

Çevresel etkenler ve spermatogenez

Yrd. Doç. Dr. Engin Doğanekin¹, Dr. Serkan Özcan²

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD

²Artvin Devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği

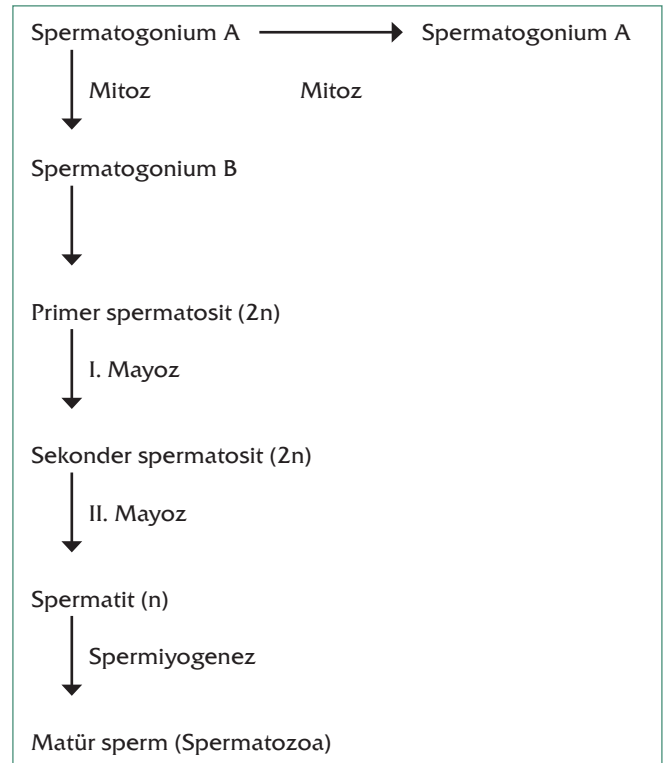
Giriş

Korunmasız 1 yıllık süreye rağmen çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerin %15'inde infertilite sorunu bulunmaktadır (1). İnfertilite sorunu yaşayan çiftlerin %50'sinde ise sorunun temelinde erkek faktörünün rol oynadığı düşünülmektedir (2). Erkek fertilitesi üreme sisteminin her aşamada fonksiyonel çalışmasına bağlıdır. Üreme sisteminin ciddi kimyasal maddelere maruz kalması üreme kapasitesinde çeşitli kusurlara neden olmaktadır. Sperm kalitesi üzerine yapılan son çalışmalar çevresel etmenlerin etkisinin genetik kusurların neden olduğu etkiden daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (3–7). Bu toksik etkilerin mekanizmalarının ortaya konulması infertilite tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Spermatogenez

Spermatogenez aktif cinsel yaşam sürecinde, ön hipofiz gonadotropik hormonlarının uyarısı sonucunda testislerdeki seminifer tüplerde gerçekleşen matür sperm oluşması olayıdır. Spermatogenez puberteyle birlikte başlar (13–16 yaş) ve yaşlanmayla hızı yavaşlamakla birlikte yaşlılığın son dönemlerine kadar sürebilir. Matür spermeler spermatogonium germ hücrelerinden oluşmaktadır. Bu süreç spermatogoniumların mitoz ile çoğalma aşaması olan spermatogenez, oluşan spermatogoniumun mayoz bölünme ile DNA yapısının yarıya düştüğü aşama ve spermin matür hale ulaştığı spermiyogenez aşamalarını içerir (Şekil 1). Testiste germ hücreleri ile birlikte peritübüler myeloid hücreler ve germ hücrelerine yapısal, immünolojik ve nütrisyonel desteği sağlayan sertoli hücreleri de bulunmaktadır (8,9).

