

Wogatzky J, Schechinger B, Zech NH

**Oxidativer Stress und Anwendung von Antioxidantien in der Reproduktionsmedizin: Ist eine diätetische Nahrungsergänzung sinnvoll? Ein Überblick des derzeitigen Wissensstandes**

*Journal für Ernährungsmedizin 2013; 15 (3), 21*

**Homepage:**

**[www.aerzteverlagshaus.at](http://www.aerzteverlagshaus.at)**

**Online-Datenbank mit  
Autoren- und Stichwortsuche**

MIT NACHRICHTEN DER



**For personal use only.**

**Not to be reproduced without permission of Verlagshaus der Ärzte GmbH.**

**Erschaffen Sie sich Ihre  
ertragreiche grüne Oase in  
Ihrem Zuhause oder in Ihrer  
Praxis**

**Mehr als nur eine Dekoration:**

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate,  
Kräuter und auch Ihr Gemüse  
ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller  
Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz  
ohne grünen Daumen?

**Dann sind Sie hier richtig**



# Oxidativer Stress und Anwendung von Antioxidantien in der Reproduktionsmedizin: Ist eine diätetische Nahrungsergänzung sinnvoll? Ein Überblick des derzeitigen Wissensstandes

## Oxidative stress and anti-oxidants in reproductive medicine: Is therapeutic dietary anti-oxidative supplementation reasonable or not? A review of the current knowledge

Johannes Wogatzky<sup>1</sup>, Birgit Schechinger<sup>1</sup>, Nicolas H. Zech<sup>1</sup>

### Abstracts

Oxidativer Stress (OS) entsteht in der Zelle, wenn das physiologisch normale Maß an reaktiven Sauerstoffverbindungen überschritten wird und/oder die entgiftenden, d.h. reduzierenden (antioxidativ-wirkenden) Substanzen als Mangel vorliegen. Ein erhöhter oxidativer Stressspiegel wird mit vielen Erkrankungen, unter anderem mit Krebsbildung, neurodegenerativen Erkrankungen wie familiärer amyotropher Lateralsklerose (FALS), Morbus Alzheimer oder Parkinson assoziiert, ebenso der physiologische Alterungsprozess und zahlreiche akute wie auch chronische Krankheitsbilder. Zwar werden auch in der Frauenheilkunde und Reproduktionsmedizin diverse Pathologien und diverse Bilder klinischer Infertilität mit einem Ungleichgewicht von Antioxidantien (AO) und oxidativen Substanzen in Verbindung gebracht, jedoch ist hier der Einfluss bzw. die Rolle von OS bei Fertilitätsstörungen immer noch weitgehend unklar. In diesem Zusammenhang stellt sich dabei auch die Frage des Nutzens einer therapeutischen Supplementierung mit Antioxidantien und Mineralstoffen. Dieser Review soll der Zusammenfassung des derzeitigen Kenntnisstandes dienen, inwieweit sich OS auf die humane Fertilität auswirkt. Dabei soll eine mögliche Unausgewogenheit von oxidativen Verbindungen und protektiven Antioxidantien (AO) und deren möglichen Einfluss auf diverse Pathologien und Infertilitätsdiagnosen diskutiert werden, welche sich auf die Fortpflanzung auswirken können. Dazu werden Schwangerschaftskomplikationen wie Präeklampsie oder habituelle Aborte (hA) ebenso angesprochen wie auch Endometriose oder androgene Subfertilität, wie beim Oligo-Astheno-Teratozoospermie (OAT) Syndrom. Ob, und in wie weit, eine bilanzierte Nahrungsergänzung im Einzelfall eine effektive Behandlung darstellen kann, ist abschließend nicht zu klären. Allerdings lassen sich anhand der Publikationen der letzten Jahre zunehmend Hinweise darauf finden, dass bei einigen Krankheitsbildern eine ergänzende, antioxidative Nahrungssupplementierung durchaus einen therapeutischen Effekt haben kann. Jedoch sind weitere prospektiv randomisierte Studien, aber auch weitere Grundlagenforschung im Tiermodell notwendig, um Sicherheit und Erfolg einer solchen diätetischen Behandlung nachzuweisen.

**Schlüsselwörter:** Oxidativer Stress, ROS, Antioxidantien, Fertilität, OAT Syndrom, Endometriose, unerklärte Infertilität, Präeklampsie, habitueller Abort

Oxidative stress (OS) within a cell is caused by exorbitant levels of reactive oxygen species (ROS) on the one hand and/or a lack of reductive (anti-oxidative) substances within the eukaryotic cell on the other. Increased OS has been associated with aging as well as a variety of diseases including cancer or neurodegenerative diseases i.e. Morbus Alzheimer, Parkinson or familial amyotrophic lateral sclerosis.

In the field of reproductive medicine several pathologies have been linked to an imbalance of ROS and antioxidants. However, little is known about the influence of OS on human fertility. Additionally, the question is whether a therapeutic dietary anti-oxidative supplementation is reasonable or not. This review article summarizes the current knowledge of the influence of ROS on human fertility and reproduction. Thereby, the imbalance of oxidative and antioxidative substances and their putative impact on preeclampsia, habitual abortion (hA), endometriosis or oligo-astheno-teratozoospermia (OAT) syndrome will be discussed. It is still not unequivocally clear, whether an anti-oxidative supplement might be a reasonable therapy in particular cases. Noteworthy, there are more and more promising indications in the literature that such an antioxidative dietary supplement has therapeutic effects for some clinical pictures of infertility.

Nevertheless, further prospective randomized studies as well as further basic research with animal model systems are necessary to prove the efficiency and safety of anti-oxidative therapies.

**Keywords:** oxidative stress, ROS, antioxidants, fertility, OAT syndrome, endometriosis, idiopathic infertility, preeclampsia, habitual abortion



### Korrespondenz

Univ.-Doz. Dr. Nicolas H. Zech  
IVF Zentren Prof. Zech  
Römerstrasse 2

A - 6900 Bregenz  
E-mail: n.zech@ivf.at

<sup>1</sup>IVF-Zentren Prof. Zech- Österreich, Bregenz

## EINLEITUNG

Als reaktive Sauerstoffverbindungen, sogenannte „reactive oxygen species“ (ROS) werden jene Sauerstoffverbindungen zusammengefasst, zu denen einerseits die hoch-reaktiven Sauerstoffradikale wie das Hydroperoxid-Anion ( $O_2^-$ ), das Hydroxyl- ( $HO\cdot$ ), die Per- bzw. Alkoxylradikale ( $ROO\cdot$ ,  $RO\cdot$ ) als auch die instabilen, nicht-radikalischen Sauerstoffverbindungen wie Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ), die Hydroperoxide (ROOH) oder Ozon ( $O_3$ ) gehören. Daneben seien noch die RNS (reactive nitrogen species) genannt, jene überaus reaktiven Stickstoffverbindungen, wie z.B. Stickstoffmonoxid ( $NO\cdot$ ) oder das Peroxynitrit ( $ONOO^-$ ), das wiederum aus der Reaktion des  $O_2^-$ -Radikals mit  $NO\cdot$  hervorgeht. Beiden Substanzklassen (ROS wie RNS) ist gemeinsam, dass sie starke Oxidationsmittel darstellen und damit sehr reaktiv und deswegen äußerst kurzlebig sind.

Exogen werden ROS beispielsweise durch Strahlung, Hypoxie, Rauchen und Alkohol ebenso induziert wie durch Schwermetalle wie etwa Cadmium. Endogen entstehen ROS in der eukaryotischen Zelle unter anderem in den Mitochondrien durch Fehlübertragungen von Elektronen in der Atmungskette oder über das Enzym NADPH-Oxidase. Auf Grund ihrer hohen Reaktionsfreudigkeit kann ein Übermaß von ROS zu massiven Zellschädigungen führen. Hierbei können sowohl das Membransystem und innere Zellstrukturen (durch Lipid- bzw. Proteinoxidation) als auch Nukleinsäuren (DNS, RNS) betroffen sein. Das durch die Reaktion der DNS mit ROS entstehende 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosin (8-OHdG) wird dabei häufig auch als Biomarker für oxidativ verursachte Zellschäden genutzt. Auch andere, funktionale Komponenten der Zelle wie z.B. Enzyme oder Strukturproteine können in Mitleidenschaft gezogen werden.

Vorweg sei an dieser Stelle anzumerken, dass ROS durchaus nicht nur zelltoxische Substanzen sind, wie man allgemein annehmen möchte. So ist hinlänglich bekannt, dass ROS beispielsweise als sekundäre Botenstoffe (second messenger) in den Signalkaskaden des mammalen Organismus dienen<sup>1</sup>. Daneben spielen ROS auch bei der Pathogenabwehr in inflammatorischen Prozessen eine essentielle Rolle<sup>2</sup> und haben so gesehen durchaus eine positive Funktion im menschlichen Organismus.

Unter physiologischen Bedingungen sorgen körpereigene Schutzmechanismen in Form von zellulären Reparatursystemen, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll (eine Vielfalt an komplexen, nicht-enzymatischen AO oder antioxidativen Enzymsystemen wie etwa Dismutasen, Katalasen oder Peroxidasen) dafür, dass diese hochreaktiven Verbindungen weitgehend „neutralisiert“ werden. Somit stehen im physiologischen Zustand die körpereigenen Schutzmechanismen mit der körpereigenen ROS/RNS Produktion in einem sensibel austarierten Gleichgewicht<sup>3</sup>. Ist dieses jedoch nicht mehr gewährleistet, etwa durch einen (dauerhaft) erhöhten ROS Spiegel, oder ein vermindertes ROS-Quenching (Auslöschung) können Zellen (irreparabel) beschädigt werden und Signaltransduktionswege gestört werden. Dies kann sogar mit dem (kompletten) Funktionsverlust und dem Tod der Zelle einhergehen. Man spricht in diesen Fällen von sogenanntem oxidativer Stress (OS). Durch dieses Ungleichgewicht kann somit im Körper oder Gewebe ein pathologischer Zustand erreicht werden. So werden mittlerweile zahlreiche Erkrankungen mit OS in Verbindung gebracht. Zurzeit stehen vor allem die neurodegenerativen Erkrankungen im Fokus. So wurde nachgewiesen, dass etwa 20% aller ALS Patienten Mutationen im *SOD1* Gen besitzen<sup>4</sup>, welches für eine [Cu-Zn] Superoxid Dismutase kodiert. Auch wird ein erhöhter ROS Level für die Bildung von Amyloid- $\beta$  Aggregaten im Gehirn verantwortlich gemacht<sup>5,6</sup>. Diese umgangssprachlich als Plaques bezeichneten Amyloid-Oligomere werden als Hauptursache für die neurodegenerativen „Volksleiden“ Demenz und Morbus Alzheimer angesehen. Auch bei

Diabetes mellitus oder einer Reihe kardiovaskulärer Erkrankungen, sowie mehreren anderen chronischen Leiden und der (Zell-) Alterung wird OS als ein wesentlicher Promotor oder Mediator angenommen.

In den letzten Jahren wird aber auch zunehmend der Einfluss von ROS in Verbindung mit Fertilitätsproblemen diskutiert. Gerade im Zusammenhang mit einer unausgewogenen Ernährungsweise, gewissen Lifestyle Faktoren wie Rauchen oder Alkoholkonsum, wie auch einer Belastung durch Biozide durch die konventionelle Landwirtschaft oder industriell verursachte Schadstoffe und anderen Faktoren werden auch immer OS und Fertilitätsprobleme genannt. Dieser Artikel soll einen Überblick über den derzeitigen Wissensstand bezüglich möglicher schädigender Wirkmechanismen des OS auf die Fertilität bzw. Reproduktion geben und einen Ausblick über mögliche antioxidative Therapien.

## OXIDATIVER STRESS UND MÄNNLICHE FERTILITÄT

Obwohl es immer noch keinen einheitlichen Konsens über die Entwicklung der Spermienqualität im Verlauf der letzten Jahre gibt, weisen verschiedene Studien darauf hin, dass weltweit die Häufigkeit von Fruchtbarkeitsproblemen in der männlichen Bevölkerung zunimmt<sup>7,8,9</sup>. Ob dies tatsächlich so ist, sei in diesem Artikel nicht Gegenstand der Diskussion und deshalb offen gelassen. Mögliche Gründe für eine androgene Sub- bzw. Infertilität können aber vielfältig sein. Neben einer Reihe von angeborenen bzw. genetischen Ursachen für ein eingeschränktes Spermogramm können auch erworbene Faktoren (wie Infektionen, Lebensgewohnheiten und Umwelteinflüsse), etwa einseitige Ernährung, Exposition mit toxischen Substanzen, dauerhafte Überwärmung des Hodens und endokrine Disruptoren zu einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit führen. Auf der Suche nach den zugrunde liegenden Mechanismen für diese Pathologien ist in den letzten zehn Jahren zunehmend auch OS als Auslöser für Infertilität in den Fokus des Interesses gerückt<sup>10</sup>. Es ist zwar bekannt, dass ROS wichtig für die physiologische Funktionsweise und Reifung von Spermien sind. So werden ROS für die Kapazitation, die Hyperaktivierung, die Bewegung der Spermien, sowie die Akrosomenreaktion benötigt und sind daher für die Gametenverschmelzung essentiell<sup>10,11</sup>. Dies stellt jedoch nur die eine Seite der Medaille dar. Im Folgenden soll aufgezeigt werden, welchen Einfluss ein mögliches Ungleichgewicht zwischen ROS und Antioxidantien auf die Fortpflanzung haben kann.

