

## **Infertilita u mužov: príčiny a možné riešenia**

*Mihálik J., Rybárová S., Kluchová D.*

Ústav anatómie, UPJŠ LF v Košiciach

### **Abstrakt**

Množstvo štúdií v posledných 15-20 rokoch potvrdzuje, že počet spermíí v semene mužov signifikantne klesá (1, 2, 3, 4, 5, 6, 10). Keďže sú tieto zmeny pozorované v mnohých krajinách sveta existuje reálny predpoklad, že sú odrazom narušeného životného prostredia alebo súčasného životného štýlu, než ako keby boli odrazom napr. genetických zmien. Ak bude pokračovať pokles počtu spermíí súčasnou rýchlosťou, tak v priebehu niekoľkých desaťročí budeme svedkami masového rozšírenia mužskej neplodnosti. Do dnešného dňa nie sú známe presné príčiny tohto deja a preto ani presne nevieme aké preventívne opatrenia máme zvoliť na zastavenie tohto negatívneho trendu.

**Kľúčové slová:** spermie, neplodnosť mužov

### **Úvod**

Hodnoty charakterizujúce semeno zdravého muža podľa manuálu WHO z roku 2010 sú nasledovné: objem ejakulátu má byť medzi 1,5-6 ml, počet spermíí aspoň 15 miliónov/ml, viac ako 60% spermíí má byť živých, pričom minimálne 4% spermíí má vykazovať normálnu morfológiu (1).

Bohužiaľ, v priemyselne vyspelých krajinách dnes spĺňa tieto ukazovatele iba malá časť mužov. Klesá nielen počet a pohyblivosť spermíí ale aj objem semena, ktoré zase na druhej strane obsahuje väčší počet morfologicky poškodených spermíí. Ako prvý na skutočnosť narušenej plodnosti mužov upozornil dánsky vedec Niels Skakkeback v roku 1992. Porovnaním prác zistil, že u zdravých mužov došlo za posledných 50 rokov k poklesu počtu spermíí v semene o viac ako 50% (2, 3, 4, 5, 6, 10). So svojimi spolupracovníkmi porovnali 61 prác z celého sveta publikovaných medzi rokmi 1938-1990 a zistili, že počet spermíí klesol zo 113 miliónov/ml na 66 miliónov/ml v roku 1990. Okrem toho, referenčné hodnoty pre normálne semeno klesli v rovnakej časovej perióde zo 60 miliónov/ml na 20 miliónov/ml. Jeho oponenti ho ale vysmiali, keďže našli v jeho výpočtoch nesprávne postupy. No ďalšie štúdie plne potvrdili negatívne zistenia prof. Skakkebacka. Porovnanie kvality semena vo Francúzsku u 1350 darcov semena odhalilo, že počet spermíí klesol za posledných 23 rokov každý rok o 2%, pričom najmladší muži mali najhoršiu kvalitu semena (2, 6). V štúdií vo Fínsku vyšetrili post-mortem semenníky 528 mužov v strednom veku, ktorí zomreli následkom úrazov medzi rokmi 1981-1991. Z mužov, ktorí zomreli v roku 1981, malo normálnu produkciu spermíí viac ako 56%, no v roku 1991 to bolo už iba 27%. Zároveň autori zistili

preukázateľný pokles hmotnosti semenníkov a na druhej strane signifikantné zmnoženie pre tvorbu spermií bezcenného, väzivového tkaniva. Adamopoulos a kol. (12) v Grécku vyšetrili za 17 rokov (1977-1993) 23 850 mužov a prišli k podobným záverom ako ich fínski kolegovia. V Škótsku Irwin (2) detegoval u mužov za 20 rokov pokles počtu spermií o 25%.

Vychádzajúc z uvedených zistení možno predpokladať, že za poškodením tvorby spermií v posledných dekádach musia byť zmeny v životnom prostredí alebo súčasný životný štýl. V rozvinutých priemyselných krajinách sú totiž tieto zmeny najmarkantnejšie (2). Farmakologické skúmanie problému taktiež odhaľuje vplyv exogénnych chemikálií na narušenie hormonálneho systému organizmu (3). Niektoré kontaminanty životného prostredia dokážu meniť aktivitu jednotlivých hormónov. Plody a novorodenci sú najzraniteľnejšou skupinou kvôli svojmu rýchlemu rastu a vývoju, ktorý prekonávajú a zároveň sú vystavení takýmto chemikáliám vo vode a v potrave.

