

Obezitenin sperm fonksiyonlarına etkisi

Yrd. Doç. Dr. Elvan Koyun

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Obezite ve ona bağlı sağlık sorunları, diğer dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de giderek artmaktadır. Günümüzde maternal obezitenin oositi ve dolayısıyla gebeliği etkileyerek fertilitiyi azalttığı bilinmektedir. Ancak erkek obezitesinin infertilitedeki potansiyel rolü göz ardı edilmiştir. Oysa erkek gamet, embriyonun genetik materyalinin yarısını içermektedir ve üreme çağındaki erkeklerin yarıdan fazlası obezdır. Ayrıca sperm fonksiyon bozuklukları infertilitenin en sık nedenlerinden biridir. Bu derlemede paternal obezitenin sperm fonksiyonlarına etkileri ile ilgili çalışmaların özetlenmesi amaçlanmıştır.

Dünya genelinde azalan sperm kalitesine paralel olarak erkek infertilitesinde bir artış görülmektedir (1,2). Sperm kalitesinde gözlenen azalmanın nedenleri net olarak bilinmemektedir. Paternal sağlığın üreme üzerindeki etkisiyle ilgili yapılmış çalışmaların en karakteristik olanı paternal sigara içimidir. Perikonsepsiyonel paternal sigara içiminin konjenital kalp hastalıkları riskini arttırdığını gösteren güncel bir çalışma bulunmaktadır (3). Paternal yaşla otizm ve şizofreni arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar vardır (4,5).

Paternal obezitenin çocuk ve ergen sağlığına etkisi çok iyi bilinmemektedir. Epidemiyolojik çalışmalar obez babaların olasılıkla obez çocukları olduğunu göstermektedir (6). Güncel bir çalışmada maternal vücut kitle indeksi (VKİ)'nin paternal VKİ'ne göre daha önemli olduğu vurgulanmıştır (7).

Obezite prevalansındaki artış, araştırmacıları erkeklerdeki obezitenin infertilite ile ilişkisini araştırmaya yöneltmiştir. Paternal obezitenin spermi veya embriyoyu etkilediği mekanizmalar henüz net değildir. Obez erkek partneri olan çiftlerde gebe kalma sürecinin uzadığı görülmüştür (8).

Erkek obezitesi ve değişen hormon profilleri

Spermatogenez, puberte başlangıcından ölüme dek

süren oldukça kompleks bir olaydır. Bu kompleks süreç, hipotalamus, pitüiter bezler ve testislerde lokalize Leydig ve Sertoli hücreleri tarafından düzenlenir. Testislerin fonksiyonunu esas olarak hipofizden salınan iki hormon düzenler. Bunlar folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH)'dur. LH, Leydig hücrelerine etki ederek bu hücrelerden testosteron üretilmesine neden olur. FSH ise spermatogenez başlatır. FSH ve LH'nın salınımı ise gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) tarafından kontrol edilir. LH, testislerdeki Leydig hücrelerini uyarak testosteron salınımına yol açmaktadır. FSH'nın Sertoli hücreleri üzerinde etkili olduğu ve adenilat siklazı uyarak cAMP düzeylerini arttırdığı bilinmektedir. FSH ayrıca seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) sentezini ve salgısını da uyandır. FSH sertoli hücrelerini uyarak başta SHBG ve inhibin olmak üzere onlarca molekülün salgılanmasına yol açarak spermatogenezin başlatılması ve devam ettirilmesinde rol oynamaktadır (9).

Normal erkeklerde artan VKİ, azalmış serum seks hormonları, SHBG, testosteron, inhibin B ve FSH düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (10). Bir meta-analizde VKİ ile serum testosteron ve SHBG arasında negatif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (11). VKİ'yi yüksek erkeklerde fazla sentezlenen insülinin hepatik globülini inhibe ettiği düşünülmektedir (12).

Erkek obezitesi ve temel semen analizi

Tablo 1'de erkek obezitesinin temel sperm parametreleri (sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve morfoloji) üzerine etkilerini bildiren çalışmalar toplu olarak verilmiştir (13-14). Tabloda yer alan 23 çalışmadan 15'i erkek obezitesinin sperm konsantrasyonunu azalttığını bildirmiştir (15-29). Sekiz çalışmada ise sperm konsantrasyonunun obeziteden etkilenmediği bildirilmiştir (10,30-36).

