



The role of physiologically occurring elements in semen and effect of heavy metals on semen

Rola pierwiastków występujących fizjologicznie w nasieniu oraz wpływ metali ciężkich na nasienie

Dorota Chyra-Jach¹ , Zbigniew Kaletka^{1,2} , Aleksandra Kasperczyk¹ 

¹Department of Biochemistry, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

²Department of Urology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

ABSTRACT

Over the last 40 years, the quality of male semen, including the sperm count, has decreased. There are numerous reasons for this phenomenon, including occupational and environmental exposure to heavy metals such as cadmium, lead, mercury and arsenic. Food contaminated with mycotoxins and pesticides, the influence of industrial chemicals, cigarette smoking and endocrine factors are also of great significance. This paper discusses the problem based on the literature of the last few years on the role of physiologically occurring metals in semen and the effect that heavy metals have on decreasing male fertility.

KEY WORDS

male infertility, toxicity, male semen, metals

STRESZCZENIE

Na przestrzeni ostatnich 40 lat spadła jakość nasienia męskiego, w tym m.in. liczba plemników. U podstaw tego zjawiska leży wiele przyczyn, wśród których wymienia się ekspozycję zawodową i środowiskową na metale ciężkie, m.in. na kadm, ołów, rtęć i arsen. Duże znaczenie ma również zanieczyszczona mykotoksynami i pestycydami żywność, wpływ chemikaliów przemysłowych, palenie papierosów i czynniki endokrynologiczne. Niniejsza praca stanowi omówienie problemu na podstawie piśmiennictwa z ostatnich kilku lat na temat roli metali fizjologicznie występujących w nasieniu oraz wpływu metali ciężkich na obniżenie płodności męskiej.

SŁOWA KLUCZOWE

niepłodność męska, toksyczność, nasienie męskie, metale

Received: 29.02.2019

Revised: 20.05.2019

Accepted: 07.07.2019

Published online: 31.01.2020

Address for correspondence: Dorota Chyra-Jach, Department of Biochemistry, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Jordana 19, 41-808 Zabrze, Poland, e-mail: dorotachyra@op.pl

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

www.annales.sum.edu.pl

**INTRODUCTION**

One of the greatest problems of society is infertility, and the male factor is the one responsible for it in 35% of cases. Reports from the past few years have been analysed in order to find an answer to the question of what is necessary in male semen to keep its quality from decreasing. Last year's data indicate that 54% of men had abnormal semen. In Poland, one in five couples face the problem of infertility. Research points out that the quality of semen is deteriorating, with the sperm count in 33% of men being below the standard adopted by the WHO; moreover, sperm motility disorders have been observed in 49% of men. There are many factors that damage sperm [1]. Deteriorating sperm quality is caused by changes in organisms due to contaminated air and harmful agents used in production processes, e.g. bisphenol A, used in the production of plastics. The inappropriate use of technology – keeping a laptop on one's lap or a smartphone in one's trouser pocket, combined with an unhealthy lifestyle and obesity, lead to further health problems.

Cadmium (Cd), lead (Pb), mercury (Hg) and arsenic (As) are considered to be the most hazardous metals and simultaneously the most common ones in food. A current problem is the destructive impact of copper on the process of gametogenesis and fertility of people working in smelters and copper mines or subject to long-term exposure to copper compounds. An excess of this element entails problems related to the management of other trace elements, including zinc and iron [2]. Physiologically, zinc concentration is an essential factor in the processes of proliferation, meiosis and DNA synthesis during gametogenesis [3]. The interest in the metabolism of copper is related to the treatment of male reproductive cancers with drugs containing platinum, which penetrates the cell in a similar way to copper [4].

The lack of a prooxidant-antioxidant balance in semen leads to metabolic and functional disorders of male reproductive cells. One of the causes of oxidative stress in semen is inflammation in the male reproductive system. The infectious agent and tissue injury lead to leukocyte infiltration to the site of an ongoing inflammatory response [5]. Leukocyte activation involves the production and release of large quantities of reactive oxygen species (ROS) and the activation of an immune response including the secretion of proteases and proinflammatory cytokines [6]. One leukocyte can generate at least 100 times more reactive oxygen species than a sperm cell [7].

Genetic abnormalities in sperm DNA can be caused by both gene mutations and chromosome disorders arising at the stage of spermatogenesis and after its completion, i.e. when the sperm cells are present and mature in the epididymis [6]. Constant exposure to heavy metals also contributes to the efficiency of cellular and enzymatic mechanisms of antioxidants, i.e. the effects of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione (GSH) [8]. The contact of a living organism with mo-

WSTĘP

Jednym z największych problemów społeczeństwa jest bezpłodność, a czynnik męski odpowiada za nią w 35%. Poszukując odpowiedzi na pytanie, co jest niezbędne w nasieniu męskim, aby nie dochodziło do spadku jego jakości, przeanalizowano doniesienia z ostatnich kilku lat. Dane z ostatniego roku wskazują, że nieprawidłowe nasienie występuje u 54% mężczyzn. W Polsce co piąta para boryka się z problemem niepłodności. Badania zwracają uwagę, że jakość nasienia ulega pogorszeniu, liczba plemników u 33% mężczyzn jest poniżej normy przyjętej przez WHO, a ponadto u 49% zauważono zaburzenia ich ruchliwości. Istnieje wiele czynników uszkadzających plemniki [1]. Za pogarszającą się jakość spermy odpowiadają zmiany zachodzące w organizmach na skutek zanieczyszczonego powietrza, szkodliwe czynniki używane przy procesach produkcyjnych, np. bisfenol A, stosowany przy produkcji tworzyw sztucznych. Nie można też pominąć złego użytkowania technologii – trzymania laptopa na kolanach czy smartfona w kieszeni spodni, co w połączeniu z niezdrowym stylem życia i otyłością powoduje dalsze problemy zdrowotne.

Za najbardziej niebezpieczne metale, a jednocześnie najczęściej występujące w żywności, uznaje się kadm (Cd), ołów (Pb), rtęć (Hg) i arsen (As). Aktualny jest problem destrukcyjnego wpływu miedzi na proces gametogenezy i płodności osób pracujących w hutach i kopalniach rudy miedzi lub narażonych na długotrwałą ekspozycję na związki miedzi. Nadmiar tego pierwiastka pociąga za sobą problemy związane z gospodarką innymi pierwiastkami śladowymi, m.in. cynkiem i żelazem [2]. Fizjologicznie stężenie cynku jest podstawowym czynnikiem w procesach proliferacji, mejozy i syntezy DNA w czasie gametogenezy [3]. Zainteresowanie metabolizmem miedzi jest związane z leczeniem nowotworów męskiego układu rozrodczego lekami zawierającymi platynę, która przenika do komórki w sposób podobny do miedzi [4].

Brak równowagi pro- i antyoksydacyjnej w nasieniu prowadzi do zaburzeń metabolicznych i czynnościowych męskich komórek rozrodczych. Jedną z przyczyn występowania stresu oksydacyjnego w nasieniu jest stan zapalny w obrębie męskiego układu rozrodczego. Czynniki infekcyjne i uszkodzenie tkanek prowadzą do infiltracji leukocytów, do miejsca toczącej się reakcji zapalnej [5]. Aktywacja leukocytów wiąże się z wytwarzaniem i uwalnianiem dużych ilości reaktywnych form tlenu RFT oraz uruchomieniem odpowiedzi immunologicznej obejmującej wydzielanie proteaz i cytokin prozapalnych. Pojedynczy leukocyt może wygenerować co najmniej 100 razy więcej reaktywnych form tlenu niż plemnik [7].

Przyczyną nieprawidłowości genetycznych w DNA plemników mogą być zarówno mutacje genów, jak i zaburzenia chromosomowe powstające na etapie spermatogenezy oraz już po jej zakończeniu, gdy plemniki przebywają i dojrzewają w najądrzach [6]. Stała ekspozycja na metale ciężkie przekłada się również na spraw-



lecular oxygen, in addition to the benefits associated with obtaining life energy, leads to the formation of reactive forms of this element, most of which are free radicals. It is estimated that 2–5% of the oxygen absorbed by the body is converted to reactive oxygen species. Oxygen free radicals are very reactive structures, acting in a rapid and non-specific manner, also on the sperm cell. They are generated during oxidoreduction in normally functioning cells which are under the influence of heavy metal contamination and, for example, ionizing and UV radiation as well as ultrasounds [9,10]. Male infertility is expressed by the sperm count (over 20 million/ml), sperm motility (at least 50%) and form, i.e. morphology. The medical reasons for male infertility include: varicocele (enlargement of the venous plexus that supplies blood to the testes), infections (sexually transmitted diseases), ejaculation problems (retrograde ejaculation, i.e. semen enters the bladder), abnormalities in descents of the testis, hormonal imbalance, chromosome aberrations in sperm, coeliac disease, past surgeries, etc. [12].

