

Vliv onemocnění covid-19 na mužskou plodnost

The effect of covid-19 on male fertility

Silvie Ostřížková¹, Renata Zlotkowska^{1,2}

¹Ústav epidemiologie a ochrany veřejného zdraví, Ostravská univerzita, Ostrava, Česká republika

^{1,2}Centrum pracovního lékařství Malopolského vojvodství v Krakově, Krakov, Polsko

Došlo: 7. 9. 2022

Přijato: 19. 10. 2022

Kontaktní adresa:

Mgr. Silvie Ostřížková

Ústav epidemiologie a ochrany veřejného zdraví

Lékařská fakulta, Ostravská univerzita

Syllabova 19, 703 00 Ostrava

e-mail: silvie.ostrizkova@osu.cz

Střet zájmů: Žádný.

Prohlášení o podpoře: Tento článek nebyl podpořen státním ani jiným grantem. Jedná se o nezávislý článek.

Hlavní stanovisko práce: Ačkoliv je covid-19 často vnímán jako respirační onemocnění, je schopen postihnout kteroukoliv orgánovou soustavu včetně reprodukčního systému. Častější výskyt byl pozorován právě u mužů, u nichž infekce virem SARS-CoV-2 může mnohými mechanismy přímo či nepřímo ovlivňovat fyziologické procesy spojené s fertilitou, včetně probíhající spermatogeneze.

Major statement: Although covid-19 is often seen as a respiratory disease, it is capable of affecting any organ system, including the reproductive system. A higher prevalence has been observed in men, in whom SARS-CoV-2 infection may directly or indirectly affect physiological processes related to fertility, including ongoing spermatogenesis, by a number of mechanisms.

SOUHRN

Ostřížková S, Zlotkowska R. Vliv onemocnění covid-19 na mužskou plodnost.

Onemocnění covid-19 se od roku 2019 rychle rozšířilo napříč kontinenty a způsobilo pandemii. Častější výskyt tohoto onemocnění byl pozorován u mužů, částečně vlivem vyšší exprese angiotenzin-konvertujícího enzymu 2 (ACE2), který, společně s transmembránovou serinovou proteázou 2 (TMPRSS2), hraje významnou roli v průniku viru do buňky. ACE2 i TMPRSS2 jsou exprimovány na povrchu mnoha lidských tkání včetně tkání reprodukčního systému mužů i žen. Z tohoto důvodu je stále zkoumán vliv viru SARS-CoV-2 na mužskou plodnost. Proběhlé studie se zabývají zejména histopatologickými změnami u post mortem vzorků z varlat covid-19 pozitivních pacientů, ale také imunitními reakcemi indukovanými virem SARS-CoV-2. Negativní dopad může mít cytokinová bouře způsobená pyroptózou buněk a oxidační stres. Jelikož je většina virů,

včetně SARS-CoV-2, schopna prolomit hematoencefalickou bariéru, může dojít k ovlivnění hypotalamo-hypofýzo-gonádové osy nezbytné pro endokrinní regulaci spermatogeneze. Pacienti s onemocněním covid-19 vykazují vyšší hladiny luteinizačního hormonu a prolaktinu a nižší hladiny testosteronu vlivem poškození Leydigových buněk. Hodnocení parametrů spermiogramu poukázalo na zhoršení celkové motility spermií a snížení koncentrace spermií v ejakulátu. Ovlivnění parametrů spermiogramu se však zdá být dočasné.

KLÍČOVÁ SLOVA

ACE2, covid-19, koronavirus, mužská plodnost.

ABSTRACT

Ostřížková S, Zlotkowska R. The effect of covid-19 on male fertility.