## ROS-QUELLEN IM EJAKULAT

Das Ejakulat eines Mannes besteht aus verschiedenen Zelltypen. So finden sich neben reifen Spermien auch sogenannte Rundzellen, d.h. unreife Spermiovorstufen und Leukozyten<sup>11</sup>. Diese werden Studien zufolge als die Hauptproduzenten von ROS im Sperma angesehen<sup>11,12</sup>. Aktivierte Leukozyten produzieren über das NADPH-Oxidase-System massiv ROS zur Abwehr von Pathogenen (sogenannter „Oxidative Burst“). Dabei werden aus  $O_2$  und Nicotinamidadenin-dinukleotidphosphat (NADPH)  $O_2^-$  Radikale erzeugt. Des Weiteren synthetisiert die Myeloid-Peroxidase, die in neutrophilen Granulozyten vorkommt und bei der Regulation und Terminierung von Entzündungsprozessen essentiell ist, aus Chloridionen und  $H_2O$  die Hypochlorige Säure (HClO), die ebenfalls eine stark oxidative Wirkung besitzt. Während der letzten Stufe der Spermatogenese kommt es zur Zytoplasmareduktion. Dabei werden nicht benötigte zytoplasmatische Zellbestandteile (Residualkörperchen) ins Tubulus-Lumen abgestoßen oder von den Sertolizellen phagozytiert. Unreife Spermien enthalten noch diese Reste. Gomez et al. konnten nachweisen, dass diese eine weitere Quelle der ROS-Produktion im Sperma darstellen<sup>13</sup>.

## SCHÄDIGUNG DER SPERMEN DURCH ROS

Normalerweise gibt es wie eingangs erwähnt in eukaryotischen Zel-

len ein Gleichgewicht zwischen ROS und dem ROS-Quenching. Dies erfolgt über eine Vielzahl antioxidativ wirkender regulatorischer Enzyme wie z.B. die Superoxid Dismutasen, Katalasen und Glutathion-Peroxidasen und deren Cofaktoren, sowie anti-oxidative Substanzen wie z.B. Ascorbinsäure (Vitamin C), Tocopherole (Vitamin E) und Glutathion (GSH). Ist diese Balance gestört, beispielsweise durch stark vermehrtes Auftreten von ROS (etwa durch chronische Entzündungen) oder aber bei einem Mangel antioxidativ wirkender Substanzen, kommt es zu einer massiven Schädigung der Spermien<sup>14</sup>.

Spermien stellen unter allen mammalen Zelltypen eine Besonderheit dar. Zum einen weisen sie ein stark kondensiertes Chromatin auf. Dies bedeutet, dass sie transkriptionell inaktiv sind und damit auf erhöhten ROS-induzierten Zellstress hinsichtlich etwaiger Reparaturmechanismen nicht adäquat reagieren können<sup>15</sup>. Durch Zytoplasmareduktion ist auch die Menge an AO im Spermium verringert. Hinzu kommt, dass sie eine Plasmamembran mit besonders vielen mehrfach ungesättigten Fettsäuren haben. Diese sind überaus ROS-sensitiv. Sauerstoff ist etwa 7-8 löslicher in lipophilen Substanzen als in wässrigen Lösungen und daher sind Membransysteme auch besonders vom OS betroffen<sup>16</sup>. Durch die Oxidation von Fettsäuren senkt sich u.a. die Fluidität der Membran, was die Funktion von Membranproteinen eingeschränkt, und es kann zu verminderten Membranpotentialen, zu Veränderung, bzw. Störung der mitochondrialen Funktion und final auch zu Apoptose führen<sup>17</sup>. Mehrere Studien haben denn auch gezeigt, dass erhöhte ROS-Level mit einer verminderten Spermienbeweglichkeit einhergehen<sup>14</sup>.

Schwerwiegend ist auch eine Schädigung der Spermien DNS. ROS-induzierte DNS-Schäden und Veränderungen im Chromatin reichen von Basendeletionen, Mutationen, über DNS-Strangbrüche, fehlerhafter Chromatinverpackung bis hin zu veränderten epigenetischen Mustern<sup>18-20</sup>. Schädigungen der Erbinformation kommen dabei vor allem bei einer möglichen Befruchtung in der Embryonalentwicklung nach der Aktivierung des embryonalen Genoms am Tag 2 bzw. Tag 3 zum Tragen (auch bekannt als sogenannter „late paternal effect“). So zeigen mehrere Studien, dass Schäden an der Spermien DNS mit erhöhten Risiken für eine fehlerhafte Embryogenese, Frühaborten und Missbildungen korreliert sind<sup>21-22</sup>. Nach einer Studie weisen 30 bis 80% aller infertilen Männer eine erhöhte Menge an ROS im Seminalplasma auf<sup>10</sup>. Ergänzend dazu konnten Khosrowbeygi und Zarghami zudem eine starke Korrelation zwischen Asthenozoospermie (AS) und reduzierter antioxidativer Kapazität der Samenflüssigkeit von AS-, AT- und OAT Patienten nachweisen<sup>23</sup>.

Auch andere Studien bei Männern mit idiopathischer Infertilität fanden signifikant erhöhte ROS Spiegel im Seminalplasma im Vergleich zu gesunden Kontrollgruppen<sup>24</sup>. Eine weitere Untersuchung zeigte, dass Männer mit abnormalen Samenparametern auch erhöhte ROS Spiegel und ein erniedrigtes mitochondriales Membranpotential besitzen<sup>25</sup>. Eine Arbeit von Kumar et al.<sup>26</sup> fand darüber hinaus bei idiopathischen OAT Patienten nicht nur signifikant erniedrigte AO Konzentrationen, sondern zudem eine gesteigerte Anzahl von Mutationen in der mitochondrialen DNS. Eine Korrelation zwischen eingeschränkten Samenparametern und antioxidativer Kapazität scheint daher durchaus gegeben.

### OXIDATIVER STRESS UND LIFESTYLE

Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass einige Lebensgewohnheiten bzw. Lebensumstände oder die Kombination aus diesen sich durchaus in der Qualität des Spermigrammes widerspiegeln können<sup>27,28,29</sup>. Eine klassische Zivilisationskrankheit, die im Zusammenhang mit eingeschränkter Fertilität genannt wird, ist etwa Übergewicht. In Deutschland leiden aufgrund von Studien ca. 44% an

Übergewicht oder starkem Übergewicht (17%). Adipöse Männer haben einigen Studien zufolge Einschränkungen in Spermienzahl, wie auch der Qualität<sup>30,31</sup>. Auch die endokrine Situation ist bei dieser adipösen Subpopulation verändert. Es finden sich unter anderem durch die Aromataseaktivität der Lipozyten erhöhte Östrogen- bei insgesamt erniedrigten Testosteronspiegeln, was in letzter Konsequenz zu verringerter Fertilität führen kann<sup>30</sup>. Darüber hinaus zeigen aber auch mehrere Publikationen, dass Spermien dickleibiger Männer erhöhte DFI (DNS Fragmentierungsindex) Werte aufweisen<sup>32,33</sup>. Gibt es hier eine mögliche Verbindung zwischen ROS, DFI und hohen BMI Werten? Obwohl es letztendlich nicht viele Untersuchungen beim Menschen dazu gibt, konnten Tunc et al. in einer Studie mit 81 Patienten, eine, wenn auch nicht signifikante, Korrelation seminaler ROS Werte mit steigenden BMI Werten aufzeigen<sup>34</sup>. Auch in einem Tierversuchsmodell zeigten übergewichtige Mäuse im Vergleich zu ihren normalgewichtigen Artgenossen vermehrt Spermien mit DNS Schäden und signifikant höhere intrazelluläre ROS Level<sup>35</sup>.

Ein weiterer Grund für eine ROS-vermittelte, androgene Infertilität könnte möglicherweise aber auch das in den Industriestaaten steigende Reproduktionsalter sein. Es gibt zahlreiche Arbeiten, die eine verminderte Spermienqualität mit zunehmendem Mannesalter belegen<sup>36,37,27</sup>. Wie bereits eingangs erwähnt, wird eine starke Verbindung von Zellschädigung durch ROS und Alterungsprozessen postuliert. Jedoch gibt es mit wenigen Ausnahmen, wie etwa die Studie von Cocuzza et al.,<sup>38</sup> leider kaum vergleichende Studien des ROS Status im Seminalplasma von älteren und jüngeren Männern und mögliche daraus resultierende Schädigungen der Spermatozoen. Sehr wohl existieren aber dazu Untersuchungen im Tiermodell, etwa bei Ratten, die belegen, dass ältere Tiere eine verringerte Aktivität antioxidativ wirkender Enzyme in epididymalen Spermien und einen erhöhten Gehalt an  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$  wie auch an Lipidperoxiden (L-OOH) besitzen<sup>39</sup>.

Übermäßiger Tabakkonsum oder exzessiver Alkoholkonsum wirken sich je nach Studien mehr oder minder ebenso diametral auf die Samenqualität aus. Liu et al., zeigten in einer Studie, dass bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern sowohl Spermienkonzentration, die Motilität, als auch die Spermienmorphologie schlechter und die Konzentration von Zink im Seminalplasma reduziert ist<sup>40</sup>. Zink hat anti-oxidative Wirkung und ist unter anderem z.B. Kofaktor der Glutathion-Peroxidasen (GPx) und der nicht mitochondrialen Superoxid Dismutasen (SOD1 und SOD3). Des Weiteren wird Tabakkonsum mit einer vermehrten Anhäufung von Benzo(a)pyrendiolepoxyd-DNS Addukten in den Spermien in Verbindung gebracht<sup>41</sup>. Nach mehreren Studien weisen Raucher eine geringere Ascorbinsäurekonzentration im Seminalplasma, einen gesteigerten (DFI) und eine erhöhte Aktivität der Initiator Caspase-9 auf<sup>42-44</sup>. Saleh et al. zeigten, dass im Vergleich zwischen infertilen Rauchern und infertilen Nichtrauchern, die Raucher eine erhöhte Leukozytenkonzentration und konsequenterweise auch einen höheren ROS Level aufwiesen<sup>45</sup>. Exzessiver Alkoholkonsum verursacht offenbar ebenso erhöhte ROS Spiegel und Vitamin- bzw. AO Mangel<sup>46,47</sup>. Obwohl es anhand zahlreicher Studien eindeutige Belege gibt, dass übermäßiger Alkoholkonsum u.a. OS in Leber oder Niere auslöst, sei hier jedoch anzumerken, dass es kaum verlässliche Studien zu übermäßigem Alkoholkonsum, resultierendem OS und möglicher Auswirkung auf die Spermienqualität gibt.