Testisin esas endokrin salgısı testosterondur. Testosteron interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) tarafından sentez edilir. Testosteronun, spermatogenez üzerine etkilerine ilaveten sekonder seks karakterlerinin oluşumu, cinsel olgunlaşma, genital kanallar ve yardımcı bezlerinin



Şekil 1. Spermatogenez aşamaları

fonksiyonlarının devamlılığında da rolü vardır. Erkek seks hücrelerinin yapımı testisin başlıca ekzokrin fonksiyonu olup, pek çok faktöre bağlıdır. Hipofizin anterior lobundan salgılanan follikül stimüle edici hormon (FSH) memelilerde spermatogenezisi stimüle eder. FSH direkt olarak Sertoli hücrelerini etkileyerek androgen bağlayıcı protein (ABP) sentezi ve salınımını stimüle eder. ABP testosteron ile bağlanıp seminifer tubul lümenine salınır. Sertoli hücreleri aynı zamanda inhibin denilen bir diğer testiküler hormonu da salgılamaktadır. İnhibin kana geçerek ön hipofizden FSH salınımını inhibe eder.

Spermatogeneziste testis hormonu olan testosteron ile hipofiz hormonları olan FSH, LH ve androjen taşıyıcı proteinlerin rolü vardır. Ergenliğe ulaşıldığında hipofiz ön lobundan salgılanan LH testisin interstisyel dokusun-

da bulunan Leydig hücrelerini etkileyerek testesteronun salgılanmasına neden olur. Dolaşım ile tubuluslara gelen testesteronun ABP ile oluşturduğu kompleks spermatozoniumları etkileyerek mitozu başlatmaktadır. FSH spermatojenenezin başlatılması, LH ve Testesteron hormonu ise sürekliliği için gereklidir (10,11).

Çevresel faktörlerin spermatojeneze etkisi

Sperm parametreleri kişisel sağlık etkenleri (diyet, egzersiz, obezite ve fizyolojik stres), suistimal edilen maddeler (alkol, sigara, anabolik steroidler vb) ve çevresel faktörler (radyofrekans elektromanyetik radyasyon, çevre kirliliği, ısı) tarafından etkilenmektedir (12).

Vücut kitle indeksinin yüksek ($VKİ > 25 \text{ kg/m}^2$) ya da düşük ($VKİ < 20 \text{ kg/m}^2$) olması, besinsel doymuş yağların yüksek tüketimi, erkek fertilitesine olumsuz etki eder (13,14). Diğer taraftan diyetdeki omega-3, omega-6, vitamin C ve E, çinko, selenyum, folat, karnitin, karotenler sperm kalite ve sayısını artırmaktadır (15,16). Düzenli egzersiz yapmak, $VKİ$ 'ni optimal seviyede tutmayı sağladığı gibi testosteron seviyesini FSH ve LH üzerinden artırarak sperm parametreleri üzerine olumlu etki yapar (17). Savaş dönemlerinde, stresli iş hayatında, sınav dönemlerinde görülen fizyolojik stresin sperm kalite ve sayısını azalttığı izlenmiştir (18–20). Alkol, sigara, anabolik steroid, opiat kullanımı yine sperm hücreleri üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır (21–24). Ayrıca cep telefonu kullanımı, kirlilik, ısıya ve sigara dumanına maruz kalma gibi çevresel etkenlerde sperm kalite ve sayısını etkilemektedir.

Tüm bu sayılan etkenlerin doğrudan ya da dolaylı olarak sperm üzerine etkileri mevcut olup, spermatojenenez aşamalarında serbest oksijen radikallerinin (ROS) fonksiyonu da ayrıca önem arz etmektedir. Artmış ROS seviyeleri, özellikle lipid peroksidasyonu yoluyla sperm kalite ve fonksiyonunun azalması ile sonuçlanır (25). Tablo 1'de spermatojeneze etki eden çevresel faktörler özetlenmiştir.

