



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών  
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

Παράμετροι οξειδωτικού στρες και γυναικεία γονιμότητα: Ο ρόλος των προϊόντων  
τελικής γλυκοζυλίωσης ( Advanced glycation end products - AGES)

Πτυχιακή Εργασία

Κούρτη Μαριάνθη

Φοιτητικός αριθμός: 278341015600

Επιβλέποντες:

Σπυροπούλου Ισαβέλλα

Μαυρογιάννη Δέσποινα

Δρακάκης Πέτρος

Σταύρος Σοφοκλής

## Περίληψη

Το οξειδωτικό στρες είναι συνέπεια της συμμετοχής του οξυγόνου στην αερόβια αναπνοή των ζωντανών οργανισμών και αποτελεί κατάσταση ανισορροπίας μεταξύ της παραγωγής ενεργών ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species - ROS) και της ικανότητας ενδογενών αντιοξειδωτικών μηχανισμών να τις εξουδετερώσουν. Η συγκέντρωση ROS σε συνθήκες οξειδωτικού στρες επάγει τη δημιουργία προϊόντων τελικής γλυκοζυλίωσης (advanced glycation end products – AGES) τα οποία, μαζί με τα εξωγενώς (κυρίως μέσω επεξεργασμένων τροφίμων και καπνού ) προσλαμβανόμενα AGES, ασκούν ρυθμιστικές επιδράσεις σε μονοπάτια κυτταρικής σηματοδότησης που σχετίζονται με την παθοφυσιολογία χρόνιων νόσων (πχ διαβήτη, αθηροσκλήρυνσης, νεροεκφυλιστικών παθήσεων) αλλά και με φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού όπως αυτή της αναπαραγωγής.

Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση εξετάζεται ο ρόλος των AGES και του υποδοχέα τους (receptor of advanced glycation end products - RAGE) σε καταστάσεις που αφορούν τη γυναικεία γονιμότητα (ωοθηκική λειτουργία, ενδομητρίωση, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, παθολογική πλακουντοποίηση, ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, προεκλαμψία, καθ' έξιν αποβολές). Γίνεται, επίσης, αναφορά στη σημασία των AGES ως μελλοντικού θεραπευτικού στόχου στα πλαίσια αντιμετώπισης της γυναικείας υπογονιμότητας.

## Συντμήσεις

AGEs: Advanced Glycation End Products

AMH: Anti-Müllerian Hormone

ART: Assisted Reproductive Technology

BMI: Body Mass Index

CAT: Catalase

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

FPG: Fasting Plasma Glucose

FPI: Fasting Plasma Insulin

GPx: Glutathione Peroxidase

IUGR: Intrauterine Growth Retardation

IsoPs: Isoprostanes

MAPK: Mitogen-activated Protein Kinase

MDA: Malondialdehyde

MPO: Myeloperoxidase

NADPH: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

NO: Nitric Oxide

OS: Oxidative Stress

PCOS: Polycystic Ovary Syndrome

RNS: Reactive Nitrogen Species

ROS : Reactive Oxygen Species

RPL: Recurrent Pregnancy Loss

SOD: Superoxide Dismutase

TAC: Total Antioxidant Capacity

TNF: Tumor Necrotic Factor

TBA: Thiobarbituric Acid

## Contents

|   |    |
|---|----|
| 1. Εισαγωγή.....  | 1  |
| 1.1 Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.....   | 2  |
| 1.2 Ελεύθερες ρίζες αζώτου.....   | 2  |
| 1.3 Αντιοξειδωτικοί αμυντικοί μηχανισμοί.....                             | 3  |
| 1.4 Αντιοξειδωτικά και υπογονιμότητα.....                                 | 5  |
| 1.5 Μηχανισμοί δράσης των ROS.....  | 6  |
| 1.6 Βιοδείκτες οξειδωτικού στρες.....                                     | 9  |
| 1.6.1 Λιπιδική υπεροξειδάση.....  | 9  |
| 1.6.2 Ισοπροστάνες.....   | 10 |
| 1.6.3 Μαλονική διαλδεϋδή του ορού (MDA).....                              | 11 |
| 1.6.4 Μυελοπεροξειδάση.....   | 12 |
| 1.6.5 Total antioxidant capacity (TAC).....                               | 13 |
| 1.7 Τρόπος ζωής και οξειδωτικό stress.....                                | 14 |
| 1.8 Οξειδωτικό στρες και μέθοδοι υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.....         | 15 |
| 1.8.1 Οξειδωτικό στρες και ενδομήτριο.....                                | 17 |
| 1.8.2 Οξειδωτικό στρες και ενδομητρίωση.....                              | 18 |
| 1.8.3 Οξειδωτικό στρες και ωοθήκες.....                                   | 19 |
| 1.8.4 Οξειδωτικό στρες και PCOS.....                                      | 20 |
| 1.8.5 Στρατηγικές αντιμετώπισης οξειδωτικού στρες στην υπογονιμότητα..... | 24 |
| 1.9 Οξειδωτικό stress και επιπλοκές κύησης.....                           | 25 |
| 1.9.1 Αυτόματες αποβολές.....   | 25 |
| 1.9.2 Επίδραση στην πλακουντιακή λειτουργία.....                          | 26 |
| 1.9.3 Καθ'έξιν αποβολές.....  | 27 |
| 1.9.4 Πρόωρος τοκετός.....  | 27 |
| 2. Τελικά προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης.....                          | 29 |
| 2.1 RAGE.....   | 32 |
| 2.2 AGEs και ασθένειες που σχετίζονται με τη γυναικεία υπογονιμότητα..... | 34 |
| 2.3 AGEs και PCOS.....  | 34 |
| 2.3.1 AGEs και αντίσταση στην ινσουλίνη.....                              | 34 |
| 2.3.2 AGEs και παθογένεση PCOS.....                                       | 35 |
| 2.3.3 AGEs και κλινικά χαρακτηριστικά του PCOS.....                       | 36 |
| 2.3.4 AGEs και παχυσαρκία.....  | 37 |
| 2.4 AGEs και ενδομητρίωση.....  | 39 |

|   |    |
|---|----|
| 2.5 AGEs και ωοθήκες.....   | 41 |
| 2.6 AGES: μελλοντικός στόχος θεραπείας γυναικείας υπογονιμότητας..... | 44 |
| 3. Συμπεράσματα.....  | 45 |
| 4. Reference list.....  | 47 |

## 1. Εισαγωγή

Το οξειδωτικό στρες ορίζεται ως το φαινόμενο που δημιουργείται λόγω της ανισορροπίας μεταξύ παραγωγής και συσσώρευσης οξειδωτικών ριζών (ROS) στα κύτταρα και τους ιστούς. Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου σχηματίζονται ως συνέπεια της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας, αλλά μπορούν επίσης να σχηματιστούν από εξωγενείς εκθέσεις όπως το αλκοόλ, ο καπνός του τσιγάρου και οι περιβαλλοντικοί ρύποι. Οι ρίζες οξυγόνου είναι πολύ δραστικά μόρια και μπορούν να οξειδώσουν τα λειτουργικά μόρια του κυττάρου, δηλαδή τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA, μεταβάλλοντας τη δομή τους προκαλώντας βλάβες στο κύτταρο. Μια ορισμένη ποσότητα ROS απαιτείται για την πρόοδο των φυσιολογικών λειτουργιών των κυττάρων, υπό την προϋπόθεση ότι κατά την οξείδωση κάθε μόριο επιστρέφει στη φυσική του κατάσταση. Η υπερβολική παραγωγή ROS, μπορεί να εξουδετερώσει το φυσικό αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα του οργανισμού, δημιουργώντας ένα περιβάλλον ακατάλληλο για τον γυναικείο οργανισμό. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να οδηγήσει σε μια σειρά από αναπαραγωγικές ασθένειες, όπως η ενδομητρίωση, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) και η ανεξήγητη υπογονιμότητα. Μπορεί επίσης, να προκαλέσει επιπλοκές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, όπως αυτόματη αποβολή, καθ' ἑξίν αποβολές (RPL), προεκλαμψία και ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (IUGR).

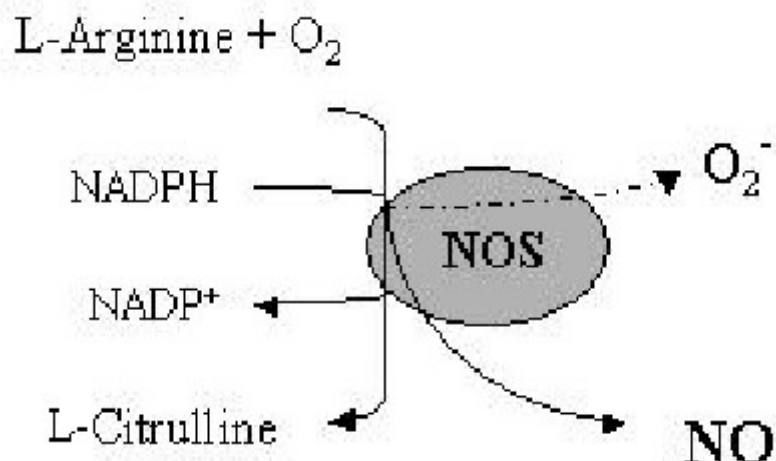
## 1.1 Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου

Οι τρεις κύριοι τύποι των ROS είναι: το σουπεροξειδίου( $O_2^-$ ), το υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και το υδροξύλιο(OH). Η ρίζα του σουπεροξειδίου σχηματίζεται όταν τα ηλεκτρόνια διαρρέουν από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Η διάσπαση του σουπεροξειδίου οδηγεί στη δημιουργία του υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ). Το ιόν υδροξυλίου(-OH) είναι δραστικό και έχει την δυνατότητα να τροποποιήσει πουρίνες και πυριμιδίνες σπάζοντας κλώνους του DNA προκαλώντας του βλάβη.

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συνδυάζονται με πάνω από 100 ασθένειες. Έχουν τόσο φυσιολογικό όσο και παθολογικό ρόλο στη γυναικεία αναπαραγωγική οδό (Gibson and Huang, 2004). Πολλές μελέτες πάνω σε ζώα και σε ανθρώπους έδειξαν τη σημασία της παρουσίας ελεύθερων ριζών οξυγόνου στις ωοθήκες (Behrman et al., 2001), στις σάλπιγγες, (El Mouatassim, 1999) και στα έμβρυα (Guerin, 2001). Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου εμπλέκονται στη ρύθμιση φυσιολογικών λειτουργιών της αναπαραγωγικής οδού όπως η ωρίμανση ωαρίων, η στεροειδογένεση των ωοθηκών, η λειτουργία του ωχρού σωματίου και η ωχρινόλυση (Behrman et al., 2001).

## 1.2 Ελεύθερες ρίζες αζώτου

Τα πιο γνωστά παραδείγματα ελεύθερων ριζών αζώτου είναι το οξειδίου του αζώτου και το διοξειδίου του αζώτου (Pierce, Cackler and Arnett, 2004). Το οξειδίου του αζώτου συντίθεται μετά την ενζυματική αλλαγή της L-αργινίνης σε L-κιτρουλλίνη από το ένζυμο συνθάση του οξειδίου του αζώτου(NOS).



### Σχηματική απεικόνιση της παραγωγής NO από την L-αργινίνη

Η σύζευξη ενός ελεύθερου ηλεκτρονίου και του μορίου NO -το οποίο είναι ένα πολύ δραστικό μόριο- μπορεί να καταστρέψει πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, νουκλεοτίδια και λιπίδια και μαζί με άλλους ανοσολογικούς παράγοντες οδηγεί σε κυτταρική και ιστική βλάβη (Wu and Chao, 2003). Το οξείδιο του αζώτου φυσιολογικά χαλαρώνει τις αρτηρίες και τις φλέβες στους λείους μύες καθώς και εμποδίζει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων. Επίσης, το NO εμπλέκεται στη φυσιολογική λειτουργία του εμμηνορρυσιακού κύκλου της γυναίκας και προετοιμάζει τη μήτρα για την εγκυμοσύνη.

### 1.3 Αντιοξειδωτικοί αμυντικοί μηχανισμοί

Τα αντιοξειδωτικά είναι ένζυμα που εμποδίζουν τις αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών και είτε καθυστερούν είτε εμποδίζουν την καταστροφή των κυττάρων. Φυσιολογικά, αυξημένη έκθεση στο περιβάλλον και υψηλά επίπεδα ξеноβιοτικών στον οργανισμό οδηγούν στην δημιουργία ελεύθερων ριζών οξυγόνου και ελεύθερων ριζών αζώτου. Τα ROS και RNS είναι υπεύθυνα για το οξειδωτικό στρες. Ενισχύοντας την κυτταρική άμυνα με την μορφή αντιοξειδωτικών, το οξειδωτικό στρες



καταπολεμείται. Ορισμένες ενώσεις δρουν *in vivo* αυξάνοντας τα επίπεδα της ενδογενούς αντιοξειδωτικής άμυνας. Η έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η καταλάση (CAT), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GSHPx) βοηθούν στην αύξηση των επιπέδων των ενδογενών αντιοξειδωτικών. Υπάρχουν δύο τύποι αντιοξειδωτικών στο ανθρώπινο σώμα: τα ενζυματικά αντιοξειδωτικά και τα μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά.

Τα ενζυματικά αντιοξειδωτικά ή αλλιώς φυσικά αντιοξειδωτικά δρουν διασπώντας και απομακρύνοντας τις ελεύθερες ρίζες. Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα μετατρέπουν τα επικίνδυνα οξειδωτικά προϊόντα σε υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και στη συνέχεια σε νερό, σε μια διαδικασία πολλαπλών σταδίων παρουσία συμπαραγόντων όπως ο χαλκός, ο ψευδάργυρος, το μαγγάνιο και ο σίδηρος. Στα ενζυματικά αντιοξειδωτικά ανήκουν η σουπεροξειδική δισμουτάση, η καταλάση, η υπεροξειδική γλουταθειόνη και η αναγωγή της γλουταθειόνης (Agarwal, Saleh and Bedaiwy, 2003).

Τα μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά είναι γνωστά αλλιώς ως συνθετικά αντιοξειδωτικά ή συμπληρώματα διατροφής. Τα μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά λειτουργούν παρεμβαίνοντας στην αλυσίδα αντιδράσεων των ελεύθερων ριζών. Κάποια παραδείγματα μη ενζυματικών αντιοξειδωτικών είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, το σελήνιο, ο ψευδάργυρος, η ταυρίνη, η μελατονίνη, η γλουταθειόνη και η καροτίνη (Nimse and Pal, 2015).

## 1.4 Αντιοξειδωτικά και υπογονιμότητα

Έρευνες έδειξαν η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά σχετίζεται αρνητικά με το οξειδωτικό στρες (Djuric et al., 1998). Ενδιαφέρον έχει αναπτυχθεί γύρω από τους κοινούς ρόλους του ROS και της υπεροξειδικής δισμουτάσης(SOD), η οποία καταλύει την καταστροφή της ελεύθερης ρίζας  $O_2^-$ , λειτουργώντας ως αγγελιοφόρος ρύθμισης την ενδομήτριας λειτουργίας. Είχε υποτεθεί ότι το SOD αυξάνεται στα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση (Sugino, 2000). Η αντιοξειδωτική ικανότητα του ωοθυλακικού υγρού στην ανάκτηση των ωαρίων συσχετίστηκε με επιτυχημένη IVF. Αυτό περιλαμβάνει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του ROS στο ωοθυλακικό υγρό και της ποιότητας των εμβρύων (Das, 2006). Η μελατονίνη γνωρίζουμε ότι παρουσιάζει διακυμάνσεις στο ανθρώπινο ωοθυλάκιο πριν την ωορρηξία. Η μελατονίνη και οι μεταβολίτες της ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως της καταλάσης (CAT) και της υπεροξειδικής γλουταθειόνης (GPx) (Tomás-Zapico and Coto-Montes, 2005). Μια έρευνα μεταξύ οξειδωτικού στρες και κακής ποιότητας ωαρίων σε γυναίκες που υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση και εμβρυομεταφορά έδειξε ότι η συγκέντρωση του 8-OHdG (βιοχημικός δείκτης) ήταν αυξημένη. Σ' ένα υποσύνολο των γυναικών που απέτυχαν να κυοφορήσουν με εξωσωματική γονιμοποίηση χορηγήθηκαν 3mg μελατονίνης την ημέρα και 600mg βιταμίνης E. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι συγκριτικά με τον προηγούμενο κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης η χορήγηση της θεραπείας αυτής έδειξε μειωμένη ενδοωοθυλακική συγκέντρωση 8-OHdG (Luddi et al., 2016). Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό στρες επηρεάζει αρνητικά την ωρίμανση των ωαρίων και η χορήγηση μελατονίνης και βιταμίνης E προστατεύει τα ωάρια από οξειδωτικό στρες. Οι πολυβιταμίνες παρέχουν

το 100% των συνιστώμενων ημερήσιων δοσολογιών (RDA) των ΗΠΑ για αντιοξειδωτικά θρεπτικά συστατικά. Μια τυχαιοποιημένη διπλή τυφλή μελέτη που παρείχε πολυβιταμίνες σε γυναίκες πριν από τη σύλληψη έδειξε υψηλά ποσοστά σύλληψης πιθανώς λόγω της ρύθμισης του εμμηνορροϊκού κύκλου (Czeizel, Métneki and Dudás, 1996).

## 1.5 Μηχανισμοί δράσης των ROS

Οι ενεργές ρίζες οξυγόνου δημιουργούνται κατά τη διάρκεια κρίσιμων διεργασιών κατανάλωσης οξυγόνου ( $O_2$ ). Αποτελούνται από ελεύθερες και μη ρίζες οξυγόνου, με τις πρώτες να είναι πιο δραστικές. Αυτή η μεγάλη ενεργότητα προκύπτει από ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στο εξωτερικό κέλυφος του ατόμου. Επιπλέον, οι βιολογικές δράσεις που εξαρτώνται από το  $O_2$  και το άζωτο έχουν αποκτήσει μεγαλύτερη σημασία επειδή τα τελικά τους προϊόντα ανευρίσκονται συνήθως σε καταστάσεις υψηλών μεταβολικών απαιτήσεων όπως παθολογικές διεργασίες ή εξωτερικές περιβαλλοντικές αλληλεπιδράσεις (Holstein, Schmidt and Boivin, 2019). Τα βιολογικά συστήματα περιέχουν άφθονη ποσότητα  $O_2$ . Το  $O_2$  αντιδρά εύκολα και γρήγορα με άλλες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται συχνά από το ίδιο το  $O_2$  και τα προϊόντα μερικής οξειδωτικής μετατροπής (reduced species) προκύπτουν από φυσιολογικές μεταβολικές διεργασίες στο σώμα. Οι ενεργές ρίζες οξυγόνου είναι δυνητικά τοξικά ενδιάμεσα προϊόντα, τα οποία συνήθως εμπλέκονται στο οξειδωτικό στρες (Kehrer, 2000). Ορισμένα μεταλλικά ιόντα μπορούν να συμβάλλουν στη δημιουργία ROS. Από την άλλη πλευρά, οι χηλικοί παράγοντες μεταλλικών ιόντων, όπως το EDTA και η τρανσφερίνη μπορούν να δεσμεύσουν μεταλλικά κατιόντα και έτσι να αναστείλουν την ενεργότητα της παραγωγής ROS (Halliwell and Gutteridge, 1990). Οι φυσιολογικές διεργασίες που χρησιμοποιούν το  $O_2$  ως υπόστρωμα, όπως οι

αντιδράσεις οξυγενάσης και η αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων δημιουργεί μεγάλες ποσότητες ROS από τις οποίες το ανιόν SO είναι το πιο κοινό. Άλλες πηγές του ανιόντος SO περιλαμβάνουν την αλυσίδα ηλεκτρονίων στο ενδοπλασματικό δίκτυο, το κυτόχρωμα P450 και το ένζυμο NADPH, το οποίο παράγει σημαντικές ποσότητες.