Zur Aufrechterhaltung des körpereigenen antioxidativen Schutzsystems stellen AO, die mit der Nahrung aufgenommen werden, einen wichtigen Beitrag dar. Daher könnten auch einseitige Ernährungsgewohnheiten eine Rolle bei der seminalen ROS Konzentration spielen. Aus einer spanischen Studie aus dem Jahre 2009 geht hervor,

dass Männer, die mit der Nahrung wenige AO (z.B. in Form von Obst und Gemüse) zu sich nahmen, eine durchschnittlich schlechtere Samenqualität aufwiesen<sup>48</sup>. Eine neuere Studie die die Lebensgewohnheiten von 1683 IVF Patienten untersuchte, zeigte, dass deren tägliche verzehrte Obst- und Gemüseportionen mit durchschnittlich 1,3 Portionen pro Tag weit unter der von WHO/FAO empfohlenen Menge von 3-5 Portionen (etwa 400 g) lag<sup>27</sup>. Daher könnte eine diä-

tetische antioxidative Supplementierung bei androgener Subfertilität gerade bei ungesunder Ernährungsweise durchaus anzuraten sein. Es gibt auf diesem Gebiet starke Anhaltspunkte, dass bestimmte Essgewohnheiten bzw. eine Nahrungsergänzung mit antioxidativ wirkenden Substanzen eine positive Veränderung bestimmter Samenparametern bewirkt<sup>49,50</sup> und bei einer Kinderwunschbehandlung die Erfolgsaussichten der Behandlung steigern kann<sup>51,52</sup> (vgl. Tabelle 1).

| Publikation (alphabetisch nach Autor)                                    | Art der Publikation                                   | Pathologischer Befund  | Art der Antioxidans-Supplementierung     | Dosis pro Tag x/d  | Anzahl der Patienten | Befund/ Verbesserung der Spermienqualität durch antioxidative Supplementierung   |
|--|---|--|--|--|----------------------|--|
| Akmal et al., 2006<br><i>J Med Food</i><br>PMID:17004914                 | Studie  | Oligospermie   | Vitamin C                                | 1g, 2xd  | 13                   | Ja, Verbesserung hinsichtlich Anzahl, Motilität und Morphologie  |
| Balercia et al., 2009<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID:18395716           | Doppelt randomisierte Studie                          | Spermienkonzentration > 20 x 10(6)/ml, Motilität < 50%                   | Coenzym Q10                              | 200 mg, 2xd  | 60                   | Ja, verbesserte Motilität  |
| Ciftci et al., 2009<br><i>Urology</i><br>PMID: 19428083                  | Randomisierte, placebokontrollierte Studie            | Idiopathische Infertilität   | N-Acetylcystein (NAC)                    | 600 mg, 1xd  | 120                  | Ja, Verbesserung von Volumen, Beweglichkeit und Viskosität des Samens  |
| Comhaire et al., 2005<br><i>Asian J Androl</i><br>PMID: 16110353         | Doppelblind randomisierte Studie                      | Infertilität   | Astaxanthin                              | 16 mg, 1xd   | 30                   | Ja, Reduktion von ROS und Inhibin B, Erhöhung der Schwangerschaftsrate   |
| Greco et al., 2005<br><i>Hum Reprod</i><br>PMID: 15932912                | Studie  | >15% Spermien mit DNS Fragmentierung und 1 fehlgeschlagener ICSI Versuch | Vitamin C<br>Vitamin E                   | 1 g + 1 g, 1xd   | 38                   | Ja/Nein, Niedrigere DNS-Fragmentierungsrate in den Spermien, keine Unterschiede in Fertilisierungsrate und Embryomorphologie, merkliche Erhöhung in klinischer SS-Rate |
| Gupta und Kumar, 2002<br><i>Int Urol Nephrol</i><br>PMID: 12899230       | Studie  |  | Lycopene                                 | 2g, 2xd  | 30                   | Ja, Verbesserung hinsichtlich Konzentration und Motilität  |
| Keskes-Ammar et al., 2003<br><i>Arch Androl</i><br>PMID: 12623744        | Randomisierte offene Studie                           | Infertilität   | Vitamin E und Selen, Vitamin B           | 400 mg, 225 µg, 1xd  | 54                   | Ja/Nein, Verringerung von Malondialdehyd als Marker für Lipidperoxidation, Spermienbeweglichkeit nahm zu. Vitamin B zeigt keine Verbesserung                           |
| Lenzi et al., 2004<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID: 15193480             | Placebokontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie | Infertilität   | L-Carnitin und L-Acetyl-Carnitin         | 2 g + 1 g, 1xd   | 56                   | Ja, Verbesserungen bei allen Spermienparametern, insbesondere Beweglichkeit  |
| Ménézo et al., 2007<br><i>Reprod Biomed Online</i><br>PMID: 17425820     | Studie  | Nein. Gesunde Nichtraucher   | Vitamin C und E, Zn, Se, β-Caroten       | Vitamin C und E je 400 mg, β-Caroten 18 mg, Zn 500 µmol Se 1 µmol, 1xd | 89                   | Ja/Nein, Geringere DFI Rate, aber vermehrt Chromatinkondensation in den Spermien   |
| Moslemi und Tavanbakhsh, 2011<br><i>Int J Gen Med</i><br>PMID: 21403799  | Studie  | AT Syndrom   | Vitamin E+Se                             | 200 µg Se, Vitamin E 400 U, 1xd  | 690                  | Ja, Verbesserung hinsichtlich Motilität und Morphologie/Erhöhte Schwangerschaftsrate der Partnerinnen  |
| Oliva et al., 2009<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID: 18990381             | Studie  | Varicozelenassoziierte Infertilität                                      | Zn+Folsäure+Pentoxifyllin                | 600 mg Pentoxifyllin, 5 mg Folsäure, 66 mg Zinksulfat, 2xd             | 36                   | Ja, Verbesserung hinsichtlich Morphologie  |
| Omu et al., 2008<br><i>Med Princ Pract</i><br>PMID: 18287793             | Randomisierte Studie                                  | Asthenozoospermie  | Zn; Zn+Vitamin E; Zn+Vitamin C+Vitamin E | 200 mg, 10mg, 5mg, 1xd   | 45                   | Ja, Zn alleine ausreichend, Vit.E und C kein zusätzlicher Benefit verminderter OS, verbesserte Motilität, Morphologie, verminderte Apoptoseparameter, geringerer DFI   |
| Paradiso Galatioto et al., 2008<br><i>World J Urol</i><br>PMID: 17982752 | Studie  | Oligospermie   | NAC, Vitamine und Mineralstoffe          | NAC: 600 mg, 1xd   | 20                   | Ja/Nein, Verbesserte Spermienparameter, keine Zunahme der spontanen Schwangerschaften  |

| Publikation (alphabetisch nach Autor)                                       | Art der Publikation  | Pathologischer Befund                              | Art der Antioxidans-Supplementierung  | Dosis pro Tag x/d                                       | Anzahl der Patienten                              | Befund/ Verbesserung der Spermienqualität durch antioxidative Supplementierung  |
|---|--|--|---|---|---|---|
| Ross et al., 2010<br><i>Reprod Biomed Online</i><br>PMID: 20378409          | Review randomisierter Studien basierend auf MEDLINE, EMBASE, Cochrane Library und CINAHL | Heterogene Population                              | Jegliche Art und Kombination von Antioxidantien, unterschiedliche Dosierungen |   | 17 randomisierte Studien (1.665 Männer umfassend) | <b>Ja</b> , 14 von 17 (82%) Studien zeigten entweder Verbesserung der Spermienqualität oder der Schwangerschaftsrate nach Supplementierung  |
| Safarinejad, 2011<br><i>Int Urol Nephrol</i><br>PMID: 22081410              | Studie   | OAT Syndrom  | Coenzym Q10   | 300 mg, 2xd   | 287   | <b>Ja</b> , Verbesserung hinsichtlich Anzahl, Motilität und Morphologie   |
| Safarinejad und Safarinejad, 2009<br><i>J Urol</i><br>PMID: 19091331        | Randomisierte Studie   | OAT Syndrom  | Se + NAC  | 200 µg Se, 600 mg NAC, 1xd                              | 468   | <b>Ja</b> , additive Effekte aus beiden Antioxidantien vor allem Spermienkonzentration und Morphologie  |
| Showell et al., 2011<br><i>Cochrane Database Syst Rev</i><br>PMID: 21249690 | Cochrane Review  | Männliche IVF Patienten                            | Jegliche Art und Kombination von Antioxidantien                               |   | 34 Studien (2.876 Paare umfassend)                | <b>Ja</b> , nach Auswertung signifikant erhöhte Schwangerschaftsrate  |
| Sigman et al, 2006<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID: 16600222                | Prospektive, randomisierte, placebokontrollierte Doppelblindstudie                       | Infertilität mit Spermienbeweglichkeit 10 % - 50 % | L-Carnitin und L-Acetyl-Carnitin  | 2 g L-Carnitin und 1 g L-Acetyl-Carnitin, 1xd           | 21  | <b>Nein</b> , es wurden keine Unterschiede der Spermienparameter festgestellt   |
| Tunc et al., 2009<br><i>Reprod Biomed Online</i><br>PMID: 19490779          | Studie   | Infertilität, Oxidativer Stress                    | Lycoplen, Vitamin E,C, Zn Se Folsäure Knoblauchöl                             | 6 mg, 400 IU, 100 mg, 25 mg, 26 µg, 500 µg, 333 µg, 1xd | 50  | <b>Ja/Nein</b> , Verbesserung der Integrität der Spermien DNS (p = 0,002), Verbesserung der Protaminisierung (p < 0,001), Reduktion seminaler ROS-Produktion (p = 0,027) und Apoptosis (p = 0,004). Keine Veränderungen der konventionellen Spermienparameter (Konzentration, Motilität, Morphologie) |
| Wong et al., 2002<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID: 11872201                 | Placebokontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie                                    | Subfertilität                                      | Zn + Folsäure   | 5 mg Folsäure, 66 mg Zinksulfat, 1xd                    | 103   | <b>Ja</b> , 74 % Steigerung der Gesamtspermienzahl  |
| Young et al., 2008<br><i>Hum Reprod</i><br>PMID: 18353905                   | Fragebogen zur Ernährung   | Nein. Gesunde Nichtraucher                         |   |   | 89  | <b>Ja/Nein</b> , Hohe Folat-Zufuhr korreliert mit geringerer Trisomie und Aneuploidierate in den Spermien. Keine Korrelation zwischen der Einnahme von Vitamin C,E, Zn und Aneuploidie bzw. Trisomierate  |

**Tabelle 1:** Übersicht über einige ausgewählte androgene anti-oxidative Supplementierungsstudien aus PubMed gelisteten Journalen von 2000 bis heute.

## OXIDATIVER STRESS UND XENOBIOTIKA

Die Auswirkungen von Xenobiotika auf die männliche Fertilität seien auf Grund der Vielfalt und Wirkung verschiedenster Substanzklassen nur kurz angesprochen. Es ist inzwischen auf Grund epidemiologischer Untersuchungen und Tierversuchen unumstritten, dass die Fertilität durch eine ganze Reihe von Chemikalien, die vom Menschen in die Umwelt eingebracht werden, beeinflusst wird. Die meisten Untersuchungen über den Einfluss von Xenobiotika auf Spermienqualität und entstehendem OS basieren jedoch auf Experimenten an Nagetieren. An erster Stelle der Xenobiotika seien hier Pflanzenschutzmittel genannt. Die Wirkungsweise einer ganzen Reihe von Pflanzenschutzmitteln und Bioziden, wie etwa Lindan, beruht unter anderem auf der Entstehung von Radikalen bzw. ROS bzw. einer Beeinträchtigung der Atmungskette, bei der ebenfalls Sauerstoffradikale erzeugt werden.

Im Tierversuch wiesen Ratten, denen oral das Herbizid Atrazin verabreicht wurde, eine höhere Konzentration von Lipidperoxiden (einem Oxidationsprodukt ungesättigter Fettsäuren) im Hoden und Nebenhoden auf. Darüber hinaus wiesen eine ganze Reihe von Samenparametern wie Motilität und Morphologie eine Verschlechterung auf<sup>53</sup>. In einer weiteren Studie wurde nachgewiesen, dass das Insektizid Dimethoat *in vitro* bei Rattenspermien zu einem dosisab-

hängigen OS und einer Abnahme der Spermienmotilität, der Viabilität und einer verringerten Aktivität der ROS abbauenden Enzyme SOD, Katalase und GPx führt<sup>54</sup>. Interessanterweise zeigte sich bei den Spermien, die zuvor *in vitro* mit  $\alpha$ -Tocopherol oder Ascorbinsäure inkubiert wurden, eine signifikant protektive Wirkung mit einer deutlichen Verbesserung der aufgeführten Parameter. Ein weiteres Insektizid, das Lambda-Cyhalotrin (LCT) aus der Klasse der Pyrethroide wirkt sich ebenfalls ROS-induzierend und reproduktionstoxisch aus. Kaninchen, die mit LCT gefüttert wurden, wiesen kleinere Hoden, einen geringeren Testosteronspiegel, schlechtere Samenparameter und eine geringere Glutathion-S-Transferase-Aktivität auf. Jedoch scheint die zusätzliche Fütterung von Vitamin E diese LCT induzierten Effekte lindern zu können<sup>55</sup>. Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), häufig nur als Dioxin (oder umgangssprachlich als „Seveso Gift“) bezeichnet, ist ein unerwünschtes, wie ebenso häufig auftretendes Nebenprodukt pyrolytischer Reaktionen. Neben seiner kanzerogenen Wirkung induziert es im Tierversuch ebenso OS im Rattenhoden durch eine Aktivitätsabnahme antioxidativ wirkender Enzyme und einer Zunahme von ROS<sup>56</sup>. Auch hier gibt es starke Hinweise darauf, dass eine Supplementierung mit AO wie etwa dem Flavonoid Quercetin oder mit Vitamin E einen protektiven Effekt auf die Spermien haben könnte<sup>57,58</sup>. Phthalatsäureester (Phthalate), die als sogee-

nannte Weichmacher für Kunststoffe (PVC, Elastomere) verwendet werden, wurden auf Grund ihrer Hormon-ähnlichen Wirkung in den letzten Jahren immer wieder mit Fertilitätsproblemen in Verbindung gebracht. Lee et al., konnten zudem zeigen, dass bei Ratten die orale Aufnahme von Phtalatsäureestern zu einem Anstieg des ROS Spiegels führt und reziprok dazu die AO Konzentration im Testis sinkt<sup>59</sup>.

### **DIE BEDEUTUNG VON OXIDATIVEM STRESS IM ZUSAMMENHANG MIT VARIKOZELEN UND KRYPTORCHISMUS**

Bei ungefähr 15% der Paare mit Fertilitätsproblemen findet man als Ursache eine männliche Infertilität, verursacht durch eine klinische oder subklinische Varikozele des Mannes<sup>60</sup>. Darunter versteht man die abnormale Windung und Dilatation von Venen des Rankengeflechtes (Plexus pampiniformis) im Samenleiter. Noch immer ist nicht abschließend geklärt, durch welchen Mechanismus die Varikozele zu einer Störung der Spermatogenese führt.