2139 erkek üzerinde yapılan bir çalışmada erkek obe-

Tablo 1: Paternal obezite ve sperm parametrelerini araştıran çalışmaların özeti

| | Konsantrasyon | Motilite | Morfoloji |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Strain ve ark (1982) | azalır | değişiklik yok | belirtilmemiş |
| Jensen ve ark (2004) | azalır | değişiklik yok | azalır |
| Magnusdottir ve ark (2005) | azalır | azalır | belirtilmemiş |
| Fejes ve ark (2005) | azalır | değişiklik yok | değişiklik yok |
| Koloszar ve ark (2005) | azalır | belirtilmemiş | belirtilmemiş |
| Kort ve ark (2006) | azalır | azalır | azalır |
| Qin ve ark (2007) | değişiklik yok | değişiklik yok | değişiklik yok |
| Hammoud ve ark (2008) | azalır | azalır | azalır |
| Pauli ve ark (2008) | değişiklik yok | değişiklik yok | değişiklik yok |
| Aggerholm ve ark (2008) | değişiklik yok | değişiklik yok | değişiklik yok |
| Nicopoulou ve ark (2009) | azalır | belirtilmemiş | belirtilmemiş |
| Hofny ve ark (2009) | azalır | azalır | azalır |
| Stewart ve ark (2009) | azalır | belirtilmemiş | belirtilmemiş |
| Kriegel ve ark (2009) | değişiklik yok | değişiklik yok | azalır |
| Chavarro ve ark (2010) | değişiklik yok | değişiklik yok | değişiklik yok |
| Sekhvat ve ark (2010) | azalır | azalır | belirtilmemiş |
| Paasch ve ark (2010) | azalır | değişiklik yok | azalır |
| Shayeb ve ark (2011) | değişiklik yok | değişiklik yok | azalır |
| Tunc ve ark (2011) | azalır | değişiklik yok | değişiklik yok |
| Rybar ve ark (2011) | değişiklik yok | değişiklik yok | değişiklik yok |
| Bakos ve ark (2011) | azalır | azalır | değişiklik yok |
| Fariello ve ark (2012) | değişiklik yok | azalır | değişiklik yok |
| Sermondade ve ark (2012) | azalır | belirtilmemiş | belirtilmemiş |

zitesi ile sperm konsantrasyonu arasında ilişki görülmemiştir. Bu çalışmanın kısıtlayıcı yönü VKI' nin ölçülmemiş olup anamnezle öğrenilmiş olmasıdır (31). 2010 yılında yapılmış bir meta-analiz çalışmasında da erkek obezitesi ile sperm konsantrasyonu arasında ilişki saptamamıştır (11). 2012 yılında yapılan güncel bir çalışmada ise obezitenin azospermi ve oligospermi olasılığını arttırdığı ileri sürülmüştür (29).

Erkek obezitesi ile sperm motilitesi arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Yirmi üç çalışmadan 7'si sperm motilitesinin, erkek obezitesi ile ilişkili olarak azaldığını göstermektedir (17,20,21,23,25,28,36). Ancak 12 çalışmada erkek obezitesi ile sperm motilitesi arasında ilişki saptamamıştır (10,15,16,18,26,27,30-35). Bu çelişki seçilen popülasyonla veya motiliteyi belirlemek için kullanılan yöntemle ilişkili olabilir. Yirmi üç çalışmadan 7'si sperm morfolojisinin, erkek obezitesi ile ilişkili olarak azaldığını göstermektedir (16,20,21,23,26,32,34). Ancak 9 çalışmada sperm morfolojisinin obeziteden etkilendiği bildirilmiştir (10,18,27,28,30,31,33,35,36).

Erkek obezitesi ve sperm DNA hasarı

Sperm parametreleri erkek infertilitesinde önemli ölçütlerdir. Ancak spermin moleküler yapısının ve içe-

riğinin sağlıklı gebelikler için önem taşıdığı görüşü gün geçtikçe artmaktadır. Sperm DNA bütünlüğü, başarılı fertilizasyon ve normal embriyonik gelişim için önemlidir. DNA hasarlı spermle başarılı gebelikler arasında negatif bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (37-38).

Erkek obezitesinin temel semen parametrelerine etkisi ve DNA hasarının birlikte değerlendirildiği iki çalışmada erkek obezitesi ile spermdeki DNA hasar düzeyinde artış arasında ilişki saptanmıştır (20,33).

