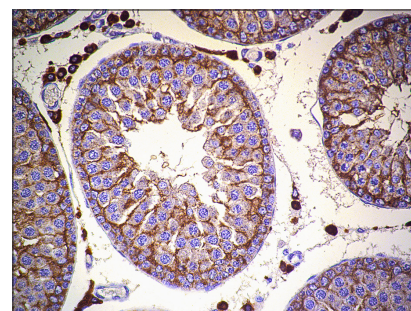
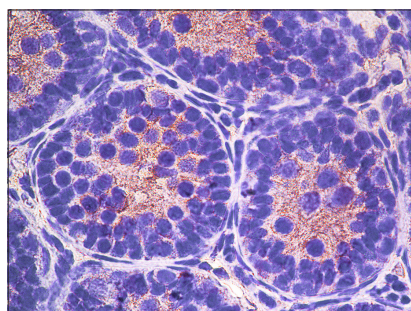
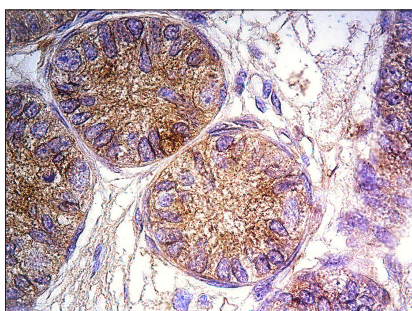


Postępy Andrologii *Online*

Advances in Andrology *Online*



Reakcja immunohistochemiczna (brązowe zabarwienie) w kanalikach krętych szczura dla N-kadheryny (białko połączeń międzykomórkowych typu przylegania). Panel lewy: dość mocna immunoekspresja widoczna głównie w pobliżu gonocytów nabłonka plemnikotwórczego 7-dniowego szczura. Panel środkowy: umiarkowana immunoekspresja widoczna w centrum kanalika krętego 14-dniowego szczura. Panel prawy: intensywna immunoekspresja głównie na poziomie bariery-krew-jądro w nabłonku plemnikotwórczym 28-dniowego szczura. Mikrofotografie autorstwa dr hab. n. med. Agnieszki Kolasa-Wołoskiuk, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie.

Immunohistochemical reaction (brown staining) in rat convoluted tubules for N-cadherin (protein of adherens-type intercellular junctions). Left panel: quite strong immunoexpression visible mainly near the gonocytes of the seminiferous epithelium of a 7-day-old rat. Middle panel: moderate immunoexpression at the center of the seminiferous tubule of a 14-day-old rat. Right panel: intense immunoexpression well visible at the blood-testis-barrier level of seminiferous epithelium of a 28-day-old rat. Micrographs by PDh, Agnieszka Kolasa-Wołoskiuk, assistant professor, Department of Histology and Embryology, Pomeranian Medical University in Szczecin.

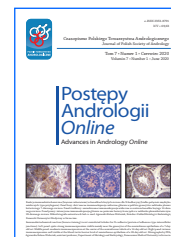


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny:

dr hab. n. med., prof. nadzw. PUM *Małgorzata Piasecka*, Szczecin

Zastępca redaktora naczelnego:

prof. dr hab. n. med. *Jolanta Słowikowska-Hilczner*, Łódź

Redaktor pomocniczy:

dr n. med. *Kamil Gill*, Szczecin

Sekretarz redakcji:

dr hab. n. med. *Agnieszka Kolasa-Wołosiuk*, Szczecin

Skarbnik redakcji:

dr hab. n. med. *Renata Walczak-Jędrzejowska*, Łódź

Członkowie komitetu redakcyjnego:

dr n. med. **Szymon Bakalczuk**, Lublin

dr n. med. **Leszek Bergier**, Kraków

prof. dr hab. n. biol. **Barbara Bilińska**, Kraków

prof. dr hab. n. med. **Barbara Darewicz**, Białystok

Prof., MD, PhD **Aleksander Giwercman**, Malmö, Sweden

PhD **Yvonne Lundberg Giwercman**, Malmö, Sweden

Prof., PhD (UPE/NMMU) and PhD (US) **Gerhard Van der Horst**, Republika Południowej Afryki (Bellville, Republic of South Africa)

prof. dr hab. n. med. **Grzegorz Jakiel**, Warszawa

prof. dr hab. n. med. **Piotr Jędrzejczak**, Poznań

dr hab. n. med., prof. UMK **Roman Kotzbach**, Bydgoszcz

prof. dr hab. n. med. **Krzysztof Kula**, Łódź

lek. med. **Robert Kulik**, Warszawa

prof. dr hab. n. med. **Maria Laszczyńska**, Szczecin

dr hab. n. med. **Grzegorz Ludwikowski**, Bydgoszcz

prof. dr hab. n. med. **Marek Mędraś**, Wrocław

MD, PhD, DMSc **Ewa Rajpert-De Meyts**, Kopenhaga, Dania (Copenhagen, Denmark)

dr n. med. **Aleksandra Robacha**, Łódź

dr n. med. **Maria Szarras-Czapnik**, Warszawa

Adres redakcji:

Zakład Histologii i Biologii Rozwoju

Wydział Nauk o Zdrowiu

Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

71-210 Szczecin ul. Żołnierska 48

tel. 91 48 00 917, 91 48 00 908

e-mail: mpiasecka@ipartner.com.pl

Projekt graficzny:

Waldemar Jachimczak

Małgorzata Piasecka

Kamil Gill

Korekta języka polskiego:

Wojciech Markowski

Korekta języka angielskiego:

Joanna Ingielewicz

Małgorzata Piasecka

Kamil Gill

Skład i łamanie:

Waldemar Jachimczak

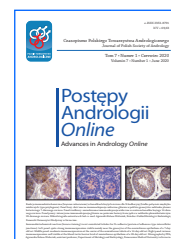


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



SPIS TREŚCI

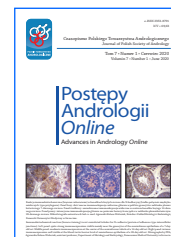
CONTENTS

Tom 7
Volumin 7
Strony 1–53
Pages 1–53
Czerwiec 2020
June 2020

O czasopiśmie / About Journal	4
Historia polskiego towarzystwa andrologicznego / History of the polish society of andrology <i>Jolanta Słowikowska-Hilczner, Szymon Bakalczuk</i>	6
Artykuły poglądowe / Review	
<i>Marta Grabowska, Małgorzata Piasecka</i> Wpływ leków immunosupresyjnych na męski układ płciowy / The influence of immunosuppressive agents on male reproductive system	12
<i>Kamil Gill, Małgorzata Piasecka</i> Znaczenie oceny statusu chromatyny plemników ludzkich w warunkach naturalnego poczęcia / The significance of evaluation of human sperm chromatin status in natural conception	30
Informacja o książce pod redakcją naukową <i>Jolanty Słowikowskiej-Hilczner</i> Andrologia. Zdrowie mężczyzny. Od fizjologii do patologii	44
Instrukcje dla autorów / Instructions for authors	50



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.postepyandrologii.pl>

Wersja elektroniczna czasopisma jest wersją pierwotną. Informacje zawarte w czasopiśmie są udostępniane na zasadzie *Open Access* – dostęp do informacji naukowej jest bezpłatny i nieograniczony.

The electronic version of the journal is a original version. Access to scientific information published in the journal is free and unlimited (Open Access).

O CZASOPIŚMIE ABOUT THE JOURNAL

Zaburzenia męskiego układu płciowego dotyczą osób w różnym wieku i w większości przypadków prowadzą do niepłodności, która nabrała już rangi choroby cywilizacyjnej. Najczęściej identyfikowanymi nieprawidłowościami są hipogonadyzm, zaburzenia seksualne, wady rozwojowe narządów płciowych, nowotwory jąder i prostaty. Ze względu na specyficzne i coraz bardziej zanieczyszczone środowisko antropogeniczne dotyczą one głównie społeczeństw rozwiniętych, w tym również Polski, i stanowią istotny oraz narastający problem medyczny, społeczny, demograficzny, a także zdrowia publicznego. Nauka, która zajmuje się fizjologią i zaburzeniami męskiego układu płciowego w aspekcie nauk podstawowych i klinicznych, to andrologia. Ponieważ jest to młoda dziedzina nauki, jeszcze do niedawna niezadowolający stan wiedzy ograniczał możliwości diagnostyki oraz leczenia zaburzeń męskiego układu płciowego. Jednak w ostatnich latach obserwuje się niezwykle dynamiczny rozwój andrologii, szczególnie molekularnej, spowodowany wprowadzeniem nowych metod badawczych z zakresu biochemii, biologii i genetyki molekularnej. Andrologia staje się dziedziną interdyscyplinarną integrującą wiedzę z różnych dyscyplin medycznych i naukowych. Informacje związane z tymi zagadnieniami z trudem docierają do lekarzy i osób zainteresowanych w naszym kraju, ponieważ jest niewiele literatury w języku polskim, a wykłady wygłaszane podczas konferencji nie zawsze wyczerpująco wyjaśniają wątpliwości dotyczące m.in. postępowania diagnostycznego, terapeutycznego, rekomendacji czy też proponowanych algorytmów. Stąd też potrzeba stworzenia czasopisma prezentującego wiedzę andrologiczną lekarzom różnych specjalności, diagnostom laboratoryjnym i przedstawicielom nauk podstawowych. Czasopismo „Postępy Andrologii Online” powstało z inicjatywy Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, które zainteresowane jest integracją środowiska osób zajmujących się różnymi aspektami męskiego układu

płciowego, uzupełnieniem i poszerzeniem ich wiedzy, a także poprawą opieki zdrowotnej nad mężczyznami w naszym kraju.

Celem czasopisma jest: 1) dostarczenie istotnych informacji na temat fizjologii i patologii męskiego układu płciowego, 2) propagowanie praktycznej wiedzy andrologicznej kierowanej do szerokich kręgów odbiorców, 3) wymiana poglądów i opinii na temat zagadnień klinicznych oraz wyników badań doświadczalnych oraz 4) przekazywanie informacji dotyczących konferencji i kursów o tematyce andrologicznej.

Proponowana tematyka czasopisma to: 1) andrologia kliniczna z uwzględnieniem etiopatogenezy, diagnostyki i leczenia m.in. zaburzeń rozwojowych, niepłodności i procesów starzenia mężczyzn, 2) nowatorskie metody diagnostyczne, 3) andrologia doświadczalna rozwijająca się w oparciu o nauki podstawowe oraz 4) inne interdyscyplinarne tematy związane z dziedziną andrologii.

Czasopismo kierowane jest do lekarzy specjalności bezpośrednio lub pośrednio związanych z andrologią, m.in. urologów, endokrynologów, ginekologów, pediatrów, ale także do lekarzy rodzinnych spotykających się z coraz częstszym problemem niepłodności partnerskiej i problemami starzejących się mężczyzn. Ponadto naszą intencją jest zdobycie zainteresowania diagnostów laboratoryjnych odgrywających istotną rolę w prawidłowym postępowaniu terapeutycznym opartym na szerokim panelu testów i badań, których wdrożenie wciąż wymaga odpowiednich i wyczerpujących szkoleń z diagnostyki andrologicznej, w tym seminologicznej. Mamy nadzieję, że nasze czasopismo wzbudzi również zainteresowanie biologów zajmujących się czynnością męskiego układu płciowego w ramach nauk podstawowych, a także lekarzy weterynarii oraz innych osób, które znajdą informacje poszerzające ich wiedzę i kształtujące opinię z zakresu szeroko pojętych nauk andrologicznych.

