

SYSTEMATIC REVIEW

Pengaruh Paparan Asap Rokok Terhadap Sperma Pria: *Systematic Review*

Aidil Akbar

Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah
Sumatera Utara

Email: aidilabr@gmail.com

Abstrak: Asap rokok mengandung lebih 4000 senyawa yang dapat menimbulkan stress oksidatif terhadap organ reproduksi pria serta sperma yang berpotensi menimbulkan terjadinya infertilitas pada pria. Telaah Sistematis (systematic review) ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh paparan asap rokok terhadap sperma pria. Peneliti melakukan penelusuran literatur menggunakan aplikasi mesin pencari Google Scholar dengan menggunakan kata kunci *smoking and sperm*. Peneliti menemukan 660 artikel, dari hasil seleksi literatur dengan menggunakan metode prisma didapatkan 24 artikel yang masuk dalam kriteria inklusi. Disimpulkan bahwa paparan asap rokok dapat mempengaruhi sistem reproduksi pria yang berpotensi menimbulkan infertilitas, hal ini dapat dibuktikan dengan pemeriksaan sperma secara mikroskopis hingga tingkat molekuler.

Kata kunci: *merokok, sperma, infertilitas*

Abstract: Cigarette smoke contains more than 4000 compounds that can cause oxidative stress to male reproductive organs and sperm, which has the potential to cause male infertility. This systematic review aims to determine the effect of cigarette smoke exposure on male sperm. The researcher conducted a literature search using the Google Scholar search engine application using keywords *smoking and sperm*. The researcher found 660 articles, from the literature selection using the prism method obtained 24 articles that fall into the inclusion criteria. It is concluded that exposure to cigarette smoke can affect the male reproductive system which has the potential to cause infertility, this can be proven by microscopic examination of sperm to the molecular level.

Keywords: *smoking, sperm, infertility*

Pendahuluan

Merokok merupakan salah satu gaya hidup yang dimiliki oleh sebagian manusia. Saat ini 1 dari 3 orang dengan kelompok usia diatas 15 tahun merupakan perokok.¹ Merokok dikaitkan dengan faktor pencetus berbagai macam penyakit yang salah satunya berhubungan dengan terjadinya infertilitas baik pada pria maupun wanita.¹

Rokok merupakan hasil olahan tembakau yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tobacum*, *Nicotiana rustica* dan spesies lain dimana dalam setiap pembakaran tembakau menghasilkan lebih kurang 4000 komponen kimia dan perokok menghisap racun-racun termasuk didalamnya nikotin, karbon monoksida, kadmium dan komponen mutagenik yang berpotensi merusak sel germinal pada pria.^{2,3}

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh paparan asap rokok serta mekanisme terjadinya gangguan pada sperma yang dikaitkan dengan infertilitas pada pria, seperti efek nikotin yang menyebabkan

vasokonstriksi pada organ reproduksi pria, hingga terjadinya fragmentasi dari DNA pada semen dan spermatozoa pria.⁴

Telaah Sistematis (*systematic review*) ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh paparan asap rokok terhadap sperma pria.

Metode

Studi ini merupakan menelusuran telaah sistematis (*systematic review*). Cara mengumpulkan artikel dengan menggunakan kata kunci *smoking and sperm* melalui mesin pencari artikel Google Scholar. Artikel yang memenuhi kriteria inklusi adalah artikel yang telah dipublikasi di jurnal nasional maupun jurnal internasional dalam rentang waktu 2010-2021. Artikel membahas secara langsung hubungan merokok dengan kualitas sperma manusia baik secara kualitatif maupun kuantitatif, memiliki metodologi penulisan artikel yang baik (latar belakang penelitian yang jelas, metodologi dan desain penelitian, hasil dan pengolahan data yang benar dan

lengkap, diskusi dan kesimpulan). Penyaringan artikel dilakukan dengan metode prisma. Artikel yang tidak memenuhi persyaratan akan di eksklusikan. Data inklusi selanjutnya dilakukan tabulasi dengan menggunakan aplikasi *Microsoft Excel*, dibuat pembahasan dan kesimpulannya.

