειδωτική βλάβη των κυττάρων.

Πέρα από παράγοντες του περιβάλλοντος κρίσιμο ρόλο στην υγεία του ανθρώπινου σώματος διαδραματίζει και η καθημερινότητα και ο τρόπος ζωής. Το κάπνισμα, είτε ενεργητικό είτε παθητικό, είναι μια εξαιρετικά ισχυρή πηγή ROS, καθώς ο καπνός περιέχει πολλές ελεύθερες ρίζες και προ-οξειδωτικές ουσίες, οι οποίες αντιδρούν με το οξυγόνο στον οργανισμό και ενεργοποιούν ένζυμα, όπως η NADPH οξειδάση, τα οποία παράγουν ROS. Προφανώς, οι τοξικές ουσίες που απελευθερώνει, επηρεάζουν δυσμενώς την υγεία των πνευμόνων και του καρδιαγγειακού συστήματος. Ακόμα έρευνες έχουν αποδείξει σχέση μεταξύ της χαμηλής ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC – Total Antioxidant Capacity) στο γρααφιανό ωοθυλάκιο και το κάπνισμα με επακόλουθες επιπτώσεις στη γονιμότητα (Paszkowski, et al., 2002) (Paszkowski, et al.,

1995). Επιπλέον, η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ οδηγεί σε μεταβολικές αντιδράσεις στο ήπαρ. Η μεταβολική αποδόμηση του αλκοόλ στο ήπαρ γίνεται μέσω του ενζύμου αλκοολική αφυδρογονάση, που μετατρέπει το αλκοόλ σε ακεταλδεΐδη. Η ακεταλδεΐδη προκαλεί την παραγωγή ROS, ενώ η επακόλουθη μεταβολική διαδικασία (μέσω της κυτοχρωμικής P450 οδού) δημιουργεί υπεροξειδίου του υδρογόνου και άλλες ελεύθερες ρίζες. Έτσι η οξειδωτική βλάβη στα κύτταρα του ήπατος και του οργανισμού μπορεί να είναι αναπόφευκτη. Η κατανάλωση ανθυγιεινών τροφών, όπως αυτά που είναι πλούσια σε trans λιπαρά και τηγανισμένα προϊόντα, προκαλεί τη δημιουργία ROS, ως παραπροϊόντα της μεταβολικής επεξεργασίας των τροφών αυτών κατά τη διάρκεια της πέψης, ιδιαίτερα λόγω της οξείδωσης των κυτταρικών λιπιδίων (Bhattacharyya, et al., 2014).

Ακόμη, η χρήση ορισμένων φαρμάκων, όπως τα αντικαρκινικά και τα αντιβιοτικά, έχει συνδεθεί με την παραγωγή ROS. Τα αντικαρκινικά φάρμακα, όπως η δοξορουβικίνη, προκαλούν ROS μέσω διαταραχής της μιτοχονδριακής λειτουργίας και αναστολής του κύκλου Krebs, ενώ ορισμένα αντιβιοτικά, όπως οι κινολόνες, προκαλούν ROS μέσω διαταραχής της δράσης της DNA τοποϊσομεράσης στα βακτηριακά κύτταρα. Τα εντομοκτόνα και οι διαλύτες περιέχουν χημικές ουσίες που προκαλούν οξειδωτική βλάβη μέσω της ενεργοποίησης μιτοχονδριακών ενζύμων, όπως το κυτόχρωμα P450, και την απορρόφηση μοριακού οξυγόνου, παράγοντας ROS. Επιπλέον, προκαλούν διαταραχή στις αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, αυξάνοντας την διαρροή ηλεκτρονίων και την παραγωγή ανιόντων υπεροξειδίου (Bhattacharyya, et al., 2014) .

Τέλος, τον οργανισμό φαίνεται να επηρεάζει έμμεσα και το ψυχολογικό στρες. Το ψυχολογικό στρες προκαλεί την έκκριση κατεχολαμινών (όπως η αδρεναλίνη και η νορεπινεφρίνη), οι οποίες επηρεάζουν τον μεταβολισμό μέσω της αύξησης της δραστηριότητας ενζύμων, όπως η NADPH οξειδάση, που παράγουν ROS. Ταυτόχρονα, το στρες αυξάνει τα επίπεδα κορτιζόλης, η οποία μπορεί να ενεργοποιήσει οδούς φλεγμονής που προκαλούν περαιτέρω παραγωγή ROS. (Zhang, et al., 2023)

2.3.3. Επιπτώσεις του Οξειδωτικού Στρες στα Κύτταρα

Η υπερβολική παραγωγή ROS μπορεί να υπερβεί τις ικανότητες των κυτταρικών αμυντικών μηχανισμών, οδηγώντας σε οξειδωτικό στρες. Η ανισορροπία μεταξύ των ROS και των αντιοξειδωτικών μηχανισμών στο σώμα μας μπορεί να διαταράξει σημαντικές φυσιολογικές διεργασίες και να προκαλέσουν βλάβες στα κύτταρα και σε βασικά κυτταρικά συστατικά (υδατάνθρακες, λιπίδια, πρωτεΐνες και DNA) συμβάλλοντας σε διάφορες ασθένειες όπως ο

καρκίνος, ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η αθηροσκλήρωση, η αρτηριακή υπέρταση, οι φλεγμονώδεις ασθένειες και οι νευροεκφυλιστικοί νόσοι (Dalle-Donne, et al., 2006).

Βλάβη στην Πλασματική Μembrάνη

Οι ROS προκαλούν οξειδωτική βλάβη στα λιπίδια της πλασματικής μεμβράνης μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται λιπιδική υπεροξειδωση. Στην λιπιδική υπεροξειδωση, οι ελεύθερες ρίζες επιτίθενται στα ακόρεστα λιπαρά οξέα των φωσφολιπιδίων, προκαλώντας τη δημιουργία υδροπεροξειδίων. Αυτά τα προϊόντα της λιπιδικής υπεροξειδωσης διαταράσσουν τη δομή της μεμβράνης, αυξάνοντας τη διαπερατότητά της, προκαλώντας απώλεια ιόντων και άλλων μορίων, και τελικά οδηγώντας σε κυτταρική λυσιμότητα (διάλυση της κυτταρικής μεμβράνης) .

Βλάβη σε Πρωτεΐνες

Το οξειδωτικό στρες προκαλεί βλάβη στις πρωτεΐνες μέσω αντιδραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS), που οδηγούν σε αποσπάσεις ατόμων υδρογόνου από την πολυπεπτιδική αλυσίδα, σχηματίζοντας ρίζες άνθρακα ($R\bullet$) και υπεροξυλικές ρίζες ($ROO\bullet$). Οι μεταλλοκαταλυόμενες οξειδώσεις, μέσω ιόντων σιδήρου (Fe) και χαλκού (Cu), δημιουργούν υδροξυλικές ρίζες ($\bullet OH$) που επιτίθενται στις πρωτεΐνες μέσω αντιδράσεων Fenton. Ειδικά αμινοξέα, όπως προλίνη, ιστιδίνη, αργινίνη, κυστεΐνη και μεθειονίνη, είναι ιδιαίτερα ευάλωτα, ενώ οξείδωση της κυστεΐνης και μεθειονίνης δημιουργεί δισουλφιδικούς δεσμούς και μεθειονίνη-σουλφοξείδιο, αντίστοιχα. Η δημιουργία καρβονυλικών ομάδων είναι ένδειξη οξείδωσης, ενώ η νιτροποίηση από $ONOO^-$ προκαλεί καταστροφή τυροσίνης και τρυπτοφάνης. Οι υδροξυλικές ρίζες μπορούν να καταστρέψουν πεπτιδικούς δεσμούς και να δημιουργήσουν ενδο- και διαπρωτεϊνικές διασταυρώσεις (cross-linking). Η οξείδωση συνδέεται με την αδυναμία κυττάρων να επισκευάσουν τις βλάβες και συσχετίζεται με ασθένειες και τη γήρανση, λόγω συσσώρευσης οξειδωμένων πρωτεϊνών και μείωσης της ικανότητας αποδόμησής τους (Valko, et al., 2006).

Βλάβη στο DNA

Οι ROS μπορούν να προσβάλλουν το DNA, προκαλώντας αλλοιώσεις στα νουκλεοτίδια, ρήξεις της αλυσίδας και διασταυρούμενες συνδέσεις μεταξύ του DNA και των πρωτεϊνών. Οι υδροξυλομάδες ($\bullet OH$) μπορούν να αντιδράσουν με τις βάσεις νουκλεοτιδίων. Η γουανίνη μπορεί να οξειδωθεί σε 8-οξογουανίνη, μια κοινή οξειδωτική αλλοίωση που μπορεί να οδηγήσει σε μεταλλάξεις αν δεν επισκευαστεί. Οι πυριμιδίνες (κυτοσίνη και θυμίνη) μπορούν επίσης να επηρεαστούν από την οξειδωτική βλάβη, στον σχηματισμό μεταλλαξιογόνων παραγώγων. Το υδροξύλιο μπορεί ακόμα να αποσπάσει ένα άτομο υδρογόνου από τη δεοξυριβόζη προκαλώντας θραύση της αλυσίδας του

DNA ή απώλεια βάσεις δημιουργώντας απουρινικές ή απυριμιδινικές θέσεις. (Valko, et al., 2006). Αυτές οι βλάβες στο DNA μπορεί να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις, που αν δεν διορθωθούν, μπορεί να προκαλέσουν κυτταρική δυσλειτουργία, καρκινογένεση ή ενεργοποίηση μηχανισμών απόπτωσης. Η βλάβη στο DNA θεωρείται σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στη διαδικασία της γήρανσης και στην ανάπτυξη καρκίνου.

Βλάβη σε Νευρώνες

Οι νευρώνες είναι ιδιαίτερα ευάλωτοι στην οξειδωτική βλάβη λόγω του υψηλού μεταβολικού τους ρυθμού και της αυξημένης παραγωγής ROS στα μιτοχόνδρια τους. Η βλάβη στα λιπίδια της μεμβράνης, στις πρωτεΐνες και στο DNA μπορεί να διαταράξει τη νευρωνική λειτουργία, προκαλώντας νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως η νόσος του Alzheimer, η νόσος του Parkinson και η αμυατροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS). Οι ROS μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη σύνθεση και την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, καθώς και τη μετάδοση των σημάτων μεταξύ των νευρώνων (Zhou, et al., 2022) (Biswas, et al., 2022)

Πρόκληση Πρόωρης Απόπτωσης

Η συσσώρευση βλαβών από ROS μπορεί να ενεργοποιήσει διάφορους μηχανισμούς απόπτωσης (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος). Η βλάβη στο μιτοχόνδριο από τα H_2O_2 και O_2^- μπορεί να οδηγήσει σε απελευθέρωση του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα, ένα κρίσιμο βήμα για την έναρξη της απόπτωσης μέσω του εσωτερικού (μιτοχονδριακού) μονοπατιού. Το κυτόχρωμα c όταν βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα σχηματίζει το αποπτοσωματικό σύμπλεγμα μαζί με τον παράγοντα ενεργοποίησης της απόπτωσης 1 (Araf-1) και την προ-κασπάση 9, που ενεργοποιεί περαιτέρω τις κασπάσες, οδηγώντας στην απόπτωση. Οι ROS μπορούν επίσης να επηρεάσουν τα μόρια σηματοδότησης, όπως η πρωτεΐνη p53, που είναι γνωστή για τον ρόλο της στην απόκριση σε βλάβες του DNA και στην επαγωγή της απόπτωσης. Ακόμη, τα ROS δρουν στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) προκαλώντας την απελευθέρωση ασβεστίου (Ca) από αυτό, ώστε αυξάνεται η πρόσληψή του στα μιτοχόνδρια. Αυξημένη συγκέντρωση Ca στα μιτοχόνδρια οδηγεί σε άνοιγμα του πόρου διαπερατότητας (MPTP) προκαλώντας απελευθέρωση του κυτοχρώματος c και ενεργοποίηση της απόπτωσης. Μπορούν, επίσης, να οξειδώσουν τις πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-2, απενεργοποιώντας έτσι τις αντι-αποπρωτικές πρωτεΐνες (Redza-Dutordoir & Averill-Bates, 2016) (Valko, et al., 2006).

Συνολικά, οι αντιδραστικές μορφές οξυγόνου έχουν την ικανότητα να προκαλούν εκτεταμένη κυτταρική βλάβη που μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρική δυσλειτουργία, ασθένειες, και τελικά πρόωρο κυτταρικό θάνατο μέσω απόπτωσης.