Zachęcamy Państwa do publikowania prac oryginalnych, kazuistycznych i krótkich komunikatów, jak również prac poglądowych, opracowanych w kondensacyjnej, dydaktycznej i przystępnej formie. W pracach tych autorzy powinni przedstawiać aktualny stan wiedzy światowej oraz swoje opinie. Chcemy, aby czasopismo spełniało rolę informatora i przewodnika w dziedzinie andrologii oraz stanowiło forum dyskusyjne. Ponadto, zapraszamy do publikowania artykułów będących

tłumaczeniem publikacji ukazujących się w języku angielskim, które przedstawiają istotne postępy w andrologii.
<http://www.postepyandrologii.pl>

Małgorzata Piasecka

redaktor naczelny

Jolanta Słowikowska- -Hilcze

przewodnicząca

Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Disorders of the male reproductive system relate to people of different ages and in most cases lead to infertility, which has already acquired a rank of a disease associated with the progress of civilization. The most frequently identified irregularities are hypogonadism, sexual dysfunction, genital malformations, testicular or prostate cancer. Due to the specific and increasingly polluted anthropogenic environment they concern mainly developed societies, including Poland, and are an important and growing medical, social, demographic and public health problem. A science that deals with the physiology and with disorders of the male reproductive system in terms of the basic and clinical science is andrology. As this is a young field of science, until recently an unsatisfactory state of knowledge limited the possibilities of the diagnostics and treatment of the disorders of the male reproductive system. However, in recent years there has been a very dynamic development of andrology, especially in the molecular aspect, due to the introduction of new methods of research in the field of biochemistry, biology and molecular genetics. Andrology is becoming an interdisciplinary field which integrates knowledge from various medical and scientific disciplines. Information related to these issues reach doctors and interested people in our country with difficulty, because there is few publications in Polish. Lectures given during conferences also do not always fully explain the doubts concerning diagnostic and therapeutic proceedings, recommendations or proposed algorithms. Hence, the need for a journal presenting the knowledge of andrology to the doctors of various specialties, laboratory diagnosticians and representatives of the basic science. The journal „Progress in Andrology *Online*” is an initiative of the Polish Society of Andrology, which is interested in the integration of people involved in different aspects of the male reproductive system, supplement and broadening their knowledge, as well as the improvement of health care for men in our country.

The aim of the journal is: 1) to provide relevant information about the physiology and pathology of the male reproductive system, 2) the promotion of practical andrological knowledge directed to broad audiences, 3) to exchange views and opinions on issues of clinical and

experimental results, and 4) to provide information on conferences and courses on the subject of andrology.

The proposed themes of the journal are: 1) clinical andrology including etiopathogenesis, diagnostics and treatment of developmental disorders, infertility and men's aging, 2) innovative diagnostic methods, 3) experimental andrology developing on the basis of the basic sciences and 4) other interdisciplinary topics related to the field of andrology.

The journal is directed to physicians with specialty directly or indirectly related to andrology, including urologists, endocrinologists, gynecologists, pediatricians, but also to family doctors facing the increasingly common problem of couple infertility and problems of aging men. Moreover, our intention is to get the interest of laboratory diagnosticians playing an important role in keeping the correct therapeutic proceedings, based on a broad panel of tests and studies. Their implementation still requires proper and comprehensive training in andrological diagnostics, including seminological one.

We hope that our magazine will also raise the interest of biologists dealing with the functions of the male reproductive system in the framework of basic sciences, as well as veterinarians and others who will find information expanding their knowledge and shaping opinion in the range of broad sciences of andrology. We encourage you to publish original papers, case reports and short announcements, as well as review papers, worked out in the concentrated, didactic and accessible form. In these articles authors should present the current state of the global knowledge as well as their own opinions. We want the journal to act as an informer and a guide in the field of andrology and become a forum for discussion. In addition, we invite you to publish articles that are translations of publications appearing in the English language, which present significant progress in andrology.

Małgorzata Piasecka

Editor in chief

Jolanta Słowikowska- -Hilcze

President

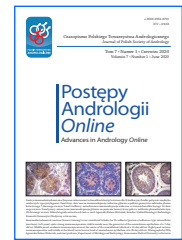
of Polish Society of Andrology



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

HISTORIA POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO

HISTORY OF THE POLISH SOCIETY OF ANDROLOGY

Jolanta Słowikowska-Hilczner¹, Szymon Bakalczuk²¹ Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi;² Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 w Lublinie; Ovum Rozrodczość i Andrologia w Lublinie

DOI: 10.26404/PAO_2353-8791.2020.01

Termin „andrologia” wprowadził w 1951 r. Harold Siebke, profesor ginekologii z Bonn w Niemczech, jako określenie dziedziny nauki i medycyny, która jest odpowiednikiem ginekologii i obejmuje multidyscyplinarne oraz wieloaspektowe podejście do badań nad płodnością mężczyzn. W 1958 r. powstało Niemieckie Towarzystwo Badań nad Płodnością i Niepłodnością (ang. *German Society for the Study of Fertility and Sterility*), którego zainteresowania skupiały się w dużej mierze na problemach andrologicznych. W 1970 r. powstał Międzynarodowy Komitet Andrologiczny w Barcelonie (CIDA, ang. *Comite International de Andrologia*), w 1981 r. Międzynarodowe Towarzystwo Andrologiczne (ISA, ang. *International Society of Andrology*), a w 1992 r. Europejska Akademia Andrologii (EAA, ang. *European Academy of Andrology*).

W Polsce ruch andrologiczny został zapoczątkowany w latach 70. XX w. Lekarze klinycyści i naukowcy zainteresowani problemami andrologicznymi działali początkowo pod egidą Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego (PTG). W 1978 r. w Lublinie odbyło się sympozjum Sekcji Płodności i Niepłodności PTG poświęcone roli czynnika męskiego w niepłodności. Spotkanie miało charakter międzynarodowy, a aktywny udział wzięli w nim lubelscy androlodzy, ówcześni docenci, Michał Bokiniec i Marian Semczuk. W tym czasie Zarząd Główny PTG na wniosek prof. Witolda Michałkiewicza powołał Sekcję Andrologii PTG. Wniosek ten uzyskał poparcie profesorów Stefana Soszki oraz Aleksandra Krawczuka z ośrodka białostockiego, który uważany jest za jednego z ojców polskiej andrologii. Pierwszym przewodniczącym Sekcji

Andrologii PTG został docent Zygmunt Janczewski z Warszawy. Sekcja Andrologii zorganizowała pierwsze sympozjum w 1982 r. w Lublinie. Przewodniczącym Sekcji został wówczas wybrany prof. Michał Bokiniec z Lublina. Konferencje naukowe Sekcji Andrologii organizowane były co 3 lata, najpierw w Lublinie, a później w Kazimierzu Dolnym nad Wisłą. Kolejnym przewodniczącym Sekcji Andrologii PTG został prof. dr hab. Marian Semczuk. Sekretarzem Sekcji przez wiele lat był dr n. med. Szymon Bakalczuk. Należy podkreślić, iż Sekcja Andrologii PTG miała charakter interdyscyplinarny, a jej członkami byli lekarze różnych specjalności, głównie ginekolodzy, ale także endokrynolodzy i urolodzy oraz naukowcy działający w zakresie nauk podstawowych i diagnostyki laboratoryjnej. Władze Sekcji doprowadziły do utworzenia w latach 1995–1997 stanowiska konsultanta krajowego do spraw andrologii. Funkcję tę pełnił prof. dr hab. Marian Semczuk.

Ze względu na interdyscyplinarny charakter Sekcji większość jej członków widziała potrzebę powołania towarzystwa andrologicznego. Podczas konferencji Sekcji Andrologii PTG w Kazimierzu Dolnym nad Wisłą 16 czerwca 1993 r. odbyło się zebranie, na którym zdecydowano o utworzeniu Polskiego Towarzystwa Andrologicznego (PTA). Do grupy założycieli należeli:

- Leszek Bablok, Warszawa,
- Szymon Bakalczuk, Lublin,
- Maria Bik-Matuszczyk, Katowice,
- Michał Bokiniec, Lublin,
- Stanisław Frącki, Warszawa,
- Grzegorz Jakiel, Lublin,



Sesja Sekcji Andrologii podczas XXV Zjazdu PTG, Warszawa, 1994 r. Od lewej: dr Szymon Bakalczuk (Lublin), dr Maciej Czaplicki (Warszawa), dr Leszek Bablok (Warszawa), prof. Longin Marianowski (Warszawa), prof. Marian Semczuk (Lublin), prof. Krzysztof Kula (Łódź)



XXV Zjazd PTG, Warszawa, 1994 r. Drugi od lewej prof. Marian Semczuk, pierwszy z prawej prof. Michał Bokiniec

- Maciej Kowalczyk, Kraków,
- Krzysztof Kula, Łódź,
- Dorota Robak-Chotubek, Lublin,
- Ireneusz Salata, Łódź,
- Jolanta Słowikowska-Hilczer, Łódź,
- Bronisław Stawarz, Warszawa,
- Elżbieta Strumiłło (później Oszukowska), Łódź,
- Dariusz Swatowski, Lublin,
- Waldemar Świerczyński, Koszalin,
- Małgorzata Tańska (później Tańska-Tychmanowicz), Lublin,
- Renata Walczak (później Walczak-Jędrzejowska), Łódź,
- Jan Karol Wolski, Warszawa,
- Krystyna Zieniuk, Warszawa,
- Sławomir Zieniuk, Warszawa,
- Tomasz Ziółkowski, Kielce.

Pierwsze walne zgromadzenie członków PTA odbyło się 21 listopada 1994 r. w Łodzi. Wybrano pierwszy Zarząd Główny, w skład którego weszli:

- przewodniczący – prof. dr hab. Krzysztof Kula,
- wiceprzewodniczący – prof. dr hab. Michał Bokiniec,

- sekretarz – dr Jolanta Słowikowska-Hilczer,
- skarbnik – mgr Renata Walczak.
- Członkowie:
- dr Szymon Bakalczuk,
- dr hab. Barbara Bilińska,
- dr Ireneusz Salata,
- prof. dr hab. Marian Semczuk,
- prof. dr hab. Czesław Szymkiewicz,
- prof. dr hab. Jan Tomala,
- prof. dr hab. Jerzy Warchoń.

Siedzibą władz naczelnych Towarzystwa została Łódź. Zatwierdzono także pierwszy Statut Polskiego Towarzystwa Andrologicznego. Towarzystwo zostało zarejestrowane w 1994 r. przez Sąd Wojewódzki w Łodzi. Od 1995 r. PTA jest afiliowane przy ISA.

Prof. Krzysztof Kula, pierwszy Przewodniczący Zarządu Głównego PTA, został wybrany na drugą kadencję w 1998 r. W latach 2002–2006 i 2007–2011 Przewodniczącym był prof. Grzegorz Jakiel. W latach 2011–2014 i ponownie w kadencji 2015–2019 Przewodniczącą była prof. Jolanta Słowikowska-Hilczer. W 2019 r. Przewodniczącym został dr Szymon Bakalczuk.



Prof. Grzegorz Jakiel (Lublin) – nowo wybrany Przewodniczący PTA, Łódź, 2001 r.



Konferencja PTA – 20. Dzień Andrologiczny, Lublin, 2018 r. Od lewej: dr Szymon Bakalczuk (obecny Przewodniczący PTA), prof. Jolanta Słowikowska-Hilczer, prof. Marian Semczuk (Członek Honorowy PTA, Lublin)



Konferencja PTA – 14. Dzień Andrologiczny, Łódź, 2012 r.
Członek Honorowy PTA prof. Dimitrios Adamopoulos (Ateny, Grecja)
i Przewodnicząca dr hab. Jolanta Słowikowska-Hilczer



Prof. Barbara Bilińska (Członek Honorowy PTA, Kraków).
Konferencja PTA – 21. Dzień Andrologiczny, Łódź, 2019 r.



Konferencja PTA – 14. Dzień Andrologiczny, Łódź, 2012 r.
Członek Honorowy PTA prof. Leszek Bablok (Warszawa)



Konferencja PTA – 21. Dzień Andrologiczny, Łódź, 2019 r.
Prof. Ewa Rajpert-DeMeyts (Członek Honorowy PTA)



Konferencja PTA – 17. Dzień Andrologiczny, Poznań, 2015 r. Od lewej prof. Piotr Jędrzejczak (Poznań), prof. Jolanta Słowikowska-Hilczer (Łódź), Yvonne Lundberg-Giwerzman Malmö, Szwecja), Aleksander Giwerzman (Członek Honorowy PTA, Malmö, Szwecja), prof. Krzysztof Kula (Członek Honorowy PTA, Łódź)



Wręczenie Nagrody Młodych im. Prof. Michała Bokińca
dr Aleksandrze Rył (Szczecin),
Konferencja PTA – 20. Dzień Andrologiczny, Lublin, 2018 r.



Symposium Satelitarne Międzynarodowego Kongresu Andrologii, Kraków, 1997 r. Członkowie Honorowi PTA. Od lewej: prof. Marian Semczuk (Lublin), prof. Anna Steinberger (Houston, USA) i prof. Emil Steinberger (Houston, USA)



Kurs badania nasienia. Konferencja PTA – 15. Dzień Andrologiczny, Międzyzdroje, 2013 r.



