

Timbal Sebagai Bahan Gonadotoksik dan Mekanismenya dalam Menginduksi Infertilitas pada Pria

Anggraeni Janar Wulan¹, Awang Dyan Purnomo²

1. Bagian Anatomi, Histologi, PA Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
2. Bagian Ilmu Bedah Urologi, Rumah sakit Umum Daerah Abdul Moeloek

Abstrak

Infertilitas didefinisikan sebagai ketidakmampuan untuk terjadinya kehamilan setelah 12 bulan melakukan hubungan seksual secara teratur tanpa perlindungan apapun. Problem infertilitas dialami oleh 10-17% pasangan suami istri di dunia dengan peningkatan prevalensi 0,37% pada wanita dan 0.291% pada pria (tahun 1990-2017). Sebesar 30-50% penyebab infertilitas berasal dari pria. Salah satu penyebab infertilitas pria adalah paparan terhadap polutan lingkungan berupa timbal. Timbal menyebabkan infertilitas melalui beberapa mekanisme yaitu : menurunkan produksi hormon yang berperan dalam spermatogenesis (*gonadotropin releasing hormone* (GnRH), *luteinizing hormone* (LH), *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan *testosteron*) pada sirkulasi, jaringan testis dan hipotalamus ; memacu proses inflamasi dengan cara meningkatkan produksi sitokin proinflamasi (*interleukin-1beta* (IL-1 β), *tumour necrotic factor-alpha* (TNF- α), dan *nuclear factor kappa B* (NFkB), IL-6 dan C-reactive protein); memacu terjadinya stres oksidatif melalui mekanisme peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan menurunkan kapasitas antioksidan endogen (*katalase* (CAT), *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione* (GSH)) serta menurunkan *total antioxidant capacity*; meningkatkan kerusakan DNA spermatozoa dan memacu apoptosis yang ditandai dengan peningkatan ekspresi *caspase-3*, *Bax*, dan penurunan *BCI-2*. Mekanisme tersebut menyebabkan penurunan fungsi sperma (jumlah, motilitas, morfologi, serta viabilitas), menurunkan berat organ reproduksi dan menyebabkan perubahan histologis pada testis. **Simpulan** : Timbal merupakan bahan yang bersifat gonadotoksik yang berperan penting dalam menyebabkan infertilitas pada pria.

Lead as a Gonadotoxic Substance and Its Mechanism in Inducing Infertility in Men

Abstract

Infertility is defined as the inability to conceive after 12 months of regular sexual intercourse without any protection. Infertility problems are experienced by 10-17% of married couples in the world with an increase in prevalence of 0.37% in women and 0.291% in men (1990-2017). As much as 30-50% of the causes of infertility come from men. One of the causes of male infertility is exposure to environmental pollutants in the form of lead. Lead causes infertility through several mechanisms, namely: decreasing the production of hormones that play a role in spermatogenesis (*gonadotropin releasing hormone* (GnRH), *luteinizing hormone* (LH), *follicle-stimulating hormone* (FSH) and *testosterone*) in circulation, testicular tissue and hypothalamus; spur the inflammatory process by increasing the production of proinflammatory cytokines (*interleukin-1beta* (IL-1 β), *tumour necrotic factor-alpha* (TNF- α), and *nuclear factor kappa B* (NFkB), IL-6 and C-reactive protein); spurring oxidative stress through the mechanism of increasing the production of *reactive oxygen species* (ROS) and reducing endogenous antioxidant capacity (*catalase* (CAT), *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione* (GSH)) and reducing total antioxidant capacity; increases spermatozoa DNA damage and spurs apoptosis characterized by increased expression of *caspase-3*, *Bax*, and decreased *BCI-2*. Such mechanisms lead to a decrease in sperm function (number, motility, morphology, as well as viability), decrease in the weight of the reproductive organs and cause histological changes in the testes. Conclusion: Lead is a gonadotoxic material that plays an important role in causing infertility in men.

