

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie se zaměřením na vzdělávání – Geografie se zaměřením na
vzdělávání



Simona Pikulová

Poruchy plodnosti mužů a poškození spermií související s onemocněním COVID-19
Male fertility disorders and sperm damage related to COVID-19 disease

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Kateřina Komrsková, Ph.D.

Praha 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 3.5.2022

Podpis

Poděkování

Mé poděkování patří doc. RNDr. Kateřině Komrskové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za velkou podporu při psaní práce a studiu.

Abstrakt:

Těžký akutní respirační syndrom koronavirus 2 (SARS-CoV-2) je příčinou koronavirového onemocnění 2019 (COVID-19), který se od konce roku 2019 rychle rozšířil po celém světě. Virus způsobuje vážné zdravotní problémy a poškození lidských orgánů, především plic, ledvin, mozku, srdce a varlat, které mohou končit i úmrtím. Tato práce se zabývá vstupem viru SARS-CoV-2 do varlat a poškozením spermií v důsledku infekce. Blíže jsou popsány receptory, specificky membránový receptor ACE2, zprostředkávající vstup viru do zárodečných buněk (spermatogonií) a somatických buněk varlat (Sertoliho a Leydigových), které tento receptor exprimují. V této práci jsou popsány mechanismy působící infekce a pozornost je věnována změnám signálních drah v důsledku vazby SARS-CoV-2 a ACE2. V důsledku, přítomnost viru vede k hormonální dysbalanci, lokálnímu oxidativnímu stresu a zánětu, které ovlivňují průběh spermatogeneze a mohou zapříčinit patologické stavy spermií jako je porucha pohyblivosti nebo fragmentace DNA a tím negativně ovlivnit mužskou plodnost.

Klíčová slova: COVID-19, SARS-CoV-2, mužská neplodnost, spermie, ACE2

Abstract:

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is the cause of the coronavirus disease 2019 (COVID-19), which has spread rapidly worldwide since the end of 2019. The virus causes serious health problems and damage to human organs, especially the lungs, kidneys, brain, heart and testicles, which can be fatal. This work deals with the entry of SARS-CoV-2 virus into the testicles and sperm damage due to infection. Receptors are described in more detail, specifically the membrane receptor ACE2, which mediates the entry of the virus into germ cells (spermatogonia) and somatic testicular cells (Sertoli and Leydig), which express this receptor. In this work, the mechanisms causing infection are described and attention is focused to changes in the signaling pathways due to SARS-CoV-2 and ACE2 binding. Consequently, the presence of the virus leads to hormonal imbalances, local oxidative stress and inflammation, which affect the course of spermatogenesis and can cause pathological conditions of spermatozoa such as motility disorders or DNA fragmentation and thus adversely affect male fertility.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, male infertility, sperm, ACE2

Seznam zkratek

ACE1	angiotenzin konvertující enzym 1
ACE2	angiotenzin konvertující enzym 2
ADAM3	<i>a disintegrin and metalloproteinase 3</i>
AKT	proteinkináza B
COVID-19	koronavirové onemocnění 2019
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DPP4/CD26	dipeptidylpeptidáza 4
FSH	folikulostimulační hormon
IL	interleukin
LH	luteinizační hormon
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus
OS	oxidativní stres
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	reaktivní formy kyslíku
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
S	spike protein
SARS-CoV	těžký akutní respirační syndrom koronavirus
SARS-CoV-2	těžký akutní respirační syndrom koronavirus 2
T	testosteron
TEX101	<i>testis Expressed 101</i>
TMPRSS11B	transmembrane serine protease 11B
TMPRSS12	transmembrane serine protease 12
TMPRSS2	transmembránová serinová proteáza 2

Seznam obrázků

Obrázek 1: Mikroskopický snímek znázorňující přítomnost viru SARS-CoV-2 v tkáni varlete	3
Obrázek 2: Patologické abnormality ve spermatogenezi varlat od posmrtných pacientů s COVID-19 (A,C) a přidružená imunofluorescence ACE-2 (B,D)	4
Obrázek 3: vir SARS-CoV-2, světlemodře S	6
Obrázek 4: Receptor ACE2 zprostředkovávající fúzi viru do buňky	9
Obrázek 5: Možné mechanismy infekce virem SARS-CoV-2	11
Obrázek 6: Mechanismus vstupu viru SARS-CoV-2 do buňky	12
Obrázek 7: Vliv SARS-COV-2 na přímé a nepřímé mechanismy	16
Obrázek 8: Působení vitamínu C (a potravinových doplňků) na SARS-CoV-2	21

Seznam tabulek

Tabulka 1: Výsledky analýzy spermatu pacientů před a po diagnóze COVID-19.....	17
Tabulka 2: Parametry spermatu před COVID-19 a po COVID-19 pacientů s horečkou a bez horečky během infekce	18
Tabulka 3: Výsledky analýzy spermatu pacientů s COVID-19 při příjmu do nemocnice a 3 měsíce po propuštění ve srovnání s kontrolami.....	19
Tabulka 4: Parametry spermatu pacientů ve dnech 14 a 120 po diagnóze COVID-19.....	20
Tabulka 5: Porovnání p_value 4 zmiňovaných studií	20

Obsah

Seznam zkratk.....	i
Seznam obrázků.....	ii
Seznam tabulek.....	ii
Úvod.....	1
1.Poškození spermií a zhoršení jejich kvality v souvislosti s onemocněním COVID-193	
1.1. Způsob proniknutí viru do cílových tkání.....	4
2.Receptory pro SARS-CoV-2 na samčích zárodečných buňkách, včetně spermií a somatické tkáni varlete	6
2.1. Receptor ACE1 ve varlatech.....	7
2.2. Receptor ACE2	7
2.3. Náchylnost organismu vůči infekci virem SARS-CoV-2.....	10
3.Mechanismy působení infekce vlivem viru SARS-CoV-2.....	11
3.1. Přímé působení viru SARS-CoV-2.....	13
3.2. Zánět a induktory působící na plodnost mužů	13
3.2.1. Oxidativní stres.....	14
3.2.2. Hormonální změny	16
4.Diskuze nad konkrétními studiiemi	17
5.Prevence zmírnění důsledků onemocnění	21
Závěr	23
Seznam použité literatury	24

Úvod

Na konci prosince roku 2019 se z Wuhanu v Číně rozšířilo doposud neznámé onemocnění, které později dostalo název COVID-19 a v průběhu času se rozrostlo do pandemických rozměrů. Jedná se o nemoc, která postihuje lidské orgány, a to především plíce, ledviny, srdce, mozek a varlata. Na téma, zda virus SARS-CoV-2, který nemoc způsobuje, postihuje varlata a mužský pohlavní systém proběhlo již několik desítek studií, které potvrzují jejich dočasné nebo trvalé poškození. Cílem této práce je představení současné literatury a diskuze na téma poruch plodnosti mužů a kvality spermií související s onemocněním COVID-19. Dále se práce zabývá popisem specifických receptorů, které jsou exprimované na germinálních buňkách, a mechanismy stojícími za danými interakcemi poruch plodnosti mužů a kvality spermií v souvislosti s COVID-19.

Škodlivé účinky tohoto onemocnění mohou být výsledkem buď přímých účinků viru SARS-CoV-2 na cílové buňky, nebo nepřímého poškození prostřednictvím zánětlivé reakce proti viru. Virus vstupuje do buněk prostřednictvím trnových výběžků (virových spike proteinů), které se nachází na obalu viru SARS-CoV-2, díky nimž se může navázat na receptor ACE2. Na základě četných studií se předpokládá, že receptory ACE2 hrají klíčovou roli, protože jsou vstupní cestou pro virus SARS-CoV-2, který napadá cílové buňky a je aktivován pomocí proteázy TMPRSS2. Zárodečné, Leydigovy, Sertoliho buňky, tkáň prostaty a semenotvorné tubuly také exprimují receptory ACE2, což naznačuje, že COVID-19 může nepříznivě ovlivnit mužský reprodukční systém. Dále také mohou být negativně ovlivněny hladiny hormonů souvisejících s pohlavním rozmnožováním (FSH, LH a T).

Patogen, který způsobuje onemocnění COVID-19, je vysoce nakažlivý a nelze ho považovat za chřipku ani SARS kvůli jeho odlišné a ojedinělé charakteristice. Jedná se o nemoc patřící do koronavirů a při podrobnějším zkoumání viru SARS-CoV-2 se zjistilo, že infikovat se může jak člověk, tak i různé druhy zvířat (Velavan a Mayer, 2020). Jako příznaky typické pro koronaviry se nejčastěji uvádí například potíže s dýcháním, horečka, kašel a v průběhu nemoci se u daného jedince mohou vyskytnout i závažnější syndromy. Mezi ně řadíme lehký a těžký zápal plic a s tím spojené tachypnoe (zrychlené dýchání), dušnost, sníženou saturaci krve kyslíkem, postižení plic, které někdy vede až k nutnosti plicní ventilace. Inkubační doba je okolo 5 dnů, ale při definování jasného rozmezí se informace liší zdroj od zdroje. Většinou se pohybuje od 0 do 24 dnů (Velavan a Meyer, 2020).

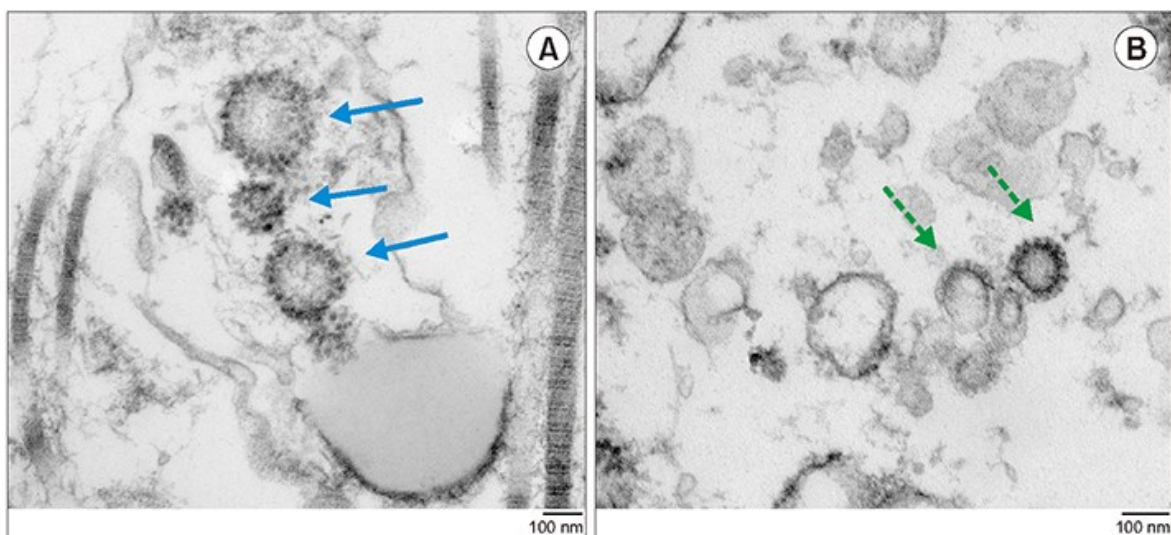
COVID-19 se šíří v podzimních, zimních a jarních vlnách, které se pak rozšiřují do větších ohnisek po celém světě a způsobují tak velké ekonomické a lidské ztráty. Většina infekcí běžnými lidskými koronaviry odezní bez nutnosti léčby. V závažnějších případech je možná symptomatická léčba (horečky, bolesti atd.), která může přispívat k narušení zkoumaných hodnot parametrů spermií a zvyšovat tím pravděpodobnost neplodnosti u mužů.