Erkek infertilitesine neden olan pek çok genetik faktör olduğu bilinmektedir. Genetik defektlerle bilinen bazı obezite sendromları hem obeziteden hem de spermatogenezden sorumlu tek gen fonksiyon kaybına bağlı olarak özellikle erkek infertilitesi ile ilişkili bulunmuştur. (örneğin Alström sendromunda Alms 1 geni) (39-40). Benzer olarak kromozomal bölgedeki (15q11-q13) birkaç gen hem obeziteye hem de defektif spermatogenez (örneğin Prader-Willi sendromu ve Angelman sendromları) yol açmaktadır (41). Ayrıca sigara içimi gibi pek çok yaşam stili faktörleri sperm fonksiyonunu bozmakta ve bu nedenle bu tür çalışmaların analizlerini zorlaştırmaktadır. Bugüne kadar obezitenin fertilite üzerine etkisini direk araştıran kontrollü hayvan modeli çalışmalarının azlığı da bu konudaki çelişkilere yol açmaktadır.

Hayvan çalışmaları

Erkek obezitesi ile sperm parametreleri arasındaki ilişkiyi araştıran az sayıda hayvan çalışması bulunmaktadır. Obez erkek farelerde sperm motilitelerinde azalma saptanmıştır. Çalışmada şaşırtıcı olan bu farelerin sadece obez olmayıp aynı zamanda göreceli yaşlı olmalarıydı ve bu fareler daha yüksek serum glukoz düzeyleri, hiperinsülinemi ve leptin direncine sahipti. Obeziteden çok bu değişikliklerin sperm motilitesinde etkili olabileceği düşünülmüştür (42).

Ratlarla yapılmış diğer bir çalışmada ise obezitenin sperm motilitesini azaltabileceği ancak diğer sperm parametrelerini etkilemediği bildirilmiştir (43).

Farelerde paternal obezitenin ilk klivajdan başlayarak preimplantasyon periyodu boyunca gecikmiş embriyo gelişimine neden olduğu görülmüştür (44-45).

Paternal obezitenin embriyo gelişimine ve gebelik sonuçlarına etkisi

Maternal obezitenin yeni doğan ve gebelik üzerine etkileri hem hayvan modellerinde hem insanda araştırılmıştır. Ancak paternal obezitenin embriyo gelişimi ve gebelik üzerine etkileri konusunda çok az çalışma vardır.

Embriyo gelişimi üzerine paternal etkisi en çok çalışılan konu sıcaklıktır. Rodentlerde diyabet, hafif skrotal sıcaklık stresi, paternal sıcaklık stresi ve insanlarda ilerlemiş erkek yaşı ile ilgili olarak normal preimplante embriyo gelişiminde gecikme bildirilmiştir (46-49).

Farelerde paternal sıcaklık stresiyle embriyo kalitesi arasındaki ilişki araştırılmış ve çalışmada blastosist hücre sayısında azalma görülmüştür (50).

Farelerde erkek obezitesinin preimplante embriyo gelişimi ve kalitesi üzerine etkisini araştıran da çok az çalışma vardır. DNA hasarlı spermi olan hayvan modelleri ile

yapılan bazı çalışmalarda in vitro fertilizasyon veya intrasi-toplazmik sperm enjeksiyonu sonrası embriyo gelişimine bakılmıştır. Örneğin radyasyona maruz kalmış sığır sperm-lerinde fertilizasyonun bozulmadığı ancak ikinci veya üçüncü klivajda embriyolarda artan apoptozla blastosiste gelişim aşamasının bloke olduğu görülmüştür (51).

Ayrıca radyasyona maruz kalmış veya dondurulmuş çözülmüş fare spermlerinin zigotlarının bölündüğü ve erkek klivaj aşamalarına kadar normal gelişim gösterdiği bildirilmiştir. Ancak dondurulmuş çözülmüş spermle implantasyon oranının düştüğü saptanmıştır ve artan radyasyona maruziyetle fetal gelişimde doza bağlı olarak gerileme görülmüştür (52-53).

Ayrıca farelerde intrasitoplazmik sperm enjeksiyonunu takiben DNA hasarlı dondurulmuş çözülmüş sperm kullanımının, yetişkin çağa gelmiş yavrularda anormal büyüme, erken yaşlanma, anormal davranış ve mezenşimal tümörler gibi sorunlara yol açabileceği düşünülmektedir (54).