Pravdepodobné vysvetlenie tohto procesu priniesol Sharpe a kol. (1994), ktorý predpokladal, že pokles tvorby spermií má spojitosť s ďalšími vývojovými poruchami samčieho reprodukčného systému, ktoré sa zrejme dejú, keď je vyvíjajúci sa mužský plod vystavený k estrogénom. Zdrojom zvýšených hodnôt estrogénu v tele matky sú pravdepodobne exogénne estrogény z kontaminovaného životného prostredia – „xenoestrogény“. Ich produkcia a uvoľňovanie do životného prostredia viac-menej súhlasia s pozorovaným poklesom v tvorbe spermií u mužov (8, 9).

### **Hormonálna kontrola tvorby spermií v semenníku**

Tvorba spermií u dospelého muža je limitovaná dvoma faktormi: fyziologickým priebehom spermiogenézy ako aj počtom Sertoliho buniek. Tieto bunky organizujú a kontrolujú proces spermiogenézy (2, 4, 15), no v ich záhyboch sa zo zárodočných pohlavných buniek dokáže transformovať na spermie iba istý obmedzený počet (2, 6, 7, 14, 16, 17). Preto počet Sertoliho buniek v semenníku určuje maximálne možný strop v dosiahnuteľnej tvorbe zrelých pohlavných buniek. Druhým určujúcim faktorom je aj veľkosť semenníkov (6). U väčšiny cicavcov sa počet Sertoliho buniek stáva konečným v konkrétnej fáze vývinu jedinca, pričom je táto perióda u jednotlivých druhov odlišná (14). U potkana dochádza k zmnoženiu Sertoliho buniek medzi 19-20 dňom gravidity a zastavuje sa približne okolo 15 dňa po narodení. Narušenie endokrinného prostredia, predovšetkým zníženie hladín hormónu FSH (folikuly stimulujúci hormón), ktorý priamo ovplyvňuje Sertoliho bunky, pred kritickým 15. dňom postnatálneho života, má za následok inhibíciu množenia Sertoliho buniek (3, 6, 14, 18). To má v dospelosti za následok pokles ich počtu, pokles hmotnosti semenníkov ako aj pokles počtu tvorených spermií. FSH je pravdepodobne najdôležitejší, aj keď nie nevyhnutne jediný faktor zúčastnený v regulácii množenia Sertoliho buniek.

Ako odpoveď na FSH kolujúci v krvi produkujú Sertolihio bunky v semenníku mláďat estrogén. Ten stimuluje ďalšiu tvorbu FSH v prednom laloku hypofýzy. Ale medzi 15.-20. dňom života Sertolihio bunky strácajú schopnosť tvorby tohto steroidu, čím dochádza k poklesu tvorby FSH. Teda pred 15. dňom estrogén zo Sertolihio buniek udržiava vysoké hladiny FSH, ktoré sú zase nevyhnutné na zmnoženie počtu Sertolihio buniek (2, 7, 31). U muža, na rozdiel od potkana, môže byť s najväčšou pravdepodobnosťou počet Sertolihio buniek ovplyvňovaný nielen počas fetálnej a neonatálnej periódy života ale tiež počas puberty. Zároveň to ale znamená, že prípadný negatívny vplyv na zmnoženie Sertolihio buniek môže trvať dlhšie (2, 14).

Podávanie estrogénu gravidným samiciam myší spôsobilo okrem redukcie počtu Sertolihio buniek v semenníku mláďat aj inhibíciu replikácie prekursorov Leydigových buniek (7). To má za následok zníženú produkciu testosterónu a následne nedostatočne vytvorené samčie pohlavné znaky. Podobne aj Cook a kol. (19) zistili, že podávanie estrogénu potkanom počas embryonálneho vývinu znižuje počet Sertolihio buniek v dávkovo závislom spôsobe. Proces je poklesom hmotnosti semenníka, prísemenníka, a degeneráciou semenotvorných kanálikov.