Μεγάλη παραγωγή ROS μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο ή νέκρωση. Οι επιβλαβείς δράσεις διαμεσολαβούνται από τους ακόλουθους εξειδικευμένους μηχανισμούς:

Άνοιγμα διαύλων ιόντων: Η περίσσεια ROS οδηγεί στην απελευθέρωση  $Ca_2^+$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο, με αποτέλεσμα τη μιτοχονδριακή διαπερατότητα. Κατά συνέπεια, το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης αποκτά αστάθεια και σταματά η παραγωγή ATP.

Υπεροξείδωση λιπιδίων: Αυτό συμβαίνει σε περιοχές όπου επικρατούν πλευρικές αλυσίδες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Αυτές οι αλυσίδες αντιδρούν με το  $O_2$ , δημιουργώντας τη ρίζα υδροξυλίου, η οποία μπορεί να λάβει  $H^+$  από άλλο λιπαρό οξύ, δημιουργώντας μια συνεχή αντίδραση. Η βιταμίνη E μπορεί να σπάσει αυτή την αλυσιδωτή αντίδραση λόγω της διαλυτότητας στα λιπίδια και της υδρόφοβης ουράς της.

Τροποποιήσεις πρωτεϊνών: Τα αμινοξέα είναι στόχοι για οξειδωτική βλάβη. Η άμεση οξείδωση των πλευρικών αλυσίδων μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό καρβονυλικών ομάδων.

Οξείδωση DNA: Το μιτοχονδριακό DNA είναι ιδιαίτερα επιρρεπές σε προσβολή από ROS λόγω της παρουσίας  $O_2^-$  στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, της έλλειψης

προστασίας ιστόνης και της απουσίας μηχανισμών επιδιόρθωσης (Agarwal et al., 2012).

Το ανθρώπινο σώμα αποτελείται από πολλά σημαντικά μονοπάτια σηματοδότησης. Μεταξύ των πιο σημαντικών μονοπατιών σηματοδότησης στο σώμα είναι οι ενεργοποιημένες από μιτογόνο πρωτεϊνικές κινάσες (MAPK). Τα μονοπάτια MAPK είναι σημαντικοί ρυθμιστές της γονιδιακής μεταγραφής σε απόκριση του οξειδωτικού στρες. Οι καταρράκτες σηματοδότησής τους ελέγχονται με φωσφορυλίωση και αποφωσφορυλίωση καταλοίπων σερίνης ή/και θρεονίνης. Η διαδικασία αυτή προάγει τις δράσεις των κινασών τυροσίνης υποδοχέων, των πρωτεϊνικών κινασών τυροσίνης, των υποδοχέων των κυτταροκινών και των αυξητικών παραγόντων. Υπερβολικές ποσότητες ROS μπορούν να διαταράξουν τα φυσιολογικά αποτελέσματα αυτών των καταρρακτών μονοπατιών σηματοδότησης. Άλλα μονοπάτια που μπορούν να ενεργοποιηθούν από τις ROS περιλαμβάνουν τα μονοπάτια των N-τελικών κινασών c-Jun (JNK) και p38. Η οδός JNK αποτρέπει τη φωσφορυλίωση λόγω της αναστολής της από το ένζυμο GST. Η προσθήκη H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε αυτόν τον καταρράκτη μπορεί να διαταράξει το σύμπλοκο και να προωθήσει τη φωσφορυλίωση (Zhangetal., 2015).

Η συγκέντρωση του Ca<sup>2+</sup> πρέπει να ρυθμίζεται στενά, καθώς διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες. Η παρουσία μεγάλων ποσοτήτων ROS μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα του Ca<sup>2+</sup>, προωθώντας έτσι τη συμμετοχή του σε μονοπάτια όπως τα εξαρτώμενα από την καλμοδουλίνη μονοπάτια. Οι επαγωγίμοι από την υποξία παράγοντες (HIF) ελέγχονται από τη συγκέντρωση O<sup>2</sup>. Είναι απαραίτητοι για τη φυσιολογική εμβρυϊκή αύξηση και ανάπτυξη. Τα χαμηλά επίπεδα O<sup>2</sup> μπορούν να μεταβάλουν τις ρυθμιστικές διαδικασίες του HIF ενεργοποιώντας την ερυθροποιητίνη, έναν άλλο βασικό παράγοντα για τη σωστή εμβρυϊκή ανάπτυξη και εξέλιξη (Zhang et al., 2015).

Η διατήρηση των φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών εξαρτάται από την ομοιοστατική ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών. Το οξειδωτικό στρες μεταβάλλει αρνητικά τους μηχανισμούς κυτταρικής σηματοδότησης, διαταράσσοντας έτσι τις φυσιολογικές διεργασίες που απαιτούνται για την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό (Zhang et al., 2016).

## 1.6 Βιοδείκτες οξειδωτικού στρες

Οι βιοδείκτες του OS ορίζονται ως μόρια που τροποποιούνται από αλληλεπιδράσεις των ROS με το περιβάλλον και τα μόρια του αντιοξειδωτικού συστήματος που αλλάζουν ως απάντηση στο αυξημένο οξειδοαναγωγικό στρες. Από το εκτεταμένο οξειδωτικό στρες στον οργανισμό μπορούν να αλλάξουν πολλά μόρια συμπεριλαμβανομένου το DNA, τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και τους υδατάνθρακες. Οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται για να ποσοτικοποιηθεί το σύνολο του οξειδωτικού στρες που βρίσκεται στον οργανισμό. Πολλά μόρια ανήκουν στους βιοδείκτες οξειδωτικού στρες όπως η μαλονική διαλδεΰδη του ορού (MDA), η σουπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η γλουταθειόνη (GSH), τα επίπεδα του οξειδίου του αζώτου κα, καθώς και η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), αλλά θα αναλυθούν οι κύριοι βιοδείκτες οξειδωτικού στρες που αφορούν τη γυναικεία γονιμότητα.

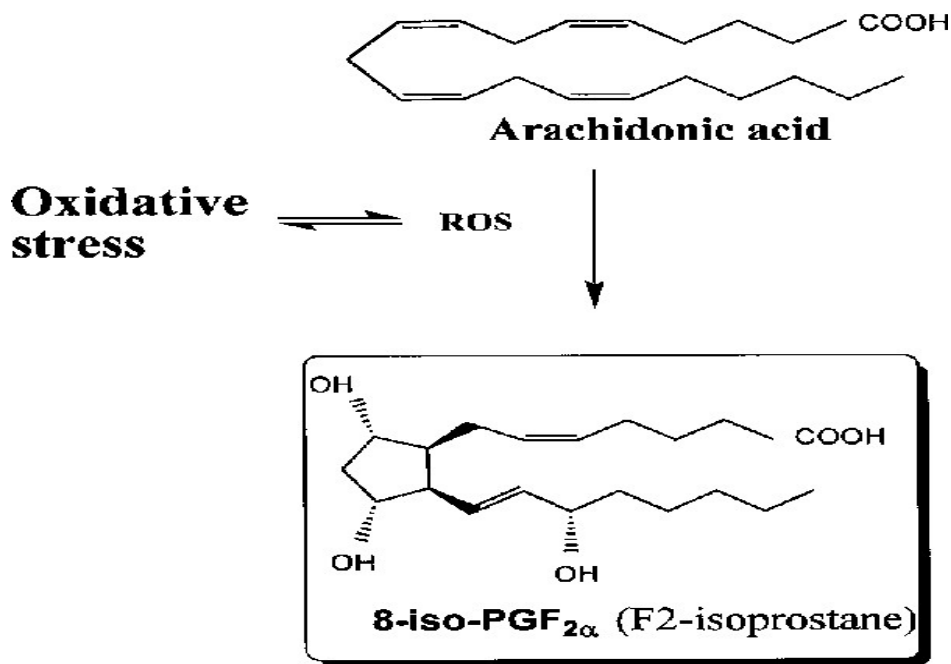
### 1.6.1 Λιπιδική υπεροξειδάση

Τα λιπίδια είναι ευαίσθητοι στόχοι οξείδωση λόγω της μοριακής τους δομής με δραστικούς διπλούς δεσμούς (Porter and Caldwell, 2018). Δύο από τους πιο καλά μελετημένους δείκτες υπεροξειδωσης των λιπιδίων είναι η ισοπροστάνη(IsoPs) και η μαλονδιαλδεΰδη(MDA). Άλλα προϊόντα οξείδωσης λιπιδίων που έχουν διερευνηθεί ως βιοδείκτες είναι η λιπιδική υδρουπεροξειδάση(LOOH) που προκύπτει από

ακόρεστα φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια και χοληστερόλη. Γυναίκες με ενδομητρίωση εμφανίζουν υψηλά επίπεδα LOOHs (Verit, Erelend Çelik, 2008).

### 1.6.2 Ισοπροστάνες

Οι ισοπροστάνες ανήκουν στην οικογένεια των προσταγλανδινών είναι σταθερά μόρια και παράγονται από την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος, ενός πολυακόρεστου λιπαρού οξέος που υπάρχει στα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών.



Παραγωγή των ισοπροστανών (Basu, 2007)

Η παραγωγή των ισοπροστανών από το αραχιδονικό οξύ είναι ανεξάρτητη από το ένζυμο κυκλοξυγενάση που καταλύει τον σχηματισμό των προσταγλανδινών από το αραχιδονικό οξύ. Πηγές των ελεύθερων ριζών για τον σχηματισμό των

ισοπροστανών περιλαμβάνουν: 1) μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων 2) ένζυμα P450 3) λιποξυγενάση και 4) σχηματισμός ελεύθερων ριζών που καταλύεται από μέταλλα μεταπτώσεως. Οι ισοπροστανές στη συνέχεια ελευθερώνονται από την κυτταρική μεμβράνη στην κυκλοφορία από φωσφολιπάσες και κατανέμονται στους ιστούς, στο αίμα και τα ούρα (Stafforini et al., 2006). Τα μόρια F2-IsoPs, που ονομάζονται έτσι επειδή περιέχουν δακτυλίους προστανίου τύπου F, αποτελούν τα πιο σταθερά μόρια από την οικογένεια των ισοπροστανών και αποτελούν την καλύτερη δυνατή επιλογή βιοδεικτών. Οι ισοπροστανές μπορούν να μετρηθούν μέσω αέριας χρωματογραφίας (GC/MS), υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρία μάζας (LC/MS), ELISA και ραδιοανοσοδοκιμασίας σε δείγματα πλάσματος και ούρων (Musiek et al., 2005). Έχουν αναπτυχθεί κιτ ανοσοπροσδιορισμού των ισοπροστανών που είναι φθηνά και εύκολα στη χρήση αλλά έχουν χαμηλή απόδοση συγκριτικά με τις τεχνικές φασματομετρίας που είναι βασικός τρόπος ποσοτικοποίησης των ισοπροστανών (Morrow, 2005).

### 1.6.3 Μαλονική διαλδεΰδη του ορού (MDA)

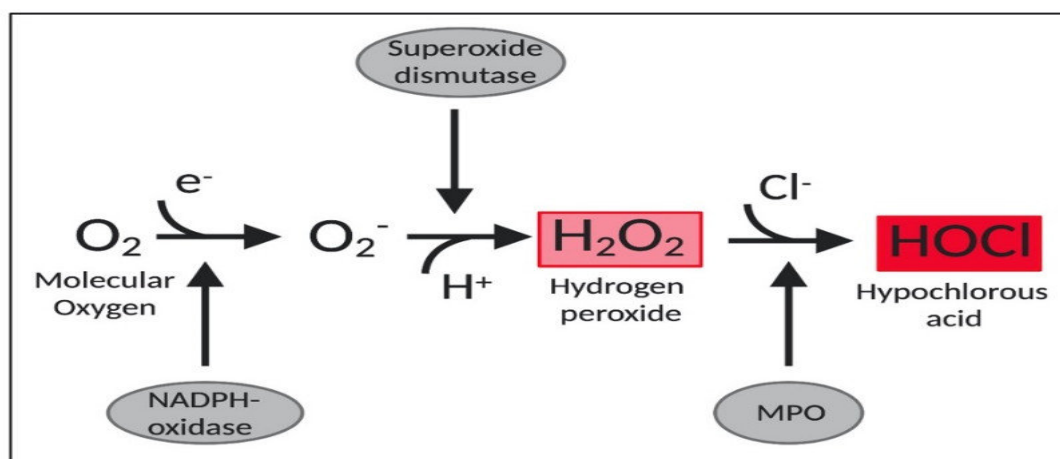
Η MDA (MDA) είναι ένα από τα τελικά προϊόντα της υπεροξειδωσής των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα κύτταρα. Η αύξηση των ελεύθερων ριζών προκαλεί υπερπαραγωγή MDA. Η MDA λειτουργεί ως δείκτης οξειδωτικού στρες και αλληλεπιδρά με πρωτεΐνες. Το MDA ποσοτικοποιείται από δείγματα πλάσματος μέσω χρωματογραφίας όπου ανιχνεύεται η αντίδραση του MDA με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA). Ωστόσο οι δραστικές ουσίες του TBA (TBARS) στερούνται ειδικότητας για το MDA λόγω διασταυρούμενης αντίδρασης με άλλες αλδεΰδες (Meagher and Fitz Gerald, 2000). Ωστόσο έχουν αναπτυχθεί και πολλά κιτ



ELISA. Οι αναλύσεις που βασίζονται σε εύρεση αντισωμάτων αποτελεί εγκυρότερη μέθοδο εύρεσης MDA από την υγρή χρωματογραφία (Bevan et al., 2003).

#### 1.6.4 Μυελοπεροξειδάση

Η ανθρώπινη MPO είναι μια αιμοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 140 kDa, η οποία αποθηκεύεται στα κοκκία των ουδετερόφιλων. Κατά την απελευθέρωσή της, η MPO έχει την ικανότητα να καταλύει την παραγωγή υποχλωρικού οξέος (HOCl), ενός ισχυρού οξειδωτικού που προέρχεται από ιόντα χλωρίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου.



**Εικόνα: Σχηματική απεικόνιση της MPO (Waleska Stephanie da Cruz Nizer et al., 2020)**

Σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις, η MPO απελευθερώνεται στο φαγολυσώσσωμα ή στο εξωκυττάριο υγρό, όπου η μέτρησή της μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης ενεργοποίησης των ουδετερόφιλων και δείκτης οξείδωσης. Η MPO ήταν γνωστή για τη μικροβιοκτόνο δράση της ωστόσο, πρόσφατες αναφορές εμπλέκουν την MPO σε διαδικασίες όπως η καρκινογένεση, η αθηροσκλήρωση και οι εκφυλιστικές ασθένειες του κεντρικού νευρικού συστήματος (Song and Santanam, 2001). Οι Chun et al. εξέτασαν τη συμμετοχή των

λευκοκυττάρων στη ρήξη των ωοθυλακίων του αρουραίου με τον ποσοτικό προσδιορισμό της δραστηριότητας της MPO στον ωοθηκικό ιστό σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα μετά τη χορήγηση ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG). Τα δεδομένα αυτά έδειξαν σημαντική αύξηση της δραστηριότητας MPO των ωοθηκών κατά την περιωοθυλακιόρρηκτική περίοδο, η οποία αντανακλά την εισροή ουδετερόφιλων στις ωοθήκες. Οι Santanam et al παρείχαν τα πρώτα στοιχεία για αύξηση της MPO στο πλάσμα γυναικών σε σχέση με αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης σε γυναίκες που υποβάλλονται σε διέγερση των ωοθηκών (Chiang, Parthasarathy and Santanam, 2004, Santanam et al., 1998). Η οιστραδιόλη έχει επίσης αποδειχθεί ότι αυξάνει την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων κατά τη διάρκεια της φαγοκυττάρωσης, αυξάνοντας έτσι την απελευθέρωση MPO. Τέλος, μια μικρή αλλά σημαντική μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα της ανθρώπινης MPO είναι σημαντικά αυξημένα στο FF(ωοθυλακικό υγρό) των ασθενών με σοβαρή ενδομητρίωση. Επιπλέον, φαίνεται ότι η χρήση αντιοξειδωτικών βιταμινών μπορεί να μειώσει τα επίπεδα MPO στο ωοθυλακικό υγρό (Santanam, Zoneraich and Parthasarathy, 2016).

#### 1.6.5 Total antioxidant capacity (TAC)

Η TAC είναι τρόπος μέτρησης των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, όπου αξιολογεί την αντιοξειδωτική ικανότητα των βιολογικών δειγμάτων. Ο τρόπος μέτρησης της TAC βασίζεται στην τεχνική παρεμπόδισης της οξείδωσης και μέτρησης με χημειοφθορισμό. Ο κύριος τρόπος μέτρησης της TAC είναι με τη μέθοδο φασματοφωτομετρίας Trolox. Μία μελέτη των Oyawoye και των συνεργατών του (Oyawoye et al., 2003), μέτρησε τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα στο ωοθυλακικό υγρό 63 γυναικών που υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση μετά από διέγερση ωοθηκών. Τα αποτελέσματα έδειξαν την παρουσία υψηλότερης TAC στο ωοθυλακικό υγρό σε γυναίκες όπου υπήρξε γονιμοποίηση συγκριτικά με τις

γυναίκες όπου υπήρξε αδυναμία εμφύτευσης. Αυτό μπορεί να σημαίνει ότι η υψηλή TAC συμβάλλει στη καλύτερη εμφύτευση του εμβρύου.

### 1.7 Τρόπος ζωής και οξειδωτικό stress

**Αλκοόλ και κάπνισμα:** Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει μεγάλο αριθμό ενεργών ριζών οξυγόνου καθώς και ο μεταβολισμός του αλκοόλ παράγει ROS μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Μια μετα-ανάλυση 12 μελετών με αυστηρά κριτήρια ένταξης ανέφερε αναλογία πιθανοτήτων (OR) 1,60 (95% CI 1,34–1,91) για υπογονιμότητα σε γυναίκες καπνίστριες σε σύγκριση με μη καπνίστριες, με στοιχεία δοσοεξαρτώμενης σχέσης με τον αριθμό των τσιγάρων. Μειωμένη γονιμότητα των καπνιστών έχει επίσης τεκμηριωθεί μεταξύ των γυναικών που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση (OR =0,66, 95% CI 0,49–0,88) ανά αριθμό κύκλων που υποβάλλονται σε θεραπεία με εξωσωματική γονιμοποίηση καπνιστριών έναντι μη καπνιστριών. Μεταξύ 225 γυναικών που υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση (n =97) ή εξωσωματική γονιμοποίηση με ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος ή αλλιώς μικρογονιμοποίηση (ICSI; n =128), τα ποσοστά εμφύτευσης γυναικών που εκτέθηκαν παθητικά σε καπνό (έπειτα από αναφορά συμβίωσης με σύντροφο που καπνίζει τακτικά) ήταν παρόμοια με τα ποσοστά των καπνιστριών (12,6 και 12,0%, αντίστοιχα) αλλά σημαντικά χαμηλότερες από αυτές των μη καπνιστριών που δεν εκτίθενται παθητικά σε καπνό (25,0%, P <0,01) (Neal et al., 2005).

Ακόμα ένας παράγοντας που σχετίζεται το οξειδωτικό στρες με την υπογονιμότητα είναι η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ. Μια προοπτική μελέτη 7393 Σουηδών κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι γυναίκες που κατανάλωναν τουλάχιστον δύο

αλκοολούχα ποτά την ημέρα διέτρεχαν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο υπογονιμότητας (RR = 1,58, 95% CI 1,07–2,34) και οι γυναίκες που κατανάλωναν λιγότερο από ένα αλκοολούχο ποτό ανά ημέρα ήταν σε μειωμένο κίνδυνο [RR = 0,64, 95% CI 0,46–0,90 σε σύγκριση με μέτριους καταναλωτές αλκοόλ (>1 έως <2 ποτά την ημέρα)]. Τέλος, η παχυσαρκία και η απίσχναση επηρεάζουν αρνητικά την υπογονιμότητα μέσω αλλαγών στα ορμονικά πρότυπα και στον εμμηνορροϊκό κύκλο. Πρόσφατη έρευνα που διερεύνησε την επίδραση της αύξησης του BMI της γυναίκας στο νιτρικό στρες, τους αντιοξειδωτικούς δείκτες του οξειδωτικού στρες και την οξείδωση των πρωτεϊνών στον πλακούντα πρότεινε ότι το νιτρικό στρες του πλακούντα αυξήθηκε με το σωματικό βάρος της μητέρας, αλλά δεν συσχετίστηκε με το οξειδωτικό στρες του πλακούντα. Αυτή η απρόβλεπτη έλλειψη αύξησης του οξειδωτικού στρες μπορεί να σχετίζεται με μια αλληλοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του σχηματισμού νιτρικού και οξειδωτικού στρες.