1. Sigara

Sigaranın sperm kalite ve sayısına etki mekanizması tam olarak gösterilememişse de olumsuz etkisi açıktır (22). Testise ulaşan oksijen miktarını azaltmakta, bu durum da spermatojenenez için gerekli olan yüksek metabolik ihtiyacı ve ROS miktarını da artırmaktadır. Sigara içinde bulunan kadmiyum, benzopiren, karbon monoksit, naftalin gibi metabolitlerin neden olduğu oksidatif stres sper-

Tablo 1. Spermatojeneze etki eden çevresel faktörler

1.	Sigara
2.	Radyofrekans elektromanyetik radyasyon
3.	Isı
4.	Östrojen analogları
5.	Dioksinler
6.	Ağır metaller
7.	Pestisitler
8.	Diğer kimyasallar
9.	Destek besinler (Arginin, çinko, selenyum) (Olumlu anlamda)

matogenezeye doğrudan etki oluşturmakta, sperm DNA kırıklarına neden olmakta, sperm sayı ve kalitesini düşürmektedir (12,22,26).

2. Radyofrekans elektromanyetik radyasyon (RF-EMR)

Cep telefonunun yaygın kullanımı RF-EMR'in gonadlara zararlı etkisini artırmıştır (27). Birçok hayvan modeli çalışmada RF-EMR artışıyla Leydig hücrelerinin, semifer tübüllerin ve spermatozoaların direkt etkilendiği ve spermatojenenezin bozulduğu tespit edilmiştir (28). Ayrıca insan gözlemsel çalışmalarında sperm sayı, hız ve kalitesinde uzun süre cep telefonu kullanımına bağlı olarak düştüğü de gösterilmiştir (29,30). Bu etkilere ROS seviyesindeki yükselme ve total antioksidanlardaki düşmenin neden olduğu düşünülmektedir (31).

3. Isı

Testis skrotumda yer alıp, bu sayede vücut sıcaklığından $2-4^\circ\text{C}$ altındakiki ortam spermatojenenez için ideal sıcaklığı sağlamaktadır. Yükselen sıcaklık infertilite için potansiyel risk faktörüdür (32). Yapılan birçok çalışmada ısının germ hücre kayıplarına neden olduğu, sertoli hücre fonksiyonunu bozduğu, sperm hareketliliğini ve sayısını azalttığı gösterilmiştir (32,33). Kriptorşidizm, varikozel ve akut ateşli hastalıklarda bozulan testis sıcaklık değerlerinin; spermatojenenez mekanizmasını olumsuz yönde etkilediği rapor edilmiştir. Varikoselektomi sonrasında testis sıcaklık düzeyindeki normalleşme sperm kalite ve sayısında artışı sağlamaktadır (34).

Sauna'nın sık kullanılması, uzun süre oturma pozisyonu, araba sürme, sıkı kıyafetlerin giyilmesi, dizüstü bilgisayar kullanımının skrotal ısıyı arttırdığı ve spermatojenenez mekanizmasını bozduğu da gözlenmiştir (34–36).

4. Östrojen analogları

Bisfenol (BPA) ve ftalat doğada yaygın bulunan plastik atıklarındandır (37,38). BPA teneke kutularda, plastik saklama kaplarında, biberonlarda, diş dolgularında, kompakt disk benzeri materyaller (CD, DVD) gibi birçok yapıda bulunmaktadır (39–41). Ftalat ise kosmetik ürünlerde, ilaçlarda, oyuncaklarda, boyalarda ve inşaat malzemelerinde bulunmaktadır (42). Bu kimyasalların oral alınması, inhale edilmesi ya da transdermal maruz kalınması insanlarda en sık vücuda alınma yollarıdır. Yapısal olarak BPA östrojen analogudur. Bu yapısal özelliği endokrin sistemde fonksiyonel bozucu etki göstermesine yol açmaktadır (5,39). Hayvan deneylerinde düşük dozda (25 ng/Kg) kullanımının sperm sayısını düşürdüğü, spermatogenezi bozduğu, DNA yıkımlarına ve sperm morfolojisine zarar verdiği izlenmiştir (43–48). Ftalatlar da BPA gibi endokrin sistem üzerine zararlı etkiye sahiptir (5,49). Ftalat maruziyeti %40–69 oranında erkek infertilitesine neden olmaktadır (50). BPA benzeri etki ile hormonal fonksiyonları bozmakta Sertoli hücrelerini olumsuz etkilemekte ve germ hücre apoptozisine neden olmaktadır. Tüm bunların dışında; Ftalat spermatogenez, kolesterol biyosentezi, testosteron üretimi ve oksidatif stres yollarında görev alan genlerde de epigenetik değişikliklere neden olmaktadır (51–56).