Neplodnost (neboli sterilita) je definována jako neschopnost páru otěhotnět ani po jednom roce nechráněného a pravidelného pohlavního styku (Borgh a Wyns, 2018). Tato hranice je však nastavena uměle, proto některé zdroje uvádí hranici až od dvou let. Postihuje přibližně každý 6. pár a nejméně 180 milionů párů celosvětově. Mužská neplodnost je označována jako neschopnost muže oplodnit plodnou ženu (také po dobu minimálně jednoho roku nechráněného pohlavního styku). Udává se, že v přibližně 50 % se na příčině neplodnosti podílí žena, ve 40% muž. U zbývajících 10 % se žádná příčina nenalezne, což se označuje jako neplodnost idiopatická. Protože mužské a ženské příčiny neplodnosti často existují současně, je důležité, aby oba partneři byli vyšetřeni na neplodnost a společně i léčeni (Řežábek, 2018). Existuje několik důvodů pro mužskou neplodnost, včetně reverzibilních i nevratných stavů. Faktory, které mohou ovlivnit každého z partnerů, jsou věk, léky, chirurgická anamnéza, expozice toxinům z prostředí, genetické problémy a systémová onemocnění.

Koronaviry způsobily již v minulosti velké zdravotní epidemie typu respiračního syndromu, jako např. SARS-CoV v roce 2003 nebo MERS-CoV v roce 2012. Vzhledem k závažnosti poslední pandemie způsobené virem SARS-CoV-2 se celosvětová vědecká pozornost soustředila na léčbu, prevenci a současně i pochopení mechanismů poškození, které onemocnění COVID-19 způsobuje. Poškození tvorby spermií v procesu spermatogeneze a modifikace fertilizačního potenciálu spermií mužů je jedním z důsledků infekce organismu virem SARS-CoV-2 a předkládaná bakalářská práce se bude zabývat dostupnými vědeckými informacemi na toto téma.

1. Poškození spermií a zhoršení jejich kvality v souvislosti s onemocněním COVID-19

Dosud publikované studie dokazují významný dopad infekce způsobené virem SARS-CoV-2 na různé parametry spermatu. Týká se to především jeho objemu, procenta celkové pohyblivosti, procenta progresivní pohyblivosti a normální morfologie spermií (Aitken, 2021). Mnohé studie potvrdily, že virová RNA koronaviru byla detekována ve více orgánech u pacientů s onemocněním COVID-19 (Sun a kol., 2020), tzn. že tento virus může napadnout mnoho dalších tkání orgánů, jako např. srdce, mozku, ledvin, sleziny, tenkého střeva, svalů, jater a v neposlední řadě také varlat. Tím se vytváří prostor pro poškození spermií a následné zhoršení mužské plodnosti, protože varlata produkují spermie a při jejich poškození může dojít k přímému vlivu na spermatogenezi. Příklad výskytu viru SARS-CoV-2 ve tkáni varlete – obrázek 1.



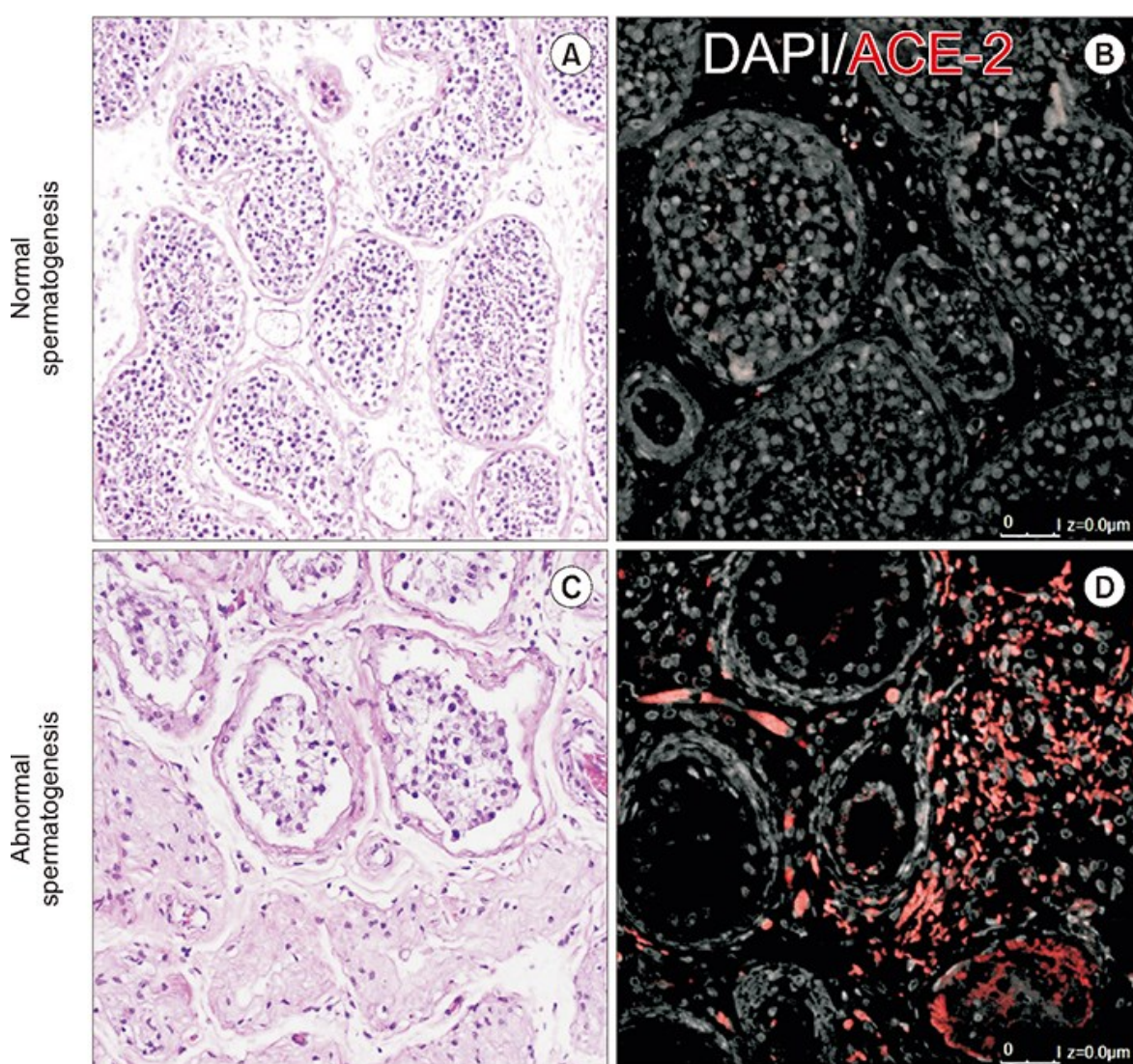
Obrázek 1: Mikroskopický snímek znázorňující přítomnost viru SARS-CoV-2 v tkáni varlete (převzato z: <https://wjmh.org/ArticleImage/2074WJMH/wjmh-39-65-g001-l.jpg>)

Účinky viru SARS-CoV-2 nejsou způsobeny pouze jediným faktorem, ale jedná se o jeden nebo synergický souhrn několika biologických mechanismů, které jsou ve vzájemné interakci s reprodukčním systémem. Dochází k poškození tkání varlat a tím k přímé virové invazi na germinální buňky (Batiha a kol., 2020). V několika studiích bylo dále prokázáno, že vir může mít vliv na reprodukční endokrinologii, zánět a následně na horečku, která je vyvolána infekcí a ohrožuje optimální podmínky reprodukční fyziologie v závislosti na úrovni infekce. Infekce může vést k velmi škodlivým změnám v mužské pohlavní soustavě – vytvoření OS. První změna vzniká při zapojení buněk do apoptotické dráhy.

Dochází zde ke generování ROS mitochondriemi spermií. Další uváděnou změnou je právě OS, který je vytvářen prozánětlivou cytokinovou bouří. Poslední změnou spojenou s OS je zvýšení lokální produkce ROS v důsledku fagocytózy spermií leukocyty. Leukocyty takto reagují na zvýšenou hladinu angiotenzinu II (Aitken, 2021).

1.1. Způsob proniknutí viru do cílových tkání

Protože mezi varlaty a krví je velmi tenká bariéra, která snižuje obranyschopnost varlat proti virové invazi, dochází k poškození varlat. Tato nízká obranyschopnost usnadňuje vstup viru dovnitř zárodečných buněk (Olaniyan a kol., 2020) a, jak je známo již z předchozích výzkumů, má také vliv na neplodnost a poškození spermií (viz obrázek 2).



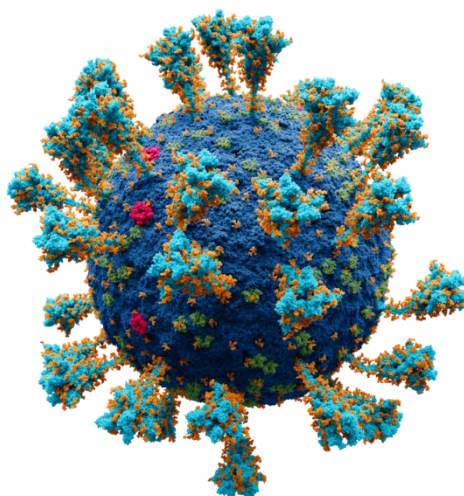
Obrázek 2: Patologické abnormality ve spermatogenezi varlat od posmrtných pacientů s COVID-19 (A,C) a přidružená imunofluorescence ACE-2 (B,D) (převzato z: <https://wjmh.org/ArticleImage/2074WJMH/wjmh-39-65-g005-l.jpg>)

U mužů se mohou dále podílet i další patogenní viry, které způsobují nemoci HIV, hepatitidu, příušnice a další. Je prokázáno, že minimálně 11 virů může přežívat ve spermatu ve varlatech (Salam a Horby, 2017 cit. v Li a kol., 2020). Možnost, že by tento koronavirus mohl mít patofyziologický dopad na varlata naznačují i další studie, ve kterých se prokázalo, že aktivní infekce vyvolaná nemocí COVID-19 dramaticky snižuje poměr T vzhledem k LH, což naznačuje významný dopad na schopnost Leydigových buněk reagovat na stimulaci LH (Aitken, 2020). Varle je orgán, který produkuje spermie, a pokud virus SARS-CoV-2 infikuje varlata, ovlivní tím spermatogenezi. Dalším z možných orgánů mužské pohlavní soustavy zasažených virem SARS-CoV-2 je prostata. Exprimuje hojné množství receptorů ACE2 podobně jako varlata. To je pravděpodobně i důvod, proč by vir mohl napadnout i tento orgán. Prostatická mléčná tekutina, která je vylučována prostatou, je důležitou a nezbytnou složkou spermatu, ale zatím se zde přítomnost viru SARS-CoV-2 neprokázala (Muti a kol., 2022).

2. Receptory pro SARS-CoV-2 na samčích zárodečných buňkách, včetně spermií a somatické tkáni varlete

Mužský reprodukční systém se skládá z několika druhů receptorů, které spolu různě spolupracují a souvisí a jak se prokázalo, jejich přítomnost umožňuje vstupu viru SARS-CoV-2 do zárodečných buněk a somatické tkáni varlete. Vir SARS-CoV-2 infikuje lidské buňky velmi podobným způsobem jako tomu bylo u viru SARS-CoV (Zhang a kol., 2020). Jen s 10-20x vyšší afinitou.

Koronaviry se řadí mezi obalené viry, na jejichž vnější straně nalezneme bílkovinné trny neboli S, což je hlavní transmembránový glykoprotein, ze kterého je tvořena pomyslná koruna virionu (obal), podle které dostaly viry jejich název (latinsky corona = česky koruna) viz obrázek 3 (Velavan a Meyer, 2020). Důležitost S je hlavně skutečnost, že díky koruně, kterou zhmotňuje, vir dokáže cílit na receptory ACE2 a s jejich pomocí se dostat dovnitř buňky či tkáně. ACE2 je ve varlatech exprimován několika typy buněk včetně Leydigových, Sertoliho a germinálních (Haghpanah a kol., 2020). V těchto zmíněných buňkách byl nalezen velký výskyt tohoto receptoru. Díky velkému počtu receptorů ACE2 se vir může dostat s větší pravděpodobností do tkáně varlat, kde může způsobit lokální infekci (Mokhtari a kol., 2020), poškodit spermie a tím zvýšit neplodnost. Je možné, že by virus dále mohl získat přístup ke spermiím, jakmile opustí varlata, a to buď v nadvarletí nebo až po ejakulaci. Při výzkumech bylo zjištěno, že zralé spermie mají všechny potřebné nástroje k navázání se na tento virus, mohou s ním fúzovat, a dokonce dosáhnout reverzní transkripce virovou RNA do provirové DNA. Současnými výzkumy bylo dokázáno, že spermie mohou působit jako možní přenašeči COVID-19 (Aitken, 2020).