Keywords: Infertilitas, Pria, Spermatogenesis, Timbal

Korespondensi: dr Anggraeni Janar Wulan, M.Sc, Alamat Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, hp 08122517435, email ajwulan@gmail.com

Pendahuluan

Infertilitas didefinisikan sebagai ketidakmampuan untuk terjadinya kehamilan setelah 12 bulan melakukan hubungan seksual secara teratur tanpa menggunakan mekanisme perlindungan apapun. Infertilitas dibedakan menjadi 2 yaitu infertilitas primer dan sekunder. Infertilitas primer terjadi ketika pasangan belum pernah sama sekali memiliki anak atau tidak berhasil mengalami kehamilan, sedangkan infertilitas sekunder terjadi Ketika kesulitan untuk mengalami kehamilan setelah anak pertama^{1a}. Studi epidemiologi di India menunjukkan bahwa prevalensi infertilitas primer lebih banyak dibandingkan infertilitas sekunder yaitu 57,5% vs 42,5%.²

Problem infertilitas mengenai sekitar 10% pasangan suami istri di dunia.³ (Borghn, 2018). *World Health Organization* (WHO) memasukkan infertilitas ke dalam 5 besar masalah kesehatan pada kelompok populasi usia muda.² Data terbaru yang dikeluarkan oleh WHO menunjukkan bahwa prevalensi infertilitas adalah sebanyak 17,5%.⁴ Studi Global berasal dari 195 negara yang dilaporkan oleh Sun *et al* (2019)⁵ menunjukkan perkembangan kasus infertilitas dari tahun ke tahun. Disebutkan bahwa prevalensi infertilitas di dunia meningkat pertahun sebesar 0,37% pada wanita dan 0.291% pada pria sejak tahun 1990-2017.

Sebuah fakta menarik adalah pria ternyata tidak bisa dilepaskan sebagai salah satu pihak yang memiliki faktor penyebab infertilitas. Sebesar 30-50% kasus infertilitas ditemukan penyebabnya berasal dari pria^{3,6} dan jumlah pria yang mengalami infertilitas adalah sekitar 7% dari penduduk dunia.⁷ Penyebab infertilitas pria secara garis besar dibedakan menjadi faktor testikular dan post testikular.³

Penyebab baik testikular dan post testikular antara lain disfungsi testis dan gangguan produksi spermatozoa, fungsi dan kualitas sperma yang tidak normal, penyumbatan saluran reproduksi, endokrinopati, gaya hidup seperti merokok dan obesitas, faktor kongenital, penuaan dan paparan terhadap bahan-bahan yang bersifat gonadotoksik seperti polutan dan racun lingkungan.⁶ Salah satu polutan lingkungan yang memiliki kaitan erat dengan kejadian infertilitas pada pria adalah timbal.⁸

Timbal merupakan polutan lingkungan yang banyak dihasilkan oleh banyak industri dan cenderung menetap di alam. Sumber utama paparan timbal berasal dari kegiatan pertambangan, industri, transportasi, kegiatan rumah tangga hingga pengolahan limbah seperti baterai.^{9,10,11} Logam ini bersifat non-biodegradable sehingga akan menetap pada tanah, air, dan juga udara dan menjadi sumber paparan baik akut maupun kronik yang membahayakan system reproduksi.¹²

Timbal atau Pb dibedakan menjadi 2 jenis yaitu bentuk difusibel dan non-difusibel atau menetap. Bentuk timbal yang difusibel bersifat aktif secara biologis sedangkan timbal yang menetap akan terakumulasi didalam jaringan lunak seperti tulang, usus, paru-paru, hati, limpa, ginjal, sistem saraf pusat (SSP) dan juga organ reproduksi. Logam ini memasuki tubuh melalui 3 rute yaitu inhalasi, ingesti, dan kontak intradermal.¹³

Senyawa ini akan terabsorpsi dalam darah dan mengendap pada jaringan tubuh, termasuk dalam jaringan reproduksi pria seperti jaringan testis, epididymis, vas deferens, vesikula seminalis dan ejakulasi seminalis. Pengendapan didalam testis menyebabkan efek buruk pada jumlah sperma, motilitas sperma dan menghambat aktivitas spermatozoa walaupun tidak semua studi menunjukkan kesimpulan yang sama tentang hal tersebut. Oleh karena itu tulisan ini disusun untuk menjelaskan mekanisme bagaimana paparan timbal menyebabkan kerusakan pada sistem reproduksi sperma khususnya pada sperma dan testis. Tulisan ini dibatasi pada penelitian menggunakan hewan coba dan studi secara invitro.