Hasil

Dari 660 artikel yang di temukan, setelah dilakukan seleksi artikel secara sistematis maka terdapat 24 artikel yang masuk ke dalam kriteria inklusi seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penelusuran literatur secara sistematis

No	Nama Penulis	Judul	Tahun Publikasi	Asal Negara	Studi	Jumlah Sampel	Hasil
1	Hisham et al. ⁵	<i>Smoking practices in Jordanian people and their impact on Semen quality and hormonal levelS among adult men</i>	2011	Jordania	Potong lintang	530	Konsentrasi dan motilitas sperma lebih rendah pada perokok dibanding bukan perokok
2	Apriora DV, Amir A, Khairsyaf O. ⁶	Gambaran Morfologi Spermatozoa pada Perokok Sedang di Lingkungan PE Group yang Datang ke Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas	2015	Indonesia	Deskriptif	33	Perokok sedang yang diteliti memiliki gambaran morfologi spermatozoa yang normal, dengan abnormalitas kepala sebagai abnormalitas terbanyak dan bentuk kelainan

							kepala besar sebagai bentuk kelainan yang paling banyak ditemukan.
3	Ridhoila I, Yusrawati, Amir A. ³	Perbandingan kualitas spermatozoa pada analisis semen pria dari pasangan infertil dengan riwayat merokok dan tidak merokok	2017	Indonesia	Potong lintang	64	Tidak terdapat perbedaan bermakna kualitas spermatozoa pria dari pasangan infertil dengan riwayat merokok dan tidak merokok
4	Margiana R. ⁷	<i>Effect of Cigarettes Smoking on Embryo Development through its Effect on Sperm DNA Fragmentation - A Systematic Review</i>	2018	Indonesia	Telaah sistematis	4	<i>Cigarette smoking through sperm DNA fragmentation on affects early embryonic development</i>
5	Amina I, Et Al. ²	<i>Impact of Cigarette Smoking on Sperm Parameters of Infertile Men in Center of Algiers (Capital of Algeria)</i>	2020	Algeria	Retrospektif	377	<i>Sperm concentration, percentage motility and morphology were significantly lower in an infertile Smokers group than the infertile</i>

							<i>Nonsmokers group.</i>
6	Liu RZ Et AL. ⁸	<i>Seminal Plasma Zinc Level May be Associated with the Effect of Cigarette Smoking on Sperm Parameters</i>	2010	China	Retrospektif	147	<i>There was a significant decrease in seminal plasma zinc in smokers and a clear correlation between seminal plasma zinc levels and the extent of smoking.</i>
7	Yang Et AL. ⁹	<i>Couple's infertility in relation to male smoking in a Chinese rural area</i>	2017	China	Potongan lintang	7025	<i>we conclude that male smoking may have an adverse impact on couples' infertility.</i>
8	Omrani BA Et AL. ¹⁰	<i>Associations of sperm DNA fragmentation with lifestyle factors and semen parameters of Saudi men and its impact on ICSI outcome</i>	2018	Saudi Arabia	Prospektif	94	<i>Smoking was positively correlated with low DFI category</i>
9	Antoniassi MP Et AL. ¹	<i>Analysis of the functional aspects and seminal</i>	2016	Brazil	Potongan lintang	20	<i>Smokers had a higher percentage of sperm</i>

		<i>plasma proteomic profile of sperm from smokers</i>					DNA damage
10	Yu B Et Al. ¹¹	<i>Cigarette Smoking Is Associated with Human Semen Quality in Synergy with NRF2 Polymorphisms</i>	2013	China	Potong lintang	628	This study suggests an association between cigarette smoking in heavy smokers with NRF2 rs6721961 TT genotype and a decrease in semen quality.
11	Yousefnia pasha Y Et Al. ¹²	<i>Nitric Oxide Levels and Total Antioxidant Capacity in The Seminal Plasma of Infertile Smoking Men</i>	2015	Iran	Potong lintang	95	It argued that the increased NO levels associated with smoking might exceed the capacity of antioxidant defense system, leading to increased oxidative damage of seminal plasma and decreased fertility in men.