### **Estrogénu podobné látky a ich väzba na estrogénový receptor**

V našom každodennom živote sme nepretržite vystavení množstvu rôznych chemikálií, ktoré napodobňujú účinok samičieho pohlavného hormónu estrogénu (2, 5, 14, 20, 30, 31). Ide o umelo syntetizované látky, ktoré sú súčasťou umelohmotných obalov potravín, pesticídov, plastov alebo farbív. Estrogény účinkujú väzbou na svoj receptor. Ten je bielkovinovej povahy a nachádza sa na povrchu cieľových buniek. Potom, ako sa hormón naviaže na svoj špecifický receptor, reguluje v danej bunke expresiu alebo inhibíciu príslušných génov. V súčasnosti je známych niekoľko sto rôznych syntetických chemikálií, ktoré sa dokážu naviazať na receptor pre estrogén. Mnohokrát ide o látky, ktorých stavba je diametrálne odlišná od molekuly fyziologicky produkovaných estrogénov, takže pôvodne sa u nich žiadna hormonálna aktivita vôbec nepredpokladala. Takéto látky majú veľmi slabý estrogénny účinok (20, 30, 31) ale ak sú podané v dostatočne vysokom množstve, dokážu aktivovať receptor pre estrogén rovnako účinne ako fyziologicky sa vyskytujúce hormóny. Jedna z hypotéz o ich vplyve na organizmus hovorí, že tieto „nepravé“ estrogény naviazaním sa na estrogénové receptory blokujú účinok fyziologických hormónov. Iné vysvetlenie tvrdí, že tieto chemikálie napodobňujú účinok prirodzených hormónov, spúšťajú alebo blokujú jednotlivé biochemické pochody, no kolujú v organizme oveľa dlhšie ako ich fyziologické vzory. Následkom toho dochádza u oboch pohlaví v tkanivách s estrogénovými receptormi k jeho devastácii, pričom obzvlášť citlivé sú vyvíjajúce sa plody.

### **Estrogény v životnom prostredí**

Prof. Skakkebaek a Dr. Sharpe uviedli mnoho faktorov zodpovedných za zvýšenie absorpcie estrogénov v porovnaní so 40. rokmi dvadsiateho storočia. Ide najmä o zvýšený príjem mliečnych výrobkov bohatých na hormóny, príjem syntetických estrogénov v antikoncepčných pilulkách a ďalších liekoch, a expozíciu k širokej škále chemikálií, ktoré majú estrogénu aktivitu. Patria medzi ne chemikálie znečisťujúce životné prostredie ale aj výfukové plyny. Do životného prostredia sa dostáva čoraz väčšie množstvo látok, z ktorých niektoré sú veľmi odolné, sú prítomné v potravinovom reťazci, kolujú v našich organizmoch (14, 23) a pritom vykazujú miernu estrogénu aktivitu (24). Polychlórované bifenyly (PCB) alebo chlórované uhľovodíky (napr. DDT) sú toho dobrým príkladom (7).

Pri výskume jazier Apopka na Floride, ktoré sú v blízkosti chemických tovární, sa zistilo, že v organizmoch zvierat, ktoré sa živia rybami (najmä aligátorov a rybožravých vtákov), boli nájdené zvýšené hodnoty estrogénov. Tieto zvieratá ďalej neboli schopné prekonať pubertu a zostali neplodné po zostatok života (5, 30).

### **Plasty**

Brooks a kol. aplikovali laboratórnym potkanom chemickú látku oktylfenol (organická zlúčenina založená na benzénovom jadre). U samcov zistili znížené hladiny FSH spojené s poklesom počtu Sertoliho buniek, ako aj poklesom počtu spermíí. Po mesiaci podávania došlo zároveň aj k štvornásobnému vzostupu počtu abnormálnych spermíí (11, 20). Octylfenol vzniká pri rozklade chemických látok používaných pri výrobe niektorých detergentov, plastov, textílií i farieb.

Soto (rok) zistil, že nádorové bunky rakoviny prsníka kultivované v Petriho miskách z umelej hmoty sa množia rovnakou rýchlosťou, ako keď boli kultivované v médiu s prídavkom estrogénov (2). Autor predpokladal, že niektorá z chemikálií prítomná v umelej hmote Petriho misky má pravdepodobne účinky podobné estrogénu. Nakoniec určil, že tou látkou je nonylfenol, látka, ktorá sa bežne používala ako antioxidant a o ktorej sa predpokladalo, že je zdraviu neškodná. Umelohmotné obaly cínových plechoviek ako aj obaly potravín obsahujú mnoho podobných plastov, ako napr. ftaláty, ktoré dokonca dokážu presiaknuť z obalu do obsahu, predovšetkým do zeleniny a mastných potravín (2, 6). Ešte aj zubári dlhé roky používali zubné výplne s obsahom podobných chemikálií. U takýchto pacientov sa následne zistili v slinách zvýšené hladiny estrogénu podobných zlúčenín (2). Takto sú ľudia celé roky nevedomky vystavení k umelo vyrobeným estrogénom v potravinách i v životnom prostredí.