5. Dioksinler

Dioksin lipofilik kimyasal türlerindedir. Doğada yok olmayan oldukça dirençli bir madde grubu olup, bu yığılma sonucunda ciddi toksik etkilere neden olmaktadır (57). Dioksin genelde Pestisid yapımında kullanılmakta olup, medikal artık ve plastik maddelerin yakılması ile ortaya çıkmaktadır. Toprakta, göllerde ve denizlerde yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir (58). Toksik etkisini hidrokarbon reseptörlere bağlanabilme yeteneğinden almaktadır (59). İnsanlarda immün sistemin baskılanmasına, tiroid disfonksiyonuna ve üreme ve gelişme anormalliğine neden olmaktadır. Sperm sayısını düşürmektedir (60,61).

6. Ağır metaller

Ağır metaller doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Endüstriyel yapılar, yiyecek, besinsel destekler, su, hava, alkol, sigara, vb. birçok alanda saptanmaktadır (62). Kurşun, civa, kadmiyum, arsenik ve krom sözü edilen bu toksik

ağır metallerin başlıca olanlarıdır (63,64). Ağır metallerin üreme sağlığına başlıca olumsuz etkileri spermatogenezin birçok aşamasında ve testisteki hormonal dengede görülmektedir. Ayrıca ROS miktarını da arttırmakta, DNA yıkılmasına ve spermatozoa apoptozisine neden olmaktadır (63,65). Kadmiyum spermatogonyum hücrelerinin yıkımına, kurşun sperm kuyruk anomalilerine ve sertoli hücre morfolojisi bozukluğuna, alüminyum plazma zarı enzimlerini etkileyerek spermatogenezin bozulmasına neden olmaktadır. Krom da sözü edilen benzer etkilere sahiptir (66,67).

7. Pestisitler

Pestisitler, yiyecek üretimini arttırmak, korumak ve hızlandırmak amacıyla kullanılan endüstriyel maddelerdir. Pestisitler genel olarak böceklerin ve mantarların yok edilmesi, zararlı otların ortamdaki uzaklaştırılması ve gübre yapımında kullanılmaktadır. Çalışmalar bu maddelerin, endokrin sistem bozucu etkilerinin olduğunu göstermiştir. Spermatogenez üzerine hormonal ve genomik yoldan etki etmektedirler. Hormonal dengeyi bozmakta (testosteron miktarını azaltmakta) ve gen ekspresyonuna neden olmaktadır. Sertoli hücre fonksiyonuna etki ederek sperm morfolojisini değiştirmekte ve sayısını azaltmaktadır. Ayrıca ROS üretimini de arttırmaktadırlar (68,69).

8. Diğer kimyasallar

Yapıştırıcılar, boya çıkarıcılar, mürekkep ve mürekkep çıkarıcılar, temizleme ve yağ giderme maddeleri, boya, vernik, cila ve reçinelerin içerdiği çözücüler ile plastik, klorlandırılmış lastik, alevlenme geciktirici maddeler, mikroelektronik devrelerde bulunan bifeniller spermatogenezini bozan, doğada bulunan kimyasallar arasındadır (70,71).