Isi

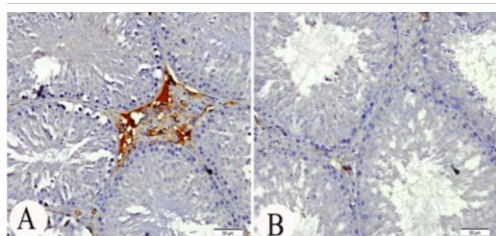
Timbal menimbulkan kerusakan pada testis dan produksinya yaitu spermatozoa melalui beberapa mekanisme. Mekanisme tersebut antara lain menurunkan produksi hormon yang berfungsi sebagai regulator spermatogenesis, hormon steroid pada testis, memacu proses inflamasi, menurunkan kapasitas antioksidan, memacu terjadinya stres oksidatif, kerusakan DNA spermatozoa hingga kematian sel.¹⁴

Perubahan Sistem endokrin

Sistem endokrin merupakan salah satu regulator terpenting pada proses spermatogenesis selain sistem saraf. Sistem ini terbukti banyak dipengaruhi oleh paparan timbal. Gangguan pada system endokrin akan menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis.¹⁴

Paparan timbal dosis 20 mg/KgBB dalam jangka waktu 3-4 minggu terbukti menurunkan kadar hormon *gonadotropin releasing hormone* (GnRH), *luteinizing hormone* (LH), *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan testosteron pada sirkulasi. Kadar hormon yang diperiksa pada testis seperti testosteron, *testicular 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase* (3 β -HSD) and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (17 β -HSD) juga mengalami penurunan paska paparan.^{14,15} Penurunan kadar hormon baik yang dihasilkan oleh hipofisis anterior seperti FSH dan LH maupun hormon yang dihasilkan oleh sel leydig dan sel sertoli pada testis berfungsi penting pada proses produksi sperma. LH akan memacu sel leydig menghasilkan hormon testosteron sedangkan hormon testosteron berperan penting pada proses pembelahan sel germinal pada testis.

Paparan dosis yang lebih besar menyebabkan penurunan reseptor androgen (AR) pada jaringan testis.¹⁶ Reseptor androgen berfungsi penting untuk menangkap Androgen (testosteron dan dihidrotestosteron (DHT)) yang berfungsi untuk perkembangan sistem reproduksi pria dan karakteristik seksual sekunder. Penurunan ekspresi AR menyebabkan perkembangan dan fungsi reproduksi pria terganggu.¹⁷ Sehingga dapat dipahami bahwa paparan logam timbal akan mengganggu proses spermatogenesis secara menyeluruh.



Gambar 1. Perbandingan ekspresi reseptor androgen pada kelompok kontrol dan kelompok paparan timbal.¹⁶

Sedangkan hormon yang ditemukan meningkat pada pemberian larutan timbal dosis

100 μ g/KgBB selama 28 hari adalah prolactin. Peningkatan kadar prolactin menandai terjadinya toksisitas pada system reproduksi.¹¹

Perubahan makroskopis dan mikroskopis

Struktur makroskopis dan mikroskopis testis dan organ reproduksi lainnya dipengaruhi oleh paparan timbal. Dosis paparan timbal yang kecil yaitu 100 μ g/kgBB peroral selama 28 hari pada tikus albino galur Wistar dan 4 mg/KgBB selama 30 mampu menyebabkan penurunan berat testis.^{11,12} Dosis sebesar 30 mg/kgBB dengan lama paparan selama 60 hari menyebabkan penurunan berat relatif testis, epididymis, vesicula seminalis dan prostat¹⁶ sedangkan induksi dengan dosis lebih rendah yaitu 20 mg/KgBB pada tikus jantan galur dan durasi lebih pendek selama 21 dan 28 hari menunjukkan hal yang sama.^{14,15}

Gambaran histologis testis juga mengalami perubahan histologi akibat paparan timbal. Salah satu perubahan tersebut adalah degenerasi yang nyata pada sebagian besar tubulus seminiferous dan testis.^{14,15} Hal ini ditandai oleh ditemukannya penyusutan tubulus seminiferus serta sel germinal yang mengalami degenerasi dan pengelupasan. Gambaran histologis ini dinilai dengan Cosentino's scoring system.¹⁵ Gambaran lain adalah tidak ditemukan sel-sel spermatogenik di lumen tubulus dan penurunan skor penilaian sel Leydig dan sel Sertoli (*Johnsen score*).¹⁴ Paparan dosis 4 mg/Kg selama 30 hari menyebabkan kongesti ringan hingga moderat, edema intertubular hingga ditemukan sel yang mengalami nekrotik.¹²