Obrázek 3: vir SARS-CoV-2, světlemodře S (převzato z: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/9/94/Coronavirus._SARS-CoV-2.png/800px-Coronavirus._SARS-CoV-2.png)

2.1. Receptor ACE1 ve varlatech

Na povrchu lidských spermií se nachází receptor ACE. Přesněji se jedná o variantu ACE1, která přeměňuje neaktivní decapeptidový hormon angiotenzin I na aktivní oktapeptid-angiotenzin II. Zatím nebyl zjištěn přesný účel tohoto receptoru, ale analýzy dat naznačují, že by mohl mít určitý vliv v mezibuněčných interakcích. Co se ale s jistotou o ACE1 říct dá je, že je důležitý pro expresi genu *TEX101* ve varlatech, který je spojen se stabilizací domény ADAM3 na plazmatické membráně spermií. ACE1 je nejvíce exprimován na povrchu životaschopných, funkčních spermiích a nejhojněji je koncentrován v krčku a prostřední části spermie (Aitken, 2020). Dále je známo, že receptor ACE se může vyskytovat ve dvou izoformách – somatické (sACE) a zárodečné (neboli germinální) ACE (gACE). Somatické ACE se nachází v mnoha tkáních včetně již zmíněných Sertoliho a Leydigových buněk. Germinální ACE se nachází výhradně ve spermiích a spermatidách (Douglas a kol., 2004 cit. v Haghpanah, 2020).

Exprese ACE1 je nepostradatelná pro správnou funkci spermií, protože muži, kteří tento enzym na svých spermiích nemají, nejsou schopni oplodnění. Při expozici Sertoliho buněk koronavirem, může být ve varlatech poškozena již výše zmíněná bariéra mezi krví a varlaty. Struktura testikulárního ACE1 má zřetelný N-konec a dědičný neduplikovaný gen *Ace*. Biochemicky plní úplně stejnou funkci jako somatická ACE1. Spermie dále také exprimují receptor ACE2, který je blíže vysvětlen v kapitole 2.2. Receptor mění angiotenzin II na angiotenzin (1-7). Další známé receptory jsou angiotenzin II typu 1 a receptor angiotenzin II typu 2. Dalším receptorem, který je exprimován na lidských spermiích, je MAS receptor (Aitken, 2020).

2.2. Receptor ACE2

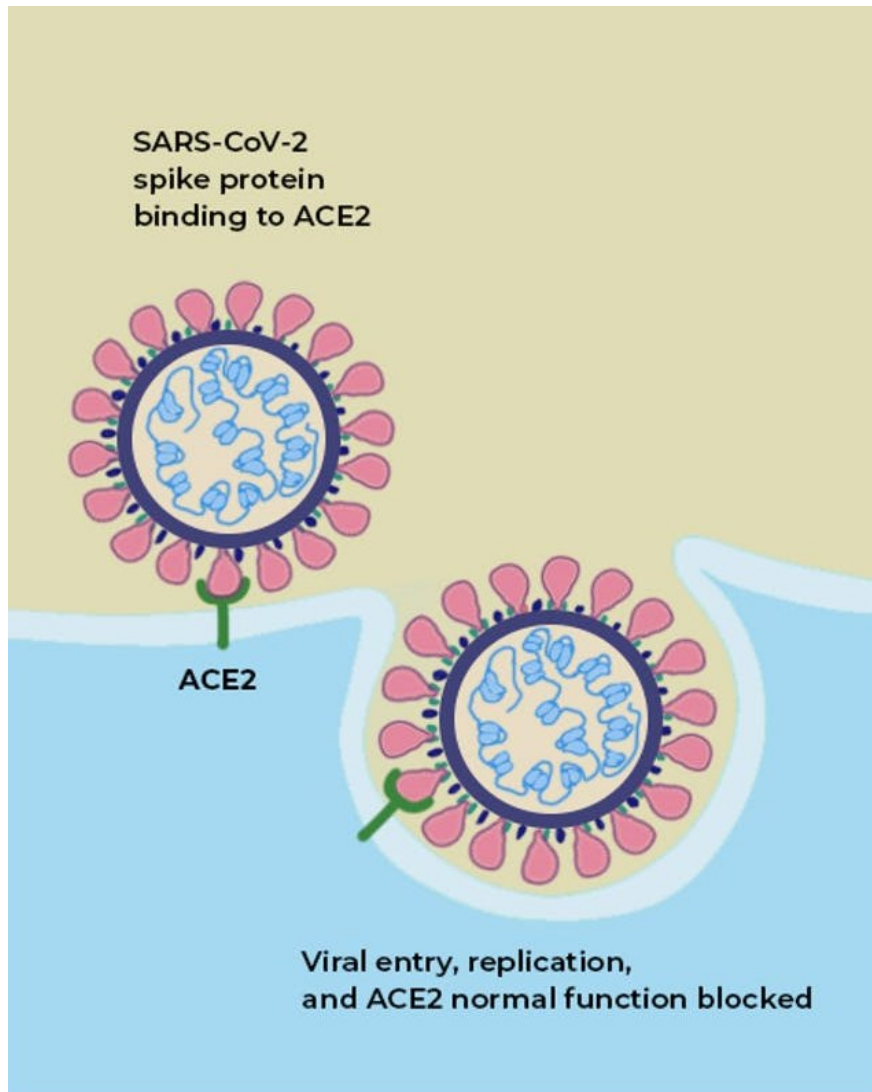
Nejdůležitějším receptorem pro vstup viru SARS-CoV-2 do lidského těla a infekci lidských buněk je receptor ACE2. ACE2 je známý především jako regulátor krevního tlaku prostřednictvím systému renin-angiotenzin-aldosteron. Biologické funkce ACE2 lze rozdělit do dvou kategorií: závislé na peptidáze a nezávislé na peptidáze. Funkce závislá na peptidáze se týká metabolismu angiotenzinu I na peptid angiotenzin 1-9 a angiotenzinu II na peptid angiotenzinu 1-7. Angiotenzin-II je součástí systému renin-angiotenzin, který kromě kontroly krevního tlaku reguluje motilitu a funkci spermií. Druhá funkce ACE2 – nezávislá na peptidáze – se týká zejména zprostředkování infekce koronavirem. Funkce nezávislá na peptidáze také navíc zahrnuje absorpci aminokyselin ve střevě (Liu a kol., 2020). ACE2 je homolog receptoru ACE1 a může hrát kontraregulační roli ACE přeměnou angiotenzinu-II,

což je hlavní produkt ACE, na angiotenzin-(1-7), který působí jako vazodilatátor (Douglas a kol., 2004; Pencheva a kol., 2015 cit. v Haghpanah a kol., 2020).

Jeho význam byl v nedávné době zvýšen objevem MAS receptoru na lidských spermích. ACE2 receptor je lokalizován v hlavní části ocasu spermie a akrozomu spermie a může být exprimován v několika dalších orgánech. To může činit potencionální cíl i z dalších lidských tkání pro virus SARS-CoV-2. S receptorem ACE1 si je z hlediska sekvenční homologie podobný, avšak tyto dva receptory jsou na sobě zcela nezávislé. Gen receptoru ACE1 se nachází na 17. chromozomu, zatímco gen receptoru ACE2 je přepisován z chromozomu X (Aitken, 2020). Ren a kol. (2020) v nedávné studii popsali spolupráci ACE2 a TMPRSS2. Fúze mezi virem a lidskými spermii vyžaduje přítomnost právě proteázy TMPRSS2 ke štěpení virových S na podjednotky S1/S2. Prokázalo se, že tato proteáza je nezbytná pro postižení tkáně virem SARS-CoV-2. Dále bylo objeveno, že varlata mají vysokou koexpresi právě ACE2 a TMPRSS2. Receptor ACE2 je nepostradatelný v biologii spermii. Jak uvádí Aitken (2020), pokud je aktivita PI3K něčím narušena, AKT a jeho následné cíle se defosforylují. Tím se zkrátí apoptotická kaskáda, což se projeví např. rychlou ztrátou motility, mitochondriální tvorbou ROS, cytoplazmatickou vakuolizací nebo třeba oxidativním poškozením DNA. ACE2 tedy stimuluje PI3K/ AKT fosforylaci a tím aktivně brání spermii zapojení se do vnitřní apoptotické dráhy. Další studie prokázali v lidských spermích přítomnost příbuzných proteáz TMPRSS11B a TMPRSS12, které s největší pravděpodobností slouží jako aktivační proteázy pro virové infekce včetně koronavirů. Jejich přítomnost zde, spolu s receptorem ACE2 v plazmatické membráně spermii, přispívá k navázání viru SARS-CoV-2 na buněčný povrch a proniknutí do buněk (viz obrázek 4). Jak uvádí Haghpanah a kol. (2020), infekce SARS-CoV-2 snižuje expresi ACE2, proto má receptor tendenci, k již zmíněným nepříznivým účinkům angiotenzinu-II a může mít negativní vliv na motilitu spermii a gonadální funkci.

Jak již bylo zmíněno, předpokládá se, že při infikování spermii virem SARS-CoV-2, bude ovlivněna aktivita ACE2. To by vedlo k nahromadění angiotenzinu II, což by mohlo lokálně zvýšit fagocytózu spermii neutrofily nebo zvýšit lokální dostupnost ROS, které jsou tvořeny během fagocytárního procesu. Je známá ještě další forma zvýšení tvorby ROS, a to při nadměrné stimulaci angiotenzinu II typu I angiotenzinem II, což může způsobit apoptózu a stárnutí buněk (Aitken, 2020).

Angiotenzin II stimuluje dále také akrozomovou reakci u spermií a při jeho nahromadění v důsledku infekce vyvolané virem SARS-CoV-2 to může vést k předčasné akrozomální exocytóze a předčasnému stárnutí spermií. Vědci se domnívají, že takové účinky mohou souviset se stimulací tvorby oxidu dusnatého prostřednictvím angiotenzinu II, který tuto schopnost má (Vedantam, Atreja s Garg, 2012 cit. v Aitken, 2020).