40–90% of male infertility cases are attributed to sperm production disorders of unknown origin. Oligospermia is the most common cause of impaired fertility in men. It means a low sperm count and it may be related to morphological defects due to damage mechanisms of male reproductive cell formation. Some men have abnormal sperm motility, i.e. asthenozoospermia, which means that sperm motility is lower than 50%. Alleged (apparent) asthenozoospermia is caused by the exposure of sperm to toxic agents, e.g. latex (especially condoms), spermicides, as well as extreme temperatures and, in laboratory tests, too long intervals between semen collection and its assessment. In many men, a low sperm count goes hand in hand with its poor motility. This phenomenon is described as oligoasthenozoospermia [12].

This paper discusses the role of metals that physiologically occur in semen, the impact of heavy metals on male fertility reduction, and the appropriateness of mineral supplementation, significant for inhibiting reduced fertility.

Biochemical composition of semen

The main macronutrient of semen is protein – 100 ml of ejaculated semen contains 5040 mg of protein. The energy source in semen is fructose, whose concentration is approx. 200–400 mg/100 ml of ejaculated semen. Lower values of this range are mostly found in infertile men. The second sugar in semen is glucose at a concentration of 102 mg/100 ml. Physiologically, semen mainly contains such micro- and macroelements as sodium (300 mg/100 ml), potassium (109 mg/100 ml), chlorides (142 mg/100 ml), calcium (27.6 mg/100 ml), magnesium (11.0 mg/100 ml) and zinc (16.5 mg/100 ml) [11,12].

The average ejaculated semen has a volume of 3.4 ml and a pH range from 7.4 to 8.4, which has alkalising properties and enables sperm motility. One portion of

ność komórkowych enzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych, tj. działanie dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), glutationu (GSH) [8]. Kontakt żywego organizmu z tlenem cząsteczkowym, oprócz korzyści związanych z uzyskaniem energii życiowej, wiąże się z powstawaniem reaktywnych form tego pierwiastka, z których większość stanowią cząsteczki o charakterze wolnych rodników. Ocenia się, że 2–5% tlenu pochłoniętego przez organizm ulega konwersji do reaktywnych form tlenu. Wolne rodniki tlenowe to struktury bardzo reaktywne, działające szybko i nieswoiście również na plemniki. Powstają podczas procesów oksydoredukcji w normalnie funkcjonujących komórkach pod wpływem skażenia metalami ciężkimi oraz np. promieniowania jonizującego, UV i ultradźwięków [9,10].

Niepłodność męska jest wyrażona przez liczbę plemników (ponad 20 mln/ml), ich ruchliwość (co najmniej 50%) oraz formę czyli morfologię. Wśród przyczyn medycznych niepłodności męskiej wyróżnia się: zylaki powrózka nasiennego (rozszerzenie splotu żylnego, który dostarcza krew do jader), zakażenia (choroby przenoszone drogą płciową), problemy z wytryskiem (wsteczny wytrysk, tzn. wysięk płynu nasiennego do pęcherza), zaburzenia w obniżeniu jądra, brak równowagi hormonalnej, aberracje chromosomowe w plemnikach, celiakię, przebyte operacje itd. [12].

40–90% przypadków męskiej niepłodności przypisuje się zaburzeniom produkcji plemników niewiadomego pochodzenia. Jej najczęstszą przyczyną jest oligospermia, która oznacza niską liczbę plemników i może być związana z defektami morfologicznymi na skutek uszkodzeń mechanizmów tworzenia się komórek męskich. U niektórych stwierdza się nieprawidłową ruchliwość plemników, czyli astenozoospermie, co oznacza, że mobilność spermy jest mniejsza niż 50%. Rzeczoma astenozoospermia (pozorna) spowodowana jest narażeniem spermy na działanie czynników toksycznych, np. kauczuku, zwłaszcza prezerwatywy, środków plemnikobójczych, a także ekstremalnych temperatur, a w badaniach laboratoryjnych wynika ze zbyt długich przerw między pobraniem spermy a jej oceną. U wielu mężczyzn niska liczba plemników idzie w parze z ich słabą ruchliwością. Zjawisko to opisuje się jako oligoastenozoospermie [12].

Prezentowana praca stanowi omówienie roli metali fizjologicznie występujących w nasieniu, wpływu metali ciężkich na obniżenie płodności męskiej i zasadność suplementacji minerałów istotnych w jej hamowaniu.

Skład biochemiczny nasienia

Głównym makroskładnikiem spermy jest białko – w 100 mL ejakulatu znajduje się go 5040 mg. Źródło energii w nasieniu stanowi fruktoza, której stężenie wynosi ok. 200–400 mg/100 mL ejakulatu. Dolne wartości tego zakresu występują przeważnie u mężczyzn z bezpłodnością. Drugim cukrem w nasieniu jest glukoza o stężeniu 102 mg/100 mL. Fizjologicznie występują przede wszystkim takie mikro- i makroelementy, jak:



semen, e.g. 5 ml, may contain 500 million sperm cells. It also contains putrescine, spermine, spermidine, cadaverine, vitamin C, prostaglandins, lipids, amino acids, enzymes, steroid hormones, vitamin B₁₂, cholesterol, urea and selenium [11,12].

The function of physiologically occurring metals in male semen

Such elements as zinc, selenium, copper and iron are part of semen antioxidant enzymes. They are essential in physiological processes and their level influences its total antioxidant status (TAS). There are many reports describing the correlation between microelements (including Cr, Cu, Co, Fe Zn, Se, Ni, Mn, Sn) and male infertility [13,14,27,42].

The role of zinc

The concentration of zinc (Zn) in ejaculated semen is approx. $\geq 2.4 \mu\text{mol}$ and exceeds the blood concentration 30 times. Significant differences in zinc concentrations were found in fertile and infertile men. This element, along with selenium, plays an important role in testicular growth, testosterone secretion and spermatogenesis, and it also stabilises sperm chromatin [15]. The chromatin contained in sperm, thanks to the presence of protamines high in arginine and cysteine, is resistant to physical and chemical agents during sperm migration through the male and then the female reproductive system to the oviductal ampulla, where conception occurs [15]. Arginine determines the formation of strong bonds among DNA molecules, and cysteine (oxidation of thiols) enables the formation of disulphide bonds, both within and among protamine molecules, which results in greater condensation of genetic material in the sperm head [17]. Protamines, binding with DNA, form structures called toroids, composed of tightly wrapped DNA loops, bonded and stabilised by zinc ions and cysteine [17]. The decreased level of zinc in semen is associated with hypogonadism, the atrophy of seminiferous tubules and the insufficient development of secondary sex characteristics. Many papers emphasise the significant function of this element. Its increased concentration in semen affects, among others, sperm production, motility and the correct morphology of sperm cells [18,19]. In seminal plasma, zinc is a cofactor of zinc-copper superoxide dismutase isoenzyme – CuZnSOD [75% of active SOD (superoxide dismutase) is cytoplasmic CuZnSOD]. Binding it to the cell surface may protect the cell from O₂, generated in the external environment. The activity of these enzymes plays an important role in protecting physiological processes. The activity of CuZnSOD and MnSOD dismutases has been shown to be high in sperm cells, which correlates with their motility. It is important that MnSOD dismutase is mainly found in the mitochondrial matrix of sperm cells [20,21,22].

sód (300 mg/100 mL), potas (109 mg/100 mL), chlorki (142 mg/100 mL), wapń (27,6 mg/100 mL), magnez (11,0 mg/100 mL) oraz cynk (16,5 mg/100 mL) [11,12]. Objętość przeciętnego ejakulatu wynosi 3,4 mL; zakres pH od 7,4 do 8,4 posiada właściwości alkalizujące i umożliwia ruchliwość plemników. W jednej porcji spermy, np. 5 mL, może znajdować się 500 milionów plemników. W jej skład wchodzi ponadto putrescyna, spermina, spermidyna, kadaweryna, witamina C, prostaglandyny, lipidy, aminokwasy, enzymy, hormony steroidowe, witamina B₁₂, cholesterol, mocznik oraz selen [11,12].

Rola fizjologicznie występujących metali w nasieniu męskim

Pierwiastki, takie jak cynk, selen, miedź i żelazo, wchodzi w skład enzymów antyoksydacyjnych nasienia. Są niezbędne w procesach fizjologicznych, a ich poziom wpływa na jego całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAS). Istnieje wiele doniesień opisujących korelację między mikroelementami, w tym m.in. Cr, Cu, Co, Fe Zn, Se, Ni, Mn, Sn, a męską niepłodnością [13,14,27,42].