Covid-19 disease has spread rapidly across continents since 2019, causing a pandemic. A higher prevalence of the disease has been observed in males, partly due to higher expression of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), which, together with transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2), plays an important role in viral entry into the cell. Both ACE2 and TMPRSS2 are expressed on the surface of many human tissues, including tissues of the male and female reproductive system. For this reason, the effect of SARS-CoV-2 on male fertility is still under investigation. Current studies have focused on histopathological changes in post mortem testicular samples from covid-19 positive patients, but also on immune responses induced by SARS-CoV-2. Cytokine storm caused by cell pyroptosis and oxidative stress may have a negative impact. As most viruses, including SARS-CoV-2, are able to break the bloodbrain barrier, the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, essential for endocrine regulation of spermatogenesis, may also be affected. Patients with covid-19 disease show higher levels of luteinizing hormone and prolactin and lower levels of testosterone due to Leydig cell damage. Sperm analysis showed a deterioration of total sperm motility and a decrease in sperm concentration in the ejaculate. However,

the effect on spermiogram parameters appears to be temporary.

KEY WORDS

ACE2, coronavirus, covid-19, male fertility.

.....

ÚVOD

V roce 2019 se v čínském Wuchanu poprvé objevila série pneumonií, u nichž byl následně identifikován nový β -koronavirus, později nazván jako SARS-CoV-2, vzhledem ke své vysoké podobnosti (79,5 %) s virem SARS-CoV-1 způsobujícím onemocnění SARS (severe acute respiratory syndrom). Nejvyšší podobnost genomu virus vykazoval s koronaviry netopýrů, konkrétně CoV RaTG13, a to v 96,2 %. Onemocnění dostalo název covid-19. Světová zdravotnická organizace (World Health Organization – WHO) 30. ledna 2020 po velmi rychlém rozšíření viru SARS-CoV-2 napříč všemi kontinenty vyhlásila stav ohrožení veřejného zdraví mezinárodního významu (1, 2).

Rychlému celosvětovému rozšíření přispěl zejména způsob přenosu viru SARS-CoV-2. Asymptomatických, presymptomatických i symptomatických pacientů vytváří velké množství aerosolových kapiček různých velikostí, které jsou v průběhu dýchání a řeči uvolňovány a mohou tak být vdechovány osobami v blízkosti pacienta. Tyto kapičky jsou schopny přetrvávat ve vzduchu po dobu nejméně 3 hodin s poločasem rozpadu přibližně 1 hodina. Kašlání a kýchání navíc vede k šíření infekčních aerosolů za optimálních podmínek do vzdálenosti až 8 metrů (3).

Jelikož přibližně 30 virů bylo identifikováno také ve spermatu, věnovalo se hned několik studií také možnému sexuálnímu přenosu (4). Z počtu osmi studií pouze jedna zaznamenala přítomnost viru SARS-CoV-2 ve spermatu, a to u šesti z celkem 160 vzorků. Čtyři tito muži byli v akutní fázi infekce a dva ve fázi rekonvalescence. Riziko přenosu nákazy prostřednictvím spermatu je tedy zanedbatelné, a to zejména u již uzdravených mužů (5).

Vzhledem k tomu, že SARS-CoV-2 je povahou RNA virus, dochází k mutacím, které vedou ke vzniku nových variant s rozdílnými klinickými projevy, závažností a infekčností. Nejrozšířenější variantou je v současné chvíli varianta Omikron typická svou vysokou infekčností, ale nižším rizikem vážného průběhu (6). K typickým projevům onemocnění covid-19 se řadí horečka (81,2 %), kašel (58,5 %), únava (38,5 %), dušnost (26,1 %) a vykašlávání sputa (25,8 %) (7). Méně často jsou uváděny také gastrointestinální příznaky: průjem, anorexie, nevolnosti (8); neurologické symptomy: bolesti hlavy, závratě, poruchy čichu či chuti, poruchy vědomí (6); ale také psychologické projevy: úzkosti, deprese a stres (10). V případě varianty omikron je častým projevem také ucpaný nos a rýma (11).

Koronavirus obsahuje čtyři strukturální proteiny: membránový protein (M), obalový protein (E), nukleokapsidový protein (N) a spike protein (S) tvořící typický vzhled korony. Za připojení a membránovou fúzi jsou zodpovědné podjednotky S1 a S2 proteinu S. Prostřednictvím S1 podjednotky a vazebné domény pro receptor se spike protein váže na lidský angiotenzinkonvertující enzym 2 (ACE2), jenž je jedním z hlavních komponentů systému reninangiotenzin-aldosteron (RAAS) regulujícího homeostázu, v membráně buněk (12).