9. Spermatogenezise destek sağlayan besinler

Spermatogenezise olumlu etki eden besinler arasında Arginin, Çinko, Selenyum, Koenzim Q10, Karnitin ve L-Karnitin, Glutasyon, Vitamin E,A ve C yer almaktadır. Bu besinler sperm kalite ve sayısını arttırmaktadır ve infertilite tedavisinde kullanılmaktadır (18,72–78).

Sonuç

Birçok çevresel faktör spermatogenezise olumsuz etki etmekte ve erkek infertilitesine neden olmaktadır. Bu

maddeler farkına varmadan yan etkilere neden olmakta ve infertil erkek sayısını arttırmaktadır. Bu alanda yapılacak yeni çalışmalar infertilite üzerindeki çevresel etkenleri

açığa çıkaracak önlemler alınmasına ışık tutacaktır. Bununla beraber bazı gıda desteklerinin ise spermatogenezise olumlu etki gösterdiği de unutulmamalıdır.

Kaynaklar

- Mosher WD. Reproductive impairments in the United States, 1965–1982. *Demography*. 1985;22(3):415–30.
- Sigman M. Male infertility. *Medicine and health, Rhode Island*. 1997;80(12):406–9. Epub 1998/01/20. PubMed PMID: 9433070.
- Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Louis GMB, Toppari J, Andersson A-M, Eisenberg ML, et al. Male Reproductive Disorders and Fertility Trends: Influences of Environment and Genetic Susceptibility. *Physiological Reviews*. 2016;96(1):55–97.
- Jeng HA. Exposure to endocrine disrupting chemicals and male reproductive health. *Front Public Health*. 2014;2(55.10):3389.
- Knez J. Endocrine-disrupting chemicals and male reproductive health. *Reproductive biomedicine online*. 2013;26(5):440–8.
- Tavares R, Escada-Rebello S, Correia M, Mota P, Ramalho-Santos J. The non-genomic effects of endocrine-disrupting chemicals on mammalian sperm. *Reproduction*. 2016;151(1):R1-R13.
- Sharpe RM. Environmental/lifestyle effects on spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 2010;365(1546):1697–712.
- Hai Y, Hou J, Liu Y, Liu Y, Yang H, Li Z, et al., editors. The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells and spermatogenesis. *Seminars in cell & developmental biology*; 2014: Elsevier.
- Vogl A, Soucy L, Foo V. Ultrastructure of sertoli-cell penetrating processes found in germ cells of the golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*). *American journal of anatomy*. 1985;172(1):75–86.
- O'shaughnessy P, Monteiro A, Verhoeven G, De Gendt K, Abel M. Effect of FSH on testicular morphology and spermatogenesis in gonadotrophin-deficient hypogonadal mice lacking androgen receptors. *Reproduction*. 2010;139(1):177–84.
- Chowdhury A. Dependence of testicular germ cells on hormones: a quantitative study in hypophysectomized testosterone-treated rats. *Journal of Endocrinology*. 1979;82(3):331–NP.
- Barazani Y, Katz BF, Nagler HM, Stember DS. Lifestyle, environment, and male reproductive health. *Urologic Clinics of North America*. 2014;41(1):55–66.
- Hassan MA, Killick SR. Effect of male age on fertility: evidence for the decline in male fertility with increasing age. *Fertility and sterility*. 2003;79:1520–7.
- Olsen J, Ramlau-Hansen CH. Dietary fats may impact semen quantity and quality. *Asian J Androl*. 2012;14(4):511–2.
- Safarinejad MR, Safarinejad S. The roles of omega-3 and omega-6 fatty acids in idiopathic male infertility. *Asian J Androl*. 2012;14(4):514–5.
- Ross C, Morriss A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, Coomarasamy A, et al. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reproductive biomedicine online*. 2010;20(6):711–23.
- Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto ME, Garcia-Manso JM, Barrera N, Vaamonde-Lemos R. Physically active men show better semen parameters and hormone values than sedentary men. *European journal of applied physiology*. 2012;112(9):3267–73.
- Lampiao F. Variation of semen parameters in healthy medical students due to exam stress. *Malawi Medical Journal*. 2009;21(4).
- Abu-Musa AA, Nassar AH, Hannoun AB, Usta IM. Effect of the Lebanese civil war on sperm parameters. *Fertility and sterility*. 2007;88(6):1579–82.