Rola cynku

Stężenie cynku (Zn) w ejakulacie wynosi około $\geq 2,4 \mu\text{mol}$ i przekracza 30-krotne stężenie we krwi. Wykazano znaczące różnice w stężeniu tego pierwiastka u mężczyzn płodnych i niepłodnych. Obok selenu odgrywa on istotną rolę w procesie wzrostu jąder, wydzielaniu testosteronu i procesie spermatogenezy, a ponadto stabilizuje chromatynę plemników [15]. Chromatyna zawarta w plemnikach, dzięki obecności protamin bogatych w argininę i cysteinę, jest odporna na działanie czynników fizycznych oraz chemicznych w trakcie wędrówki plemników przez męski, a następnie żeński układ płciowy do bańki jajowodu, gdzie następuje zapłodnienie [15]. Arginina warunkuje tworzenie silnych wiązań między cząsteczkami DNA, a cysteina (utlenienie grup tiolowych) umożliwia tworzenie wiązań disiarczkowych zarówno wewnątrz, jak i między cząsteczkami protaminy, co powoduje większą kondensację materiału genetycznego w główce plemnika [17]. Protaminy w połączeniu z DNA tworzą struktury zwane toroidami, zbudowane z upakowanych silnie pętli DNA powiązanych i stabilizowanych jonami cynku oraz cysteiną [17]. Obniżony poziom cynku w nasieniu ma związek z hipogonadyzmem, atrofią kanalików nasiennych i niedostatecznym rozwojem drugorzędowych cech płciowych. Wiele prac podkreśla znaczącą rolę tego pierwiastka. Jego zwiększone stężenie w nasieniu wpływa m.in. na produkcję spermy, ruchliwość i prawidłową morfologię plemników [18,19]. Cynk w plazmie nasiennej jest kofaktorem izoenzymu dysmutazy ponadtlenkowej cynkowo-miedziowej – CuZnSOD (75% aktywnej dysmutazy ponadtlenkowej SOD stanowi



The role of selenium

Selenium (Se) naturally occurs in ejaculated semen and, like zinc, plays an important role in improving sexual performance in men [23]. As a trace element, selenium is essential for the proper functioning of many life processes in the human body. It is a component of the glutathione peroxidase active centre, which protects cell membranes from the adverse effects of lipid peroxides and H_2O_2 [23]. This enzyme comes from the prostate gland and has a greater affinity for H_2O_2 than catalase. Glutathione peroxidase has been shown to be present in seminal plasma and its concentration correlates with male infertility [14,22,23]. With regard to sperm cells, it is located in their mitochondrial matrix. In addition to its antioxidant activity, selenium protects the human body from the harmful effects of heavy metals and determines proper functioning of the immune system [23,24]. It also plays a significant role in undisturbed functioning of the reproductive system. A number of studies have been conducted to demonstrate a correlation between selenium intake and fertility, as well as disorders of procreative processes [24].

The role of iron

The cofactor of another antioxidant enzyme decomposing H_2O_2 , i.e. catalase, is iron. Many authors have identified H_2O_2 as the most toxic oxidant for the human sperm cell and the H_2O_2 molecule as necessary to prevent the toxic effects of iron. A perfect balance of the iron level is necessary for the body to function properly. If the iron level is too high, this element starts to accumulate in individual organs, gradually destroying them, like in haemochromatosis. Gonads are particularly susceptible to its excess. Accumulating iron damages the testes and may lead to their gradual atrophy, which is reflected in an incorrect sperm count and quality. Iron is essential in spermatogenesis as a functional component of prosthetic groups, such as heme, iron-sulphur centres (Fe-S) as well as 1- and 2-atomic iron centres, which determine the activities and functions of many proteins necessary for the proper functioning of major biological processes. These include electron transport, oxygen transport and storage, biochemical catalysis, detection of biological gas concentrations (O_2 , NO, CO), regulation of gene expression, regulation of circadian rhythm and microRNA synthesis [25]. In the gonads, spermatogonia (dividing by mitosis) need iron for DNA synthesis, cell growth, mitochondrial formation, and the activity of many enzymes containing iron ions. Iron ions are found in all stages of male germinal cells and testicular somatic cells. Sperm motility is largely dependent on oxidative phosphorylation in the mitochondria. During spermatogenesis, some tissue-specific proteins are expressed in the mitochondria, such as cytochrome c. It was found that there is only one form of cytochrome c in the human gonad, and proper functioning of the respiratory chain is not possible without the enzyme cytochrome c oxidase (CCO), which is a main enzyme

cytoplazmatyczna CuZnSOD). Wiązanie jej do powierzchni komórek może chronić komórkę przed O_2 generowanym w zewnętrznym środowisku. Działanie tych enzymów odgrywa ważną rolę w ochronie procesów fizjologicznych. Wykazano, że w plemnikach aktywność dysmutazy CuZnSOD i dysmutazy MnSOD jest duża, co koreluje z ich ruchliwością. Istotne jest, że dysmutaza MnSOD występuje głównie w macierzy mitochondrialnej plemników [20,21,22].

Rola selenu

Selen (Se) naturalnie występuje w ejakulacji i odgrywa ważną rolę w podtrzymywaniu sprawności seksualnej mężczyzn, poprawiając, podobnie jak cynk, jakość nasienia [23]. Selen jako pierwiastek śladowy jest niezbędny do prawidłowego przebiegu wielu procesów życiowych w organizmie ludzkim. Stanowi składnik aktywnego centrum peroksydazy glutationowej, która chroni błony komórkowe przed niekorzystnym działaniem nadtlenu lipidów oraz H_2O_2 [23]. Enzym ten pochodzi z prostaty i ma większe powinowactwo do H_2O_2 niż katalaza. Wykazano, że peroksydaza glutationowa jest obecna w plazmie nasiennej i jej stężenie koreluje z męską niepłodnością [14,22,23]. W plemnikach znajduje się w macierzy mitochondrialnej. Oprócz aktywności antyoksydacyjnej selen chroni organizm przed szkodliwym działaniem metali ciężkich i decyduje o prawidłowym funkcjonowaniu układu immunologicznego [23,24]. Odgrywa również znaczącą rolę w niezakłóconym funkcjonowaniu układu rozrodczego. Przeprowadzono wiele badań wykazujących korelację pomiędzy spożyciem selenu i płodnością, a także zaburzeniami procesów prokreacyjnych [24].

Rola żelaza

Kofaktorem kolejnego enzymu antyoksydacyjnego rozkładającego H_2O_2 , czyli katalazy, jest żelazo. Wielu autorów uznało H_2O_2 za najbardziej toksyczny utleniacz dla ludzkiego plemnika, zaś cząsteczkę H_2O_2 za niezbędną do zapobiegania toksycznemu działaniu żelaza. Aby organizm funkcjonował prawidłowo, poziom żelaza musi być w idealnej równowadze. Jeżeli jest za wysoki, pierwiastek ten zaczyna się odkładać w poszczególnych narządach, stopniowo je niszcząc, jak np. w hemochromatozie. Narządami szczególnie wrażliwymi na jego nadmiar są gonady. Gromadzące się żelazo uszkadza jądra i może prowadzić do ich stopniowego zaniku, co odzwierciedla się w nieprawidłowej ilości i jakości spermy. Żelazo jest niezbędne w procesie spermatogenezy, będąc funkcjonalnym komponentem grup prostetycznych, takich jak hem, centra żelazowo-siarkowe (Fe-S) oraz 1- i 2-atomowe centra żelazowe, które determinują aktywności i funkcje wielu białek niezbędnych do prawidłowego przebiegu głównych procesów biologicznych. Należy wymienić tu transport elektronów, transport i magazynowanie tlenu, katalizę biochemiczną, detekcję stężenia gazów biologicznych (O_2 , NO, CO), regulację ekspresji genów, regulację ryt-



in this process. Cytochrome c oxidase is a large protein complex, consisting of 13 units, embedded in the inner mitochondrial membrane. This complex is the last protein in the respiratory chain, in which 2 heme molecules and two copper centres (CuA_i CuB) play a major role. This protein receives electrons from cytochrome c and transfers them to the oxygen molecule, further satisfying the sperm demand for ATP. As research has shown, glycolysis also seems to play a significant role in providing energy for movement of the spermatid filament [26].

Iron is essential for normal cell function and its toxicity threshold in human semen seems relatively low [22]. In the study by A. Kasperczyk in 2016, it was shown that this element has a negative effect on sperm motility and an increased TOS (Total Oxygen Status) value, which reflects the intensity of oxidative stress. The iron concentration in seminal plasma increases with age in men, which may damage sperm [25]. This element also modulates the level of several cytokines, mainly interleukin 8 and GM-CSF levels, affecting sperm motility and morphology. Iron may have a negative effect on sperm morphology; therefore determining its level in semen during infertility treatment is recommended [26].

The antagonistic effects of cadmium, manganese, lead, zinc and copper in relation to iron are particularly important. With regard to copper, this relationship is complex – together with iron, it takes part in redox processes [22,26].

However, there are studies that did not show a significant relationship between zinc levels and sperm motility. Simultaneously, it has been found that copper, manganese and iron can affect the motility of sperm cells due to their higher levels in men with normospermia than in those with asthenozoospermia [27].

Mentioning the role of iron, it is impossible to omit transferrin assays. Its concentration and saturation are routinely performed in the case of an overdose of dietary supplements and in heavy metal poisoning. Transferrin is considered to be a multifunctional protein involved in antioxidant and antimicrobial protective action, as well as in cytoprotection. Transferrin is located in the testis, mainly in: sperm cells, Sertoli and Leydig cells, secretory and basal cells in the ejaculatory duct. It is believed to play a protective role against environmental contamination with heavy metals, especially during long-term storage of sperm in the spermatid canal, as well as in the regulation of spermatogenesis and providing iron for the development of gametes [28].