Polscy uczestnicy Międzynarodowego Kongresu Andrologii, Salzburg, 1997 r. Od lewej: dr hab. Leszek Bablok (Warszawa), dr hab. Marek Mędraś (Wrocław), dr Jan K. Wolski (Warszawa), prof. Krzysztof Kula (Łódź), dr Ewa Mędraś (Wrocław), dr Jolanta Słowikowska-Hilcz (Łódź), dr Ireneusz Salata (Łódź), mgr Renata Walczak (Łódź), dr M. Wielgoś (Warszawa), dr Stanisław Frącki (Warszawa), dr Małgorzata Piasecka (Szczecin), dr Maria Laszczyńska (Szczecin), mgr Krystyna Zieniuk (Warszawa), dr Sławomir Zieniuk (Warszawa)



10. Europejski Kongres Andrologii, Budapeszt, 2018 r. Od lewej: prof. Olimpia Sipak-Szmigiel (Szczecin), prof. Maria Laszczyńska (Szczecin), dr hab. Iwona Rotter (Szczecin), dr hab. Monika Frączek (Poznań), dr Elżbieta Oszukowska (Łódź), Shennen Keyser (RPA), dr Jan K. Wolski (Warszawa), prof. Małgorzata Piasecka (Szczecin), dr hab. Katarzyna Marchlewska (Łódź), dr hab. Renata Walczak-Jędrzejowska (Łódź), dr Marcin Radko (Warszawa)



Egzamin European Academy of Andrology, Budapeszt, 2018 r. Między innymi polscy uczestnicy, którzy uzyskali tytuł „clinical andrologist”: dr Mariusz Kazmirowicz (Gdynia), dr Artur Pietrusa (Siewierz), dr hab. Piotr Kocełak (Katowice), dr Paweł Pilch (Kraków) oraz jeden z egzaminatorów – prof. Jolanta Słowikowska-Hilcz (Łódź)



Konferencja PTA – 20. Dzień Andrologiczny, Lublin, 2018 r.

Egzamin do Certyfikatu z andrologii klinicznej.
Konferencja PTA – 19. Dzień Andrologiczny, Kraków, 2017 r.

W grudniu 1994 r. PTA liczyło 190, a w grudniu 2019 r. – 258 członków zwyczajnych. Członkami PTA są lekarze, głównie o specjalizacjach ginekologia, endokrynologia, urologia, choroby wewnętrzne, a także diagnostyki laboratoryjnej, biolodzy, epidemiolodzy i lekarze weterynarii.

Towarzystwo kilkakrotnie przyznało tytuł Członka Honorowego PTA:

- prof. Emilowi Steinbergerowi (Houston, Texas, USA) w 1997 r.,
- prof. Annie Steinberger (Houston, Texas, USA) w 1997 r.,
- prof. Michałowi Bokińcowi (Lublin) w 2002 r.,
- prof. Marianowi Semczukowi (Lublin) w 2007 r.,
- prof. Leszkowi Babłokowi (Warszawa) w 2011 r.,
- prof. Dimitriosowi Adamopoulosowi (Ateny, Grecja) w 2011 r.,
- prof. Ewie Rajpert-DeMeyts (Kopenhaga, Dania) w 2015 r.,
- prof. Krzysztofowi Kuli (Łódź) w 2015 r.,
- prof. Barbarze Bilińskiej (Kraków) w 2019 r.,
- prof. Aleksandrowi Giwerzmanowi (Malmö, Szwecja) w 2019 r.

Z okazji 20-lecia PTA w 2014 r. wręczono Medale Zasłużonym dla Polskiego Towarzystwa Andrologicznego: prof. Krzysztofowi Kuli i prof. Grzegorzowi Jakielowi – byłym przewodniczącym PTA.

Od 2006 r. PTA przyznaje corocznie Nagrodę Młodych im. prof. Michała Bokińca. Nagroda przyznawana jest za pracę naukową z dziedziny andrologii opublikowaną w roku poprzedzającym jej przyznanie, osobom do 35. roku życia. Dotychczas Nagrodę otrzymali:

- 2006 – dr n. med. Paweł Jóźków,
- 2007 – dr hab. n. med. Ewa Jankowska,
- 2008 – dr n. biol. Ilona Kopera,
- 2009 – dr n. med. Anna Gumińska,
- 2010 – dr hab. n. med. Ewa Jankowska,
- 2012 – dr n. biol. Anna Hejmej,
- 2013 – dr n. biol. Marta Zarzycka,
- 2014 – dr n. biol. Anna Hejmej,
- 2015 – mgr biol. Ewelina Górowska,

- 2016 – dr n. med. Marta Olszewska,
- 2017 – dr n. biol. Katarzyna Chojnacka,
- 2018 – dr n. med. Aleksandra Rył,
- 2019 – dr n. med. Kamil Gill.

PTA organizuje co roku konferencje naukowe, tzw. Dni Andrologiczne, początkowo w Kazimierzu Dolnym nad Wisłą, a od 2012 r. w różnych miastach w Polsce (kolejno Łódź, Międzyzdroje, Bydgoszcz, Poznań, Gdańsk, Kraków, Lublin, Łódź). Odbyło się już 21 tego typu spotkań. Członkowie Towarzystwa mają okazję wysłuchać wykładów polskich i zagranicznych autorytetów z dziedziny andrologii, a także przedstawić własne prace naukowe. Jedną z ważniejszych inicjatyw PTA było zorganizowanie w Krakowie w 1997 r. Sympozjum Satelitarnego dla VI Międzynarodowego Kongresu Andrologii w Salzburgu. Sympozjum poświęcone było hormonalnej kontroli spermatogenezy. Członkowie PTA uczestniczą licznie w zagranicznych konferencjach naukowych organizowanych przez ISA oraz EAA, gdzie wielokrotnie byli nagradzani za prezentowane prace naukowe. Wielu członków PTA było uhonorowanych zaproszeniem do wygłoszenia wykładów.

Członkowie PTA aktywnie uczestniczą w europejskich inicjatywach andrologicznych organizowanych przez EAA. Prof. Krzysztof Kula był jednym z założycieli EAA, członkiem pierwszego Zarządu w latach 1992–2002, a także członkiem Komisji Publikacyjnej i Akredytacji Centrów Kształcenia Klinicznego EAA w latach 2007–2010. W 2006 r. prof. Jolanta Słowikowska-Hilcher została wybrana członkiem Zarządu EAA na lata 2007–2010, a także członkiem Komisji Akredytacji Centrów Kształcenia Klinicznego EAA i Komisji Edukacji, której członkiem jest nadal. W 2019 r. prof. Słowikowska-Hilcher wygłosiła wykład na Konferencji Amerykańskiego Towarzystwa Andrologicznego jako przedstawiciel EAA.

Członkami rzeczywistymi (ang. *full members*) EAA są:

- prof. Krzysztof Kula od 1992 r.,
- prof. Jolanta Słowikowska-Hilcher od 1994 r.,
- prof. Barbara Bilińska od 2008 r.,
- prof. Piotr Jędrzejczak od 2008 r.,
- prof. Grzegorz Jakiel od 2010 r.

Prof. Krzysztof Kula był założycielem i pierwszym dyrektorem jedyne w Polsce Centrum Kształcenia Klinicznego Europejskiej Akademii Andrologii. Obecnym dyrektorem jest prof. Jolanta Słowikowska-Hilczer. Centrum przygotowało dotychczas 18 lekarzy, którzy uzyskali Europejski Certyfikat androloga klinicznego. Członkowie PTA uczestniczą w krajowych i międzynarodowych kursach podyplomowych z dziedziny andrologii. Pomimo że istnieje wielka potrzeba szerszego i jednolitego kształcenia w dziedzinie andrologii oraz coraz większego zainteresowania młodych lekarzy problemami andrologicznymi nadal nie udało się utworzyć specjalizacji lub umiejętności z tej dziedziny. W odpowiedzi na tę potrzebę PTA od 2017 r. prowadzi kursy dla lekarzy, które przygotowują się do egzaminu do Certyfikatu z andrologii klinicznej organizowanego przez PTA (Przewodniczący Komisji ds. Certyfikatu: prof. Piotr Jędrzejczak i prof. Jolanta Słowikowska-Hilczer). Dotychczas certyfikat uzyskało 75 lekarzy.

W latach 2010–2012 r. pod patronatem PTA w Krakowie prowadzone były kursy z seminologii (koordynator dr Leszek Bergier). Od 2016 r. PTA we współpracy z Krajową Izbą Diagnostów Laboratoryjnych (KIDL) prowadzi praktyczne kursy badania nasienia metodą manualną według procedur rekomendowanych przez WHO. Dotychczas przeszkolono 300 diagnostów. W ramach tej współpracy opracowano w języku polskim rekomendacje PTA i KIDL dotyczące procedur wykonywania badania nasienia zgodnie z wytycznymi WHO (koordynatorzy dr hab. Renata Walczak-Jędrzejowska i dr hab. Katarzyna Marchlewska).

W 1998 r. ukazał się pierwszy polski podręcznik andrologii zatytułowany „Andrologia” pod redakcją prof. Mariana Semczuka i prof. Macieja Kurpisa. W 2013 r. pod patronatem PTA został wydany podręcznik pt. „Układ płciowy męski. Badania doświadczalne i kliniczne” pod redakcją prof. Małgorzaty Piaseckiej.

W 2020 r. planowane jest wydanie podręcznika pt. „Andrologia – zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii” pod redakcją prof. Jolanty Słowikowskiej-Hilczer.

Na początku lat 90. XX w. ukazało się kilka numerów czasopisma naukowego „Postępy Andrologii” pod redakcją dr Grzegorza Szymczyńskiego. Od 2014 r. PTA wznowiło wydawanie czasopisma pod tytułem „Postępy Andrologii *Online*”, które dostępne jest na stronie internetowej www.postepyandrologii.pl i ukazuje się dwa razy w roku. Redaktorem naczelnym jest prof. Małgorzata Piasecka.

PTA prowadzi stronę internetową <http://www.andrologia-pta.com.pl/>, gdzie znajdują się informacje na temat aktualnych aktywności, a także terminarz imprez o tematyce andrologicznej odbywających się w Polsce i na świecie.

Oprócz działalności w PTA jego członkowie są aktywni także w innych współpracujących towarzystwach: prof. Barbara Bilińska była Przewodniczącą Komisji Andrologii Komitetu Biologii Rozrodu Polskiej Akademii Nauk, prof. Barbara Darewicz jest Przewodniczącą Sekcji Seksuologii i Andrologii Polskiego Towarzystwa Urologicznego (PTU), prof. Jolanta Słowikowska-Hilczer jest Przewodniczącą Sekcji Andrologii Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (PTE), a prof. Grzegorz Jakiel jest Przewodniczącym Sekcji Andrologii PTG.

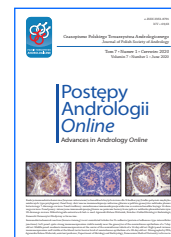
Pomimo że andrologia jest młodą dziedziną nauki, wydaje się, że w ostatnich 30 latach ugruntowała swoją pozycję w medycynie i nauce. Polskie Towarzystwo Andrologiczne było i – mamy nadzieję – nadal będzie siłą napędową ruchu andrologicznego w Polsce. Tym krótkim przypomnieniem historii PTA pragniemy podziękować wszystkim założycielom, przewodniczącym, członkom Zarządu i członkom Towarzystwa, a także organizatorom konferencji i szkoleń, redaktorom podręczników i czasopism oraz wszystkim wspierającym polską andrologię, których aktywność przyczyniła się do jej sukcesu.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

WPŁYW LEKÓW IMMUNOSUPRESYJNYCH NA MĘSKI UKŁAD PŁCIOWY

THE INFLUENCE OF IMMUNOSUPPRESSIVE AGENTS ON MALE REPRODUCTIVE SYSTEM

Marta Grabowska *, Małgorzata Piasecka

Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

*Autor do korespondencji/corresponding author: Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Żołnierska 48, 71-210 Szczecin

tel.: +48 91 4800908, e-mail: martag@pum.edu.pl

Otrzymano/received: 30.05.2020 r. • Zaakceptowano/accepted: 28.06.2020 r.