RAAS je hormonální kaskádový systém sloužící k regulaci arteriálního tlaku a k udržení homeostázy v těle. Při nízké intratubulární koncentraci sodíku dochází k uvolnění reninu v ledvinách, a tím k přeměně angiotenzinogenu, produkovaného játry, na angiotenzin I. Angiotenzin I je poté pomocí angiotenzin-konvertujícího enzymu (ACE) převážně v plicích přeměňován na angiotenzin II. Angiotenzin II stimuluje kůru nadledvin k uvolňování aldosteronu, který zpětně vychytává sodík a vodu z ledvinových tubulů, čímž je zvyšován krevní tlak (12,13). ACE2 je katalyzátorem přeměny angiotenzinu I a II na angiotenzin 1–9 s vazodilatačními účinky. Tím ACE2 zajišťuje zpětnovazebnou regulaci RAAS (13). Infekce virem SARS-CoV-2 vede k narušení ACE/ACE2 rovnováhy blokadí ACE2, což vede ke zvýšené vazokonstrikci (12).

Bylo zjištěno, že 72 lidských tkání je schopno exprimovat ACE2 (14). Jedná se o tkáň bronchu,

plicního parenchymu, srdce, ledvin, duodena, jejunu, ilea, rekta, jater, mozku, a právě také tkáň ovarii, dělohy, vejcovodů, prostaty, chámovodu, varlat a dalších (14, 15). Vyšší prevalence onemocnění covid-19 byla pozorována u mužů, částečně z důvodu vyšší exprese ACE2 (16). Při navázání virové částice dochází ke snížení exprese ACE2 na buněčném povrchu, čímž dochází ke snížení konverze angiotenzinu II na angiotenziny 1–7 a také angiotenzinu I na angiotenziny 1–9. Zvyšuje se tak množství angiotenzinu II, což může vést k toxicitě a rozvoji syndromu akutní respirační tísně, zánětu apod. (13). Po vstupu viru do buňky probíhá fúze virové a lysozomální membrány, pro kterou je nezbytná proteolytická aktivace na hranici S1 a S2 podjednotek transmembránovou serinovou proteázou 2 (TMPRSS2) a lysozomální katepsinovou proteázou. TMPRSS2 lze označit za klíčovou molekulu pro proces infekce virem SARS-CoV-2 (17).

VLIV ONEMOCNĚNÍ COVID-19 NA MUŽSKOU PLODNOST

Díky probíhajícím výzkumům vlastností viru SARS-CoV-2 je neustále diskutován také vliv onemocnění covidem-19 na mužskou plodnost v důsledku účasti receptoru ACE2 na testikulární regulaci steroidogeneze a také spermatogeneze v semenotvorném epitelu (18). Konkrétně je ACE2 u mužů exprimován v Leydigových a Sertoliho buňkách a úroveň jeho exprese výrazně závisí na věku s počátkem exprese v pubertě, maximem během reprodukční fáze života a následně s poklesem ve vyšších věkových kategoriích. ACE2 je v Leydigových buňkách taktéž důležitý pro produkci a lokální regulaci testosteronu (13, 19). V případě mužů s neobstrukční azoospermii se však žádná ze složek RAAS v semenotvorných tubulech nenachází (20). Taktéž TMPRSS2, která je v lidských tkáních exprimovaná více než ACE2, byla prokázána ve varlatech, konkrétně ve spermatogoniích a spermatidách (13). Dalšími potenciálními receptory proteinu S mohou být neuropilin-1, CD26, který působí jako receptor viru MERS, a CD147, který je exprimován zejména ve spermatocytech. Tato zjištění však vyžadují další zkoumání (21, 22). Koex-

prese neuropilinu-1 s dalšími hostitelskými faktory ACE2 a TMPRSS2 může usnadňovat interakci viru s hostitelskou buňkou (23).