The role of copper

In physiological concentrations, this element is necessary for proper spermatogenesis. The copper content in the male gonad is very low when compared to other microelements such as zinc, iron or selenium. Research has shown that in the testis, a higher concentration of copper is observed in the seminiferous tubules than in interstitial tissue [29]. In the mature sperm cell, cop-

mu dobowego oraz syntezę mikro-RNA [25]. W gonadach żelazo jest potrzebne dzielącym się mitotycznie spermatogoniom do syntezy DNA, wzrostu komórek, formowania mitochondriów oraz działania wielu enzymów zawierających jony żelaza. Jony żelaza znajdują się we wszystkich stadiach komórek germinalnych męskich oraz komórek somatycznych jądra. Ruchliwość plemników w dużej mierze zależy od fosforylacji oksydacyjnej zachodzącej w mitochondriach. W czasie procesu spermatogenezy w mitochondriach zachodzi ekspresja niektórych swoistych tkankowo białek, np. cytochromu c. Stwierdzono, że w gonadzie człowieka występuje tylko jedna postać cytochromu c, a prawidłowe działanie łańcucha oddechowego nie jest możliwe bez głównego w tym procesie enzymu oksydazy cytochromu c (CCO). Oksydaza cytochromu c jest dużym kompleksem białkowym, złożonym z 13 jednostek, wbudowanym w wewnętrzną błonę mitochondrialną. Kompleks ten jest ostatnim białkiem łańcucha oddechowego, w którym główną rolę odgrywają 2 cząsteczki hemu oraz dwa centra miedziowe (CuA_i CuB). Białko to odbiera elektrony z cytochromu c i przenosi je na cząsteczkę tlenu, dalej zaspokajając zapotrzebowanie plemnika na ATP. Jak dowodzą badania, również glikoliza wydaje się odgrywać znaczącą rolę w dostarczaniu energii do ruchu wtki [26].

Żelazo jest niezbędne do normalnej pracy komórki, a próg jego toksyczności w ludzkim nasieniu wydaje się stosunkowo niski [22]. W badaniu A. Kasperczyk z 2016 r. wykazano, że pierwiastek ten negatywnie wpływa na ruchliwość plemników i podwyższoną wartość TOS (Total Oxygen Status), która odzwierciedla intensywność stresu oksydacyjnego. Stężenie żelaza w plazmie nasiennej wzrasta u mężczyzn wraz z wiekiem, co może przyczyniać się do uszkodzenia plemników [25]. Pierwiastek ten moduluje również poziom kilku cytokin, głównie interleukiny 8 i poziom GM-CSF, wpływając na ruchliwość plemników i ich morfologię. Żelazo może negatywnie oddziaływać na morfologię plemników, dlatego zaleca się oznaczenie jego poziomu w nasieniu podczas leczenia niepłodności [26].

Szczególnie ważne jest antagonistyczne działanie kadmu, manganu, ołowiu, cynku i miedzi w stosunku do żelaza. W odniesieniu do miedzi, która wraz z żelazem bierze udział w procesach redoks, zależność ta jest skomplikowana [22,26].

Istnieją jednak badania, które nie wykazały istotnej korelacji między poziomem cynku a ruchliwością plemników, przy czym stwierdzono, że miedź, mangan i żelazo mogą wpływać na tę ruchliwość ze względu na ich wyższy poziom u mężczyzn z normospermia niż w grupie mężczyzn z astenospermia [27].

Gdy mówimy o roli żelaza, nie sposób pominąć oznaczeń transferryny. Jej stężenie oraz wysycenie są rutynowo wykonywane w przypadku przedawkowania suplementów diety i w zatruciach metalami. Transferyna jest uznawana za wielofunkcyjne białko biorące udział w antyoksydacyjnym, przeciwdrobnoustrojowym dzia-



per accumulates mainly in the midpiece, while smaller amounts are found in the sperm head. In the male gonad, copper is present in the germ cells as an essential component of copper-dependent enzymes at all stages of gamete development. It is also necessary for proper functioning of the somatic cells of the male gonad – Sertoli cells performing support and nutrient functions and Leydig cells producing testosterone. Copper plays an important role in the stage of sperm maturity in the epididymis and in the journey of the mature gamete in the birth canal. Studies confirm the importance of copper in cell division, especially in spermatogenesis. A special role is played by copper-dependent enzyme proteins – cytochrome oxidase and dismutase: SOD1 and SOD3. Proteins transporting copper ions through the membrane and in the cell (metal chaperones) as well as proteins of an ATPase structure, regulating the level of this element in cells, are also important for the proper functioning of spermatogenesis. Copper affects the androgenic balance regarding the hypothalamic-pituitary-testes line. In the polluted environment of human life, copper is a very reactive element and, in its free state, leads to the production of large amounts of free radicals and subsequently to protein and DNA damage. Research confirms that it is also a microelement necessary for meiosis and it occurs in premeiotic cells in large numbers [29]. The penetration of copper ions into the cell is similar to that of platinum, i.e. by means of CTR1 and CTR2 membrane transporters. Correlations between the expression level of CTR1, CTR2 proteins and the prognosis of patients treated with platinum ions have been shown [30]. The role of copper in glycolysis is also emphasised, which may affect the production of ATP and thus the quality and motility of sperm. The highest concentration of copper occurs in the epididymis, where sperm cells acquire motility [29].

The introductory effect of transition metal ions, such as: Fe^{2+} and Cu^{2+} (Fenton's reagent), initiates the peroxidation of membrane phospholipids in sperm cells. This is the basic mechanism of cell damage, induced by reactive oxygen species (ROS). There are reports saying that an increase in the non-specific permeability of sperm membranes, which is the result of structural modification of the lipid part of the cell membrane, reduces the motility and lifespan of spermatozoa. During oxidative stress, reactive oxygen species also damage proteins, leading to changes in their structure and loss of their bioactivity [31]. The toxic effect of an excess of copper in the blood or semen is manifested by a decrease in the number of spermatozoa, abnormalities in their morphology, concentration and viability, in both humans and animals [29].

Impact of heavy metals on male semen

Soil contamination is mainly due to exceeding the permissible metal contents, especially lead and cadmium. Environmental contamination with arsenic, cadmium,

łaniu ochronnym i cytoprotekcyjnym. Umiejscowiona jest w jądrze, głównie w plemnikach, w komórkach Sertoliego i komórkach Leydiga, w komórkach分泌nych i podstawnych, w przewodzie odprowadzającym nasienie. Uważa się, że odgrywa rolę ochronną przed zanieczyszczeniem środowiska metalami ciężkimi, szczególnie podczas długotrwałego przechowywania plemników w kanale nasiennym, a także w regulacji spermatogenezy i dostarczaniu żelaza do rozwoju komórek rozrodczych [28].

Rola miedzi

Pierwiastek ten w stężeniach fizjologicznych jest konieczny do prawidłowego procesu spermatogenezy. Zawartość miedzi w gonadzie męskiej jest bardzo mała w porównaniu do innych mikroelementów, takich jak cynk, żelazo czy selen. Badania wykazały, że w jądrze, w kanalikach nasiennych obserwuje się wyższe stężenie miedzi niż w tkance interstycjalnej [29]. W dojrzałym plemniku miedź gromadzi się głównie we wstawce, natomiast mniejsze jej ilości znajdują się w główce plemnika. W gonadzie męskiej obecna jest w komórkach germinalnych, stanowiąc niezbędny składnik enzymów miedziozależnych na wszystkich etapach rozwoju gamety. Jest również potrzebna do prawidłowego funkcjonowania komórek somatycznych gonady męskiej, pełniących funkcję podporową i odżywczą komórek Sertoliego oraz wytwarzających testosteron komórek Leydiga. Miedź odgrywa ważną rolę na etapie dojrzewania plemnika w najądrzu oraz w samej wędrowce dojrzałej gamety w drogach rodnych kobiety. Badania potwierdzają istotne znaczenie miedzi w procesach podziału komórek, zwłaszcza spermatogenezy. Szczególną rolę spełniają tu miedziozależne białka enzymatyczne – oksydaza cytochromowa i dysmutaza: SOD1 i SOD3. Do prawidłowego przebiegu spermatogenezy ważne są również białka transportujące jony miedzi przez błonę oraz w obrębie komórki (metalochaperony), a także białka o budowie ATP-az regulujące poziom tego pierwiastka w komórkach. Miedź wpływa na gospodarkę androgenną na linii podwzgórze-przysadka-jądra. W zanieczyszczonym środowisku życia człowieka miedź jest bardzo reaktywnym pierwiastkiem i w stanie wolnym doprowadza do wytwarzania dużej ilości wolnych rodników, a następnie do uszkodzeń białek i DNA. Badania potwierdzają, że jest też niezbędnym mikroelementem potrzebnym do procesu mejozy oraz wskazują na jej obecność w dużej ilości w komórkach premejotycznych [29]. Przenikanie jonów miedzi do komórki odbywa się w podobny sposób jak platyny, tj. za pomocą transporterów błonowych CTR1 i CTR2. Wykazano korelacje między poziomem ekspresji białek CTR1 i CTR2 a rokowaniem chorych poddanych terapii z jonami platyny [30]. Podkreśla się również rolę miedzi w procesach glikolizy, co może wpływać na wytwarzanie ATP, a przez to na jakość i ruchliwość plemników. Najwyższe stężenie miedzi występuje w najądrzu, gdzie plemniki nabywają zdolność do ruchu [29].



copper, selenium and strontium may have harmful effects on health by: lowering the quality of semen, causing apoptosis of seminiferous epithelium cells, and damaging their DNA [13,32,33].