DOI: [10.26404/PAO_2353-8791.2020.02](https://doi.org/10.26404/PAO_2353-8791.2020.02)

Marta Grabowska – dr n. med., absolwentka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, biolog i biotechnolog. Laureatka nagród Rektora Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Pierwszy autor i współautor artykułów naukowych, opublikowanych w renomowanych polskich i zagranicznych czasopismach naukowych. Członek Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, Polskiego Towarzystwa Biologii Komórki, Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz Polskiego Towarzystwa Biologii Rozrodu. Od 2015 r. asystent w Zakładzie Histologii i Biologii Rozwoju Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Jej główne zainteresowania naukowe skupiają się na analizie wpływu wybranych schematów leczenia immunosupresyjnego na męski układ płciowy.

Marta Grabowska – PhD, graduate of the West Pomeranian University of Technology in Szczecin as biologist and biotechnologist. Award winner of the Rector of the Pomeranian Medical University in Szczecin. The first author and co-author of articles published in renowned Polish and foreign scientific journals. Member of the Polish Society of Andrology, Polish Society of Cell Biology, Polish Society of Histochemistry and Cytochemistry as well as Polish Society of Reproductive Biology. From 2015 assistant in Department of Histology and Developmental Biology at Pomeranian Medical University in Szczecin. Her main research interests are focused on analysis of the effects of selected immunosuppressive treatment protocols on male reproductive system.

Streszczenie

W niniejszym artykule zawarto podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat potencjalnego wpływu leków immunosupresyjnych na oś podwzgórze–przysadka–gonada, gonadę męską, najądrze i prostatę. Podstawą uzyskanych informacji są przede wszystkim badania przeprowadzone na zwierzętach z wykorzystaniem leków immunosupresyjnych najczęściej stosowanych w praktyce klinicznej u osób po przeszczepach narządów: cyklosporyny A, takrolimusu, rapamycyny, mykofenolanu mofetylu i prednizonu. Nie zawsze jednak wyniki badań doświadczalnych są zgodne. Najwięcej badań naukowych odnosi się do gonady męskiej. W jej tkance śródmiąższowej obserwuje się zwłóknienie, obrzęk, przekrwienie naczyń włosowatych i spadek objętości komórek Leydiga. Ponadto stwierdza się zmniejszenie średnicy i atrofie kanalików nasiennych, wakuolizację i dezorganizację nabłonka plemnikotwórczego, nieprawidłowy rozwój spermatyd, zredukowaną aktywność fagocytarną komórek Sertolego, złuszczenie komórek germinalnych do światła kanalika, a także zmniejszenie liczby plemników. Należy zwrócić uwagę, że leki immunosupresyjne wywierają niekorzystny wpływ na plemniki

nie tylko poprzez gonadę męską, ale również wskutek upośledzenia czynności najądrza, co w konsekwencji może prowadzić do obniżenia koncentracji, ruchliwości i morfologii plemników najądrzowych. Z kolei negatywny wpływ leków immunosupresyjnych na prostatę manifestuje się zmniejszeniem światła gruczołów, atrofią ich nabłonka i obniżeniem zdolności wydzielniczej, a także zanikiem komponentów zrębu. Opisane nieprawidłowości mogą mieć znaczenie kliniczne dla męskiej płodności. Niestety większość dostępnych opracowań dotyczy wpływu pojedynczych leków immunosupresyjnych na męski układ płciowy, jednak u pacjentów po transplantacji narządów monoterapię stosuje się niezmiernie rzadko. W praktyce klinicznej leczenie najczęściej oparte jest na schematach 3-lekowych, w związku z tym istnieje uzasadniona potrzeba badań w kierunku określenia wpływu tych schematów na płodność męską. Wydaje się, że u pacjentów planujących ojcostwo należałoby uwzględnić pewne modyfikacje protokołów leczenia immunosupresyjnego, które zwiększyłyby szanse na sukces rozrodczy. Należy jednak podkreślić, że konwersja leczenia nie zawsze jest zalecana, ważniejsze jest bowiem zachowanie prawidłowej funkcji przeszczepu niż poprawa zdolności reprodukcyjnej pacjenta.

Słowa kluczowe: leki immunosupresyjne, gonada męska, najądrze, prostata, plemniki

Abstract

The presented article summarizes the current knowledge about the potential impact of immunosuppressive agents on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, male gonad, epididymis and prostate. The information is mainly obtained from animal studies with the use of immunosuppressive drugs (cyclosporin A, tacrolimus, rapamycin, mycophenolate mofetil and prednisone), the most commonly used in clinical practice in organ transplant recipients. However, the results of experimental studies are not always consistent. Most of the scientific reports refer to the male gonad. In the interstitial tissue of the gonad fibrosis, edema, capillary congestion and a decrease in the Leydig cell volume were observed. In addition, reduced diameter of the seminiferous tubules and their atrophy, vacuolization and disorganization of the seminiferous epithelium, abnormal spermatid development, reduced phagocytic activity of Sertoli cells, exfoliation of germinal cells into the lumen of the tubule, as well as a decrease in sperm cells count were found. It should be noted that immunosuppressants have a detrimental effect on sperm cells not only through the male gonad, but also through impaired epididymal function, which may lead to decrease in epididymal sperm cell concentration, motility and morphology. In turn, the negative effect of immunosuppressive drugs on the prostate is manifested by a reduction of the lumen of the glands, atrophy of their epithelium and reduction of secretory capacity, as well as atrophy of stromal components. The described abnormalities may be of clinical relevance for male fertility. Unfortunately, most of the available studies concern the effects of single immunosuppressive drugs on the male reproductive system, however in patients after organ transplantation monotherapy is used extremely rare. In clinical practice, treatment is most often based on 3-drug regimens, therefore it is a justified need for research to determine the effect of these regimens on male fertility. It seems that in patients planning fatherhood, some modifications of immunosuppressive treatment protocols should be considered, which would increase the chances of reproductive success. However, it should be emphasized that conversion of treatment is not always recommended, as it is more important to maintain the proper functioning of the transplant than to improve the patient's reproductive capacity.

Key words: immunosuppressive drugs, male gonad, epididymis, prostate, spermatozoa

Skróty / Abbreviations

4E-BP1 – białko wiążące eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E (ang. *eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1*); ACTH – hormon adrenokortykotropowy (ang. *adrenocorticotrophic hormone*); AP-1 – białko aktywatorowe 1 (ang. *activator protein-1*); ATP – adenylozotrifosforan (ang. *adenosine triphosphate*); CaM – kalmodulina (ang. *calmodulin*); cAMP – cykliczny adenylozomonofosforan (ang. *cyclic adenosine monophosphate*); CaN – kalcyneuryna (ang. *calcineurin*); CDK – kinaza zależna od cyklin (ang. *cyclin-dependent kinase*); CsA – cyklosporyna A (ang. *cyclosporin A*); CyPA – cyklofilina A (ang. *cyclophilin A*); FK506 – takrolimus (ang. *tacrolimus*); FKBP12 – białko wiążące takrolimus 12 (ang. *FK506 binding protein 12*); FRB – domena wiążąca FKBP12-rapamycyna (ang. *FKBP12-rapamycin binding domain*); GCR – receptor dla glikokortykosteroidów (ang. *glucocorticoid receptor*); GMP – monofosforan guanozyny (ang. *guanosine 5'-monophosphate*); GRE – element odpowiedzi na glikokortykosteroidy (ang. *glucocorticoid response element*); GS – glikokortykosteroidy (ang. *glucocorticosteroids*); GTP – guanozyny-5'-trifosforan (ang. *guanosine-5'-triphosphate*); hsp – białka szoku cieplnego (ang. *heat shock proteins*); IFN γ – interferon γ (ang. *interferon γ*); IL-2 – interleukina 2 (ang. *interleukin 2*); IL-3 – interleukina 3 (ang. *interleukin 3*); IL-4 – interleukina 4 (ang. *interleukin 4*); IL-5 – interleukina 5 (ang. *interleukin 5*); IMP – inozyny-5'-monofosforanu (ang. *inosine-5'-monophosphate*); IMPDH – dehydrogenaza inozyny-5'-monofosforanu (ang. *inosine-5'-monophosphate dehydrogenase*); mGCR – receptorów glikokortykosteroidowych związanych z błoną (ang. *membrane-bound glucocorticoid receptor*); MMF – mykofenolan mofetylu (ang. *mycophenolate mofetil*); MPA – kwas mykofenolowy (ang. *mycophenolic acid*); mTOR – ssaczy cel rapamycyny (ang. *mammalian target of rapamycin*); mTORC1 – kompleks 1 kinazy mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin complex 1*); mTORC2 – kompleks 2 kinazy mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin complex 2*); NAD – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (ang. *nicotinamide-adenine-dinucleotide*); NFATc – jądrowy czynnik pobudzonych limfocytów T (ang. *nuclear factor of activated T-cells*); NF- κ B – jądrowy czynnik transkrypcyjny κ aktywowanych komórek B (ang. *nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells*); PAGE4 – gen 4 związany z prostatą (ang. *prostate-associated gene 4*); PKA – kinaza białkowa A (ang. *protein kinase A*); PKC – kinaza białkowa C (ang. *protein kinase C*); PSA – swoisty antygen sterczowy (ang. *prostate-specific antigen*); RAPA – rapamycyna (ang. *rapamycin*); S6K1 – kinaza rybosomalna S6 (ang. *ribosomal protein S6 kinase 1*); TCR – receptor komórek T (ang. *T cell receptor*); TGF β – transformujący czynnik wzrostu β (ang. *transforming growth factor β*); TNF α – czynnik martwicy nowotworu α (ang. *tumor necrosis factor α*); XMP – ksantozyny-5'-monofosforan (ang. *xanthosine-5'-monophosphate*).

Leki immunosupresyjne są powszechnie stosowane w praktyce klinicznej w niektórych chorobach zapalnych i autoimmunologicznych, a także w celu zminimalizowania reakcji odrzucania przeszczepionych narządów unaczynionych (Gummert i wsp., 1999; Mahmud i wsp., 2010). Ważnym elementem terapii jest dobór odpowiedniego schematu immunosupresyjnego, który będzie wywierał hamujący wpływ na układ odpornościowy, wykazując jednocześnie niski wskaźnik działań niepożądanych (Mahmud i wsp., 2010). U pacjentów po transplantacji narządów standardowe protokoły leczenia immunosupresyjnego są zwykle oparte na kombinacjach trzech leków, pochodzących z różnych klas. Konwencjonalne schematy obejmują: inhibitory kalcyneuryny – cyklosporynę A (CsA, ang. *cyclosporin A*) i takrolimus (FK506, ang. *tacrolimus*), inhibitory syntezy puryn np. mykofenolan mofetylu (MMF, ang. *mycophenolate mofetil*), glikokortykosteroidy (GS, ang. *glucocorticosteroids*) np. prednizon, jak również inhibitory kinazy ssaczego celu rapamycyny (mTOR, ang. *mammalian target of rapamycin*) np. rapamycynę (RAPA, ang. *rapamycin*) (Lim i wsp., 2017).

Obecnie w wyniku stosowania leków immunosupresyjnych obserwuje się znaczny spadek liczby odrzuconych przeszczepów, jednak jest on proporcjonalny do wzrostu częstości występowania zakażeń i nowotworów złośliwych u biorców przeszczepu (Gummert i wsp., 1999). Co więcej, długotrwałe podawanie leków immunosupresyjnych może być związane z podwyższonym ryzykiem występowania chorób układu sercowo-naczyniowego lub nefrotoksyczności, co w efekcie może prowadzić do przewlekłej dysfunkcji przeszczepu (de Mattos i wsp., 2000; Miller, 2002). Należy również podkreślić, że immunosupresanty z reguły mogą wywierać niekorzystny wpływ na męski układ płciowy (Masuda i wsp., 2003; Rovira i wsp., 2012; Srinivas i wsp., 1998). Zwykle po 6 miesiącach od udanego przeszczepu nerki u pacjentów następuje normalizacja płodności, jednak wciąż nie wiadomo, czy odzyskanie płodności jest całkowite (McKay i wsp., 2005; Saha i wsp., 2002). Niektóre badania sugerują, że u osób po transplantacji innych narządów, pomimo zachowania prawidłowej funkcji przeszczepu, nadal mogą występować zaburzenia w zakresie zdolności reprodukcyjnych (Malavaud i wsp., 2000). Nie można pominąć faktu, że poszczególne leki immunosupresyjne charakteryzują się odmiennym mechanizmem działania i mogą one wywierać podobne lub różne efekty na narządy męskiego układu płciowego (tabela 1).