### **Lieky**

Ďalší dôkaz, že tieto látky sú škodlivé prinieslo používanie látky známej ako diethylstilbestrol (DES), ktorý sa používal v živočíšnej výrobe po dobu takmer 30 rokov

(7). Prvých dvadsať rokov jeho používania neboli známe žiadne jeho negatívne účinky na ľudský organizmus. Čo je ale ešte závažnejšie, že táto látka bola celosvetovo predpisovaná vo vysokých terapeutických dávkach miliónom žien z rozličných dôvodov, ako napr. zabránenie potratu (2, 3, 7, 14, 30). Išlo o synteticky vyrobený estrogén, ktorý bol aktívny pri orálnom podaní a bol značne odolný voči degradácii. To všetko dohromady predstavuje značné riziko pre ľudí. McLachlan (25) aplikoval gravidným myšiam DES a zistil, že potomstvo sú hermafroditi ktorí sú navyše aj sterilní. Podobne u chlapcov, ktorí boli počatí krátko po vysadení orálnej antikoncepcie bol zaznamenaný zvýšený výskyt kryptorchizmu (22) a znížená produkcia spermií (6, 14). V dôsledku toho bolo zakázané orálne používanie anabolických estrogénov a takéto látky používané u hospodárskych zvierat nesmú byť orálne aktívne (7). Použitie syntetických estrogénov stúplo v posledných rokoch aj s rastúcou popularitou antikoncepcie, napr. etinylestradiolu. Existujú pozorovania, že hladiny etinylestradiolu sú už detekovateľné vo vodných zdrojoch, údaje o koncentráciách v pitnej vode zatiaľ chýbajú. Avšak rovnako ako DES a iné xenoestrogény, aj etinylestradiol sa neviaže na väzobný hormón pre pohlavné hormóny (sex hormone binding protein, SHBP) čo znamená, že v krvi koluje a pôsobí na cieľové receptory dlhší čas než fyziologicky prítomný estrogén (7, 30).

### **Zdroje v potrave**

Niektoré rastliny prirodzene obsahujú estrogény (fytoestrogény) (3, 7, 25, 30), ktoré u hospodárskych zvierat dokážu zhoršiť fyziologický priebeh reprodukcie (26). Výrobky zo sóje sú obzvlášť bohaté na prítomnosť fytoestrogénov (7, 27) pričom je všeobecne známe, že konzumácia týchto produktov v posledných desaťročiach významne stúpila ako náhrada za živočíšne bielkoviny (14). Avšak vystavenie organizmu iba k samotným fytoestrogénom by pravdepodobne nestačilo na vyvolanie signifikantných zmien u väčšine dospelých. Fytoestrogény s najväčšou znižujú účinnosť endogénnych estrogénov tým, že stimulujú produkciu SHBG v pečeni a následne spôsobujú pokles biologicky dostupného endogénneho estrogénu (7). Počas dojčenia sa mnohé kontaminanty s hormonálnym účinkom, ako sú dioxíny, PCB alebo DDT, sústredujú do mlieka, čo vedie k laktačnému prenosu na dojčatá (6). Ak sa to deje počas citlivej periódy tzv. vývojového okna, môže to mať u jedinca v budúcnosti trvalé následky.

### **Insekticídy, fungicídy, pesticídy**

Hoci sa látky ako DES, oktylfenol, fytoestrogény alebo kontaminované mlieko ukázali ako potentný zdroj estrogénov, žiadna z nich nie je preukázateľne zdrojom znečistenia životného prostredia. Na druhej strane, insekticídy ako metoxychlór, DDT, dikofol a iné majú estrogénne účinky (6, 30) sú významnými polutantami. Estrogény účinok je síce viac než 1000 krát menej účinný ako u prírodných estrogénov, no ich

kumulácia v organizme postupne počas života stúpa a môže mať za následok zmeny v ľudskej reprodukcii v priebehu času. K pesticídom s typickým estrogénovým účinkom patria DDE (hlavný metabolit DDT), atrazín, dieldrín, lindán, pentachlórfenol a toxafén. Muller a kol. (30) a Beard a kol. (32) preukázali, že tieto látky signifikantne znižujú počet spermií u mužov. Používanie DDT bolo síce už dávno zakázané, no je detekovateľný v telesnom tuku nás všetkých, keďže má polčas rozpadu viac ako 100 rokov (2, 5). Vinclozolin, fungicíd používaný na ochranu mnohých druhov ovocia a zeleniny, má taktiež silný antiandrogénny charakter, pretože blokuje účinok mužských pohlavných hormónov a vedie k demaskulinizácii mužského potomka, vrátane poklesu počtu spermií v dospelosti (3).