## 1.8 Οξειδωτικό στρες και μέθοδοι υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

Η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (ART) περιλαμβάνει τον άμεσο χειρισμό των ωαρίων, του σπέρματος ή των εμβρύων εκτός σώματος για την επίτευξη εγκυμοσύνης. Μία μεγάλη ποικιλία παραγόντων υπογονιμότητας αποτελούν ενδείξεις για πραγματοποίηση υποβοηθούμενης αναπαραγωγής όπως ο σαλπινγικός παράγοντας, η ενδομητρίωση, ο ανδρικός παράγοντας και η ανεξήγητη υπογονιμότητα. Κατά τη διαδικασία εξωσωματικής γονιμοποίησης μπορεί να υπάρξουν πολλές πηγές ROS συμπεριλαμβανομένων των ωαρίων ή την σπερματοζωαρίων που χρησιμοποιούνται για σπερματέγχυση (Zhang et al., 2015).

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου επηρεάζουν το αποτέλεσμα μιας εξωσωματικής γονιμοποίησης είτε σε επίπεδο ωαρίων είτε σε επίπεδο εμφύτευσης (Bedaiwy et al., 2004). Το μικροπεριβάλλον του ωοθυλακικού υγρού παίζει καθοριστικό ρόλο στον προσδιορισμό της ποιότητας του ωαρίου. Αυτό με τη σειρά του επηρεάζει τον ρυθμό γονιμοποίησης και την ποιότητα του εμβρύου. Οι δείκτες οξειδωτικού στρες έχουν εντοπιστεί στο ωοθυλακικό υγρό σε ασθενείς που υποβάλλονται σε IVF/εμβρυομεταφορά (ET). Η χαμηλή ενδοωοθυλακική οξυγόνωση έχει συσχετιστεί με μειωμένο αναπτυξιακό δυναμικό των ωαρίων, όπως αντανακλάται από την αυξανόμενη συχνότητα των κυτταροπλασματικών ανωμαλιών των ωαρίων και τον ανώμαλο χρωμοσωμικό διαχωρισμό στα ωοκύτταρα εξαιτίας φτωχής αγγείωσης στα ωοθυλάκια (Van Blerkom, Antczak and Schrader, 1997). Το ROS μπορεί να ευθύνονται για τον αυξημένο κατακερματισμό του εμβρύου, που προκύπτει από την αυξανόμενη απόπτωση. Έτσι, τα αυξημένα επίπεδα ROS δεν ευνοούν την ανάπτυξη των εμβρύων. Οι τρέχουσες μελέτες επικεντρώνονται στην ικανότητα των αυξητικών παραγόντων να προστατεύουν τα *in vitro* καλλιεργημένα έμβρυα από τις επιβλαβείς επιδράσεις των ROS όπως η απόπτωση. Αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες βρίσκονται συνήθως στις σάλπιγγες και στο ενδομήτριο. Οι παράγοντες που διερευνώνται είναι: ο αυξητικός παράγοντας ινσουλίνης IGF-1 και ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF) σε έμβρυα ποντικών, όπου τα χαρακτηριστικά τους είναι παρόμοια με των ανθρώπινων εμβρύων (Kurzawa et al., 2004). Τα ROS μπορεί να προκύψουν είτε ενδογενώς είτε εξωγενώς και να επηρεάσουν εξίσου το ωάριο και το έμβρυο. Τα μέσα καλλιέργειας εξωσωματικής γονιμοποίησης μπορεί να αποτελούν εξωγενή τρόπο παραγωγής των ROS. Υπάρχουν ορισμένα γεγονότα στην ανάπτυξη του εμβρύου που σχετίζονται με την αλλαγή της κατάστασης οξειδοαναγωγής. Έχει προταθεί ότι η οξειδοαναγωγή μπορεί να έχει αιτιολογικό ρόλο στην ενεργοποίηση των

ωοκυττάρων με τη μεσολάβηση του σπέρματος, στην ενεργοποίηση του εμβρυικού γονιδιώματος και στην εκκόλαψη από τη διαφανή ζώνη. Τα υψηλά επίπεδα ROS την ημέρα 1 στα μέσα καλλιέργειας συσχετίστηκαν με καθυστερημένη εμβρυική ανάπτυξη, υψηλό κατακερματισμό και ανάπτυξη ανώμαλων βλαστοκύστεων μετά από παρατεταμένη καλλιέργεια. Αναφέρθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων ROS στα μέσα καλλιέργειας της ημέρας 1 και των χαμηλών ποσοστών γονιμοποίησης σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ICSI (Natarajan, Shankar and Munuswamy, 2010).

Η επώαση εμβρύων κακής ποιότητας συσχετίστηκε με μείωση της TAC στην καλλιέργεια προεμφυτευτικών εμβρύων μετά από 24 ώρες επώασης. Τα έμβρυα κακής ποιότητας μπορεί να σχετίζονται με αυξημένη παραγωγή ROS. Το HEPES βρέθηκε να είναι ο πιο ισχυρός προστάτης βλάβης του DNA των σπερματοζωαρίων, όπως προσδιορίστηκε από το plasmid relaxation assay το οποίο μετράει τη βλάβη του πλασμιδιακού DNA.

### 1.8.1 Οξειδωτικό στρες και ενδομήτριο

Στο ενδομήτριο η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) έχει κυκλική έκφραση. Η SOD μειώνεται στην όψιμη εκκριτική φάση ενώ τα επίπεδα ROS αυξάνονται (Suginoetal., 1996). Αυτές οι εναλλαγές επιπέδων είναι σημαντικές στη γένεση της εμμήνου ρύσεως και της ενδομήτριας αποβολής. Τα επίπεδα της προσταγλανδίνης F2α αυξάνονται προς την όψιμη εκκριτική φάση και το ROS πυροδοτεί την απελευθέρωση της προσταγλανδίνης F2α in vitro. Η διέγερση του ενζύμου κυκλοξυγενάση προκαλείται από το ROS μέσω της ενεργοποίησης του μεταγραφικού

παράγοντα NFκ-β, υποδηλώνοντας έναν μηχανισμό για την έμμηνο ρύση (Sugino et al., 2004).

### 1.8.2 Οξειδωτικό στρες και ενδομητρίωση

Η ενδομητρίωση είναι χρόνια νόσος που χαρακτηρίζεται από αύξηση και εμφύτευση ενδομήτριων κυττάρων και στρώματος σε περιοχές του σώματος, έξω από τη μήτρα και κυρίως στο πυελικό περιτόναιο και στις ωοθήκες. Συχνά χαρακτηρίζεται από πυελικό πόνο και υπογονιμότητα. Η ενδομητρίωση επηρεάζει 6 - 10 % των γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία και πάνω από 30% των υπογόνιμων γυναικών (Augoulea et al., 2012). Έχει προταθεί ότι το OS είναι παράγοντας που επηρεάζει την αιτιοπαθολογία της ασθένειας. Πολλές μελέτες υποδεικνύουν την ύπαρξη αυξημένων βιοδεικτών του OS στις γυναίκες με ενδομητρίωση. Τα επίπεδα SOD και GSH περοξειδάσης στο περιτοναϊκό υγρό ήταν χαμηλότερα στις γυναίκες με διαγνωσμένη ενδομητρίωση. Ταυτόχρονα οι γυναίκες με ενδομητρίωση είχαν υψηλότερα επίπεδα λιπιδικής περοξειδάσης (Szczepanska, 2003). Ακόμα μια μελέτη έδειξε, ότι στα στρωματικά κύτταρα των γυναικών με ενδομητρίωση εντοπίστηκε αυξημένη παραγωγή υπεροξειδίου και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> καθώς και αυξημένη δραστηριότητα της SOD σε σχέση με τα στρωματικά κύτταρα των δειγμάτων ελέγχου (Ngô et al., 2009). Αυτό υποδεικνύει ότι σε αύξηση παραγωγής ROS στα κύτταρα του ενδομητρίου έχουμε και αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Η ενδομητρίωση σχετίζεται με μειωμένη δεκτικότητα της μήτρας, δυσλειτουργία των σαλπίνγων λόγω συμφύσεων και κακή ποιότητα ωαρίων, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένα ποσοστά εμφύτευσης (Garrido, 2002). Αυτοί οι παράγοντες μπορεί να είναι υποκείμενες αιτίες της υπογονιμότητας και το OS μπορεί να ευθύνεται για αυτές τις επιπτώσεις.

### 1.8.3 Οξειδωτικό στρες και ωοθήκες

Τα ROS επηρεάζουν μια ποικιλία φυσιολογικών λειτουργιών της ωοθήκης, συμπεριλαμβανομένης της γένεσης στεροειδών των ωοθηκών, της ωρίμανσης των ωαρίων, της ωορρηξίας, του σχηματισμού βλαστοκύστεων, της εμφύτευσης, της ωχρινόλυσης και της ωχρινικής συντήρησης στην εγκυμοσύνη. Το OS είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της φυσιολογίας των γεννητικών κυττάρων των ωοθηκών και των στρωματικών κυττάρων. Οι συγκεντρώσεις των ROS θα μπορούσαν επίσης να παίξουν σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση και τη γονιμοποίηση των ωαρίων. Μια σχετική μελέτη έδειξε εντοπισμό της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου (SOD) στην ωοθήκη και διαπίστωσε ότι το SOD χαλκού-ψευδάργυρου (Cu-Zn SOD) εντοπίστηκε στα κοκκιώδη κύτταρα των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων και στα ώριμα ωοθυλάκια, καθώς και η υπεροξειδική δισμουτάση μαγγανίου (MnSOD) που εντοπίστηκε σε ωχρινικά κύτταρα του ωχρού σωματίου σε αρουραίους. Απαιτείται η κατάλληλη ποσότητα ROS για την ωορρηξία. Τα ROS που παράγονται από το προωορρηκτικό ωοθυλάκιο θεωρούνται κρίσιμοι επαγωγείς της ωορρηξίας και η αναστολή των ROS έχει επιβεβαιωθεί ότι διαταράσσει την ωορρηξία. Η έλλειψη οξυγόνου διεγείρει την αγγειογένεση των ωοθυλακίων, η οποία είναι σημαντική για την ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Η ανάπτυξη των ωοθυλακίων από το αρχέγονο στάδιο στα ωοθυλάκια του άντρου συνοδεύεται από αξιοσημείωτη αύξηση της μεταβολικής λειτουργίας των κοκκιωδών κυττάρων, ιδιαίτερα από μεγάλη αύξηση της δραστηριότητας του κυτοχρώματος P450 με τη βιοσύνθεση στεροειδών. Μεγάλες ποσότητες ROS παράγονται κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων, υποδεικνύοντας ότι τα λειτουργικά κοκκιώδη κύτταρα σχετίζονται με την προ-οξειδωτική κατάσταση στα ωοθυλάκια. Τα ROS επάγονται σε ωοθυλάκια προ ωορρηξίας με αύξηση των προσταγλανδινών, των κυτοκινών, των πρωτεολυτικών ενζύμων και των στεροειδών,



με αποτέλεσμα τη ρήξη του ωοθυλακίου. Με εξαίρεση τα κυρίαρχα ωοθυλάκια, τα οποία απελευθερώνονται για γονιμοποίηση, όλα τα άλλα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια υφίστανται απόπτωση και αυτή η διαδικασία προωθείται από το ROS. Παράλληλα, η σύνθεση οιστρογόνων που προκαλείται από την ωοθυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH) και η ανοδική ρύθμιση της CAT και της γλουταθειόνης (GSH) στα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια αντιστέκονται στην αποπτωτική διαδικασία για να διατηρήσουν την ισορροπία κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής λειτουργίας των ωοθηκών. Τα ROS δημιουργούνται στο ωχρό σωματίο (CL) και εμπλέκονται στη λειτουργική ωχρινόλυση. Το ROS και τα αντιοξειδωτικά σχετίζονται με τη σύνθεση προγεστερόνης στην ωχρινική φάση.

#### 1.8.4 Οξειδωτικό στρες και PCOS

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών είναι μία σύνθετη πάθηση που χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων, ανωμαλίες στην έμμηνου ρύση ή/και μικρές κύστες στην μία ή και στις δύο ωοθήκες. Η διαταραχή μπορεί να είναι μορφολογική (πολυκυστικές ωοθήκες) ή κυρίως βιοχημική (υπερανδρογοναιμία). Η υπερανδρογοναιμία, μπορεί να προκαλέσει αναστολή της ανάπτυξης των ωοθυλακίων, μικρές κύστες στην ωοθήκη, ανωορρηξία και μεταβολές στην έμμηνου ρύση (Wang, 2012).

Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι οι οξειδωτικοί δείκτες είναι σημαντικά αυξημένοι στην κυκλοφορία των ασθενών με PCOS συγκριτικά με άτομα χωρίς PCOS (Mohammadi, 2019). Για την διερεύνηση του ρόλου του οξειδωτικού στρες στην παθογένεια των ασθενειών έπρεπε να εξεταστούν βιοδείκτες του οξειδωτικού στρες

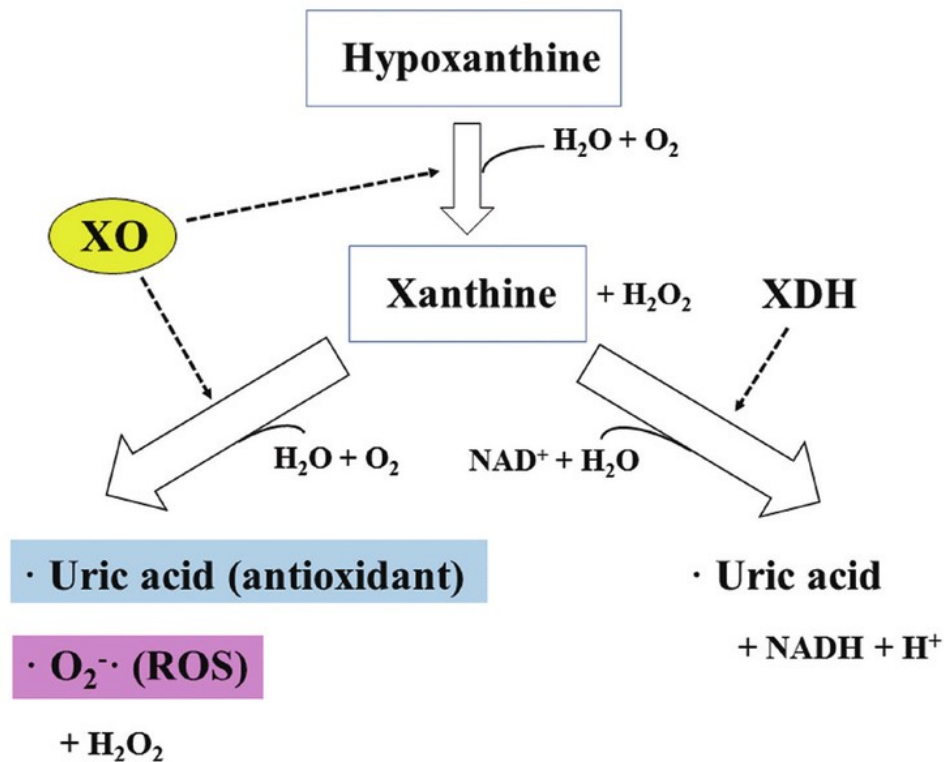
συμπεριλαμβανομένων των MDA και NO, καθώς και αντιοξειδωτικών δεικτών όπως η TAC(Total antioxidant capacity), SOD(Super oxide dismutase), GPx(Glutathione peroxidase) και η GSH (γλουταθειόνη). Η αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες και των αντιοξειδωτικών βιοδεικτών έχουν προταθεί ως χρήσιμα εργαλεία για την εκτίμηση του κινδύνου οξειδωτικής βλάβης καθώς και για την πρόληψη και διαχείριση αυτών των βλαβών(Dib et al., 2002).

Η MDA προκύπτει από την υπεροξείδωση των λιπιδίων των πολυακόρεστων λιπαρών και αποτελεί ένα σταθερό μόριο. Μία μετα ανάλυση έδειξε ότι οι συγκεντρώσεις των MDA βασισμένο στην ηλικία και το BMI ήταν αυξημένες κατά 47% στις γυναίκες με PCOS συγκριτικά με τους μάρτυρες (Murri et al., 2013).Οι Kuscu et al. σύγκριναν τα επίπεδα MDA στο αίμα των ασθενών με PCOS και των υγείων ατόμων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα επίπεδα MDA ήταν σημαντικά υψηλότερα στα άτομα με PCOS και ήταν ανεξάρτητος δείκτης από την παχυσαρκία (Kuscu and Var, 2009).Σε άλλη μελέτη , οι Zhang et al. έδειξαν ότι τα επίπεδα MDA ήταν υψηλότερα στον ορό των ασθενών με PCOS αλλά το BMI και η ηλικία δε καταγράφηκαν (Zhang et al., 2008). Οι Palacio et al. σύγκριναν ασθενείς με PCOS με αντίστοιχους ελέγχους σε BMI και ηλικία. Απέδειξαν ότι παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα MDA στα ερυθροκύτταρα των ασθενών σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και από τους Sabuncu et al (Palacio et al., 2006, Sabuncu et al., 2001).

Το νιτρικό οξύ αποτελεί ελεύθερη ρίζα και είναι σημαντικό κυτταρικό μόριο σηματοδότης που εμπλέκεται σε πολλές φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες αλλά η περίσσεια NO μπορεί να είναι τοξική. Το NO βιοσυντίθεται ενδογενώς από διάφορα ένζυμα της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (NOS) από την L-αργινίνη, το οξυγόνο και την νικοταμινιδική αδενική δινουκλεοτιδική φωσφατάση.

Τα επίπεδα NO στο PCOS αναφέρεται σε διάφορες μελέτες. Μία μελέτη μετα-ανάλυσης έδειξε ότι τα επίπεδα NO δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του ορού των γυναικών με και χωρίς PCOS (Murri et al., 2013). Ωστόσο οι Hassani et al. για να αξιολογήσουν το ρόλο του NO στο PCOS χρησιμοποίησαν αρουραίους Wistar όπου έλαβαν θεραπεία με L-Arginine, πρόδρομο μόριο του NO και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ωοθήκες των αρουραίων που έλαβαν τη θεραπεία είχαν πολυκυστικά χαρακτηριστικά σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου και έτσι συμπέραναν ότι το NO διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του PCOS (Hassani and Karami, 2012). Οι Karabulut et al. διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ του PCOS και της κατάστασης του οξειδωτικού στρες μετρώντας το NO στους ασθενείς με PCOS. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά υψηλότερα επίπεδα NO στις γυναίκες με PCOS συγκριτικά με τις γυναίκες χωρίς το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Karabulut et al., 2012).

Η οξειδάση της ξανθίνης (XO) είναι ένα ένζυμο που συμμετέχει στην παραγωγή ριζών ανιόντων υπεροξειδίου. Αυτό το ένζυμο καταλύει την οξείδωση της υποξανθίνης σε ξανθίνη και την οξείδωση της ξανθίνης σε ουρικό οξύ (Puddu et al., 2012).