A meta-analysis conducted by Chinese researchers in March 2017, evaluating the impact of heavy metals – lead, cadmium, zinc and copper – on male semen with normal and low fertility, showed a significant difference between fertility and three metal ions (Pb, Cd, Zn). No significant differences in the effects of copper on fertility were found. The results have shown that men with low fertility have higher lead and cadmium levels in semen and lower zinc ones [13].

Impact of cadmium

Cadmium is one of the most common food pollutants (it is mainly found in root vegetables, i.e. carrot, parsley and celery; less frequently in tomatoes or fruit). This is one of the most toxic metals. It belongs to elements that are easily absorbed by the body. It reduces the assimilation of minerals such as calcium, zinc and iron. Its harmful impact consists in disturbing the proper functioning of internal organs and the brain. The occurrence of cadmium in the body may cause neoplastic lesions, hypertension and respiratory failure. It is also considered to be one of the causes of immune system disorders [31]. Cadmium is also known as an endocrine disruptor. The testes are particularly susceptible to its concentration, and their damage occurs already at very low exposure [33]. In experimental studies conducted on animals, its toxic impact on reproduction was evaluated, including structural damage to the vascular system of the testes and the blood-testis barrier, inflammation, cytotoxicity in Sertoli and Leydig cells, oxidative stress and the hypothalamic-pituitary-gonadal axis disorder. However, researchers stressed the interdependence between this assessment and other pollutants, as well as the inhomogeneity of the test group [34]. In animals treated with cadmium chloride $CdCl_2$, a significant spermatogenesis dysfunction and histoarchitecture of the seminiferous tubules were observed. Interestingly, this study explained that the use of resveratrol protects against abnormal spermatogenesis induced by $CdCl_2$, as well as against overexpression of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and its signalling proteins. A study on a population of 587 males, aged 20-59 years and without occupational exposure, has shown that higher cadmium values may reduce the volume of semen, progressive motility and sperm morphology [36,37].

Tobacco smoke contains more than 4000 kinds of components, including nicotine, tar, carbon monoxide, polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals. Due to the complexity of the components, its toxicological mechanism is particularly complicated. Cigarette smoking increases the concentration of seminal leukocytes by 48% and ROS levels by 107% [35]. Cadmium plays a major toxic role, disrupting the antioxidant processes in seminal plasma. Increased oxidative stress

Promocyjne działanie jonów metali przejściowych, takich jak: Fe^{2+} i Cu^{2+} (reakcja Fentona), inicjuje peroksydację błonowych fosfolipidów w plemnikach. Jest to podstawowy mechanizm indukowanego przez reaktywne formy tlenu (RFT) uszkodzenia komórek. Istnieją doniesienia, że wzrost nieswoistej przepuszczalności błon plemników, który powstał w wyniku modyfikacji strukturalnej części lipidowej błony komórkowej, obniża ruchliwość i przeżywalność plemników. Podczas stresu oksydacyjnego reaktywne formy tlenu uszkadzają również białka, prowadząc do zmian w ich strukturze i do utraty ich aktywności biologicznej [31]. Toksyczny skutek nadmiaru miedzi we krwi lub nasieniu objawia się zmniejszeniem liczby ruchliwych plemników, zaburzeniami w ich morfologii, koncentracji i żywotności zarówno u ludzi, jaki i zwierząt [29].

Wpływ metali ciężkich na nasienie męskie

Zanieczyszczenie gleby spowodowane jest głównie przekroczeniem dopuszczalnych zawartości metali, głównie ołowiu i kadmu. Skażenie środowiska arsenem, kadmem, miedzią, selenem i strontem może mieć szkodliwe działanie na zdrowie, poprzez obniżenie jakości nasienia, powodowanie apoptozy komórek nabłonka plemnikotwórczego i uszkodzanie ich DNA [13,32,33].

Metaanaliza przeprowadzona przez badaczy chińskich w marcu 2017 r., oceniająca wpływ metali ciężkich: ołowiu, kadmu, cynku i miedzi na nasienie męskie z normalną i niską płodnością, wykazała istotną różnicę między płodnością a trzema jonami metali (Pb, Cd, Zn). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic we wpływie miedzi na płodność. Według wyników u mężczyzn z niską płodnością poziomy ołowiu i kadmu w nasieniu były wyższe, natomiast poziomy cynku niższe [13].

Wpływ kadmu

Kadm jest jednym z najczęstszych zanieczyszczeń żywności (najwięcej występuje go w warzywach korzeniowych, takich jak marchew, pietruszka i seler, mniej w pomidorach czy owocach) i jednocześnie jednym z najbardziej toksycznych metali. Należy do pierwiastków łatwo wchłanianych przez organizm. Obniża przyswajalność składników mineralnych, takich jak wapń, cynk i żelazo. Jego szkodliwe działanie polega na zaburzeniu prawidłowego funkcjonowania narządów wewnętrznych i mózgu. Obecność kadmu w organizmie może wywoływać zmiany nowotworowe, nadciśnienie oraz uszkodzenia układu oddechowego. Uważa się również, że jest jedną z przyczyn zaburzeń układu odpornościowego [31]. Kadm znany jest również jako substancja zaburzająca gospodarkę hormonalną. Szczególnie wrażliwe na jego stężenie są jądra, a do ich uszkodzenia dochodzi już przy bardzo niskim stopniu narażenia [33]. W badaniach eksperymentalnych na zwierzętach oceniano jego toksyczny wpływ na repro-



damages the sperm DNA structure manifesting through reduced integrality of sperm genetic material, causing male infertility [35,44,45]. Most of the studies concerning this subject have proven the impaired quality of semen, disorders in reproductive hormone function, dysfunctional spermatogenesis, as well as impaired maturity and function of sperm cells [36,37,38].

Impact of mercury

Mercury, found in, among others, fish, shellfish and dried mushrooms, may cause serious health complications. An excess of this element may lead to neurological and immune disorders. Exposure through the consumption of fish and shellfish consumption has shown the important role of diet in the study of relations between heavy metals and semen parameters in men with fertility problems [39]. As confirmed by researchers, further analyses are needed to clarify the complex relationship between mercury and its impact on reproduction, primarily on semen parameters in men [14,42].

Impact of lead

Lead is also a toxic element, present in air, water and soil. The permitted quantity of lead in products intended for consumption should not exceed 1 mg/kg of product weight. In the case of increased exposure to lead, there is a risk of so-called plumbism, i.e. lead poisoning, manifested by headaches, indigestion, asthenia, and in the event of chronic exposure – anaemia. This element accumulates in the male reproductive organs and can reach a concentration of up to 10 µM in seminal plasma. Lead impairs mammalian spermatogenesis and in vivo semen quality [40]. It also inhibits in vitro spermatozoa function by reducing the levels of intracellular cyclic adenosine monophosphate (cAMP) of sperm, calcium and the tyrosine phosphorylation of sperm proteins [40,41].

In 2012, the first prospective and non-randomised clinical study was published, which showed that a high level of lead accumulation in semen could reduce the sperm count, contributing to infertility in men without occupational exposure to lead (Pb) [41]. In a 2007 study from Telisman, high levels of lead in the blood were related to a higher percentage of abnormal spermatozoa [42]. Increased levels of lead in the seminal fluid had a negative impact on the quality of semen [13,24,31,40]. Similarly, in a Taiwanese study, increased levels of lead in the blood (> 50 µg/L) correlated with a low quality of semen [20]. In 2012, an interesting study was conducted on men with azoospermia and dark-coloured semen, in which platinum, lead, manganese and nickel were found. The results indicate that the dark colour of semen is related to the presence of those heavy metals in sperm cells [43].

Impact of arsenic

Another example of a heavy metal which poses a serious health risk is arsenic. Its presence was detected,

w tym m.in. strukturalne uszkodzenie układu naczyniowego jąder i bariery krew-jądro, zapalenie, cytotoksyczność w komórkach Sertoliego i Leydiga, stres oksydacyjny oraz zaburzenie osi podwzgórze-przysadka-gonady. Badacze podkreślili jednak współzależność tej oceny z innymi zanieczyszczeniami i niejednorodnością badanej grupy [34]. U zwierząt, którym podawano chlorek kadmu CdCl₂, obserwowano istotne zaburzenie spermatogenezy i histoarchitekturę kanalików nasiennych. Co ciekawe, badanie to wyjaśniło, że zastosowanie resweratrolu chroni przed indukowaną przez CdCl₂ zaburzoną spermatogenezą i nadekspresją receptora nabłonkowego czynnika wzrostu EGFR i jego białek sygnalizacyjnych. W badaniu na populacji 587 mężczyzn w wieku 20–59 lat bez zawodowej ekspozycji wykazano, że wyższa wartość kadmu może zmniejszać objętość nasienia, obniżać postępującą ruchliwość i morfologię plemników [36,37].