Sehr verbreitet ist die Annahme, dass die Stauung oder der Verschluss kleiner Gefäße zu einer Hypoxie führen, welche Leydig-Zellen und Keimzellen gleichermaßen schädigt. Ein kausaler Zusammenhang von Hypoxie und ROS Entstehung ist belegt<sup>61</sup>. Es wird aber auch postuliert, dass die Induktion von OS hierbei thermisch erfolgt, das heißt, dass die Erhöhung der testikulären Temperatur einen entscheidenden Mechanismus zur Spermien-schädigung darstellen könnte<sup>62</sup>. In klinischen Studien konnte bestätigt werden, dass Varikozele-Patienten eine erhöhte ROS-Produktion, ein hohes Maß an oxidativ induzierten DNS-Schäden in den Spermien und verringerte AO-Konzentrationen im Seminalplasma aufweisen<sup>63,64</sup>. Dies ist in Konkordanz mit einer Arbeit<sup>65</sup>, bei der in einer 4-wöchigen Kombinationsbehandlung von 36 Varikozelen Patienten mit Zink, Folsäure und Pentoxifyllin signifikante Verbesserungen der Spermienmorphologie beobachten konnte. Auch geht eine chirurgische Entfernung der Varikozele beim Menschen mit verbesserten Spermienparametern und einem erhöhten anti-oxidativen Status der Spermien und des Seminalplasmas einher<sup>66</sup>. In einer vorläufigen Studie mit 11 Patienten wurden bei einer Varikozelektomie prä- und postoperativ die Spermien auf DNS Schäden untersucht bzw. der ROS Gehalt gemessen. Die Varikozelektomie führte dabei zu einem drastischen Abfall der DNS Schäden wie auch des ROS Levels in einem relativ kurzen Zeitraum<sup>67</sup>. Eine kürzlich veröffentlichte randomisierte Studie von Azizollahi et al. zeigte, dass eine 6-monatige orale Supplementierung mit Zink und Folsäure bei Varikozelektomie Patienten im Vergleich zu einer Placebo Gruppe zu einer signifikanten Verbesserung mehrerer Samenparameter führt<sup>68</sup>.

Im Tiermodell beobachtet man bei experimentellen Varikozelen, etwa bei Ratten, ebenso eine starke Zunahme der Lipidoxidation, der NO-Produktion und einen Abfall des anti-oxidativen Status in den Hoden<sup>69</sup>. Die pathologischen Konsequenzen der experimentellen Varikozele lassen sich aber offenbar auch hier durch die Gabe des anti-oxidativ wirkenden Melatonins signifikant abmildern<sup>70</sup>. Ein Großteil des Wissens über einen Zusammenhang zwischen Kryptorchismus und OS stammt aber fast ausschließlich aus Forschungen an Ratten und Mäusen mit experimentell induziertem Kryptorchismus. Man findet bei diesen Tieren, wie bei der induzierten Varikozele, eine deutlich erhöhte Temperatur in den Hoden und auch erhöhte ROS Spiegel<sup>71</sup>.

### **DIE BEDEUTUNG VON OXIDATIVEM STRESS IM ZUSAMMENHANG MIT INFZEKTIONEN UND (AUTO-) IMMUNERKRANKUNGEN**

In den letzten Jahrzehnten hat sich eine ganze Reihe von Infek-

tionskrankheiten (regional wie auch global) stark ausgebreitet. Dies betrifft beispielsweise die sexuell übertragbaren viral oder bakteriell verursachten Krankheiten wie etwa HIV, HBV oder Chlamydien, um nur einige zu nennen. Darüber hinaus nehmen gerade multisystemische Infektionskrankheiten, wie etwa die Lyme Borreliose in Mitteleuropa drastisch zu<sup>72</sup>. Diese Erkrankung bleibt oft unerkannt und manifestiert sich mitunter in chronischen Entzündungen in allen Bereichen des Körpers. Leider ist im Zusammenhang zwischen multisystemischen Infektion, daraus resultierendem OS und Fertilität wenig bekannt. Dennoch gibt es viele Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Infektion und einer erhöhten ROS-Produktion. Während einer Infektion aktivieren Zytokine Leukozyten, einen Hauptproduzenten von ROS im Seminalplasma. Diese ROS-bedingte Pathogenabwehr schädigt gleichzeitig aber auch die Spermien<sup>73</sup>. So werden Chlamydieninfektionen mit einer Zunahme von ROS-induzierten Schäden an Spermien in Verbindung gebracht<sup>74</sup>. Eine andere Studie von La Vignera et al. zeigte, dass männliche HCV-Patienten signifikant schlechtere Spermienparameter hinsichtlich Motilität, Morphologie, DFI, Apoptose, Chromatinstatus und auch erhöhte ROS-Level aufwiesen<sup>75</sup>. Einige Arbeiten postulieren auch einen Zusammenhang zwischen Herpes simplex und Leukospermie<sup>76</sup>. Auch hier könnte es eine Verbindung mit OS geben. Eine autoimmun wie bakteriell bedingte chronische Prostatitis oder generelle Entzündung des männlichen Urogenitalbereiches kann in einer erhöhten Leukozytenkonzentration im Seminalplasma und dem damit verbundenen ROS Anstieg resultieren<sup>77</sup>.

### **ROS UND WEIBLICHE FERTILITÄT**

Bezug nehmend auf die weibliche Fertilität sollte man zunächst analysieren, über welche pathophysiologischen Mechanismen es überhaupt zu einer Beeinflussung der weiblichen Fertilität kommen kann. Die Mechanismen sind so vielfältig wie die verschiedenen körperlichen Funktionen, die im physiologischen Zusammenspiel eine intakte Schwangerschaft ermöglichen. Hier müssen Einflüsse auf Zellebene (z.B. mitochondriale Funktion, DNS-Integrität des Gameten) ebenso diskutiert werden, wie pathophysiologische Prozesse, die im Rahmen von Erkrankungen entstehen, welche ein Schwangerschaftsgeschehen erschweren oder gefährden können (Endometriose, Präeklampsie, habituelle Abortneigung). Auch physiologische Prozesse, die mit vermehrten ROS einhergehen, sollten Erwähnung finden. Schließlich muss auch der Einfluss von ROS auf den einnistenden Embryo und die Entwicklung des späteren Fetus diskutiert werden, da auch direkte schädigende Einflüsse von ROS auf den Embryo zur Infertilität und Abortneigung beitragen könnten.

### **EINFLUSS VON ROS AUF DIE WEIBLICHE FERTILITÄT UND ROS-QUELLEN BEI DER FRAU**

Auch im weiblichen Organismus spielen ROS bei diversen Prozessen eine physiologische Rolle. Unter anderem sind ROS bei der Eizellreifung, Ovulation, Atresie antraler Follikel zugunsten des Leitfollikels und auch in der Lutealphase und bei der Auslösung der Menstruationsblutung beteiligt. Auch die Steroidbiosynthese innerhalb der Ovarien kommt nicht ohne eine ROS-bedingte Signaltransduktion aus<sup>78</sup>. Schließlich wird auch die Gelbkörperfunktion ganz wesentlich von den Interaktionen von ROS oder Nitritoxiden (NO) mitbestimmt. Nitritoxide inhibieren die Steroidbiosynthese im Corpus luteum und wirken somit luteolytisch, auch durch Erhöhung der Prostaglandine und durch Induktion von Apoptose<sup>79</sup>. Zum anderen verhindern AO aber beispielsweise in der Follikelflüssigkeit etwa die oxidative Schädigung der Lecithin-Cholesterol-Acetyltransferase (LCAT) welche



eine wichtige Rolle in der Bildung von der folliculären Östrogensynthese spielt<sup>80</sup>. ROS haben, wie eingangs erwähnt, endogene wie exogene Ursachen. Insbesondere sehr proliferativ- bzw. stoffwechselaktive Zellen und Gewebe wie das Endometrium oder Embryonen produzieren im Rahmen der Energiegewinnung große Mengen endogener ROS durch die oxidative Phosphorylierung. Eine Verschiebung der ROS/OA Balance zugunsten der ROS hat aber im weiblichen Organismus eine ebenso nachteilige Wirkung wie im Männlichen. Auch die ROS Quellen, die für die Unausgewogenheit sorgen, sind zumeist die gleichen, wie etwa mögliche Entzündungsherde mit Erhöhung der Leukozyten und Zytokin-vermittelten Entzündungsreaktionen oder (z.B. altersbedingt) einer reduzierten, fehlerhaften mitochondrialen Energiegewinnung mit erhöhtem ROS Anstieg in den Zellen.

### **BEEINTRÄCHTIGUNG DER WEIBLICHEN FERTILITÄT DURCH GESTÖRTE MITOCHONDRIENFUNKTION**

Neben der Peroxidation der mehrfach ungesättigten Fettsäuren in Zellmembranen, die zu einer Veränderung der Membraneigenschaften führen kann und somit die biologische Funktion beeinflusst, schädigen ROS auch die mitochondrialen Bestandteile. Da Mitochondrien durch die Energieproduktion gehäuft ROS produzieren, werden auch sie selbst ohne ausreichendes ROS-Quenching besonders geschädigt. Geschädigte Mitochondrien wiederum setzen vermehrt ROS frei<sup>81</sup>. Durch diese Kaskade kann es zu einer Störung der physiologischen Prozesse, einer Freisetzung pro-apoptotischer Proteine (wie z.B. Cytochrom c) und zum Zelltod kommen. Da es sich bei der Embryonalentwicklung, Implantation und Schwangerschaft um sehr dynamische Prozesse mit einem hohen energetischen Aufwand und massiver mitochondrialer Tätigkeit handelt, ist die Wahrscheinlichkeit eines OS/AO-Ungleichgewichts während der Schwangerschaft durchaus gegeben.

### **EINFLÜSSE VON ROS AUF DIE GENETISCHE INTEGRITÄT DER EIZELLE**

DNS-Schäden in den Gameten haben natürlich unter dem Aspekt der Fertilität einen besonderen Stellenwert. OS kann, wie oben bereits erwähnt, im Gameten zu allen Formen der DNS-Schädigung führen. Diese können in einem Absterben der Eizelle, einer Beeinträchtigung der Imprägnationsfähigkeit, einer verminderten Embryoqualität und somit in Infertilität, Abort oder in massiven Beeinträchtigungen des Fötus resultieren. Auch die Spindelfunktion kann durch ROS beeinträchtigt werden<sup>82</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass durch ROS sowohl die Ausrichtung der Chromosomen in der Metaphase II sowie der Aufbau der Mikrotubuli negativ beeinflusst werden<sup>83</sup>. Der beobachtete negative Einfluss der ROS auf die Spindel führte dosis- und zeitabhängig von der schädigenden Noxe zu irreversiblen Schäden der Mikrotubuli. Solche Schäden an den Mikrotubuli könnten eine Erklärung für das Fertilisationsversagen oder für die zunehmenden Aneuploidieraten bei Eizellen älterer Frauen sein, da der Alterungsprozess möglicherweise auch mit ROS Schädigungen korreliert<sup>84,85</sup>.

### **DIE PHYSIOLOGISCHEN EIGENSCHAFTEN VON ROS AUF DAS ENDOMETRIUM**

Es wird vermutet, dass ROS einen wesentlichen Einfluss auf den Beginn der Zyklusblutung haben. Vermutlich wird durch erhöhte ROS-Level eine Kaskade verschiedener Prozesse ausgelöst, die schließlich in der sekretorischen Phase zu einem Ablösen der Gebärmutter-schleimhaut führen<sup>86</sup>. Dafür sprechen auch die vorgefundenen erhöhten Lipid-Peroxidase-Konzentrationen im Endometrium bei gleichzeitig erniedrigter Cu-Zn-Superoxid-Dis-mutase-Aktivität. Auch konnte *in vitro* an endometrialen Zellen

gezeigt werden, dass eine absinkende Östrogen- und Progesteron-Zufuhr die SOD-Level senken und somit das feine Gleichgewicht der Oxidantien und AO zugunsten der ROS verschieben kann. Dies führt dann *in vivo* zur Ablösung der Gebärmutter-schleimhaut – und verhindert so die Implantation eines Embryos<sup>87</sup>. Auch die Angiogenese zum Aufbau eines funktionsfähigen Endometriums wird über ROS/RNS als Signalübermittler geregelt. Es konnte nachgewiesen werden, dass die endotheliale NO-Synthetase (NOS) wesentlich bei der Vorbereitung zur Implantation des Embryos beiträgt<sup>88</sup>. Zu hohe NO Konzentrationen werden jedoch mit einer verschlechterten Implantationsrate assoziiert<sup>89</sup>.