Leki immunosupresyjne i ich mechanizm działania

Cyklosporyna A

Cyklosporyna A jest 11-aminokwasowym lipofilowym cyklicznym peptydem, który został po raz pierwszy wyizolowany z grzyba *Tolypocladium inflatum*. W 1976 r. dowiedziono, że CsA ma bardzo silne właściwości

immunomodulujące i wykazuje specyficzną aktywność immunosupresyjną, dzięki czemu stanowi ona podstawę w leczeniu klinicznym opartym na hamowaniu odpowiedzi układu odpornościowego u pacjentów po przeszczepach narządów (Borel i wsp., 1994).

Molekularny mechanizm działania CsA polega na hamowaniu aktywacji limfocytów T poprzez blokowanie transkrypcji genów dla poszczególnych cytokin. Po wejściu do limfocyty T CsA wiąże się specyficznie z cytozolemą cyklofiliną A (CyPA, ang. *cyclophilin A*), należąca do grupy białek cytoplazmatycznych zwanych immunofilinami. Powstały kompleks wiąże się bezpośrednio z kalcyneuryną (CaN, ang. *calcineurin*) i hamuje jej działanie. Kalcyneuryna jest fosfatazą zależną od jonów wapnia i kalmoduliny (CaM, ang. *calmodulin*) i stanowi kluczowy element szlaku sygnałowego prowadzącego do pobudzenia i różnicowania limfocytów T. Zaangażowanie receptora komórek T (TCR, ang. *T cell receptor*) z pokrewnym ligandem indukuje podwyższenie wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia, a następnie aktywację CaM, która wchodzi w interakcję z CaN, prowadząc do jej aktywacji. Kalcyneuryna defosforyluje jądrowe białka regulatorowe, takie jak jądrowy czynnik aktywowanych komórek T (NFATc, ang. *nuclear factor of activated T-cells*), ułatwiając tym samym ich translokację z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie regulują one ekspresję genów dla licznych cytokin (rycina 1) (Knoop i wsp., 2004; Matsuda i Koyasu, 2000). Hamowanie aktywności CaN przez kompleks CyPA-CsA upośledza aktywację limfocytów T, uniemożliwiając tym samym syntezę cytokin, do których należą interferon γ (IFN γ , ang. *interferon γ*), czynnik martwicy nowotworu α (TNF α , ang. *tumor necrosis factor α*) oraz interleukiny 2 (IL-2, ang. *interleukin 2*), 3 (IL-3, ang. *interleukin 3*), 4 (IL-4, ang. *interleukin 4*) i 5 (IL-5, ang. *interleukin 5*) (Danovitch, 2007; Knoop i wsp., 2004). Ponadto CsA nasila ekspresję transformującego czynnika wzrostu β (TGF β , ang. *transforming growth factor β*), który hamuje proliferację limfocytów T stymulowaną przez IL-2 i może wywierać efekty profibrogenne, stymulujące włóknienie (Danovitch, 2007; Knoop i wsp., 2004).

Takrolimus

Takrolimus jest hydrofobowym, makrocyclicznym antybiotykiem, który został po raz pierwszy wyizolowany w 1984 r. z fermentującej hodowli promieniowca *Streptomyces tsukubaensis*, który pochodził z próbki gleby pozyskanej z rejonu Tsukuba w Japonii. Właściwości immunosupresyjne FK506 wykazano w 1987 r. i wkrótce po tym dowiedziono, że lek ten może stanowić alternatywę dla CsA. Pomimo że FK506 nie wykazuje homologii strukturalnej do CsA, charakteryzuje się analogicznym mechanizmem działania (Goto i wsp., 1987; Knoop i wsp., 2004; Thomson i wsp., 1995).

Takrolimus podobnie jak CsA jest zaliczany do inhibitorów CaN, jednak wykazuje on 50–100-krotnie silniejsze działanie niż CsA. Lek ten wpływa na transdukcję

Tabela 1. Wpływ leczenia immunosupresyjnego na wybrane narządy męskiego układu płciowego

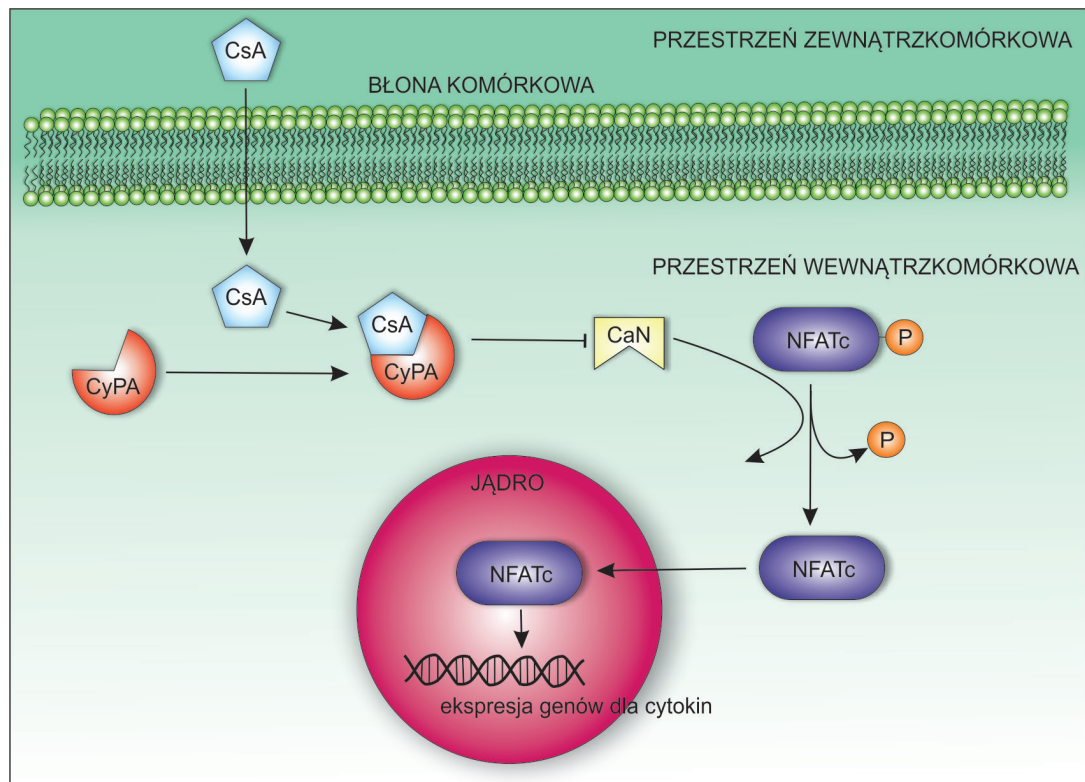
Narząd	LEK IMMUNOSUPRESYJNY				Pismienictwo	
	CsA	FK506	MMF	RAPA		
Gonada męska	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zmniejszenie masy; - zwłóknienie, przekrwienie naczyń włosowatych i obrzęk w tkance śródmiaższowej jąder; - spadek średniej objętości komórek Leydiga; - nieprawidłowy rozwój spermatyd oraz liczne ciała reszkowe w nabłonku plemnikotwórczym; - wakuolizacja i dezorganizacja nabłonka plemnikotwórczego; - zredukowana aktywność fagocytna komórek Sertolego; - atrofia kanalików nasiennych; - zmniejszenie liczby plemników; - zaburzenie równowagi pro- i antyoksydacyjnej.	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zmniejszenie masy; - zmiany w tkance okołokanalikowej; - kanalki nasienne ze zmniejszoną liczbą spermatocytów i spermatyd oraz obecnością licznych komórek germinalnych w ich świetle; - silnie zabarwiona chromatyna, nieregularny kształt i nieprawidłowa pozycja jąder komórek Sertolego; - przestrzelenie wakuolarnie w nabłonku plemnikotwórczym; - atrofia kanalików nasiennych; - niewielki spadek liczby plemników.	- brak znaczącego wpływu na włączanie tymidyny w DNA spermatogoniów i spermatocytów; - potencjalny niekorzystny wpływ na płodność męską poprzez działanie mutagenne i teratogenne.	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zmniejszenie masy; - zwłóknienie i obrzęk śródmiaższowy gonady; - hiperplazja komórek Leydiga; - zahamowanie spermatogenezy; - zmniejszona liczba spermatocytów, spermatyd; - różny stopień atrofi kanalików nasiennych, - wakuolizacja nabłonka plemnikotwórczego; - zmniejszona liczba plemników.	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zwiększenie masy; - zmniejszenie stresu oksydacyjnego; - zahamowanie uwalniania cytokin; - redukcja obrzęku i naciekania leukocytów.	<i>Canegum i wsp.</i> , 2009; <i>Cavallini i wsp.</i> , 1990; <i>Chen i wsp.</i> , 2013; <i>De Santis i Saad</i> , 2016; <i>Eugui i wsp.</i> , 1991; <i>Hisatomi i wsp.</i> , 1996; <i>Hughe i wsp.</i> , 2006; <i>Kanzawa i wsp.</i> , 2015; <i>Liu i wsp.</i> , 2017; <i>Masuda i wsp.</i> , 2003; <i>Milardi i wsp.</i> , 2017; <i>Rovira i wsp.</i> , 2012; <i>Seethalakshmi i wsp.</i> , 1987, 1990; <i>Semet i wsp.</i> , 2017; <i>Srinivas i wsp.</i> , 1998; <i>Tauchmanová i wsp.</i> , 2004; <i>Türk i wsp.</i> , 2007, 2010.
	Najądrze	- zmniejszenie masy; - obecność konglomeratów plemników i plemników wykazujących nieprawidłowości strukturalne w świetle przewodu; - obniżenie koncentracji i ruchliwości plemników.	- zmniejszenie masy; - zmniejszenie liczby plemników w świetle najądrza; - obecność degenerujących gamet męskich; - spadek koncentracji L-karnityny.	- brak danych	- piknotyczne lub apoptotyczne jądra komórek nabłonka przewodu	- zahamowanie uwalniania cytokin; - redukcja obrzęku i naciekania leukocytów.
Prostata	- zmniejszenie masy; - zmniejszenie światła pęcherzyków; - redukcja objętości nabłonka i komponentów zrębu; - zmniejszenie komórkowej zdolności wydzielniczej.	- zmniejszenie masy	- zmniejszenie ekspresji genu <i>PAGE4</i>	- spadek koncentracji PSA	- spadek koncentracji PSA; - zahamowanie uwalniania cytokin; - redukcja obrzęku i naciekania leukocytów.	<i>Chamie i wsp.</i> , 2008; <i>De Santis i Saad</i> , 2016; <i>Dun i wsp.</i> , 2014; <i>Freitas i wsp.</i> , 2012; <i>Hisatomi i wsp.</i> , 2008; <i>Seethalakshmi i wsp.</i> , 1987, 1990; <i>Türk i wsp.</i> , 2010.

CsA – cyklosporyna A, FK506 – takrolimus, MMF – mykofenolan mofetylu, PSA – swoisty antygen sterczowy, *PAGE4* – gen 4 związany z prostatą, RAPA – rapamycyna.