Obrázek 4: Receptor ACE2 zprostředkovávající fúzi viru do buňky (převzato z: <https://images.theconversation.com/files/334824/original/file-20200513-156651-1b7wiyf.jpg?ixlib=rb-1.1.0&q=45&auto=format&w=754&h=884&fit=crop&dpr=>)

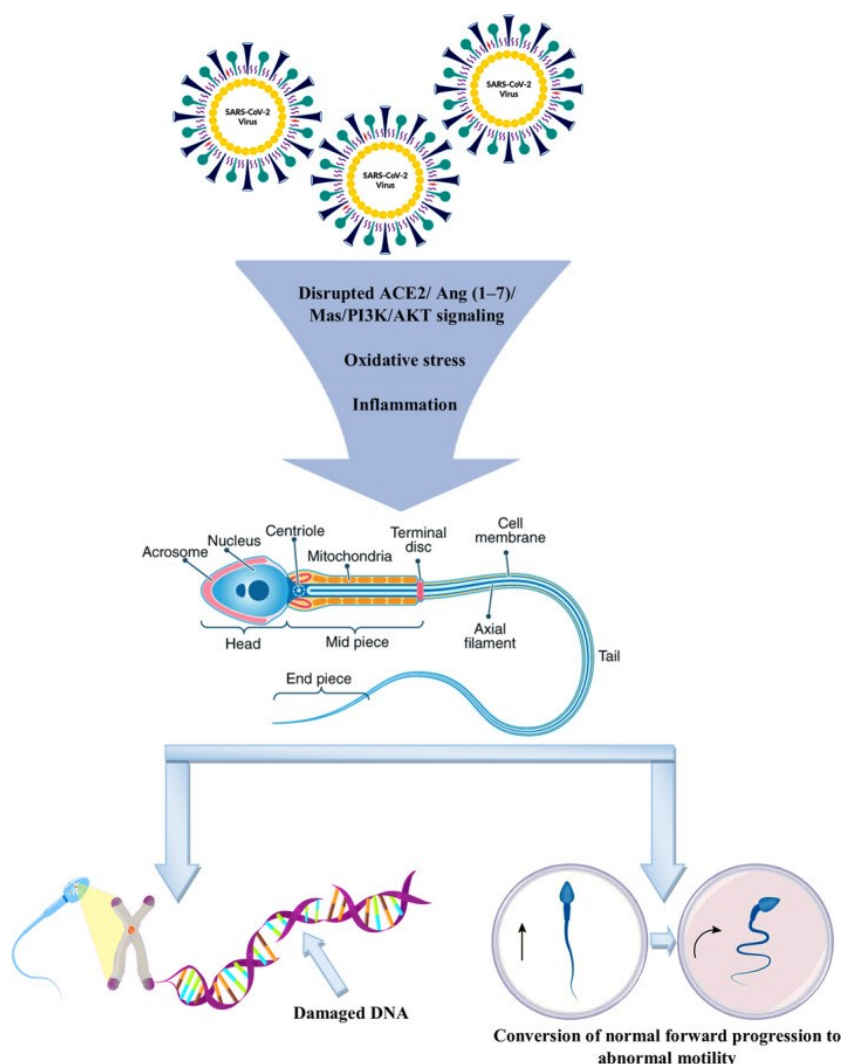
2.3. Náchylnost organismu vůči infekci virem SARS-CoV-2

Vědci Muti a kol. (2022) se zabývali otázkou, zda jsou vůči infekci SARS-CoV-2 náchylnější muži nebo ženy. Díky četným výzkumům se prokázalo, že muži mají častěji sníženou odolnost vůči infekci SARS-CoV-2. Pravděpodobně to částečně závisí na aktivaci androgenního receptoru, který zvyšuje expresi TMPRSS2 a proteázy zodpovědné za aktivaci virového S. Vzhledem k vysoké afinitě ACE2 pro vnější doménu proteinu spike 1 je SARS-CoV-2 potenciálně schopen infikovat jakoukoli buňku exprimující protein ACE2, čímž může spustit kaskádu virové reakce. To následně může vést k zánětu (např. orchitida) s následnou dysfunkcí varlat.

Vědec Aitken (2020) tuto skutečnost přirovnává chybějícím proteázám TMPRSS2 v oocytech. Díky tomu je poškození ženské zárodečné linie velice nepravděpodobné. Pokud ovšem nejsou ženy oplodněny spermii přenášejícími virus SARS-CoV-2. V této souvislosti je třeba zdůraznit, že spermie mají prokazatelnou schopnost nést viry infekce z mužského do ženského reprodukčního traktu. Toto bylo potvrzeno například při sexuálním přenosu viru Zika. Zajímavé je také zmínit provedené posmrtné vyšetření varlat pacientů s onemocněním COVID-19. Ve varlatech bylo zřejmé významné poranění semenných tubulů, snížené množství Leydigových buněk a mírný lymfocytární zánět (Muti a kol., 2022).

3. Mechanismy působení infekce vlivem viru SARS-CoV-2

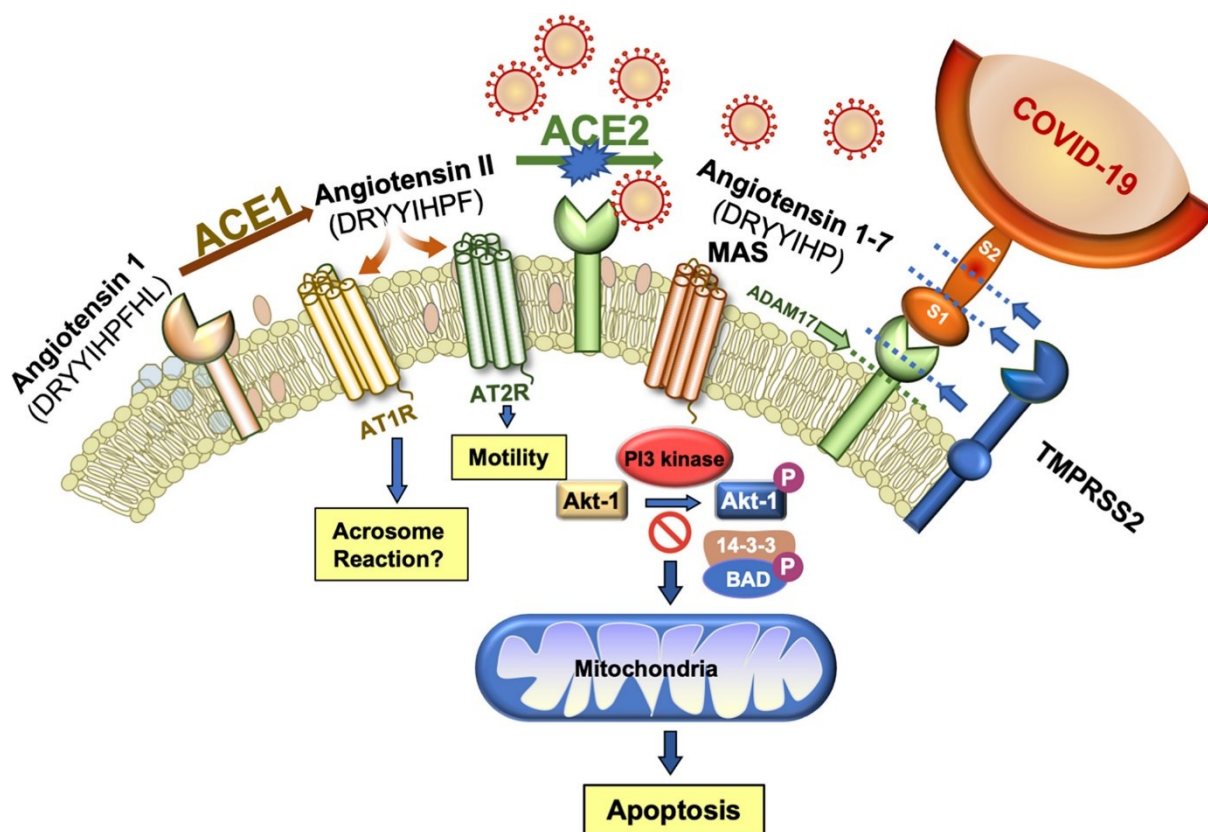
Virus SARS-CoV-2 může napadnout jakoukoliv buňku exprimující receptor ACE2 na své povrchové membráně. Ve varlatech nalezneme 3 typy buněk, které tento receptor hojně exprimují: Sertoliho, Leydigovy a spermatogonie (Fan a kol., 2020). V mnohých studiích bylo zjištěno, že se signálních dráhy ACE2 mění při infekci virem SARS-CoV-2, čemuž dále může následovat např. oxidativní stres (OS) a zánět. Kvůli těmto mechanismům by mohla selhat spermatogeneze, mohlo by to způsobit abnormální pohyblivost spermií nebo fragmentaci DNA a tím negativně ovlivnit mužskou plodnost, jak je vidět na obrázku 5. Vir SARS-CoV-2 může ovlivnit mužskou neplodnost buď přímými, nepřímými mechanismy nebo kombinací obou (Falahieh a kol., 2021).



Obrázek 5: Možné mechanismy infekce virem SARS-CoV-2 (převzato a pro přesnost ponecháno v angličtině z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7645932/bin/AND-9999-e13883-g002.jpg>)

Přímo tento virus napadá buňky testikulární tkáně prostřednictvím vazby na receptor ACE2. Nepřímo může virus způsobit např. zvýšené hladiny cytokinů, poruchu regulace systému renin-angiotenzin-aldosteron, hypoxii a horečku. Jak uvádí Hoffmann a kol. (2020), vstup viru začíná, když se povrchový enzym viru S glykoprotein naváže na receptor ACE2 umístěný na membráně hostitelské buňky (viz obrázek 6). S se skládá ze dvou různých částí: S1 a S2, z nichž každá má svou vlastní roli při vstupu viru. S1 je část, která se váže přímo na hostitelský receptor ACE2, zatímco část S2 pomáhá virus fúzovat s membránou cílové buňky pomocí svých funkčních prvků.

Tento proces je také zprostředkován pomocí již zmiňované proteázy TMPRSS2 umístěné na povrchu membrány cílové buňky, která aktivuje S. Skutečná fúze mezi virem a lidskými spermii vyžaduje přítomnost právě TMPRSS2, ke štěpení virových S na části S1/S2 nebo v podjednotce S2, čímž se odstraní strukturální omezení S1 na S2. Je známo, že tato proteáza je přítomna v prostasomech, které se uvolňují do semenné tekutiny z prostaty při ejakulaci. Když dojde k fúzi viru s cílovou buněčnou membránou, virus uvolní svůj genom a pomocí orgánů hostitelské buňky replikuje svou RNA. Následně uvolní nový zralý virion, který cílí na další buňky (Boopathi, Poma a Kolandaivel, 2020; Jiang, Hillyer a Du, 2020 cit. v Batiha a kol., 2020).



Obrázek 6: Mechanismus vstupu viru SARS-CoV-2 do buňky (převzato z: <https://onlinelibrary.wiley.com/cms/asset/1ef0c31a-34cc-4ad0-9307-1e9a5c5c4e26/andr12859-fig-0001-m.jpg>)

3.1. Přímé působení viru SARS-CoV-2

Na téma, zda vir SARS-CoV-2 přímo poškozuje lidské spermie, bylo provedeno několik dřívějších studií. Song a kol. (2020) uvádí, že v jejich provedené studii, kde testovali sperma 12 mužů před i po zotavení z akutní fáze onemocnění COVID-19, nebyla potvrzena přímá invaze viru na testikulární buňky. V další studii, kde bylo provedeno posmrtné RT-PCR u pacienta s COVID-19, také nebyla potvrzena přítomnost virové RNA ve tkáni varlat. To potvrzuje i studie, kterou popisuje Yang a kol. (2020). Naproti tomu, jak uvádí Ma a kol. (2020), v novějších studiích byla při pitvě 6 pacientů s onemocněním COVID-19 nalezena ve varlatech virová RNA, virové částice a S protein viru SARS-CoV-2. Další posmrtné a nedávno provedené výzkumy potvrzují, že SARS-CoV-2 může přímo napadnout varlata a zárodečné buňky. Dále se také zjistilo, že přítomnost S proteinu na viru SARS-CoV-2 spolu s virovou nukleovou kyselinou ve vzorcích varlat pacientů s onemocněním COVID-19 představuje potenciální dopad způsobený nemocí COVID-19 na spermatogenezi (Ma a kol. 2020).

Varlata mají hojnou expresi receptoru ACE2 na testikulárních buňkách, jak jsem již zmiňovala výše. Spermatogonie s pozitivním receptorem ACE2 tvoří většinu ze všech spermatogonií a bylo prokázáno, že geny, které jsou zapojené do spermatogeneze jsou u ACE2 pozitivních spermatogonií narušeny více v porovnání s ACE2 negativními. Z toho vyplývá, že z tohoto důvodu mohou mít nakažení pacienti narušenou spermatogenezi (Fan a kol., 2020). Druhým přímým mechanismem poškození virem SARS-CoV-2 se zdá být narušení bariéry mezi krví a varlaty. Tato bariéra je také známá jako bariéra Sertoliho buněk semenotvorného epitelu. Tvořená je speciálními spoji mezi Sertoliho buňkami a její účel je chránit spermatogenezi před cytotoxickými látkami přenášenými z krve. Narušení této bariéry může zapříčinit zhoršení cyklu spermatogeneze, jak již bylo zmíněno výše (Haghpanah a kol., 2020).