- Jurewicz J, Hanke W, Sobala W, Merez D, Radwan M. [The effect of stress on the semen quality]. *Medycyna pracy*. 2009;61(6):607–13.
- Salonen I, Huhtaniemi I. Effects of chronic ethanol diet on pituitary-testicular function of the rat. *Biology of reproduction*. 1990;42(1):55–62.
- Meri ZB, Irshid IB, Migdadi M, Irshid AB, Mhanna SA. Does cigarette smoking affect seminal fluid parameters? A comparative study. *Oman medical journal*. 2013;28(1):12–6.
- McDougal WS, Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, et al. *Campbell-Walsh Urology 10th Edition Review*: Elsevier Health Sciences; 2011.
- Abs R, Verhelst J, Maeyaert J, Van Buyten J-P, Opsomer F, Adriaenssens H, et al. Endocrine consequences of long-term intrathecal administration of opioids. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000;85(6):2215–22.
- O'Flaherty C, de Lamirande E, Gagnon C. Positive role of reactive oxygen species in mammalian sperm capacitation: triggering and modulation of phosphorylation events. *Free Radical Biology and Medicine*. 2006;41(4):528–40.
- Li Y, Lin H, Li Y, Cao J. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: systematic review and meta-analyses. *Fertility and sterility*. 2011;95(1):116–23.
- Merhi ZO. Challenging cell phone impact on reproduction: a review. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2012;29(4):293–7.
- Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Effects of the exposure to mobile phones on male reproduction: a review of the literature. *Journal of andrology*. 2012;33(3):350–6.
- Fejes I, Závaczki Z, Szöllősi J, Koloszar S, Daru J, Kovacs L, et al. Is there a relationship between cell phone use and semen quality? *Archives of andrology*. 2009.
- Wdowiak A, Wdowiak L, Wiktor H. Evaluation of the effect of using mobile phones on male fertility. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2007;14(1):169–72.
- Agarwal A, Desai NR, Makker K, Varghese A, Mouradi R, Sabanegh E, et al. Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an in vitro pilot study. *Fertility and sterility*. 2009;92(4):1318–25.
- Kim B, Park K, Rhee K. Heat stress response of male germ cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2013;70(15):2623–36.
- Ghasemi N, Babaei H, Azizollahi S, Kheradmand A. Effect of long-term administration of zinc after scrotal heating on mice spermatozoa and subsequent offspring quality. *Andrologia*. 2009;41(4):222–8.
- Jung A, Schuppe HC. Influence of genital heat stress on semen quality in humans. *Andrologia*. 2007;39(6):203–15.
- Pacey A. Environmental and lifestyle factors associated with sperm DNA damage. *Human Fertility*. 2010;13(4):189–93.
- Wang C, McDonald V, Leung A, Superlano L, Berman N, Hull L, et al. Effect of increased scrotal temperature on sperm production in normal men. *Fertility and sterility*. 1997;68(2):334–9.
- Huang Y, Wong C, Zheng J, Bouwman H, Barra R, Wahlström B, et al. Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment international*. 2012;42:91–9.
- Hammer J, Kraak MH, Parsons JR. Plastics in the marine environment: the dark side of a modern gift. *Reviews of environmental contamination and toxicology*: Springer; 2012. p. 1–44.
- Rubin BS. Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2011;127(1):27–34.
- Ehrlich S, Calafat AM, Humblet O, Smith T, Hauser R. Handling of thermal receipts as a source of exposure to bisphenol A. *JAMA*. 2014;311(8):859–60.
- Liao C, Kannan K. Widespread occurrence of bisphenol A in paper and paper products: implications for human exposure. *Environmental science & technology*. 2011;45(21):9372–9.
- Fromme H, Bolte G, Koch HM, Angerer J, Boehmer S, Drexler H, et al. Occurrence and daily variation of phthalate metabolites in the urine of an adult population. *International journal of hygiene and environmental health*. 2007;210(1):21–33.
- Manfo FPT, Jubendradass R, Nantia EA, Moundipa PF, Mathur PP. Adverse effects of bisphenol A on male reproductive function. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 228*: Springer; 2014. p. 57–82.