Table 1. The influence of immunosuppressive treatment on male reproductive tract

Organ	IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS					References
	CsA	FK506	MMF	RAPA	Prednisone/prednisolone	
Male gonad	- impairment of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis; - decrease in testicular weight; - fibrosis, capillary congestion and edema in the interstitial tissue; - decrease in the Leydig cell volume; - abnormal spermatid development and numerous residual bodies in the the germinal epithelial cells; - vacuolization and disorganization of the germinal epithelial cells; - reduced phagocytic activity of Sertoli cells; - atrophy of the seminiferous tubules; - reduction in sperm cells count; - disruption of antioxidant balance.	- impairment of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis; - decrease in testicular weight; - changes in the interstitial tissue of seminiferous tubules; - seminiferous tubules with decreased number of spermatocytes and spermatids and the presence of numerous germ cells in their lumen; - strongly stained chromatin, irregular shape and abnormal position of the Sertoli cell nuclei; - vacuolization of the germinal epithelial cells; - atrophy of the seminiferous tubules; - slight reduction in sperm cells count.	- no significant influence on the incorporation of thymidine in the DNA of spermatogonia and spermatocytes; - potential adverse effect on the male fertility through mutagenic and teratogenic effects.	- impairment of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis; - decrease in testicular weight; - fibrosis and edema of male gonad; - heperplasia of the Leydig cells; - inhibition of spermatogenesis; - decreased number of spermatocytes and spermatids; - different - varying degrees of seminal tubule atrophy; - vacuolization of the germinal epithelial cells; - reduction in sperm cells count.	- impairment of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis; - increase in testicular weight; - reduction of oxidative stress; - inhibition of cytokine release; - reduction of edema and leukocyte infiltration.	<i>Caneguin i wsp.</i>, 2009; <i>Cavallini i wsp.</i>, 1990; <i>Chen i wsp.</i>, 2013; <i>De Santis i Saad</i>, 2016; <i>Eugui i wsp.</i>, 1991; <i>Fisatomi i wsp.</i>, 1996; <i>Hughe i wsp.</i>, 2006; <i>Kanzawa i wsp.</i>, 2015; <i>Liu i wsp.</i>, 2017; <i>Masuda i wsp.</i>, 2003; <i>Milardi i wsp.</i>, 2017; <i>Rovira i wsp.</i>, 2012; <i>Seethalakshmi i wsp.</i>, 1987, 1990; <i>Semet i wsp.</i>, 2017; <i>Srinivas i wsp.</i>, 1998; <i>Tauchmanova i wsp.</i>, 2004; <i>Türk i wsp.</i>, 2007, 2010.
Epididymis	- decrease in epididymal weight; - presence of sperm conglomerates and sperm cells showing structural abnormalities in the lumen of the duct; - decreased concentration and motility of sperm cells.	- decrease in epididymal weight; - reduction in sperm cells count in the lumen of the epididymis; - the presence of degenerating male gametes; - decrease in L-carnitine concentration.	- no data	- picnotic or apoptotic nuclei of the duct epithelial cells	- inhibition of cytokine release; - reduction of edema and leukocyte infiltration.	<i>Caneguin i wsp.</i>, 2009; <i>Fisatomi i wsp.</i>, 1996, 2008; <i>Masuda i wsp.</i>, 2003; <i>Moore i wsp.</i>, 1971; <i>Schell i wsp.</i>, 2016; <i>Seethalakshmi i wsp.</i>, 1987, 1990; <i>Türk i wsp.</i>, 2010.
Prostate	- decrease in the prostate weight; - reduction in the lumen of the acini; - atrophy of the glandular epithelium and stromal components; - reduction in cellular secretory capacity.	- decrease in the prostate weight	- decrease in <i>PAGE4</i> gene expression	- decrease in PSA concentration	- decrease in PSA concentration; - inhibition of cytokine release; - reduction of edema and leukocyte infiltration.	<i>Chamie i wsp.</i>, 2008; <i>De Santis i Saad</i>, 2016; <i>Dun i wsp.</i>, 2014; <i>Freitas i wsp.</i>, 2012; <i>Fisatomi i wsp.</i>, 2008; <i>Seethalakshmi i wsp.</i>, 1987, 1990; <i>Türk i wsp.</i>, 2010.

CsA – cyclosporin A, FK506 – tacrolimus, MMF – mycophenolate mofetil, PSA – prostate specific antigen, *PAGE4* – prostate associated gene 4, RAPA – rapamycin.



Ryc. 1. Mechanizm działania cyklosporyny A. Po wejściu do limfocytu T, cyklosporyna A (CsA) wiąże się specyficznie z cytozolową cyklofiliną A (CyPA). Powstały kompleks wiąże się bezpośrednio z kalcyneuryną (CaN) i hamuje jej działanie. Kalcyneuryna defosforyluje jądrowe białka regulatorowe, takie jak jądrowy czynnik aktywowanych komórek T (NFATc), ułatwiając ich translokację z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie regulują one ekspresję genów dla licznych cytokin

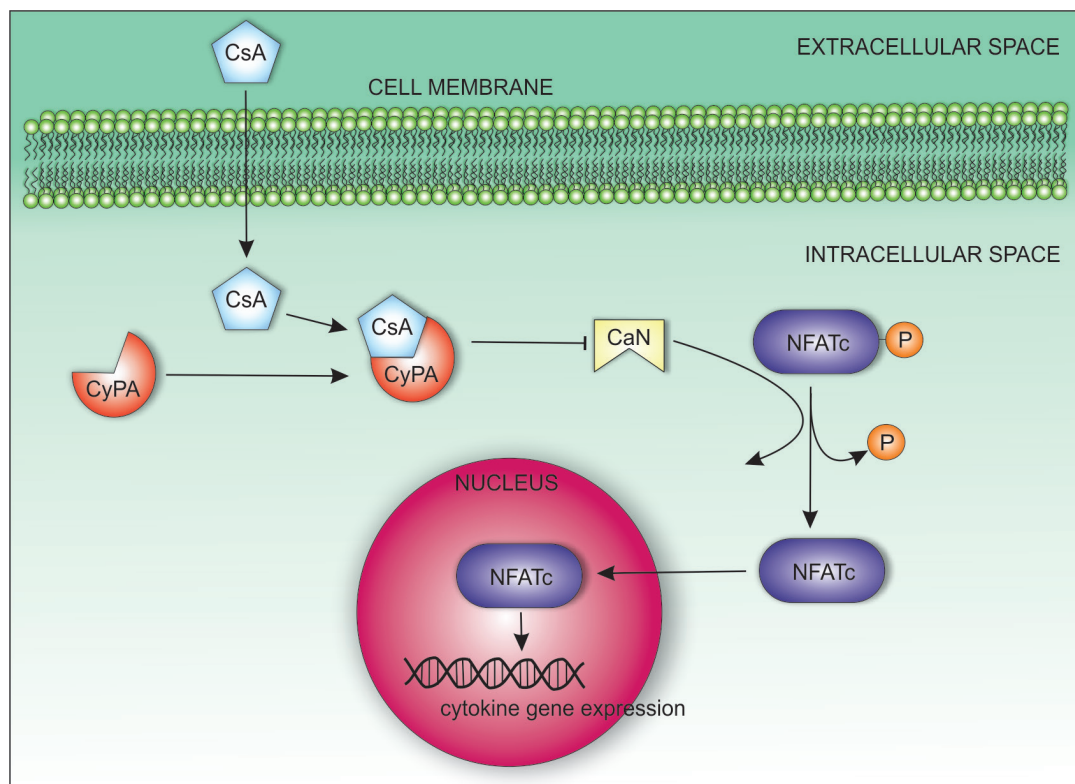


Fig. 1. Mechanism of action of cyclosporin A. Upon entry into the T cell, cyclosporin A (CsA) binds specifically to cytosolic cyclophilin A (CyPA). The resulting complex binds directly to calcineurin (CaN) and inhibits its action. Calcineurin dephosphorylates nuclear regulatory proteins such as nuclear factor of activated T-cells (NFATc), thereby facilitating their translocation from the cytoplasm into the nucleus where they regulate gene expression for numerous cytokines

sygnału w limfocytach T, co wiąże się z zahamowaniem ekspresji genów dla wybranych cytokin. Takrolimus tworzy kompleks z cytoplazmatycznym białkiem receptorowym, należącym do klasy immunofilin, tj. białkiem wiążącym takrolimus 12 (FKBP12, ang. *FK506 binding protein 12*). Kompleks FK506-FKBP12 wiąże się z CaN, hamując tym samym jej aktywność enzymatyczną (rycina 2). W efekcie następuje inhibicja transdukcji sygnałów zależnej od jonów Ca^{2+} i inaktywacja czynników transkrypcyjnych regulujących transkrypcję genów dla cytokin (Danovitch, 2007; Gummert i wsp., 1999; Knoop i wsp., 2004; Schreiber i Crabtree, 1992; Thomson i wsp., 1995). Co ciekawe, FK506 wykazuje większe powinowactwo wiązania z FKBP12 niż CsA z CyPA (Schreiber, 1991). Wykazano również, że FK506 w aktywowanych limfocytach T hamuje ekspresję genów dla IL-3, IL-4, TNF α i IFN γ (Kino i wsp., 1987).

Mykofenolan mofetylu

Mykofenolan mofetylu stanowi produkt fermentacji grzybów z rodzaju *Penicillium brevicompactum* i gatunków pokrewnych. Jest on prolekiem, którego aktywny składnik stanowi kwas mykofenolowy (MPA, ang. *mycophenolic acid*) (Allison i Eugui, 1996; Gummert i wsp., 1999). Właściwości immunosupresyjne MMF wykazano już w 1969 r., ale dopiero w 1995 r. został on zatwierdzony do stosowania w transplantologii klinicznej w celu zapobiegania ostremu odrzuceniu przeszczepionych narządów. Mykofenolan mofetylu jest stosowany w postaci półsyntetycznego 2-morfolino-etylowego estru MPA (Gummert i wsp., 1999; Mitsui i Suzuki, 1969; Ritter i Pirofski, 2009).

Mykofenolan mofetylu hamuje syntezę DNA oraz proliferację limfocytów T i B. Mechanizm działania immunosupresyjnego MMF polega na silnej, selektywnej i odwracalnej inhibicji dehydrogenazy inozyno-5'-monofosforanu (IMPDH, ang. *inosine-5'-monophosphate dehydrogenase*), która jest kluczowym enzymem w biosyntezie guanozyny *de novo* (Ransom, 1995). Dehydrogenaza inozyno-5'-monofosforanu katalizuje reakcję utleniania inozyno-5'-monofosforanu (IMP, ang. *inosine-5'-monophosphate*) do ksantozyno-5'-monofosforanu (XMP, ang. *xanthosine-5'-monophosphate*), jednocześnie redukując dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD, ang. *nicotinamide-adenine-dinucleotide*). Ksantozyno-5'-monofosforan przechodzi w monofosforan guanozyny (GMP, ang. *guanosine 5'-monophosphate*), który z kolei jest przekształcany w guanozyno-5'-trifosforan (GTP, ang. *guanosine-5'-triphosphate*) niezbędny do syntezy DNA i proliferacji komórek (rycina 3). Ograniczenie syntezy nukleotydów guanozynowych prowadzi w efekcie do hamowania proliferacji limfocytów T i B (Ritter i Pirofski, 2009; Sun i wsp., 2008). Zaletą MMF jest preferencyjne hamowanie IMPDH typu II, która jest charakterystyczna prawie wyłącznie dla aktywowanych limfocytów. Pozostałe komórki organizmu mogą wykorzystać inne alternatywne drogi syntezy guanozyny (Ritter i Pirofski, 2009; Sun i wsp., 2008).