12	Ravnborg TL Et Al. ¹³	<i>Prenatal and adult exposures to smoking are associated with adverse effects on reproductive hormones, semen quality, final height and body mass index</i>	2011	Denmark	Potong lintang	3486	Prenatal exposure to tobacco may lead to faster pubertal development possibly caused by a higher free-T, and to higher adult BMI and impairment of testicular function.
13	Lotti F Et Al. ¹⁴	<i>Current smoking is associated with lower seminal vesicles and ejaculate volume, despite higher testosterone levels, in male subjects of infertile couples</i>	2015	Italy	Potong lintang	426	In males of infertile couples, Current Smoker (CS), when compared with non-smokers, show lower ejaculate and ultrasound-derived SV volume despite higher testosterone levels.
14	Devy S. ¹⁵	Hubungan kualitas sperma pada perokok berat dan bukan perokok pada manusia	2018	Indonesia	Potong lintang	32	Rokok berpengaruh terhadap kualitas sperma mahasiswa
15	Rusman K. ¹⁶	Pengaruh Aktivitas Merokok Terhadap Hasil Analisa Sperma Pada Kasus Infertilitas	2019	Indonesia	Potong lintang	182	Semakin lama masa merokok maka semakin berkurang volume sperma dari

		Pria di Makassar Desember 2015 – Maret 2016					penderita infertilitas primer pria.
16	Tang Q Et Al. ¹⁷	<i>Semen quality and cigarette smoking in a cohort of healthy fertile men</i>	2019	China	Potong lintang	1631	Cigarette smoking was associated with lower semen volume and total sperm count and higher sperm motility.
17	Mitra A Et Al. ¹⁸	<i>Effect of smoking on semen quality, FSH, testosterone level, and CAG repeat length in androgen receptor gene of infertile men in an Indian city</i>	2012	India	Retrospektif	304	The study suggested that smoking is associated with altered semen quality, endocrine hormonal status, and number of CAG repeats in the AR gene.
18	Hamad MF Et Al. ¹⁰	<i>Impact of cigarette smoking on histone (H2B) to protamine ratio in human spermatozoa and its relation to sperm parameters</i>	2014	Jordan	Prospektif	54	Smoking causes a substantial negative effect on sperm production, count, motility and morphology and membrane integrity. Smoking is

							strongly associated with abnormalities in histone-to-protamine transition and with alteration of protamine P1/P2 expression in human spermatozoa
19	Linggappa HA Et Al. ¹⁹	<i>Evaluation of Effect of Cigarette Smoking on Vital Seminal Parameters which Influence Fertility</i>	2015	India	Retrospektif	123	This study throws light on the detrimental effect of cigarette smoking on male fertility as reflected by decreased vital parameters of semen like sperm motility and sperm count
20	Ghaffari AM Et Al. ²⁰	<i>Lipid Peroxidation and Nitric Oxide Levels in Male Smokers' Spermatozoa and their Relation with Sperm Motility</i>	2012	Iran	Potong lintang	147	Cigarette smoking may affect the fertility of male smokers via increasing the amount of sperm MDA/lipid peroxidation and NO concentrations.

21	Cui X Et Al. ⁴	<i>Potential effect of smoking on semen quality through DNA damage and the downregulation of Chk1 in sperm</i>	2016	China	Potong lintang	1218	Increased DNA fragmentation rates were found in the smoking group.
22	Pereira CS Et Al. ²¹	<i>Smoking-induced chromosomal segregation anomalies identified by FISH analysis of sperm</i>	2014	Brazil	Prospectif	7	Chromosome 3 may be susceptible to smoking-related segregation anomalies
23	Emma L Et Al. ²²	<i>Smoking induces differential miRNA expression in human spermatozoa : A potential transgenerational epigenetic concern?</i>	2012	UK	Potong lintang	13	We show that cigarette smoke induces specific differences in the spermatozoal microRNA content of human smokers compared with non-smokers, and that these altered microRNAs appear to predominantly mediate pathways vital for healthy sperm and normal embryo development

							nt, particularly cell death and apoptosis.
24	Kumar BS Et Al. ²³	<i>Tobacco Use Increases Oxidative DNA Damage in Sperm - Possible Etiology of Childhood Cancer</i>	2015	India	Prospektif	198	This study emphasizes the adverse effect of tobacco on the paternal genome and how accumulati on of oxidative damage in sperm DNA may contribute to the etiology of NFSHRb

Diskusi

Paparan asap rokok dapat mempengaruhi fertilitas pria berupa perubahan penurunan jumlah volume semen, jumlah sel sperma, peningkatan morfologi sperma abnormal, dan penurunan motilitas sel sperma.^{2,15,17} Peningkatan resiko terjadinya infertilitas berbanding lurus dengan banyaknya jumlah rokok yang dikonsumsi dan jangka waktu merokok.^{9,16,4}