44. Jin P, Wang X, Chang F, Bai Y, Li Y, Zhou R, et al. Low dose bisphenol A impairs spermatogenesis by suppressing reproductive hormone production and promoting germ cell apoptosis in adult rats. *J Biomed Res.* 2013;27(2):135-44.
45. Chitra K, Latchoumycandane C, Mathur P. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology.* 2003;185(1):119-27.
46. Al-Hiyasat AS, Darmani H, Elbetieha AM. Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. *European journal of oral sciences.* 2002;110(2):163-7.
47. Salian S, Doshi T, Vanage G. Neonatal exposure of male rats to Bisphenol A impairs fertility and expression of sertoli cell junctional proteins in the testis. *Toxicology.* 2009;265(1):56-67.
48. Hengstler J, Foth H, Gebel T, Kramer P-J, Lilienblum W, Schweinfurth H, et al. Critical evaluation of key evidence on the human health hazards of exposure to bisphenol A. *Critical reviews in toxicology.* 2011;41(4):263-91.
49. Grady R, Sathyanarayana S. An update on phthalates and male reproductive development and function. *Current urology reports.* 2012;13(4):307-10.
50. Hauser R, Skakkebaek NE, Hass U, Toppari J, Juul A, Andersson AM, et al. Male reproductive disorders, diseases, and costs of exposure to endocrine-disrupting chemicals in the European Union. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2015;100(4):1267-77.
51. Foster P. Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters. *International journal of andrology.* 2006;29(1):140-7.
52. Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter JP. The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. *Environmental health perspectives.* 1997;105(8):802.
53. Borch J, Axelstad M, Vinggaard AM, Dalgaard M. Diisobutyl phthalate has comparable anti-androgenic effects to di-n-butyl phthalate in fetal rat testis. *Toxicology letters.* 2006;163(3):183-90.
54. Fisher JS, Macpherson S, Marchetti N, Sharpe RM. Human 'testicular dysgenesis syndrome': a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Human Reproduction.* 2003;18(7):1383-94.
55. Desdoits-Lethimonier C, Albert O, Le Bizec B, Perdu E, Zalko D, Courant F, et al. Human testis steroidogenesis is inhibited by phthalates. *Human Reproduction.* 2012;des069.
56. Main KM, Mortensen GK, Kaleva MM, Boisen KA, Damgaard IN, Chelakooty M, et al. Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environmental health perspectives.* 2006;270-6.
57. Bertazzi PA. Long-term effects of chemical disasters. Lessons and results from Seveso. *Science of the total environment.* 1991;106(1-2):5-20.
58. Kjeller L-O, Rappe C. Time trends in levels, patterns, and profiles for polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in a sediment core from the Baltic proper. *Environmental science & technology.* 1995;29(2):346-55.
59. Robles R, Morita Y, Mann KK, Perez GI, Yang S, Matikainen T, et al. The aryl hydrocarbon receptor, a basic helix-loop-helix transcription factor of the PAS gene family, is required for normal ovarian germ cell dynamics in the mouse. *Endocrinology.* 2000;141(1):450-3.
60. Mably TA, Bjerke DL, Moore RW, Gendron-Fitzpatrick A, Peterson RE. In utero and lactational exposure of male rats to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capability. *Toxicology and applied pharmacology.* 1992;114(1):118-26.