Dym tytoniowy zawiera ponad 4000 rodzajów składników, w tym nikotynę, substancje smoliste, tlenek węgla, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne i metale ciężkie. Ze względu na złożoność składników jego mechanizm toksykologiczny jest szczególnie skomplikowany. Palenie papierosów powoduje wzrost stężenia leukocytów nasiennych o 48% i wzrost poziomów ROS o 107% [35]. Główną rolę toksyczną odgrywa kadm, zaburzając procesy antyoksydacyjne w plazmie nasienia. Podwyższony stres oksydacyjny zaburza strukturę DNA plemników manifestującą się obniżoną integralnością materiału genetycznego plemników, wywołując nieplodność męską [35,44,45]. W większości badań, które podejmowały ten temat, udowodniono obniżoną jakość nasienia, zaburzenia funkcji hormonu reprodukcyjnego i upośledzoną spermatogenezę, dojrzewanie i funkcje plemników [36,37,38].

Wpływ rtęci

Rtęć występująca między innymi w rybach, skorupiakach, suszonych grzybach może wywołać poważne powikłania zdrowotne. Jest pierwiastkiem, którego nadmiar może prowadzić do zaburzeń neurologicznych i immunologicznych. Ekspozycja poprzez spożycie ryb i skorupiaków wykazała ważną rolę diety w badaniu związków między metalami ciężkimi a parametrami nasienia u mężczyzn z problemami płodności [39]. Jak potwierdzają badający, potrzebne są dalsze analizy, aby wyjaśnić złożoną zależność między rtęcią a wpływem na reprodukcję, w tym przede wszystkim na parametry nasienia u mężczyzn [14,42].

Wpływ ołowiu

Ołów należy również do toksycznych pierwiastków występujących zarówno w powietrzu, wodzie, jak i glebie. Dopuszczalna ilość w produktach przeznaczonych do konsumpcji nie powinna przekraczać 1 mg/kg masy produktu. W przypadku zwiększonej ekspozycji na ołów istnieje ryzyko wystąpienia tzw. ołowicy, czyli zatrucia ołowiem, objawiającej się bólami głowy, nie-



among others, in oysters, prawns and dried fruit. It is a compound that accumulates in the whole body and its activity leads, among others, to dysfunction of the immune system, problems with breathing and even neoplastic diseases [27,44].

A study conducted in southern India reported the occurrence of two heavy metals – arsenic and cadmium – in geogenically contaminated groundwater and in seminal plasma in infertile males. The presence of metals reduced the sperm count in the plasma of the subjects. The study confirmed a high correlation between the altered sperm parameters and lower expression of additional sex gland markers such as fructose, acid phosphatase and neutral α -glucosidase in seminal plasma. This research emphasises the differences in sperm function parameters such as hypoosmotic swelling, acrosome reaction and nuclear chromatin decondensation. These findings are significant and relate to the probable relationship between the impact of arsenic/cadmium and altered sperm function, as well as the inhibition of sperm enzymes [45].

Chinese researchers evaluated the relationship between the urine concentration of 13 metals – arsenic, cadmium, cobalt, chromium, copper, iron, lead, manganese, molybdenum, mercury, nickel, selenium and zinc – in the urine of 394 men from the fertility clinic and the sperm parameters (sperm concentration, count, motility and morphology). It was shown that only exposure to nickel can be related to reduced sperm morphology, while exposure to selenium can be associated with improved sperm quality – sperm concentration, count, motility, and proper morphology [27].

Impact of cobalt, chromium, molybdenum

An interesting phenomenon is described by researchers evaluating the impact of metallosis caused by intramedullary nailing (IMN) on male semen. It has been shown that increased concentrations of plasmatic cobalt, chromium and molybdenum correlate with high concentrations of these elements in semen, contributing to increased sperm apoptosis [47].

CONCLUSIONS

One of the most important issues for andrologists is the question concerning factors that can lead to sperm DNA damage. The current state of research indicates various sperm damage pathways and evaluation of the environmental impact on fertility is not properly systematised. Heavy metals are one of the reasons for damage to the sperm structure and function, which can lead to a reduced ability of sperm to fertilise. It is expected that appropriate future research will be concentrated on preventing sperm DNA damage and explaining its specific pathogenic mechanisms in order to provide some evidence for its treatment and to maintain physiological protection. Oxidative stress induced by various substances, including heavy metals, is now considered to be one of the possible causes of male infertility.

strawnością, ogólnym osłabieniem organizmu, a w ekspozycji przewlekłej anemią. Pierwiastek ten gromadzi się w męskich narządach rozrodczych i może osiągnąć w plazmie nasienia stężenie do 10 μ M. Ołów zaburza spermatogenezę ssaków i jakość nasienia *in vivo* [40]. Hamuje również funkcje plemników *in vitro* poprzez zmniejszenie poziomów wewnątrzkomórkowego cyklicznego monofosforanu adenozyliny (cAMP) spermy, wapnia i fosforylacji tyrozyny białek plemników [40,41].

W 2012 r. opublikowano pierwsze prospektywne i nierandomizowane badanie kliniczne, które wykazało, że wysoki poziom akumulacji ołowiu w nasieniu może zmniejszyć liczbę plemników, przyczyniając się do niepłodności u mężczyzn bez narażenia zawodowego na ołów Pb [41].

W badaniu Telisman z 2007 r. wysoki poziom ołowiu we krwi związany był z wyższym procentem patologicznych plemników [42]. Podwyższony poziom ołowiu w płynie nasiennym wpływał na spadek jakości nasienia [13,24,31,40]. Podobnie w tajwańskim badaniu – podwyższone poziomy ołowiu we krwi ($> 50 \mu\text{g/L}$) korelowały z niską jakością nasienia [20]. Ciekawemu badaniu poddano w 2012 r. mężczyzn z azoospermia i ciemno zabarwionym nasieniem, w którym wykazano obecność platyny, ołowiu, manganu i niklu. Wyniki wskazują, że ciemne zabarwienie nasienia ma związek z obecnością tych metali ciężkich w komórkach nasieniach [43].

Wpływ arsenu

Innym przykładem metalu ciężkiego, stanowiącego poważne zagrożenie dla zdrowia, jest arsen. Jego obecność wykryto między innymi w ostrygach, krewetkach i suszonych owocach. Jest związkami, który kumuluje się w całym organizmie, a jego działanie prowadzi między innymi do uszkodzenia układu immunologicznego, problemów z oddychaniem, a nawet chorób nowotworowych [27,44].

W badaniu przeprowadzonym w południowych Indiach odnotowano występowanie dwóch metali ciężkich – arsenu i kadmu – w geogenicznie zanieczyszczonych wodach gruntowych i w osoczu nasienia niepłodnych mężczyzn. Obecność metali zmniejszyła liczbę plemników w plazmie badanych. Badanie potwierdziło wysoką korelację między zmienionymi parametrami nasienia i mniejszą ekspresją dodatkowych markerów gruczołów płciowych, takich jak fruktoza, kwaśna fosfataza i obojętna α -glukozydaza w osoczu nasienia. Badanie to podkreśla różnice w parametrach funkcji plemników, takich jak obrzęk hiposmotyczny, reakcja akrosomowa i dekondukcja chromatyny jądrowej. Odkrycia te są znaczące i odnoszą się do prawdopodobnego związku między wpływem arsenu i kadmu a zmienioną funkcją plemników, a także inhibicją enzymów nasienia [45].

Chińscy naukowcy oceniali związek stężenia 13 metali w moczu – arsenu, kadmu, kobaltu, chromu, miedzi, żelaza, ołowiu, manganu, molibdenu, rtęci, niklu, selenu i cynku w moczu 394 mężczyzn z kliniki niepłodności



According to the reports collected above on the impact of the polluted environment and certain metals, zinc and selenium supplementation seems to be most appropriate in the period before and during procreation. Both elements significantly improve semen quality. Zinc prevents a decrease in testosterone, in other words, it prevents a reduction in the sperm count. It favours the production of new semen and regulates its vitality. It also protects a man from erectile dysfunction and hypogonadism. Appropriate levels of selenium affect testosterone production and thus sexual drive. Selenium takes part in the production process of antioxidants, which affects, among others, the motility of the spermatic filament, thus enabling it to reach the oocyte.

The other microelements that are part of antioxidant enzymes, i.e. manganese, copper and chromium, should also be supplemented so that the activity of enzymes protecting the body against harmful agents, e.g. lead and cadmium in human seminal plasma, does not cause sperm DNA fragmentation. It also seems appropriate to avoid the impact of nickel (omnipresent in costume jewellery), which also lowers the morphological parameters of semen.

An important issue is to determine the level of iodine, the excessive consumption of which may affect hypothyroidism (the cause of 1% of infertility), responsible for semen quality. Reducing iodine intake improves the sperm count in ejaculated semen. Determining the concentration of iron in semen is suggested for people reporting to infertility clinics. Iron concentration in seminal plasma increases in men after 33 years of age and it may contribute to inducing sperm damage. High levels of calcium stimulate the antioxidant system of seminal plasma under physiological conditions.

