

## Rassegna

# Diabete mellito: meccanismi di danno sulla funzione riproduttiva maschile

## Diabetes mellitus: mechanisms of male reproductive impairment

S. La Vignera, R.A. Condorelli,  
R. Cannarella, M. Di Mauro,  
A.E. Calogero

Dipartimento di Medicina Clinica  
e Sperimentale,  
Università di Catania

### RIASSUNTO

Il diabete mellito (DM) è una condizione metabolica altamente prevalente nella popolazione occidentale, in grado di influenzare la fertilità maschile attraverso meccanismi pre-testicolari, testicolari e post-testicolari. L'iperleptinemia, caratteristica del paziente obeso diabetico, è in grado infatti di alterare la pulsatilità del GnRH, interferendo quindi con i meccanismi di regolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonade. A livello testicolare inoltre si genera un ambiente pro-ossidante che danneggia la qualità degli spermatozoi, influenzando negativamente sulla capacità di fertilizzazione degli stessi. La suscettibilità alle infezioni urogenitali concorre infine a determinare questo aspetto mediante un meccanismo sia testicolare che post-testicolare, quest'ultimo presente nel caso di cronicizzazione della flogosi. Alla luce di queste evidenze, l'infertilità maschile potrebbe essere considerata a pieno titolo una complicanza della malattia diabetica; pertanto, il counseling andrologico dovrebbe essere incluso nella gestione del DM al fine di prevenirne l'infertilità.

### SUMMARY

*Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder with a high prevalence in western countries. It affects male fertility through pre-testicular, testicular and post-testicular mechanisms. Hyperleptinemia, which is frequent among obese diabetic men, can impair the GnRH pulse, thus interfering with the hypothalamus-hypophysis-testicular axis. At the testicular level, diabetic men have a pro-oxidant background which predisposes to sperm damage, with negative impact on sperm function. Susceptibility to urogenital infections also affects fertility through both testicular and post-testicular mechanisms, the latter occurring in case of chronic disease. In the light of these findings, male infertility might be considered a complication of DM. Therefore, andrologic counseling should be included in the management of DM complications, to help prevent infertility.*

### Introduzione

Il diabete mellito (DM) è una patologia metabolica la cui prevalenza è in crescente aumento in tutti i Paesi. Secondo i dati dell'*International Diabetes Federation*, più di 371 milioni di persone sono affette da DM nel Mondo, con una prevalenza dell'8,3%<sup>1</sup>. In Europa, la sua pre-

valenza raggiunge i valori del 6,7%; inoltre nel 38,6% dei casi il DM non viene diagnosticato. Pertanto, dei 55 milioni di diabetici, circa 21,2 milioni di essi non sanno di esserne affetti<sup>1</sup>. Circa il 90% di tutti i pazienti diabetici presenta DM tipo 2 (DM2), precedentemente denominato non-insulino dipendente. Il DM2 ha un'eziopatogenesi ancora non del tutto chiara. Interessa individui

**Corrispondenza:** Sandro La Vignera, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Catania, Policlinico "G. Rodolico", Via S. Sofia 78, 95123 Catania – Fax +39-095-3781180 - E-mail: sandrolavignera@unicat.it

**Parole chiave:** diabete mellito, infertilità, stress ossidativo, ros, sperma, infezioni urogenitali • **Key words:** diabetes mellitus, infertility, oxidative stress, ROS, sperm, urogenital infections

**Pervenuto** il 29-10-2017 • **Accettato** l'1-12-2017

che presentano resistenza e/o carenza relativa (anziché assoluta) di insulina. Per tale motivo questi pazienti, almeno nelle fasi iniziali della malattia, possono non avere bisogno di essere sottoposti a trattamento insulinico. Il DM2 presenta inoltre una forte predisposizione genetica, della quale molti aspetti, alquanto complessi, restano ancora poco chiari. Il DM tipo 1 (DM1) colpisce circa il 5-10% di tutti i pazienti con diabete e la sua eziopatogenesi è di natura autoimmune (nella maggior parte dei casi) o idiopatica. Il danno autoimmune determina una distruzione delle cellule  $\beta$ -pancreatiche insulino-secerenti che, quando il diabete si appalesa dal punto di vista clinico, sono già state danneggiate per più dell'80%. Altre forme di DM sono rappresentate dal MODY, LADA e altri tipi, che però, nell'insieme rappresentano una percentuale piuttosto esigua di casi.