3.2. Zánět a induktory působící na plodnost mužů

Jedním z nepřímých působících mechanismů je zánět. Vědci Yang a kol. (2020) zkoumali patologické změny pomocí RT-PCR a elektronové mikroskopie u 12 pacientů, kteří zemřeli na onemocnění COVID-19. Ve většině případů se však nenalezl žádný důkaz o přítomnosti viru SARS-CoV-2 ve varlatech. Naproti tomu se prokázalo významné poškození Sertoliho buněk a semenných tubulů, snížení počtu Leydigových buněk a mírný zánět ve vymezené tkáni varlat. Tato zjištění nám mohou sloužit jako důkazy, že během nakažení COVID-19 může docházet k nepřímému poškození varlat. U pacientů s onemocněním COVID-19 byla

dále pozorována cytokinová bouře a zánět v důsledku nadměrné exprese cytokinů a chemokinů. Jak uvádí Azenabor a kol. (2015), bylo zjištěno, že vysoké hladiny cytokinů ve varlatech a nadvarlatech nevyhnutelně souvisí s OS, který vede k poškození DNA spermií a apoptóze.

Závažnost onemocnění pacientů s nemocí COVID-19 vzájemně souvisí s hladinami několika prozánětlivých cytokinů, jako jsou interleukiny (např. IL-1, IL-2, IL-7 a IL-6), tumor nekrotizující faktor- α , interferon- γ , indukovatelný protein 10, monocytový chemoatraktant protein-1, faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágový zánětlivý protein-1 α (Ruan a kol. 2020; Wrapp a kol. 2020 cit. v Muti a kol., 2022). Jak píše Hou a kol. (2014), bylo zjištěno, že IL-6 je nejdůležitějším interleukinem mezi těmito mediátory, protože hraje roli v postupu zánětu u virového onemocnění. Maleki a Tartibian (2021) uvádí, že neřízené hladiny zánětlivých mediátorů (např. IL-6), oxidačních produktů (např. ROS) a oxidační enzymy byly nalezeny u pacientů s onemocněním COVID-19. Z informací, které máme lze říci, že kontrola cytokinové bouře (jejím příznakem je např. zánět) u pacientů s COVID-19 může zabránit narušení normálního fungování orgánů, zejména ve varlatech.

3.2.1. Oxidativní stres

SARS-CoV-2 aktivuje zánětlivé reakce, a tím vyvoluje OS, což představuje možný mechanismus pro narušení různých fyziologických funkcí prostřednictvím oxidačního poškození hostitelských tkání. OS je, jak uvádí Agarwal a kol. (2014), definován jako nerovnováha mezi produkcí ROS a schopností vychytávat dostupné antioxidanty, které vedou k redoxnímu paradoxu. Spermie jsou zranitelné vůči ROS kvůli množství polynenasycených mastných kyselin v jejich plazmatické membráně, cytoplazmě, omezené antioxidační kapacitě a systému oprav DNA. Z toho důvodu byly zkoumány změny v enzymatické aktivitě ACE2 v semenné tekutině, pro a protizánětlivé cytokiny, oxidační a antioxidační parametry, apoptotické proměnné a parametry kvality spermatu u mužů nakažených COVID-19. Bylo zjištěno, že zdraví jedinci mají nižší hodnoty OS než muži s onemocněním COVID-19. Spolu s touto změnou došlo ve spermatu i k dalším změnám, které se týkají jeho objemu, pohyblivosti, morfologii spermií, jejich koncentraci a počtu. Spermie jsou vysoce citlivé na škodlivé účinky ROS kvůli velkému množství nenasycených mastných kyselin, které se nacházejí v jejich buněčných membránách. Při infekci SARS-CoV-2 může nadměrná produkce ROS spustit hlavně dráhy podobné receptorům nukleárního faktoru kappa B (NF- κ B). To má za důsledek další uvolňování cytokinů, které způsobují zvýšení zánětlivých odpovědí (Delgado-Roche a Mesta, 2020 cit. v Muti a kol.,

2022). Dalším faktorem, který může způsobit cytokinovou bouři aktivovanou pomocí ROS, je receptor DPP4/CD26. V nedávné studii bylo potvrzena korelace mezi DPP4 a ACE2, což naznačuje, že oba membránové proteiny jsou důležité v patogenezi vstupu viru. Společná exprese receptoru ACE-2 a DPP4/CD26 by mohla vysvětlit přítomnost podobných klinických rysů u pacientů infikovaných různými typy koronavirů (Muti a kol., 2022). Kromě přímého vztahu mezi virem SARS-CoV-2 a OS zahrnuje léčba infekce použití antivirových léků, jako je ribavirin, u kterého se prokázalo, že je spojen s indukcí OS, sníženými hladinami T, narušenou spermatogenezí a abnormalitou spermií u zvířat i lidí. Léčba ribavirinem navíc prokázala snížení počtu spermií a fragmentaci spermatu DNA až 8 měsíců po ukončení léčby.

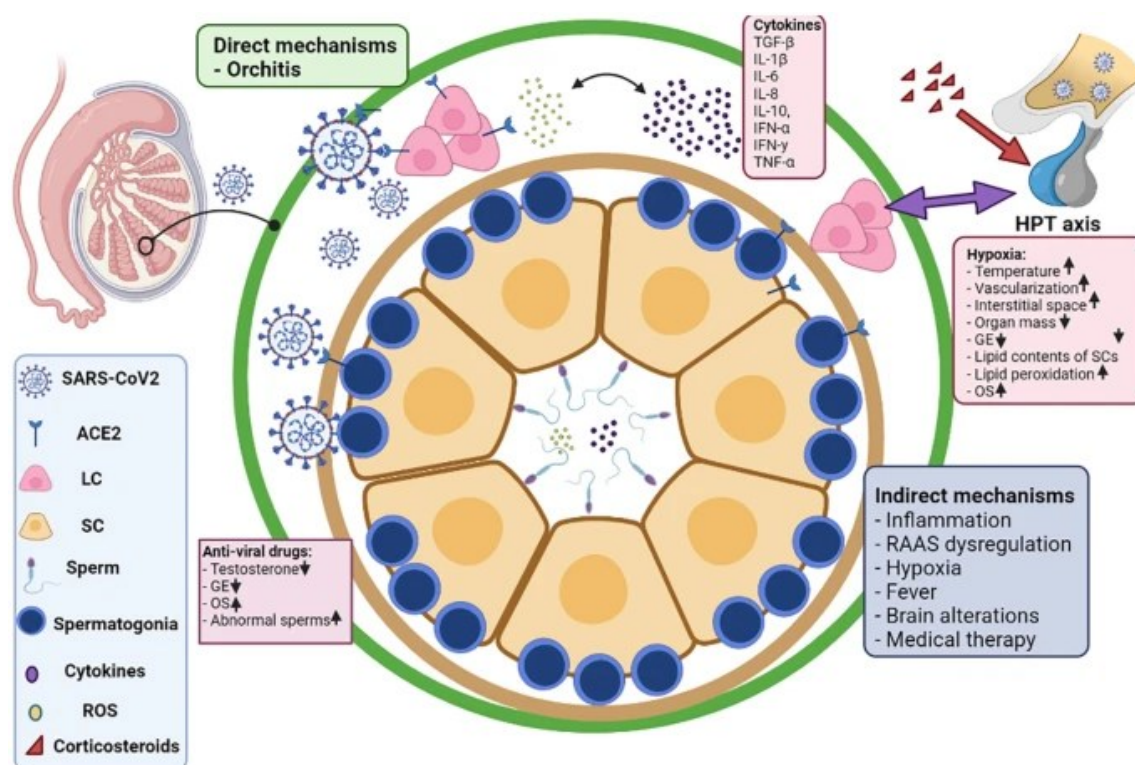
Na obrázku 5 bylo znázorněno, že virus SARS-CoV-2 může poškodit genetický obsah spermií. Zralé spermie potřebují zůstat nepoškozenou a celistvou DNA, aby jim zůstala schopnost oplodnění. Na fragmentaci DNA se může podílet apoptóza, nadměrné množství ROS, drogy, kouření, vysoká teplota ve varlatech a infekce. Poškození DNA u pacientů s COVID-19 lze zdůvodnit dvěma hlavními důvody. První je, že poškození mužských pohlavních orgánů a následný zánět je možnou komplikací při infikování virem (Fan a kol., 2020). Zmíněný zánět může vést k nadměrné produkci ROS, a to může vést k poškození DNA spermií (Anifandis a kol., 2020 cit. v Muti a kol., 2022). Zadruhé, jak uvádí Li a kol. (2020), infekce virem SARS-CoV-2 způsobuje psychický stres, který je hlavní příčinou OS.

Další z induktorů, který je spojen s OS je hypoxie. Jedná se o stav, kdy je k dispozici menší či nedostatečné množství kyslíku pro tělesný metabolismus, než na které je organismus zvyklý. Jak uvádí Serebrovska a kol. (2020), syndrom akutní respirační tísně (ARDS) a narušená výměna plynů vedou u pacientů s onemocněním COVID-19 k hypoxii. Hypoxie může ve varlatech vyvolat např. vysokou horečku, vaskularizaci, snížit počet spermií nebo jejich pohyblivost. Dále spouští OS a tím negativně ovlivňuje funkci orgánů (Lavie, 2009 cit. v Zadeh a Arab, 2021). Provedené histopatologické studie prokázaly, že působení hypoxie vyvolává změny jako např. degenerace zárodečného epitelu, změny obsahu lipidů v Sertoliho buňkách a zvýšenou peroxidaci lipidů (Farias et al. 2005 Liao a kol., 2010 cit. v Zadeh a Arab, 2021).

Je známo, že horečka je primárním projevem COVID-19 pozorovaným u 80 % pacientů (Li et al. 2020), tudíž vysoké a trvalé zvýšení tělesné teploty vede k poruchám spermatogeneze a ke snížení kvality spermií během virových infekcí (Wiwanitkit, 2010 cit. v Zadeh a Arab, 2021). Vysoká horečka může způsobit poruchy chromatinové struktury u lidí a zvířat (Evenson et al. 2000; Sharma a Polasa 1978 cit. v Zadeh a Arab, 2021).

3.2.2. Hormonální změny

V nedávné studii se vědci zaměřili na hladiny androgenů a gonadotropinů u mužů s probíhajícím onemocněním COVID-19, aby zjistili, zda virus SARS-CoV-2 může způsobovat hormonální změny a mužskou gonadální dysfunkci či nikoli. Prokázalo se významné zvýšení hladin LH v séru, výrazný pokles T/LH a FSH/LH u mužů s onemocněním COVID-19 ve srovnání se zdravými jedinci. Mezi hladinou T a FSH však moc velká změna zaznamenána nebyla. Z toho nám vyplývá, že SARS-CoV-2 má tendenci narušovat funkci Leydigových buněk více než Sertoliho (Ma a kol., 2020). Jak píše Brown a kol. (2019) zjistilo se, že u infikovaných pacientů s COVID-19 došlo k zvýšení sérového prolaktinu. Vysoké hladiny prolaktinu jsou spojeny s různými příčinami, jako jsou léky a stres. Zvýšená hladina hormonu prolaktinu v krvi může potlačit hypofýzu a následně snížit hladiny gonadotropinů. Obrázek 7 shrnuje většinu doposud zjištěných mechanismů ovlivňujících spermie vlivem viru SARS-CoV-2.



Obrázek 7: Vliv SARS-COV-2 na přímé a nepřímé mechanismy (převzato a pro přesnost ponecháno v angličtině z: https://media.springernature.com/lw685/springer-static/image/art%3A10.1007%2Fs10735-021-10003-3/MediaObjects/10735_2021_10003_Fig1_HTML.png?as=webp)

4. Diskuze nad konkrétními studii

Na zodpovězení otázky, zda onemocnění COVID-19 negativně ovlivňuje mužské spermie či nikoliv, bylo provedeno mnoho studií. Ve studiích se zkoumaly různé parametry pacientů s nemocí COVID-19, které se následně porovnávaly s výsledky testů provedených u zdravých mužů, anebo s výsledky provedenými po minimálně 3 měsících.