### **ENDOMETRIOSE UND ROS**

Es gibt Schätzungen, die davon ausgehen, dass Endometriose für 21-41% der Fertilitätsprobleme bei Frauen verantwortlich ist. Wie weit OS in der Genese der Endometriose eine Rolle spielt, ist bis heute nicht ganz sicher. Dennoch gibt es einige Studien, die deutlich erhöhte ROS Level bei Frauen mit Endometriose und erniedrigte Werte von nicht-enzymatischen AO in der Peritonealflüssigkeit der betroffenen Frauen nachweisen konnten.<sup>86,90-93</sup> Auch die Enzymaktivität einiger ROS-Quencher (wie z.B. GPx) scheint bei Frauen mit Endometriose verändert zu sein<sup>94-96</sup>. In Diskrepanz dazu stehen jedoch Studien, die keinen signifikanten Unterschied in der Höhe des totalen antioxidativen Status (TAS) der Endometriose-Patientinnen im Vergleich mit der Normalbevölkerung feststellen<sup>97</sup>. Ein breiter Konsens besteht jedoch dahingehend, dass die erhöht gemessenen intraperitonealen Eisenwerte bei Endometriose-Patientinnen und inflammatorische Resorptionsvorgänge durch freigesetztes Hämoglobin aus intra-abdominalen Endometrioseherden über anhaltende Entzündungsreize zu einer erhöhten ROS Produktion führen können<sup>98</sup>.

Die Ätiologie der Endometriose ist nicht sicher geklärt. Es gibt aber Theorien, dass eine veränderte NOS Produktion auch über die Induktion der endometrialen Angiogenese mit an der Endometrioseentstehung beteiligt ist<sup>99</sup>. Dass OS über einen Anstieg der vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGF) die Angiogenese und somit die Endometriose begünstigen kann, gilt als gesichert<sup>100</sup>. Ein weiterer Fakt ist, dass OS auch die Produktion von TNF- $\alpha$  induziert. Dieser Faktor ist ein wichtiges pro-inflammatorisches Zytokin, welches im endometrialen Aufbau und Abbluten eine essentielle Rolle spielt. Es konnte gezeigt werden, dass die TNF- $\alpha$  Konzentration in der peritonealen Flüssigkeit mit dem Fortschreiten der Endometriose korreliert<sup>101</sup>. Wie und in wie weit die bei der Endometriose erhöhten ROS-Level die Eizellenqualität aber beeinflussen, kann nur vermutet werden, es gibt aber die Hypothese, dass ROS auch im Ovar zu einer Lipidperoxidation von Membranen zu Malonaldehyd (MDA) führt, welches dann unter anderem auch die Bildung von Autoimmunantikörpern begünstigt. Dies führt möglicherweise über eine immunologische autoregulatorische Kaskade zur Erhöhung der Makrophagen Konzentration, welche dann ihrerseits wiederum den OS weiter erhöhen<sup>98</sup>. Zudem könnten MDA-Auto-Antikörper durch Bindung an Oberflächenproteinen des Gameten auch zur Blockade von wichtigen Rezeptorfunktionen führen, welche Stoffwechsel, Befruchtung oder Kapazitation der Gameten empfindlich stören können<sup>102</sup>. Therapeutische Ansätze mit supplementierten AO zeigen in einigen Studien deutliche Verbesserungen autoimmunologisch bedingter Symptome (siehe Tabelle 2). Beispielsweise konnte nach einer täglichen Supplementierung von Vitamin C und E über vier Monate eine Verringerung der Lipidperoxidierung und MDA-Auto-Antikörperbildung im Blut der

Frauen nachgewiesen werden<sup>103</sup>. In einer weiteren Studie wurden Frauen mit und ohne Endometriose über ihre Ernährungsgewohnheiten befragt. Dabei zeigte sich, dass die Endometriose-Gruppe offensichtlich deutlich weniger AO zu sich nahm. Daraufhin wurde die Endometriose-Gruppe in eine Kontrollgruppe und eine Gruppe, der die tägliche Aufnahme von Vitamin A, C und E empfo-

len wurde, aufgeteilt. Im Verlauf der 4-monatigen Studie konnte eine Verminderung der OS Marker MDA und Lipidhydroperoxide und somit verringerte Auto-Immunkörper in der Vitamingruppe festgestellt werden<sup>104</sup>. Dennoch wird ein Zusammenhang zwischen OS und Endometriose weiterhin kontrovers diskutiert und wird hoffentlich im Fokus weiterer zukünftiger Studien stehen.

| Publikation   | Art der Publikation   | Pathologischer Befund                     | Erhöhter ROS-Level   | Art der Antioxidans-Supplementierung                       | Dosis  | Anzahl der Patienten | Befund/ Verbesserung durch Antioxidans-Supplementierung   |
|---|---|---|--|--|--|----------------------|---|
| Chavarro et al., 2008<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID: 17624345                 | Fragebogen  | Subfertilität                             |  | Multivitaminpräparat                                       |  | 18.555               | Ja, Häufigkeit der Einnahme von Multivitaminpräparaten war umgekehrt proportional zur Wahrscheinlichkeit einer ovulatorischen Infertilität  |
| Naziroğlu et al., 2004<br><i>Clin Chem Lab Med</i><br>PMID: 15202787            | Studie  | Subfertilität                             |  | Vitamin C und E  |  | Tiermodell Ratte     | Ja, Verbesserter Schwangerschaftserfolg   |
| Toledo et al., 2011<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID: 21943725                   | Fragebogen  | Subfertilität                             |  | keine  |  | 2.154                | Ja, Mediterrane Ernährungsweise ist mit geringerem Risiko für Subfertilität assoziiert  |
| Griesinger et al., 2002<br><i>J Assist Reprod Genet</i><br>PMID: 12036083       | Prospektive, doppelblind randomisierte, placebokontrollierte Studie | Subfertilität                             |  | Vitamin C  | 1, 5 oder 10g, 1xd   | 620                  | Nein, keine Unterschiede bezüglich der klinischen Schwangerschaftsrate und Implantationsrate  |
| Agrawal et al., 2011<br><i>Reprod Biomed Online</i><br>PMID: 22138521           | Prospektive randomisierte Studie                                    | Subfertilität                             |  | Multivitamin-, Mineralstoffpräparat                        |  | 56                   | Ja, Steigerung der klinischen Schwangerschaftsrate  |
| Özkaya et al., 2010<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID: 20226443                   | Studie  | Subfertilität                             | Ja   | Multivitamin- und Mineralstoffpräparat mit Folsäure        | 0,8 mg Folsäure, 1xd   | 69                   | Ja, niedrigere Lipidperoxidation in Serum und Follikelflüssigkeit, höherer antioxidativer Status in der Follikelflüssigkeit   |
| Westphal et al., 2004<br><i>J Reprod Med</i><br>PMID: 15134155                  | Doppelblind, placebokontrollierte Studie                            | Subfertilität                             |  | Vitex, L-Arginin, Vitamin E, B6, B12, Folsäure, Fe, Zn, Mg | 150 IU Vit E, 6 mg B6, 12 mcg B12, 400 mcg Folat, 18 mg Fe, 400 mg Mg, 15 mg Zn, 70 mcg Selen, 1080 mg L-Arginin, Grüner Tee, Vitex, 1xd | 30                   | Ja, Verbesserter Zyklus und erhöhte Schwangerschaftsrate  |
| Dong et al., 2001<br><i>J Reprod Med</i><br>PMID: 11725732                      | Studie  | Idiopathische Subfertilität, Endometriose | Ja, Stickoxidmetabolite in Peritonealflüssigkeit erhöht                    | keine  |  | 83                   |   |
| Hernández Guerrero et al., 2006<br><i>Ginecol Obstet Mex.</i><br>PMID: 16634350 | Fragebogen + LOOH Bestimmung in Plasma und Peritonealflüssigkeit    | Endometriose                              | Ja, Lipidperoxide (LOOH) in Plasma und Peritonealflüssigkeit               | keine  |  | 46                   | Ja, Korrelation zwischen Endometriose und ROS sowie oraler Antioxidanzienzufuhr   |
| Mir-Cabrera et al., 2008<br><i>Int J Gynaecol Obstet</i><br>PMID: 18005966      | Studie  | Endometriose                              | Ja, Lipidperoxide in Plasma und Malondialdehyd (MDA) Peritonealflüssigkeit | Vitamin C und E  | 343 mg und 84 mg, 1xd  | 34                   | Ja/Nein, Plasma und Peritonealflüssigkeit zeigten geringere Konzentration an den OS Markern MDA und LOOH, jedoch kein Unterschied in der Schwangerschaftsrate zwischen Placebo- und Vitamingruppe |

|   |  |                   |  |   |                        |     |  |
|---|--|-------------------|--|---|------------------------|-----|--|
| Mir-Cabrera et al., 2009 <i>Reprod Biol Endocrinol</i> PMID: 19476631 | Fragebogen über orale AO Aufnahme und Empfehlung zur AO Gabe | Endometriose      | Ja, Marker MDA und LOOH im Plasma erhöht | 1050 µg Retinoderivate, Vitamin C (500 mg), Vitamin E (20 mg) | 500 mg bzw. 20 mg, 1xd | 83  | Ja, „Endometriosegruppe“ zeigt niedrigere Zufuhr von Vitaminen. Antioxidative Diät verringert OS Marker MDA und LOOH im Plasma |
| Vural et al., 2000 <i>Clin Chim Acta</i> PMID: 10767402               | Studie   | Habituelle Aborte |  |   |                        | 170 | Patientinnen mit habituellen Aborten zeigten reduzierten antioxidativen Status   |
| Amin et al., 2008 <i>Reprod Biomed Online</i> PMID: 18983759          | Studie   | Habituelle Aborte |  | NAC +Folsäure   | 0,6 g bzw. 0,5 g, 1xd  | 166 | Ja, Höhere „Baby Take Home“ Rate   |
| Banerjee et al., 2009 <i>J Obstet Gynaecol Res</i> PMID: 19527386     | Doppelt randomisierte Studie                                 | Präeklampsie      |  | Lycoplen  | 2 mg, 2xd              | 159 | Nein, Keine Reduktion der Präeklampsierate, vermehrtes Auftreten von Frühgeburt und niedrigem Gewicht bei der Geburt           |
| Sharma et al., 2003 <i>Int J Gynaecol Obstet</i> PMID: 12767566       | Randomisierte Studie   | Präeklampsie      |  | Lycoplen  | 2 mg, 2xd              | 251 | Ja, Verbesserung hinsichtlich Präeklampsie, höheres Geburtsgewicht, verringerte intrauterine Wachstumsverzögerung              |
| Teran et al., 2009 <i>Int J Gynaecol Obstet</i> PMID: 19154996        | Doppelblind randomisierte, placebokontrollierte Studie       | Präeklampsie      |  | Coenzym Q10   | 200 mg, 1xd            | 235 | Ja, Senkung des Präeklampsie-Risikos   |

**Tabelle 2:** Übersicht über einige ausgewählte Studien bei Frauen zu den Themen Ernährung, OS und Antioxidantien aus PubMed gelisteten Journalen von 2000 bis heute, geordnet nach Indikationen.

## ROS UND UNERKLÄRTE WEIBLICHE INFERTILITÄT

Wie im obigen Kapitel bereits erwähnt, konnten in der Peritonealflüssigkeit von Frauen mit Endometriose erhöhte Werte von ROS vorgefunden werden. Ähnlich verhält es sich bei Frauen mit ungeklärter Infertilität. Auch hier finden sich erhöhte ROS- und NO-Werte<sup>105,106</sup>. Eine Studie von Howard et al. zeigte, dass die Gabe von Selen zu einer erhöhten Aktivität der GPx im Blut der Probandinnen führte und sich eine Verbesserung der Schwangerschaftsraten einstellte<sup>107</sup>. Selen ist dabei essentiell für die katalytische Aktivität der GPx. Dieser positive Effekt von AO-Supplementierung auf die Fertilität konnte im Übrigen auch an Patientinnen mit Hashimoto-Autoimmunthyreoiditis gezeigt werden. In einem kürzlich erschienenen Review<sup>108</sup> wurde noch einmal festgehalten, wie wichtig insbesondere Selen für eine Behandlung einer aktiven Autoimmunthyreoiditis ist. Die Verringerung der Autoimmunaktivität führt zu einer deutlich verbesserten Fertilität, welches ebenfalls über die Reduktion von ROS durch Seleno-Proteine wie z.B. GPx im AO-System erklärt wird. Eine ebenso kürzlich veröffentlichte randomisierte Studie zeigte eine signifikant erhöhte Schwangerschaftsrate bei Frauen mit idiopathischer Infertilität wenn sie ein Mikronährstoffpräparat zu sich nahmen<sup>109</sup>.