**Εικόνα 2: Η δράση της ξανθίνης για παραγωγή ROS (Noma et al.,2020)**

Η οξειδάση της ξανθίνης στον ορό, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στον καταβολισμό των πουρινών στον άνθρωπο όπου παράγει ROS, ήταν αυξημένη σε μελέτες με γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (BASKOL et al., 2012). Επιπλέον, διερεύνησαν την δραστηριότητα της XO και SOD στον ορό, τα ορμονικά επίπεδα, τα επίπεδα χοληστερόλης, τη γλυκόζη πλάσματος νηστείας (FPG) και την ινσουλίνη πλάσματος νηστείας (FPI). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα επίπεδα ορμονών, τα επίπεδα τριγλυκεριδίων, η FPG και η FPI ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με PCOS σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Έτσι πρότειναν ότι η XO είναι ένας χρήσιμος δείκτης για την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες σε ασθενείς με PCOS (Isik et al., 2016).

### 1.8.5 Στρατηγικές αντιμετώπισης οξειδωτικού στρες στην υπογονιμότητα

Ένα μεγάλο μέρος της επιστημονικής κοινότητας έχει ασχοληθεί με την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες σε πολλούς τομείς αλλά και στον τομέα της υπογονιμότητας. Ένας τρόπος αντιμετώπισης των δυσμενών επιπτώσεων του οξειδωτικού στρες στην υπογονιμότητα είναι η χρήση αντιοξειδωτικών. Η βιβλιογραφία περιέχει μελέτες που χρησιμοποίησαν συμπληρώματα διατροφής, όπως τα συμπληρώματα βιταμίνης C για την προστασία από ROS και OS. Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη ομοφωνίας σχετικά με τον τύπο και τη δόση των αντιοξειδωτικών που πρέπει να χρησιμοποιηθούν. Τα κλινικά στοιχεία σχετικά με τα οφέλη των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων είναι αμφίβολα. Οι τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές που διερευνούν τα αντιοξειδωτικά στη γυναικεία υπογονιμότητα είναι λίγες και στερούνται ισχύος λόγω του μικρού αριθμού ασθενών. Σε μια τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη πολυκεντρική μελέτη, αναφέρθηκε η επίδραση της βιταμίνης C (750 mg/ημέρα) σε γυναίκες με ανεπάρκεια ωχρινικής φάσης. Τα ποσοστά εγκυμοσύνης ήταν υψηλότερα στην ομάδα θεραπείας από ότι στην ομάδα ελέγχου (Henmi et al., 2003). Ομοίως, οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών βρέθηκαν να είναι σημαντικά χαμηλότερες σε γυναίκες με ιστορικό επαναλαμβανόμενων αποβολών και σε γυναίκες με ανεπάρκεια ωχρινικής φάσης σε σχέση με υγιείς γυναίκες (Vural et al., 2000).

Κατά τις τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής η γονιμοποίηση συμβαίνει σε περιβάλλον χαμηλής τάσης οξυγόνου για να αποφεύγονται οι συνθήκες που προάγουν τη δημιουργία ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Με αυτόν τον τρόπο έχουμε αποτελεσματικότερη εμφύτευση του εμβρύου και μεγαλύτερα ποσοστά εγκυμοσύνης. Επίσης κατά τη δημιουργία της καλλιέργειας για την ανάπτυξη του εμβρύου

συνιστάται μαζί με τα μεταλλικά ιόντα να προστίθεται κάποια χηλική ένωση προκειμένου να αποφεύγεται η παραγωγή τοξικών προϊόντων.

## 1.9 Οξειδωτικό stress και επιπλοκές κύησης

### 1.9.1 Αυτόματες αποβολές

Το μεγαλύτερο μέρος των αποβολών σχετίζεται με γενετικές ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες στο έμβρυο. Το 25% των κυήσεων οδηγείται σε αυτόματη αποβολή, όπου οι περισσότερες γίνονται στο πρώτο τρίμηνο. Αυξημένα επίπεδα ριζών οξυγόνου παρατηρήθηκαν στις αρχόμενες κυήσεις που οδηγήθηκαν σε αποβολή. Παρατηρήθηκαν ενδείξεις αυξημένων επιπέδων αντιοξειδωτικών ενζύμων όταν αυξάνεται η τάση του οξυγόνου κατά τη περίοδο της φυσιολογικής διαφοροποίησης του πλακούντα (Jauniaux et al., 2000). Ωστόσο αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες και απώλεια αντιοξειδωτικών μηχανισμών συσχετίστηκαν με την αποβολή (Ruder, Hartman and Goldman, 2009). Η προλιδάση (peptidase D) του ορού και τα επίπεδα του σουλφυδρυλίου(R-SH) (δείκτες οξειδωτικού στρες) έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζονται σε γυναίκες με αυτόματες αποβολές (Toy et al., 2010). Τέλος, σε έρευνα που έγινε σε διαγονιδιακά ποντίκια όπου προκαλούσαν δυσλειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδια και επομένως δημιουργούσαν αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες, τα ποντίκια παρουσίαζαν μειωμένη γονιμότητα και αυξημένα ποσοστά αποβολών (Ishii et al., 2014).

### 1.9.2 Επίδραση στην πλακουντιακή λειτουργία

Ο πλακούντας αποτελεί ζωτικό όργανο της κύησης όπου εξυπηρετεί την επικοινωνία μεταξύ μητέρας και εμβρύου και από εκεί προκύπτει και η μεταφορά θρεπτικών συστατικών,  $O_2$  και ορμονών. Στον άνθρωπο η φυσιολογική πλακουντοποίηση ξεκινάει με τη διείσδυση της τροφοβλάστης στις μητριαίες αρτηρίες που αποτελεί και το κλειδί για την αρχή των δραστηριοτήτων του πλακούντα (Webster, Roberts and Myatt, 2008). Το σύστημα αγγείων του πλακούντα υφίσταται αλλαγές για τη διασφάλιση της βέλτιστης μητρικής αγγειακής αιμάτωσης. Πριν τη διείσδυση των τροφοβλαστικών κυττάρων στις μητριαίες αρτηρίες, η χαμηλή τάση  $O_2$  στην αρχή της εγκυμοσύνης προκαλεί φυσιολογική υποξία (Jauniaux, Watson and Burton, 2001). Σε εκείνο το σημείο η συγκυτιοτροφοβλάστη στερείται αντιοξειδωτικών παραγόντων και συνεπώς παραμένει ευάλωτη σε οξειδωτικές βλάβες. Μεταξύ της 10<sup>ης</sup> και 12<sup>ης</sup> εβδομάδας κύησης, οι τροφοβλάστες απομακρύνονται από τις μητρικές σπειροειδείς αρτηρίες και κατακλύζουν τον ενδιάμεσο χώρο με μητρικό αίμα. Αυτό το γεγονός συνοδεύεται με απότομη αύξηση  $O_2$  σηματοδοτώντας την εγκαθίδρυση της μητρικής αρτηριακής κυκλοφορίας στον πλακούντα που σχετίζεται με αύξηση των ROS, όπου οδηγεί σε οξειδωτικό στρες (Myatt and Cui, 2004). Σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις οι ROS διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη γονιδιακή έκφραση. Η προσαρμογή του πλακούντα στα αυξημένα επίπεδα  $O_2$  στο τέλος του πρώτου τριμήνου ρυθμίζει την έκφραση των αντιοξειδωτικών για τη προστασία του εμβρυϊκού ιστού από τις επιβλαβείς συνέπειες των ROS κατά την περίοδο οργανογένεσης και εμβρυογένεσης. Μεταξύ των αντιοξειδωτικών του πλακούντα είναι η οξυγενάση της αίμης-1 και -2, η καταλάση και η GPx (glutathione peroxidase-1) (Nakamura et al., 2009). Εάν η ροή του μητρικού αίματος φτάσει πρόωρα στον ενδιάμεσο χώρο, το οξειδωτικό στρες στον πλακούντα μπορεί να προκαλέσει φθορά

στην συγκυτιοτροφοβλαστη. Η φθορά αυτή μπορεί να οδηγήσει σε αποβολή(Burton et al, 2003).

### 1.9.3 Καθ' έξιν αποβολές

Ως καθ' έξιν αποβολές ορίζονται η απώλεια τριών ή περισσότερων διαδοχικών κύσεων. Οι καθ' έξιν αποβολές επηρεάζουν το 1% με 3% των ζευγαριών. Στο 50% των περιστατικών αυτών μπορεί να προσδιοριστεί ο αιτιολογικός παράγοντας. Ωστόσο, στο υπόλοιπο 50% δεν μπορεί να οριστεί αιτιολογικός παράγοντας αν και οι έρευνες έχουν δείξει το οξειδωτικό στρες ως βασικό παράγοντα των καθ' έξιν αποβολών (Rai and Regan, 2006). Η φθορά της συγκυτιοτροφοβλάστης και το οξειδωτικό στρες που εμφανίζονται ως αποτέλεσμα της ανώμαλης πλακουντοποίησης μπορεί να εξηγήσει της ευαισθησία της συγκυτιοτροφοβλάστης στο οξειδωτικό στρες στο πρώτο τρίμηνο και θα μπορούσε να συμβάλλει σημαντικό στην ιδιοπαθή RPL(Recurrent pregnancy loss)(Burton, Hempstock and Jauniaux, 2003). Γυναίκες με ιστορικό RPL εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα GSH, γεγονός που υποδηλώνει ανταπόκριση στο αυξημένο οξειδωτικό στρες(Miller et al., 2000). Μία ακόμη μελέτη έδειξε χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως GPx και SOD σε γυναίκες με ιδιοπαθή RPL, επιπρόσθετα με τα αυξημένα επίπεδα MDA(El-Far et al., 2007). Ακόμη, πολυμορφισμοί στα αντιοξειδωτικά ένζυμα συσχετίστηκαν με υψηλότερο ρίσκο για RPL. Μία αποδεκτή απάντηση στις δυσμενείς επιδράσεις του οξειδωτικού στρες στον πλακούντα στις γυναίκες με RPL θα μπορούσε να είναι η ενίσχυση του οργανισμού με αντιοξειδωτικά.

### 1.9.4 Πρόωρος τοκετός



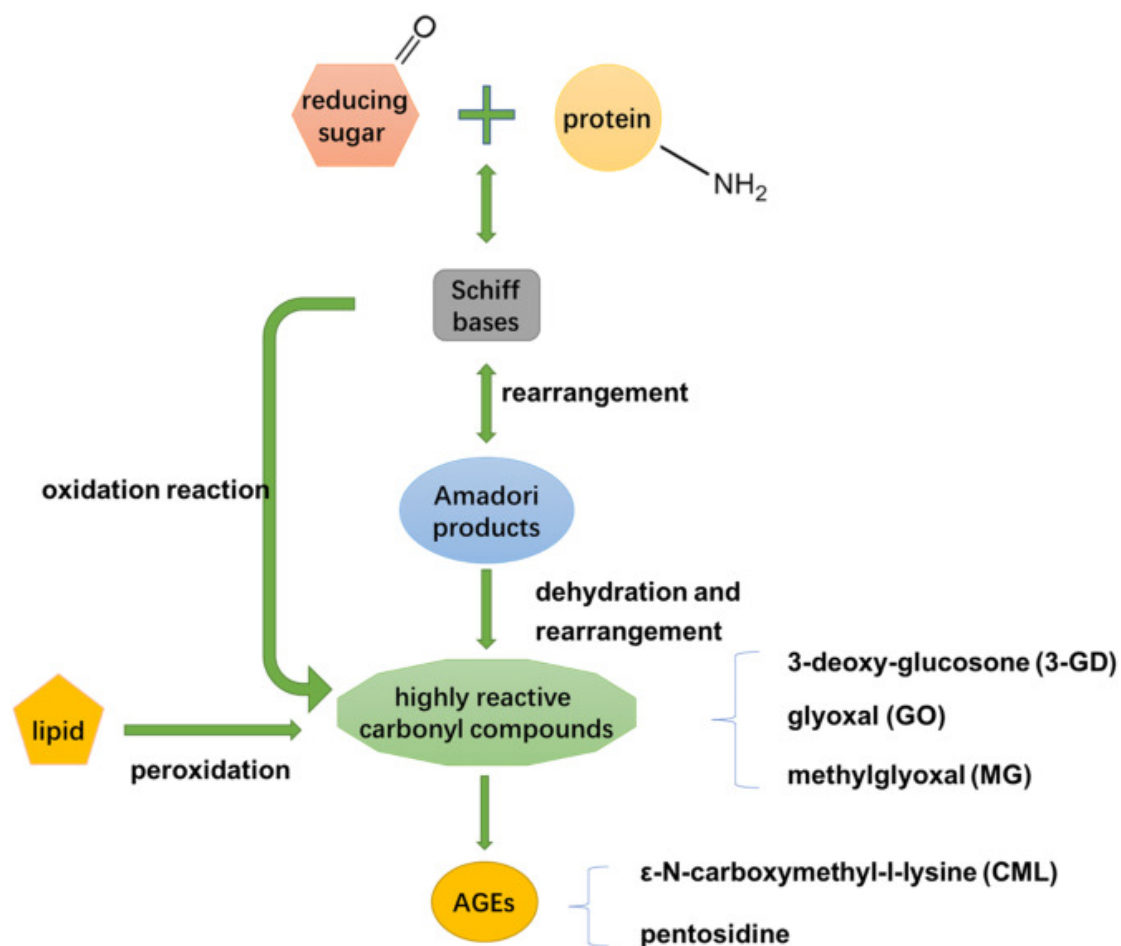
Ο πρόωρος τοκετός εμφανίζεται πριν από τις 37 εβδομάδες κύησης και είναι η κύρια αιτία περιγεννητικής νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως με συχνότητα εμφάνισης μεταξύ 5% και 12%. Πέρα από το τις διαφορές τους ως προς το χρόνο, ο πρόωρος και ο τελειόμηνος τοκετός θεωρούνται πλέον ως παρόμοιες διαδικασίες που συμβαίνουν μέσω μιας "κοινής οδού". Παρ' όλο που οι ακριβείς αιτίες και μηχανισμοί του πρόωρου τοκετού παραμένουν άγνωστες, ο όρος «σύνδρομο» χρησιμοποιήθηκε από τους Romeroetal (2006) για να περιγράψουν τις πιθανές αιτίες του πρόωρου τοκετού (Romero et al., 2006). Η αλληλουχία συσπάσεων της μήτρας και διαστολής του τραχήλου αποτελούν στοιχεία του πρόωρου τοκετού που σχετίζονται με τη μήτρα (Romero et al., 2006).Ωστόσο, έχει προταθεί ότι η ενεργοποίηση αυτής της κοινής οδού μέσα από φυσιολογικά σήματα οδηγεί σε τοκετό, ενώ ο πρόωρος τοκετός μπορεί να προκύψει από τυχαία ενεργοποίηση διαφόρων πτυχών της κοινής οδού υπό την παρουσία παθολογικών συνθηκών που μπορεί να προκύψουν από διάφορες αιτίες ή παράγοντες κινδύνου. Ο πρόωρος τοκετός χωρίζεται σε δύο διακριτούς τύπους στον ιατρογενή πρόωρο τοκετό όπου συνήθως οφείλεται σε μητρικούς ή εμβρυικούς παράγοντες και στον αυτόματο πρόωρο τοκετό. Η πλειονότητα των πρόωρων τοκετών οφείλονται σε τέσσερις κύριες παθολογικές οδούς όπου περιλαμβάνουν διάταση μήτρας, ισχαιμία, λοίμωξη, ενδοκρινικές διαταραχές, ενεργοποίηση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης κα. Από αυτές τις διαταραχές, η ενδομήτρια λοίμωξη θεωρείται ο κυριότερος παράγοντας έναρξης πρόωρου τοκετού (Norman et al., 2007).

Ο τοκετός προκαλεί αλλαγές στις χοριοαμνιακές μεμβράνες που συνάδουν με οξεία φλεγμονώδη αντίδραση, παρά την απουσία ιστολογικών ευρημάτων φλεγμονής (Kim et al., 2015). Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ενεργοποιούν την NF-κΒ, όπου διεγείρει την έκφραση του COX-2 και προάγει τη φλεγμονή με αποτέλεσμα τον πρόωρο

τοκετό. Η μελέτη των Mustafa et al(2010) αναφέρει αυξημένα επίπεδα MDA και 8-OHdG και αισθητά χαμηλά επίπεδα GSH στο μητρικό αίμα των γυναικών με πρόωρο τοκετό συγκριτικά με τις γυναίκες με φυσιολογικό τοκετό (Mustafa et al., 2010). Αυτό το εύρημα δηλώνει ότι οι γυναίκες με πρόωρο τοκετό έχουν μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα για την άμυνα κατά της βλάβης που προκαλείται από το OS. Ακόμη, γυναίκες με πρόωρο τοκετό έχουν χαμηλότερα επίπεδα TAS(total antioxidant status)όπου χρησιμοποιείται σε σχέση με τις γυναίκες με φυσιολογικό τοκετό, γεγονός που υποδηλώνει της παρουσία αυξημένου οξειδωτικού στρες στον πρόωρο τοκετό (Cinkaya et al., 2010). Σημαντικά μειωμένη δραστηριότητα της PON 1 παρατηρείται σε γυναίκες με πρόωρο τοκετό. Η PON1(paraoxonase)είναι αντιοξειδωτικό ένζυμο που συμβάλει στην υδρόλυση της λιπιδικής υπεροξειδάσης σε λιποπρωτεΐνες (Togun et al., 2014). Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι η αυξημένη λιπιδική υπεροξειδάση και η μειωμένη αντιοξειδωτική δραστηριότητα της PON 1, μπορεί από κοινού να δημιουργήσουν ένα περιβάλλον πρόσφορο για πρόωρο τοκετό.

## 2. Τελικά προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης

Τα τελικά προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης (AGEs) είναι πρωτεΐνες ή λιπίδια που γλυκοζυλιώνονται ως αποτέλεσμα της έκθεσής τους σε σάκχαρα (Goldin and Beckman, 2006). Η αμινομάδα μιας πρωτεΐνης αλληλεπιδρά με την καρβονυλική ομάδα ενός σακχάρου για τον σχηματισμό των βάσεων Schiff, το οποίο μετασχηματίζεται στα προϊόντα Amadori. Και οι δύο αντιδράσεις είναι αναστρέψιμες και οι ποσότητες των παραγόμενων προϊόντων αυξάνονται με την αύξηση της συγκέντρωσης γλυκόζης. Οι οξειδωτικές αντιδράσεις των βάσεων Schiffs μαζί με την λιπιδική υπεροξειδάση δημιουργούν καρβονυλικές ενώσεις οι οποίες τελικά σχηματίζουν τα AGEs.