Dalla osservazione dei tassi di fertilità delle società moderne si evince come l'aumento della prevalenza del DM sia strettamente associato con il calo dei tassi di natalità e fecondità<sup>23</sup>. Ciò è dovuto a un aumento preoccupante degli uomini diabetici in età riproduttiva. Il DM (sia tipo 1 che tipo 2) infatti coinvolge un numero allarmante di bambini e adolescenti<sup>4</sup>; inoltre, le diete occidentali, le abitudini di vita e l'obesità nei giovani contribuiscono in modo rilevante all'insorgenza del DM2 in questa fascia di popolazione<sup>5</sup>. In Giappone, gli adolescenti diabetici tipo 2 sono già quattro volte più numerosi del tipo 1<sup>6</sup> e, negli Stati Uniti, più di un terzo delle nuove diagnosi di DM coinvolge giovani adolescenti<sup>7</sup>.

Il DM non è una nuova causa di infertilità, sebbene l'interesse per questa associazione stia crescendo sempre più nella società moderna. In base ai dati ISTAT, l'età di concepimento del primo figlio è in notevole aumento rispetto agli anni passati. Questo implica un prolungamento del tempo di esposizione dell'organismo ai meccanismi patogenetici di questa malattia, con implicazioni più severe sulla qualità nemaspermica. Il DM può determinare infertilità maschile a tre livelli: a) pre-testicolare; b) testicolare; e c) post-testicolare, che verranno di seguito presi in esame.

## Meccanismo pre-testicolare

Già nel 1984, è stato riportato che la condizione clinica di DM sembrava determinare un'alterazione nel rilascio di GnRH<sup>8</sup>. Successivamente tre studi epidemiologici hanno suggerito di considerare l'ipotestosteronemia quale fattore di rischio per insorgenza di DM, a causa dell'elevata frequenza di insulino-resistenza negli ipogonadici (MRFIT Cohort, MMAS e Rancho Bernardo Study). Inoltre, è anche dimostrato che il paziente con DM sviluppa ipogonadismo mediante un meccanismo

centrale (infatti, l'iperleptinemia del soggetto sovrappeso o obeso altera la pulsatilità del rilascio del GnRH)<sup>9</sup> e periferico (alterazione della funzionalità delle cellule di Leydig)<sup>10</sup> con conseguente riduzione dei livelli di testosterone circolanti.

Da studi animali su ratti resi sperimentalmente diabetici, è stato osservato che l'insulina, assente o poco attiva nel diabetico, regoli la funzionalità testicolare con meccanismo indiretto, influenzando l'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo e normalizzando i livelli di LH e testosterone, mentre non sembra svolgere alcuna azione a livello delle cellule del Sertoli che controllano la spermatogenesi<sup>11</sup>.

Queste evidenze giustificano il dosaggio dei livelli sierici di gonadotropine e testosterone totale nel paziente diabetico. Il mantenimento di un compenso glico-metabolico ottimale rappresenta la strategia terapeutica più opportuna per correggere gli effetti della iperinsulinemia e dell'iperleptinemia a livello pre-testicolare. Si configurano pertanto presupposti fisiopatologici per l'impiego della terapia con gonadotropine nel trattamento di questa particolare forma di infertilità maschile.

## Meccanismo testicolare

A tale livello, il DM determina: a) aumento dello stress ossidativo (aumentata produzione di ROS nel liquido seminale)<sup>12</sup>; b) frammentazione del DNA nemaspermico<sup>13</sup>; c) alterazione bioenergetica mitocondriale degli spermatozoi<sup>13</sup>; e d) prodotti di glicazione enzimatica<sup>14</sup>.

## Ruolo dello stress ossidativo

Le azioni svolte dai ROS non risultano sempre dannose: al contrario, basse concentrazioni devono essere presenti per poter contribuire al mantenimento della capacità fertilizzante dello spermatozoo<sup>15-17</sup> correlando positivamente con alcuni parametri/funzioni quali: fertilizzazione, reazione acrosomiale, motilità e capacità di sopravvivenza<sup>18,19</sup>. Utilizzando modelli sperimentali *in vitro*, nei quali gli spermatozoi maturi venivano posti in incubazione con bassi livelli di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sono state osservate maggiori percentuali di capacità di sopravvivenza nemaspermica, reazione acrosomiale e fusione ovocitaria<sup>20-24</sup>.