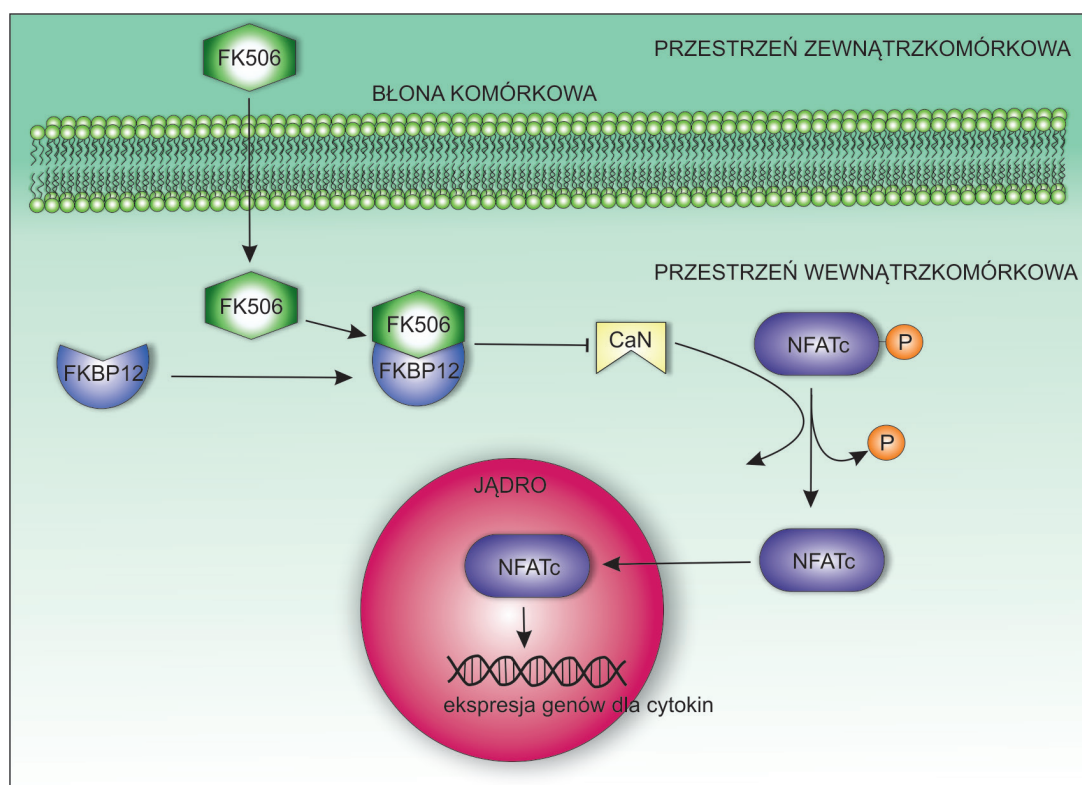
W limfocytach MPA może skutecznie indukować zatrzymanie cyklu komórkowego w późnej fazie G1. Wykazano, że MPA hamuje indukcję cykliny D3, będącej głównym składnikiem kinazy zależnej od cyklin (CDK, ang. *cyclin-dependent kinase*), a także degradację inhibitora CDK – białka p27kip1, co w efekcie powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 (Laliberté i wsp., 1998).

Glikokortykosteroidy

Glikokortykosteroidy należą do leków stosowanych w transplantologii klinicznej ze względu na swoje wielokierunkowe działanie. Spośród GS w schematach leczenia immunosupresyjnego najczęściej są wykorzystywane prednizon, prednizolon i metyloprednizolon, które posiadają właściwości immunosupresyjne i przeciwzapalne. Po raz pierwszy zastosowano je w leczeniu odrzutu po transplantacji narządów w latach 60. XX w. (Danovitch, 2007; Steiner i Awdishu, 2011).

Klasyczny mechanizm działania GS opiera się na ich wpływie na ekspresję genów kodujących mediatory procesu zapalnego. W związku z obecnością swoistych wewnątrzkomórkowych receptorów cytoplazmatycznych prawie we wszystkich komórkach organizmu GS wywierają różnorodne efekty na poszczególne narządy i tkanki. W przypadku braku liganda receptor dla glikokortykosteroidów (GCR, ang. *glucocorticoid receptor*) występuje w cytoplazmie w postaci kompleksów zawierających białka opiekuńcze, np. p23, białka szoku cieplnego (hsp, ang. *heat shock proteins*) hsp90, hsp70 lub immunofiliny (Ramamoorthy i Cidlowski, 2016; Stahn i wsp., 2007). Niezwiązane GS pasywnie dyfundują przez błonę komórkową do wnętrza komórek, gdzie wiążą się z cytozolem GCR. Zapoczątkowuje to zmiany konformacji przestrzennej receptora i oddysocjowanie białek, które były wcześniej związane z GCR. Kompleks GS-GCR zostaje aktywowany i przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie działa jako czynnik transkrypcyjny i bezpośrednio oddziałuje z sekwencjami regulatorowymi DNA, zwanymi elementami odpowiedzi na glikokortykosteroidy (GRE, ang. *glucocorticoid response elements*) (rycina 4). Sekwencje te są zlokalizowane w rejonie regulatorowym genów, które kodują białka syntetyzowane w odpowiedzi na GS. Przyłączenie kompleksu GS-GCR do GRE może prowadzić do aktywacji (dochodzi do połączenia z tzw. pozytywnymi miejscami GRE) lub do represji (dochodzi do połączenia z tzw. negatywnymi miejscami GRE) określonych genów (Barnes, 2006; Ramamoorthy i Cidlowski, 2016; Stahn i wsp., 2007).

Pierwotnie sądzono, że hamowanie syntezy wielu białek zapalnych poprzez supresję ich ekspresji genów odbywa się w wyniku interakcji kompleksu GS-GCR z negatywnymi miejscami GRE. Jednak negatywne GRE wykazano jedynie na kilku genach, które nie obejmują sekwencji kodujących białka zapalne (Ismaili i Garabedian, 2004). Dowiedziono, że zahamowanie transkrypcji wybranych genów dla cytokin przez GS może mieć charakter niegenomowy i przebiegać w sposób pośredni



Ryc. 2. Mechanizm działania takrolimusu. Takrolimus (FK506) po wnিকnięciu do komórki tworzy kompleks z białkiem wiążącym takrolimus 12 (FKBP12). Kompleks FK506-FKBP12 wiąże się z kalcineuryną (CaN), hamując tym samym jej aktywność enzymatyczną. Kalcineuryna defosforyluje jądrowe białka regulatorowe, takie jak jądrowy czynnik aktywowanych komórek T (NFATc), ułatwiając tym samym ich translokację z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie regulują one ekspresję genów dla licznych cytokin

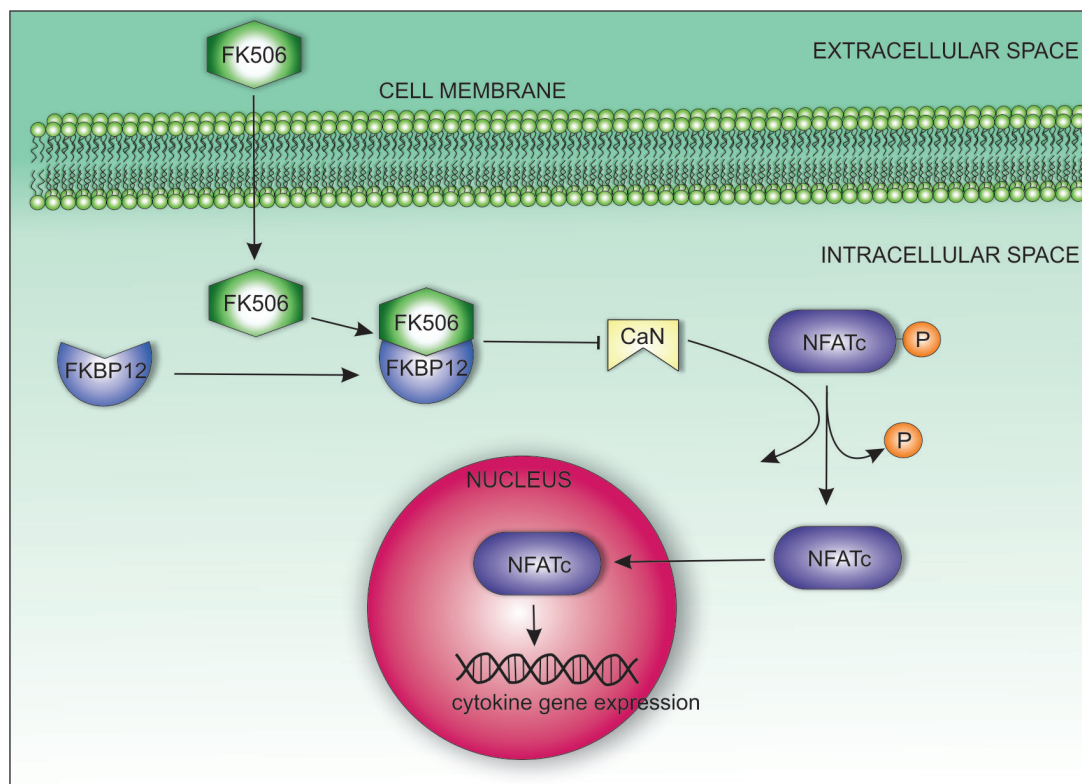
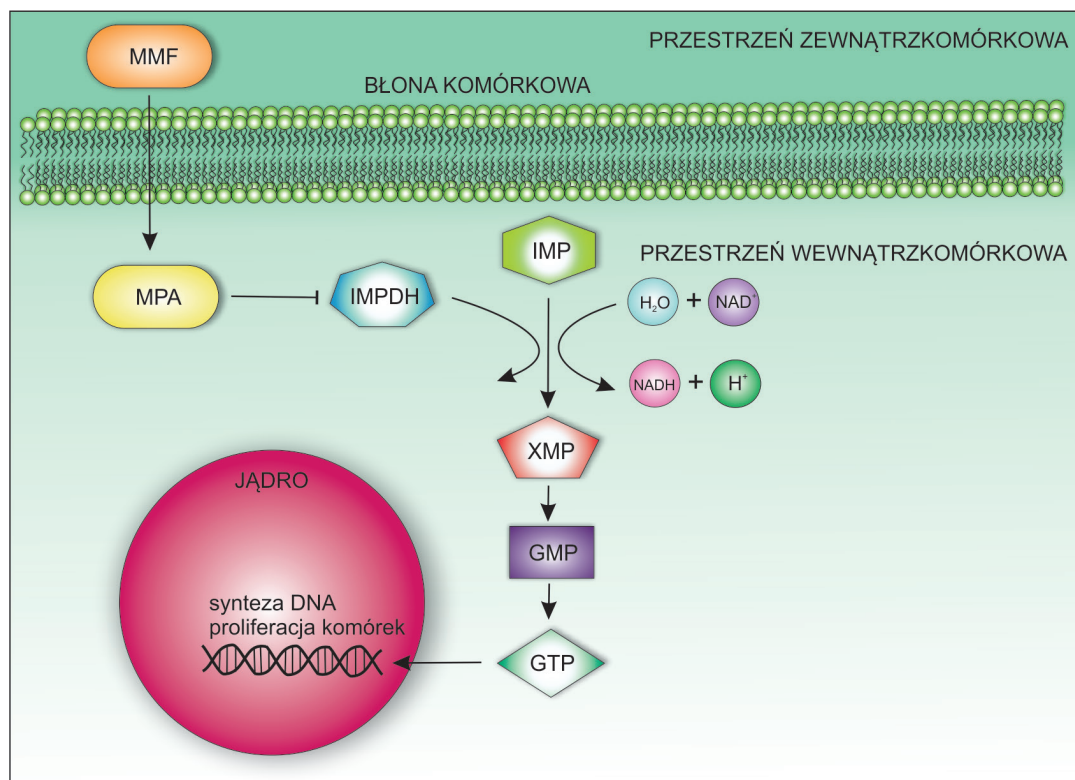


Fig. 2. Mechanism of action of tacrolimus. After entry into the cell, tacrolimus (FK506) forms a complex with tacrolimus binding protein 12 (FKBP12). The FK506-FKBP12 complex binds to calcineurin (CaN), thereby inhibiting its enzymatic activity. Calcineurin dephosphorylates nuclear regulatory proteins such as nuclear factor of activated T-cells (NFATc), thereby facilitating their translocation from the cytoplasm into the nucleus where they regulate gene expression for numerous cytokines



Ryc. 3. Mechanizm działania mykofenolanu mofetylu. Mykofenolan mofetylu (MMF) jest metabolizowany do kwasu mykofenolowego (MPA), który hamuje aktywność dehydrogenazy inozyno-5'-monofosforanu (IMPDH). IMPDH katalizuje reakcję utleniania inozyno-5'-monofosforanu (IMP) do ksantozyno-5'-monofosforanu (XMP), jednocześnie redukując dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD⁺). XMP przechodzi w monofosforan guanozyny (GMP), który z kolei jest przekształcany w guanozyno-5'-trifosforan (GTP) niezbędny do syntezy DNA i proliferacji komórek. H⁺ – jon wodorowy, H₂O – woda, NADH – zredukowana postać NAD