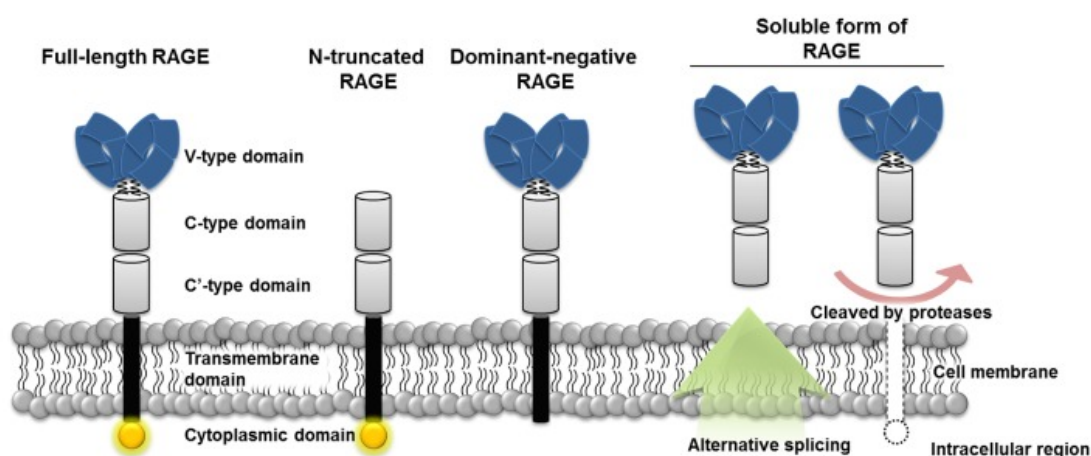
Εικόνα 3 :Σχηματισμός των AGEs (Zhu et al.,2020)

Επομένως, η υπεργλυκαιμία αυξάνει τη συσσώρευση των AGEs (Zhu et al., 2020). Οι βάσεις Schiff και τα προϊόντα Amadori μπορούν να αντιδράσουν μη αναστρέψιμα με υπολείμματα αμινοξέων πρωτεϊνών ή πεπτιδίων για να παράγουν πρωτεΐνες. Εναλλακτικά, οι ενώσεις αυτές μπορούν να υποστούν περαιτέρω αντιδράσεις Maillard, όπως οξείδωση, αφυδάτωση, πολυμερισμό και πολυάριθμους μετασχηματισμούς με το σχηματισμό πολλών δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) ή δικαβονυλικών ενώσεων (γλυοξάλη, μεθυλογλυοξάλη, αιθυλογλυοξάλη, 3-δεοξυγλυκοζόνη (Usui et al., 2004). Η συσσώρευση των AGEs επιταχύνει τη γήρανση και προκαλεί χρόνιες εκφυλιστικές ασθένειες όπως ο διαβήτης, η νόσος Alzheimer, η αθηροσκλήρωση κ.α. που βλάπτουν την ανθρώπινη υγεία (Byun et al., 2017). Τα AGEs αναφέρθηκαν πρώτη φορά το 1912 από τον Γάλλο επιστήμονα Louis Camille Maillard και γι αυτό ονομάστηκε και αντίδραση Maillard. Υπάρχουν δύο πηγές AGEs: η ενδογενής και η εξωγενής. Φυσιολογικά η γλυκοζυλίωση εμφανίζεται αργά και αυξάνεται με την ηλικία. Η σύνθεση των AGEs στον οργανισμό επιταχύνεται σημαντικά με την εμφάνιση υπεργλυκαιμίας και υπερλιπιδαιμίας. Τα ενδογενή AGEs συμβάλλουν λιγότερο στη συσσώρευση των AGEs συγκριτικά με τα εξωγενή. Η κύρια πηγή των AGEs είναι τροφές που μαγειρεύονται σε υψηλές θερμοκρασίες όπως στο φούρνο ή στο τηγάνι (Pinkas and Aschner, 2016). Ο υποδοχής των AGEs (RAGE) έχει βρεθεί σε πολλά είδη κυτταρικής μεμβράνης και επιφέρει πολλές βιολογικές επιδράσεις, συνδυαζόμενος με συνδέτες όπως τα AGEs, η υψηλής κινητικότητας πρωτεΐνη B1 (HMGB1) και η ομάδα πρωτεΐνης S100. Τα AGEs όταν συνδυάζονται με τους υποδοχείς RAGE ενεργοποιούν ενδοκυτταρικά φλεγμονώδη μονοπάτια συμπεριλαμβανομένων της οδού MAPK, της εξωκυτταρικής κινάσης ERK  $\frac{1}{2}$ , της πρωτεϊνικής κινάσης C και του παράγοντα NF-kB. Η σηματοδότηση AGE-RAGE ενεργοποιεί επίσης, την NADPH με αποτέλεσμα το

αυξημένο οξειδωτικό στρες και αύξηση φλεγμονωδών μορίων όπως ο TNF- $\alpha$ , η ιντερλευκίνη-1, η ιντερλευκίνη-6 και το μόριο αγγειακής προσκόλλησης VCAM-1 (Guimarães et al., 2010). Ο sRAGE είναι ο διαλυτός υποδοχέας που παράγεται με υδρόλυση του RAGE ο οποίος δρα ανασταλτικά για τον υποδοχέα RAGE αναστέλλοντας τα μονοπάτια σηματοδότησης του. Ο διαλυτός υποδοχέας RAGE μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κλινικός δείκτης και μπορεί να έχει θεραπευτική ιδιότητα σε ασθενείς με φλεγμονή.

## 2.1 RAGE

Ο RAGE (υποδοχέας των τελικών προϊόντων προηγμένης γλυκοζυλίωσης) είναι μια πρωτεΐνη με μάζα 45-55 kDa, στη δομή της οποίας μπορούμε να διακρίνουμε θραύσματα με διαφορετικές λειτουργίες (Qin et al., 2008). Αποτελείται από μια περιοχή εκτεθειμένη στο εξωτερικό του κυττάρου, μια ενιαία, υδρόφοβη, διαμεμβρανική περιοχή και μια ουρά.



Ο υποδοχέας των AGEs (Lee and Park, 2007)

Είναι ο πρώτος αναγνωρισμένος διαμεμβρανικός υποδοχέας που ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών, ικανός να δεσμεύει ένα ευρύ φάσμα συνδετών. Ο sRAGE (διαλυτή μορφή του RAGE) είναι σε θέση να αναγνωρίζει διαφορετικές τρισδιάστατες δομές και όχι απαραίτητα συγκεκριμένες αλληλουχίες αμινοξέων (Chuah et al., 2013). Οι υποδοχείς sRAGE έχουν βρεθεί στην επιφάνεια πολλών κυτταρικών τύπων. Βρέθηκαν σε φαγοκύτταρα, ενδοωοθυλακικά κύτταρα, αγγειακά τοιχώματα και λείους μυς, καθώς και σε κύτταρα του νευρικού συστήματος. Η διέγερση του RAGE έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα (NFκB), ακολουθούμενη από τη μεταγραφή πολλών προφλεγμονωδών γονιδίων, π.χ. πρωτεϊνών προσκόλλησης (ICAM-1, VCAM-1), κυτταροκινών (IL-1, IL-6, TNF-α) και ενζύμων που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες, όπως για παράδειγμα η NADPH οξειδάση (Adeshara et al., 2020). Η συγγένεια του RAGE με τα AGEs είναι υψηλή και τα σύμπλοκα μεταξύ του συνδέτη και του υποδοχέα σχηματίζονται ήδη σε νανομοριακές συγκεντρώσεις. Υποστηρίζεται ότι η αύξηση της έκφρασης του υποδοχέα RAGE διεγείρεται από την αυξημένη συγκέντρωση των τελικών προϊόντων προηγμένης γλυκοζυλίωσης. Η εμφάνισή τους οδηγεί σε συνεχή διέγερση των κυττάρων και, κατά συνέπεια, σε μη αναστρέψιμη ιστική βλάβη (Gkogkolu and Böhm, 2012). Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα σε παθολογικές καταστάσεις, όπως ανοσολογικές αντιδράσεις και διαβητικές επιπλοκές. Ένας άλλος τύπος υποδοχέων δέσμευσης AGEs είναι ο υποδοχέας δέσμευσης νεκρωτικών υλικών (scavengers). Πρόκειται για μια υπεροικογένεια πρωτεϊνών που συνδέονται με τη μεμβράνη. Δεσμεύουν πολλούς προσδέτες, συμπεριλαμβανομένων ενδογενών πρωτεϊνών και παθογόνων μικροοργανισμών (Zani et al., 2015). Κύριο έργο τους είναι η ενδοκυττάρωση τροποποιημένων μορίων LDL (λιποπρωτεΐνες

χαμηλής πυκνότητας). Στους υποδοχείς scavenger που παρουσιάζουν συγγένεια με το AGE περιλαμβάνονται οι SR-AI, SR-BI, CD36, CD6816.

## 2.2 AGEs και ασθένειες που σχετίζονται με τη γυναικεία υπογονιμότητα

Τα αίτια της γυναικείας υπογονιμότητας είναι πολλά, όπως γενετικοί παράγοντες, περιβαλλοντικοί παράγοντες και ορισμένες οργανικές ασθένειες. Η δευτερογενής υπογονιμότητα είναι η πιο κοινή μορφή γυναικείας υπογονιμότητας. Η κύρια αιτία της υπογονιμότητας στις γυναίκες είναι η δυσλειτουργία των ωοθηκών. Τα AGEs συνδέονται στενά με τη γυναικεία υπογονιμότητα και η συσσώρευση των AGEs επιταχύνει το οξειδωτικό στρες στις ωοθήκες και αλλάζει τα επίπεδα στεροειδών ορμονών, που οδηγούν σε δυσλειτουργία των ωοθηκών (Merhi, 2014).

## 2.3 AGEs και PCOS

### 2.3.1 AGEs και αντίσταση στην ινσουλίνη

Η αντίσταση στην ινσουλίνη (IR) είναι η πιο κοινή μεταβολική διαταραχή PCOS. Οι οδοί σηματοδότησης των υποδοχέων ινσουλίνης είναι ελαττωματικές σε γυναίκες με PCOS. Τα AGEs έχει αποδειχθεί ότι παρεμβαίνουν στο μονοπάτι σηματοδότησης του υποδοχέα της ινσουλίνης σε διάφορα κύτταρα, μειώνοντας την ευαισθησία τους στην ινσουλίνη (Diamanti-Kandarakis et al., 2016), (Fiory et al., 2011). Τα AGEs έχει αποδειχθεί ότι επάγουν IR σε ποντίκια (Lin et al., 2019). Μία άμεση ανεπιθύμητη επίδραση των AGEs στην IR είναι μέσω βλάβης στο μονοπάτι PI3K/AKT και πρόληψη της μετατόπισης της γλυκόζης στη μεμβράνη μεταφορέας τύπου 4 (Glut-4) σε κοκκιώδη κύτταρα (Diamanti-Kandarakis et al., 2016). Οι παραπάνω μελέτες συνηγορούν ότι τα AGEs παίζουν σημαντικό ρόλο στο θέμα της αντίστασης της

ινσουλίνης σε γυναίκες με PCOS. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα AGEs επάγουν IR, αλλά και η IR επιταχύνει επίσης τη συσσώρευση AGEs(Silber et al., 2020).

### 2.3.2 AGEs και παθογένεση PCOS

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) είναι ένα από τα πιο κοινά ενδοκρινικά νοσήματα που μπορεί να προκαλέσει υπογονιμότητα σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας σε ποσοστό 5-10%. Τα κλινικά κριτήρια του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών εκδηλώνονται ως υπερανδρογοναιμία, ανωθυλακιορρηξία και πολυκυστικές ωοθήκες, αντίσταση στην ινσουλίνη και δυσλιπιδαιμία. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα AGEs παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του PCOS. Τα επίπεδα AGEs στον ορό των γυναικών με PCOS ήταν σημαντικά υψηλότερα από αυτά των γυναικών χωρίς PCOS και τα επίπεδα AGEs στον ορό των γυναικών δεν διαφέρουν σε διαφορετικούς φαινοτύπους PCOS(Silber et al., 2020).Μία άλλη έρευνα έδειξε ότι αρουραίοι που η διατροφή τους περιλάμβανε τροφές που προκαλούν AGEs εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα γλυκόζης, ινσουλίνης και τεστοστερόνης στον ορό τους, καθώς και μειωμένα επίπεδα οιστρογόνων και προγεστερόνης (Chatzigeorgiou et al., 2013). Παρακωλώντας το μονοπάτι AGE-RAGE ή μία δίαιτα σε τροφές που δεν προκαλεί AGEs, μπορεί αυτόματα να βελτιώσει τα συμπτώματα των PCOS(Gill et al., 2019). Επιπλέον, τα AGEs αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των κοκκωδών κυττάρων των ωοθηκών in vitro (Lin et al., 2019). Τα παραπάνω στοιχεία δείχνουν ότι τα AGEs προωθούν την ανάπτυξη του PCOS. Ως εκ τούτου, είναι πολύ σημαντικό να διευκρινιστεί ο ακριβής μηχανισμός των AGEs στην παθογένεση του PCOS για την έγκαιρη πρόληψη και θεραπεία του PCOS, το οποίο μπορεί παρέχουν νέες ιδέες για τη θεραπεία του PCOS.



### 2.3.3 AGEs και κλινικά χαρακτηριστικά του PCOS

Ο πιο κοινός φαινότυπος των γυναικών με PCOS είναι η υπερανδρογοναιμία. Μελέτη έδειξε ότι αδύνατες γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης και PCOS είχαν αυξημένα επίπεδα AGEs, όπου τα επίπεδα των AGEs συσχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα τεστοστερόνη (Diamanti-Kandarakis et al., 2008). Μελέτες έδειξαν ότι τα ανδρογόνα σε γυναίκες με PCOS αυξάνει την έκφραση των RAGE και τη συσσώρευση των AGEs στις ωοθήκες μέσω της ενεργοποίησης του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου στα κοκκιώδη κύτταρα (Takahashi et al., 2017). Επιπλέον, δίαιτα υψηλή σε AGEs προάγει το οξειδωτικό στρες και το οξειδωτικό στρες σε γυναίκες με PCOS προκαλεί υπερανδρογοναιμία, υποδηλώνοντας ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να λειτουργεί ως σύνδεσμος μεταξύ των AGEs και του υπερανδρογονισμού στις γυναίκες με PCOS (Tantalaki et al., 2014), (Fenkci et al., 2003). Το οξειδωτικό στρες και οι δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) μπορούν να επιταχύνουν την αντίδραση Maillard, ενώ τα AGEs μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες. Το PCOS αποτελεί μία χρόνια φλεγμονώδη νόσο. Μια μελέτη βρήκε ότι τόσο τα AGEs όσο και το οξειδωτικό στρες αυξήθηκαν σε γυναίκες με PCOS με φυσιολογική γλυκόζη αίματος (González et al., 2006), υποδηλώνοντας ότι η χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση επιτάχυνε τη συσσώρευση AGEs στο PCOS και τα AGEs επιδείνωσαν την κατάσταση οξειδωτικού στρες στους ιστούς και στα όργανα. Ένας ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός AGEs και RAGE σε πολυκυστικές και φυσιολογικές ωοθήκες έδειξαν ότι η ένταση έκφρασης των AGEs και RAGE σε κοκκιώδη κύτταρα ήταν σημαντικά ισχυρότερη σε σύγκριση με αυτή που παρατηρήθηκε στον φυσιολογικό ιστό (Diamanti-Kandarakis et al., 2007). Επιπλέον, τα AGEs όταν συνδυάζονται με τον υποδοχέα RAGE ενεργοποιείται ο NF-κB στα

κοκκιώδη κύτταρα και ο NF-κB παίζει καθοριστικό ρόλο στην απόπτωση των κοκκιωδών κυττάρων, υποδηλώνοντας ότι εμπλέκονται τα AGEs σε ανωμαλία της αναπαραγωγής μέσω της ενεργοποίησης του NF-κB σε γυναίκες με PCOS (Xiao, Ash and Tsang, 2001). Τα AGEs σχετίζονται με δυσλειτουργία της ωορρηξίας σε γυναίκες με PCOS (Garg and Merhi, 2015). Κλινική μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα των AGEs και στην ομάδα των γυναικών με PCOS με ανωθυλακιωρηκτικούς κύκλους όσο και στην ομάδα των γυναικών με ωθυλακιωρηκτικούς κύκλους και PCOS ήταν σημαντικά αυξημένα σε σχέση με την ομάδα γυναικών χωρίς ωορρηξία και χωρίς PCOS (Diamanti-Kandarakis et al., 2009). Στην ίδια μελέτη, υπήρχαν παρόμοια εύρη στα επίπεδα της AMH στον ορό και στα επίπεδα των AGEs τόσο στον ορό όσο και στο ωθυλακικό υγρό όπου συσχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα της AMH. Η AMH, ένας σημαντικός δείκτης ωοθηκικού αποθέματος, που παράγεται μόνο από τα κοκκιώδη κύτταρα. Η AMH ευθύνεται για την ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Αυξημένη AMH προκαλεί ελαττωμένη FSH μέσω αρνητικής ανατροφοδότησης στην υπόφυση και αυτό προκαλεί ανωθυλακιωρηξία. Επομένως, τα AGEs εμπλέκονται στη δυσλειτουργία της ωορρηξίας μέσω θετικής ρύθμισης της έκφραση της AMH σε γυναίκες με PCOS. Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα LH οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων και αυτά με τη σειρά τους προκαλούν ανωθυλακιωρηκτικούς κύκλους. Τα AGEs στη συνέχεια, επιδρούν στο μονοπάτι ERK1/2 MAPK ενεργοποιώντας το και έτσι αυξάνονται τα επίπεδα LH (Garg and Merhi, 2015).

#### 2.3.4 AGEs και παχυσαρκία

Περίπου το 30-75% των γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών πάσχει από παχυσαρκία (Ehrmann, 2005). Η παχυσαρκία φαίνεται να αποτελεί ένα σημαντικό κομμάτι στην ανάπτυξη των συμπτωμάτων του PCOS τόσο σε ευπαθή άτομα όσο και σε μη. Οι παχύσαρκες γυναίκες με PCOS έχουν περισσότερες

πιθανότητες να εμφανίσουν σοβαρότερα επακόλουθα, όπως υπερανδρογονισμό, από ότι εκείνες με φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος (Kirchengast and Huber, 2001- Norman et al., 2004). Ακόμα, έχει αποδειχθεί ότι η απώλεια βάρους σε φυσιολογικό BMI βελτιώνει την έμμηνο ρύση, μειώνει τα ανδρογόνα και βελτιώνει τους δείκτες ευαισθησίας στην ινσουλίνη (Norman et al., 2004). Επιπλέον, η κατανομή και η μορφολογία του λιπώδους ιστού φαίνεται να συμβάλλει σημαντικά στην παθοφυσιολογία που διέπει το PCOS. Η πλειονότητα των γυναικών με PCOS έχει κοιλιακή κατανομή του λίπους (κεντρική παχυσαρκία), ανεξάρτητα από τον δείκτη μάζας σώματος: ένα αποτέλεσμα που πιθανώς σχετίζεται με αυξημένα ανδρογόνα (Kirchengast and Huber, 2001).

Έχει αναφερθεί σχέση μεταξύ της παχυσαρκίας και της αναπαραγωγής (Merhi, 2007, 2009- Merhi and Pal, 2007- Merhi et al., 2008, 2009). Τα AGEs έχουν συνδεθεί άμεσα με τη φυσιολογία των λιποκυττάρων (Jia et al., 2012). Μελέτες που χρησιμοποίησαν κυτταρικές σειρές που προέρχονται από λιπώδη ιστό έδειξαν ότι τα AGEs διεγείρουν την λιπογένεση (Jia et al., 2012). Σε ένα ζωικό μοντέλο, τα ποντίκια RAGE knockout (RAGE  $-/-$ ), δηλαδή τα ποντίκια όπου δεν παρουσίαζαν έκφραση του υποδοχέα των AGEs, παρουσίασαν επιταχυνόμενη αύξηση του σωματικού βάρους σε σύγκριση με τα ποντίκια RAGE  $+/+$  (Leuner et al., 2012). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι ισομορφές sRAGE μπορεί να δρουν ως δεσμευτική πρωτεΐνη, απομακρύνοντας τα κυκλοφορούντα AGEs και προστατεύοντας τους ιστούς από βλάβες που προκαλούνται από τα προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης. Οι παχύσαρκες γυναίκες έχουν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις sRAGE και αδιπονεκτίνης (Vazzana et al., 2012). Είναι ενδιαφέρον ότι η προκαλούμενη από δίαιτα απώλεια βάρους έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα sRAGE στον ορό κατά

150% (Vazzana et al., 2012). Αυτά τα δεδομένα μαζί αποκαλύπτουν ότι το σύστημα AGE-RAGE παίζει ρόλο στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας.