İnsanlarda DNA fragmantasyonu veya hasarının blastosiste gidiş sürecinde kötü gelişim, azalmış postimplantasyon gelişimi ve azalmış gebelik oranları ile ilişkili olduğuna dair önemli kanıtlar vardır (55-57). Paternal VKİ ile erken embriyo gelişimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı bir başka çalışmada, artan paternal VKİ ile blastosist gelişiminde, klinik gebelik oranlarında ve canlı doğum sayısında azalma bildirilmiştir (58).

Günümüzdeki çalışmalar, paternal obezitenin fertilitte üzerine olumsuz etkileriyle ilgili soruları kısmen aydınlatmaktadır. Ancak bu etkilerle ilgili mekanizmaların tam olarak aydınlatılabilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

Sonuç olarak obezite erkek infertilitesini etkileyen bir faktördür. Obezitenin önlenmesi veya tedavi edilmesi erkek infertilitesi üzerindeki negatif etkileri ortadan kaldıracaktır.

Kaynaklar:

1. Merzenich H, Zeeb H, Blettner M. Decreasing sperm quality: a global problem?. *BMC Public Health*.2010;10: 24.
2. Aitken RJ. Failing sperm counts twenty years on: where are we now?. *Asian Journal of Andrology*. 2013;15: 204-207.
3. Deng K, Liu Z, Lin Y, Mu D, Chen X, Li J, Li N, Deng Y, Li X, Wang Y, Li S, Zhu J. Periconceptional paternal smoking and the risk of congenital heart defects: a case-control study. *Birth Defects Research (Part A)*. 2013;97: 210-216.
4. Hubert A, Szöke A, Leboyer M, Schürhoff F. Influence of paternal age in schizophrenia. 2011;37(3): 199-206.
5. Frans EM, Sandin S, Reichenberg A, Långström N, Lichtenstein P, McGrath JJ, Hultman CM. Autism risk across generations: a population-based study of advancing grandpaternal and paternal age.*JAMA Psychiatry*. 2013;70(5): 516-521.
6. Li L, Law C, Lo Conte, Power, C. Intergenerational influences on childhood body mass index: the effect of parental body mass index trajectories. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(2) 551 - 557.
7. Linabery AM, Nahhas RW, Johnson W, Choh AC, Towne B, Odegaard AO, Czerwinski SA, Demerath EW. Stronger influence of maternal than paternal obesity on infant and early childhood body mass index: the Fels Longitudinal Study. *Pediatr Obes*. 2013; 8(3):159-169.