Mnohými studiemi byl zkoumán vliv viru SARS-CoV-2 na histologii varlat, zvýšení rizika vzniku epididymoorchitidy a působení oxidačního stresu na spermatogenezi, hormonální rovnováhu a ovlivnění spermiogramu.

HISTOLOGIE VARLAT

Již v minulosti byla pozorována schopnost virů infikovat varlata přímo. Na tento jev poukazuje také výzkum zaměřený na onemocnění covid-19. Několik studií popsalo patologické změny post mortem. Byl zjištěn otok Sertoliho buněk, vakuolizace, cytoplazmatické abnormality a odchlípnutí intratubulární buněčné hmoty do lumen semenotvorných tubulů. Zároveň byl pozorován nižší počet Leydigových buněk oproti kontrolní skupině (Yang et al., 2,2 vs. 7,8, $p < 0,001$), edémy v intersticiu a přítomnost zánětlivých infiltrátů z histiocytů a T lymfocytů. Přítomnost viru ve varlatech však nebyla pomocí elektronové mikroskopie prokázána a ve většině případů nebyla prokázána ani pomocí RT-PCR (24, 25). Pozorován byl také zvýšený počet apoptických buněk v semenotvorných tubulech oproti kontrolní skupině, kongesce a exsudace erytrocytů (26).

Výsledky některých studií naznačují také přítomnost orchitidy u SARS-CoV-1 pozitivních pacientů, který je s virem SARS-CoV-2 z 85 % identický. Posmrtná analýza šesti pacientů, s potvrzenou příčinou úmrtí v důsledku infekce virem SARS-CoV-1, odhalila přítomnost rozsáhlé destrukce zárodečných buněk, malého počtu nebo úplné absence spermií v semenotvorných tubulech, změn bazální membrány a také leukocytové infiltrace (27). Virovou orchitidu může provázet také diskomfort v šourku, který v čínské studii z roku 2020 uvedlo 6 pacientů (19 %) v období laboratorního potvrzení nákazy virem SARS-CoV-2 (28). Stereologické metody použité v jiné studii posmrtně odhalily vážné poškození semenotvorných kanálků a absenci spermatogenních buněk

u pacientů s onemocněním covid-19. Zároveň došlo ke zkrácení délky semenotvorných kanálků ve srovnání s kontrolní skupinou ($p < 0,001$), snížení objemu intersticiální tkáně ($p < 0,001$) a celkového počtu testikulárních buněk ($p < 0,001$). Na buněčné úrovni byl pozorován pokles testikulárních buněk, primárních spermatocytů, spermatid a Leydigových a Sertoliho buněk v porovnání s kontrolní skupinou (29).

IMUNITNÍ REAKCE A OXIDAČNÍ STRES

Imunita varlat je zajišťována krevní bariérou, která však v důsledku přítomnosti systémového a lokálního zánětu může zvýšit svou propustnost a tím průchod imunitních buněk. Virus SARS-CoV-2 může vést k pyroptóze, tedy zánětlivé formě programované buněčné smrti, a tím k uvolnění silných prozánětlivých cytokinů, nebo až k cytokinové bouři (30). Běžně se cytokiny podílejí na správné funkci varlat a udržování reprodukčního zdraví, avšak patologická abnormální aktivita a změny v profilu cytokinů mohou negativně ovlivnit mužskou plodnost (18).

Vlivem systémového zánětu nebo virové infekce může dojít ke zvýšení interleukinu-6 (IL-6), chemokinového ligandu 2 a tumor nekrotizujícího faktoru α , a tím k projevům leukocytospermie (4). Covid-19 může v závažných případech působit jako hyperzánětlivý syndrom s přetrvávající horečkou s fulminantní hypercytokinemií a multiorgánovým selháním (18). Ve studii Ediz et al. byly porovnány dvě skupiny pacientů s absencí a přítomností subjektivní bolesti varlat nebo epididymoorchitidy, která však byla diagnostikována pouze v jednom případě. Výsledky neodhalily statisticky významný rozdíl ve věku pacientů, hladinách CRP, D-dimerů nebo poměru neutrofilů a lymfocytů. Častěji však byla bolest varlat pozorována u hospitalizovaných pacientů (31).