An increase in the concentration of metals in the testis stimulates the secretion of ceruloplasmin. This protein can be a susceptible inflammatory biomarker in the reproductive system. Studies on the role of copper in the reproductive system are important due to the use of anticancer drugs in the therapy of the male reproductive system.

According to andrologists' studies, the laboratory values of semen parameters are a tool to evaluate the state of male fertility only in combination with clinical data.

a parametrami nasienia (stężeniem, liczbą, ruchliwością i morfologią plemników). Wykazano, że jedynie narażenie na nikiel może być związane ze zmniejszoną morfologią plemników, natomiast ekspozycja na selen może mieć związek z lepszą jakością nasienia – koncentracją plemników, liczbą, ruchliwością, prawidłową morfologią [27].

Wpływ kobaltu, chromu, molibdenu

Ciekawe zjawisko opisują badacze oceniający wpływ metallozy spowodowanej gwoździowaniem śródszpikowym (IMN) na nasienie męskie. Wykazano, że zwiększone stężenia osocznego kobaltu, chromu i molibdenu korelowały z wysokim stężeniem tych pierwiastków w nasieniu, co prowadziło do zwiększonej apoptozy plemników [47].

WNIOSKI

Jedną z istotnych dla andrologów kwestią pozostaje pytanie o czynniki mogące prowadzić do uszkodzenia DNA plemników. Obecny stan badań wskazuje na różnorodne szlaki uszkodzenia plemników, a ocena wpływu środowiska na płodność nie jest odpowiednio usystematyzowana. Metale ciężkie są jedną z przyczyn uszkodzenia struktury i funkcji plemników, mogącą prowadzić do obniżonej zdolności do zapłodnienia. Oczekuje się, że odpowiednie badania w przyszłości będą koncentrować się na zapobieganiu uszkodzeniom DNA plemników i wyjaśnieniu jego specyficznych patogennych mechanizmów, tak aby dostarczyć pewnych dowodów na jego leczenie oraz utrzymanie fizjologicznej ochrony. Stres oksydacyjny indukowany różnymi substancjami, w tym metalami ciężkimi, uznawany jest obecnie za jedną z możliwych przyczyn męskiej niepłodności.

Według zgromadzonych powyżej doniesień na temat wpływu zanieczyszczonego środowiska i niektórych metali, najszlachetniejsza wydaje się suplementacja cynku oraz selenu w okresie przed i w trakcie prokreacji. Oba pierwiastki poprawiają znacząco jakość nasienia. Cynk zapobiega obniżeniu testosteronu, a tym samym zmniejszeniu ilości nasienia. Sprzyja wytwarzaniu nowego nasienia i reguluje jego żywotność. Chroni także mężczyznę przed zaburzeniami potencji oraz hipogonadyzmem. Odpowiedni poziom selenu wpływa na produkcję testosteronu, a co za tym idzie na popęd seksualny. Selen bierze udział w procesie tworzenia przeciwutleniaczy, przez co wpływa m.in. na ruchliwość wtki plemnika, tym samym umożliwiając dotarcie do komórki jajowej.

Inne mikropierwiastki wchodzące w skład enzymów antyoksydacyjnych, czyli mangan, miedź i chrom, również powinny być suplementowane, tak aby aktywność enzymów ochraniających organizm przed czynnikami szkodliwymi, np. ołowiem i kadmem w plazmie nasienia ludzkiego, nie wywoływała fragmentacji DNA plemnika. Wydaje się również słuszne unikanie wpły-



Author's contribution

Study design – D. Chyra-Jach (70%), Z. Kaletka (15%), A. Kasperczyk (15%)
Data collection – not applicable
Manuscript preparation – D. Chyra-Jach
Literature research – D. Chyra-Jach (90%), Z. Kaletka (10%)
Final approval of the version to be published – D. Chyra-Jach, Z. Kaletka, A. Kasperczyk

REFERENCES

1. Mrugacz G., Pietrewicz P. Raport kampanii społecznej “Płodny Polak” 2015 Polskiego Towarzystwa Urologicznego i Polskiego. Towarzystwa Andrologicznego. Warszawa 2015.

2. Chia S.E., Ong C.N., Chua L.H., Ho L.M., Tay S.K. Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *J. Androl.* 2000; 21(1): 53–57.

3. Yamaguchi S., Miura C., Kikuchi K., Celino F.T., Agusa T., Tanabe S., Miura T. Zinc is an essential trace element for spermatogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009; 106(26): 10859–10864, doi: 10.1073/pnas.0900602106.

4. Larson C.A., Blair B.G., Safaei R., Howell S.B. The role of the mammalian copper transporter 1 in the cellular accumulation of platinum-based drugs. *Mol. Pharmacol.* 2009; 75(2): 324–330, doi: 10.1124/mol.108.052381.

5. Kasperczyk A., Dobrakowski M., Horak S., Zalejska-Fiolka J., Birkner E. The influence of macro and trace elements on sperm quality. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2015; 30: 153–159, doi: 10.1016/j.jtemb.2014.12.007.

6. Dobrakowski M., Kasperczyk S., Horak S., Chyra-Jach D., Birkner E., Kasperczyk A. Oxidative stress and motility impairment in the semen of fertile males. *Andr.* 2017; 49(10), doi: 10.1111/and.12783.

7. Lu J.C. Related factors of sperm DNA damage: Advances in studies. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2015; 21(8): 675–680.

8. Frączek M., Kurpisz M. The redox system in human semen and peroxidative damage of spermatozoa. *Postępy Hig. Med. Dosw.* (online) 2005; 59: 523–534.

9. Marchlewicz M., Szyplulska-Koziarska D., Grzegorzka A., Kruk J., Duchnik E., Wiszniewska B. Protection against oxidative stress in male reproductive system. *Pomeranian J. Life Sci.* 2016; 62(1): 44–52.

10. Walczak–Jedrzejowska R., Wolski J.K., Slowikowska-Hilezer J. The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent. European J. Urol.* 2013; 66(1): 60–67, doi: 10.5173/cej.2013.01.art19.

11. Podstawowe badanie nasienia wg standardów Światowej Organizacji Zdrowia z roku 2010. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Andrologicznego i Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych, Warszawa 2016.

12. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. Fifth Edition, WHO 2010.

13. Sun J., Yu G., Zhang Y., Liu X., Du C., Wang L., Li Z., Wang C. Heavy Metal Level in Human Semen with Different Fertility: a Meta-Analysis. *Biol. Trace Elem. Res.* 2017; 176(1): 27–36, doi: 10.1007/s12011-016-0804-2.

14. Zafar A., Eqani S.A., Bostan N., Cincinelli A., Tahir F., Shah S.T., Hussain A., Alamdar A., Huang Q., Peng S., Shen H. Toxic metals signature in the human seminal plasma of Pakistani population and their potential role in male infertility. *Environ Geochem Health* 2015; 37(3): 515–527, doi: 10.1007/s10653-014-9666-8.

15. Marchlewska K., Bogolebska E., Walczak–Jedrzejowska R., Oszukowska E., Kula K., Slowikowska-Hilezer J. Evaluation of sperm chromatin maturity of men of infertile couples. *Post. Androl. Online* 2016; 3(1): 6–13.

wu niklu wszechobecnego w sztucznej biżuterii, który również obniża parametry morfologiczne nasienia.

Ważną kwestią pozostaje oznaczenie poziomu jodu, którego nadmierne spożycie może mieć wpływ na nadczynność tarczycy (przyczyna 1% niepłodności), odpowiadającej za jakość nasienia. Ograniczenie spożycia jodu poprawia liczebność plemników w ejakulacji. U osób zgłaszających się do poradni leczenia niepłodności sugeruje się oznaczanie stężenia żelaza w nasieniu. Stężenie żelaza w plazmie nasienia rośnie u mężczyzn po 33 r.ż. i może przyczyniać się do indukowania uszkodzenia plemników. Wysoki poziom wapnia stymuluje układ antyoksydacyjny plazmy nasienia w warunkach fizjologicznych.

Wzrost stężenia metali w jądrze pobudza sekrecję ceruloplazminy. Białko to może być czułym biomarkerem stanu zapalnego w układzie rozrodczym. Badania dotyczące roli miedzi w układzie rozrodczym są ważne, ze względu na użycie leków przeciwnowotworowych w terapii męskiego układu rozrodczego.

Jak podają opracowania andrologów, laboratoryjne wartości parametrów nasienia tylko w połączeniu z danymi klinicznymi stanowią narzędzie do oceny stanu płodności męskiej.

16. Morán-Martínez J., Carranza-Rosales P., Morales-Vallarta M., A Heredia-Rojas J., Bassol-Mayagoitia S., Denys Betancourt-Martínez N., M Cerda-Flores R. Chronic environmental exposure to lead affects semen quality in a Mexican men population. *Iran J. Reprod. Med.* 2013; 11(4): 267–274.