8. Nguyen RHN, Wilcox AJ, Skjærven R, Baird DD. Men's body mass index and infertility. *Human Reproduction*. 2007; 22(9): 2488–2493.
9. De Kretser DM, Meihardt A, Meehan T, Phillips DJ, O'Bryan MK, Loveland KA. The roles of inhibin related peptides in gonadal function. *Mol Cell Endocrinol*. 2000; 161(1-2): 43–46.
10. Pauli EM, Legro RS, Demers LM, Kunselman AR, Dodson WC, Lee PA. Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men. *Fertil Steril*. 2008;90(2): 346–351.
11. Mac Donald AA, Herbison GP, Showell M, Farquhar CM. The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. 2010; *Hum Reprod Update*; 6(3): 293–311.
12. Pasquali R, Patton L, Gambineri A. Obesity and infertility. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2007; 14(6): 482–487.
13. Hammoud AO, Meikle AW, Reis LO, Gibson M, Peterson CM, Carrell DT. Obesity and male infertility: a practical approach. *Semin Reprod Med*. 2012; 30(6):486–495.
14. Palmer NO, Bakos HW, Fullston T, Lane M. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis* 2012;24:1–11.
15. Strain GW, Zumoff B, Kream J, Strain JJ, Deucher R, Rosenfeld RS, Levin J, Fukushima DK. Mild Hypogonadotropic hypogonadism in obese men. *Metabolism*. 1982;31(9):871–875.
16. Jensen TK, Andersson A-M, Jørgensen N, Andersen A-G, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebaek NE. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril*. 2004;82(4): 863–870.
17. Magnusdottir EV, Thorsteinsson T, Thorsteinsdottir S, Heimisdottir M, Olafsdottir K. Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Hum Reprod*. 2005;20(1):208–215.
18. Fejes I, Koloszar S, Szöllosi J, Závaczki Z, Pál A. Is semen quality affected by male body fat distribution? *Andrologia*. 2005;37(5):155–159.
19. Koloszar S, Fejes I, Závaczki Z, Daru J, Szöllosi J, Pál A. Effect of body weight on sperm concentration in normozoospermic males. *Arch Androl*. 2005;51(4):299–304.
20. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, Roudebush WE. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl*. 2006;27: 450–452.
21. Hammoud AO, Wilde N, Gibson M, Parks A, Carell DT, Meikle AW. Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertil Steril*. 2008b;90: 2222–2225.
22. Nicopoulou SC, Alexiou M, Michalakakis K, Ilias I, Venaki E, Koukkou E, Mitios G, Billa E, Adamopoulos DA. Body mass index vis-à-vis total sperm count in attendees of a single andrology clinic. *Fertil Steril*. 2009;92(3):1016–1017.
23. Hofny ER, Ali ME, Abdel-Hafez HZ, Kamal Eel-D, Mohamed EE, Abd El-Azeem HG, Mostafa T. Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *Fertil Steril*. 2010;94(2): 581–584.
24. Stewart TM, Liu DY, Garrett C, Jørgensen N, Brown EH, Baker HW. Associations between andrological measures, hormones and semen quality in fertile Australian men: inverse relationship between obesity and sperm output. *Hum Reprod*. 2009;24(7):1561–1568.
25. Sekhavat L, Moein MR. The effect of male body mass index on sperm parameters. *Aging Male*. 2010;13(3):155–158.
26. Paasch U, Grunewald S, Kratzsch J, Glander HJ. Obesity and age affect male fertility potential. *Fertil Steril*. 2010;94(7):2898–2901.
27. Tunc O, Bakos HW, Tremellen K. Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia*. 2011;43(2):121–128.
28. Bakos HW, Henshaw RC, Mitchell M, Lane M. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live birth rates following assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2011;95(5):1700–1704.
29. Sermondade N, Faure C, Fezeu L, Lévy R, Czernichow S; Obesity-Fertility Collaborative Group. Obesity and increased risk for oligozoospermia and azoospermia. *Arch Intern Med*. 2012;172(5):440–442.
30. Qin D, Yuan W, Zhou W, Cui Y, Wu J, Gao E. Do reproductive hormones explain the association between body mass index and semen quality? 2007; *Asian J Androl*. 2007;9: 827–834.
31. Aggerholm AS, Thulstrup AM, Gunnar T, Ramlau-Hansen CH, Bonde JP. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile?. *Fertil Steril*. 2008;90(3): 619–626.
32. Kriegel TM, Heidenreich F, Kettner K, Pursche T, Hoflack B, Grunewald S, Poenicke K, Glander HJ, Paasch U. Identification of diabetes- and obesity-associated proteomic changes in human spermatozoa by difference gel electrophoresis. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(5):660–670.
33. Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD, Hauser R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril*. 2010;93(7): 2222–2231.
34. Shayeb AG, Harrild K, Mathers E, Bhattacharya S. An exploration of the association between male body mass index and semen quality. *Reprod Biomed Online*. 2011;23(6):717–723.
35. Rybar R, Kopecka V, Prinosilova P, Markova P, Rubes J. Male obesity and age in relationship to semen parameters and sperm chromatin integrity. *Andrologia*. 2011;43(4):286–291.
36. Fariello RM, Pariz JR, Spaine DM, Cedenho AP, Bertolla RP, Farietta R. Association between obesity and alteration of sperm DNA integrity and mitochondrial activity. *BJU Int*. 2012;110(6):863–867.
37. Kumar K, Deka D, Singh A, Mitra DK, Vanitha BR, Dada R. Reproductive value of DNA integrity analysis in idiopathic recurrent pregnancy loss following spontaneous conception. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(9): 861–867.
38. Thomson LK, Zieschang JA, Clark AM. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in sperm has a negative impact on clinical pregnancy rate in intrauterine insemination but not intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril*. 2011;96(4):843–847.
39. Mah PM, Wittert GA. Obesity and testicular function. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;316(2): 180–186.
40. Arsov T, Silva DG, O'Bryan MK, Sainsbury A, Lee NJ, Kennedy C, Manji SS, Nelms K, Liu C, Vinuesa CG, de Kretser DM, Goodnow CC, Petrovsky N. Fat aussie—a new Alström syndrome mouse showing a critical role for ALMS1 in obesity, diabetes, and spermatogenesis. *Mol Endocrinol*. 2006;20(7):1610–1622.
41. Buiting K, Grass S, Lich C, Gillissen-Kaesbach G, el-Maarri O, Horsthemke B. Epimutations in Prader-Willi and Angelman syndromes: a molecular study of 136 patients with an imprinting defect. *Am J Hum Genet*. 2003;72(3):571–577.
42. Ghanayem BI, Bai R, Kissling GE, Travlos G, Hoffer U. Diet-induced obesity in male mice is associated with reduced fertility and potentiation of acrylamide-induced reproductive toxicity. *Biol Reprod*. 2010;82(1):96–104.
43. Fernandez CDB, Bellentani FF, Fernandes GSA, Perobelli JE, Favareto APA, Nascimento AF, Cicogna AC, Kempinas WDG. Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2011;9(32):1–10.
44. Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M. The effect of paternal diet induced obesity on sperm function and fertilisation in a mouse model. *International Journal of Andrology*. 2011;34(5): 402–410.
45. Mitchell M, Bakos HW, Lane M. Paternal diet induced obesity impairs embryo development and implantation in the mouse. *Fertil Steril*. 2011;95(4): 1349–1353.
46. Kim ST, Moley KH. Paternal effect on embryo quality in diabetic mice is related to poor sperm quality and associated with decreased glucose transporter expression. *Reproduction*. 2008;136(3):313–322.
47. Paul C, Murray AA, Spears N, Saunders PT. A single, mild, transient scrotal heat stress causes DNA damage, subfertility and impairs formation of blastocysts in mice. *Reproduction*. 2008;136(1):73–84.
48. Zhu B, Walker SK, Oakey H, Setchell BP, Maddocks S. Effect of paternal heat stress on the development in vitro of preimplantation embryos in the mouse. *Andrologia*. 2004;36(6): 384–394.
49. Luna M, Finkler E, Barritt J, Bar-Chama N, Sandler B, Copperman AB, Grunfeld L. Paternal age and assisted reproductive technology outcome in ovum recipients. *Fertil Steril*. 2009;92(5):1772–1775.
50. Zhu BK, Setchell BP. Effects of paternal heat stress on the in vivo development of preimplantation embryos in the mouse. *Reprod Nutr Dev*. 2004;44(6):617–629.
51. Fatehi AN, Bevers MM, Schoevers E, Roelen BA, Colenbrander B, Gadella BM. DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages. *J Androl*. 2006;27(2):176–188.
52. Shimura T, Inoue M, Taga M, Shiraishi K, Uematsu N, Takei N, Yuan ZM, Shinohara T, Niwa O. p53-dependent S-phase damage checkpoint and pronuclear cross talk in mouse zygotes with X-irradiated sperm. *Mol Cell Biol*. 2002;22(7):2220–2228.