2.4 Αντιοξειδωτικοί Μηχανισμοί

Το ανθρώπινο σώμα έχει αναπτύξει ποικίλους μηχανισμούς για την εξουδετέρωση των τοξικών παραγώγων του οξυγόνου, ώστε να προστατεύσει τον οργανισμό από πιθανή οξειδωτική βλάβη και για να μπορεί να διατηρηθεί η κυτταρική ομοιόσταση. Αντιοξειδωτικές ουσίες μπορούν να παραχθούν από τον οργανισμό ή να ληφθούν από την τροφή.

Πίνακας 2 Αντιοξειδωτικά (Kurutas, 2015)

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	
Ενζυματικά αντιοξειδωτικά	Μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά
Υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)	Γλουταθειόνη (GSH)
Καταλάση (CAT)	Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ)
Γλουταθειόνη υπεροξειδάση (GPx)	Βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη)
Γλουταθειόνη αναγωγάση (GR)	Καροτενοειδή
Θειορεδοξίνη (Trx)	Φλαβονοειδή
	Μελατονίνη
	N-ακετυλο-L-κυστεΐνη (NAC)
	α-λιποϊκό οξύ (1,2-διθειο-3-πεντανοϊκό οξύ)

Στα θηλαστικά, τα κύρια αντιοξειδωτικά ένζυμα περιλαμβάνουν την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), την καταλάση (CAT) και γλουταθειόνη υπεροξειδάση (GPx). Η SOD είναι ένα από τα πιο ισχυρά ενδοκυτταρικά αντιοξειδωτικά ένζυμα και καταλύει τη μετατροπή των υπεροξειδικών ανιόντων σε μοριακό οξυγόνο και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου απομακρύνεται από την καταλάση ή τις γλουταθειονικές υπεροξειδάσες. Η SOD υπάρχει σε διάφορες ισομορφές, οι οποίες διαφέρουν ως προς το ενεργό μέταλλο, τη σύνθεση αμινοξέων, τους συντελεστές και άλλα χαρακτηριστικά. Στους ανθρώπους υπάρχουν τρεις μορφές: η κυτταροπλασματική Cu, Zn-SOD, η μιτοχονδριακή Mn-SOD (μαγγανιούχος υπεροξειδική δισμουτάση) και η εξοκυτταρική SOD. Η καταλάση είναι το πρώτο αντιοξειδωτικό ένζυμο που χαρακτηρίστηκε. Καταλύει τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο και αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες με αιμικές ομάδες και NADPH. Οι GPx είναι ένζυμα που καταλύουν τη μείωση των υπεροξειδίων χρησιμοποιώντας γλουταθειόνη (GSH). Υπάρχουν δύο μορφές τους: η εξαρτώμενη από το σελήνιο (GPx) και η ανεξάρτητη από το σελήνιο (γλουταθειονική-S-μεταφοράση, GST). Οι γλουταθειονικές υπεροξειδάσες εξαρτώνται από το σελήνιο, οι οποίες υπάρχουν σε τέσσερις μορφές στους ανθρώπους, χρησιμοποιούν το σελήνιο για να μειώσουν τα υπεροξείδια σε νερό ή αλκοόλ ενώ οξειδώνονται οι GSH. Είναι κρίσιμες για την προστασία των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες, αφαιρώντας τα υπεροξείδια που αλλιώς θα μπορούσαν να προκαλέσουν βλάβη μέσω της αντίδρασης Fenton. Αυτά τα ένζυμα ανταγωνίζονται

με την καταλάση για το υπεροξειδίο του υδρογόνου και είναι βασικά στην άμυνα κατά των χαμηλών επιπέδων οξειδωτικού και νιτροσωτικού στρες (Kurutas, 2015).

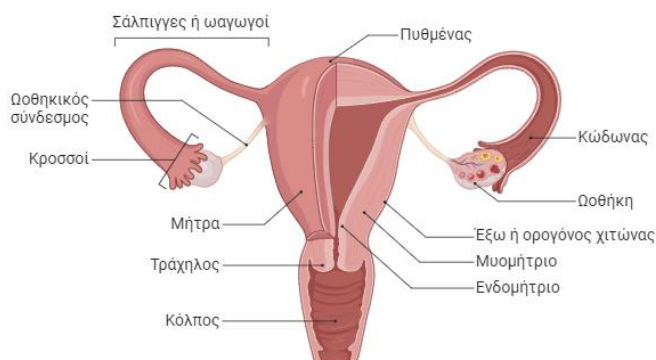
Αυτοί οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί φαίνεται να προσφέρουν τρεις γραμμές άμυνας κατά του οξειδωτικού στρες:

1. Πρόληψη: Αυτή η γραμμή άμυνας επικεντρώνεται στην αποτροπή της δημιουργίας ROS. Για παράδειγμα, η δέσμευση μετάλλων όπως ο σίδηρος (Fe^{2+}) και ο χαλκός (Cu^{2+}) αποτρέπει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις οξείδωσης, όπως την υπεροξείδωση των λιπιδίων και την καταστροφή του DNA.
2. Αποφυγή-Παρεμπόδιση: Οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν αλυσιδωτές αντιδράσεις, όπου μια ελεύθερη ρίζα αντιδρά με άλλες ενώσεις, δημιουργώντας περισσότερες ελεύθερες ρίζες. Ο στόχος είναι να σταματήσει αυτή η διαδικασία με τη δημιουργία μη ριζικών προϊόντων. Η βιταμίνη E, για παράδειγμα, εμποδίζει την αλυσιδωτή αντίδραση, αναστέλλοντας την υπεροξείδωση των λιπιδίων.
3. Επιδιόρθωση: Αν και πολλές βλάβες που προκαλούνται από ROS μπορούν να επιδιορθωθούν, τα σπερματοζώαρια δεν διαθέτουν τους απαραίτητους μηχανισμούς για επιδιόρθωση των βλαβών, καθιστώντας τα ιδιαίτερα ευαίσθητα στο οξειδωτικό στρες.

Η Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (Total Antioxidant Capacity - TAC) αποτελεί μέτρο της συνολικής δράσης όλων των αντιοξειδωτικών που υπάρχουν σε ένα δείγμα, όπως τα τρόφιμα, το αίμα ή άλλες βιολογικές ουσίες. Απεικονίζει την ικανότητα του δείγματος να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και τις αντιδραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), οι οποίες ευθύνονται για το οξειδωτικό στρες που μπορεί να προκαλέσει κυτταρικές βλάβες. Η TAC παρέχει μια γενική εκτίμηση της αποτελεσματικότητας του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος ενός οργανισμού, βοηθώντας στην αξιολόγηση της ικανότητάς του να αποτρέπει την οξειδωτική φθορά. Ως εκ τούτου, η TAC προσφέρει μια συνολική εικόνα της αντιοξειδωτικής ικανότητας του δείγματος, χωρίς να προσδιορίζει συγκεκριμένα τα μεμονωμένα αντιοξειδωτικά στοιχεία

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Το Γυναικείο Αναπαραγωγικό Σύστημα

3.1. Ανατομία και Λειτουργία του Γυναικείου Αναπαραγωγικού Συστήματος



Εικόνα 2 Η ανατομία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Created with BioRender.com

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα λειτουργεί μέσω της συντονισμένης δράσης ορμονών και δομών που επιτρέπουν την αναπαραγωγή, την εγκυμοσύνη, τον τοκετό και τη σεξουαλική λειτουργία. Αποτελείται από εξωτερικά και εσωτερικά γεννητικά όργανα. Εξωτερικά έχουμε το αιδοίο και εσωτερικά το ζεύγος των ωοθηκών και των σαλπίγγων ή ωαγωγών, τη μήτρα και τον κόλπο ή κολεό (βλ. Εικ.1, Πιν.2).

Πίνακας 3 Τα εσωτερικά γεννητικά όργανα

	ΔΟΜΗ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
Ωοθήκες	Μικρές αμυγδαλωτές δομές που βρίσκονται στην πύελο, μία στην κάθε πλευρά της μήτρας.	Παράγουν τα ωάρια και εκκρίνουν τις ορμόνες οιστρογόνα και προγεστερόνη. Κάθε ωοθήκη περιέχει χιλιάδες ωοθυλάκια, το καθένα από τα οποία περιέχει ένα ανώριμο ωάριο.
Σάλπιγγες	Στενές, σωληνοειδείς δομές που εκτείνονται από τις ωοθήκες προς τη μήτρα. Το ανοιχτό άκρο της σάλπιγγας καταλήγει σε δακτυλιοειδείς προεκβολές, τους κροσσούς.	Μεταφέρουν το ωάριο από την ωοθήκη στη μήτρα και είναι το σημείο όπου συχνά συμβαίνει η γονιμοποίηση από το σπέρμα.
Μήτρα	Ένα κοίλο, μυώδες όργανο σε σχήμα αχλαδιού. Στο κατώτερο μέρος της είναι ο τράχηλος που μέσω του ενδοτραχήλου επικοινωνεί με την κοιλότητα της μήτρας και του κολεού.	Υποδέχεται και φιλοξενεί το γονιμοποιημένο ωάριο, το οποίο αναπτύσσεται σε έμβρυο. Η εσωτερική επένδυση της μήτρας, το ενδομήτριο, αναπτύσσεται και αποβάλλεται κάθε μήνα κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου.
Κόλπος	Ελαστικός, μυώδης σωλήνας που εκτείνεται από τον τράχηλο προς το εξωτερικό του σώματος.	Λειτουργεί ως δίοδος για το αίμα της περιόδου, δέχεται το πέος κατά τη σεξουαλική επαφή και παρέχει το πέρασμα για το μωρό κατά τον τοκετό.

3.2. Ορμονικός Έλεγχος και Έμμηνος Κύκλος

Όλες οι λειτουργίες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος ελέγχονται από ένα περίπλοκο σύστημα ορμονών. Κύριος ρυθμιστής είναι ο υποθαλάμιος-υποφυσιακός άξονας, ο οποίος ελέγχει τον καταμήνιο κύκλο μέσω της γοναδοεκλυτίνης (GnRH, Gonadotropin Releasing Hormone) που εκλύεται από τον υποθάλαμο, των γοναδοτροπίνων (FSH, Follicle-Stimulating Hormone, ωοθυλακιότροπος ορμόνη και LH, Luteinizing Hormone, ωχρινοποιητική ορμόνη) από την πρόσθια υπόφυση, των οποίων η έκκριση διεγείρεται από την GnRH, και των ωοθηκικών ορμονών [οιστρογόνα, προγεστερόνη (ωχρίνη), ινχιμπίνη και AMH (αντι-μυλλέριος ορμόνη)]. Οι ωοθήκες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγική λειτουργία της γυναίκας. Σχηματίζονται από τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα, από μεσονεφρικές καταβολές και από περιοχή του περιτοναϊκού επιθηλίου. Η λειτουργία των ωοθηκών είναι περιορισμένη, δηλαδή αρχίζει με την ήβη και τελειώνει με την εμμηνόπαυση και η δράση τους είναι κυκλική, εκτός από την περίοδο της εγκυμοσύνης και της γαλουχίας. Οι ωοθήκες παράγουν ωάρια και ορμόνες.

Κάθε μήνα το γυναικείο σώμα προετοιμάζεται για μια πιθανή εγκυμοσύνη, η αποτυχία της οποίας εκδηλώνεται με την εμφάνιση της έμμηνου ρύσης. Κάθε φορά μία από τις δύο ωοθήκες και η μήτρα υφίστανται μια σειρά μεταβολών στη δομή και τη λειτουργία τους, με σκοπό την ωρίμανση ενός ωαρίου, ικανού για γονιμοποίηση, και ύστερα την εμφύτευση και ανάπτυξη του στην μήτρα. Οι διαδικασίες αυτές περιγράφουν τον εμμηνορρυσιακό κύκλο, ο οποίος διαρκεί κατά μέσο όρο 28 μέρες (φυσιολογικά μπορεί να διαρκέσει και από 24 έως 35 μέρες) και ξεκινάει από την πρώτη μέρα της έμμηνου ρύσεως. Η έμμηνα ή εμμηνορρυσία ή έμμηνος ρύση είναι μια περίοδος που κρατάει περίπου 3 με 7 μέρες κατά την οποία απορρίπτονται και αποβάλλονται επιφανειακά στρώματα του ενδομητρίου με αίμα και σηματοδοτεί την έναρξη του κύκλου. Οι αλλαγές που γίνονται στις ωοθήκες αφορούν τον ωοθηκικό κύκλο και αυτές που γίνονται την μήτρα τον μητριαίο κύκλο (Dee Unglaub Silverthorn, 2018) (Kierszenbaum & Tres, 2013) .

3.2.1. ΩΟΘΗΚΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Ο ωοθηκικός κύκλος περιλαμβάνει 3 φάσεις: την ωοθυλακική φάση ή ωοθυλακιόγένεση, την ωορρηξία και την ωχρινική φάση. Η ωοθυλακική φάση είναι το πρώτο στάδιο του εμμήνου κύκλου και ξεκινάει από την πρώτη μέρα της έμμηνας τελειώνοντας στην ωορρηξία. Σε έναν τυπικό κύκλο 28 ημερών η φάση αυτή διαρκεί περίπου 14 ημέρες και σε αυτό το χρονικό διάστημα οι ωοθήκες προετοιμάζονται για την απελευθέρωση ενός ώριμου ωαρίου για πιθανή γονιμοποίηση. Ξεκινάει με την απελευθέρωση της FSH από την υπόφυση, η οποία ορμόνη διεγείρει την ανάπτυξη πολλών ωοθυλακίων από τις ωοθήκες. Το ωοθυλάκιο περιέχει ένα ανώριμο ωάριο (πρωτογενές ωοκύτταρο) και περιβάλλεται από κοκκιώδη κύτταρα. Τα κοκκιώδη κύτταρα, καθώς το ωοθυλάκιο

αναπτύσσεται, παράγουν οιστρογόνα, τα επίπεδα των οποίων αυξάνονται σταδιακά μέχρι και την ωορρηξία. Καθώς η ωοθυλακική φάση προχωράει, ένα ωοθυλάκιο αναδεικνύεται ως «κυρίαρχο» και είναι αυτό που θα συνεχίσει να μεγαλώνει και να αναπτύσσεται από αρχέγονο σε πρωτογενές ωοθυλάκιο, έπειτα σε δευτερογενές ωοθυλάκιο και τέλος σε τριτογενές ή προωρρηκτικό ωοθυλάκιο (με άντρο) ή γρααφιανό ωοθυλάκιο. Τα υπόλοιπα αρχέγονα ωοθυλάκια απορροφώνται από τις ωοθήκες μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται ατρησία. Κατά την κορύφωση της ωοθυλακικής φάσης, τα υψηλά επίπεδα οιστρογόνων προκαλούν την εκκριτική αιχμή της LH από την υπόφυση, η οποία σηματοδοτεί το τέλος της ωοθυλακικής φάσης και την έναρξη της ωορρηξίας.

Η αιχμή της LH είναι καθοριστική για την ωορρηξία, καθώς προκαλεί την ρήξη του κυρίαρχου ωοθυλακίου και την απελευθέρωση του ώριμου ωαρίου με τα κοκκιώδη κύτταρα στην ωοθήκη. Η κορύφωση της LH διαρκεί περίπου 24- 36 ώρες και μέσα σε αυτό το χρονικό διάστημα το ωοθυλάκιο φουσκώνει και τελικά «σπάει» προκαλώντας την ωοθυλακιορρηξία. Το ωάριο περιβαλλόμενο από τα κοκκιώδη κύτταρα εισέρχεται στην σάλπιγγα μέσω της αλληλεπίδρασης των κροσσών, οι οποίοι δημιουργούν ρεύματα που βοηθούν στη μεταφορά του ωαρίου μέσα στη σάλπιγγα. Μόλις το ωάριο βρεθεί στη σάλπιγγα παραμένει βιώσιμο για περίπου 12 με 24 ώρες, κατά την διάρκεια των οποίων μπορεί να γονιμοποιηθεί αν συναντήσει σπέρμα. Εάν δεν συμβεί γονιμοποίηση εντός αυτού του χρονικού ορίου, το ωάριο αρχίζει να αποσυντίθεται και απορροφάται από το σώμα. Μετά την ωορρηξία, το ωοθυλάκιο που απελευθέρωσε το ωάριο περνάει στην ωχρινική φάση.

Η ωχρινική φάση είναι το δεύτερο στάδιο του ωοθηκικού κύκλου, ξεκινώντας αμέσως μετά την ωορρηξία και τελειώνοντας στην έναρξη της επόμενης έμμηνας. Το στάδιο αυτό περιλαμβάνει την ωχρινοποίηση, δηλαδή τον μετασχηματισμό του ωοθυλακίου που απελευθέρωσε το ωάριο σε μια δομή γνωστή ως ωχρό σωμάτιο ή corpus luteum. Το ωχρό σωμάτιο παράγει σε μεγάλες ποσότητες προγεστερόνη, ορμόνη η οποία έχει ουσιαστικό ρόλο στη διατήρηση του ενδομήτριου άρα και την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου, και σε μικρές ποσότητες οιστρογόνα. Αν το ωάριο γονιμοποιηθεί και εμφυτευθεί στο ενδομήτριο, το αναπτυσσόμενο έμβρυο θα αρχίσει να παράγει την ορμόνη ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG), η οποία θα διατηρήσει το ωχρό σωμάτιο, ώστε να συνεχίσει η παραγωγή της προγεστερόνης, μέχρι να αναπτυχθεί πλήρως ο πλακούντας. Αν δεν συμβεί γονιμοποίηση, τότε το ωχρό σωμάτιο αρχίζει να εκφυλίζεται περίπου 10 μέρες μετά την ωορρηξία και μετατρέπεται σε λευκό σωμάτιο, οδηγώντας σε μείωση των επιπέδων προγεστερόνης και οιστρογόνων. Έτσι, προκαλείται η απολέπιση του ενδομήτριου και η έναρξη της έμμηνου ρύσης ξεκινώντας ένα νέο έμμηνο κύκλο (Dee Unglaub Silverthorn, 2018) (Kierszenbaum & Tres, 2013).

3.2.2. ΜΗΤΡΙΑΙΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

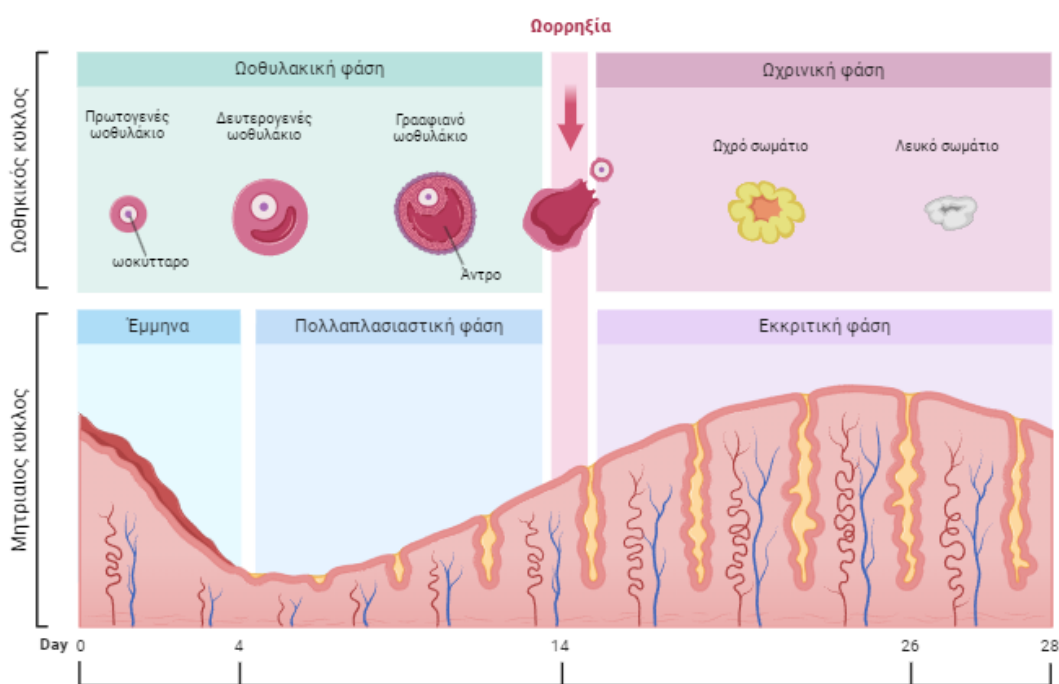
Η μήτρα αποτελείται από τρία βασικά στρώματα. Το εξωτερικό στρώμα είναι ένα λεπτό στρώμα συνδετικού ιστού που περιβάλλει την μήτρα, ο έξω ή ορογόνος χιτώνας, το μεσαίο στρώμα, ονομάζεται μυομήτριο και είναι το παχύτερο από τα τρία στρώματα, ενώ αποτελείται από λείες μυϊκές ίνες και τέλος το εσωτερικό στρώμα, γνωστό ως ενδομήτριο, είναι το βλεννογόνο στρώμα που επενδύει την κοιλότητα της μήτρας. Οι κυκλικές αλλαγές κατά τη διάρκεια του μητριάου κύκλου συμβαίνουν στο ενδομήτριο σε τρεις φάσεις: την έμμηνα, την πολλαπλασιαστική φάση και την εκκριτική φάση.

Η έμμηνα, όπως έχει αναφερθεί πολλές φορές προηγουμένως σημάνει το τέλος του προηγούμενου μηνιαίου κύκλου την έναρξη του νέου. Έχει οριστεί έτσι καθώς είναι το μόνο γεγονός που είναι εύκολα παρατηρήσιμο και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως σημείο αναφοράς για την παρακολούθηση των φάσεων του κύκλου. Κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσης η μήτρα αποβάλλει το στρώμα του ενδομητρίου, το οποίο έχει αναπτυχθεί κατά την ωχρινική φάση στον προηγούμενο κύκλο. Το αίμα και οι ιστοί που αποβάλλονται περνούν από τον τράχηλο της μήτρας και εξέρχονται από το σώμα μέσω του κόλπου. Η φάση αυτή διαρκεί συνήθως 3 έως 7 μέρες και αντιστοιχεί στο πρώτο μέρος της ωοθυλακικής φάσης του ωθητικού κύκλου.

Έπειτα από την έμμηνα ακολουθεί η πολλαπλασιαστική φάση, η οποία ανάλογα με τον ατομικό κύκλο έχει και διαφορετική διάρκεια. Τυπικά ξεκινάει την 5^η μέρα του κύκλου και τελειώνει την 14^η. Κατά τη διάρκεια της πολλαπλασιαστικής φάσης οι ωοθήκες αρχίζουν να παράγουν αυξανόμενες ποσότητες οιστρογόνων, κυρίως οιστραδιόλης, υπό την επίδραση της FSH. Τα οιστρογόνα έχουν πολλαπλές δράσεις, μία εκ των οποίων είναι η διέγερση της ανάπτυξης και της πάχυνσης του ενδομητρίου. Στην αρχή της φάσης, το ενδομήτριο είναι λεπτό και αποτελείται κυρίως από υπολειμματικά κύτταρα της προηγούμενης έμμηνου ρύσης και στη συνέχεια περνάει από διάφορα στάδια ανάπτυξης. Αρχικά, παρατηρείται αυξημένη κυτταρική διαίρεση στη βασική στιβάδα του ενδομητρίου, η οποία αποτελεί τη θεμέλια στιβάδα για την ανάκτηση του ιστού. Τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται, σχηματίζοντας ένα παχύτερο λειτουργικό στρώμα που θα υποδεχτεί το ζυγώτη. Ταυτόχρονα, οι αδένες του ενδομητρίου επιμηκύνονται και αποκτούν δαιδαλώδη μορφή, ενώ τα αιμοφόρα αγγεία αυξάνονται σε αριθμό και μήκος, προκειμένου να υποστηρίξουν την αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα του ιστού. Η πολλαπλασιαστική φάση κορυφώνεται με την ωορρηξία, η οποία συμβαίνει συνήθως την 14^η μέρα του κύκλου και αυτό το γεγονός σηματοδοτεί τη μετάβαση από την πολλαπλασιαστική φάση στην εκκριτική φάση -και την ωχρινική φάση- του έμμηνου κύκλου.