17. Wang Y., Wang P., Feng W., Liu C., Yang P., Chen Y.J., Sun L., Sun Y., Yue J., Gu L.J., Zeng Q., Lu W.Q. Relationships between seminal plasma metals/metalloids and semen quality, sperm apoptosis and DNA integrity. *Environ Pollut.* 224(May 2017), 224–234, doi: 10.1016/j.envpol.2017.01.083.

18. Kjellberg S. Zinc and human sperm chromatin. Linköping University Medical Dissertations, No 400, 1993.

19. Mullin J., Diguilio K., Valenzano M., Deis R., Thomas S., Zurbach E.P., Abdulhaq S., Montaner L.J. Zinc reduces epithelial barrier compromise induced by human seminal plasma. *Plos One* 2017; 12(3): e 0170306, doi: 10.1371/journal.pone.0170306.

20. Li C.J., Yeh C.Y., Chen R.Y., Tzeng C.R., Han B.C., Chien L.C. Bio-monitoring of blood heavy metals and reproductive hormone level related to low semen quality. *J. Hazard Mater.* 2015; 300: 815–822, doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.08.027.

21. Fatima P., Hossain M.M., Rahman D., Rahman M.W., Mugni C.R., Sumon G.M., Hossain H.B., Hossain H.N. Association of Blood and Semen Lead and Zinc Level with Semen Parameter in the Male Partner of Infertile Couple, *Myensingh Med. J.* 2015; 24(3): 537–541.

22. Marzec-Wróblewska U., Kamiński P., Łakota P., Szymański M., Wasilow K., Ludwikowski G., Kuligowska-Prusińska M., Odrowąż-Sypniewska G., Stuczyński T., Michalkiewicz J. Zinc and iron concentration and SOD activity in human semen and seminal plasma. *Biol. Trace Elem. Res.* 2011; 143(1): 167–177, doi: 10.1007/s12011-010-8868-x.

23. Pieczyńska J., Grajeta H. The role of selenium in human conception and pregnancy. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2015; 29: 31–38, doi: 10.1016/j.jtemb.2014.07.003.

24. Riaz M., Mahmood Z., Shahid M., Saeed M.U., Tahir I.M., Shah S.A., Munir N., El-Ghorab A. Impact of reactive oxygen species on antioxidant capacity of male reproductive system. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2016; 29(3): 421–425, doi: 10.1177/0394632015608994.

25. Kasperczyk A., Horak S. Catalase activity and concentration iron in human semen. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2013; 67(2): 112–116.

26. Kasperczyk A., Dobrakowski M., Czuba Z., Kapka-Skrzypczak L., Kasperczyk S. Influence of iron on sperm motility and selected oxidative stress parameters in fertile males – a pilot study. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2016; 23(2): 292–296, doi: 10.5604/12321966.1203893.

27. Zeng Q., Feng W., Zhou B., Wang Y.X., He X.S., Yang P., You L., Yue J., Li Y.F., Lu W.Q. Urinary metal concentrations in relation to semen quality: a cross-sectional study in China. *Environ. Sci. Technol.* 2015; 49(8): 5052–5059, doi: 10.1021/es5053478.



28. Nynca J., Dietrich M., Adamek M., Steinhagen D., Bilińska B., Hejmej A., Ciereszko A. Purification, characterization and expression of transferrin from rainbow trout seminal plasma. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 2017; 208–209: 38–46, doi: 10.1016/j.cbpb.2017.04.002.
29. Ogórek M., Gašior Ł., Pierzchała O., Daszkiewicz R., Lenartowicz M. Role of copper in the proces of spermatogenesis. *Postepy Hig. Med. Dosw. (online)* 2017; 71(0): 663–683, doi: 10.5604/01.3001.0010.3846.
30. Lee Y.Y., Choi C.H., Do I.G., Song S.Y., Lee W., Park H.S., Song T.J., Kim M.K., Kim T.J., Lee J.W., Bae D.S., Kim B.G. Prognostic value of the coppertransporters, CTR1 and CTR2, in patiens with ovarian carcinoma receiving platinum – based chemotherapy. *Gynecol. Oncol.* 2011; 122: 361–365, doi: 10.1016/j.ygyno.2011.04.025.
31. Wijesekara G.U., Fernando D.M., Wijerathna S., Bandara N. Environmental and occupational exposures as a cause of male infertility. *Ceylon Med. J.* 2015; 60(2): 52–56, doi: 10.4038/cmj.v60i2.7090.
32. Homa S., Vessey W., Perez-Miranda A., Riyait T., Agarwal A. Reactive Oxygen Species (ROS) in human semen: determination of reference range. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32(5): 757–764, doi: 10.1007/s10815-015-0454-x.
33. De Angelis C., Galdiero M., Pivonello C., Salzano C., Gianfrilli D., Piscitelli P., Lenzi , Colao A., Pivonello R. The environment and male reproduction: The effect of cadmium exposure on reproductive function and its implication in fertility. *Reprod. Toxicol.* 2017; 73: 105–127, doi: 10.1016/j.reprotox.2017.07.021.
34. Tvrďá E., Kňažická Z., Lukáčová J., Schneidgenová M., Goc Z., Greň A., Szabó C., Massányi P., Lukáč N. The impact of lead and cadmium on selected motility, prooxidant and antioxidant parameters of bovine seminal plasma and spermatozoa. *J. Environ. Sci. Health A. Tox Hazard Subst. Environ. Eng.* 2013; 48(10): 1292–1300, doi: 10.1080/10934529.2013.777243.
35. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. *Hum. Reprod. Update* 2008; 14(3): 243–258, doi: 10.1093/humupd/dmn004.
36. Tvrďá E., Knažicka Z., Lukac N. Selected heavy metals versus antioxidant parameters in bull seminal plasma – a comparative study. *J. Environ. Sci. Health A. Tox Hazard Subst. Environ Eng.* 2012; 47(9): 1261–1266, doi: 10.1080/10934529.2012.672117.
37. Li Y., Wu J., Zhou W., Gao E. Association between environmental exposure to cadmium and human semen quality. *Int. J. Environ. Health Res.* 2016; 26(2): 175–186, doi: 10.1080/09603123.2015.1061115.
38. Dai J.B., Wang Z.X., Qiao Z.D. The hazardous effects of tobacco smoking on male fertility. *Asian J. Androl.* 2015; 17(6): 954–960, doi: 10.4103/1008-682X.150847.
39. Mínguez-Alarcón L., Afeiche M.C., Williams P.L., Arvizu M., Tanrikut C., Amarasingwardena C.J., Ford J.B., Hauser R., Chavarro J.E. Hair mercury (Hg) levels, fish consumption and semen parameters among men attending a fertility center. *Int. J. Hyg. Environ Health* 2018; 221(2): 174–182, doi: 10.1016/j.ijheh.2017.10.014.
40. He Y., Zou Q., Chen H., Weng S., Luo T., Zeng X. Lead Inhibits Human Sperm Functions by Reducing the Levels of Intracellular Calcium, cAMP, and Tyrosine Phosphorylation. *Tohoku J. Exp. Med.* 2016; 238(4): 295–303, doi: 10.1620/tjem.238.295.
41. Wu H.M., Lin-Tan D.T., Wang M.L., Huang H.Y., Lee C.L., Wang H.S., Soong Y.K., Lin J.L. Lead level in seminal plasma may affect semen quality for men without occupational exposure to lead. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012; 10: 91, doi: 10.1186/1477-7827-10-91.
42. Telisman S., Colak B., Pizent A., Jurasović J., Cvitković P. Reproductive toxicity of low-level lead exposure in men. *Environ Res.* 2007; 105(2): 256–266, doi: 10.1016/j.envres.2007.05.011.
43. Halder A., Jain M., Chaudhary I., Kumar G., Das T., Gupta Y.K. Dark-coloured semen in nonobstructive azoospermia: a report of four cases. *Androl.* 2014; 46(3): 316–321, doi: 10.1111/and.12078.
44. Jeng H.A., Huang Y.L., Pan C.H., Diawara N. Role of low exposure to metals as male reproductive toxicants. *Int. J. Environ Health Res.* 2015; 25(4): 405–417, doi: 10.1080/09603123.2014.958137.
45. Sengupta M., Deb I., Sharma G.D., Kar K.K. Human sperm and other seminal constituents in male infertile patients from arsenic and cadmium rich areas of Southern Assam. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 2013; 59(4): 199–209, doi: 10.3109/19396368.2013.783143.
46. Dobrakowski M., Kaletka Z., Machoń-Grecka A., Kasperczyk S., Horak S., Birkner E., Zalejska-Fiolka J., Kasperczyk A. The Role of Oxidative Stress, Selected Metals, and Parameters of the Immune System in Male Fertility, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018; 6249536, doi: 10.1155/2018/6249536.
47. Elsamanoudy A., Shaalan D., Gaballah M.A., El-Atta H.M., Helaly A.M. Possible effects of metallosis on spermatozoal apoptotic genes expression in individuals with intramedullary nailing prosthesis. *Biol. Trace Elem. Res.* 2014; 158(3): 334–441, doi: 10.1007/s12011-014-9965-z.