Virtualmente ogni eiaculato umano contiene fonti produttrici di ROS<sup>22</sup>: leucociti e spermatozoi rappresentano le principali matrici cellulari di produzione<sup>25</sup>. Gli spermatozoi immaturi, caratterizzati dalla presenza di residui citoplasmatici sono un esempio di iperproduzione iuxta-spermatocitaria di ROS che si associa a prove di bassa biofunzionalità spermatica<sup>26</sup>. Diversi studi indicano che la presenza di residui citoplasmatici sia positivamente correlata con alta produzione di ROS mediata dall'en-

zima glucosio-6-fosfato-deidrogenasi<sup>17</sup>. La produzione spermatozoaria di ROS avviene a 2 livelli: a) membrana spermatozoaria [nicotinammide adenina dinucleotide fosfato (NADPH)]; b) mitocondrio (ossidazione NADPH dipendente)<sup>27</sup>.

Tutte le componenti cellulari (lipidi, proteine, acidi nucleici, glicidi) sono potenziali target di azione lesiva dei ROS, quando questi superano la soglia minima di produzione. La durata di esposizione e altri co-fattori extracellulari incidono sulla gravità del danno (temperatura, tensione di ossigeno, sistemi scavenger di difesa antiossidante). I ROS danneggiano gli acidi grassi polinsaturi (PUFA), costituenti essenziali della membrana degli spermatozoi, con una serie di reazioni biochimiche a cascata note come perossidazione lipidica (PL)<sup>24</sup>. Uno dei prodotti di PL è la malonildialdeide, inizialmente utilizzata come marker indiretto di iperproduzione di ROS sulla componente lipidica delle membrane citoplasmatiche<sup>28,29</sup>.

Alti tassi di ROS correlano inversamente con la motilità spermatica<sup>30-32</sup>, ma il meccanismo attraverso cui si verifica l'alterazione di tale parametro non è del tutto noto. Una prima ipotesi indica il danno che si verifica a carico della glucosio 6-fosfato-deidrogenasi (G6PD) a opera del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dopo diffusione intracellulare. Altra ipotesi è quella della ridotta fosforilazione delle proteine strutturali dell'assonema.

I ROS causano danno del DNA spermatico in termini di modificazioni strutturali a carico delle basi con produzione di basi con siti liberi, delezioni, ri-arrangiamenti cromosomici, singole o doppie rotture del DNA<sup>33-35</sup>. I ROS possono anche causare mutazioni genetiche puntiformi e/o polimorfismi<sup>36,37</sup>. In presenza di danno del DNA spermatico di entità minima, lo spermatozoo è in grado di autoripararsi<sup>38</sup>. L'ovocita possiede capacità ancora maggiori di riparare il danno del DNA spermatico<sup>38</sup>. In presenza di un'alterazione genetica di grado maggiore, subentrano sul piano fisiopatologico apoptosi e frammentazione embrionaria<sup>35</sup>. L'apoptosi è una risposta di tipo non-infiammatoria al danno tissutale caratterizzata da una serie di modificazioni morfologiche e biochimiche che culmina nell'eliminazione di spermatozoi anormali<sup>33</sup>. Alti tassi di ROS determinano il rilascio di proteine appartenenti al complesso funzionale del citocromo C e promuovono l'attivazione delle caspasi (sottotipi 9 e ). È bene ricordare tuttavia che l'apoptosi dello spermatozoo può avvenire anche attraverso un meccanismo di tipo ROS-indipendente che coinvolge proteine di superficie appartenenti al gruppo FAS<sup>39</sup>.