## HABITUELLE ABORTE UND OS

Habituelle Aborte (hA) kommen bei 0,5-3% der Frauen im gebärfähigen Alter vor und sind klassischerweise definiert als drei oder mehr aufeinanderfolgende Aborte vor der 20. Schwangerschaftswoche. Eine Vielzahl von Faktoren ist dabei charakterisiert, die zu hA führen können. Dazu gehören unter anderem genetische Ursachen, chromosomale Anomalien, Gebärmutteranomalien, Autoimmunerkrankungen, Störungen der Blutgerinnung, Infektionskrankheiten und Endokrinopathien. Trotz der Vielzahl bekannter möglicher Auslöser

sind jedoch immer noch 50-60% der Fälle bislang nicht erklärbar. Es gibt Vermutungen, dass in solchen Fällen endotheliale Schädigungen, beeinträchtigte Plazentavaskularisierung oder immunologische Prozesse eine Rolle spielen könnten. Auch hier wurden schon frühzeitig Zusammenhänge von hoher mitochondrialer Aktivität bei pathologischer Vaskularisierungsaktivität und gesteigertem OS angenommen<sup>110</sup>. Der fetomaternalen Kreislauf wird normalerweise am Ende des ersten Trimesters einer Schwangerschaft etabliert. Durch den zunehmenden Sauerstoffdruck auf das sich entwickelnde Gewebe kommt es zu einem starken Anstieg von ROS in der Plazenta<sup>111</sup>. Man hat beobachtet, dass vaskuläre Perfusionsstörungen der Plazenta, die diesen Sauerstoffdruck beschleunigen, zu verfrühtem OS-Anstieg führen, was den frühen Embryo zum Teil irreversibel schädigen kann. Dies kann schließlich zum Verlust der Schwangerschaft führen<sup>112</sup>. Hinzu kommt die (physiologisch) hohe Leukozytenkonzentration in der Frühschwangerschaft, die fast den Leukozytenspiegeln bei einer Sepsis vergleichbar sind. In diesem Zeitraum beobachtet man einen starken Anstieg der Leukozytenzahl in Verbindung mit einer Zunahme der ROS-Produktion<sup>113</sup>. Bei Patienten mit hA konnten nicht-physiologische ROS-Konzentrationen beobachtet werden<sup>114</sup>. Außerdem wurden erhöhte Lipid-Peroxide im Plasma festgestellt, bei gleichzeitig erniedrigten AO Konzentrationen<sup>115,116</sup>. Diese Befunde werden als Hinweis auf erhöhten OS bei hA Patientinnen gewertet<sup>117</sup>.

Wouters und seine Mitarbeiter fanden für hA Patientinnen außerdem eine höhere Inzidenz für Hyperhomocysteinämie als in der Normalbevölkerung<sup>118</sup>. Homocystein (Hcy) hat nicht nur einen Einfluss auf die Gerinnungseigenschaften des Blutes, sondern produziert auch u.a. ROS wie H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>119</sup>. So können erhöhte Hcy-Werte dementsprechend OS verursachen. Normalerweise sinkt das Hcy des Plasmas während einer Schwangerschaft ab,

nicht jedoch bei einer Hyperhomocysteinämie. Die orale Gabe von hoch dosierter Folsäure sowie Gabe der Vitamine B6 und B12 können einen erhöhten Hcy-Level normalisieren und somit positiv auf den Schwangerschaftsverlauf einwirken.

### **DIE ROLLE VON REAKTIVEN SAUERSTOFFSPEZIES IM ZUSAMMENHANG MIT PRÄEKLAMPSIE**

Eine Präeklampsie tritt in 5-10 % aller Schwangerschaften auf und stellt ein ernstes Risiko für Mutter und Kind dar. Auch hier gibt es einige Indizien für eine Beteiligung von OS. So beobachtet man bei Präeklampsie-Patientinnen häufig einen verfrühten Beginn der utero-plazentalen Zirkulation, was, wie bereits oben ausgeführt, zu starkem OS führt und dadurch den Trophoblasten schädigen kann. Es wurde gezeigt, dass Frauen mit Präeklampsie geringere Konzentrationen an AO, geringere SOD-Aktivität und reziprok dazu eine gesteigerte ROS-Produktion haben<sup>120-122</sup>. OS führt bei diesen Patientinnen möglicherweise zur Schädigung der Gefäßwände, was schließlich Bluthochdruck und Proteinurie verursacht. Eine mögliche Behandlung der Präeklampsie mit oral supplementierten AO wird derzeit kontrovers diskutiert. Obwohl einige Studien durchaus positive Effekte nachweisen konnten<sup>123,124</sup>, so gibt es doch ebenso Studien, die keinen signifikanten Effekt zeigten<sup>125</sup>. Eine Studie weist sogar eine Zunahme des frühgeburtlichen Risikos durch Einnahme von Vitamin C auf<sup>126</sup>. Daher sollte bei Präeklampsie-Patienten abgewogen werden, ob und inwieweit eine Supplementierung anzuraten ist. Weitere Studien sind hierzu sicherlich nötig. Auch die Notwendigkeit zur Identifikation eventueller Biomarker zur Prädiktion einer Präeklampsie ist immer noch Gegenstand aktueller Diskussionen<sup>127</sup>.

### **ROS UND EMBRYONALENTWICKLUNG**

Exzessive Mengen von ROS haben im Tiermodell einen deutlich negativen Einfluss auf die Embryoqualität und Einnistungskompetenz<sup>128,88</sup>. In Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bei Oozyten zu einer signifikant schlechteren Fertilisierungs-, einer niedrigen Blastozystenrate und einer vermehrten Embryo-Fragmentierungsrate führt<sup>129,130</sup>. Fragmentierte Embryonen besitzen ein niedriges Implantationspotential und können somit die Chancen auf eine Schwangerschaft verringern<sup>131</sup>. Eine kürzlich erschienene Studie von 466 Follikeln aus 174 IVF/ICSI Zyklen, bei der chemo-luminometrisch der ROS Gehalt im Kulturmedium bestimmt wurde, zeigte eine Korrelation von erhöhten ROS mit höherer Fragmentierung der Embryonen und niedrigerer Implantationsrate<sup>132</sup>. Interessanterweise ist jedoch die ROS-Toleranz während der Entwicklung offenbar nicht zu allen Zeiten gleich. An bovinen Embryonen konnte gezeigt werden, dass etwa Zygoten und Blastozysten für Schäden durch ROS deutlich anfälliger sind als Embryonen im 6-10-Zellstadium<sup>133</sup>. Möglicherweise bedeutet dies, dass gewisse Phasen einer Schwangerschaft eventuell mit einer anti-oxidativen Supplementierung begleitet werden sollten. Jeder physiologische Zellaufbau bzw. Abbau wird auch über ROS reguliert. Dabei spielen ROS eine wichtige Rolle bei der Einleitung der Apoptose. Grundsätzlich sollten sich auch im Embryo Oxidantien und AO in einem physiologischen Gleichgewicht halten, so dass der Zyklus von Zelltod und Zellaufbau gewährleistet wird. Nimmt die ROS/RNS Konzentration im Embryo jedoch in unphysiologischem Maße zu, können multiple Gewebsschäden entstehen, die eine Schwangerschaft gefährden können<sup>134</sup>. In der Embryonalentwicklung kommt auch dem NO bei der Regulation der Apoptose eine wichtige Rolle zu. Niedrige NO-Konzentrationen können Apoptose verhindern, während hohe NO/(RNS, ROS)-Konzentrationen die Apoptose beschleunigen und somit eine

Embryo-Fragmentierung bewirken können<sup>135</sup>.

### **ZUSAMMENFASSUNG**

Oxidativer Stress (OS) rückt in vielen Gebieten der Medizin zunehmend in den Fokus. So finden sich immer mehr Indizien, dass OS der primäre Auslöser verschiedenster Krankheiten ist oder sie zumindest maßgeblich mit beeinflusst. Auch im Bereich der Endokrinologie und Reproduktionsmedizin wird man in Zukunft um ein tieferes Verständnis der Ursachen und des Einflusses von ROS auf Fertilität und Embryonalentwicklung nicht umherkommen. OS wirkt dabei auf mehreren Ebenen auf die Fertilität und Reproduktion ein. So wird OS mit abnormalen Spermogrammen und Endometriose ebenso in Zusammenhang gebracht wie mit Implantationsversagen, Präeklampsie und habituellem Abortgeschehen (siehe Tabellen 1, 2 und 3). Dennoch zeigen einige Studien teilweise widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich antioxidativer Therapien bei gleicher Diagnose und Therapie (siehe Tabelle 3). Es sind daher sicher weitere, vor allem randomisierte Studien nötig, wie auch die Autoren des Cochrane Reviews um Showell et al. schlussfolgern<sup>52</sup>, um in Zukunft durch ein besseres Verständnis der pathophysiologischen Zusammenhänge oder eventuell sogar durch die Identifikation gewisser Biomarker Risikopatienten effektiver zu evaluieren und somit eine adäquate Therapie zu ermöglichen. Problematisch in diesem Zusammenhang bleibt nach wie vor der valide Nachweis von ROS. Man darf nicht vergessen, dass ROS eine Gruppe sehr kurzlebiger Moleküle umfasst. Aufgrund der hohen Reaktivität ist zu bedenken, dass ROS primär an ihrem Entstehungsort schädigen. Der (in)direkte Nachweis von ROS lässt daher keinen Rückschluss auf den Entstehungsort und die Ursache zu. Die indirekte Bestimmung von OS durch die Bestimmung der körpereigenen antioxidativen Kapazität oder Entzündungsmarker, die stark mit OS korrelieren (z.B. TNF- $\alpha$ , IL-1, IFN- $\epsilon$ ) hat sich jedoch als Standard in einigen Bereichen der Medizin etablieren können.

Ob OS in Fällen von Infertilität wirklich die kausale Ursache ist oder eher die Auswirkung eines voran gegangenen Ereignisses, muss ebenso im Einzelfall geklärt werden und eine Therapie kann dann diskutiert werden. Unter dem Gesichtspunkt der physiologischen Notwendigkeit von OS auf einige Zellläufe kann keine generelle Empfehlung zur antioxidativen, supplementierenden Nahrungsergänzung gegeben werden. Unter dem Aspekt, dass OS lokal auftreten kann, eine antioxidative Supplementierung aber immer systemisch erfolgt und zudem unterschiedliche Zelltypen auch unterschiedliche ROS-Toleranzschwellen zu haben scheinen, muss die Therapieempfehlung zur AO-Therapie und zur Dosierung kritisch hinterfragt werden. Jedoch scheint eine zeitlich begrenzte Gabe von AO in einigen Indikationsbereichen der Fertilitätstherapie und zur Schwangerschaftsunterstützung eine vielversprechende Lösung zu sein, deren Risiko-Nutzen-Profil der therapierende Arzt im Einzelfall einschätzen muss.

### **RELEVANZ FÜR DIE PRAXIS**

Eine antioxidative Supplementierung kann sinnvoll sein, wenn folgende Punkte beachtet werden:

- Die mögliche Ursache der Infertilität,
- die Auswahl der AO,
- ein adäquater Behandlungszeitraum wie auch eine adäquate Dosis.

Dabei ist im Wesentlichen darauf zu achten, dass keine Überdosierung, vor allem über einen längeren Zeitraum, erfolgt. Mögliche Risiken sollten dabei immer in Betracht gezogen werden.

| Publikation (alphabetisch nach Autor geordnet)                              | Art der Publikation | Pathologischer Befund    | Erhöhter ROS-Level bzw. erniedrigt durch Antioxidans | Art der Antioxidans-Supplementierung | Anzahl der Patienten | Verbesserung durch Antioxidans-Supplementierung  |
|---|---------------------|--------------------------|--|--------------------------------------|----------------------|--|
| Abdelrazik et al., 2009<br><i>Fertil Steril</i><br>PMID:18249387            | Studie              |                          |  | L-Carnitin<br><i>in vitro</i>        | Tiermodell Maus      | Ja, verbesserte Blastocystenbildungsrate bei 0,3 mg/ml, außerdem verringerte DNS-Schäden   |
| Hu et al., 2012<br><i>Reprod Domest Anim</i><br>PMID: 22239270              | Studie              |                          | Ja   | Vitamin C<br><i>in vitro</i>         | Tiermodell Schwein   | Ja, Höhere Blastozystenbildungsrate und höhere Zellzahlen innerhalb der Blastozysten       |
| Lee et al., 2010<br><i>J Reprod Dev</i><br>PMID: 20168050                   | Studie              |                          |  | Resveratrol<br><i>in vitro</i>       | Tiermodell Schwein   | Ja, Höhere Blastozystenbildungsrate und Zellzahlen   |
| Natarajan et al., 2010<br><i>J Assist Reprod Genet</i><br>PMID: 20454845    | Studie              |                          |  | Vitamin E<br><i>in vitro</i>         | Tiermodell Schaf     | Ja, Höhere Morula- und Blastozystenbildungsrate und Zellzahlen                             |
| Shivananjappa et al., 2012<br><i>Reprod Biomed Online</i><br>PMID: 22414371 | Studie              | Schwangerschaftsdiabetes | Ja   | Taurin                               | Tiermodell Ratte     | Ja, verringerte Rate an Embryopathien, Reduktion von oxidativem Stress                     |
| Tarin et al., 2002<br><i>Mol Reprod Dev</i><br>PMID: 11835584               | Studie              |                          |  | Vitamin C<br>Vitamin E               | Tiermodell Maus      | Ja, orale antioxidative Supplementierung wirkte altersbedingten Oozytenschädigung entgegen |
| Uhm et al., 2012<br><i>Cell Reprogramm</i><br>PMID: 21740267                | Studie              | UV induzierter ROS       | Ja   | 3-Hydroxyflavon<br><i>in vitro</i>   | Tiermodell Schwein   | Ja, Höhere Blastozystenbildungsrate und Zellzahlen, verringerte Caspase-3 Aktivität        |

**Tabelle 3:** Übersicht über einige wichtige ausgewählte Embryonalentwicklungsstudien im Zusammenhang mit OS bzw. Antioxidantien aus PubMed gelisteten Journalen von 2000 bis heute.