61. Aragon AC, Kopf PG, Campen MJ, Huwe JK, Walker MK. In utero and lactational 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure: effects on fetal and adult cardiac gene expression and adult cardiac and renal morphology. *Toxicological sciences.* 2008;101(2):321-30.
62. Wirth JJ, Mijal RS. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Systems Biology in Reproductive Medicine.* 2010;56(2):147-67.
63. Carette D, Perrard M-H, Prisant N, Gilleron J, Pointis G, Segretain D, et al. Hexavalent chromium at low concentration alters Sertoli cell barrier and connexin 43 gap junction but not claudin-11 and N-cadherin in the rat seminiferous tubule culture model. *Toxicology and applied pharmacology.* 2013;268(1):27-36.
64. Kalender S, Uzun FG, Demir F, Uzunhisarcıklı M, Aslanturk A. Mercuric chloride-induced testicular toxicity in rats and the protective role of sodium selenite and vitamin E. *Food and chemical toxicology.* 2013;55:456-62.
65. Rana S. Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals—a review. *Biological trace element research.* 2014;160(1):1-14.
66. Rignell-Hydbom A, Axmon A, Lundh T, Jönsson BA, Tiido T, Spano M. Dietary exposure to methyl mercury and PCB and the associations with semen parameters among Swedish fishermen. *Environmental Health.* 2007;6(1):14.
67. Kaizer RR, Gutierrez JM, Schmatz R, Spanevello RM, Morsch VM, Schettinger MR, et al. In vitro and in vivo interactions of aluminum on NTP-Dase and AChE activities in lymphocytes of rats. *Cellular immunology.* 2010;265(2):133-8.
68. Bretveld R, Brouwers M, Ebisch I, Roeleveld N. Influence of pesticides on male fertility. *Scandinavian journal of work, environment & health.* 2007;33(1):13-28. Epub 2007/03/14. PubMed PMID: 17353961.
69. Mehrpour O, Karrari P, Zamani N, Tsatsakis AM, Abdollahi M. Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: a review. *Toxicology letters.* 2014;230(2):146-56.
70. McKinney JD, Waller CL. Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural analogues. *Environmental Health Perspectives.* 1994;102(3):290.
71. Allard EK, Boekelheide K. Fate of Germ Cells in 2, 5-Hexanedione-Induced Testicular Injury: II. Atrophy Persists Due to a Reduced Stem Cell Mass and Ongoing Apoptosis. *Toxicology and applied pharmacology.* 1996;137(2):149-56.
72. Clarke RN, Klock SC, Geoghegan A, Travassos DE. Relationship between psychological stress and semen quality among in-vitro fertilization patients. *Human Reproduction.* 1999;14(3):753-8.
73. Zorn B, Auger J, Velikonja V, Kolbezen M, Meden-Vrtovec H. Psychological factors in male partners of infertile couples: relationship with semen quality and early miscarriage. *International journal of andrology.* 2008;31(6):557-64.
74. Kim JH, Kim HJ, Noh HS, Roh GS, Kang SS, Cho GJ, et al. Suppression by ethanol of male reproductive activity. *Brain research.* 2003;989(1):91-8.
75. Emanuele MA, Emanuele N. Alcohol and the male reproductive system. *Alcohol Research and Health.* 2001;25(4):282-7.
76. Zhu Q, Van Thiel DH, Gavaler JS. Effects of ethanol on rat Sertoli cell function: studies in vitro and in vivo. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 1997;21(8):1409-17.
77. Martinez M, Macera S, De Assis G, Pinheiro P, Almeida C, Tirapelli L, et al. Structural evaluation of the effects of chronic ethanol ingestion on the testis of *Calomys callosus*. *Tissue and Cell.* 2009;41(3):199-205.
78. Van Thiel D, Lester R, Sherins R. Hypogonadism in alcoholic liver disease: evidence for a double defect. *Gastroenterology.* 1974;67(6):1188.