Uno studio recente ha dimostrato la presenza di PL nel liquido seminale di pazienti diabetici soprattutto correlata al compenso glicometabolico. Paragonando, infatti, i

livelli di malonildialdeide di pazienti diabetici con scarso compenso glico-metabolico (HbA<sub>1c</sub> >10%) con quelli di pazienti diabetici ben compensati (HbA<sub>1c</sub> < 7%) i primi risultavano essere più elevati in maniera statisticamente significativa<sup>40</sup>. Inoltre, la determinazione del grado di PL negli spermatozoi umani è stata messa a punto grazie a una sonda che viene incorporata nelle membrane biologiche e risponde all'attacco dei radicali liberi modificando il suo spettro di emissione e permettendo la sua identificazione e quantizzazione grazie alla metodica citofluorimetrica<sup>41</sup>.

Recentemente, l'attenzione della letteratura si è rivolta allo studio del superossido mitocondriale, radicale libero che si genera in seguito alla fosforilazione ossidativa nei mitocondri nemaspermici. Tale dato, associato a quello dell'avvenuta PL, nel liquido seminale di particolari gruppi di pazienti fornisce importanti spunti di ricerca, soprattutto alla luce delle sempre nuove terapie antiossidanti e della composizione differente di essi nelle diverse formulazioni.

## Ruolo delle flogosi

I processi infettivi/infiammatori rappresentano una complicanza importante del DM e richiedono un aumento del fabbisogno insulinico. La patogenesi della maggiore predisposizione alle infezioni del diabetico non è del tutto nota. Si ritiene che il DM scarsamente controllato e di lunga durata, rappresenti una condizione di immunodeficienza acquisita. Tale dato è confermato da studi condotti *in vitro* e *in vivo*, che hanno dimostrato la presenza di numerose alterazioni della proliferazione, della migrazione e dell'attività antibatterica dei leucociti e dei macrofagi. Altro elemento che favorisce le infezioni è l'ischemia distrettuale, spesso presente, che favorisce lo sviluppo di flora micotica e anaerobia, rendendo meno efficace la terapia antibiotica sistemica.

Le infezioni di più frequente riscontro nei pazienti diabetici sono quelle del tratto urogenitale e delle ghiandole accessorie maschili (MAGI), che hanno una prevalenza di circa il 43%<sup>42</sup> e si presentano in maniera silente e talvolta con sintomatologia aspecifica (dolore addominale, nausea e vomito). Poiché spesso esse decorrono asintomatiche, l'evoluzione più frequente è rappresentata dalla pielonefrite e dall'ascesso perirenale. Recenti studi mostrano come l'associazione DM-MAGI amplifichi la risposta infiammatoria nel seme con notevole produzione di leucociti e ROS, senza talvolta alterare i parametri convenzionali del liquido seminale: ciò sembra favorire la maggiore estensione del processo infiammatorio e la sua cronicizzazione<sup>43</sup>.

Sulla base di queste evidenze, emerge l'importanza

dell'inquadramento del paziente diabetico da un punto di vista andrologico, sottoponendolo, oltre che all'esame obiettivo anche all'esame del liquido seminale. In casi selezionati, l'iter diagnostico può essere completato con la valutazione dei parametri biofunzionali del liquido seminale e gli esami microbiologici.