### **Priemyselne chemikálie**

Dioxín (chlórovaný uhl'ovodík TCDD), najtoxickejšia chemikália vytvorená človekom, nemá síce estrogénny účinok ako zlúčenina (3,7, 30) ale dokáže znížiť počet Sertoliho buniek v semeníku. Vystavenie gravidných zvierat k extrémne nízkym dávkam dioxínov, ktoré ešte nemajú žiadny nepriaznivý vplyv na gravidnú matku, vedie na druhej strane k reprodukčným zmenám u potomkov. Mnohé z týchto negatívnych účinkov sú zistiteľné až po dosiahnutí puberty. U mužských potomkov sa znižuje počet spermií a je narušený aj samotný akt párenia.

PCB predstavujú komplexnú zmes 209 jednotlivých látok. Na rozdiel od dioxínov, ktoré sú nežiaduce vedľajšie produkty niektorých priemyselných procesov a spaľovania, boli PCB syntetizované komerčne a dlhý čas boli používané pri výrobe transformátorov a kondenzátorov. PCB sú stabilné a odolné voči tepelnej degradácii. To viedlo k ich akumulácii v životnom prostredí (30). Malé množstvá PCB majú podobné účinky ako má dioxín. Metabolity PCB zase vykazujú estrogénový účinok. Továrnska produkcia týchto látok v niektorých rozvojových krajinách ešte aj v súčasnosti predstavuje značné nebezpečenstvo pre celý svet, keďže látky sa kumulujú v životnom prostredí a veľmi ťažko sa rozkladajú. Niektoré z nich pretrvávajú v životnom prostredí po desiatky rokov. Tieto chemikálie sa premiestňujú po celej planéte vzduchom, keďže sa viažu na prachové častice. Takto sa môžu ukladať do rastlín alebo po pristátí na vode vniknúť do vodných živočíchov a následne vstúpiť do potravinového reťazca hocikde na svete.

### **Ďalšie factory zodpovedné za pokles počtu spermií**

Ako je všeobecne známe, semenníky sú umiestnené mimo telovej dutiny, keďže pre produkciu spermií sú potrebné teploty o niekoľko stupňov nižšie, ako je teplota tela. Avšak v krajinách s teplým podnebím, ako napr. v Indii alebo v Afrike je pôrodnosť značne vysoká, takže účinok globálneho otepľovania alebo populárnu teóriu negatívneho vplyvu tesného spodného šatstva na pokles produkcie spermií možno vylúčiť.

### **Možné riešenia problému neplodnosti**

Monoamínooxidázy (MAO) sú enzýmy, ktoré sa nachádzajú na vonkajšej membráne mitochondrií. Delia sa na dva podtypy, MAO-A a MAO-B. MAO-A prednostne metabolizuje významné neurotransmitery noradrenalín a serotonín, kým MAO-B fenyletylamín. Oba podtypy degradujú dopamín. Inhibítory monoamínooxidáz, ako napríklad deprenyl, sa s úspechom požívajú pri liečbe celého radu neurologických a psychiatrických ochorení. Na druhej strane pribúda množstvo dôkazov, že napr. deprenyl podaný v extrémne nízkych dávkach, ktoré ešte neinhibujú hladiny MAO, spúšťa v pokusoch in vitro u rôznych typoch buniek tvorbu antioxidantných enzýmov. Tie sú zase schopné ochrániť bunky pred programovanou smrťou – apoptózou (Obr. 1). Apoptóza môže byť navodená rôznymi negatívnymi vplyvmi vonkajšieho i vnútorného prostredia (reakčné kyslíkové druhy, chemikálie, hormonálna disbalancia, hladovanie a pod.). V našej práci sme zisťovali vplyv podávania dvoch rôznych dávok deprenylu, inhibítora MAO-B, na aktivitu antioxidantných enzýmov superoxidismutáza a kataláza v semenníku potkana. Po 30 dňovej intraperitoneálnej aplikácii sme zaznamenali preukázateľný vzostup aktivít oboch enzýmov v porovnaní s kontrolou (Graf 1, 2). No iba po podaní nízkej dávky deprenylu sme v semenníku potkana zistili preukázateľný vzostup SOD2. Tento enzým, na rozdiel od ostatných skúmaných antioxidantných enzýmov, je lokalizovaný v mitochondriách a v najväčšej miere ochraňuje vysoko aktívne mitochondrie pred poškodením od reakčných produktov a medziproduktov metabolizmu. Podávanie deprenylu v nízkych dávkach môže byť teda jednou z ciest, ako zlepšiť spermogram a zvýšiť počet zdravých spermií u infertilných mužov, keďže táto látka je používaná už celé desaťročia v humánnej medicíne v niekoľkonásobne vyšších dávkach pri liečbe napr. Parkinsonovej choroby a je veľmi dobre tolerovaná ľudským organizmom.