Stres Oksidatif dan Analisis Sperma

Paparan timbal memacu terjadinya stres oksidatif pada testis. Stres oksidatif diawali dengan terbentuknya senyawa oksigen maupun nitrogen spesies yang bersifat reaktif. Senyawa tersebut antara lain peroksidase lipid, radikal hidroksil, hydrogen peroksida, dan radikal superoksida.¹⁵ *Reaktif oxigen* maupun *reaktif nitrogen species* (ROS/NOS) mampu menginduksi terjadinya kerusakan pada membran, DNA, dan protein.¹⁶ Namun, sel spermatozoa tetap membutuhkan kadar ROS dalam jumlah minimal untuk meningkatkan cAMP yang berfungsi mengaktifkan protein kinase yang berfungsi untuk mengatur pematangan inti dan kondensasi spermatozoa agar mampu membuahi oosit.¹⁷

Peningkatan kadar ROS/NOS terjadi karena kegagalan tubuh memproduksi antioksidan yang cukup. Hal ini disebabkan karena paparan timbal menurunkan ekspresi faktor transkripsi yang berperan dalam produksi antioksidan yaitu *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2)¹⁵ Kadar antioksidan yang menurun pada paparan timbal dibuktikan oleh banyak penelitian. Induksi timbal asetat menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan endogen seperti SOD, katalase^{14,15,16} serta glutathione dan total antioxidant capacity.^{14,15} Glutathione sebagai antioksidan utama mengalami efek yang besar akibat paparan timbal, yang ditandai dengan penurunan semua enzim yang terlibat dalam metabolisme glutathione. Enzim tersebut adalah Glutathione-S-transferase (GST), Glutathione reductase (GR). Paparan timbal akan meningkatkan parameter stress oksidatif seperti MDA^{14,15} nitric oksidase, laktat glukosa laktat dan juga laktat dehydrogenase.¹⁴

Sel spermatozoa merupakan sel yang rentan mengalami stres oksidatif terutama pada fase spermiogenesis.¹⁸ Paparan timbal menyebabkan stres oksidatif pada spermatozoa. Penurunan jumlah sperma, viabilitas dan peningkatan sperma dengan morfologi abnormal merupakan indikasi penting terjadinya stres oksidatif.¹⁴ Morfologi abnormal dapat berupa kelainan pada kepala, akrosom, membran *mid piece* sperma hingga pada ekor.^{11,18}

Paparan timbal dengan rentang 20-30 mg/KgBB selama 21- 60 hari menyebabkan penurunan jumlah atau konsentrasi, viabilitas, dan morfologi sperma.¹⁴⁻¹⁶ Pada paparan durasi 28 hari ditemukan peningkatan persentase sperma dengan kelainan morfologi.¹⁵ Paparan dalam durasi sama yaitu 28 hari dengan dosis 100 mikrogram terbukti juga menyebabkan penurunan motilitas, viabilitas dan jumlah spermatozoa.¹¹

Stres oksidatif menyebabkan terjadinya kerusakan axonemal dan meningkatkan defek pada membran *midpiece* sperma yang berfungsi untuk mendapatkan bahan sebagai energi sel yang berfungsi menghantarkan gelombang gerak. Akibatnya, paparan timbal mampu menurunkan motilitas spermatozoa.¹⁹

Penurunan kadar hormon LH, FSH diduga terjadi karena adanya stres oksidatif pada kelenjar hipotalamus. Owumi *et al* (2021)¹¹ membuktikan

bahwa induksi dengan larutan PbAc peroral menyebabkan penurunan semua kadar antioksidan endogen seperti SOD, katalase, glutathione, GPx, GST dan juga GSH pada hippocampus. Hippocampus akan menghasilkan *Gonadotropin-releasing hormone* (GnRHs) yang berfungsi memacu produksi LH dan FSH dari hipofisis anterior. Mekanisme lain adalah adanya stres oksidatif pada sel akan diikuti juga dengan peningkatan kadar ROS pada organela khususnya mitokondria. Keadaan ini akan menurunkan potensial membran mitokondria dan produksi ATP. Perubahan permeabilitas mitokondria akan menginisiasi keluarnya Cytokrom-c yang berfungsi sebagai inisiator proses apoptosis..