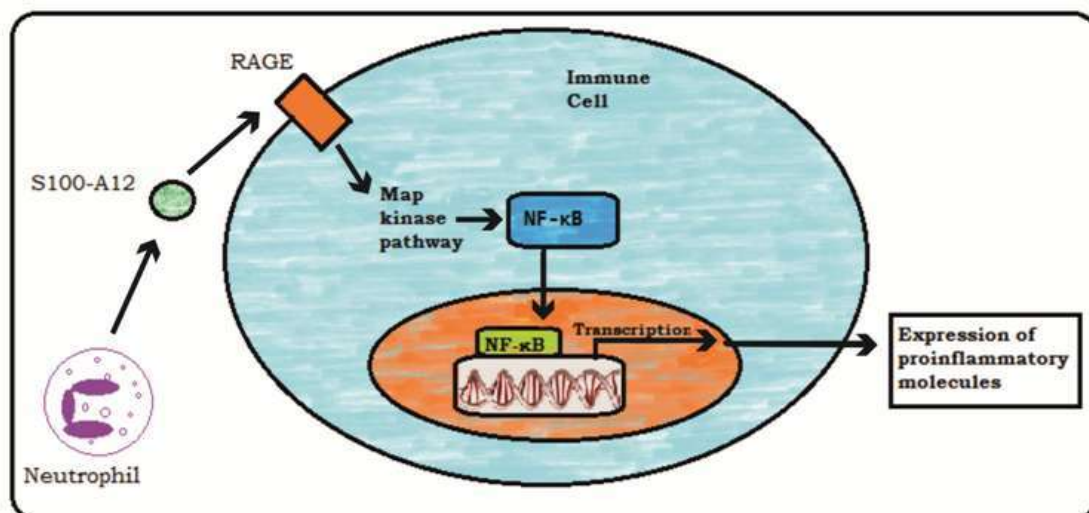
#### 2.4 AGEs και ενδομητρίωση

Η ενδομητρίωση είναι μια συχνή ενδοκρινική νόσος που εξαρτάται από οιστρογόνα, που επηρεάζει το 5%-10% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως (Venegas, Parada and Sovino, 2015). Η ενδομητρίωση αναφέρεται σε ιστό ενδομητρίου που εμφανίζεται σε άλλες περιοχές εκτός της μήτρας, όπως στις ωοθήκες, με αποτέλεσμα τη δυσμηνόρροια, που συχνά συνδέεται με υπογονιμότητα. Ο παθολογικός μηχανισμός της ενδομητρίωσης είναι ακόμα άγνωστος, γεγονός που φέρνει πολλές δυσκολίες στην κλινική θεραπεία. Η ενεργοποίηση της σηματοδότησης AGE-RAGE μπορεί να συμβάλλει στο σχηματισμό ενδομητρίωσης (Fujii, Nakayama and Nakagawa, 2008). Ωστόσο, ξέρουμε λίγα για τους μοριακούς μηχανισμούς των AGEs στην ενδομητρίωση.

Οι Scutiero και συνεργάτες (Scutiero et al., 2017) μελέτησαν τους δείκτες οξειδωτικού στρες στην ενδομητρίωση από 5 διαφορετικά δείγματα και χωρίστηκαν σε 5 κατηγορίες: ορός, περιτοναϊκό υγρό, ωοθυλακικό υγρό, φλοιός των ωοθηκών και ενδομητρικός ιστός. Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSPs) είναι ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες που επάγονται για την προστασία των κυττάρων από το στρες που προκαλείται από μόλυνση ή φλεγμονή. Η HSP70 είναι πρωτεΐνη συνοδός που αποτρέπει τις ανώμαλες αλληλεπιδράσεις κατά τη σύνθεση πρωτεϊνών. Ερευνητές έδειξαν ότι γυναίκες με ενδομητρίωση έχουν υψηλότερα επίπεδα αυτής της πρωτεΐνης (Scutiero et al., 2017). Ο μεταβολισμός των λιπιδίων και οι συνδέσεις τους με τους παράγοντες φλεγμονής επιφέρουν την γένεση του οξειδωτικού στρες. Τα επίπεδα λιπιδίων μετρήθηκαν σε γυναίκες με ενδομητρίωση και τα αποτελέσματα έδειξαν

υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων, ολικής χοληστερόλης και LDL καθώς ταυτόχρονα παρατηρήθηκαν χαμηλά επίπεδα HDL στις ίδιες γυναίκες

Το αυξημένο οξειδωτικό στρες και τα ROS στο μικροπεριβάλλον των ωοθυλακίων οδηγεί σε ενδομητρίωση (Dumesic et al., 2015). Μία ενδιαφέρουσα έρευνα έχει δείξει ότι τα επίπεδα sRAGE στον ορό των γυναικών με και χωρίς ενδομητρίωση ήταν ίδια, ωστόσο τα επίπεδα ωοθυλακικού sRAGE ήταν αυξημένα στις γυναίκες με ενδομητρίωση συγκριτικά με τις γυναίκες χωρίς ενδομητρίωση (Fujii, Nakayama and Nakagawa, 2008). Θεωρείται ότι το sRAGE συνδέεται με τα AGEs και μπλοκάρει το μονοπάτι σηματοδότησης AGE-RAGE οδηγώντας σε αναστολή της φλεγμονώδους αντίδρασης. Τα αυξημένα επίπεδα sRAGE στα ωοθυλάκια μπορεί να οφείλονται στον μηχανισμό διατήρησης της σταθερότητας του ωοθηκικού μικροπεριβάλλοντος στον οργανισμό. Παρομοίως, έχει παρατηρηθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ του ενδοωοθυλακικού sRAGE και της ποιότητας των εμβρύων στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης sRAGE στο ωοθυλακικό υγρό προβλέπουν χαμηλή ποιότητα εμβρύου σε γυναίκες με ICSI (Bonetti et al., 2013). Ο άξονας RAGE-EN-RAGE έχει αποδειχθεί ότι παίζει ζωτικό ρόλο στην παθογένεση της ενδομητρίωσης και αυξάνει τον κίνδυνο υπογονιμότητας στις γυναίκες (Cao, Liu and Guo, 2019). Η πρωτεΐνη S100A12 ή αλλιώς EN-RAGE, προσδέτης της RAGE, ονομάστηκε εξωκυτταρική πρωτεΐνη δέσμευσης που αλληλεπιδρά με το RAGE και οδηγεί σε ενεργοποίηση της ενδοκυτταρικής σηματοδότησης συμπεριλαμβανομένων των NF-κB και MAPK, που προάγουν την ενεργοποίηση φλεγμονής και παραγωγής των ROS (Tobon-Velasco, Cuevas and Torres-Ramos, 2014).



### Η επίδραση της πρωτεΐνης S100-A12 στην ενεργοποίηση φλεγμονής (Bousnaki Maria and Koidis Tasos, 2020)

#### 2.5 AGEs και ωοθήκες

Δεδομένα δείχνουν ότι διαίτα υψηλή σε AGEs μπορεί να διαταράξει τη λειτουργία των ωοθηκών ιδιαίτερα την ωοθυλακιογένεση και τη στεροειδογένεση (Garg and Merhi, 2016). Ενδιαφέρον αποτελεί ότι η πρόσληψη AGEs μπορεί να αυξήσει την έκφραση γονιδίων στις ωοθήκες δεικτών φλεγμονωδών μακροφάγων. Μελέτη σε ποντίκια αξιολόγησε την επίδραση των AGEs στον εμμηνορρυσιακό κύκλο και την λειτουργία των ωοθηκών. Σ' αυτή την μελέτη γυναικεία ποντίκια ηλικίας 6 χρονών υποβλήθηκαν τυχαία είτε σε τροφές υψηλές σε AGEs είτε χαμηλές σε AGEs για 13 εβδομάδες, καίρος κατά τον οποίο εκτιμούνταν ο εμμηνορρυσιακός κύκλος καθώς αξιολογούνταν και ο αριθμός των ωαρίων, ποσοτικοποιούνταν τα γονίδια που εμπλέκονται στην ωοθυλακιογένεση, στεροειδογένεση και δείκτες ωοθηκικών μακροφάγων και τέλος η μορφολογία των ωοθηκών για την καταμέτρηση των ωοθυλακίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ποντίκια με τις τροφές υψηλές σε AGEs περνούσαν μεγαλύτερο χρόνο εμμηνορρυσιακού κύκλου, είχαν λιγότερα ωοθήκες

σωμάτια και παρουσίαζαν σημαντικές μεταβολές σε γονίδια που εμπλέκονται στην στεροειδογένεση, ιδίως με την αύξηση των επιπέδων έκφρασης του mRNA *StAR*. Παρουσίασαν επίσης σημαντικές μεταβολές κατά την ωοθυλακιογένεση ιδίως των επιπέδων mRNA του υποδοχέα της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH-R). Αυτό έδειξε ότι η ωοθυλακιογένεση και η στεροειδογένεση θα μπορούσαν να διαταραχθούν από αυξημένα επίπεδα των AGEs, οδηγώντας σε υπογονιμότητα (Garg and Merhi, 2016).

Η γυναικεία γονιμότητα συνδέεται στενά με τη λειτουργία των ωοθηκών. Ο αριθμός των ωαρίων στην ωοθήκη μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας. Η γήρανση των ωοθηκών αναφέρεται στη μείωση της ποσότητας και ποιότητας ωοθυλακίων. Το οξειδωτικό στρες, το στρες του ΕΔ, η δυσλειτουργία της αυτοφαγίας των μιτοχονδρίων και οι μεταλλάξεις του DNA αναφέρεται ότι επιταχύνουν τη γήρανση των ωοθηκών (Liu et al., 2013). Πολλά νεοπλασματικά και μη νεοπλασματικά νοσήματα, καθώς και οι θεραπείες τους, προκαλούν πρόωρη γήρανση της λειτουργίας των ωοθηκών, Η οξειδωτική βλάβη παίζει καθοριστικό ρόλο στη μειωμένη λειτουργία των ωοθηκών και τα ROS επηρεάζουν την ωορρηξία μέσω εμπλοκής της απόπτωσης των ωοθυλακίων και της τοξικότητας των ωοθηκών (Luderer, 2014). Πολλά αντιοξειδωτικά έχουν χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της γήρανσης των ωοθηκών μέσω της άμυνας για το οξειδωτικό στρες (Liu et al., 2018). Το προωρρηκτικό κύμα της γοναδοτροπίνης (FSH και LH) προκαλεί ωορρηξία. Η παραγωγή ROS από τις ωοθήκες είναι απαραίτητη κατά τη διάρκεια της ωορρηξίας, η οποία προκαλείται από την LH. Ωστόσο, η υπερβολική παραγωγή των ROS διαδραματίζουν επιθετικό ρόλο στην αναπαραγωγική λειτουργία και στην ωορρηξία (Tamura et al., 2020).

Η εξάντληση των ωοθυλακίων με τη γήρανση των ωοθηκών είναι μία από τις πιο κοινές αιτίες αναπαραγωγικής δυσλειτουργίας. Η πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια

(POF) είναι σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από συνεχή αμηνόρροια και ατροφία των σεξουαλικών οργάνων σε γυναίκες πριν τα 40 έτη, με αυξημένη FSH και LH καθώς και μειωμένα οιστρογόνα. Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της POF είναι περίπλοκοι και η αιτιοπαθογένεια ασαφής επομένως επιφέρει μεγάλη κλινική στην αντιμετώπιση. Ο αυξημένος κίνδυνος POF σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες υποδηλώνοντας ότι η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών είναι μία πιθανή αιτία POF. Τα AGEs έχουν αποδειχθεί ότι προκαλούν φλεγμονή και οξειδωτικό στρες, προάγοντας την ανάπτυξη ασθενειών που σχετίζονται με τη γήρανση ωστόσο παραμένει άγνωστο αν τα AGEs επηρεάζουν τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς του POF προάγοντας το οξειδωτικό στρες (Hu et al., 2020). Έρευνα έδειξε ότι το MG(methylglyoxal) συσσωρεύεται με τη γήρανση και η βιοχημική δραστηριότητα του GLO-I μειώνεται σημαντικά στις ωοθήκες σε ποντίκια αναπαραγωγικής ηλικίας συγκριτικά με νεαρή ομάδα υποδηλώνοντας ότι η συσσώρευση των AGEs μπορεί να συμβάλει στην υπογονιμότητα (Tatone et al., 2010). Επιπλέον, το μονοπάτι ERK1/2 παρουσιάζει καθοριστικό ρόλο στη μιτογένεση των κοκκιωδών κυττάρων που προκαλείται από FSH. Ο καταρράκτης ERK1/2 είναι ένα μονοπάτι σηματοδότησης που ρυθμίζει μια μεγάλη ποικιλία διεγερμένων κυτταρικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένων κυρίως του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης αλλά και της απόπτωσης και της απόκρισης στο στρες. Τα AGEs συμβάλλουν στη δυσλειτουργία των ωοθηκών μέσω της μείωσης της FSH και LH στη σηματοδότηση ERK1/2 (Kandaraki et al., 2018). Δεδομένου ότι τα γηρασμένα ωοκύτταρα χάνουν την προστασία των σωρευτικών κυττάρων, το MG προκαλεί εκτροπές της ατράκτου και βλάβη στο DNA των ωαρίων σε ηλικιωμένους αρουραίους κατά την ωρίμανση των ωοθυλακίων (Tatone et al., 2011). Θετική συσχέτιση έχει παρατηρηθεί μεταξύ των sRAGE και της AMH στο ωοθηκικό υγρό



(Merhietal., 2014). Η AMH παράγεται από τα πρωτογενή ωοθυλάκια και μετά σταδιακά μειώνεται μέχρι την εξαφάνισή της στα μεγάλα ωοθυλάκια, που αποτελεί έναν σημαντικό δείκτη κλινικής αξιολόγησης του ωοθηκικού αποθέματος (Jeppesen et al., 2013). Επίσης, η συγκέντρωση του ωοθυλακικού υγρού έχει θετική συσχέτιση με τον αριθμό ωαρίων που παρατηρούνται, την ποιότητα των εμβρύων, τον ρυθμό γονιμότητας και τον αριθμό του άντρου, καθώς και αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα FSH στις γυναίκες που υπόκεινται IVF. Διαφορετική έκβαση IVF βρέθηκε ανάμεσα σε νεαρές ηλικίες (<37 χρονών) και σε μεγαλύτερες ηλικιακές ομάδες γυναικών (>37 χρονών) και το sRAGE στο ωοθυλακικό υγρό σχετίζεται θετικά με την ηλικία όπου πραγματοποιείται το IVF(Li et al., 2017). Επομένως, το sRAGE στο ωοθυλακικό υγρό προβλέπει την έκβαση της εγκυμοσύνης της εξωσωματικής γονιμοποίησης ως δείκτη αξιολόγησης της λειτουργίας των ωοθηκών. Τα AGEs διεγείρουν την έκκριση του αγγειακού ενδοωοθυλακικού αυξητικού παράγοντα (VEGF) όταν προσδεθεί στο RAGE, οδηγώντας σε αναπαραγωγική δυσλειτουργία κατά τη γήρανση. Η συγκέντρωση του VEGF στο ωοθυλακικό υγρό είναι αξιοσημείωτα αυξημένη σε γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας (>35 ετών) και τα αυξημένα επίπεδα πιστεύεται ότι εμπλέκονται στη δυσμενή έκβαση της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

## 2.6 AGES: μελλοντικός στόχος θεραπείας γυναικείας υπογονιμότητας

Τα προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης επιφέρουν σοβαρές επιπτώσεις στη γυναικεία γονιμότητα μέσω του οξειδωτικού στρες. Απαιτείται μελλοντική έρευνα που θα επικεντρωθεί στην κατανόηση της κλινικής επίδρασης των AGEs. Θα πρέπει

να κατανοηθεί ο ακριβής μηχανισμός επίδρασης στη γυναίκα ώστε να βρεθούν θεραπευτικές παρεμβάσεις που θα αποτρέπουν τη δημιουργία των ενδιάμεσων προϊόντων παραγωγής των AGEs. Ακόμα εστιάζοντας στο σύστημα AGE-RAGE ως δυνητικά θεραπευτικό στόχο ιδιαίτερα σε γυναίκες με μειωμένο απόθεμα ωοθηκών, οι οποίες αποτελούν μία δύσκολη αντιμετώπισιμη ομάδα, μπορούν να αναπτυχθούν μέθοδοι πρόληψης και θεραπείας για την υπογονιμότητα που σχετίζονται με την ηλικία.

### 3. Συμπεράσματα

Η υπογονιμότητα αποτελεί ένα κοινωνικό πρόβλημα που επηρεάζει 1 στα 5 ζευγάρια. Η βιβλιογραφική ανασκόπηση αυτή ασχολήθηκε με την επιρροή του οξειδωτικού στρες και συγκεκριμένα των προϊόντων προηγμένης γλυκοζυλίωσης στην γυναικεία αναπαραγωγή. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών στη βιβλιογραφία δείχνουν ότι το

οξειδωτικό στρες προκύπτει ως αποτέλεσμα της παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου καθώς και της διαταραχής του αντιοξειδωτικού μηχανισμού. Επίσης, οι ελεύθερες ρίζες όταν εμπλέκονται στα κυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια διαταράσσεται η οξειδοαναγωγική ισορροπία που οδηγεί σε παθολογικές καταστάσεις. Οι ROS επηρεάζουν τόσο τη γυναικεία και ανδρική αναπαραγωγή όσο και την εμβρυική ανάπτυξη. Στη γυναίκα επηρεάζεται το ενδομήτριο, οι ωοθήκες και ο πλακούντας. Έχει προταθεί ότι το οξειδωτικό στρες είναι παράγοντας που επηρεάζει την αιτιοπαθογένεια της ενδομητρίωσης. Στις ωοθήκες οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου έχουν τη δυνατότητα να επηρεάζουν τα ωοθυλάκια καθώς επάγουν την ενεργοποίηση ενζύμων (κυτοκίνες, προσταγλανδίνες, πρωτεολυτικά ένζυμα) ικανών να προκαλέσουν αλλοίωση ή και απόπτωση των ωαρίων. Πολλές έρευνες υποστηρίζουν τον ρόλο του οξειδωτικού στρες στις γυναίκες με PCOS εξετάζοντας βιοδείκτες του οξειδωτικού στρες όπως οι MDA και NO καθώς και τον αντιοξειδωτικό δείκτη TAC. Τέλος, φαίνεται ότι ενισχύοντας τον οργανισμό με συμπληρώματα βιταμινών καθώς και βελτίωση του τρόπου ζωής βοηθούν στην αντιμετώπιση των δυσμενών επιπτώσεων του οξειδωτικού στρες τόσο στο εμβρυικό περιβάλλον όσο και στην γυναικεία γονιμότητα.

Σημαντική είναι και η συμβολή των AGEs στη γυναικεία γονιμότητα. Μελέτες διαπίστωσαν ότι τα AGEs συνδέονται στενά με τη γυναικεία υπογονιμότητα και η συσσώρευση των AGEs επιταχύνει το οξειδωτικό στρες των ωοθηκών και μεταβάλλει τα επίπεδα των στεροειδών ορμονών των ωοθηκών, οδηγώντας σε δυσλειτουργία τους. Μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας ασχολείται με την επίδραση των AGEs στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών. Χωρίς να είναι γνωστός ο ακριβής μηχανισμός, τροφές που περιλάμβαναν AGEs εμφάνιζαν μειωμένα επίπεδα οιστρογόνων και προγεστερόνης καθώς υπήρχε και αναστολή του πολλαπλασιασμού

των κοκκιωδών κυττάρων των ωοθηκών in vitro. Επίσης, η αντίσταση στην ινσουλίνη που είναι η πιο κοινή μεταβολική διαταραχή του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών έχει αποδειχθεί ότι τα AGEs παρεμβαίνουν στο μονοπάτι σηματοδότησης του υποδοχέα της ινσουλίνης. Υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης του υποδοχέα των AGEs στο ωοθυλακικό υγρό δείχνουν χαμηλή ποιότητα εμβρύων σε γυναίκες που πραγματοποίησαν σπερματέγχυση. Συνοψίζοντας, η παρούσα ανασκόπηση υπογραμμίζει τη σημασία του ρόλου των AGEs στην αναπαραγωγική λειτουργία και τη σημαντικότητά τους ως μελλοντικού στόχου αξιολόγησης και θεραπείας της γυναικείας υπογονιμότητας.