V první studii bylo zkoumáno 21 pacientů s onemocněním COVID-19. Jejím cílem bylo odhalit, jak se mění předem dané parametry spermatu neplodných mužů, kteří byli infikováni virem SARS-CoV-2. Srovnávány byly výsledky testů spermogramu, které byly naměřeny před i po diagnóze nemoci COVID-19. Tabulka 1 obsahuje hodnoty pro párový t-test, který porovnává dvě hodnoty vybraných veličin – před a po nemoci COVID-19. (Výsledek testu je vyjádřen pomocí p -value (s 95% pravděpodobností); p -value menší než 0,05 znamená že hypotéza H_0 se zamítá; např. H_0 = střední hodnota rozdílu např objemu je rovna 0). Velký rozdíl mezi hodnotami před a po nemoci COVID-19 znamená, že vir má velký vliv na posuzovanou veličinu.

Tabulka 1: Výsledky analýzy spermatu pacientů před a po diagnóze COVID-19

Semen parameters	Before COVID-19 diagnosis	After COVID-19 diagnosis	p value
Duration of sexual abstinence, median (min-max), days	4 (3–5)	4 (4–4)	1.00
Liquefaction time, median (min-max), minutes	25 (15–50)	25 (13–45)	0.478
Volume, median (min-max), mL	3 (1–8)	2.5 (1.5–5)	0.005*
Sperm concentration, median (min-max), $\times 10^6$ /mL	42 (2–148)	35.9 (4–126.5)	0.689
Total sperm number ($\times 10^6$ per ejaculate), median (min-max)	145 (6–788)	96.9 (13.4–603.5)	0.654
pH, median (min-max)	7.50 (7.5–8.5)	7.50 (7.5–8.5)	0.608
Total motility, mean \pm SD, %	48.6 \pm 22.1	34.7 \pm 20.7	0.001*
Progressive motility, mean \pm SD, %	35.1 \pm 21.7	21.8 \pm 15.9	<0.001*
Nonprogressive motility, mean \pm SD, %	12.9 \pm 6.7	12.9 \pm 7.6	1.00
Immotility, mean \pm SD, %	51.4 \pm 22.1	65.3 \pm 20.7	0.001*
Sperm morphology (% of normal forms), median (min-max)	6 (3–24)	5 (3–18)	0.015*

COVID-19, coronavirus disease 2019; SD, standard deviation; min-max, minimum-maximum. * p value <0.05 was considered as statistically significant.

Převzato z: <https://www.karger.com/WebMaterial/ShowPic/1337002>

Vědci se dále zaměřili na dopad onemocnění COVID-19 na hormonální hladiny FSH, LH a T. Vzorky byly zpracovány podle pokynů World Health Organization (2010, 5. vydání) prostřednictvím rutinní analýzy spermatu. Při vyhodnocování vzorků pacientů se brali v úvahu následující faktory: věk, zda kouří, BMI, prodělané nemoci a přítomnost varikokély. Hodnoceny byly pomocí optické mikroskopie, která dobře umožňuje sledovat koncentraci, pohyblivost (celkovou, progresivní, neprogresivní a nepohyblivou) a morfologie spermií.

Jak je uvedeno v tabulce 1, hodnoty objemu spermatu ($p = 0,005$), procento celkové motility ($p = 0,001$) a procento progresivní motility ($p = <0,001$) byly po onemocnění COVID-19 významně sníženy. Dále bylo pozorováno, že procento nepohyblivých spermií ($p = 0,001$) se po COVID-19 významně zvýšilo a hladina T naopak poklesla. Naproti tomu, ve studii č. 2 byl definován stejný cíl jako ve studii č. 1, ke kterému navíc přibilo porovnání hodnot mezi pacienty, u kterých se prokázaly nebo neprokázaly příznaky horečky během aktivní infekce viru. Tato studie také porovnávala hodnoty u pacientů před a po onemocnění COVID-19. Ve skupině pacientů s příznaky horečky nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl mezi parametry před a po infekci spermatu (tabulka 2).

Tabulka 2: Parametry spermatu před COVID-19 a po COVID-19 pacientů s horečkou a bez horečky během infekce

Semen parameter	Fever positive (n = 12)			Fever negative (n = 12)		
	Pre-COVID-19	Post-COVID-19	p	Pre-COVID-19	Post-COVID-19	p
Volume (ml)	3.6 ± 1.8	3.4 ± 1.6	.59	3.6 ± 1.4	3.5 ± 1.6	.78
Sperm concentration (million/ml)	44.9 ± 20.9	36.6 ± 18.8	.12	40.3 ± 15.2	33.9 ± 22.1	.28
Progressive motility (%)	34.2 ± 1.7	30.3 ± 11.1	.88	34.7 ± 1.4	27.5 ± 6.9	.07
Total motility (%)	46.7 ± 4.9	41.6 ± 12.1	.14	45.0 ± 5.2	39.2 ± 9.9	.03
Total motile sperm count (million)	89.5 ± 74.2	63.7 ± 57.7	.11	65.7 ± 41.8	46.4 ± 34.1	.07

Převzato z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/and.14157>

Ve skupině bez horečky se celková motilita ($p = 0,03$) spermií významně snížila po infekci virem SARS-CoV-2 ve srovnání s hodnotami před infekcí. Ve srovnání se studií č. 1 se v druhé studii neprokázalo snížení objemu spermatu nebo procenta progresivní motility. Cílem třetí zmiňované studie je to samé jako v předešlých dvou – zjištění účinku viru SARS-CoV-2 na funkci varlat, hladiny hormonů a určení dopadu na vznik spermatu a poškození testikulární tkáně. Studie celkem zkoumala 88 účastníků (44 nemocných a 44 zdravých mužů) a testy byly provedeny v průběhu onemocnění a 3 měsíce poté. V předešlých dvou studiích bylo testováno okolo 20 mužů.

Na rozdíl od předchozích dvou studií byly testy prováděny v průběhu onemocnění a 3 měsíce od propuštění z nemocnice. Výsledkem studie byly snížené hladiny T, zvýšení hladin LH a FSH, snížená pohyblivost ($p = 0,006$) a počet spermií ($p = 0,004$). Dále se zde prokázal větší počet nepohyblivých spermií ($p = 0,005$) v porovnání se zdravými pacienty (tabulka 3). Toto ovšem nemusí znamenat, že virus SARS-CoV-2 musí vstoupit a poškodí spermie vždy, jak dokazuje studie provedená vědci Holtmann a kol. (2020), ve které se poškození vlivem tohoto viru nepotvrdilo.

Tabulka 3: Výsledky analýzy spermatu pacientů s COVID-19 při příjmu do nemocnice a 3 měsíce po propuštění ve srovnání s kontrolami

Parameter	Patients with COVID-19		Controls (n = 44)
	At admission (n = 44)	At 3 months (n = 37)	
Semen volume, ml	2.6 ± 1.71 (0.5-9)	2.2 ± 1.3 (0.5-6)	2.8 ± 1.5 (0.8-9)
p-Value	0.13		
pH, score	7.8 ± 0.5 (7-8.5)	7.9 ± 0.5 (7.2-9)	7.7 ± 0.4 (7.2-8.5)
p-Value	0.42		
Agglutination, N (%) ^c	17 (20.5)	11 (22.7)	9 (22.7)
p-Value	0.13		
Total sperm count, 10 ⁶ /ejaculate	349.2 ± 363.7 (4-1475)	222.4 ± 222.4 (6-1050)	223.5 ± 205.1 (10.8-840)
p-Value	0.04		
Sperm concentration, 10 ⁶ /ml	128.9 ± 98.15 (20-325) ^b	107.9 ± 98.1 (2-424)	76.3 ± 53.1 (3-210) ^b
p-Value	0.28		
Vitality (%)	47.0 ± 24.5 (0-87) ^b	62.8 ± 20.9 (27-89)	72.5 ± 15.2 (44-91) ^b
p-Value	0.63		
Total motility, %	38.8 ± 23.8 (0-84) ^b	52.6 ± 14.5 (22-77)	53.6 ± 13.9 (12-78) ^b
p-Value	0.006		
Progressive motility, %	32.8 ± 21.7 (0-82) ^b	44.3 ± 14.7 (17-69)	44.9 ± 14.3 (11-69) ^b
p-Value	0.04		
Rapid progressive motility, %	18.4 ± 16.3 (0-65) ^b	25.9 ± 14.7 (0-55)	26.9 ± 11.7 (4-56) ^b
p-Value	0.91		
Slow progressive motility, %	14.5 ± 9.8 (0-41) ^b	18.3 ± 8.3 (10-47)	18.8 ± 9.5 (4-39) ^b
p-Value	0.06		
Non-progressive motility, %	5.9 ± 4.9 (0-17)	8.3 ± 6.7 (1-24)	8.9 ± 9.2 (1-36)
p-Value	0.05		
No motility, %	58.8 ± 24.8 (0-100) ^b	47.4 ± 14.6 (23-78)	45.1 ± 14.5 (11-88) ^b
p-Value	0.005		
Normal morphology, %	10.9 ± 7.8 (0-39) ^b	12.8 ± 8.29 (1-36)	17.3 ± 14.7 (0-87) ^b
p-Value	0.52		
Direct MAR-test, IgA, %	4.6 ± 6.2 (0-21)	12.1 ± 13.6 (0-51) ^a	5.2 ± 9.3 (0-44) ^a
p-Value	0.01		
Direct MAR-test, IgG, %	2.7 ± 3.8 (0-15)	6.3 ± 7.6 (0-30)	4.3 ± 9.9 (0-58)
p-Value	0.03		
Leucocytes, 10 ⁶ /ml	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.5	0.3 ± 0.4
p-Value	0.39		
Erythrocytes, N (%)	8 (18.2)	2 (4.5)	2 (4.5)
p-Value	0.04		

Převzato z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/andr.13159>

Čtvrtá studie testovala podobně jako první dvě studie 20 mužů. Testy byly provedeny 14 a 120 dní po zjištění přítomnosti viru SARS-CoV-2 (viz tabulka 4). Byly zde zjišťovány stejné hodnoty parametrů pro spermie jako v předchozích studiích (jejich koncentrace, pohyblivost, životaschopnost apod.). Na rozdíl od dříve zmíněných studií se tato studie zabývala navíc hladinami ROS, malondialdehydu, antioxidační kapacitou a fragmentací DNA spermií. Parametry spermatu, včetně motility spermií a integrity DNA, se zlepšily 120 dní po diagnóze COVID-19 ve srovnání s hodnotami po 14 dnech. Kromě toho byly hladiny ROS a malondialdehydu významně sníženy u pacientů 120 dní po infekci ve srovnání s hodnotami získanými 14 dní od prokázání onemocnění. Na závěr tato studie ukazuje, že

škodlivé účinky COVID 19 na vlastnosti spermií způsobené OS se snižují až do 120. dne po diagnóze.

Tabulka 4: Parametry spermatu pacientů ve dnech 14 a 120 po diagnóze COVID-19

	Day 14	Day 120	Normal WHO value	P-value
Volume (mL)	3.8 ± 1.2	4.1 ± 1.3	≥1.5	0.4389
pH	7.4 ± 0.2	7.5 ± 0.2	≥7.2	0.1185
Sperm concentration (×10 ⁶ mL ⁻¹)	47.6 ± 21.9	52.1 ± 24.3	≥15	0.5422
Progressive motility (%)	30.6 ± 8.2	44.1 ± 9.9	≥32	<0.0001
Total motility (%)	32.8 ± 8.9	47.5 ± 9.8	≥40	<0.0001
Normal morphology (%)	1.3 ± 1.1	3.2 ± 1.7	≥4	0.0002
Viability (%)	73.1 ± 11.6	80.3 ± 11.5	≥58	0.0569
Peroxidase-positive leucocytes (×10 ⁶ mL ⁻¹)	1.5 ± 1.1	0.8 ± 0.6	<1	0.0124

Převzato z: <https://www.publish.csiro.au/rd/pdf/RD21153>

Ve zmiňovaných studiích byly srovnávány vzorky spermatu odebrané v průběhu onemocnění, které se srovnávaly se vzorky buď před onemocněním nebo 90-120 dní po onemocnění a propuštění z nemocnice. Ve všech těchto studiích bylo zaznamenáno poškození varlat vlivem viru SARS-CoV-2 a pro následné srovnání těchto studií byly vybrány tyto parametry: objem spermatu, koncentrace spermií, progresivní pohyblivost, počet spermií a celková pohyblivost.