Kematian Sel

Proses stres oksidatif di atas hingga terjadinya perubahan potensial membran mitokondria merupakan fase pendahuluan terjadinya kematian sel melalui proses apoptosis pada sel spermatozoa. Selain perubahan potensial membran mitokondria, penanda terjadinya apoptosis pada spermatozoa yang lain adalah aktivasi caspase, eksternalisasi fosfatidil serin dan fragmentasi DNA.²⁰

Mekanisme apoptosis merupakan sebuah fungsi yang normal yang bertujuan untuk menjaga keseimbangan jumlah sel di dalam proses perkembangan, namun peningkatan apoptosis dapat berdampak buruk terhadap produksi sperma. Paparan timbal mampu meningkatkan kejadian apoptosis pada sel-sel spermatozoa. Paparan dosis 20-30 mg/KgBB selama 21,28, dan 60 hari menyebabkan peningkatan bermakna ekspresi caspase-3.¹⁴⁻¹⁶ Dengan dosis 20 mg/KgBB secara intraperitoneal, Udeva *et al* (2020)¹⁴ menunjukkan bahwa paparan timbal menyebabkan peningkatan protein proapoptosis yang lain yaitu (Bax), ratio Bax/Bcl-2 dan penurunan protein pro apoptosis yaitu Bcl-2. Aktivasi protein pro dan antiapoptosis seperti Bcl-2 dan Bax menandai bahwa timbal menginduksi apoptosis melalui jalur intrinsik

Aktivitas caspase yang meningkat berhubungan dengan ketidakmatangan sperma, jumlah sperma yang rendah, penurunan motilitas, dan berkurangnya integritas membran plasma. Jadi dapat disimpulkan bahwa apoptosis dapat berperan menyebabkan infertilitas

Inflamasi

Inflamasi merupakan mekanisme lain yang menyebabkan timbal mampu menyebabkan infertilitas. Paparan timbal dengan rentang 20 mg/KgBB selama 21 secara intraperitoneal dan 28 hari secara peroral meningkatkan kadar interleukin-1beta (IL-1 β), *tumour necrotic factor-alpha* (TNF- α), dan juga *nuclear factor kappa B* (NFkB) sedangkan paparan selama 21 hari disamping meningkatkan parameter diatas, paparan ini juga meningkatkan interleukin-6 (IL-6) dan juga C-reactive protein.¹⁴⁻¹⁶ Kadar antiinflamasi seperti IL-10 justru akan menurun pada paparan timbal. Sitokin pro inflamasi akan menekan fungsi reproduksi pria. Mekanisme tersebut terjadi melalui 2 cara : 1) Peningkatan sitokin pro-inflamasi akan memacu sekresi hormon ACTH dari kelenjar adrenal sehingga produksi glukokortikoid akan meningkat Glukokortikoid akan menekan hormon GnRHs pada hipotalamus sehingga menekan seluruh proses spermatogenesis dan steroidogenesis; 2) memacu terjadinya kerusakan DNA. Kerusakan DNA dapat diikuti dengan terjadinya kematian sel.

Ringkasan

Timbal menyebabkan infertilitas pada pria melalui beberapa mekanisme yaitu : (1) menurunkan produksi hormon pengatur spermatogenesis (*gonadotropin releasing hormone* (GnRH), *luteinizing hormone* (LH), *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan testosteron) pada sirkulasi, jaringan testis dan saraf pusat; (2) memacu proses inflamasi dengan cara meningkatkan produksi sitokin proinflamasi (interleukin-1beta (IL-1 β), *tumour necrotic factor-alpha* (TNF- α), *nuclear factor kappa B* (NFkB), IL-6 dan C-reactive protein); (3) memacu terjadinya stres oksidatif melalui mekanisme meningkatkan produksi ROS, menurunkan kapasitas antioksidan endogen (katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), glutathion); (4) serta menyebabkan kerusakan DNA spermatozoa hingga memacu terjadinya kematian sel berupa apoptosis yang ditandai dengan peningkatan ekspresi caspase-3, Bax, dan penurunan Bcl-2. Mekanisme tersebut akan mengganggu proses spermatogenesis yang menyebabkan penurunan fungsi sperma (jumlah, motilitas, morfologi, serta viabilitas), menurunkan

berat organ reproduksi dan menyebabkan perubahan histologis pada testis.

Simpulan : Timbal merupakan bahan yang bersifat gonadotoksik yang berperan penting dalam menyebabkan infertilitas pada pria.