Kebiasaan merokok telah dibuktikan bertanggung jawab terhadap terjadinya framen tasi DNA sperma hal ini oleh beberapa peneliti dibuktikan dengan melakukan pengukuran terhadap peningkatan *reactive oksigen species* (ROS) pada sperma yang menyebabkan perubahan pada metilasi DNA sperma yang dibuktikan oleh beberapa penelitian dengan adanya peningkatan DNA *fragmentation indeks* (DFI) sebagai rasio jumlah spermatozoa

dengan DNA terfragmentasi terhadap jumlah semua sel sperma yang dianalisis.^{24,25,10,7} Nilai ini diberikan sebagai persentase dengan nilai DFI <30% dianggap normal.^{4,25} Di samping itu peneliti juga melakukan analisis terhadap peningkatan kadar 8-hydroxy^{2'}-deoxyguanosine (8-OHdG).²³ 8-OHdG merupakan biomarker yang paling reliabel untuk mengetahui adanya kerusakan DNA akibat stress oksidatif.²⁶

Pembuktian adanya keterkaitan paparan asap rokok terhadap kerusakan DNA sperma dilakukan dengan analisis ekspresi *checkpoint kinase 1* (Chk1), konsentrasi *seminal plasma zinc*, dan aktivitas akrosin pada sperma perokok dan bukan perokok.⁴

Chk1 bekerja pada fase mitosis sel sehingga kegagalan proses mitosis sel dapat dicegah untuk proliferasi dan kelangsungan hidup sel.²⁷ Penurunan ekspresi Chk1 menunjukkan adanya penurunan aktivitas perbaikan pada kerusakan DNA berkorelasi terhadap fragmentasi DNA sperma.⁴

Zinc merupakan *trace mineral* yang berguna agar sperma dapat hidup dan berfungsi dengan normal. *Zinc* juga berperan pada stabilitas kromatin sperma, kualitas semen, dan berhubungan dengan kemampuan

sperma dalam penetrasi mukus servikal. Pada organ seminal, sebagian besar *zinc* dihasilkan dari sekresi kelenjar prostat pria. Pada sperma normal, *zinc seminal plasma* memiliki kadar normal 125 mg/dL. Penurunan kadar *zinc seminal* berhubungan dengan penurunan kinerja kelenjar prostat yang juga meningkatkan terjadinya infertilitas pria.²⁸

Akrosin plasma dikaitkan dengan timbulnya resiko subfertil dan infertilitas pada pria.⁴ Di dalam sperma kadar akrosin plasma adalah >25 μ IU *acrosin*/10⁶ sperma. Akrosin sperma mengandung berbagai enzim hidrolitik, yang kelompok terbesarnya adalah proteinase. Akrosin termasuk dalam proteinase serin, yaitu proteinase dengan serin pada bagian aktifnya. Akrosin memainkan peran penting dalam pembuahan mamalia karena mengkatalisis hidrolisis zona *pellucida* dan terlibat dalam dispersi matriks akrosomal dan dalam pengikatan spermatozoa ke zona *pellucida*.^{29,30}

Malondialdehyde (MDA) dan *Nitric Oxide* (NO) juga digunakan oleh beberapa peneliti untuk menentukan adanya hubungan antara oksidatif stres akibat merokok dengan motilitas sperma dan didapatkan bahwa kadar

MDA dan NO lebih tinggi pada sperma perokok dibanding yang tidak merokok. Meskipun dalam penelitian tersebut tidak dapat dikaitkan dengan motilitas sperma, namun hal ini menunjukkan bahwa kebiasaan merokok menyebabkan stress oksidatif pada sel sperma yang berpotensi menyebabkan terjadinya kerusakan DNA pada sperma.^{20,12}

Identifikasi adanya paparan lingkungan terhadap perubahan DNA pada sperma juga dapat ditentukan dengan pengukuran ekspresi mRNA. mRNA berkaitan dengan metilasi DNA yang berhubungan erat dengan adanya proses abnormal ataupun penyakit yang terjadi pada tingkat genetik sebagai akibat adanya paparan lingkungan.²²

Pada penelitian yang membandingkan kadar hormon testosteron dan *luteinizing hormone* (LH) pada pria prokok dan non perokok, ditemukan bahwa kadar hormon signifikan lebih rendah pada kelompok subjek perokok.⁵

Merokok juga dikaitkan dengan kelainan dalam transisi *histone-to-protamine* dan perubahan ekspresi protamine P1/P2 pada spermatozoa manusia. Ekspresi tersebut ditemukan lebih tinggi pada subjek perokok dibandingkan dengan non perokok. Hal ini

dapat menyebabkan perubahan struktur kromatin sperma yang abnormal saat spermatogenesis yang berakhir dengan terjadinya infertilitas.¹⁰