Jak je možno vyčíst z tabulky 5, u studie č. 1 se statisticky prokázal vliv viru SARS-CoV-2 na hodnoty objemu spermatu (0,005), progresivní pohyblivosti (0,001), celkové pohyblivosti (0,001). U studie č. 2 s teplotou se statisticky neprokázal vliv viru na porovnávané hodnoty. U stejné studie, ale bez teploty se vliv viru prokázal u parametru celkové pohyblivosti spermií (0,03). Studie č. 3 prokázala vliv viru na hodnotách progresivní pohyblivosti (0,04), celkové pohyblivosti (0,006) a počtu spermií (0,04). Poslední zmiňovaná studie č. 4 statisticky dokázala vliv viru na hodnoty progresivní (0,0001) a celkové (0,0001) pohyblivosti.

Tabulka 5: Porovnání p_value 4 zmiňovaných studií

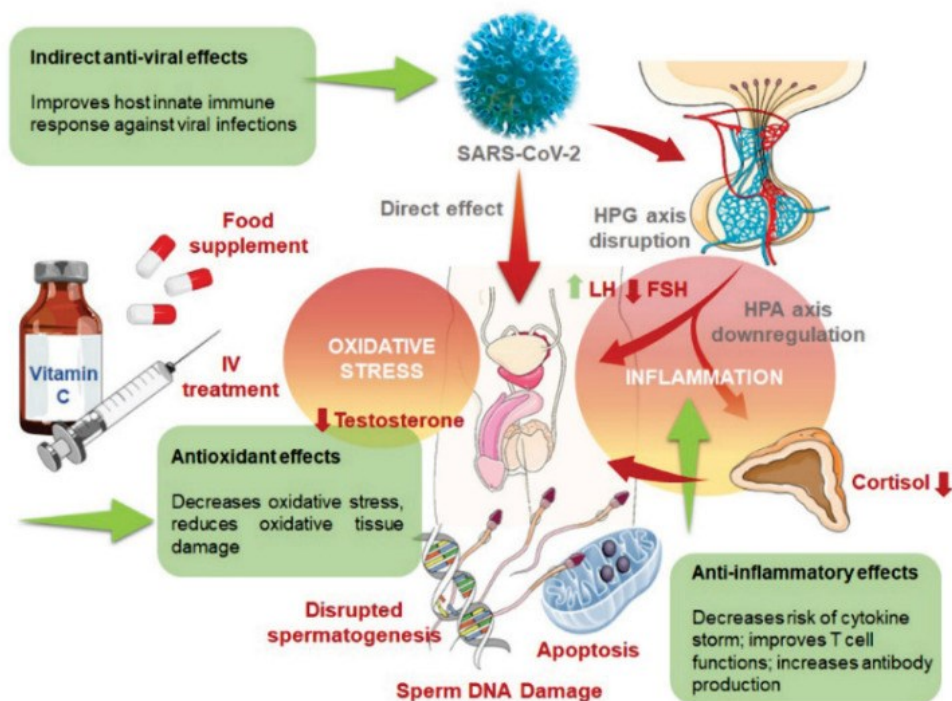
Studie	Porovnávané hodnoty:	objem spermatu (ml)	koncentrace spermií (milión/ml)	progresivní pohyblivost (%)	celková pohyblivost (%)	počet spermií (x 10 ⁶ /ejakulát)	Použitý test:
		Probability value - p-value					
studie 1	Před a po COVID-19	0,005	0,68	0,001	0,001	0,654	párový t-test
studie 2 - s teplotou	Před a po COVID-19	0,59	0,12	0,88	0,14	-	párový t-test
studie 2 - bez teploty	Před a po COVID-19	0,78	0,28	0,07	0,03	-	párový t-test
studie 3	porovnání hodnot při přijetí do nemocnice a po 3 měsících od propuštění z nemocnice	0,13	0,28	0,04	0,006	0,04	Mann-Whitneyův test, nezávislý t-test
studie 4	porovnání hodnot při přijetí do nemocnice a po 4 měsících od propuštění z nemocnice	0,43	0,54	0,0001	0,0001	-	párový t-test

Převzato z: vlastní tvorba, data převzata z čtyřech předešlých studií

5. Prevence zmírnění důsledků onemocnění

Vzhledem k znalosti, že působení viru SARS-CoV-2 může poškozovat varlata a způsobit OS, bylo vyvinuto úsilí k hledání zmírnění následků tohoto onemocnění a vědci se shodují, že jednou z neúčinnějších forem ke zmírnění zánětu a OS, způsobeného vlivem viru způsobujícího onemocnění COVID-19 ve varlatech, je požívání vysokých dávek antioxidantů. Příklady účinných antioxidantů pro zlepšení parametrů spermatu u neplodných mužů jsou například: vitamin C, pentoxifylin, L-karnitin, arginin, zinek a koenzym Q10. Jako nejvhodnější antioxidant se prokázal vitamin C (Alahmar a kol., 2021).

Vitamin C (neboli kyselina askorbová) je hlavním, neenzymatickým, ve vodě rozpustným a účinným testikulárním antioxidantem, který neutralizuje přebytečné ROS, předává elektrony redoxním systémům, zabraňuje shlukování spermií, zabraňuje peroxidaci lipidů, recykluje vitamin E a chrání DNA před poškozením způsobeným radikálem peroxidu vodíku. Dále také plní protizánětlivou, antioxidantní a imunomodulační funkci (Sengupta a kol., 2022). Bylo zjištěno, že k snižování pravděpodobnosti výskytu virové infekce nebo při zmírňování symptomů stačí ústy užít 6 g vitaminu C denně.



Obrázek 8: Působení vitaminu C (a potravinových doplňků) na SARS-CoV-2 (převzato a pro přesnost ponecháno v angličtině z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35043653/#&gid=article-figures&pid=fig-1-uid-0>)

Vitamin C se zde ukázal jako účinný u pacientů s těžkým průběhem onemocnění a potvrdilo se, že jeho podávání snižuje úmrtnost. Podával se nitrožilně a v 10-20 g denně po 8-10 hodinách (Hoang a kol., 2020). Současně je známo, že podávání vitaminu C v poměru 1,5 g/kg tělesné hmotnosti pacienta je zcela bezpečné a nezpůsobuje žádné vedlejší účinky, tudíž vitamin C a další antioxidanty patří mezi léčebné postupy, které jsou nyní k dispozici pro minimalizaci akutních respiračních onemocnění souvisejících s COVID-19. Včasné použití vysokých dávek antioxidantů, jako je vitamín C, se tedy ukazuje jako užitečná léčba pro pacienty, aby se vyrovnaly jejich negativní účinky způsobené onemocněním COVID-19, jak můžeme vidět na obrázku 8. Současně je užívání antioxidantů doporučeno zejména ve zdravotnictví, kde jsou zdravotníci vystaveni vyššímu riziku, jako prevence proti možným následkům (Sengupta a kol., 2022). Četné studie dále prokázaly, že u pacientů se středně těžkým až těžkým onemocněním negativní účinek viru SARS-CoV-2 na funkci varlat vymizí do 3 měsíců od nakažení, kdy dochází k celkovému obnovení mužských gamet.

Závěr

Cílem této práce bylo porovnat a posoudit recentní literaturu na téma poruch plodnosti mužů a s tím spojené poškození spermií vlivem onemocnění COVID-19, které je způsobeno virem SARS-CoV-2. V práci jsou také podrobněji rozebrány specifické receptory umožňující vstup viru do tkáně varlat a jeho mechanismy, které stojí za danými interakcemi. Důležitou částí předkládané práce je porovnání vybraných studií, jejich následné vyhodnocení a interpretace statistických výsledků. Vědecké týmy dokázaly výskyt interakce virionu onemocnění COVID-19 s lidskými spermii, což vedlo ke snížení plodnosti u mužů. Výstupním místem pro virus je receptor ACE2 spolu s aktivační proteázou TMPRSS2. Tenká bariéra mezi krví a varlaty usnadňuje viru proniknutí dovnitř varlat. Tato zjištění byla ověřena studii buněk (spermatogoniemi, Sertoliho, Leydigovými), ve kterých byl nalezen velký počet receptorů umožňujících vstup viru dovnitř.

V práci jsou dále zdůrazněny a popsány mechanismy působení infekce vlivem viru SARS-CoV-2, který může napadnout jakoukoliv buňku exprimující receptor ACE2 na své povrchové membráně. Následné narušení buněk může vyvolat např. OS, hormonální změny nebo zánět. V důsledku těchto mechanismů je riziko selhání spermatogeneze, které vede k snížené pohyblivosti spermií nebo fragmentaci DNA a tím negativně ovlivňuje mužskou plodnost. Na tyto a další parametry spermií se zaměřily diskutované studie, ve kterých se prokázaly krátkodobé negativní změny u některých testovaných pacientů s akutní infekcí COVID-19. Největší změny hodnot parametrů spermatu se prokázaly u celkové a progresivní pohyblivosti spermií. Změny byly detekovány také v hladinách hormonů (LH, FSH). K obnovení poškozených mužských gamet dochází průměrně po 3 měsících od nakažení, což se také používá jako kontrolní doba pro porovnání výsledků. Na změnu hodnot parametrů spermatu mají vliv i další okolnosti jako např. věk, prodělané nemoci, genetika a závažnost průběhu onemocnění. Mnohé studie doporučují jako vhodnou prevenci vůči důsledkům nemoci COVID-19 požívání antioxidantů – konkrétně vitamínu C.

Do jaké míry virus SARS-CoV-2 způsobuje poškození spermií a tím snižování plodnosti a zda je pouze krátkodobé nebo dlouhodobé, stále probíhají četné vědecké studie. Nová data by měla přinést nový a ucelenější pohled na problematiku a důsledky nemoci COVID-19, které umožní nejen účinnou léčbu, ale hlavně prevenci před možnými patologickými důsledky nejen na poli mužské reprodukce.

Seznam použité literatury

Abassi, Z., Higazi, A., Kinaneh, S., Armaly, Z., Skorecki, K., & Heyman, S. N. (2020). ACE2, COVID-19 Infection, Inflammation, and Coagulopathy: Missing Pieces in the Puzzle. *Frontiers in physiology*, 11 (574753). Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.574753>.

Abdel-Moneim, A. (2021). COVID-19 Pandemic and Male Fertility: Clinical Manifestations and Pathogenic Mechanisms. *Biochemistry Moscow*, 86, 389–396. Dostupné z: <https://doi.org/10.1134/S0006297921040015>.

Achua, J. K., Chu, K. Y., Ibrahim, E., Khodamoradi, K., Delma, K. S., Iakymenko, O. A., Kryvenko, O. N., Arora, H., & Ramasamy, R. (2021). Histopathology and Ultrastructural Findings of Fatal COVID-19 Infections on Testis. *The world journal of men's health*, 39(1), 65–74. Dostupné z: <https://doi.org/10.5534/wjmh.200170>.

Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., & du Plessis, S. S. (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *The world journal of men's health*, 32(1), 1–17. Dostupné z: <https://doi.org/10.5534/wjmh.2014.32.1.1>.

Aitken, R.J. (2021). COVID-19 and human spermatozoa—Potential risks for infertility and sexual transmission?. *Andrology*, 9: 48–52. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/andr.12859>.

Aitken R. J. (2022). COVID-19 and male infertility: An update. *Andrology*, 10(1), 8–10. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/andr.13098>.

Alahmar AT, Calogero AE, Singh R, Cannarella R, Sengupta P, Dutta S. (2021). Coenzyme Q10, oxidative stress, and male infertility: A review. *Clin Exp Reprod*, 48(2):97. Dostupné z: <https://doi.org/10.5653/cerm.2020.04175>.

Alahmar A. T. (2019). Role of Oxidative Stress in Male Infertility: An Updated Review. *Journal of human reproductive sciences*, 12(1), 4–18. Dostupné z: https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_150_18.