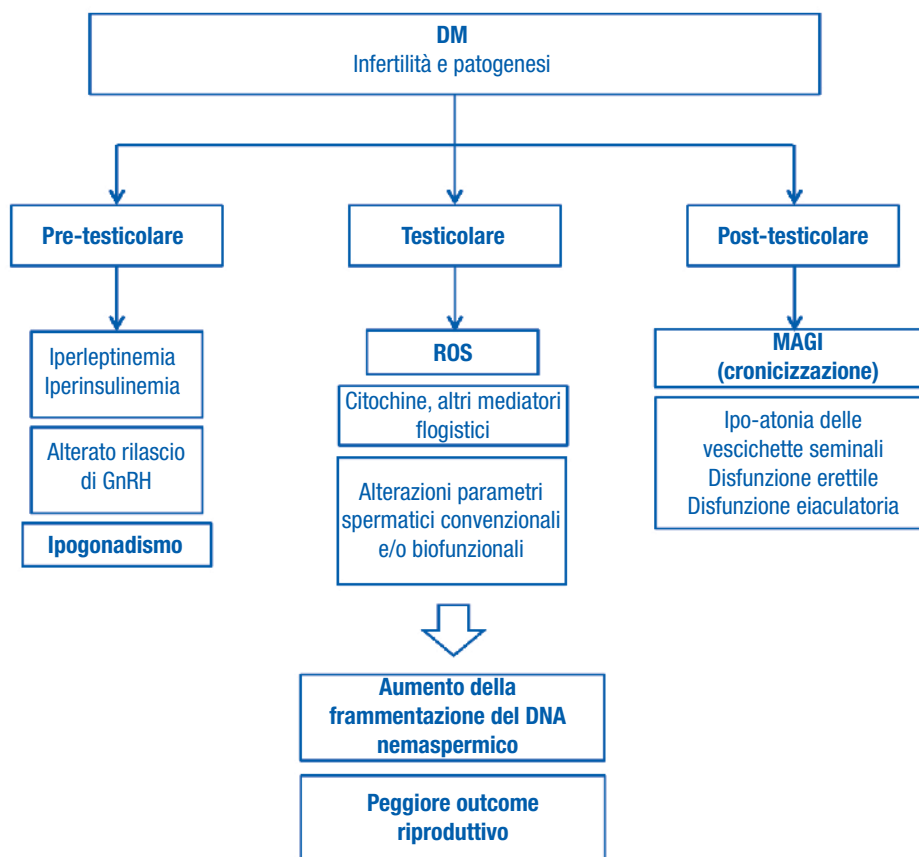
Il management terapeutico più appropriato è rappresentato dalla ottimizzazione del compenso glico-metabolico del paziente, dalla attuazione di strategie idonee al tamponamento degli effetti dei ROS sulla qualità nemaspermica mediante terapia antiossidante (ove ritenuto opportuno sulla base delle indagini richieste) e/o dalla eradicazione di eventuale infezione mediante terapia antibiotico-antinfiammatoria mirata.

## Meccanismo post-testicolare

Lo spermatozoo deve percorrere le vie escrettrici e in tali sedi completare la sua maturazione. Sono stati descritti vari meccanismi attraverso i quali il DM possa causare danno spermatico e/o impedire l'emissione di liquido seminale:

- cronicizzazione flogosi genito urinarie <sup>44</sup>;
- esaltata risposta citochinica <sup>45</sup>;
- alterata funzionalità vescicolare <sup>46 47</sup>.
- disfunzione erettile e/o eiaculatoria.

Il deficit erettile e l'eiaculazione retrograda sono complicanze abbastanza note della malattia diabetica <sup>48</sup>. Le disfunzioni di tipo eiaculatorio rappresentano in as-



**Figura 1.** Meccanismi patogenetici dell'infertilità maschile nel diabete mellito. Il diabete mellito (DM) può determinare infertilità attraverso meccanismi pre-testicolari (ridotta secrezione di GnRH e ipotestosteronemia), testicolari (l'ambiente pro-ossidante, dovuto sia allo scompenso metabolico che alla maggiore suscettibilità alle flogosi genito urinarie, è responsabile di una peggiore qualità spermatica, con aumento della frammentazione del DNA nemaspermico e peggiore outcome riproduttivo) e post-testicolari (la cronicizzazione delle flogosi genito urinarie, i disturbi dello svuotamento delle vescichette seminali e la disfunzione erettile/eiaculatoria possono determinare infertilità a patogenesi ostruttiva).

soluta la causa più frequente di infertilità nel maschio diabetico <sup>49</sup>.

Ali et al. (1993), valutando 314 uomini con DM2, hanno posto in evidenza un aumento della conta nemaspermica contrapposta a bassa motilità, oltre che alterazioni del volume di plasma seminale, verosimilmente indicative di disfunzione vescicolare <sup>50</sup>.

Il counseling andrologico ha un ruolo fondamentale nel management del paziente diabetico al fine di identificare precocemente eventuali flogosi genito urinarie (evitandone la cronicizzazione), la presenza di disturbi neuropatici condizionanti un alterato svuotamento delle vescicole seminali, eventuali disfunzioni dell'erezione e/o dell'eiaculazione.