Poškození varlat může být potenciálně způsobeno oxidačním stresem, což prokázala studie Moghimi et al., která zjišťovala produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) a koncentrace glutathion disulfidu (GSH) u zemřelých s covidem-19 oproti

kontrolám. Bylo odhaleno signifikantní zvýšení ROS a snížení GSH u covid-19 pozitivních pacientů oproti kontrolní skupině (29).

HORMONÁLNÍ ZMĚNY

Většina virů, včetně SARS-CoV-2, je schopna po proniknutí do těla prolomit hematoencefalickou bariéru. Prolomení hematoencefalické bariéry je možné v důsledku poškození těsných kontaktů (tight junction) složených z transmembránových a cytozolických proteinů, v mikrovaskulárních endoteliálních buňkách nebo vlivem změny permeability hematoencefalické bariéry (32). Projevy zánětu tak mohou být patrné v různých místech centrální nervové soustavy (CNS) jako např. mozek, mícha a mozkové pleny. Současné poškození více oblastí CNS může způsobit meningitidu, encefalitidu, myelitidu, meningoencefalitidu a encefalomyelitidu (33). Zároveň gliové buňky a neurony jsou schopny exprimovat ACE2 receptory, což umožňuje viru SARS-CoV-2 tyto buňky napadat a způsobovat neurologická poškození, a to také v oblastech hypotalamo-hypofýzo-gonádové osy (HHG) důležité pro endokrinní kontrolu spermatogeneze (13).

Fyziologicky neurony hypotalamu uvolňují gonadoliberin, jehož pulzní sekrece je potřebná k iniciaci sekrece gonadotropinů – folikuly stimulujícího hormonu (FSH) a luteinizačního hormonu (LH). Naopak nízká hladina gonadoliberinu vede ke snížení sekrece FSH a LH, zhoršenému fungování Sertoliho a Leydigových buněk a následně ke snížení plodnosti. Změny v uvolňování gonadoliberinu mohou také narušit regulaci hladin estradiolu a prolaktinu čili hormonů prokazatelně souvisejících s neplodností. Onemocnění covid-19 tedy může ovlivnit plodnost i vývoj v období puberty (33). Je však potřeba zmínit, že obecně nemoc, jakožto fyziologický stresor, může vést ke kolísání hladin hormonů (4).

Mezi pacienty s onemocněním covid-19 a bez přítomnosti tohoto onemocnění byly pozorovány změny v koncentracích hormonů. U pacientů s onemocněním covid-19 byly zjištěny vyšší hladiny LH a tím pádem nižší poměr testosteronu (T)

k LH. Předpokládanou příčinou je v tomto případě reakce organismu na přítomný systémový zánět (34). Poměr T : LH zároveň negativně koreloval se závažností onemocnění. Zvýšení LH a snížení T : LH je pravděpodobně způsobeno dysfunkcí varlat, konkrétně Leydigových buněk. Poškození Leydigových buněk vede ke snížení sekrece androgenů, což působí na hypofýzu a může být příčinou snížené produkce T a zvýšených hladin LH. Hladiny estradiolu, FSH a poměru T : estradiol se mezi covid-19 pozitivní skupinou a kontrolní skupinou nelišily (35, 36). Jiná studie potvrdila zvýšené hladiny LH, nižší hladiny testosteronu a zvýšené hladiny prolaktinu. Hladiny FSH nebyly signifikantně rozdílné mezi oběma pozorovanými skupinami (37).

ZMĚNY SPERMIOGRAMU A SOUVISLOST S PROSTATOU

Působení mnohých faktorů vnějšího prostředí, kterými jsou např. kouření, užívání drog, nadměrné působení tepla, expozice chemickým látkám a také infekce, může vést k ovlivnění spermatogeneze a zhoršení parametrů spermioqramu (38). Vzhledem k tomu, že onemocnění covid-19 je ve většině případů doprovázeno vysokou tělesnou teplotou, dochází také ke zvýšení teploty testikulární, která

Tab. 1. Referenční meze pro hodnocení parametrů spermatu dle WHO 2021 (6. vydání) s 95% intervalem spolehlivosti