### **Záver**

Ak sa má podariť zastaviť znižovanie počtu spermií v rozvinutých, priemyselných krajinách musíme najprv zistiť jeho príčinu. Je to ale pomerne ťažké, keďže v súčasnom modernom svete sa produkuje a ľudstvom používa obrovské množstvo umelo vytvorených chemikálií. Situáciu sťažuje aj to, že s najväčšou pravdepodobnosťou ide o aditívny vplyv viacerých negatívnych faktorov. Rozsah tohto problému je aj preto tak obrovský, keďže značné množstvo svetovej ekonomiky je závislé od týchto chemických látok, ktoré sú masívne používané v v našom dnešnom, každodennom živote. Z toho pramení aj nie veľmi optimistický záver, že pre túto situáciu neexistuje rýchle a jednoduché riešenie.

Zatiaľ by malo byť našou hlavnou prioritou zhromažďovať čo najviac informácií, pretože len tak budeme vedieť odhaliť príčinný vzťah medzi expozíciou a rastom mužskej neplodnosti. Zdá sa, že za luxus moderného života budeme platiť nielen zvýšeným výskytom kardiovaskulárnych ochorení a niektorých typov rakoviny ale aj

potenciálne možným poklesom populácie ľudskej populácie v dôsledku mužskej infertility.

### **Pod'akovanie**

*Tento príspevok vznikol v rámci riešenia projektu NFP OPVaV-2009/2.1/03 SORO Centrum excelentnosti pre výskum faktorov ovplyvňujúcich zdravie so zameraním na skupinu marginalizovaných a imunokompromitovaných osôb – CEMIO - ITMS: 26220120058, aktivita 1.4 (100%).*

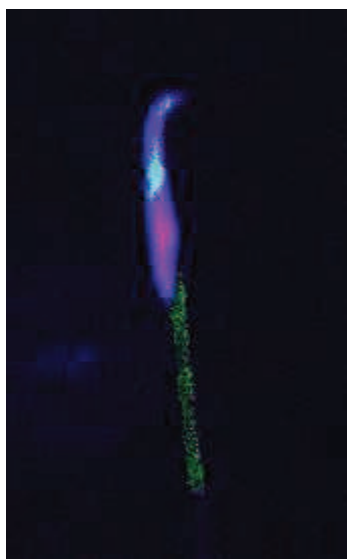
### **Literatúra**

1. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen - 5th ed., ISBN 978 92 4 154778 9, World Health Organisation 2010
2. Assault on the male, written and produced by Deborah Cadbury, BBC Horizon videos.
3. Birnbaum L. S.: Endocrine effects of prenatal exposure to PCBs, Dioxins, and other Xenobiotics: implications for policy and future research, Environmental health prospectus vol. 102, 8, 1994 p.676-679.
4. Carlsen E., Giwerman A., Keiding N., Skakkebaek N. E. British Medical Journal 305,1992, 609-613.
5. Sharpe R. M.: Current Evidence- Another DDT Connection, Nature, vol. 375, 1995.
6. Sharpe R. M., Fisher J. S., Millar M. M., Jobling S., Sumpter J. P.. Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production, Environmental health perspectives vol. 103, 12, 1995 p.1136-1143.
7. Sharpe R. M., Skakkebaek N. E.: Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? Lancet 341, 1993, 1392-1395
8. Colborn T., Clement C.: Chemically- induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection. Princeton, NJ: Princeton scientific publishing. 1992.
9. Sharpe R. M.: Could environmental oestrogenic chemical be responsible for some disorders of human male reproductive development? Curr opin urol 4, 1994, 295-301
10. Zinaman M. J., Kats D. F.: Incidence and implications of altered semen quality on family planning, Adv- contracept. 1997, 13 (2-3):123-8.
11. Martin B., Day M.: New scientist- This week- fresh alarm over threatened sperm, 1997, 5.