#### 4. Reference list

1. ACOG Committee (2019). ACOG Practice Bulletin No. 204. *Obstetrics & Gynecology*, 133(2), pp.e97–e109. doi:10.1097/aog.0000000000003070.
2. ACOG Committee on Obstetric Practice (2002). ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of*

- the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, [online] 77(1), pp.67–75. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12094777/>.
3. Adeshara, K.A., Bangar, N.S., Doshi, P.R., Diwan, A. and Tupe, R.S. (2020). Action of metformin therapy against advanced glycation, oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes patients: 3 months follow-up study. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(5), pp.1449–1458. doi:10.1016/j.dsx.2020.07.036.
  4. Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B.J., Shaman, A. and Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(1), p.49. doi:10.1186/1477-7827-10-49.
  5. Agarwal, A., Saleh, R.A. and Bedaiwy, M.A. (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility*, 79(4), pp.829–843. doi:10.1016/s0015-0282(02)04948-8.
  6. Augoulea, A., Alexandrou, A., Creatsa, M., Vrachnis, N. and Lambrinouadaki, I. (2012). Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress. *Archives of gynecology and obstetrics*, [online] 286(1), pp.99–103. doi:10.1007/s00404-012-2357-8.
  7. BASKOL, G., AYGEN, E., ERDEM, F., CANIKLIOĞLU, A., NARIN, F., ŞAHİN, Y. and KAYA, T. (2012). Assessment of paraoxonase 1, xanthine oxidase and glutathione peroxidase activities, nitric oxide and thiol levels in women with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 91(3), pp.326–330. doi:10.1111/j.1600-0412.2011.01337.x.
  8. Bedaiwy, M.A., Falcone, T., Mohamed, M.S. and Aleem, A.A.N. (2010). *Differential growth of human embryos in vitro: role of reactive oxygen species*. [online] read.qxmd.com. Available at: <https://read.qxmd.com/read/15374701/differential-growth-of-human-embryos-in-vitro-role-of-reactive-oxygen-species> [Accessed 16 May 2010].

9. Behrman, H.R., Kodaman, P.H., Preston, S.L. and Gao, S. (2001). Oxidative Stress and the Ovary. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 8(1\_suppl), pp.S40–S42. doi:10.1177/1071557601008001s13.
10. Bevan, R.J., Durand, M.F., Hickenbotham, P.T., Kitas, G.D., Patel, P.R., Podmore, I.D., Griffiths, H.R., Waller, H.L. and Lunec, J. (2003). Validation of a novel ELISA for measurement of MDA-LDL in human plasma. *Free Radical Biology & Medicine*, [online] 35(5), pp.517–527. doi:10.1016/s0891-5849(03)00359-9.
11. Biri, A., Bozkurt, N., Turp, A., Kavutcu, M., Himmetoglu, O. and Durak, I. (2007). Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, [online] 64(4), pp.187–192. doi:10.1159/000106488.
12. Bonetti, T.C.S., Borges, E., Braga, D.P.A.F., Iaconelli, A., Kleine, J.P. and Silva, I.D.C.G. (2013). Intrafollicular soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and embryo quality in assisted reproduction. *Reproductive Biomedicine Online*, [online] 26(1), pp.62–67. doi:10.1016/j.rbmo.2012.10.001.
13. Burton, G.J., Hempstock, J. and Jauniaux, E. (2003). Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies. *Reproductive BioMedicine Online*, 6(1), pp.84–96. doi:10.1016/s1472-6483(10)62060-3.
14. Burton, G.J., Yung, H.-W. ., Cindrova-Davies, T. and Charnock-Jones, D.S. (2009). Placental Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress in the Pathophysiology of Unexplained Intrauterine Growth Restriction and Early Onset Preeclampsia. *Placenta*, 30, pp.43–48. doi:10.1016/j.placenta.2008.11.003.
15. Byun, K., Yoo, Y., Son, M., Lee, J., Jeong, G.-B., Park, Y.M., Salekdeh, G.H. and Lee, B. (2017). Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, [online] 177, pp.44–55. doi:10.1016/j.pharmthera.2017.02.030.

16. Cao, Y., Liu, X. and Guo, S.-W. (2019). Plasma High Mobility Group Box 1 (HMGB1), Osteopontin (OPN), and Hyaluronic Acid (HA) as Admissible Biomarkers for Endometriosis. *Scientific Reports*, 9(1). doi:10.1038/s41598-019-45785-w.
17. Chatzigeorgiou, A., Kandaraki, E., Piperi, C., Livadas, S., Papavassiliou, A.G., Koutsilieris, M., Papalois, A. and Diamanti-Kandarakis, E. (2013). Dietary glycotoxins affect scavenger receptor expression and the hormonal profile of female rats. *Journal of Endocrinology*, [online] 218(3), pp.331–337. doi:10.1530/JOE-13-0175.
18. Chiang, K., Parthasarathy, S. and Santanam, N. (2004). Estrogen, neutrophils and oxidation. *Life Sciences*, 75(20), pp.2425–2438. doi:10.1016/j.lfs.2004.04.035.
19. Chuah, Y.K., Basir, R., Talib, H., Tie, T.H. and Nordin, N. (2013). Receptor for Advanced Glycation End Products and Its Involvement in Inflammatory Diseases. *International Journal of Inflammation*, [online] 2013(2013:403460). doi:10.1155/2013/403460.
20. Cinkaya, A., Keskin, H.L., Buyukkagnici, U., Gungor, T., Keskin, E.A., Avsar, A.F. and Bilge, U. (2010). Maternal plasma total antioxidant status in preterm labor. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 36(6), pp.1185–1188. doi:10.1111/j.1447-0756.2010.01300.x.
21. Czeizel, A.E., Métneki, J. and Dudás, I. (1996). The Effect of Preconceptional Multivitamin Supplementation on Fertility. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research Internationale Zeitschrift Fur Vitamin- Und Ernährungsforschung. Journal International De Vitaminologie Et De Nutrition*, [online] 66(1), pp.55–58. Available at: <https://europepmc.org/article/MED/8698547> [Accessed 16 May 2022].
22. Das, S. (2006). Reactive oxygen species level in follicular fluid--embryo quality marker in IVF? *Human Reproduction*, 21(9), pp.2403–2407. doi:10.1093/humrep/del156.

23. Diamanti-Kandarakis, E., Chatzigeorgiou, A., Papageorgiou, E., Koundouras, D. and Koutsilieris, M. (2016). Advanced glycation end-products and insulin signaling in granulosa cells. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, [online] 241(13), pp.1438–1445. doi:10.1177/1535370215584937.
24. Diamanti-Kandarakis, E., Katsikis, I., Piperi, C., Kandarakis, E., Piouka, A., Papavassiliou, A.G. and Panidis, D. (2008). Increased serum advanced glycation end-products is a distinct finding in lean women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Clinical Endocrinology*, 69(4), pp.634–641. doi:10.1111/j.1365-2265.2008.03247.x.
25. Diamanti-Kandarakis, E., Piouka, A., Livadas, S., Piperi, C., Katsikis, I., Papavassiliou, A.G. and Panidis, D. (2009). Anti-mullerian hormone is associated with advanced glycosylated end products in lean women with polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology*, [online] 160(5), pp.847–853. doi:10.1530/EJE-08-0510.
26. Diamanti-Kandarakis, E., Piperi, C., Patsouris, E., Korkolopoulou, P., Panidis, D., Pawelczyk, L., Papavassiliou, A.G. and Duleba, A.J. (2007). Immunohistochemical localization of advanced glycation end-products (AGEs) and their receptor (RAGE) in polycystic and normal ovaries. *Histochemistry and Cell Biology*, [online] 127(6), pp.581–589. doi:10.1007/s00418-006-0265-3.
27. Dib, M., Garrel, C., Favier, A., Robin, V. and Desnuelle, C. (2002). Can malondialdehyde be used as a biological marker of progression in neurodegenerative disease? *Journal of Neurology*, [online] 249(4), pp.367–374. doi:10.1007/s004150200025.
28. Djuric Z., Depper, J.B., Uhley, V., Smith, D., Lababidi, S., Martino, S. and Heilbrun, L.K. (1998). Oxidative DNA Damage Levels in Blood from Women at High Risk for Breast Cancer are Associated with Dietary intakes of Meats, Vegetables, and Fruits. *Journal of the American Dietetic Association*, 98(5), pp.524–528. doi:10.1016/s0002-8223(98)00119-9.



29. Dumesic, D.A., Meldrum, D.R., Katz-Jaffe, M.G., Krisher, R.L. and Schoolcraft, W.B. (2015). Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. *Fertility and Sterility*, 103(2), pp.303–316. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.11.015.
30. El Mouatassim, S. (1999). Expression of genes encoding antioxidant enzymes in human and mouse oocytes during the final stages of maturation. *Molecular Human Reproduction*, 5(8), pp.720–725. doi:10.1093/molehr/5.8.720.
31. El-Far, M., El-Sayed, I.H., El-Motwally, A.E.-G., Hashem, I.A. and Bakry, N. (2007). Tumor necrosis factor-alpha and oxidant status are essential participating factors in unexplained recurrent spontaneous abortions. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, [online] 45(7), pp.879–883. doi:10.1515/CCLM.2007.138.
32. Fam, S. and Morrow, J. (2003). The Isoprostanes: Unique Products of Arachidonic Acid Oxidation-A Review. *Current Medicinal Chemistry*, 10(17), pp.1723–1740. doi:10.2174/0929867033457115.
33. Fenkci, V., Fenkci, S., Yilmazer, M. and Serteser, M. (2003). Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. *Fertility and Sterility*, [online] 80(1), pp.123–127. doi:10.1016/s0015-0282(03)00571-5.
34. Fiory, F., Lombardi, A., Miele, C., Giudicelli, J., Beguinot, F. and Van Obberghen, E. (2011). Methylglyoxal impairs insulin signalling and insulin action on glucose-induced insulin secretion in the pancreatic beta cell line INS-1E. *Diabetologia*, 54(11), pp.2941–2952. doi:10.1007/s00125-011-2280-8.
35. Fujii, E.Y., Nakayama, M. and Nakagawa, A. (2008). Concentrations of Receptor for Advanced Glycation End Products, VEGF and CML in Plasma, Follicular Fluid, and Peritoneal Fluid in Women With and Without Endometriosis. *Reproductive Sciences*, 15(10), pp.1066–1074. doi:10.1177/1933719108323445.

36. Garg, D. and Merhi, Z. (2015). Advanced Glycation End Products: Link between Diet and Ovulatory Dysfunction in PCOS? *Nutrients*, 7(12), pp.10129–10144. doi:10.3390/nu7125524.
37. Garg, D. and Merhi, Z. (2016). Relationship between Advanced Glycation End Products and Steroidogenesis in PCOS. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1). doi:10.1186/s12958-016-0205-6.
38. Garrido, N. (2002). The endometrium versus embryonic quality in endometriosis-related infertility. *Human Reproduction Update*, 8(1), pp.95–103. doi:10.1093/humupd/8.1.95.
39. Gibson, G.E. and Huang, H.-M. (2004). Mitochondrial Enzymes and Endoplasmic Reticulum Calcium Stores as Targets of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 36(4), pp.335–340. doi:10.1023/b:jobb.0000041764.45552.f3.
40. Gill, V., Kumar, V., Singh, K., Kumar, A. and Kim, J.-J. (2019). Advanced Glycation End Products (AGEs) May Be a Striking Link Between Modern Diet and Health. *Biomolecules*, 9(12), p.888. doi:10.3390/biom9120888.
41. Gkogkolou, P. and Böhm, M. (2012). Advanced glycation end products. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), pp.259–270. doi:10.4161/derm.22028.
42. Goldin and Beckman (2006). Goldin, A., Beckman, J.A., Schmidt, A.M. and Creager, M.A. (2006) *Advanced Glycation End Products Sparking the Development of Diabetic Vascular Injury*. *Circulation*, 114, 597-605. - References - Scientific Research Publishing. [online] Scirp.org. Available at: [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=3125749](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=3125749) [Accessed 2006].
43. González, F., Rote, N.S., Minium, J. and Kirwan, J.P. (2006). Reactive Oxygen Species-Induced Oxidative Stress in the Development of Insulin Resistance and Hyperandrogenism in Polycystic Ovary Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(1), pp.336–340. doi:10.1210/jc.2005-1696.

44. Guerin, P. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update*, 7(2), pp.175–189. doi:10.1093/humupd/7.2.175.
45. Guimarães, E., Empsen, C., Geerts, A. and Grunsvan, L.V. van (2010). Advanced glycation end products induce production of reactive oxygen species via the activation of NADPH oxidase in murine hepatic stellate cells. *Journal of hepatology*, [online] (Mar;52(3):389-97). doi:10.1016/j.jhep.2009.12.007.
46. Gupta, S., Aziz, N., Sekhon, L., Agarwal, R., Mansour, G., Li, J. and Agarwal, A. (2009a). Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Preeclampsia. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 64(11), pp.750–759. doi:10.1097/ogx.0b013e3181bea0ac.
47. Gupta, S., Surti, N., Metterle, L., Chandra, A. and Agarwal, A. (2009b). Antioxidants and female reproductive pathologies. *undefined*, [online] S151–S173(Arch Med Sci). Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/Antioxidants-and-femalereproductive-pathologies-Gupta-Surti/e30ee0e307318bc15405cd69f5be17c203855c10> [Accessed 16 May 2009].
48. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1990). [1] *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview*. [online] ScienceDirect. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/007668799086093B> [Accessed 16 May 2022].
49. Hassani, L. and Karami, M. (2012). *Nitric Oxide-Induced Polycystic Ovaries in the Wistar Rat*. [online] International Journal of Fertility & Sterility. Available at: <https://europepmc.org/article/PMC/4258239>.
50. Henmi, H., Endo, T., Kitajima, Y., Manase, K., Hata, H. and Kudo, R. (2003). Effects of ascorbic acid supplementation on serum progesterone levels in patients with a luteal phase defect. *Fertility and Sterility*, 80(2), pp.459–461. doi:10.1016/s0015-0282(03)00657-5.

51. Holstein, B., Schmidt, L. and Boivin, J. (2019). *Burton, G.J. and Jauniaux, E. (2011) Oxidative Stress. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 25, 287-299. - References - Scientific Research Publishing.* [online] Scirp.org. Available at: [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkozje\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2607691](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkozje))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2607691) [Accessed 16 May 2022].
52. Hu, R., Wang, M.-Q., Ni, S.-H., Wang, M., Liu, L.-Y., You, H.-Y., Wu, X.-H., Wang, Y.-J., Lu, L. and Wei, L.-B. (2020). Salidroside ameliorates endothelial inflammation and oxidative stress by regulating the AMPK/NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway in AGEs-induced HUVECs. *European Journal of Pharmacology*, [online] 867(172797), p.172797. doi:10.1016/j.ejphar.2019.172797.
53. Ishii, T., Miyazawa, M., Takanashi, Y., Tanigawa, M., Yasuda, K., Onouchi, H., Kawabe, N., Mitsushita, J., Hartman, P.S. and Ishii, N. (2014). Genetically induced oxidative stress in mice causes thrombocytosis, splenomegaly and placental angiodysplasia that leads to recurrent abortion. *Redox Biology*, 2, pp.679–685. doi:10.1016/j.redox.2014.05.001.
54. Isik, H., Aynioglu, O., Timur, H., Sahbaz, A., Harma, M., Can, M., Guven, B., Alptekin, H. and Kocuturk, F. (2016). Is Xanthine oxidase activity in polycystic ovary syndrome associated with inflammatory and cardiovascular risk factors? *Journal of Reproductive Immunology*, [online] (116:98-103), pp.98–103. doi:10.1016/j.jri.2016.06.002.
55. Jauniaux, E., Watson, A. and Burton, G. (2001). Evaluation of respiratory gases and acid-base gradients in human fetal fluids and uteroplacental tissue between 7 and 16 weeks' gestation. *American journal of obstetrics and gynecology*, [online] 184(5), pp.998–1003. doi:10.1067/mob.2001.111935.
56. Jauniaux, E., Watson, A.L., Hempstock, J., Bao, Y.P., Skepper, J.N. and Burton, G.J. (2000). Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *The American journal of pathology*, [online] 157(6), pp.2111–2122. doi:10.1016/s0002-9440(10)64849-3.

57. Jeppesen, J.V., Anderson, R.A., Kelsey, T.W., Christiansen, S.L., Kristensen, S.G., Jayaprakasan, K., Raine-Fenning, N., Campbell, B.K. and Yding Andersen, C. (2013). Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Molecular Human Reproduction*, 19(8), pp.519–527. doi:10.1093/molehr/gat024.
58. Kandaraki, E.A., Chatzigeorgiou, A., Papageorgiou, E., Piperi, C., Adamopoulos, C., Papavassiliou, A.G., Koutsilieris, M. and Diamanti-Kandarakis, E. (2018). Advanced glycation end products interfere in luteinizing hormone and follicle stimulating hormone signaling in human granulosa KGN cells. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, [online] 243(1), pp.29–33. doi:10.1177/1535370217731288.
59. Karabulut, A., Cakmak, M., Rt, K. and Sahin, I. (2012). Oxidative Stress Status, Metabolic Profile and Cardiovascular Risk Factors in Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *undefined*, [online] (1(1):27-34). Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/Oxidative-StressStatus%2CMetabolic-Profile-and-Risk-Karabulut-Cakmak/747e94090e8eab197e8a70412e8aa6d42e8ca2a5>.
60. Kehrer, J.P. (2000). The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, [online] 149(1), pp.43–50. doi:10.1016/s0300-483x(00)00231-6.
61. Kim, C.J., Romero, R., Chaemsaitong, P., Chaiyasit, N., Yoon, B.H. and Kim, Y.M. (2015). Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, [online] 213(4), pp.S29–S52. doi:10.1016/j.ajog.2015.08.040.
62. Kurzawa, R., Glabowski, W., Baczkowski, T., Wiszniewska, B. and Marchlewicz, M. (2004). Growth factors protect in vitro cultured embryos from the consequences of oxidative stress. *Zygote*, 12(3), pp.231–240. doi:10.1017/s0967199404002783.
63. Kuşçu, N.K. and Var, A. (2009). Oxidative stress but not endothelial dysfunction exists in non-obese, young group of patients with polycystic ovary

- syndrome. *Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica*, [online] 88(5), pp.612–617. doi:10.1080/00016340902859315.
64. Li, Y.-J., Chen, J.-H., Sun, P., Li, J.-J. and Liang, X.-Y. (2017). Intrafollicular soluble RAGE benefits embryo development and predicts clinical pregnancy in infertile patients of advanced maternal age undergoing in vitro fertilization. *Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical Sciences = Hua Zhong Ke Ji Da XueXue Bao. YiXueYing De Wen Ban = HuazhongKejiDaxueXuebao. YixueYingdewen Ban*, [online] 37(2), pp.243–247. doi:10.1007/s11596-017-1722-z.
65. Lin, P.-H., Chang, C.-C., Wu, K.-H., Shih, C.-K., Chiang, W., Chen, H.-Y., Shih, Y.-H., Wang, K.-L., Hong, Y.-H., Shieh, T.-M. and Hsia, S.-M. (2019). Dietary Glycotoxins, Advanced Glycation End Products, Inhibit Cell Proliferation and Progesterone Secretion in Ovarian Granulosa Cells and Mimic PCOS-like Symptoms. *Biomolecules*, [online] 9(8), p.E327. doi:10.3390/biom9080327.
66. Liu, M., Yin, Y., Ye, X., Zeng, M., Zhao, Q., Keefe, D.L. and Liu, L. (2013). Resveratrol protects against age-associated infertility in mice. *Human Reproduction*, 28(3), pp.707–717. doi:10.1093/humrep/des437.
67. Liu, X., Lin, X., Zhang, S., Guo, C., Li, J., Mi, Y. and Zhang, C. (2018). Lycopene ameliorates oxidative stress in the aging chicken ovary via activation of Nrf2/HO-1 pathway. *Aging*, 10(8), pp.2016–2036. doi:10.18632/aging.101526.
68. Lu, J., Wang, Z., Cao, J., Chen, Y. and Dong, Y. (2018). A novel and compact review on the role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1). doi:10.1186/s12958-018-0391-5.
69. Luddi, A., Capaldo, A., Focarelli, R., Gori, M., Morgante, G., Piomboni, P. and De Leo, V. (2016). Antioxidants reduce oxidative stress in follicular fluid of aged women undergoing IVF. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1). doi:10.1186/s12958-016-0184-7.