Tab. 2. Reference limits for the evaluation of semen parameters according to WHO 2021 (6th edition) with 95% confidence interval

Parametr	WHO 2021
Objem spermatu (ml)	1,4 (1,3–1,5)
Koncentrace spermií (106/ml)	16 (15–18)
Celkový počet spermií (106)	39 (35–40)
Celková motilita (%)	42 (40–43)
Progresivní motilita (%)	30 (29–31)
Neprogresivní motilita (%)	1 (1–1)
Nehybné spermie (%)	20 (19–20)
Vitalita spermií (%)	54 (50–56)
Normální formy (%)	4 (3,9–4,0)

má za následek zhoršení spermatogeneze, a tím parametrů spermioqramu (18).

Studiemi sledované parametry byly: objem, koncentrace, celkový počet motilních spermií, pohyblivost progresivní a neprogresivní, vitalita spermií, jejich morfologie a fragmentace DNA, které jsou hlavními ukazateli mužské plodnosti. Pro všechny výše zmíněné parametry, s výjimkou fragmentace spermatické DNA, existují referenční meze stanovené WHO manuálem, jež odpovídají 5. percentilu hodnot získaných na základě populační studie.

Limitní hodnoty % DNA fragmentace jsou stanovovány každou laboratoří zvlášť na základě použití vhodných kontrol (39).

Ma et al. hodnotili parametry spermatu 12 mužů. Ani u jednoho nebyl detekován virus SARS-CoV-2 ve spermatu. Osmi pacientům byla zjištěna normozoospermie s nízkým indexem DNA fragmentace (DFI, $7,6 \pm 2,2$) po proděláním nemoci covid-19. U čtyř byla zjištěna nízká pohyblivost spermií (součet progresivní (PR) a neprogresivní (NP) pohyblivosti < 40 %), z nichž dva měli zhoršenou morfologii (< 4 %). Pouze tři muži byli hodnoceni také před proděláním covidu-19. V jednom případě byl zjištěn pokles motility spermií (PR + NP, 61,7 % vs. 31,1 %) po onemocnění covid-19, avšak není průkazné, že ke změně došlo právě vlivem virové infekce. Ve druhém případě nedošlo k podstatné změně před infekcí a po jejím proděláním a ve třetím případě byl zjištěn pokles celkového počtu motilních spermií (111,67 a 122,40 vs. 97,93) (34).

Prospektivní studie Pazir et al. hodnotila celkem 24 mužů ve věku $34,7 \pm 6,4$ let. Studie prokázala signifikantní rozdíl v celkové motilitě spermií ($p = 0,01$) a v celkovém počtu pohyblivých spermií ($p = 0,02$). Ke změnám po proděláním nemoci covid-19 došlo také v parametru koncentrace spermií ($p = 0,06$) a progresivní motilitě ($p = 0,14$) (37).

Naopak studie Guo et al. nezjistila u pacientů s mírnou a středně závažnou infekcí patologií ve

spermatu po proděláním onemocnění covid-19. Limitací studie je však absence údajů z období před nemocí (40).

Důležitou částí ejakulátu je také prostatická tekutina, která tvoří až třetinu jeho celkového objemu a obsahuje množství proteinů, kalcia a citrátů (33). Prostatická tekutina je vylučována prostatou, jejíž malé procento buněk je také schopno exprimovat ACE2. Buňky epitelu prostaty zároveň exprimují TMPRSS2 (41, 42). Tento mechanismus je také diskutován jako možná příčina některých SARS-CoV-2 pozitivních vzorků spermatu (43).

Účinky na kvalitu spermií závisí na závažnosti a době trvání nemoci. Negativní vliv onemocnění covid-19 je však časem pravděpodobně potlačen (44).