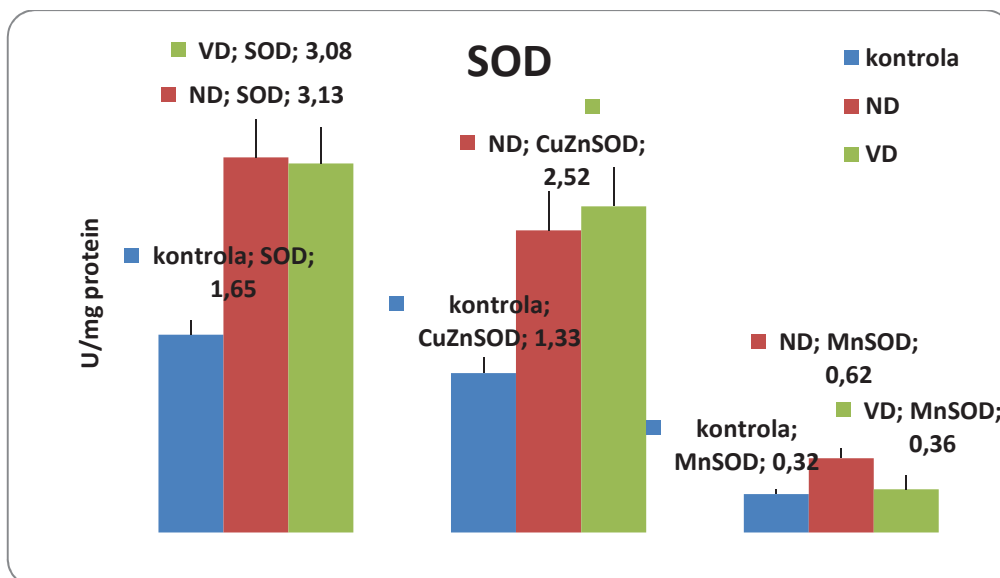


12. Adamopoulos D. A., Pappa A., Nicopoulon S., Andreon E., Karamertsanis M., Michopoulos J., Deligianni V., Simou M.: Seminal volume and total sperm number trends in men attending subfertility clinics in the greater Athens area during the period 1977-1993. *Hum- Reprod.* 1996, (9): 1936-41.
13. Kumar, Clark. *Clinical Medicine*. 4th edition p.912-914 and 1206.
14. Sharpe R. M.: Declining sperm counts in men- is there an endocrine cause? *Journal of Endocrinology*. 1993, 136, 357-360.
15. Russell L. D., Griswol M. D.: *The Sertoli cell*, p.p. 1-856. Clearwater, FL: Cache River Press. 1992
16. Russell L. D., Peterson R. N. *Journal of reproduction and fertility*, 1984, 70, 635-641.
17. Russell L. D., Ren H. P., Sinha Hikim S., Schulze W., Sinha Hikim A. P. *American Journal of Anatomy*, 1990, 188, 21-30.
18. Gaw A., Acowan R., O'Reilly D. J. S., Stewart M. S., Shepherd J.: *An illustrated colour text- Clinical Biochemistry*, 1998, p.92-94.
19. Cook J. C., Johnson L., O'Conner J. C., Biegel L. B., Krams C. H., Frame S. R., Hurtt M. E.: Effects of dietary 17 beta- estradiol exposure on semen hormone concentrations and testicular parameters in male CRL: CDBR rats, *Toxicol- Sci.* 1998, 44 (12): 155-68.
20. Brooks N., Bicknell J.: *Neuroendocrinology briefing 1: Environmental oestrogens: a hazard to human reproductive health? Neuroendocrine group*, 1998.
21. Land R. B., Baird D. T., Carr W. R. *Journal of Reproduction and Fertility*, 62, 1981, 131-138.
22. Rothman K. J., Louik C. *New England Journal of Medicine*, 299, 1978, 522-524
23. Jones G. N. R.: *The Lancet*, 1989, 791-794.
24. Lucier G. W., Lee I. P., Dixon R. L.: *In the testis*, vol. Iv, 1977, pp. 577-604. New York: Academic Press.
25. McLachlan J. A., Korach K. S., Newbold R. R., Degen G. H. *Fundamental and applied toxicology*, 4, 1984, 686-691.
26. Adams N. R. *Journal of Reproduction and Fertility. Suppl 30*, 1981, 223-230.
27. Setchell K. D. R. In: *Estrogens in the environment II*, 1985, pp. 69-85. Ed. J.A.McLachlan. Amsterdam: Ellesmere.
28. Holdsworth R. J., Heap R. B., Booth J. M., Hamon M. *Journal of Endocrinology* 95, 1982, 7-12.
29. Hamon M., Fleet I. R., Heap R. B. *Journal of Dairy Research*, 57, 1990, 419-422.