Daftar Pustaka

1. WHO. Infertility. Diunduh dari <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility> tanggal 19 Mei 2024.
2. Deshpande P.S., Gupta., A.S.P. 2019. Causes and Prevalence of Factors Causing Infertility in a Public Health Facility. *J Hum Reprod Sci.* 12(4): 287–293.
3. Borgh. G.H.T., Wyns C., 2018. *Clin Biochem. Fertility and infertility: Definition and epidemiology.* 62: 2-10
4. WHO. 1 in 6 people globally affected by infertility. Diunduh dari <https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility>
5. Sun H., Gong T.T., Jiang., Y.T., Zhang .,S., Zhao., Y.H., Wu., Q.J. 2019. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted lifeyears for infertility in 195 countries and territories, 1990–2017: results from a global burden of disease study, 2017. *Aging.* 11(23): 10952-91.
6. Eisenberg M.L, Esteves S.C., Lamb D.J., Hotaling J.M., Giwercman A., Hwang K., et.2023. Male infertility. *Nat Rev Dis Primers.* 9(1):49
7. Kurkowska W., Bogacz A., Janiszewska M., Gabryś E., Tiszler M., Bellanti F., et al., 2020. Oxidative Stress is Associated with Reduced Sperm Motility in Normal Semen. *American Journal of Men's Health.* 1-8
8. El-Fakharani, Y.M., Mohamed., E.M., Etwaw R.L., Hamid ., O.I.A. 2022. Selenium nanoparticles alleviate lead acetate-induced toxicological and morphological changes in rat testes through modulation of calmodulin-related genes expression. *J Biochem Mol Toxicol.* 36(5):e23017.
9. Champion W.M., Buerck A.M., Nenninger C., Yusuf K., Barret J.P., Rakotoarisoa L. . 2022. Childhood blood lead levels and

- environmental risk factors in Madagascar. *Environmental Science and Pollution Research*. 29:68652–68665
10. Hang JG., Dong JJ., Feng H., Huang JZ., Wang Z., Shen B. 2022. Evaluating postnatal exposure to six heavy metals in a Chinese e-waste recycling area. *Chemosphere*. 308 (2022) 136444
11. Owumi S.E., Arunsi U.O., Otunla M.T., Oluwasuji I.O. 2023. Exposure to lead and dietary furan intake aggravates hypothalamus-pituitary-testicular axis toxicity in chronic experimental rats *J Biomed Res*. 37(2): 100-114
12. Masruri, B., Alimohammadi I., Abyaz M.R., Moghadasi N., Yekzamani P., Asl. B.M., 2022. Concurrent Lead and Noise Exposure Effects on Testicular Tissue of Rat: An Experimental Study. *J Family Reprod Health*. 16(2): 132–8.
13. Ortega D.R., Esquivel G.D.F., Ayala T.B., Pineda .B., Manzo S.G., Quino J.M., et al., 2021. Cognitive Impairment Induced by Lead Exposure during Lifespan: Mechanisms of Lead Neurotoxicity. *Toxics* 9(23):
14. Udefa A.L,m Amama E.A., Archibong E.A., Nwangwa J.N., Adama S., Inyang V.U. 2020. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of hydro-ethanolic extract of *Cyperus esculentus* L. (tigernut) on lead acetate-induced testicular dysfunction in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 129. 110491
15. Besong E.E., Ashonibare P.J., Obembe O.O., Folawiyo M.A., Adeyemi., D.H., Hamed D.H. et al. 2023. Zinc protects against lead-induced testicular damage via modulation of steroidogenic and xanthine oxidase/uric acid/caspase 3-mediated apoptotic signaling in male Wistar rats. *The Aging Male*. 26(1): 2224428
16. ElgawishaR.A.R., Abdelrazek H., 2014. Effects of lead acetate on testicular function and caspase-3 expression with respect to the protective effect of cinnamon in albino rats. *Toxicology Reports*. 1. 795–80
17. Davey R.A.; Grossmann ., M. 2016. Androgen Receptor Structure, Function and Biology: From Bench to Clin. *Biochem Rev*. 37 (1): 3-15
18. Sabeti P., Pourmasumi S.,Rahiminia T., Akyash F., Talebi A.R., Etiologies of sperm oxidative stress. *Biomed Reproduksi Int J Biomed Reproduksi Int J*.14(4): 231-240.
19. Afiati F., Riyadi Y.M., Arifiantini R.I. 2014. Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi penampungan berbeda. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. 1(4): 930- 4
20. Asadi., A., Ghahremani R, Abdolmaleki A., Rajaei F. 2021. Role of sperm apoptosis and oxidative stress in male infertility: A narrative review. *Biomed Reproduksi Int J*.19(6): 493–504.