Sebuah penelitian di Brazil yang dilakukan oleh Antoniasi et.al. menemukan bahwa paparan asap rokok mengakibatkan terjadinya penurunan fungsi mitokondria pada sel sperma, hilangnya beberapa protein essensial serta peningkatan kadar lipid peroksidase pada cairan seminal yang menurunkan kualitas sperma.¹

Mitra et.al. juga melakukan pengukuran terhadap *androgen receptor* (AR)-CAG *repeat length* pada pria perokok yang menunjukkan kadar signifikan lebih tinggi dibanding non perokok. Hal ini berkorelasi dengan tingginya peningkatan infertilitas pada pria.^{31, 18}

Peningkatan oksidatif akibat paparan asap rokok pada sperma juga dapat diidentifikasi dengan melakukan pemeriksaan kadar *erythroid 2-related factor 2* (NRF2) dimana peningkatan kadar NRF2 menunjukkan adanya peningkatan terjadi oksidatif stres pada sperma.¹¹

Kesimpulan

Dari studi telah sistematis ini dapat disimpulkan bahwa paparan asap rokok dapat mempengaruhi sistem reproduksi pria yang berpotensi menimbulkan infertilitas. Hal ini

dapat dibuktikan dengan pemeriksaan sperma secara mikroskopis hingga tingkat molekuler.

Daftar Pustaka

1. Antoniassi MP, Intasqui P, Camargo M, Suslik D, Carvalho VM, Cardozo KHM. Analysis of the functional aspects and seminal plasma proteomic profile of sperm from smokers. 2016;(June). doi:10.1111/bju.13539
2. Amina I, Demmouche A, Maï H, et al. Journal of Drug Delivery and Therapeutics Impact of Cigarette Smoking on Sperm Parameters of Infertile Men in Center of Algiers (Capital of Algeria). 2020;10:193-196.
3. Apriora VD, Amir A, Khairisyaf O. Artikel Penelitian Gambaran Morfologi Spermatozoa pada Perokok Sedang di Lingkungan PE Group yang Datang ke Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. 2015;4(2):425-429.
4. Cui X, Jing X, Wu X, Wang Z, Li Q. Potential effect of smoking on semen quality through DNA damage and the downregulation of Chk1 in sperm. Published online 2016:753-761. doi:10.3892/mmr.2016.5318
5. Al-matubsi HY, Kanaan RA, Hamdan F, et al. Smoking practiceS in Jordanian people and their impact on Semen quality and hormonal levelS among adult men. 2011;19(1):2011.
6. Penelitian A. PERBANDINGAN SPERMATOZOA ANALISIS SEMEN PRIA DARI PASANGAN INFERTIL DENGAN RIWAYAT MEROKOK DAN TIDAK MEROKOK. 6(2):259-264.
7. Margiana R. Effect of Cigarettes Smoking on Embryo. 2018;2018(3):1055-1058.
8. Iu RL, Ao JG, Hang HZ, et al. Seminal Plasma Zinc Level May be Associated with the Effect of Cigarette Smoking on Sperm Parameters. Published online 2010:923-928.
9. Yang F, Li L, Chen JP, et al. Couple 's