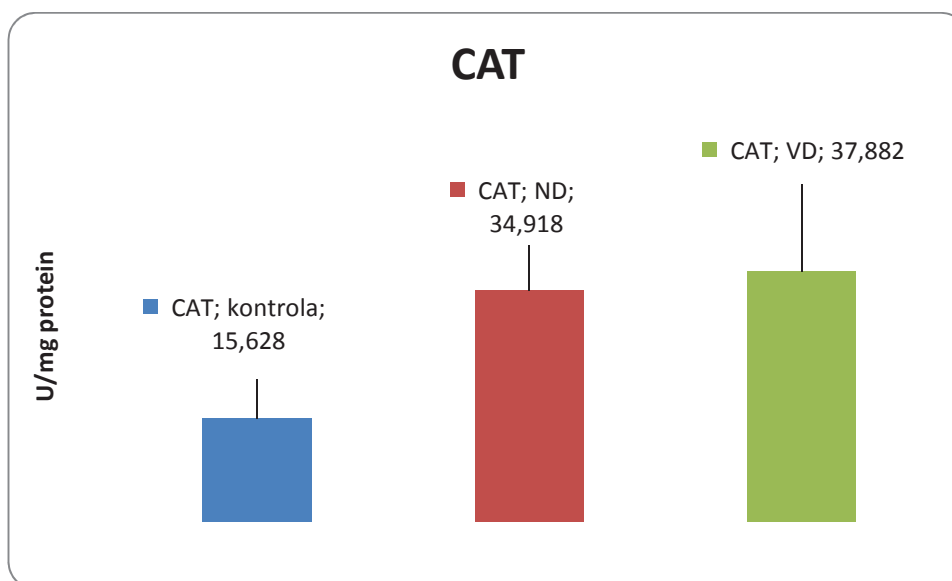
30. Muller.Andreas M. F., Makropoulos V., Bolt H. M.: Toxicological aspects of oestrogen- mimetic Xenobiotics present in the environment, Toxicology and Ecotoxicology News vol. 2, 3, 1995 p. 68-73.
31. Christian M., Gillies G.: Developing hypothalamic dopaminergic neurones s potential targets for environmental estrogens, Journal of Endocrinology, 160, 1990, R1-R6.
32. Beard A.P., Bartlewski P. M., Chandolia R. K., Honaramoos A., Rawlings N. C.: Reproductive and endocrine function in rams exposed to the organochlorine pesticides Lindane and Pentachlorophenol from conception, J-Reprod-Fertil. 115 (2), 1999, 303-14.
33. Braun J., Muto Y., Sato K., Schallenberger B.: The effects of the season and sexual stress on the concentration of testosterone and estradiol-17 beta in the seminal plasma of stallions, Tierarztl-prax. 24 (6), 1996, 577-80
34. Herrmann T.: Radiation reactions in the gonad: importance in patient counselling, Strahlenther-Onkol, 173 (10), 1997, 493-501



**Obr. 1.** Neskorá apoptóza v spermii potkana, ktorá už prešla do nekrózy. Modrá farba predstavuje fluorescenčné farbivo DAPI, ktoré selektívne farbí DNA, ružová farba predstavuje propidium iodide, ktorý vniká iba do nekrotickej bunky s poškodenou bunkovou membránou, zelená farba v bičíkovom oddiely predstavuje FITC naviazané na annexin V, ktorý je detegovateľný počas apoptózy. Fotené na konfokálnom mikroskope OLYMPUS BX61 FLUOVIEW FV 100, Ústav anatómie, LF UPJŠ, Košice.



**Graf 1.** Aktivita antioxidantného enzýmu superoxidáza (SOD) a jej jednotlivých podtypov SOD1 a SOD3 (CuZnSOD) a SOD2 (MnSOD) v semeníku potkanov po podaní fyziologického roztoku (kontrola), nízkej dávky deprenylu (ND) alebo vysokej dávky deprenylu (VD).



**Graf 2.** Aktivita antioxidantného enzýmu kataláza (CAT) v semeníku potkanov po podaní fyziologického roztoku (kontrola), nízkej dávky deprenylu (ND) alebo vysokej dávky deprenylu (VD).