Μετά την ωορρηξία το τελικό στάδιο του μητριάου κύκλου είναι η εκκριτική φάση και χαρακτηρίζεται από την προετοιμασία του ενδομητρίου για την εμφύτευση του ζυγώτη και την υποστήριξη της πρώιμης ανάπτυξης του εμβρύου. Η φάση αυτή αντιστοιχεί με την ωχρινική φάση

του ωοθηκικού κύκλου, όπου παράγονται μεγάλες ποσότητες προγεστερόνης, καθώς και οιστρογόνων. Υπό την επίδραση της προγεστερόνης το ενδομήτριο συνεχίζει να παχύνει γίνεται πιο πυκνό, ενώ οι αδένες του αρχίζουν να παράγουν και να εκκρίνουν γλυκογόνο, πρωτεΐνες και άλλα θρεπτικά συστατικά, ώστε να δημιουργηθεί ένα περιβάλλον κατάλληλο για την ανάπτυξη του εμβρύου. Η δράση της προγεστερόνης οδηγεί επίσης σε σταθεροποίηση του ενδομητρίου, μειώνοντας τη συστατικότητα του μυομητρίου. Η φάση τελειώνει όταν, αφού δεν γίνει γονιμοποίηση, το ωχρο σωματίο εκφυλίζεται και προκαλείται πτώση της παραγωγής προγεστερόνης και οιστρογόνων. Άρα το ενδομήτριο οδηγείται σε αποσύνθεση και ξεκινάει η επόμενη έμμηνα (Mescher, 2015) (Dee Unglaub Silverthorn, 2018) (Χρυσικόπουλος, 2002) .



Εικόνα 3 Σχηματική απεικόνιση του ωοθηκικού και μητριάιου κύκλου. Created with Biorender.com

3.2.3. Οι ορμόνες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος

Όπως αναφέρθηκε οι ορμόνες που ρυθμίζουν τη λειτουργία των γεννητικών οργάνων και λαμβάνουν μέρος στον εμμηνορρυσιακό κύκλο εκκρίνονται από τις ωοθήκες, την υπόφυση και τον υποθάλαμο. Οι ωοθήκες παράγουν στεροειδείς ορμόνες, οι οποίες ανήκουν στην κατηγορία των στερόλων. Άλλα όργανα που παράγουν στεροειδείς ορμόνες είναι ο φλοιός των επινεφριδίων και ο πλακούντας. Η πρόσθια υπόφυση, η οποία βρίσκεται στη βάση του εγκεφάλου, εκκρίνει διάφορες ορμόνες που ελέγχονται από τον υποθάλαμο.

Όταν η κοπέλα φτάσει στην εφηβεία, στις ωθήκες το αρχέγονο ωοθυλάκιο αρχίζει να αναπτύσσεται, έπειτα από επίδραση τοπικών χημικών σημάτων και ανδρογόνων. Οι ανδρογόνες ορμόνες εκκρίνονται από τις ωθήκες και τα επινεφρίδια και είναι οι ουσίες που προκαλούν ανδρικά χαρακτηριστικά, όπως η τεστοστερόνη και η ανδροστενδιόνη. Τα ανδρογόνα εκκρίνονται φυσιολογικά στις γυναίκες σε ελάχιστες ποσότητες, ενώ η αύξησή των επιπέδων τους μπορεί να σχετίζεται με παθολογικές καταστάσεις, όπως το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (ΣΠΩ). Οι ορμόνες που φαίνεται να διαδραματίζουν τον μεγαλύτερο ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας των γεννητικών οργάνων τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες είναι γοναδοτροπίνες, FSH και LH. Η έκκριση των δύο ορμονών διεγείρεται από την GnRH. Η FSH είναι η κύρια ορμόνη της ωοθυλακικής φάσης και μαζί με την LH διεγείρουν την μετατροπή του αρχέγονου ωοθυλακίου σε γραφιανό ωοθυλάκιο. Η LH, ακόμη, διεγείρει την μετατροπή της χοληστερόλης σε ανδρογόνα στα θηκικά κύτταρα του ωοθυλακίου και έπειτα, όταν αυτά μεταφερθούν στα κοκκίωδη κύτταρα, με τη δράση της FSH, μετατρέπονται σε οιστρογόνα.

Στη συνέχεια, η αυξημένη έκκριση των οιστρογόνων από το ωοθυλάκιο αναστέλλει την δράση της GnRH, άρα και των FSH και LH και κατ' επέκταση των οιστρογόνων. Ωστόσο, στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης παρατηρείται και πάλι αύξηση των οιστρογόνων που διεγείρει την GnRH για την έκκριση υψηλών επιπέδων LH, γεγονός που οδηγεί στην ωοθυλακιορρηξία. Παράλληλα, η έκκριση της FSH αναστέλλεται λόγω της έκκρισης της ινχιμπίνης Β από το γραφιανό ωοθυλάκιο. Λίγο πριν την ωοθυλακιορρηξία από τα κύτταρα του ωοθυλακίου που θα μετατραπούν σε ωχρό σωματίο αρχίζει να παράγεται η προγεστερόνη. Αυτή η ορμόνη παίζει σημαντικό ρόλο στον μητριαίο κύκλο και ειδικότερα στην προετοιμασία του ενδομητρίου για την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου και τη διατήρηση της εγκυμοσύνης στα αρχικά στάδια. Εάν δεν υπάρχει αρκετή προγεστερόνη, μπορεί να μην επιτευχθεί η εμφύτευση ή να αποτύχει η εγκυμοσύνη λόγω ανεπάρκειας της ωχρινικής φάσης.

Άλλες ορμόνες που αξίζει να αναφερθούν είναι η οιστραδιόλη και η προλακτίνη. Η οιστραδιόλη είναι ένα από τα τρία βασικά οιστρογόνα και θεωρείται το πιο ισχυρό. Παράγεται από τις ωθήκες και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του ενδομητρίου. Η δράση της περιλαμβάνει την καταστολή της παραγωγής της FSH και την διέγερση της παραγωγής της LH, και τα επίπεδά της χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της λειτουργίας των ωοθηκών. Η προλακτίνη είναι μια ορμόνη που παράγεται από τα λακτοτρόπα κύτταρα της υπόφυσης. Η κύρια λειτουργία της είναι η παραγωγή γάλακτος μετά τον τοκετό. Ωστόσο, η προλακτίνη (PRL) επηρεάζει και την ανάπτυξη των ωοθυλακίων κατά τον γεννητικό κύκλο. Αυξημένα επίπεδα προλακτίνης μπορεί να οδηγήσουν σε υπερπρολακτιναιμία, η οποία επηρεάζει την αναπαραγωγική λειτουργία και μπορεί να προκαλέσει υπογονιμότητα.

3.3. Το Ωοθυλάκιο και ο Ρόλος του

Το ωοθυλάκιο είναι η βασική λειτουργική και ρυθμιστική μονάδα της ωοθήκης και διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην αναπαραγωγή. Η ανάπτυξη και ωρίμανση του είναι ένας πολύπλοκος διαδικαστικός μηχανισμός που περιλαμβάνει πολλές φάσεις και ορμονικές αλλαγές. Τα ωοθυλάκια αποτελούνται από μια ή περισσότερες στιβάδες επιθηλιακών κυττάρων (κοκκιώδη και θυλακικά κύτταρα) που περιβάλλουν και υποστηρίζουν ένα ωοκύτταρο και βρίσκονται εντός ενός βασικού υμένα. Η ανάπτυξη και εξέλιξή τους σχετίζεται με την ηλικία. Ο σχηματισμός του ωοθυλακίου αρχίζει στο έμβρυο από τον τέταρτο μήνα της ανάπτυξής του και ο αριθμός του αυξάνεται με την μίτωση. Η εμβρυϊκή ωοθήκη περιέχει αμέτρητα ωογόνια (αρχέγονα ωοκύτταρα) σε ωοθυλάκια σε κατάσταση ηρεμίας (RF – Resting Follicle) μέχρι την ήβη, όπου λαμβάνουν σήμα να εισέλθουν στο στάδιο ανάπτυξης. Κατά τη γέννηση η ανθρώπινη ωοθήκη περιέχει περίπου 260.000 έως 472.000 RF που περιέχουν αρχέγονα ωοκύτταρα, και ο πληθυσμός τους σταδιακά μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας (Zhang, et al., 2006). Στο πρώτο στάδιο ανάπτυξης το ωογόνο εξελίσσεται σε πρωτογενές ωοκύτταρο, το οποίο περιβάλλεται από μία μονήρη στιβάδα κοκκιωδών κυττάρων και εξωτερικά από βασικό υμένα, σχηματίζοντας έτσι ένα αρχέγονο ωοθυλάκιο.

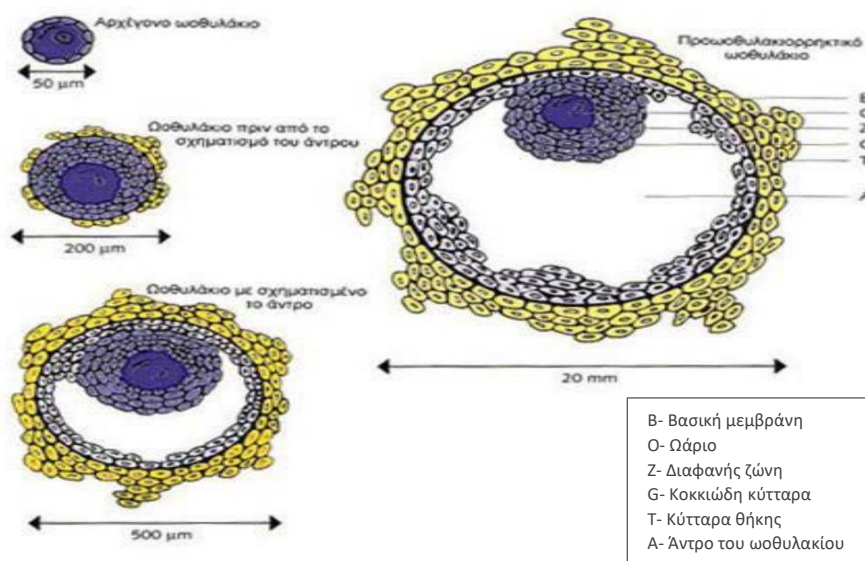
Κατά τη διάρκεια της ζωής του ωοκυττάρου, το ωοθυλάκιο περνάει από διάφορα αναπτυξιακά στάδια καθώς το ωοκύτταρο ωριμάζει και γίνεται ώριο. Από την έναρξη της εφηβείας, όταν απελευθερώνεται από την υπόφυση η ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH), και κάθε μήνα μέχρι την εμμηνόπαυση, μια ομάδα αρχέγονων ωοθυλακίων ξεκινάει την διαδικασία της ωοθυλακικής αύξησης. Από αυτά τα αρχέγονα ωοθυλάκια επιλέγεται μόνο ένα που θα συνεχίσει να εξελίσσεται, ενώ τα υπόλοιπα εκφυλίζονται μέσα σε μια χρονική περίοδο με την ατρησία, μια αποπτωτική διεργασία, που συνίσταται στην αδυναμία των ωοθηκικών ωοθυλακίων να ολοκληρώσουν την ωοθυλακιογένεση σε οποιοδήποτε στάδιο της ανάπτυξής τους. Το ωοκύτταρο και τα θηκικά κύτταρα πεθαίνουν και φαγοκυτταρώνονται από φαγοκύτταρα. Το «κυρίαρχο» αρχέγονο ωοθυλάκιο στην αρχική φάση της ωοθυλακιογένεσης εξελίσσεται σε πρωτογενές ωοθυλάκιο, με διάμετρο μεγαλύτερη των 60μm, όπου το ωοκύτταρο περιβάλλεται από μια στιβάδα κοκκιωδών κυττάρων τα οποία παράγουν ουσίες που θα δημιουργήσουν την διάφανη ζώνη.

Το δεύτερο στάδιο διαφοροποίησης περιλαμβάνει τα δευτερογενή ωοθυλάκια, τα οποία είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος (διάμετρος 120-600μm) αποτελούνται από περισσότερα υποστηρικτικά κύτταρα και αρχίζουν να εκκρίνουν ορμόνες. Γύρω από τα κοκκιώδη κύτταρα αναπτύσσονται δύο ζώνες, η έσω θήκη και η έξω θήκη που αποτελούνται από μία σειρά θυλακικών

θηκικών κυττάρων. Τα κοκκιώδη κύτταρα εκκρίνουν οιστρογόνα, ενώ τα θηκικά κύτταρα εκκρίνουν ανδρογόνα που μετατρέπονται σε οιστρογόνα, μέσω της αρωματάσης, από τα κοκκιώδη κύτταρα. Επιπλέον, ανάμεσα στα κοκκιώδη κύτταρα του δευτερογενούς ωοθυλακίου, εμφανίζονται χώροι (σωμάτια Call-Exner), που περιέχουν ωοθυλακικό υγρό. Η συνένωση αυτών των χώρων εκτοπίζει το ωάριο από το κέντρο του ωοθυλακίου στην περιφέρεια και οδηγεί στο σχηματισμό του άντρου του ώριμου ωοθυλακίου. Το δευτερογενές ωοθυλάκιο με τους μεσοκυττάριους χώρους ονομάζεται κυστιώδες ή προ-αντρικό ωοθυλάκιο. Τέλος, το δευτερογενές ωοθυλάκιο ωριμάζει και διαφοροποιείται σε γραφιανό ωοθυλάκιο, το οποίο φτάνει σε διάμετρο 20mm και είναι αυτό που θα οδηγηθεί σε ωορρηξία. Οι διεργασίες που χρειάζονται για να αναπτυχθεί ένα αρχέγονο ωοθυλάκιο σε γραφιανό γίνονται σε μια περίοδο άνω των 90 μερών (Mescher, 2015) (Χρυσικόπουλος, 2002).