- s infertility in relation to male smoking in a Chinese rural area. 2017;(June 2015):311-315. doi:10.4103/1008-682X.168685
10. Omrani B Al, Eisa N Al, Javed M, Ghedan M Al, Matrafi H Al, Sufyan H Al. Associations of sperm DNA fragmentation with lifestyle factors and semen parameters of Saudi men and its impact on ICSI outcome. Published online 2018:1-6.
 11. Polymorphisms FNRF, Yu B, Chen J, et al. Cigarette Smoking Is Associated with Human Semen Quality in Synergy with Clinical Data of Study Subjects. 2013;89(May):1-7. doi:10.1095/biolreprod.113.109389
 12. Yousefniapasha Y, Jorsaraei G, Ph D. Nitric Oxide Levels and Total Antioxidant Capacity in The Seminal Plasma of Infertile Smoking Men. 2015;17(1):129-136.
 13. Ravnborg TL, Jensen TK, Andersson A, Toppari J, Skakkebaek NE, Jørgensen N. Prenatal and adult exposures to smoking are associated with adverse effects on reproductive hormones , semen quality , final height and body mass index. 2011;26(5):1000-1011. doi:10.1093/humrep/der011
 14. Lotti F, Corona G, Vitale P, et al. Current smoking is associated with lower seminal vesicles and ejaculate volume , despite higher testosterone levels , in male subjects of infertile couples. 2015;30(3):590-602. doi:10.1093/humrep/deu347
 15. Devy S, Islam U, Utara S. DAN BUKAN PEROKOK PADA MAHASISWA. 2018;1(1):35-42.
 16. Rusman K. Umi medical journal. *Umi Med J*. 2019;4(2):50-62.
 17. Tang Q, Pan F, Wu X, Nichols CE, Wang X, Xia Y. ENVIRONMENTAL Semen quality and cigarette smoking in a cohort of healthy fertile men. Published online 2019. doi:10.1097/EE9.0000000000000055
 18. Mitra A, Chakraborty B, Mukhopadhyay D, Mukherjee S, Banerjee S, Chaudhuri K. Systems Biology in Reproductive Medicine Effect of smoking on semen quality , FSH , testosterone level , and CAG repeat length in androgen receptor gene of infertile men in an Indian city.

- 2012;6368(May).
doi:10.3109/19396368.2012.684195
19. Article O, Lingappa HA, Manchaiah S, Krishnamurthy A, Bashir S, Doddaiiah N. Evaluation of Effect of Cigarette Smoking on Vital Seminal Parameters which Influence Fertility. Published online 2015:13-15. doi:10.7860/JCDR/2015/13295.6227
20. Ghaffari MA, Rostami M. Lipid Peroxidation and Nitric Oxide Levels in Male Smokers ' Spermatozoa and their Relation with Sperm Motility. 2012;13(3):81-87.
21. Pereira CS, Silvina M, Vozzi J De, et al. Smoking-induced chromosomal segregation anomalies identified by FISH analysis of sperm. Published online 2014.
22. Marczylo EL, Amoako AA, Konje JC, et al. Smoking induces differential miRNA expression in human spermatozoa : A potential transgenerational epigenetic concern ? Smoking induces differential miRNA expression in human spermatozoa A potential transgenerational epigenetic concern ? 2012;2294(May). doi:10.4161/epi.19794
23. Kumar SB, Chawla B, Bisht S, Yadav RK. Tobacco Use Increases Oxidative DNA Damage in Sperm - Possible Etiology of Childhood Cancer. 2015;16:6967-6972.
24. Lu J, Jing J, Chen L, et al. Analysis of human sperm DNA fragmentation index (DFI) related factors : a report of 1010 subfertile men in China. Published online 2018:1-9.
25. Oleszczuk K, Giwercman A, Bungum M. Intra-individual variation of the sperm chromatin structure assay DNA fragmentation index in men from infertile couples. 2011;26(12):3244-3248. doi:10.1093/humrep/der328
26. Lan J, Henshall DC, Simon RP, Chen J. Formation of the Base Modification 8-Hydroxyl-2 J - Deoxyguanosine and DNA Fragmentation Following Seizures Induced by Systemic Kainic Acid in the Rat. Published online 2000.
27. Tang J, Erikson RL, Liu X. Checkpoint kinase 1 (Chk1) is required for mitotic polo-like kinase 1 (Plk1). 2006;1.
28. Zhao J, Dong X, Hu X, et al. Zinc levels in seminal plasma and their

- correlation with male infertility: A systematic review and. *Nat Publ Gr.* 2016;(February):1-10.
doi:10.1038/srep22386
29. Stasiak K, Janicki B, Glogowski J. Determination of sperm acrosin activity in the arctic fox (*Alopex lagopus* L .) – using method developed for human spermatozoa. 2012;15(4):799-800.
doi:10.2478/v10181-012-0121-4
30. Ferrer M, Rodriguez H, Zara L. MMP2 and acrosin are major proteinases associated with the inner acrosomal membrane and may cooperate in sperm penetration of the zona pellucida during fertilization. Published online 2012:881-895.
doi:10.1007/s00441-012-1429-1
31. Butler MG, Manzardo AM. Androgen receptor (AR) gene CAG trinucleotide repeat length associated with body composition measures in non-syndromic obese , non-obese and Prader-Willi syndrome individuals. Published online 2015:909-915.
doi:10.1007/s10815-015-0484-4