## Conclusioni

Alla luce delle evidenze sopra-riportate, l'infertilità maschile potrebbe essere considerata a pieno titolo una complicanza del DM (Fig. 1). Pertanto, il counseling andrologico dovrebbe essere incluso nella gestione del paziente diabetico. Una diagnosi tempestiva di eventuali infezioni urogenitali, la valutazione della qualità nemaspermica e un adeguato trattamento antibiotico, antinfiammatorio e/o antiossidante potrebbe infatti evitare l'instaurarsi di sequele croniche e non sempre reversibili responsabili di infertilità.

## Conflitto di interessi

Nessuno.

## Bibliografia

- Guariguata L. *By the numbers: new estimates from the IDF Diabetes Atlas Update for 2012*. Diabetes Res Clin Pract 2012;98:524-5.
- Hamilton BE, Ventura SJ. *Fertility and abortion rates in the United States, 1960-2002*. Int J Androl 2006;29:34-45.
- Lutz W. *Fertility rates and future population trends: will Europe's birth rate recover or continue to decline?* Int J Androl 2006;29:25-33.
- Silink M. *Childhood diabetes: a global perspective*. Horm Res 2002;57:1-5.
- Rosenbloom AL, Joe JR, Young RS, et al. *Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth*. Diabetes Care 1999;22:345-54.
- Kitagawa T, Owada M, Urakami T, et al. *Increased incidence of non-insulin dependent diabetes mellitus among Japanese schoolchildren correlates with an increased intake of animal protein and fat*. Clin Pediatr (Phila) 1998;37:111-5.
- Pinhas-Hamiel O, Zeitler P. *The global spread of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents*. J Pediatr 2005;146:693-700.
- Calvo JC, Barañao JL, Tesone M, et al. *Hypothalamic-hypophyseal-gonadal axis in the streptozotocin-induced diabetic male rat*. J Steroid Biochem 1984;20:769-72.
- Chan JL, Mantzoros CS. *Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis*. Pituitary 2001;4:87-92.
- Pitteloud N, Hardin M, Dwyer AA, et al. *Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men*. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:2636-41.
- Schoeller EL, Albanna G, Frolova AI, et al. *Insulin rescues impaired spermatogenesis via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in Akita diabetic mice and restores male fertility*. Diabetes 2012;61:1869-78.
- Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. *Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species*. Current Diabetes Rev 2008;4:46-54.
- Agbaje IM, Rogers DA, McVicar CM, et al. *Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function*. Hum Reprod 2007;22:1871-7.
- Mallidis C, Agbaje IM, Rogers DA, et al. *Advanced glycation end products accumulate in the reproductive tract of men with diabetes*. Int J Androl 2008;32:295-305.
- Gagnon C, Iwasaki A, De Lamirande E, et al. *Reactive oxygen species and human spermatozoa*. Ann N Y Acad Sci 1991;637:436-44.
- Aitken RJ. *Molecular mechanisms regulating human sperm function*. Mol Hum Reprod 1997;3:169-73.
- Aitken RJ. *The Amoroso Lecture. The human spermatozoon-a cell in crisis?* J Reprod Fertil 1999;115:1-7.
- Griveau JF, Le Lannou D. *Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology*. Int J Androl 1997;20:61-69.
- Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, et al. *Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature*. Reprod Biomed Online 2004;8:616-27.
- de Lamirande E, Eiley D, Gagnon C. *Inverse relationship between the induction of human sperm capacitation and spontaneous acrosome reaction by various biological fluids and the superoxide scavenging capacity of these fluids*. Int J Androl 1993;16:258-66.
- Griveau JF, Renard P, Le Lannou D. *An in vitro promoting role for hydrogen peroxide in human sperm capacitation*. Int J Androl 1994;17:300-7.
- Aitken RJ. *Free radicals, lipid peroxidation and sperm function*. Reprod Fertil Dev 1995;7:659-68.
- de Lamirande E, Gagnon C. *Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects*. Hum Reprod 1995;10:15-21.
- Kodama H, Kuribayashi Y, Ga-