53. Pérez-Crespo M, Moreira P, Pintado B, Gutiérrez-Adán A. Factors from damaged sperm affect its DNA integrity and its ability to promote embryo implantation in mice. *J Androl.* 2008;29(1):47-54.
54. Fernández-Gonzalez R, Moreira PN, Pérez-Crespo M, Sánchez-Martín M, Ramirez MA, Pericuesta E, Bilbao A, Bermejo-Alvarez P, de Dios Hourcade J, de Fonseca FR, Gutiérrez-Adán A. Long-Term Effects of Mouse Intracytoplasmic Sperm Injection with DNA-Fragmented Sperm on Health and Behavior of Adult Offspring *Biol Reprod.* 2008;78(4) 761-772.
55. Bakos HW, Thompson JG, Feil D, Lane M. Sperm DNA damage is associated with assisted reproductive technology pregnancy. *Int J Androl.* 2007;31(5):518-526.
56. Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, Bonu MA, Fava L, Flamigni C, Coticchio G. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Hum Reprod.* 2006;21(11):2876-2881.
57. Seli E, Gardner DK, Schoolcraft WB, Moffatt O, Sakkas D. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2004;82(2):378-383.
58. Bakos HW, Henshaw RC, Mitchell M, Lane M. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live birth rates following reproductive technology. *Fertil Steril* 2011;95(5): 1700-1704.