Παράλληλα, όσο αναπτύσσεται το ωοθυλάκιο, το πρωτογενές ωοκύτταρο (παγωμένο στη μείωση I) μετατρέπεται σε δευτερογενές ωοκύτταρο και λίγο πριν την ωορρηξία αυτό παράγει τον παράγοντα προαγωγής της ωρίμανσης, που επάγει την ολοκλήρωση του πρώτου πολικού σωματίου. Πριν την ωορρηξία το ωάριο βρίσκεται στη μετάφαση της μείωσης II, η οποία θα ολοκληρωθεί μόνο αν γονιμοποιηθεί το ωάριο.

Το ωοθυλακικό υγρό (FF, Follicular Fluid) είναι ένα σύνθετο μείγμα ουσιών που διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο για το μικροπεριβάλλον του ωαρίου και των κοκκιωδών κυττάρων, καθώς αντανακλά τις ορμονικές και μεταβολικές διεργασίες που πραγματοποιούνται σε αυτό (Wiener-Megnazi, et al., 2004). Η σύσταση του FF περιλαμβάνει διάφορους μεταβολίτες, πρωτεΐνες, ορμόνες και άλλες βιοχημικές ουσίες που είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη των ωοθυλακίων και την ωρίμανση των ωαρίων (Fortune, 1994) Το FF εξυπηρετεί αρκετές κρίσιμες λειτουργίες στο ωοθυλάκιο. Παρέχει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά και ορμονικά σήματα για την ωρίμανση του ωαρίου, περιέχει ορμόνες, όπως η οιστραδιόλη και η ανδροστενδιόνη, που ρυθμίζουν την ανάπτυξη και την εξέλιξη των ωοθυλακίων, προστατεύει το ωάριο από μηχανικές βλάβες λειτουργώντας ως «μαξιλάρι» και, τέλος, διευκολύνει την επικοινωνία μεταξύ των δομών του ωοθυλακίου, επιτρέποντας την ανταλλαγή σημάτων μεταξύ του ωαρίου και των γύρω κοκκιωδών κυττάρων και εξασφαλίζοντας έτσι την σωστή ανάπτυξη του ωοθυλακίου (Fortune, 1994) (Leroy, et al., 2004). Επομένως το FF παίζει καθοριστικό ρόλο στην διαδικασία της αναπαραγωγής, αφού πέρα από το ότι παρέχει ένα περιβάλλον υγιές ευνοϊκό για την ωρίμανση του ωαρίου και εξασφαλίζει την ικανότητα του για γονιμοποίηση, επηρεάζει και τα πρώτα στάδια ανάπτυξης του ζυγώτη άρα και κατά συνέπεια του προκύπτοντος εμβρύου. Είναι λογικό, συνεπώς, να φροντίζουμε για τη σωστή σύσταση του, διότι οποιαδήποτε ανισορροπία ή αλλοίωση του FF μπορεί να έχει άμεσες και αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα του ωαρίου, τη διαδικασία της γονιμοποίησης και την ανάπτυξη του εμβρύου.



Εικόνα 4 Τα στάδια ωρίμανσης του ωοθυλακίου

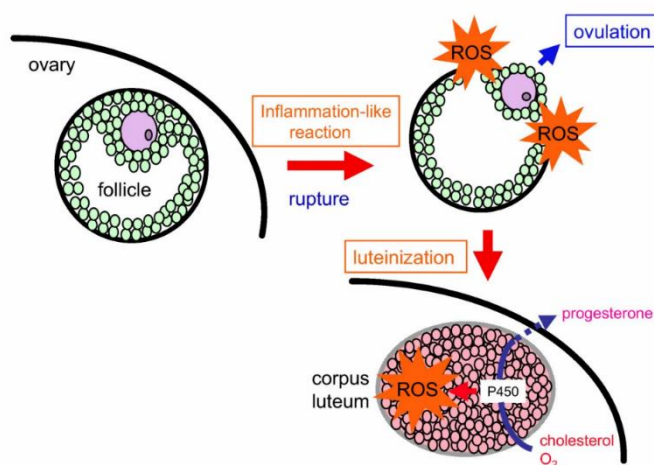
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Τα ROS στο Γυναικείο Αναπαραγωγικό Σύστημα

4.1. Ο ρόλος των ROS

Στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα οι ROS παράγονται κυρίως στα κύτταρα των ωοθυλακίων, τη σάλπιγγα, το ενδομήτριο και το περιτόναιο. Ο φυσιολογικός ρόλος τους εξακολουθεί να διερευνάται, αλλά φαίνεται να συμμετέχουν στις κυκλικές αλλαγές κατά τη διάρκεια του αναπαραγωγικού κύκλου της γυναίκας, όπως είναι η ωρίμανση των ωοθυλακίων, η ωοθυλακιογένεση, η λειτουργία του ωχρού σωματίου και η ωορρηξία (Jozwik, et al., 1999) (Sabatini, et al., 1999). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει τη σημαντικότητα των παραγώγων του οξυγόνου στη φυσιολογική λειτουργία των γεννητικών οργάνων, καθώς αυτά φαίνεται να λειτουργούν ως βασικά σηματοδοτικά μόρια σε μια ευρεία γκάμα διεργασιών που λαμβάνουν μέρος στο γυναικείο σώμα, από την ωρίμανση του ωαρίου έως την γονιμοποίηση, την εγκυμοσύνη και την ανάπτυξη του εμβρύου (Agarwal, et al., 2005).

Η παρουσία των ROS είναι σημαντική για τη φυσιολογική λειτουργία των ωοθηκών, καθώς έχει ανιχνευθεί η έκφραση διαφόρων βιοδεικτών οξειδωτικού στρες σε ωοθήκες που λειτουργούν κανονικά (Sabatini, et al., 1999). Τα ROS παράγονται τοπικά κατά τη ρήξη του ωοθυλακίου και θεωρείται ότι εμπλέκονται άμεσα στην ωορρηξία. Τα λευκοκύτταρα, που συγκεντρώνονται γύρω από τα προωορρηκτικά ωοθυλάκια, παράγουν υπεροξείδιο μέσω της δράσης των υποδοχέων της ωχρινोटρόπου ορμόνης (LH), ενώ τα ενδοθηλιακά κύτταρα των

αγγείων μπορούν να παράγουν υπεροξειδίο μέσω του ενζύμου ξανθινοξειδάση. Κατά τη διαδικασία της ωορρηξίας, η σύνθεση προσταγλανδινών, η παραγωγή κυτοκινών, και η αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα δημιουργούν μια φλεγμονώδη αντίδραση, στην οποία οι ROS φαίνεται να είναι μεσολαβητές (Εικόνα 3). Μετά από έγχυση ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (HCG), παρατηρείται αύξηση των ROS στις ωοθήκες, ιδιαίτερα των υπεροξειδικών ριζών ($O_2^{\cdot-}$), το οποίο καταλαμβάνει σημαντική θέση σε αυτή τη διαδικασία (Sugino, 2005).



Εικόνα 5 Η παραγωγή των ROS κατά την ωορρηξία και την στεροειδογένεση στο ωχρό σωματίο.

Ωστόσο, το $O_2^{\cdot-}$ μπορεί να βλάψει τα κύτταρα αν δεν απομακρυνθεί. Έτσι, φαίνεται να εκφράζεται σε διάφορα μέρη του αναπαραγωγικού συστήματος, όπως τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια, τα κοκκιώδη κύτταρα του γραφιανού ωοθυλακίου και στα αιμοφόρα αγγεία του ωχρού σωματίου, η SOD, η οποία έχει ανασταλτική σχέση με τα επίπεδα των υπεροξειδίων (Fujii, et al., 2005). Αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως η Mn-SOD και η Cu,Zn-SOD προστατεύουν τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες. Μελέτη, μάλιστα, αποδεικνύει ότι η έκφραση των ενζύμων Mn-SOD και Cu,Zn-SOD στα θηκικά κύτταρα και τα κοκκιώδη κύτταρα σε όλα τα στάδια του κύκλου, σχετίζεται με την στεροειδογένεση, ενώ η Mn-SOD φαίνεται ακόμη να έχει κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία υποχώρησης του ωχρού σωματίου (luteal regression), δηλαδή τη φάση κατά την οποία το ωχρό σωματίο σταματά να λειτουργεί και σταδιακά εκφυλίζεται (Suzuki, et al., 1999). Επίσης, φαίνεται ότι και το H_2O_2 μπορεί να πάρει τον ρόλο του διαμεσολαβητή στον εκφυλισμό του ωχρινικού σωματίου (Endo, et al., 1993). Τα ROS, ουσιαστικά, παράγονται από το ωχρό σωματίο μέσω της αντίδρασης μονοοξυγονάσης ως παραπροϊόν της σύνθεσης στεροειδών ορμονών (Fujii, et al., 2005). Επιπλέον, η Cu,Zn-SOD μπορεί να παίζει ρόλο στη σύνθεση της προγεστερόνης μέσω της δημιουργίας υπεροξειδίου του υδρογόνου, το οποίο ενισχύει τη δραστηριότητα ενζύμων όπως η 3β-HSD (3β-Hydroxysteroid dehydrogenase ή 3β-υδροξυστεροειδική αφυδρογονάση), που είναι

απαραίτητα για τη μετατροπή της προγεστερόνης σε προγεστερόνη (Sugino, 2005). Ακόμη, το οξειδωτικό στρες έχει σημαντικό αντίκτυπο στην παραγωγή στεροειδών ορμονών και ειδικά οιστραδιόλης E2 από τα κύτταρα της κοκκώδους στιβάδα (Appasamy, et al., 2007). Σε αντίθεση το H₂O₂ είναι ένας πολυδύναμος αναστολέας της σύνθεσης προγεστερόνης και οιστρογόνων σε κοκκώδη ωχρινικά κύτταρα (Endo, et al., 1993).

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, σε κάθε έμμηνο κύκλο, μια ομάδα ωοκυττάρων ξεκινά να αναπτύσσεται, αλλά μόνο ένα ωοκύτταρο, το κυρίαρχο, συνεχίζει τη μείωση I, γεγονός που ενισχύεται από την αύξηση των ROS και να αναστέλλεται από τα αντιοξειδωτικά. Σε αντίθεση, τα αντιοξειδωτικά υποστηρίζουν την εξέλιξη στη μειωτική φάση II, υποδεικνύοντας την πολύπλοκη σχέση μεταξύ ROS και αντιοξειδωτικών στην ωοθυλακική ανάπτυξη. Αν και τα ROS στα ωοθυλάκια προάγουν την απόπτωση, η γλουταθειόνη (GSH) και η ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH) δρουν ανασταλτικά σε αυτή τη διαδικασία, επιτρέποντας την ανάπτυξη των ωοθυλακίων (Shkolnik, et al., 2011). Έχει παρατηρηθεί ακόμη ότι στο ωοθυλακικό υγρό έχουν αναπτυχθεί προστατευτικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί για να περιοριστεί ο κίνδυνος βλαβών που προκαλούνται από τα ROS, διασφαλίζοντας έτσι την υγεία των γαμετών και την επιτυχή αναπαραγωγή (Jozwik, et al., 1999) (Pasqualotto, et al., 2004). Παρουσία αντιοξειδωτικών σε διάφορες φάσεις του ωοκυττάρου το προστατεύουν από οξειδωτικές βλάβες. Σε μεγάλα επίπεδα εκφράζεται η Cu, Zn-SOD στα GV και MII ωοκύτταρα ανθρώπου και ποντικίου, ενώ τα GPX σε MII ωοκύτταρα ανθρώπου και έμβρυα ποντικίου (Mouatassim, et al., 1999). Στον αρουραίο η ωχρινολυτική δράση της προσταγλαδίνης F2a συσχετίστηκε με τη δημιουργία H₂O₂ και υπεροξειδίων λιπιδίων (Shimamura, et al., 1995).