ZÁVĚR

Současné studie potvrdily, že onemocnění covid-19 může, kromě dýchacího ústrojí, postihnout kteroukoliv orgánovou soustavu včetně mužského reprodukčního systému, a ovlivnit tak správnou spermatogenezi. Virus SARS-CoV-2 působí na mužskou plodnost přímo i nepřímo. K přímému ovlivnění dochází z důvodu přítomnosti ACE2 a TMPRSS2, důležitých pro vstup viru do buňky, ve tkáních varlat a prostaty. Nepřímý mechanismus se uplatňuje prostřednictvím ovlivnění hormonálních systémů, zvýšené tělesné teploty, zvýšeného oxidačního stresu a přítomnosti zánětu s uvolněním prozánětlivých cytokinů. K objasnění závažnosti a přesných mechanismů je však potřeba dalšího výzkumu. Limitací mnohých publikovaných studií je zahrnutí pouze omezeného počtu pacientů nebo absence údajů před onemocněním. I přes to, že účinek na mužskou plodnost je pravděpodobně dočasný, mohou tato zjištění ovlivnit postupy center asistované reprodukce.

LITERATURA

1. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Mil Med Res.* 2020; 7(1): 11.

2. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579(7798): 270–273.
3. Salian VS, Wright JA, Vedell PT, et al. COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. *Molecular Pharmaceutics*. 2021; 18(3): 754–771.
4. Collins AB, Zhao L, Zhu Z, et al. Impact of COVID-19 on Male Fertility. *Urology*. 2022; 164: 33–39.
5. Gonzalez DC, Khodamoradi K, Pai R, et al. A Systematic Review on the Investigation of SARS-CoV-2 in Semen. *Res Rep Urol*. 2020; 12: 615–621.
6. Haque A, Pant AB. Mitigating Covid-19 in the face of emerging virus variants, breakthrough infections and vaccine hesitancy. *Journal of Autoimmunity*. 2022; 127: 102792.
7. Alimohamadi Y, Sepandi M, Taghdir M, Hosamirudsari H. Determine the most common clinical symptoms in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *J Prev Med Hyg*. 2020; 61(3): E304–312.
8. Lin L, Jiang X, Zhang Z, et al. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. *Gut*. 2020; 69: 997–1001.
9. Chen X, Laurent S, Oezguer AO, et al. A systematic review of neurological symptoms and complications of COVID-19. *Journal of Neurology*. 2021; 268: 392–402.
10. Odriozola-Gonzalez P, Planchuelo-Gómez Á, Jesús Iruñia M, de Luis-García R. Psychological symptoms of the outbreak of the COVID-19 confinement in Spain. *Journal of Health Psychology*. 2022; 27(4): 825–835.
11. Team CDCC 19 R. SARS-CoV-2 B.1. 1. 529 (Omicron) Variant - United States, December 1-8, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021; 70(50): 1731–1734.
12. Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel ÉB. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2021; 40(5): 905–919.
13. Seymen CM. The other side of COVID-19 pandemic: Effects on male fertility. 2020; 93(3): 1396–1402.
14. Harmer D, Gilbert M, Borman R, Clark KL. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. 2002; 532(1-2): 107–110.
15. Li W, Moore MJ, Vasileva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003; 426(6965): 450–454.
16. Sengupta P, Dutta S, Slama P, Roychoudhury S. COVID-19, oxidative stress, and male reproductive dysfunctions: is vitamin C a potential remedy? *Physiol Res*. 2022; 71(1): 47–54.
17. Jian S, Yushun W, Chuming L, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020; 117(21): 11727–11734.
18. Younis JS, Abassi Z, Skorecki K. Is there an impact of the COVID-19 pandemic on male fertility? The ACE2 connection. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2020; 318(6): E878–880.
19. Douglas GC, O'Bryan MK, Hedger MP, et al. The novel Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) homolog, ACE2, is selectively expressed by adult leydig cells of the testis. *Endocrinology*. 2004; 145(10): 4703–4711.
20. Reis AB, Fabiano CA, Pereira VM, et al. Angiotensin (1–7) and its receptor Mas are expressed in the human testis: implications for male infertility. 2010; 41(1): 75–80.
21. Liu X, Chen Y, Tang W, et al. Single-cell transcriptome analysis of the novel coronavirus (SARS-CoV-2) associated gene ACE2 expression in normal and non-obstructive azoospermia (NOA) human male testes. *Science China Life Sciences*. 2020; 63(7): 1006–1015.
22. Wang K, Chen W, Zhou YS, et al. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *BioRxiv*. 2020.
23. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and provides a possible pathway into the central nervous system. *BioRxiv*. 2020.
24. Yang M, Chen S, Huang B, et al. Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications. *Eur Urol Focus*. 2020; 6(5): 1124–1129.