Anifandis, G., Messini, C. I., Daponte, A., & Messinis, I. E. (2020). COVID-19 and fertility: a virtual reality. *Reproductive biomedicine online*, 41(2), 157–159. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.05.001>.

- Ardestani Zadeh, A., & Arab, D. (2021). COVID-19 and male reproductive system: pathogenic features and possible mechanisms. *Journal of molecular histology*, 52(5), 869–878. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10735-021-10003-3>.
- Azenabor, A., Ekun, A. O., & Akinloye, O. (2015). Impact of Inflammation on Male Reproductive Tract. *Journal of reproduction & infertility*, 16(3), 123–129. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26913230/>.
- Batiha, O., Al-Deeb, T., Al-zoubi, E., Alsharu, E. (2020). Impact of COVID-19 and other viruses on reproductive health. *Andrologia*, 2020; 52 (9): e13791. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/and.13791>.
- Bhalla, V., Blish, C. A., & South, A. M. (2021). A historical perspective on ACE2 in the COVID-19 era. *Journal of human hypertension*, 35(10), 935–939. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41371-020-00459-3>.
- Brown, R. S. E., Khant Aung, Z., Phillipps, H. R., Barad, Z., Lein, H.-J., Boehm, U., Szawka, R. E., & Grattan, D. R. (2019). Acute suppression of LH secretion by prolactin in female mice is mediated by kisspeptin neurons in the arcuate nucleus. *Endocrinology*, 160(5), 1323–1332. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/en.2019-00038>.
- Delgado-Roche, L., & Mesta, F. (2020). Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection. *Archives of medical research*, 51(5), 384–387. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.04.019>.
- Delli Muti, N., Finocchi, F., Tossetta, G., Salvio, G., Cutini, M., Marzioni, D., & Balercia, G. (2022). Could SARS-CoV-2 infection affect male fertility and sexuality?. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 130(5), 243–252. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/apm.13210>.
- Douglas, G. C., O'Bryan, M. K., Hedger, M. P., Lee, D. K., Yarski, M. A., Smith, A. I., & Lew, R. A. (2004). The novel angiotensin-converting enzyme (ACE) homolog, ACE2, is selectively expressed by adult Leydig cells of the testis. *Endocrinology*, 145(10). Dostupné z: 4703–4711. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0443>.
- Dutta, S., & Sengupta, P. (2021). SARS-CoV-2 and Male Infertility: Possible Multifaceted Pathology. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 28(1), 23–26. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00261-z>.

- Enikeev, D, Taratkin, M, Morozov, A, et al. (2022). Prospective two-arm study of testicular function in patients with COVID-19. *Andrology*, 1–10. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/andr.13159>.
- Falahieh, F. M., Zarabadipour, M., Mirani, M., Abdiyan, M., Dinparvar, M., Alizadeh, H., Paktinat, S., & Hosseinirad, H. (2021). Effects of moderate COVID-19 infection on semen oxidative status and parameters 14 and 120 days after diagnosis. *Reproduction, fertility, and development*, 33(12), 683–690. Dostupné z: <https://doi.org/10.1071/RD21153>.
- Fan, C., Lu, W., Li, K., Ding, Y., & Wang, J. (2021). ACE2 Expression in Kidney and Testis May Cause Kidney and Testis Infection in COVID-19 Patients. *Frontiers in medicine*, 7, 563893. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.563893>.
- Farias, J. G., Bustos-Obregón, E., Orellana, R., Bucarey, J. L., Quiroz, E., & Reyes, J. G. (2005). Effects of chronic hypobaric hypoxia on testis histology and round spermatid oxidative metabolism. *Andrologia*, 37(1), 47–52. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2004.00651.x>.
- Fustino, LG., Stolz, JV, & Haas, P. (2022). Male infertility in patients diagnosed with COVID-19: a narrative review. *Journal of Medicine*, 101 (1), e-185913. Dostupné z: <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v101i1e-185913>.
- Haghpanah, A., Masjedi, F., Alborzi, S., Hosseinpour, A., Dehghani, A., Malekmakan, L., & Roozbeh, J. (2021). Potential mechanisms of SARS-CoV-2 action on male gonadal function and fertility: Current status and future prospects. *Andrologia*, 53(1), e13883. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/and.13883>.
- Hajizadeh Maleki, B., & Tartibian, B. (2021). COVID-19 and male reproductive function: a prospective, longitudinal cohort study. *Reproduction*, 161(3), 319-331. Dostupné z: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/161/3/REP-20-0382.xml>.
- Hoang BX, Shaw G, Fang W, Han B. (2020). Possible application of high-dose vitamin C in the prevention and therapy of coronavirus infection. *J Glob Antimicrob Resist*, 23. 256-262. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.09.025>.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.

- Holtmann, N., Edimiris, P., Andree, M., Doehmen, C., Baston-Buest, D., Adams, O., Kruessel, J. S., & Bielfeld, A. P. (2020). Assessment of SARS-CoV-2 in human semen-a cohort study. *Fertility and sterility*, 114(2), 233–238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.05.028>.
- Hou W, Jin YH, Kang HS, Kim BS. (2014). Interleukin-6 (IL-6) and IL-17 synergistically promote viral persistence by inhibiting cellular apoptosis and cytotoxic T cell function. *J Virol*, 88:8479–8489. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/jvi.00724-14>.
- Kirtipal, N., Kumar, S., Dubey, S. K., Dwivedi, V. D., Gireesh Babu, K., Malý, P., & Bharadwaj, S. (2022). Understanding on the possible routes for SARS CoV-2 invasion via ACE2 in the host linked with multiple organs damage. Infection, genetics and evolution. *Journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 99, 105254. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105254>.
- Koç, E., & Keseroğlu, B. B. (2021). Does COVID-19 Worsen the Semen Parameters? Early Results of a Tertiary Healthcare Center. *Urologia internationalis*, 105(9-10), 743–748. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000517276>.
- Köhn, F. M., Müller, C., Drescher, D., Neukamm, C., el Mulla, K. F., Henkel, R., Hägele, W., Hinsch, E., Habenicht, U. F., & Schill, W. B. (1998). Effect of angiotensin converting enzyme (ACE) and angiotensins on human sperm functions. *Andrologia*, 30(4-5), 207–215. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1998.tb01162.x>.
- Li, H., Xiao, X., Zhang, J., Zafar, M. I., Wu, C., Long, Y., Lu, W., Pan, F., Meng, T., Zhao, K., Zhou, L., Shen, S., Liu, L., Liu, Q., & Xiong, C. (2020). Impaired spermatogenesis in COVID-19 patients. *EClinicalMedicine*, 28, 100604. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100604>.
- Liu, M., Wang, T., Zhou, Y., Zhao, Y., Zhang, Y. & Li, J. (2020). Potential role of ACE2 in coronavirus disease 2019 (COVID-19) prevention and management. *Journal of Translational Internal Medicine*, 8(1) 9-19. Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/jtim-2020-0003>.
- Ma, L., Xie, W., Li, D., Shi, L., Mao, Y., Xiong, Y., Zhang, M. (2020). Effect of SARS-CoV-2 infection upon male gonadal function: A single center-based study. *MedRxiv*. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/2020.03.21.20037267>.

Mokhtari T, Hassani F, Ghafari N, Ebrahimi B, Yarahmadi A, Hassanzadeh G. (2020). COVID-19 and multiorgan failure: a narrative review on potential mechanisms. *J Mol Histol*, 51:613–628. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10735-020-09915-3>.

Olaniyan, O. T., Dare, A., Okotie, G. E., Adetunji, C. O., Ibitoye, B. O., Bamidele, O. J., & Eweoya, O. O. (2020). Testis and blood-testis barrier in Covid-19 infestation: role of angiotensin-converting enzyme 2 in male infertility. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 31 (6). Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0156>.

Pazir, Y., Eroglu, T., Kose, A., Bulut, T. B., Genc, C., & Kadıhasanoglu, M. (2021). Impaired semen parameters in patients with confirmed SARS-CoV-2 infection: A prospective cohort study. *Andrologia*, 53, e14157. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/and.14157>.

Ren, X., Wang, S., Chen, X., Wei, X., Li, G., Ren, S., Zhang, T., Zhang, X., Lu, Z., You, Z., Wang, Z., Song, N., & Qin, C. (2020). Multiple Expression Assessments of ACE2 and TMPRSS2 SARS-CoV-2 Entry Molecules in the Urinary Tract and Their Associations with Clinical Manifestations of COVID-19. *Infection and drug resistance*, 13, 3977–3990. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/IDR.S270543>.

Ruan, Y., Hu, B., Liu, Z., Liu, K., Jiang, H., Li, H., Li, R., Luan, Y., Liu, X., Yu, G., Xu, S., Yuan, X., Wang, S., Yang, W., Ye, Z., Liu, J., & Wang, T. (2021). No detection of SARS-CoV-2 from urine, expressed prostatic secretions, and semen in 74 recovered COVID-19 male patients: A perspective and urogenital evaluation. *Andrology*, 9(1), 99–106. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/andr.12939>.

Řežábek, Karel. (2018). Asistovaná reprodukce. 3. aktualizované a doplněné vydání. Praha: Maxdorf. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 978-80-7345-553-8.

Salam, A. P., & Horby, P. W. (2017). The Breadth of Viruses in Human Semen. *Emerging infectious diseases*, 23(11), 1922–1924. Dostupné z: <https://doi.org/10.3201/eid2311.171049>.

Selvaraj, K., Ravichandran, S., Krishnan, S., Radhakrishnan, R. K., Manickam, N., & Kandasamy, M. (2021). Testicular Atrophy and Hypothalamic Pathology in COVID-19: Possibility of the Incidence of Male Infertility and HPG Axis Abnormalities. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 28(10), 2735–2742. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00441-x>.

- Sengupta, P., Dutta, S., Slama, P., & Roychoudhury, S. (2022). COVID-19, oxidative stress, and male reproductive dysfunctions: is vitamin C a potential remedy?. *Physiological research*, 71(1), 47–54. Dostupné z: <https://doi.org/10.33549/physiolres.934827>.
- Serebrovska, Z. O., Chong, E. Y., Serebrovska, T. V., Tumanovska, L. V., & Xi, L. (2020). Hypoxia, HIF-1 α , and COVID-19: from pathogenic factors to potential therapeutic targets. *Acta pharmacologica Sinica*, 41(12), 1539–1546. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00554-8>.
- Song, C., Wang, Y., Li, W., Hu, B., Chen, G., Xia, P., & Liu, Y. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus in semen and testicular biopsy specimen of COVID-19 patients. *MedRxiv*, 20042333. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/2020.03.31.20042333>.
- Sun J, Zhu A, Li H, Zheng K, Zhuang Z, Chen Z, et al. (2020). Isolation of Infectious SARS-CoV-2 From Urine of a COVID-19 Patient. *Emerg Microbes Infect*, 9(1):991–3. Dostupné z: <https://doi: 10.1080/22221751.2020.1760144>.
- Vander Borgh, M., & Wyns, C. (2018). Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical biochemistry*, 62, 2–10. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>.
- Vedantam, S., Atreja, S. K., & Garg, M. (2012). Angiotensin-II induced nitric oxide production during buffalo sperm capacitation and acrosome reaction. *Research in veterinary science*, 92(2), 207–212. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.03.018>.
- Velavan, T. P., & Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. *Tropical medicine & international health*, 25(3), 278–280. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/tmi.13383>.
- Yang, M., Chen, S., Huang, B., Zhong, J. M., Su, H., Chen, Y. J., Cao, Q., Ma, L., He, J., Li, X. F., Li, X., Zhou, J. J., Fan, J., Luo, D. J., Chang, X. N., Arkun, K., Zhou, M., & Nie, X. (2020). Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications. *European urology focus*, 6(5), 1124–1129. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.euf.2020.05.009>.
- Zhang, S., Wang, X., Zhang, H., Xu, A., Fei, G., Jiang, X., Tu, J., Qu, G., Xu, X., & Li, Y. (2020). The absence of coronavirus in expressed prostatic secretion in COVID-19 patients in Wuhan city. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 96, 90–94. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.06.006>.