Επομένως, τα ROS έχουν διττό ρόλο στη λειτουργία του αναπαραγωγικού συστήματος. Ενώ είναι απαραίτητα σε κάποιο βαθμό σε βασικές διαδικασίες, η υπερπαραγωγή τους μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες, προκαλώντας βλάβες σε κυτταρικές δομές, όπως είναι το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια, βάζοντας σε κίνδυνο τη γονιμότητα. Κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ παραγωγής και εξουδετέρωσης των ROS έχουν οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί και ιδιαίτερα η SOD.

4.2 Επιπτώσεις και Παθολογία των ROS στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα

Η παρουσία οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών συστημάτων σε διάφορους αναπαραγωγικούς ιστούς έχει προκαλέσει ενδιαφέρον για τον ρόλο του οξειδωτικού στρες στις αναπαραγωγικές ασθένειες (Bedaiwy, et al., 2004). Ο αντίκτυπος των ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS) στην αναπαραγωγική ικανότητα των ανδρών αποτελεί θέμα εκτεταμένης έρευνας σε παγκόσμιο επίπεδο. Έχει αναφερθεί ευρέως ότι οι ROS εμφανίζονται στο σπέρμα και επηρεάζουν αρνητικά τη βιωσιμότητα και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε υπογονιμότητα (Agarwal, et al., 2003) (Bhattacharya, et al., 2014). Ωστόσο, παρά την πλούσια βιβλιογραφία για τις ROS στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, υπάρχει περιορισμένη πληροφόρηση για την ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων στο περιβάλλον του ωαρίου, ειδικά στο ωοθυλακικό υγρό (FF). Το FF παίζει καθοριστικό ρόλο στην ωρίμανση του ωαρίου και στην προετοιμασία του για τη γονιμοποίηση, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη για περισσότερη έρευνα γύρω από την αλληλεπίδραση ROS και αντιοξειδωτικών παραγόντων στο συγκεκριμένο περιβάλλον. Πολλές έρευνες έχουν αναδείξει ότι η αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS) μπορεί να συμβάλλει σε γενετικές ανωμαλίες και καταστάσεις όπως οι αποβολές. Υπάρχουν επίσης στοιχεία που υποδεικνύουν τον ρόλο των ROS στην ανάπτυξη της υπογονιμότητας και στις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, όπως η εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) (Borowiecka, et al., 2012).

Ως γυναικεία υπογονιμότητα ορίζεται η ανικανότητα σύλληψης μετά από 12 μήνες σεξουαλικής επαφής χωρίς μέτρο αντισύλληψης. Παθολογικές καταστάσεις του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος που σχετίζονται με την υπογονιμότητα είναι μεταξύ άλλων η υδροσάλπιγγα, η ενδομητρίωση, το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών και η ιδιοπαθής υπογονιμότητα. Αυτές οι καταστάσεις και η ανεύρεση της σχέσης τους με το οξειδωτικό στρες είναι αντικείμενο που απασχολεί τους επιστήμονες εδώ και πολλά χρόνια.

Υδροσάλπιγγες και Εμβρυοτοξικότητα

Η υδροσάλπιγγα αποτελεί μια πάθηση κατά την οποία οι σάλπιγγες γεμίζουν με υγρό και διογκώνονται, συνήθως λόγω απόφραξης. Το υγρό των υδροσάλπιγγων (HSF- hydrosalpinges fluid) μπορεί να είναι υγρό από φλεγμονή ή πύο, και συνήθως οφείλεται σε μόλυνση ή φλεγμονώδη αντίδραση, όπως σαλπινγίτιδα. Η απόφραξη εμποδίζει το υγρό να αποστραγγιστεί φυσιολογικά, με αποτέλεσμα να συσσωρεύεται καθιστώντας τη σάλπιγγα μη διαβατή, ώστε να εμποδίζεται η μετακίνηση του ωαρίου από την ωοθήκη προς τη μήτρα. Το HSF έχει αναγνωρισθεί για την εμβρυοτοξική του δράση, πιθανότατα λόγω του οξειδωτικού στρες. Σε μια μελέτη που

πραγματοποιήθηκε σε γυναίκες με υπογονιμότητα, ανιχνεύθηκαν υψηλά επίπεδα ROS στο 45% των δειγμάτων HSF, ενώ σε όλα τα δείγματα ανιχνεύθηκε λιπιδική υπεροξειδωση (LPO) (Agarwal, et al., 2003). Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η ανάπτυξη των εμβρύων μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του HSF, γεγονός που δείχνει την εμβρυοτοξική δράση του. Ωστόσο, μικρές ποσότητες ROS μπορεί να μην είναι βλαβερές και ενδέχεται να αντικατοπτρίζουν τη φυσιολογική λειτουργία των σαλπίνγων, ενώ η απουσία ROS μπορεί να υποδηλώνει σοβαρότερη βλάβη. Σε άλλη έρευνα (Jana, et al., 2010) υψηλά επίπεδα ROS και λιπιδικής υπεροξειδωσης με μειωμένη TAC συνδέονται με χαμηλής ποιότητας ωοκύτταρα σε ασθενείς με TFI (tubal factor infertility – παθολογική κατάσταση όπου φραγμός στη σάλπιγγα εμποδίζει τη συνάντηση του σπερματοζωαρίου και του ωοαρίου, ενώ και με τις δύο μελέτες συμφωνούν οι Bedaiwy, et al. σε κλινική δοκιμή που βέθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις ROS σε γυναίκες με υδροσάλπιγγα (Bedaiwy, et al., 2002). Όλες οι έρευνες φαίνεται να σχετίζονται με χαμηλό ποσοστό γονιμότητας και βλάβη στο DNA των εμβρύων.

Ενδομητρίωση

Η ενδομητρίωση είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από τη χρόνια φλεγμονή και την ανάπτυξη ιστού του ενδομητρίου εκτός της μήτρας. Επηρεάζει περίπου το 10-20% των γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία και θεωρείται σημαντικός παράγοντας υπογονιμότητας, υπεύθυνη για περίπου το 21-44% των περιπτώσεων υπογονιμότητας (Gurta, et al., 2009). Το μεγαλύτερο ποσοστό των γυναικών με ενδομητρίωση έχουν επίσης προβλήματα γονιμότητας. Ένας παράγοντας που έχει προταθεί για την αιτιοπαθογένεια της ενδομητρίωσης είναι η αναδρομική εμμηνόρροια. Ορισμένοι ερευνητές προτείνουν ότι η παρουσία μακροφάγων, σιδήρου ή περιβαλλοντικών ρύπων μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες. Ο σίδηρος από τα ερυθροκύτταρα μπορεί να επιταχύνει τη δημιουργία επιβλαβών ελεύθερων ριζών που προκαλούν βλάβες στους ιστούς (αντίδραση Haber-Weiss, παραγωγή $\cdot\text{OH}$). Επίσης, η φλεγμονώδης διαδικασία σχετίζεται με το OS και μπορεί να ενεργοποιήσει την ενδομητρίωση. Υψηλά επίπεδα μακροφάγων στην πυελική περιοχή παράγουν ελεύθερες ρίζες που συμβάλλουν στην υπεροξειδωση των λιπιδίων και την πρόκληση αντιγονικών αντιδράσεων (Gurta, et al., 2009). Σε μελέτες με γυναίκες που πάσχουν από ενδομητρίωση, παρατηρήθηκαν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης C στο ωοθυλακικό υγρό (FF) κατά 23.6% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P = 0.003$), υποδηλώνοντας μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα (Prieto, et al., 2012). Αντίθετα, τα επίπεδα βιταμίνης E στο πλάσμα ήταν 55.8% υψηλότερα ($P = 0.001$), κάτι που δείχνει ανασταλτική αντίδραση στην οξειδωτική πίεση. Η δραστηριότητα του ενζύμου SOD ήταν επίσης μειωμένη, αν και η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($P = 0.059$). Οι απόψεις, ωστόσο, δίστανται καθώς

σε διαφορετική έρευνα (Bedaiwy, et al., 2002) τα αποτελέσματα κρίνουν τις ROS ως ακατάλληλο προβλεπτικό βιοδείκτη για την ενδομητρίωση.

Ιδιοπαθής Υπογονιμότητα και Ρόλος Αντιοξειδωτικών

Η ιδιοπαθής υπογονιμότητα αναφέρεται στην αδυναμία σύλληψης μετά από 12 μήνες χωρίς προφανείς αιτίες, επηρεάζοντας το 15% των ζευγαριών. Ο μηχανισμός της είναι ασαφής, αλλά έχει προταθεί ότι μπορεί να σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Μελέτες έχουν δείξει υψηλότερες συγκεντρώσεις ROS και μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ιδιοπαθή υπογονιμότητα. Τα αυξημένα επίπεδα μαλονδιαλδεΐδης (MDA, malondialdehyde) και NO υποδεικνύουν βλάβες από οξείδωση λιπιδίων (Gupta, et al., 2009)

Το Σύνδρομο των Πολυκυστικών Ωοθηκών ΣΠΩ (PCOS – Polycystic Ovarian Syndrome)

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) είναι μια πάθηση που προκαλεί σοβαρές επιπλοκές στις γυναίκες. Περίπου μία στις 5–6 γυναίκες βιώνει σημαντικά προβλήματα με την υπογονιμότητα και την ακανόνιστη έμμηνου ρύση λόγω αυτού του συνδρόμου. Το PCOS είναι επίσης γνωστό ως Σκληροκυστικές Ωοθήκες, Πολυκυστικές Ωοθήκες ή Σύνδρομο Stein-Leventhal, που ονομάστηκε έτσι προς τιμήν των Αμερικανών γυναικολόγων Irving F. Stein Sr. και Michael L. Leventhal. Η σωστή λειτουργία των ορμονών είναι κρίσιμη για τη λειτουργία των ωοθηκών και τη ρύθμιση του εμμηνορροϊκού κύκλου, που είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της γονιμότητας. Όταν τα επίπεδα των ορμονών διαταράσσονται συνεχώς, η λειτουργία των ωοθηκών μπορεί να επηρεαστεί, οδηγώντας στον σχηματισμό κύστεων μέσα στις ωοθήκες. Επίσης, τα ανδρογόνα αυξάνονται πέρα από τα φυσιολογικά επίπεδα στις γυναίκες που πάσχουν από PCOS (Ajmal, et al., 2019). Η κατάσταση αυτή μπορεί να οφείλεται στον τρόπο ζωής, την ενδοκρinoπαθολογία και την έκφραση διάφορων γονιδίων, καθώς και, όπως έχουν προσπαθήσει διάφοροι ερευνητές να αποδείξουν, με καταστάσεις οξειδωτικού στρες. Μία μελέτη αξιολόγησε την επίδραση του οξειδωτικού στρες στο FF στη μορφοποίηση της μειωτικής ατράκτου (MS, Meiotic Spindle) σε ωάρια και τη σχετική επίδραση στο γονιμότητα γυναικών με PCOS (Chattopadhyay, et al., 2009). Υποδεικνύεται στην έρευνα, ότι οι γυναίκες με PCOS παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες, με υψηλότερα επίπεδα ROS και LPO και χαμηλότερα επίπεδα TAC σε σύγκριση με γυναίκες με σαλπινγκική υπογονιμότητα. Οι αυξημένες τιμές ROS και LPO σχετίζονται με χαμηλότερη ποιότητα των ωαρίων και μειωμένη γονιμότητα, ιδιαίτερα σε γυναίκες με PCOS που δεν εμφανίζουν MS. Το οξειδωτικό στρες φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη και τη γονιμοποίηση των ωαρίων σε γυναίκες με PCOS, υποδεικνύοντας την ανάγκη για στρατηγικές

διαχείρισης του οξειδωτικού στρες για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων της γονιμότητας σε αυτή την ομάδα γυναικών.

4.3. Το οξειδωτικό στρες στο ωοθυλακικό υγρό

Το περιβάλλον του ωοθυλακικού υγρού γύρω από τα ωάρια παίζει καθοριστικό ρόλο στη γονιμοποίηση και την ανάπτυξη του εμβρύου. Η σύνθεση του FF είναι πολύπλοκη και περιλαμβάνει μια ποικιλία ουσιών, όπως ορμόνες, πρωτεΐνες, γλυκοπρωτεΐνες, λιπίδια και αντιοξειδωτικούς παράγοντες, που υποστηρίζουν τη σωστή λειτουργία του ωαρίου. Επιπλέον, το FF λειτουργεί ως μέσο επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων του κοκκιδώδους και του ωαρίου, προάγοντας την ανάπτυξη του ωοκυττάρου. Η επίδραση των ROS στο FF έχει μελετηθεί εκτενώς, με τα αποτελέσματα να καταδεικνύουν πολύπλευρες επιπτώσεις στην αναπαραγωγική υγεία.

Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά του FF είναι η υψηλή περιεκτικότητα του σε λιπίδια, γεγονός που καθιστά το ωάριο ιδιαίτερα ευάλωτο στο οξειδωτικό στρες. Όπως έχουν δείξει μελέτες, η αυξημένη παρουσία ROS στο FF μπορεί να προκαλέσει οξείδωση των λιπιδίων της πλασματικής μεμβράνης του ωαρίου, με αποτέλεσμα τη δημιουργία τοξικών παραγώγων, όπως η μαλονδιαλδεΐδη (MDA), η οποία έχει συνδεθεί με τη λιπιδική υπεροξείδωση και τη βλάβη του DNA (Marnett, 1999). Σε έρευνα (Kutlu, et al., 2006) μετρήθηκαν τα επίπεδα της MDA στο FF σε γυναίκες που υποβλήθηκαν σε ART, ώστε να διερευνηθεί κατά πόσο μπορεί η MDA να αποτελέσει προβλεπτικός δείκτης για επιτυχημένη εξωσωματική γονιμοποίηση. Συγκρίνοντας με προηγούμενες έρευνες, τα αποτελέσματά τους συμφωνούν με την καταστροφική επίδραση του οξειδωτικού στρες στο ωοκύτταρο και κατ' επέκταση τη γονιμότητα της γυναίκας. Επίσης, αναφέρουν ότι λόγω της φύσης τους, τα ωοκύτταρα εφόσον διαθέτουν πλασματική μεμβράνη πλούσια σε λιπίδια, είναι επιρρεπή σε βλάβη από το οξειδωτικό στρες στο FF.

Σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις, τα ROS παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής σηματοδότησης και λειτουργίας, ιδιαίτερα στη ρύθμιση της ωρίμανσης των ωαρίων και την υποστήριξη των φυσιολογικών διαδικασιών στο αναπαραγωγικό σύστημα. Ωστόσο, όταν παράγονται σε υπερβολικές ποσότητες και δεν υπάρχει επαρκής αντιοξειδωτική προστασία, μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στα κύτταρα μέσω της οξείδωσης πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων, οδηγώντας σε κυτταρική δυσλειτουργία και απόπτωση. Σύμφωνα με έρευνα (Bedaiwy, et al., 2004) που μελετούσε την επίδραση του οξειδωτικού στρες στα αρχικά στάδια ανάπτυξης του εμβρύου βρέθηκε ότι υψηλά επίπεδα ROS φαίνεται να σχετίζονται με μειωμένο ποσοστό γονιμοποίησης και ανωμαλίες στην αυλάκωση. Η μειωτική ατράκτος μεταφασικών II (MII) ωοκυττάρων χάμστερ αταστρέφονται μετά από έκθεση σε διαμίδιο, ένα ισχυρό οξειδωτικό μόριο.

Αυτή η βλάβη μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις στη μειωτική λειτουργία του ωοκυττάρου και, συνεπώς, στην εμβρυϊκή ανευπλοειδία (Zuelke, et al., 1997).

Η διαδικασία της ωοθυλακιογένεσης, από την οποία εξαρτάται η ανάπτυξη και ωρίμανση των ωαρίων, είναι πολυπαραγοντική και επηρεάζεται από το επίπεδο του οξειδωτικού στρες στο ωοθυλακικό υγρό. Μια μελέτη από τον Attaran και τους συνεργάτες του εξέτασε την παρουσία ROS στο FF γυναικών που υποβάλλονταν σε εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) και τη σχέση τους με την επιτυχία της εγκυμοσύνης. Οι γυναίκες που έμειναν έγκυες παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ROS, ιδιαίτερα εκείνες με ενδομητρίωση ή παράγοντες ανδρικής υπογονιμότητας. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι χαμηλά επίπεδα ROS στο FF μπορεί να είναι ενδεικτικά για επιτυχημένη IVF. Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες ήταν πιο έντονο σε γυναίκες που κάπνιζαν, εξηγώντας την αρνητική επίδραση του καπνίσματος στη διαδικασία της ωοθυλακιογένεσης (Agarwal, et al., 2003).

Άλλη έρευνα που σχετίζει το κάπνισμα με την παραγωγή ελεύθερων ριζών και επιπτώσεις του στην γονιμότητα, μελετάει τη δραστηριότητα του ενζύμου GSHPx στο FF. Η έρευνα αφορούσε γυναίκες καπνιστές. Σε πολλές από τις γυναίκες αυτές που είχαν θέματα υπογονιμότητας μετρήθηκε χαμηλή TAC στο FF και μειωμένη δραστηριότητα του GSHPx (Paszkowski, et al., 1995). Το κάπνισμα είναι ένας από τους πιο σημαντικούς εξωγενείς παράγοντες που συμβάλλουν στην αύξηση του οξειδωτικού στρες και οι τοξικές ουσίες που περιέχονται στο τσιγάρο μπορούν να εντοπιστούν σε διάφορα μέρη του ανθρώπινου σώματος, προκαλώντας σοβαρά προβλήματα. Ένα από τα επηρεαζόμενα όργανα είναι το γραφιανό ωοθυλάκιο, το οποίο παίζει κρίσιμο ρόλο στην αναπαραγωγική διαδικασία. Σύμφωνα με την έρευνα του Paszkowski και συνεργατών του (2002), οι τοξίνες του καπνού μπορούν να επιδράσουν αρνητικά στο γραφιανό ωοθυλάκιο. Οι γυναίκες καπνίστριες που υποβάλλονταν σε εξωσωματική γονιμοποίηση παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες και μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα στο FF, με αποτέλεσμα να έχουν μικρότερες πιθανότητες επιτυχίας (Paszkowski, et al., 2002).

Άλλοι παράγοντες που αυξάνουν το οξειδωτικό στρες περιλαμβάνουν την ηλικία και τη γήρανση των ωοθηκών. Η γήρανση συνδέεται με τη συσσώρευση μεταλλάξεων στο μιτοχονδριακό DNA και τη μείωση της παραγωγής ATP, οδηγώντας σε μειωμένη λειτουργία των ωαρίων και αυξημένο οξειδωτικό στρες (Gurta, et al., 2009). Επιπλέον, η χαμηλή ανταπόκριση των ωοθηκών στη διέγερση κατά τη διάρκεια της εξωσωματικής γονιμοποίησης έχει επίσης συσχετιστεί με υψηλά επίπεδα ROS στο FF (Nuñez-Calonge, et al., 2016).

Επιπλέον, η έρευνα του Tamura και συνεργατών (2007) αναφέρει ότι το οξειδωτικό στρες (H₂O₂) έχει αρνητική επίδραση στην ωρίμανση του ωοκυττάρου, τονίζοντας τη σημασία της μείωσης της

οξειδωτικής βλάβης των ωκυττάρων για την επιτυχία της γονιμοποίησης και την πρόληψη χρωμοσωμικών ανωμαλιών στο έμβρυο (Tamura, et al., 2007). Παρόμοια ευρήματα καταγράφονται από άλλους επιστήμονες. Αυξημένα επίπεδα οξείδωσης λιπιδίων και πρωτεϊνών στο FF σχετίζονται με κακής ποιότητας ωκύτταρα και χαμηλό ποσοστό γονιμότητας (Borowiecka, et al., 2012). Οι Wiener-Megnazi και συνεργάτες (2004) επιβεβαιώνουν την αρνητική επίδραση της υπερπαραγωγής ROS στο FF και τη σημασία της διατήρησης των χαμηλών επιπέδων τους για την υγεία του αναπαραγωγικού συστήματος και την ανάπτυξη του ωκυττάρου (Wiener-Megnazi, et al., 2004). Βρέθηκε ακόμη ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί ακόμη να επάγει απόπτωση, καθώς και νέκρωση στα κύτταρα. Στην έρευνα προκλήθηκε οξειδωτικό στρες (H_2O_2) σε διαφορετικά επίπεδα στα RF (Resting Follicles) (Zhang, et al., 2006). Έντονο στρες προκάλεσε κυρίως νέκρωση στα κύτταρα καθώς και απόπτωση και σε ήπιο στρες προκλήθηκε κυρίως απόπτωση. Έτσι, καταδεικνύοντας την επίδραση του οξειδωτικού στρες στη κυτταρική θνησιμότητα.

Το οξειδωτικό στρες δεν επηρεάζει μόνο την ποιότητα των ωαρίων, αλλά έχει και άμεσες επιπτώσεις στην εμβρυϊκή ανάπτυξη. Αυξημένα επίπεδα ROS στα αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης έχουν συνδεθεί με ανωμαλίες στην αυλάκωση και με αυξημένα ποσοστά κατακερματισμού του εμβρύου (Yang, et al., 1998). Η έκθεση των εμβρύων σε υψηλές συγκεντρώσεις H_2O_2 έχει βρεθεί ότι προκαλεί κυτταροπλασματική συμπύκνωση και απόπτωση, ενώ η παρουσία αντιοξειδωτικών όπως η SOD και η καταλάση είναι κρίσιμη για την προστασία του εμβρύου από τις βλάβες που προκαλούνται από τα ROS.

Ο οργανισμός διαθέτει ενδογενείς μηχανισμούς για την εξουδετέρωση των ROS και την προστασία των κυττάρων από τις βλάβες του οξειδωτικού στρες. Στο FF, οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν ένζυμα όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η καταλάση και η γλουταθειόνη υπεροξειδάση (GSHPx), τα οποία είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση των ROS και την αποτροπή της βλάβης των ωαρίων (Li, et al., 1993). Μία από τις βασικές μετρήσεις που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του FF είναι η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC). Χαμηλή TAC έχει συνδεθεί με χαμηλή ποιότητα ωαρίων και μειωμένα ποσοστά επιτυχούς γονιμοποίησης, όπως επιβεβαιώνεται από τις έρευνες των Paszkowski και Clarke (1996), οι οποίες έδειξαν ότι τα έμβρυα χαμηλής ποιότητας είχαν επίσης χαμηλή TAC στο FF (Paszkowski & Clarke, 1996).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρουσία των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) στο ωοθυλακικό υγρό (FF) και η επίδρασή τους στη γονιμότητα αποτελούν ένα πεδίο έντονης επιστημονικής έρευνας. Παρόλο που δεν έχουν εξακριβωθεί τα φυσιολογικά επίπεδα ROS στο FF, είναι γνωστό ότι παίζουν διπλό ρόλο: ενώ σε φυσιολογικά επίπεδα συμβάλλουν στην ωοθυλακιογένεση και την ωρίμανση των ωαρίων, η υπερβολική παραγωγή τους μπορεί να έχει καταστροφικές συνέπειες για την ποιότητα των ωαρίων και τη γονιμότητα γενικότερα.

Παράλληλα, η έλλειψη επαρκών αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένα ποσοστά αποβολών, σύμφωνα με αρκετές μελέτες. Αν και η χορήγηση βιταμινών δεν έχει αποδειχθεί ότι παίζει αποφασιστικό ρόλο στην πρόληψη αποβολών, το οξειδωτικό στρες (OS) αναγνωρίζεται ως σημαντικός παράγοντας στην παθογένεια των επαναλαμβανόμενων αποβολών. Ειδικότερα, οι θεραπείες με αντιοξειδωτικά, όπως η βιταμίνη C και E, έχουν δείξει υποσχόμενα αποτελέσματα στη μείωση των επιπτώσεων του οξειδωτικού στρες σε πειραματικά μοντέλα ζώων, αλλά η αποτελεσματικότητα αυτών των θεραπειών στους ανθρώπους απαιτεί περαιτέρω έρευνα. Μέσα από αυτήν την προοπτική, στρατηγικές που περιλαμβάνουν τη χρήση ορμονικής θεραπείας (HRT) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η οποία φαίνεται να βελτιώνει τα επίπεδα αντιοξειδωτικών, και η κρυσυντήρηση ωαρίων για τη διατήρηση της γονιμότητας, αποτελούν ελπιδοφόρες μεθόδους διαχείρισης. Επιπλέον, η χρήση νιτρικού οξειδίου (NO) μπορεί να συμβάλει στην καθυστέρηση της γήρανσης των ωαρίων (Gurta, et al., 2009).