25. Flaifel A, Guzzetta M, Occidental M, et al. Testicular Changes Associated With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2020; 145(1): 8–9.
26. Li H, Xiao X, Zhang J, et al. Impaired spermatogenesis in COVID-19 patients. *EClinicalMedicine*. 2020; 28: 100604.
27. Xu J, Qi L, Chi X, et al. Orchitis: A Complication of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)1. *Biology of Reproduction*. 2006; 74(2): 410–416.
28. Pan F, Xiao X, Guo J, et al. No evidence of severe acute respiratory syndrome–coronavirus 2 in semen of males recovering from coronavirus disease 2019. *Fertil Steril*. 2020; 113(6): 1135–1139.
29. Moghimi N, Eslami Farsani B, Ghadipasha M, et al. COVID-19 disrupts spermatogenesis through the oxidative stress pathway following induction of apoptosis. *Apoptosis*. 2021; 26(7): 415–430.
30. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews Immunology*. 2020; 20(6): 363–374.
31. Ediz C, Tavukcu HH, Akan S, et al. Is there any association of COVID-19 with testicular pain and epididymo-orchitis? *International Journal of Clinical Practice*. 2021; 75(3): e13753.
32. Qingqing C, Wen QH, Ming Z, Huijun L, Zhen FF. Enhancement of Blood-Brain Barrier Permeability and Reduction of Tight Junction Protein Expression Are Modulated by Chemokines/Cytokines Induced by Rabies Virus Infection. *Journal of Virology*. 2014; 88(9): 4698–4710.
33. Vishvkarma R, Rajender S. Could SARS-CoV-2 affect male fertility? *Andrologia*. 2020; 52(9): e13712–e13712.
34. Ma L, Xie W, Li D, et al. Evaluation of sex-related hormones and semen characteristics in reproductive-aged male COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology*. 2021; 93(1): 456–462.
35. Ma L, Xie W, Li D, et al. Effect of SARS-CoV-2 infection upon male gonadal function: a single center-based study. *medRxiv*. 2020.
36. Tian Y, Zhou L quan. Evaluating the impact of COVID-19 on male reproduction. *Reproduction*. 2021; 161(2): 37–44.
37. Pazir Y, Eroglu T, Kose A, et al. Impaired semen parameters in patients with confirmed SARS-CoV-2 infection: A prospective cohort study. *Andrologia*. 2021; 53(9): e14157.
38. Collodel G, Capitani S, Pammolli A, et al. Semen Quality of Male Idiopathic Infertile Smokers and Non-smokers: An Ultrastructural Study. *Journal of Andrology*. 2010; 31(2): 108–113.
39. World Health Organization, editor. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. Geneva, Switzerland; 2021.
40. Guo L, Zhao S, Li W, et al. Absence of SARS-CoV-2 in semen of a COVID-19 patient cohort. *Andrology*. 2021; 9(1): 42–47.
41. Song H, Seddighzadeh B, Cooperberg MR, Huang FW. Expression of ACE2, the SARS-CoV-2 Receptor, and TMPRSS2 in Prostate Epithelial Cells. *Eur Urol*. 2020; 78(2): 296–298.
42. Massarotti C, Garolla A, Maccarini E, et al. SARS-CoV-2 in the semen: Where does it come from? *Andrology*. 2021; 9(1): 39–41.
43. Wang Z, Xu X. scRNA-seq profiling of human testes reveals the presence of the ACE2 receptor, a target for SARS-CoV-2 infection in spermatogonia, Leydig and Sertoli cells. *Cells*. 2020; 9(4): 920.
44. Aitken RJ. COVID-19 and male infertility: An update. *Andrology*. 2022.