70. Luderer, U. (2014). Ovarian toxicity from reactive oxygen species. *Vitamins and Hormones*, [online] 94(99-127), pp.99–127. doi:10.1016/B978-0-12-800095-3.00004-3.
71. Meagher, E.A. and FitzGerald, G.A. (2000). Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(12), pp.1745–1750. doi:10.1016/s0891-5849(00)00232-x.
72. Merhi, Z. (2014). *Advanced Glycation End Products and Their Relevance in Female Reproduction*. [online] academic.oup.com. Available at: <https://academic.oup.com/humrep/article/29/1/135/628897>.
73. Merhi, Z., Irani, M., Doswell, A.D. and Ambroggio, J. (2014). Follicular Fluid Soluble Receptor for Advanced Glycation End-Products (sRAGE): A Potential Indicator of Ovarian Reserve. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(2), pp.E226–E233. doi:10.1210/jc.2013-3839.
74. Miller, H., Wilson, R., Jenkins, C., MacLean, M.A., Roberts, J. and Walker, J.J. (2000). Glutathione levels and miscarriage. *Fertility and Sterility*, 74(6), pp.1257–1258. doi:10.1016/s0015-0282(00)01585-5.
75. Mohammadi, M. (2019). Oxidative stress and polycystic ovary syndrome: A brief review. *International Journal of Preventive Medicine*, 10(1), p.86. doi:10.4103/ijpvm.ijpvm\_576\_17.
76. Morrow, J.D. (2005). Quantification of Isoprostanes as Indices of Oxidant Stress and the Risk of Atherosclerosis in Humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25(2), pp.279–286. doi:10.1161/01.atv.0000152605.64964.c0.
77. Murri, M., Luque-Ramírez, M., Insenser, M., Ojeda-Ojeda, M. and Escobar-Morreale, H.F. (2013). Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 19(3), pp.268–288. doi:10.1093/humupd/dms059.

78. Musiek, E.S., Yin, H., Milne, G.L. and Morrow, J.D. (2005). Recent Advances in the Biochemistry and Clinical Relevance of the Isoprostane Pathway. *Lipids*, [online] 40(10), pp.987–994. doi:10.1007/s11745-005-1460-7.
79. Mustafa, M.D., Pathak, R., Ahmed, T., Ahmed, R.S., Tripathi, A.K., Guleria, K. and Banerjee, B.D. (2010). Association of glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms and oxidative stress markers in preterm labor. *Clinical Biochemistry*, 43(13-14), pp.1124–1128. doi:10.1016/j.clinbiochem.2010.06.018.
80. Myatt, L. and Cui, X. (2004). Oxidative stress in the placenta. *Histochemistry and Cell Biology*, 122(4), pp.369–382. doi:10.1007/s00418-004-0677-x.
81. Nakamura, M., Sekizawa, A., Purwosunu, Y., Okazaki, S., Farina, A., Wibowo, N., Shimizu, H. and Okai, T. (2009). Cellular mRNA expressions of anti-oxidant factors in the blood of preeclamptic women. *Prenatal Diagnosis*, [online] 29(7), pp.691–696. doi:10.1002/pd.2278.
82. Natarajan, R., Shankar, M.B. and Munuswamy, D. (2010). Effect of  $\alpha$ -tocopherol supplementation on in vitro maturation of sheep oocytes and in vitro development of preimplantation sheep embryos to the blastocyst stage. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 27(8), pp.483–490. doi:10.1007/s10815-010-9430-7.
83. Neal, M.S., Hughes, E.G., Holloway, A.C. and Foster, W.G. (2005). Sidestream smoking is equally as damaging as mainstream smoking on IVF outcomes. *Human Reproduction*, [online] 20(9), pp.2531–2535. doi:10.1093/humrep/dei080.
84. Ngô, C., Chéreau, C., Nicco, C., Weill, B., Chapron, C. and Batteux, F. (2009). Reactive Oxygen Species Controls Endometriosis Progression. *The American Journal of Pathology*, 175(1), pp.225–234. doi:10.2353/ajpath.2009.080804.



85. Nimse, S.B. and Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), pp.27986–28006. doi:10.1039/c4ra13315c.
86. Norman, J.E., Bollapragada, S., Yuan, M. and Nelson, S.M. (2007). Inflammatory pathways in the mechanism of parturition. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 7(S1). doi:10.1186/1471-2393-7-s1-s7.
87. Ohl, J. (2002). Nitric oxide donors for patients undergoing IVF. A prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Human Reproduction*, 17(10), pp.2615–2620. doi:10.1093/humrep/17.10.2615.
88. Oyawoye, O. “Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Follicular Fluid of Women Undergoing IVF: Relationship to Outcome.” *Human Reproduction*, vol. 18, no. 11, 1 Nov. 2003, pp. 2270–2274, 10.1093/humrep/deg450. Accessed 4 Nov. 2019.
89. Palacio, J.R., Iborra, A., Ulcova-Gallova, Z., Badia, R. and Martinez, P. (2006). The presence of antibodies to oxidative modified proteins in serum from polycystic ovary syndrome patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 144(2), pp.217–222. doi:10.1111/j.1365-2249.2006.03061.x.
90. Pierce, J.D., Cackler, A.B. and Arnett, M.G. (2004). Why should you care about free radicals. *RN*, [online] 67(1), pp.38–42; quiz 43. Available at: <https://europepmc.org/article/MED/14979192> [Accessed 16 May 2022].
91. Pinkas, A. and Aschner, M. (2016). Advanced Glycation End-Products and Their Receptors: Related Pathologies, Recent Therapeutic Strategies, and a Potential Model for Future Neurodegeneration Studies. *Chemical Research in Toxicology*, [online] 29(5), pp.707–714. doi:10.1021/acs.chemrestox.6b00034.
92. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. and Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(8416763), pp.1–13. doi:10.1155/2017/8416763.

93. Polak, G., Koziół-Montewka, M., Gogacz, M., Błaszowska, I. and Kotarski, J. (2001). Total antioxidant status of peritoneal fluid in infertile women. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, [online] 94(2):261-3. doi:10.1016/S0301-2115(00)00352-3.
94. Porter, N.A. and Caldwell, S.E. (2018). *Mechanisms of Free Radical Oxidation of Unsaturated Lipids. Lipids*, 30, 277-290. - References - Scientific Research Publishing. [online] Scirp.org. Available at: <https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2230731> [Accessed 16 May 2022].
95. Puddu, P., Puddu, G.M., Cravero, E., Vizioli, L. and Muscari, A. (2012). The relationships among hyperuricemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular diseases: Molecular mechanisms and clinical implications. *Journal of Cardiology*, 59(3), pp.235–242. doi:10.1016/j.jjcc.2012.01.013.
96. Qin, J., Goswami, R., Dawson, S. and Dawson, G. (2008). Expression of the receptor for advanced glycation end products in oligodendrocytes in response to oxidative stress. *Journal of Neuroscience Research*, 86(11), pp.2414–2422. doi:10.1002/jnr.21692.
97. Rai, R. and Regan, L. (2006). Recurrent miscarriage. *The Lancet*, 368(9535), pp.601–611. doi:10.1016/s0140-6736(06)69204-0.
98. Reynaert, N.L., Ckless, K., Wouters, E.F.M., Van Der Vliet, A. and Janssen-Heininger, Y.M.W. (2005). Nitric Oxide and Redox Signaling in Allergic Airway Inflammation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 7(1-2), pp.129–143. doi:10.1089/ars.2005.7.129.
99. Romero, R., Espinoza, J., Kusanovic, J., Gotsch, F., Hassan, S., Erez, O., Chaiworapongsa, T. and Mazar, M. (2006). The preterm parturition syndrome. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 113, pp.17–42. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.01120.x.
100. Ruder, E.H., Hartman, T.J. and Goldman, M.B. (2009). Impact of oxidative stress on female fertility. *Current opinion in obstetrics &*

*gynecology*, [online] 21(3), pp.219–222. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2749720/>.

101. Sabuncu, T., Vural, H., Harma, M. and Harma, M. (2001). Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease☆. *Clinical Biochemistry*, 34(5), pp.407–413. doi:10.1016/s0009-9120(01)00245-4.
102. Santanam, N., Shern-Brewer, R., McClatchey, R., Castellano, P.Z., Murphy, A.A., Voelkel, S. and Parthasarathy, S. (1998). Estradiol as an antioxidant: incompatible with its physiological concentrations and function. *Journal of Lipid Research*, [online] 39(11), pp.2111–2118. doi:10.1016/S0022-2275(20)32465-2.
103. Santanam, N., Zoneraich, N. and Parthasarathy, S. (2016). Myeloperoxidase as a Potential Target in Women With Endometriosis Undergoing IVF. *Reproductive Sciences*, [online] 24(4), pp.619–626. doi:10.1177/1933719116667225.
104. Schmidt, L. (2003). Patients' attitudes to medical and psychosocial aspects of care in fertility clinics: findings from the Copenhagen Multi-centre Psychosocial Infertility (COMPI) Research Programme. *Human Reproduction*, 18(3), pp.628–637. doi:10.1093/humrep/deg149.
105. Scifres, C.M. and Nelson, D.M. (2009). Intrauterine growth restriction, human placental development and trophoblast cell death. *The Journal of Physiology*, 587(14), pp.3453–3458. doi:10.1113/jphysiol.2009.173252.
106. Scutiero, G., Iannone, P., Bernardi, G., Bonaccorsi, G., Spadaro, S., Volta, C.A., Greco, P. and Nappi, L. (2017). Oxidative Stress and Endometriosis: A Systematic Review of the Literature. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(2017), pp.1–7. doi:10.1155/2017/7265238.
107. Silber, M., Miller, I., Bar-Joseph, H., Ben-Ami, I. and Shalgi, R. (2020). Elucidating the role of pigment epithelium-derived factor (PEDF) in

- metabolic PCOS models. *Journal of Endocrinology*, 244(2), pp.297–308. doi:10.1530/joe-19-0297.
108. Song, M. and Santanam, N. (2001). Increased myeloperoxidase and lipid peroxide-modified protein in gynecological malignancies. *Antioxidants & Redox Signaling*, [online] 3(6), pp.1139–1146. doi:10.1089/152308601317203648.
109. Stafforini, D.M., Sheller, J.R., Blackwell, T.S., Sapirstein, A., Yull, F.E., McIntyre, T.M., Bonventre, J.V., Prescott, S.M. and Roberts, L.J. (2006). Release of free F2-isoprostanes from esterified phospholipids is catalyzed by intracellular and plasma platelet-activating factor acetylhydrolases. *The Journal of Biological Chemistry*, [online] 281(8), pp.4616–4623. doi:10.1074/jbc.M507340200.
110. Sugino, N. (2000). Induction of superoxide dismutase by decidualization in human endometrial stromal cells. *Molecular Human Reproduction*, 6(2), pp.178–184. doi:10.1093/molehr/6.2.178.
111. Sugino, N., Karube-Harada, A., Taketani, T., Sakata, A. and Nakamura, Y. (2004). Withdrawal of ovarian steroids stimulates prostaglandin F2 $\alpha$  production through nuclear factor-kappaB activation via oxygen radicals in human endometrial stromal cells: potential relevance to menstruation. *The Journal of Reproduction and Development*, [online] 50(2), pp.215–225. doi:10.1262/jrd.50.215.
112. Sugino, N., Shimamura, K., Takiguchi, S., Tamura, H., Ono, M., Nakata, M., Nakamura, Y., Ogino, K., Uda, T. and Kato, H. (1996). Changes in activity of superoxide dismutase in the human endometrium throughout the menstrual cycle and in early pregnancy. *Human Reproduction (Oxford, England)*, [online] 11(5), pp.1073–1078. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a019299.
113. Szczepanska, M. (2003). Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertility and Sterility*, 79(6), pp.1288–1293. doi:10.1016/s0015-0282(03)00266-8.

114. Takahashi, N., Harada, M., Hirota, Y., Nose, E., Azhary, J.M., Koike, H., Kunitomi, C., Yoshino, O., Izumi, G., Hirata, T., Koga, K., Wada-Hiraike, O., Chang, R.J., Shimasaki, S., Fujii, T. and Osuga, Y. (2017). Activation of Endoplasmic Reticulum Stress in Granulosa Cells from Patients with Polycystic Ovary Syndrome Contributes to Ovarian Fibrosis. *Scientific Reports*, [online] 7(1), p.10824. doi:10.1038/s41598-017-11252-7.
115. Tamura, H., Jozaki, M., Tanabe, M., Shirafuta, Y., Mihara, Y., Shinagawa, M., Tamura, I., Maekawa, R., Sato, S., Taketani, T., Takasaki, A., Reiter, R.J. and Sugino, N. (2020). Importance of Melatonin in Assisted Reproductive Technology and Ovarian Aging. *International Journal of Molecular Sciences*, [online] 21(3), p.1135. doi:10.3390/ijms21031135.
116. Tantalaki, E., Piperi, C., Livadas, S., Kollias, A., Adamopoulos, C., Koulouri, A., Christakou, C. and Diamanti-Kandarakis, E. (2014). Impact of dietary modification of advanced glycation end products (AGEs) on the hormonal and metabolic profile of women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hormones*, 13(1), pp.65–73. doi:10.1007/bf03401321.
117. Tatone, C., Carbone, M.C., Campanella, G., Festuccia, C., Artini, P.G., Talesa, V., Focarelli, R. and Amicarelli, F. (2010). Female reproductive dysfunction during ageing: role of methylglyoxal in the formation of advanced glycation endproducts in ovaries of reproductively-aged mice. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, [online] 24(1), pp.63–72. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20385072/> [Accessed 18 May 2022].
118. Tatone, C., Heizenrieder, T., Di Emidio, G., Treffon, P., Amicarelli, F., Seidel, T. and Eichenlaub-Ritter, U. (2011). Evidence that carbonyl stress by methylglyoxal exposure induces DNA damage and spindle aberrations, affects mitochondrial integrity in mammalian oocytes and contributes to oocyte ageing. *Human Reproduction*, 26(7), pp.1843–1859. doi:10.1093/humrep/der140.
119. Tobon-Velasco, J., Cuevas, E. and Torres-Ramos, M. (2014). Receptor for AGEs (RAGE) as Mediator of NF-κB Pathway Activation in

- Neuroinflammation and Oxidative Stress. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 13(9), pp.1615–1626. doi:10.2174/1871527313666140806144831.
120. Tomás-Zapico, C. and Coto-Montes, A. (2005). A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes. *Journal of Pineal Research*, 39(2), pp.99–104. doi:10.1111/j.1600-079x.2005.00248.x.
121. Torun, E., Gedik, A.H., Cakir, E., Umutoglu, T., Gok, O. and Kilic, U. (2014). Serum Paraoxonase 1 Activity and Oxidative Stress in Pediatric Patients with Pulmonary Tuberculosis. *Medical Principles and Practice*, [online] 23(5), pp.426–431. doi:10.1159/000363700.
122. Toy, H., Camuzcuoglu, H., Camuzcuoglu, A., Celik, H. and Aksoy, N. (2010). Decreased Serum Prolidase Activity and Increased Oxidative Stress in Early Pregnancy Loss. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 69(2), pp.122–127. doi:10.1159/000262608.
123. Usui, T., Shimohira, K., Watanabe, H. and Hayase, F. (2004). Detection and determination of glyceraldehyde-derived advanced glycation end product. *BioFactors (Oxford, England)*, [online] 21(1-4), pp.391–394. doi:10.1002/biof.552210176.
124. Van Blerkom, J., Antczak, M. and Schrader, R. (1997). The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Human Reproduction*, 12(5), pp.1047–1055. doi:10.1093/humrep/12.5.1047.
125. Venegas, S., Parada, E. and Sovino, H. (2015). *Giudice, L.C. and Kao, L.C. (2004) Endometriosis. Lancet, 364, 1789-1799. - References - Scientific Research Publishing.* [online] Available at: [https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1532308](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1532308).

126. Verit, F.F., Erel, O. and Çelik, N. (2008). Serum paraoxonase-1 activity in women with endometriosis and its relationship with the stage of the disease. *Human reproduction*. [online] doi:10.1093/HUMREP/DEM340.
127. Vural, P., Akgül, C., Yildirim, A. and Canbaz, M. (2000). Antioxidant defence in recurrent abortion. *ClinicaChimica Acta*, 295(1-2), pp.169–177. doi:10.1016/s0009-8981(99)00255-7.
128. Wang, Y. (2012). Polymorphic CAG repeat in the androgen receptor gene in polycystic ovary syndrome patients. *Molecular Medicine Reports*, 5(5):1330-1334. doi:10.3892/mmr.2012.789.
129. Webster, R.P., Roberts, V.H.J. and Myatt, L. (2008). Protein Nitration in Placenta – Functional Significance. *Placenta*, 29(12), pp.985–994. doi:10.1016/j.placenta.2008.09.003.
130. Wu, M. and Chao, K. (2003). *Nitric Oxide Synthesis Is Increased in the Endometrial Tissue of Women with Endometriosis*. [online] www.bing.com. Available at: <https://www.bing.com/search?q=Dong+M%2C+Shi+Y%2C+Cheng+Q%2C+Hao+M.+Increased+nitric+oxide+in+peritoneal+fluid+from+women+with+idiopathic+infertility+and+endometriosis.+J+Reprod+Med.+2001%3B46%3A887%E2%80%9393891&cvid=4d6cfe1d08de4d5a8f33a41bb6c2cf70&aqs=edge..69i57.2627j0j4&FORM=ANAB01&PC=U531>.
131. Xiao, C.W., Ash, K. and Tsang, B.K. (2001). Nuclear Factor- $\kappa$ B-Mediated X-Linked Inhibitor of Apoptosis Protein Expression Prevents Rat Granulosa Cells from Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ -Induced Apoptosis. *Endocrinology*, 142(2), pp.557–563. doi:10.1210/endo.142.2.7957.
132. Zani, I., Stephen, S., Mughal, N., Russell, D., Homer-Vanniasinkam, S., Wheatcroft, S. and Ponnambalam, S. (2015). Scavenger Receptor Structure and Function in Health and Disease. *Cells*, 4(2), pp.178–201. doi:10.3390/cells4020178.

133. Zhang, D., Luo, W., Liao, H., Wang, C. and Sun, Y. (2008). [The effects of oxidative stress to PCOS]. *Sichuan da xuexue bao. Yi xue ban = Journal of Sichuan University. Medical science edition*, [online] 39(3):421-3. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/%5BThe-effects-of-oxidative-stress-to-PCOS%5D.-Zhang-Luo/41152c082102af72b60cf82f748f30e80d12afdb> [Accessed 16 May 2022].
134. Zhang, J., Wang, X., Vikash, V., Ye, Q., Wu, D., Liu, Y. and Dong, W. (2016). ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, pp.1–18. doi:10.1155/2016/4350965.
135. Zhang, L., Han, L., Ma, R., Hou, X., Yu, Y., Sun, S., Xu, Y., Schedl, T., Moley, K.H. and Wang, Q. (2015). Sirt3 prevents maternal obesity-associated oxidative stress and meiotic defects in mouse oocytes. *Cell Cycle*, 14(18), pp.2959–2968. doi:10.1080/15384101.2015.1026517.
136. Zhu, J., Cai, Y., Long, S., Chen, Z. and Mo, Z. (2020). The role of advanced glycation end products in human infertility. *Life Sciences*, [online] 255(117830), p.117830. doi:10.1016/j.lfs.2020.117830.

Oxidative stress is the consequence of oxygen in aerobic respiration in living organisms and is a state of imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the ability of endogenous antioxidant mechanisms to neutralize them. The concentration of ROS under conditions of oxidative stress induces the generation of advanced glycation end products (AGES) which, together with exogenously ingested AGES (mainly through processed food and tobacco), can be used to reduce the oxidative stress of the body, exert regulatory effects on cell signalling pathways associated with the pathophysiology of chronic diseases (e.g. diabetes, atherosclerosis, nephro-degenerative diseases) and physiological functions such as reproduction.

In the present literature review is discussed the role of AGES and their receptor (receptor of advanced glycation end products - RAGE) in conditions related to female fertility (ovarian function, endometriosis, polycystic ovary syndrome, abnormal placentation, intrauterine growth retardation, pre-eclampsia, late miscarriages). It is



also examined the importance of AGES as a future therapeutic target in the treatment of female infertility.