Οι καταστάσεις που συνδέονται με την ανισορροπία μεταξύ των ROS και των αντιοξειδωτικών μηχανισμών, όπως η υδροσάλπιγγα, η ενδομητρίωση, και το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, συχνά επηρεάζουν αρνητικά την αναπαραγωγική ικανότητα των γυναικών. Η παθολογική υπερβολή στην παραγωγή των ROS οδηγεί σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και κυτταρικές βλάβες, επιδεινώνοντας την εξέλιξη ασθενειών που σχετίζονται με την υπογονιμότητα, όπως η ενδομητρίωση και το ΣΠΩ. Παράλληλα, μελέτες υποδεικνύουν ότι η ιδιοπαθής υπογονιμότητα συνδέεται με αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες και μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για καλύτερη διαχείριση των επιπέδων ROS σε γυναίκες με αυτή την πάθηση. Η κατανόηση του ρόλου του οξειδωτικού στρες στο ωοθυλακικό υγρό και των μηχανισμών που το ρυθμίζουν είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών που θα βελτιώσουν τη γονιμότητα. Ενδεχομένως, οι προσεγγίσεις αυτές θα μπορούσαν να αυξήσουν τις πιθανότητες επιτυχούς εγκυμοσύνης, ενισχύοντας την υγεία των ωαρίων και τη βέλτιστη εμβρυϊκή ανάπτυξη.

Η ενίσχυση της έρευνας και των κλινικών μελετών στον τομέα του οξειδωτικού στρες και της αναπαραγωγικής υγείας είναι κρίσιμη για την κατανόηση των μηχανισμών που επηρεάζουν τη γονιμότητα. Παρόλο που υπάρχουν ενδείξεις για τη σχέση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων ROS και της υπογονιμότητας, οι κλινικές δοκιμές που διερευνούν αποτελεσματικές θεραπείες για τη ρύθμιση του οξειδωτικού στρες είναι περιορισμένες. Περαιτέρω έρευνες θα μπορούσαν να εμβαθύνουν στις επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες σε συγκεκριμένες παθολογίες, όπως η ενδομητρίωση και το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, και να αναπτύξουν νέες προσεγγίσεις για την πρόληψη και αντιμετώπισή του. Επιπλέον, οι κλινικές μελέτες μπορούν να βοηθήσουν στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφόρων αντιοξειδωτικών θεραπειών, ανοίγοντας τον δρόμο για την εφαρμογή εξατομικευμένων λύσεων που θα βελτιώνουν την αναπαραγωγική υγεία και θα αυξάνουν τις πιθανότητες επιτυχούς σύλληψης.

Τέλος, η προληπτική σημασία της αντιοξειδωτικής θεραπείας είναι ιδιαίτερα σημαντική για την προστασία της γονιμότητας, καθώς η χρήση αντιοξειδωτικών μπορεί να συμβάλλει στη μείωση του οξειδωτικού στρες και στην προστασία των ωαρίων από βλάβες. Παράλληλα, οι προοπτικές εξατομικευμένης θεραπείας, με βάση την ανάλυση των επιπέδων ROS και αντιοξειδωτικών στον οργανισμό, μπορούν να προσφέρουν στοχευμένες λύσεις που θα βελτιστοποιούν τις αναπαραγωγικές προοπτικές για κάθε γυναίκα. Η ανάπτυξη τέτοιων προσεγγίσεων μπορεί να οδηγήσει σε πιο αποτελεσματικές και εξατομικευμένες θεραπείες για την υπογονιμότητα.

Αναφορές

Agarwa, A., 2007. *Oxidative stress and its implications in female infertility – a clinician's perspective*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61174-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61174-1)

Agarwal, A., Gupta, S. & Sharma, R. K., 2005. *Role of oxidative stress in female reproduction*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: https://link.springer.com/article/10.1186/1477-7827-3-28?utm_source=getftr&utm_medium=getftr&utm_campaign=getftr_pilot

Agarwal, A., Saleh, R. A. & Bedaiwy, M. A., 2003. *Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)04948-8](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)04948-8)

Agarwal, A. και συν., 2017. *Oxidative Stress in Human Reproduction: Shedding Light on a Complicated Phenomenon*. s.l.:Springer.

Aitken, R. J., 2020. *Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-19-0452>

Appasamy, M., Jauniaux, E., Serhal, P. & Al-Qahtani, A., 2007. *Evaluation of the relationship between follicular fluid oxidative stress, ovarian hormones, and response to gonadotropin stimulation*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.04.034>

Babior, B. M., 2000. *Phagocytes and oxidative stress*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(00\)00481-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(00)00481-2)

Bedaiwy, M. A. και συν., 2004. *Differential growth of human embryos in vitro: Role of reactive oxygen species*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.02.121>

Bedaiwy, M. A. και συν., 2002. *Relationship between oxidative stress and embryotoxicity of hydrosalpingeal fluid*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/17.3.601>

Bedaiwy, M. και συν., 2002. *Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/17.2.426>

Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S. & Crowe, S. E., 2014. *Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: <https://doi.org/10.1152/physrev.00040.2012>

Biswas, K., Alexander, K. & Francis, M. M., 2022. *Reactive Oxygen Species: Angels and Demons in the Life of a Neuron*. [Ηλεκτρονικό]

Available at: <https://doi.org/10.3390/neurosci3010011>

- Blerkom, J., Antczak, M. & Schrader, R., 1997. *The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics..* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/12.5.1047>
- Borowiecka, M. και συν., 2012. *Oxidative stress markers in follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization and embryo transfer.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.3109/19396368.2012.701367>
- Cadenas, E. & Davies, K. J., 2000. *Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00317-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00317-8)
- Dalle-Donne, I. και συν., 2006. *Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.061408>
- Das, S. και συν., 2006. *Reactive oxygen species level in follicular fluid—embryo quality marker in IVF?.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/del156>
- Dee Unglaub Silverthorn, 2018. *Φυσιολογία του Ανθρώπου.* 8η έκδοση επιμ. s.l.:Broken Hill Publishers Ltd.
- Endo, T., Aten, R. F., Leykin, L. & Behrman, H. R., 1993. *Hydrogen peroxide evokes antisteroidogenic and antigonadotropic actions in human granulosa luteal cells.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1210/jcem.76.2.7679398>
- Fortune, J. E., 1994. *Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod50.2.225>
- Fujii, J., Iuchi, Y. & Okada, F., 2005. *Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-3-43>
- Gosden, R. G. και συν., 1988. *Physiological factors underlying the formation of ovarian follicular fluid.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0820813>
- Gupta, S. και συν., 2009. *Antioxidants and female reproductive pathologies.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.termedia.pl/Invited-review-Antioxidants-and-female-reproductive-pathologies,52,12577,1,1.html>
- Gupta, S. και συν., 2009. *Archives of Medical Science.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.termedia.pl/Invited-review-Antioxidants-and-female-reproductive-pathologies,52,12577,1,1.html>

- Hetz, C. & Papa, F. R., 2018. *The Unfolded Protein Response and Cell Fate Control*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.06.017>
- Jager, T., A.E.Cockrell & Plessis, S., 2017. *Ultraviolet Light Induced Generation of Reactive Oxygen Species*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5_2
- Jana, S. K. και συν., 2010. *Upper control limit of reactive oxygen species in follicular fluid beyond which viable embryo formation is not favorable*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.04.002>
- Jozwik, M., Wolczynski, S., Jozwik, M. & Szamatowicz, M., 1999. *Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1093/molehr/5.5.409>
- Kierszenbaum, A. L. & Tres, L. L., 2013. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 3η Έκδοση επιμ. s.l.:Broken Hills Publishers Ltd.
- Kirlin, W. G. και συν., 1999. *Glutathione Redox Potential in Response to Differentiation and Anzyme Inducers*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00145-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00145-8)
- Kurutas, E. B., 2015. *The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [10.1186/s12937-016-0186-5](https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5)
- Kutlu, T. και συν., 2006. *The Effects of Oxidative Stress on Outcomes of Assisted Reproductive Techniques*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10815-005-9010-4>
- Lee, J. και συν., 1999. *Yap1 and Skn7 Control Two Specialized Oxidative Stress Response Regulons in Yeast*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)72939-1/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)72939-1/fulltext)
- Leroy, J. και συν., 2004. *Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.12.017>
- Li, J., Foote, R. H. & Simkin, M., 1993. *Development of Rabbit Zygotes Cultured in Protein-Free Medium with Catalase, Taurine, or Superoxide Dismutase*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod49.1.33>
- Longo, L. D. & De Graaf, R., 1996. *De mulierum organis generationi inservientibus tractatus novus*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(96\)70467-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(96)70467-2)
- Marnett, L. J., 1999. *Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00010-X](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00010-X)

- Mescher, A. L., 2015. *Junqueira's Basic Histology*. 13η Έκδοση επιμ. s.l.:Broken Hill Publishers Ltd.
- Mittler, R. και συν., 2011. *ROS signaling: the new wave?*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.007>
- Mouatassim, S. E., Guérin, P. & Ménéz, Y., 1999. *Expression of genes encoding antioxidant enzymes in human and mouse oocytes during the final stages of maturation*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1093/molehr/5.8.720>
- Nuñez-Calonge, R. και συν., 2016. *Oxidative stress in follicular fluid of young women with low response compared with fertile oocyte donors*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(12\)00390-1/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(12)00390-1/fulltext)
- Pasqualotto, E. B. και συν., 2004. *Effect of oxidative stress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.11.021>
- Paszkowski, T. & Clarke, R., 1996. *Antioxidative capacity of preimplantation embryo culture medium declines following the incubation of poor quality embryos*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a019146>
- Paszkowski, T., Clarke, R. N. & Hornstein, M. D., 2002. *Smoking induces oxidative stress inside the Graafian follicle*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/17.4.921>
- Paszkowski, T., Traub, A., Robinson, S. & McMaster, D., 1995. *Selenium dependent glutathione peroxidase*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(95\)98130-9](https://doi.org/10.1016/0009-8981(95)98130-9)
- Prieto, L. και συν., 2012. *Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(12\)00390-1/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(12)00390-1/fulltext)
- Rashid, K., Sinha, K. & Sil, P. C., 2013. *An update on oxidative stress-mediated organ pathophysiology*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.09.026>
- Redza-Dutordoir, M. & Averill-Bates, D. A., 2016. *Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.012>
- Sabatini, L. και συν., 1999. *Superoxide dismutase activity in human follicular fluid after controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing in vitro fertilization*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(99\)00411-2](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00411-2)

- Shimamura, K. και συν., 1995. *Changes in lipid peroxide and antioxidant enzyme activities in corpora lutea during pseudopregnancy in rats*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1050253>
- Sugino, N., 2005. *Reactive oxygen species in ovarian physiology*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1447-0578.2005.00086.x>
- Suzuki, T. και συν., 1999. *Superoxide dismutase in normal cycling human ovaries: immunohistochemical localization and characterization*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(99\)00332-5](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00332-5)
- Tamura, H. και συν., 2007. *Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2007.00524.x>
- Valko, M. και συν., 2006. *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- Wiener-Megnazi, Z. και συν., 2004. *Oxidative stress indices in follicular fluid as measured by the thermochemiluminescence assay correlate with outcome parameters in in vitro fertilization*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.06.013>
- Yang, H. W. και συν., 1998. *Detection of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in human fragmented embryos*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1093/humrep/13.4.998>
- Zhang, C. και συν., 2023. *Oxidative stress on vessels at the maternal-fetal interface for female reproductive system disorders: Update*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1118121>
- Zhang, X. και συν., 2006. *Redox-Induced Apoptosis of Human Oocytes in Resting Follicles In Vitro*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: [10.1016/j.jsrg.2006.05.005](https://doi.org/10.1016/j.jsrg.2006.05.005)
- Zhang, X. και συν., 2006. *Redox-Induced Apoptosis of Human Oocytes in Resting Follicles In Vitro*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jsrg.2006.05.005>
- Zhou, Y., Zhen, Y., Wang, G. & Liu, B., 2022. *Deconvoluting the Complexity of Reactive Oxygen Species (ROS) in Neurodegenerative Diseases*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.3389/fnana.2022.910427>
- Zuelke, K. A., Jones, D. P. & Perreault, S. D., 1997. *Glutathione Oxidation is Associated with Altered Microtubule Function and Disrupted Fertilization in Mature Hamster Oocytes1*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod57.6.1413>

Χρυσικόπουλος, Α. Χ., 2002. *Υπογονιμότητα - Στείρωση Προβλήματα Αναπαραγωγής*.
s.l.:Broken Hill Publishers Ltd.

ΠΗΓΕΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 Created with BioRender.com	6
Εικόνα 2 Created with BioRender.com	15
Εικόνα 3 Created with Biorender.com	19
Εικόνα 4 https://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/450px/36.jpg	23
Εικόνα 5 Google search	24