## LITERATUR

- Cataldi A. Cell responses to oxidative stressors. *Curr Pharm Des* 2010;16:1387-95. Review.
- Tschopp J. Mitochondria: Sovereign of inflammation? *Eur J Immunol* 2011;41:1196-202. Review.
- Kefer JC, Agarwal A, Sabanegh E. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *Int J Urol* 2009;16:449-57. Review.
- Awano T, Johnson GS, Wade CM, Katz ML, Johnson GC, Taylor JF, Perloski M, Biagi T, Baranowska I, Long S, March PA, Olby NJ, Shelton GD, Khan S, O'Brien DP, Lindblad-Toh K, Coates JR. Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;106:2794-9.
- Leuner K, Schütt T, Kurz C, Eckert SH, Schiller C, Occhipinti A, Mai S, Jendrach M, Eckert GP, Kruse SE, Palmeter RD, Brandt U, Dröse S, Wittig I, Willem M, Haass C, Reichert AS, Müller WE. Mitochondrion-Derived Reactive Oxygen Species Lead to Enhanced Amyloid Beta Formation. *Antioxid Redox Signal* 2012; 16:1421-33.
- Müller M, Cheung KH, Foskett JK. Enhanced ROS generation mediated by Alzheimer's disease presenilin regulation of InsP3R Ca<sup>2+</sup> signaling. *Antioxid Redox Signal* 2011;14:1225-35.
- Iammarrone E, Balet R, Lower AM, Gillott C, Grudzinskas JG. Male infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003;17:211-29. Review.
- Geoffroy-Siraudin C, Loundou AD, Romain F, Achard V, Courbière B, Perrard MH, Durand P, Guichaoua MR. Decline of semen quality among 10 932 males consulting for couple infertility over a 20-year period in Marseille, France. *Asian J Androl* 2012;14:584-90.
- Mendiola J, Jørgensen N, Mínguez-Alarcón L, Sarabia-Cos L, López-Espín JJ, Vivero-Salmerón G, Ruiz-Ruiz KJ, Fernández MF, Olea N, Swan SH, Torres-Cantero AM. Sperm counts may have declined in young university students in Southern Spain. *Andrology* 2013;1:408-13.
- Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online* 2004; 8:616-27.
- Aitken RJ. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reprod Fertil Dev* 1995;7:659-68.
- Garrido N, Meseguer M, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J Androl* 2004;6:59-65. Review.
- Gomez E, Buckingham DW, Brindle J, Lanzafame F, Irvine DS, Aitken RJ. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function. *J Androl* 1996;17:276-87.
- Desai N, Sabanegh E Jr, Kim T, Agarwal A. Free radical theory of aging: implications in male infertility. *Urology* 2010;75:14-9. Review.
- Smith TB, Dun MD, Smith ND, Curry BJ, Connaughton HS, Aitken RJ. The presence of a truncated base excision repair pathway in human spermatozoa that is mediated by OGG1. *J Cell Sci*. 2013;126(Pt 6):1488-97.
- Payne DK, Owens MW, Grisham M. Early albumin leakage in pulmonary endothelial monolayers exposed to varying levels of hyperoxia. *Free Radic Res* 1996;25:229-38.
- Navarro A, Boveris A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;292:C670-86. Review.
- Aitken RJ, Koppers AJ. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian J Androl* 2011;13:36-42. Review.
- Shamsi MB, Kumar R, Dada R. Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction. *Indian J Med Res* 2009;129:127-37. Review.
- Tunc O, Tremellen K. Oxidative DNA damage impairs global sperm DNA methylation in infertile men. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:537-44.
- Moskovtsev SI, Willis J, White J, Mullen JB. Sperm DNA damage: correlation to severity of semen abnormalities. *Urology*. 2009;74:789-93.
- Zini A, Sigman M. Are tests of sperm DNA damage clinically useful? Pros and cons. *J Androl*. 2009;30:219-29.
- Khosrowbeygi A, Zarghami N. Levels of oxidative stress biomarkers in seminal plasma and their relationship with seminal parameters. *BMC Clin Pathol* 2007;7:6.
- Zini A, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase- and catalase-like ac-

- tivities in seminal plasma and spermatozoa. *Int J Androl*. 1993;16:183-8.
25. Li Z, Zhou Y, Liu R, Lin H, Liu W, Xiao W, Lin Q. Effects of semen processing on the generation of reactive oxygen species and mitochondrial membrane potential of human spermatozoa. *Andrologia* doi: 10.1111/j.1439-0272.2010.01123.x.
  26. Oxidative stress and sperm mitochondrial DNA mutation in idiopathic oligoasthenozoospermic men. Kumar R, Venkatesh S, Kumar M, Tanwar M, Shamsi MB, Kumar R, Gupta NP, Sharma RK, Talwar P, Dada R. *Indian J Biochem Biophys* 2009;46:172-7.
  27. Wogatzky J, Wirleitner B, Stecher A, Vanderzwalmen P, Neyer A, Spitzer D, Schuff M, Schechinger B, Zech NH. The combination matters - distinct impact of lifestyle factors on sperm quality: a study on semen analysis of 1683 patients according to MSOME criteria. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012;10:115.
  28. Garolla A, Torino M, Sartini B, Cosci I, Patassini C, Carraro U, Foresta C. Seminal and molecular evidence that sauna exposure affects human spermatogenesis. *Hum Reprod*. 2013;28:877-85.
  29. Das M, Al-Hathal N, San-Gabriel M, Phillips S, Kadoch JJ, Bissonnette F, Holzer H, Zini A. High prevalence of isolated sperm DNA damage in infertile men with advanced paternal age. *J Assist Reprod Genet*. 2013 Jun 1. [In press]
  30. Håkonsen LB, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Olsen J, Bonde JP, Andersen CY, Bungum M, Ernst EH, Hansen ML, Ernst EH, Ramlau-Hansen CH. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reprod Health* 2011;8:24.
  31. Shayeb AG, Harrild K, Mathers E, Bhattacharya S. An exploration of the association between male body mass index and semen quality. *Reprod Biomed Online* 2011;23:717-23.
  32. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, Roudebush WE. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl* 2006;27:450-2.
  33. Du Plessis SS, Cabler S, McAlister DA, Sabanegh E, Agarwal A. The effect of obesity on sperm disorders and male infertility. *Nat Rev Urol* 2010;7:153-61.
  34. Tunc O, Bakos HW, Tremellen K. Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia* 2011;43:121-8.
  35. Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *Int J Androl* 2011;34:402-10.
  36. Varshini J, Srinag BS, Kalthur G, Krishnamurthy H, Kumar P, Rao SB, Adiga SK. Poor sperm quality and advancing age are associated with increased sperm DNA damage in infertile men. *Andrologia* 2011; doi: 10.1111/j.1439-0272.2011.01243.x.
  37. Sartorius GA, Nieschlag E. Paternal age and reproduction. *Hum Reprod Update* 2010;16:65-79.
  38. Cocuzza M, Athayde KS, Agarwal A, Sharma R, Pagani R, Lucon AM, Srougi M, Hallak J. Age-related increase of reactive oxygen species in neat semen in healthy fertile men. *Urology* 2008;71:490-4.
  39. Weir CP, Robaire B. Spermatozoa have decreased antioxidant enzymatic capacity and increased reactive oxygen species production during aging in the Brown Norway rat. *J Androl* 2007;28:229-40.
  40. Liu RZ, Gao JC, Zhang HG, Wang RX, Zhang ZH, Liu XY. Seminal plasma zinc level may be associated with the effect of cigarette smoking on sperm parameters. *J Int Med Res* 2010;38:923-8.
  41. Perrin J, Tassistro V, Mandon M, Grillo JM, Botta A, Sari-Minodier I. Tobacco consumption and benzo(a)pyrene-diol-epoxide-DNA adducts in spermatozoa: in smokers, swim-up procedure selects spermatozoa with decreased DNA damage. *Fertil Steril* 2011;95:2013-7.
  42. Mostafa T, Tawadrous G, Roaia MM, Amer MK, Kader RA, Aziz A. Effect of smoking on seminal plasma ascorbic acid in infertile and fertile males. *Andrologia* 2006;38:221-4.
  43. Elshal MF, El-Sayed IH, Elsaied MA, El-Masry SA, Kumosani TA. Sperm head defects and disturbances in spermatozoal chromatin and DNA integrities in idiopathic infertile subjects: association with cigarette smoking. *Clin Biochem* 2009;42:589-94.
  44. Mostafa T, Tawadrous G, Roaia MM, Amer MK, Kader RA, Aziz A. Effect of smoking status on seminal parameters and apoptotic markers in infertile men. *Andrologia* 2006;38:221-4.
  45. Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ Jr. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril* 2002;78:491-9.
  46. Chandrasekaran K, Swaminathan K, Mathan Kumar S, Clemens DL, Dey A. In Vitro Evidence for Chronic Alcohol and High Glucose Mediated Increased Oxidative Stress and Hepatotoxicity. *Alcohol Clin Exp Res* 2012;doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01697.x.
  47. Lieber CS. Relationships between nutrition, alcohol use, and liver disease. *Alcohol Res Health* 2003;27:220-31. Review.
  48. Mendiola J, Torres-Cantero AM, Vioque J, Moreno-Grau JM, Ten J, Roca M, Moreno-Grau S, Bernabeu R. A low intake of antioxidant nutrients is associated with poor semen quality in patients attending fertility clinics. *Fertil Steril* 2010;93:1128-33.
  49. Vujkovic M, de Vries JH, Dohle GR, Bonsel GJ, Lindemans J, Macklon NS, van der Spek PJ, Steegers EA, Steegers-Theunissen RP. Associations between dietary patterns and semen quality in men undergoing IVF/ICSI treatment. *Hum Reprod* 2009;24:1304-12.
  50. Eskenazi B, Kidd SA, Marks AR, Slotter E, Block G, Wyrobek AJ. Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Hum Reprod* 2005;20:1006-12.
  51. Ross C, Morriss A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, Coomarasamy A, El-Toukhy T. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2010;20:711-23.
  52. Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 19;(1):CD007411. doi: 10.1002/14651858.CD007411.pub2. Review.
  53. Abarikwu SO, Adesiyun AC, Oyeloja TO, Oyeyemi MO, Farombi EO. Changes in sperm characteristics and induction of oxidative stress in the testis and epididymis of experimental rats by a herbicide, atrazine. *Arch Environ Contam Toxicol* 2010;58:874-82.
  54. Ben Abdallah F, Fetoui H, Zribi N, Fakfakh F, Ammar-Keskes L. Antioxidant supplementations in vitro improve rat sperm parameters and enhance antioxidant enzyme activities against dimethoate-induced sperm damages. *Andrologia* 2011. doi: 10.1111/j.1439-0272.2011.01177.x.
  55. Yousef MI. Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Food Chem Toxicol* 2010;48:1152-9.
  56. Latchoumycandane C, Chitra KC, Mathur PP. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces oxidative stress in the epididymis and epididymal sperm of adult rats. *Arch Toxicol* 2003;77:280-4.
  57. Latchoumycandane C, Mathur PP. Effects of vitamin E on reactive oxygen species-mediated 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity in rat testis. *J Appl Toxicol* 2002;22:345-52.
  58. Ciftci O, Aydin M, Ozdemir I, Vardi N. Quercetin prevents 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced testicular damage in rats. *Andrologia* 2011; doi: 10.1111/j.1439-0272.2010.01126.x.
  59. Lee E, Ahn MY, Kim HJ, Kim IY, Han SY, Kang TS, Hong JH, Park KL, Lee BM, Kim HS. Effect of di(n-butyl) phthalate on testicular oxidative damage and antioxidant enzymes in hyperthyroid rats. *Environ Toxicol* 2007;22:245-55.
  60. Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni SS. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2006;12:630-3.
  61. Poyton RO, Ball KA, Castello PR. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends Endocrinol Metab* 2009;20:332-40. Review.
  62. Shiraishi K, Takihara H, Matsuyama H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis. *World J Urol* 2010;28:359-64.
  63. Abd-Elmoaty MA, Saleh R, Sharma R, Agarwal A. Increased levels of oxidants and reduced antioxidants in semen of infertile men with varicocele. *Fertil Steril* 2010;94:1531-4.
  64. Smith R, Kaune H, Parodi D, Madariaga M, Rios R, Morales I, Castro A. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod* 2006;21:986-93.
  65. Oliva A, Dotta A, Multigner L. Pentoxifylline and antioxidants improve sperm quality in male patients with varicocele. *Fertil Steril* 2009;91(4 Suppl):1536-9.
  66. Mostafa T, Anis TH, El-Nashar A, Imam H, Othman IA. Varicolectomy reduces reactive oxygen species levels and increases antioxidant activity of seminal plasma from infertile men with varicocele. *Int J Androl* 2001;24:261-5.
  67. Dada R, Shamsi MB, Venkatesh S, Gupta NP, Kumar R. Attenuation of oxidative stress & DNA damage in varicolectomy: implications in infertility management. *Indian J Med Res* 2010;132:728-30.
  68. Azizollahi G, Azizollahi S, Babaei H, Kianinejad M, Baneshi MR, Nematollahi-Mahani SN. Effects of supplement therapy on sperm parameters, protamine content and acrosomal integrity of varicolectomized subjects. *J Assist Reprod Genet*. 2013;30:593-9.
  69. Ozdamar AS, Soylu AG, Culha M, Ozden M, Gökalp A. Testicular oxidative stress. Effects of experimental varicocele in adolescent rats. *Urol Int* 2004;73:343-7.
  70. Semercioz A, Onur R, Ogras S, Orhan I. Effects of melatonin on testicular tissue nitric oxide level and antioxidant enzyme activities in experimentally induced left varicocele. *Neuro Endocrinol Lett*. 2003;24:86-90.
  71. Li YC, Hu XQ, Xiao LJ, Guo J, Zhang KY, Song XX, Liu XY. An oligonucleotide microarray study on gene expression profile in mouse testis of experimental cryptorchidism. *Front Biosci* 2006;11:2465-82.