- gnon C. *Effect of sperm lipid peroxidation on fertilization*. J Androl 1996;17:151-7.
- 25 Garrido N, Meseguer M, Simon C, et al. *Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility*. Asian J Androl 2004;6:59-65.
- 26 Gomez E, Buckingham DW, Brindle J, et al. *Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress and sperm function*. J Androl 1996;17:276-87.
- 27 Gavella M, Lipovac V. *NADH-dependent oxidoreductase (diaphorase) activity and isozyme pattern of sperm in infertile men*. Arch Androl 1992;28:135-41.
- 28 Aitken J, Krausz C, Buckingham D. *Relationships between biochemical markers for residual sperm cytoplasm, reactive oxygen species generation, and the presence of leukocytes and precursor germ cells in human sperm suspensions*. Mol Reprod Dev 1994;39:268-79.
- 29 Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. *Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function*. Biol Reprod 1989;41:183-97.
- 30 Lenzi A, Lombardo F, Gandini L, et al. *Computer assisted sperm motility analysis at the moment of induced pregnancy during gonadotropin treatment for hypogonadotropic hypogonadism*. J Endocrinol Invest 1993;16:683-6.
- 31 Agarwal A, Ikemoto I, Loughlin KR. *Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens*. J Urol 1994;152:107-10.
- 32 Armstrong JS, Rajasekaran M, Chamulitrat W, et al. *Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism*. Free Radic Biol Med 1999;26:869-880.
- 33 Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, et al. *Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa*. Rev Reprod 1999;4:31-7.
- 34 Kemal Duru N, Morshedi M, Oehninger S. *Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa*. Fertil Steril 2000;74:1200-7.
- 35 Aitken RJ, Krausz C. *Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome*. Reproduction 2001;122:497-506.
- 36 Spiropoulos J, Turnbull DM, Chinnery PF. *Can mitochondrial DNA mutations cause sperm dysfunction?* Mol Hum Reprod 2002;8:719-21.
- 37 Sharma RK, Said T, Agarwal A. *Sperm DNA damage and its clinical relevance in assessing reproductive outcome*. Asian J Androl 2004;6:139-48.
- 38 Agarwal A, Prabhakaran SA, Sikka SC. *Clinical relevance of oxidative stress in patients with male factor infertility: evidence-based analysis*. AUA Update Series 2007;26:1-12.
- 39 Lee J, Richburg JH, Younkin SC, et al. *The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis*. Endocrinology 1997;138:2081-8.
- 40 La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, et al. *High levels of lipid peroxidation in semen of diabetic patients*. Andrologia 2012;(Suppl 1):565-70.
- 41 Aitken RJ, Wingate JK, De Iulius GN, et al. *Analysis of lipid peroxidation in human spermatozoa using BODIPY C11*. Mol Hum Reprod 2007;13:203-11.
- 42 Condorelli RA, Calogero AE, Vicari E, et al. *Prevalence of MAGI in patients with type 2 diabetes mellitus*. J Endocrinol Invest 2013.
- 43 La Vignera S, Di Mauro M, Condorelli R, et al. *Diabetes worsens spermatic oxidative "stress" associated with the inflammation of male accessory sex glands*. Clin Ter 2009;160:363-6.
- 44 Patterson JE, Andriole VT. *Bacterial urinary tract infections in diabetes*. Infect Dis Clin North Am 1997;11:735-50.
- 45 Guest CB, Park MJ, Johnson DR, et al. *The implication of proinflammatory cytokines in type 2 diabetes*. Front Biosci 2008;13:5187-5194.
- 46 La Vignera S, Calogero AE, Condorelli R, et al. *Ultrasonographic aspects of altered ampullo-vesicular voiding as a sign of autonomic neuropathy*. VII Congresso Nazionale della Società Italiana di Andrologia Medica. Firenze 9-11 Novembre 2006. J Endocrinol Invest 2006;29:21.
- 47 La Vignera S, Vicari E, Condorelli R, et al. *Ultrasound characterization of the seminal vesicles in infertile patients with type 2 diabetes mellitus*. Eur J Radiol 2011;80:64-7.
- 48 Braun M, Wassmer G, Klotz T, et al. *Epidemiology of erectile dysfunction: results of the 'Cologne Male Survey'*. Int J Impot Res 2000;12:305-11.
- 49 Sexton WJ, Jarow JP. *Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function*. Urology 1997;49:508-13.
- 50 Ali ST, Shaikh RN, Siddiqi NA, et al. *Semen analysis in insulin-dependent/non-insulin-dependent diabetic men with/without neuropathy*. Arch Androl 1993;30:47-54.