72. Fülöp B, Poggensee G. Epidemiological situation of Lyme borreliosis in Germany: surveillance data from six Eastern German States, 2002 to 2006. *Parasitol Res* 2008;103 Suppl 1:S117-20.
73. Henkel RR. Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian J Androl* 2011;13:43-52.
74. Segnini A, Camejo MI, Proverbio F. Chlamydia trachomatis and sperm lipid peroxidation in infertile men. *Asian J Androl* 2003; 5:47-9.
75. La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Sperm DNA damage in patients with chronic viral C hepatitis. *Eur J Intern Med* 2012;23:e19-24.
76. Krause W, Herbstreit F, Slenzka W. Are viral infections the cause of leukocytospermia? *Andrologia* 2002;34:87-90.
77. Potts JM, Pasqualotto FF. Seminal oxidative stress in patients with chronic prostatitis. *Andrologia* 2003;35:304-8. Review.
78. Suzuki T, Sugino N, Fukaya T, et al. Superoxide dismutase in normal cycling human ovaries: immunohistochemical localization and characterization. *Fertil Steril* 1999;72:720-6.
79. Vega M, Urrutia L, In-iguez G, Gabler F, Devoto L, Johnson MC. Nitric oxide induces apoptosis in the human corpus luteum in vitro. *Mol Hum Reprod* 2000;6:681-7.
80. Cigliano L, Balestrieri M, Spagnuolo MS, Dale B, Abrescia P. Lecithin-cholesterol acyltransferase activity during maturation of human preovulatory follicles with different concentrations of ascorbate, alpha-tocopherol and nitrotyrosine. *Reprod Fertil Dev* 2002;14:15-21.
81. Catt JW, Henman M. Toxic effects of oxygen on human embryo development. *Hum Reprod* 2000; 15 Suppl 2:199-206.
82. Tarín JJ. Potential effects of age-associated oxidative stress on mammalian oocytes/embryos. *Mol Hum Reprod* 1996;2:717-24.
83. Chattopadhyay R, Ganesh A, Samanta J, Jana SK, Chakravarty BN, Chaudhury K. Effect of follicular fluid oxidative stress on meiotic spindle formation in infertile women with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Obstet Invest* 2010;69:197-202.
84. Kalmbach KH, Fontes Antunes DM, Draxler RC, Knier TW, Seth-Smith ML, Wang F, Liu L, Keefe DL. Telomeres and human reproduction. *Fertil Steril*. 2013;99:23-9. Review.
85. Tarín JJ, Pérez-Albalá S, Cano A. Consequences on offspring of abnormal function in ageing gametes. *Hum Reprod Update* 2000;6:532-49.
86. Sugino N, Karube-Harada A, Taketani T, Sakata A, Nakamura Y. Withdrawal of ovarian steroids stimulates prostaglandin F<sub>2</sub>alpha production through nuclear factor kappaB activation via oxygen radicals in human endometrial stromal cells: potential relevance to menstruation. *J Reprod Dev* 2004; 50:215-25.
87. Serviddio G, Loverro G, Vicino M, et al. Modulation of endometrial redox balance during the menstrual cycle: relation with sex hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2843-8.
88. Guérin P, El Mouatassim S, Ménéz Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update* 2001;7:175-89.
89. Thaler CD, Epel D. Nitric oxide in oocyte maturation, ovulation, fertilization, cleavage and implantation: a little dab'll do ya. *Curr Pharm Des* 2003;9:399-409. Review.
90. Szczepańska M, Koźlik J, Skrzypczak J, Mikołajczyk M. Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril* 2003;79:1288-93.
91. Murphy AA, Palinski W, Rankin S, Morales AJ, Parthasarathy S. Evidence for oxidatively modified lipidprotein complexes in endometrium and endometriosis. *Fertil Steril* 1998;69:1092-4.
92. Murphy AA, Palinski W, Rankin S, Morales AJ, Parthasarathy S. Macrophage scavenger receptor(s) and oxidatively modified proteins in endometriosis. *Fertil Steril* 1998;69:1085-91.
93. Murphy AA, Santanam N, Morales AJ, Parthasarathy S. Lysophosphatidyl choline, a chemotactic factor for monocytes/T-lymphocytes is elevated in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83: 2110-3.
94. Ota H, Igarashi S, Kato N, Tanaka T. Aberrant expression of glutathione peroxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril* 2000;74:313-8.
95. Seo SK, Yang HI, Lee KE, Kim HY, Cho S, Choi YS, Lee BS. The roles of thioredoxin and thioredoxin-binding protein-2 in endometriosis. *Hum Reprod* 2010;25:1251-8.
96. Ota H, Igarashi S, Tanaka T. Xanthine oxidase in ectopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril* 2001;75:785-90.
97. Ho HN, Wu MY, Chen SU, Chao KH, Chen CD, Yang YS. Total antioxidant status and nitric oxide do not increase in peritoneal fluids from women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997;12:2810-5.
98. Jackson LW, Schisterman EF, Dey-Rao R, Browne R, Armstrong D. Oxidative stress and endometriosis. *Hum Reprod* 2005;20:2014-20.
99. Gupta S, Agarwal A, Krajcir N, Alvarez JG. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reprod Biomed Online* 2006;13:126-34.
100. Park JK, Song M, Dominguez CE, et al. Glycodelin mediates the increase in vascular endothelial growth factor in response to oxidative stress in the endometrium. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195: 1772-7.
101. Bedaiwy MA, Falcone T. Peritoneal fluid environment in endometriosis. Clinicopathological implications. *Minerva Ginecol* 2003;55:333-45.
102. Iborra A, Palacio JR, Martinez P. Oxidative stress and autoimmune response in the infertile woman. *Chem Immunol Allergy* 2005;88:150-62. Review.
103. Mier-Cabrera J, Genera-García M, De la Jara-Díaz J, Perichart-Perera O, Vadillo-Ortega F, Hernández-Guerrero C. Effect of vitamins C and E supplementation on peripheral oxidative stress markers and pregnancy rate in women with endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2008;100:252-6.
104. Mier-Cabrera J, Aburto-Soto T, Burrola-Méndez S, Jiménez-Zamudio L, Tolentino MC, Casanueva E, Hernández-Guerrero C. Women with endometriosis improved their peripheral antioxidant markers after the application of a high antioxidant diet. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:54.
105. Wang Y, Sharma RK, Falcone T, Goldberg J, Agarwal A. Importance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. *Fertil Steril* 1997;68:826-30.
106. Dong M, Shi Y, Cheng Q, Hao M. Increased nitric oxide in peritoneal fluid from women with idiopathic infertility and endometriosis. *J Reprod Med* 2001;46:887-91.
107. Howard JM, Davies S, Hunnisett A. Red cell magnesium and glutathione peroxidase in infertile women – effects of oral supplementation with magnesium and selenium. *Magnes Res* 1994;7:49-57.
108. Schomburg L. Selenium, selenoproteins and the thyroid gland: interactions in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 2011;8:160-71.
109. Agrawal R, Burt E, Gallagher AM, Butler L, Venkatakrisnan R, Peitsidis P. *Reprod Biomed Online* 2012;24:54-60. Prospective randomized trial of multiple micronutrients in subfertile women undergoing ovulation induction: a pilot study.
110. Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004;122:369-82. Review.
111. Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J, Bao YP, Skepper JN, Burton GJ. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *Am J Pathol* 2000;157:2111-22.
112. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011;25:287-99. Review.
113. Sacks GP, Studena K, Sargent K, Redman CW. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:80-6.
114. Safronova VG, Matveeva NK, Avkhacheva NV, Sidel'nikova VM, Van'ko LV, Sukhikh GT. Changes in regulation of oxidase activity of peripheral blood granulocytes in women with habitual abortions. *Bull Exp Biol Med* 2003;136:257-60.
115. Simşek M, Naziroğlu M, Simşek H, Cay M, Aksakal M, Kumru S. Blood plasma levels of lipoperoxides, glutathione peroxidase, beta carotene, vitamin A and E in women with habitual abortion. *Cell Biochem Funct* 1998;16:227-31.
116. Miller H, Wilson R, Jenkins C, MacLean MA, Roberts J, Walker JJ. Glutathione levels and miscarriage. *Fertil Steril* 2000;74:1257-8.
117. Vural P, Akgül C, Yildirim A, Canbaz M. Antioxidant defence in recurrent abortion. *Clin Chim Acta* 2000;295:169-77.
118. Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF, Steegers-Theunissen RP, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 1993;60:820-5.
119. Papatheodorou L, Weiss N. Vascular oxidant stress and inflammation in hyperhomocysteinemia. *Antioxid Redox Signal* 2007;9:1941-58. Review.
120. Tsukimori K, Fukushima K, Tsushima A, Nakano H. Generation of reactive oxygen species by neutrophils and endothelial cell injury in normal and preeclamptic pregnancies. *Hypertension* 2005;46: 696-700.
121. Winterbourn CC, Stern A. Human red cells scavenge extracellular hydrogen peroxide and inhibit formation of hypochlorous acid and hydroxyl radical. *J Clin Invest* 1987;80:1486-91.
122. Mehendale S, Kilari A, Dangat K, Taralekar V, Mahadik S, Joshi S. Fatty acids, antioxidants, and oxidative stress in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 2008;100:234-8.
123. Chappell LC, Seed PT, Briley AL, et al. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial. *Lancet* 1999;354:810-6.
124. Rumbold AR, Crowther CA, Haslam RR, Dekker GA, Robinson JS; ACTS Study Group. Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications. *N Engl J Med* 2006;354:1796-806.

125. Spinnato JA 2nd, Freire S, Pinto e Silva JL, et al. Antioxidant therapy to prevent preeclampsia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2007;110:1311-8.
126. Rumbold A, Crowther CA. Vitamin C supplementation in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(2):CD004072.
127. Poston L, Igosheva N, Mistry HD, Seed PT, Shennan AH, Rana S, Karumanchi SA, Chappell LC. Role of oxidative stress and antioxidant supplementation in pregnancy disorders. *Am J Clin Nutr* 2011;94(6 Suppl):1980S-1985S.
128. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003;79:829-43.
129. Jozwik M, Wolczynski S, Jozwik M, Szamatowicz M. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod* 1999;5:409-13.
130. Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, Kasai H, Tanaka T. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril* 1997;68:519-24.
131. Rienzi L, Ubaldi F, Iacobelli M, Romano S, Minasi MG, Ferrero S, Sapienza F, Baroni E, Greco E. Significance of morphological attributes of the early embryo. *Reprod Biomed Online* 2005;10:669-81. Review.
132. Lee TH, Lee MS, Liu CH, Tsao HM, Huang CC, Yang YS. The Association Between Microenvironmental Reactive Oxygen Species and Embryo Development in Assisted Reproduction Technology Cycles. *Reprod Sci* 2012; 19:725-32.
133. Morales H, Tilquin P, Rees JF, Massip A, Dessy F, Van Langendonck A. Pyruvate prevents peroxide-induced injury of in vitro preimplantation bovine embryos. *Mol Reprod Dev* 1999;52:149-57.
134. Yang HW, Hwang KJ, Kwon HC, Kim HS, Choi KW, Oh KS. Detection of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in human fragmented embryos. *Hum Reprod* 1998;13:998-1002.
135. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update* 1998;4:3-24.