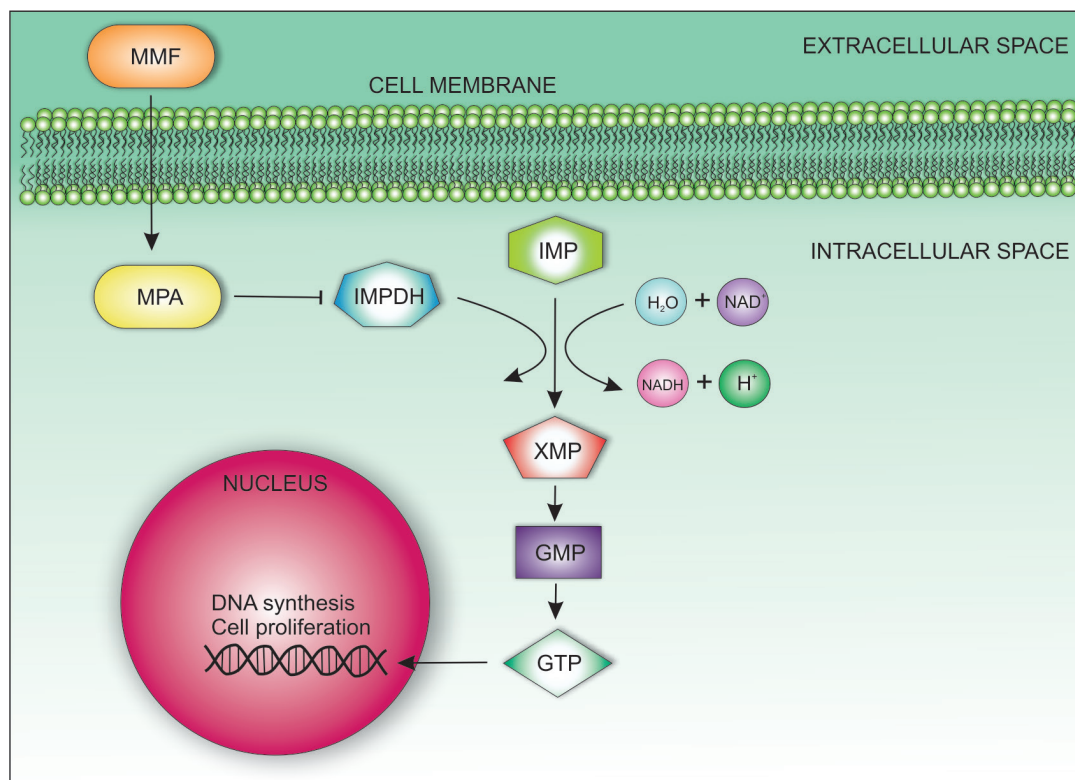
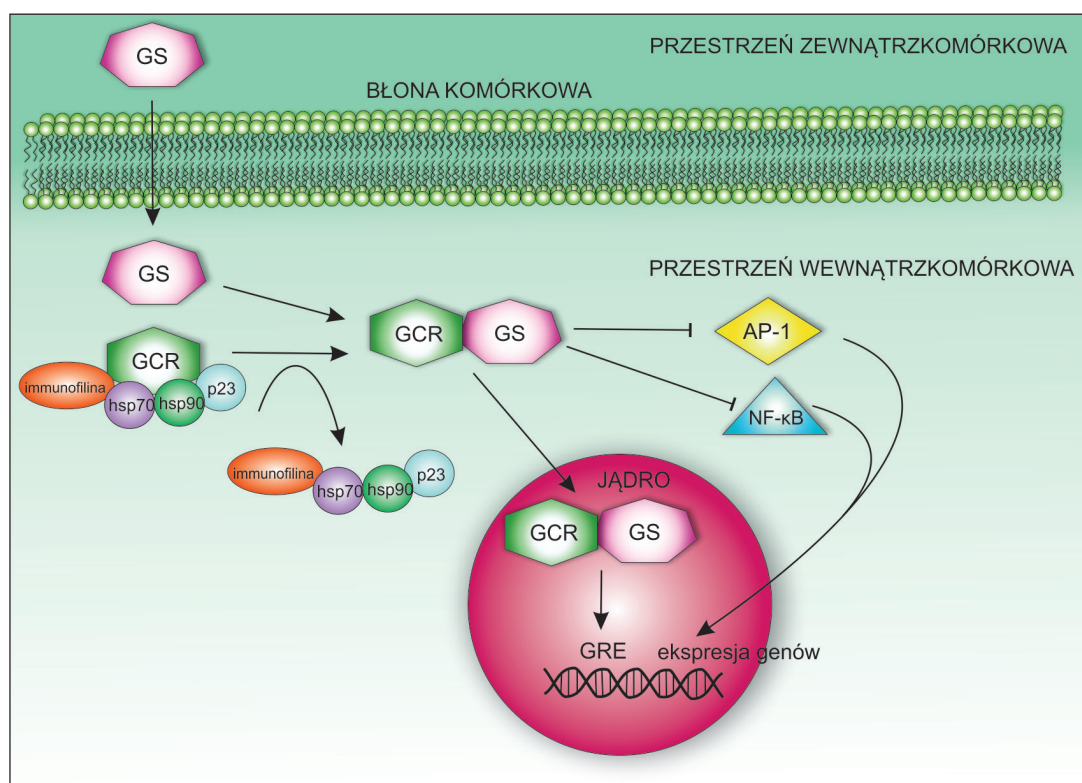


Fig. 3. Mechanism of action of mycophenolate mofetil. Mycophenolate mofetil (MMF) is metabolised to mycophenolic acid (MPA), which inhibits inosine-5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH). IMPDH catalyzes the oxidation of inosine-5'-monophosphate (IMP) to xanthosine-5'-monophosphate (XMP), while reducing the nicotinamide-adenine-dinucleotide (NAD⁺). XMP is converted into guanosine monophosphate (GMP), which in turn is converted into guanosine-5'-triphosphate (GTP), necessary for DNA synthesis and cell proliferation. H⁺ – proton, H₂O – water, NADH – reduced form of NAD



Ryc. 4. Mechanizm działania glikokortykosteroidów. Niezwiązane steroidy (GS) pasywnie dyfundują przez błonę komórkową do wnętrza komórek, gdzie wiążą się z cytozolowym receptorem dla GS (GCR). Zapoczątkowuje to zmiany konformacji przestrzennej receptora i oddysocjowanie białek opiekuńczych p23, hsp90, hsp70 i immunofilin, które były wcześniej związane z GCR. Kompleks GS-GCR zostaje aktywowany i przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie działa jako czynnik transkrypcyjny i bezpośrednio oddziałuje z sekwencjami zwanymi elementami odpowiadającymi na GS (GRE). Kompleks GS-GCR może oddziaływać z aktywowanymi czynnikami transkrypcyjnymi. GS hamują działanie prozapalnych czynników transkrypcyjnych, takich jak białko aktywatorowe 1 (AP-1) i jądrowy czynnik transkrypcyjny κ aktywowanych komórek B (NF- κ B), regulujących ekspresję genów

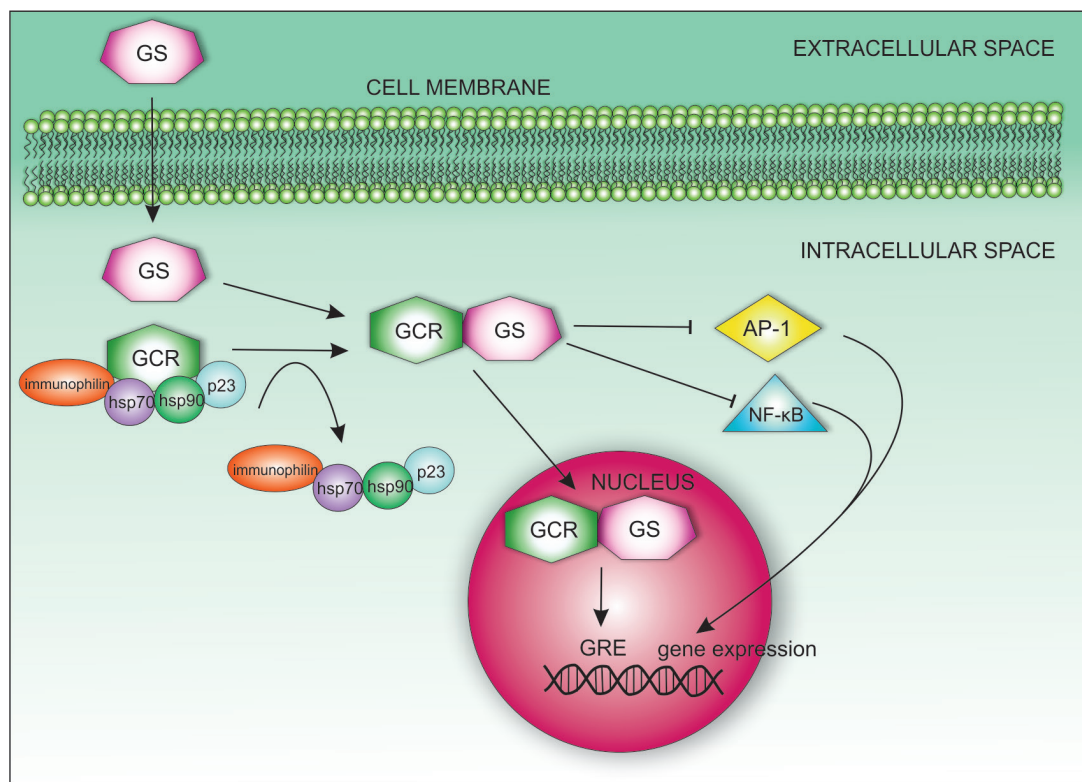


Fig. 4. Mechanism of action of glucocorticosteroids. Unbound glucocorticosteroids (GS) passively diffuse across the cell membrane into the interior of cells where they bind to the cytosolic glucocorticoid receptor (GCR). This initiates changes in the spatial conformation of the receptor and the dissociation of the chaperone proteins p23, hsp90, hsp70 and immunophilins that were previously associated with the GCR. The GS-GCR complex becomes activated and travels to the nucleus where it acts as a transcription factor and directly interacts with sequences called glucocorticoid response elements (GREs). The GS-GCR complex may interact with activated transcription factors. GS inhibit the action of pro-inflammatory transcription factors such as activator protein-1 (AP-1) and nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) regulating gene expression

poprzez oddziaływanie kompleksu GS-GCR z aktywowanymi czynnikami transkrypcyjnymi, bez konieczności wiązania się z GRE. Wykazano, że GS hamują działanie prozapalnych czynników transkrypcyjnych, takich jak białko aktywatorowe 1 (AP-1, ang. *activator protein-1*) i jądrowy czynnik transkrypcyjny κ aktywowanych komórek B (ang. *nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells*), regulujących ekspresję genów kodujących wiele białek zapalnych, do których należą cytokiny (rycina 4) (Barnes i Adcock, 2003).

W ostatnich latach potwierdzono istnienie receptorów glikokortykosteroidowych związanych z błoną (mGCR, ang. *membrane-bound glucocorticoid receptor*). Sugeruje się, że mGCR jest wariantem GCR, który powstaje w wyniku alternatywnego splicingu, zmiany promotora lub obróbki potranslacyjnej (Bartholome i wsp., 2004). Jedną z hipotez, która mogłaby wyjaśnić niegenomowe efekty GS w komórkach układu odpornościowego, zakłada specyficzne działanie GS, w którym pośredniczy mGCR. Dostępna literatura dostarcza dowodów na to, że GS mogą wiązać się z mGCR, który jest sprzężony z białkiem G i wpływać na zależny od niego wewnątrzkomórkowy szlak sygnałowy, z uwzględnieniem kinazy białkowej A (PKA, ang. *protein kinase A*), kinazy białkowej C (PKC, ang. *protein kinase C*), czy cyklicznego adenozyonmonofosforanu (cAMP, ang. *cyclic adenosine monophosphate*) (Buttgereit i Scheffold, 2002; Tasker i wsp., 2006).

Wykazano również, że GS mogą wpływać na właściwości błony komórkowej i mitochondrialnej. Dowiedziono, że GS podawane w wysokich stężeniach interkalują do błon, zmieniając tym samym ich właściwości fizykochemiczne i aktywność białek błonowych, co w konsekwencji wpływa na przepuszczalność błony komórkowej (Stahn i wsp., 2007). W wyniku oddziaływania GS z błoną komórek układu odpornościowego następuje redukcja przepływu przez nią jonów sodowych i wapniowych, co przyczynia się do szybkiej immunosupresji, a następnie do zmniejszenia procesu zapalnego. Ponadto stwierdzono, że metyloprednizolon zwiększa przepuszczalność mitochondriów dla protonów, co prowadzi do zmniejszenia dostępności adenozynotrifosforanu (ATP, ang. *adenosine triphosphate*) (Buttgereit i Scheffold, 2002).

Rapamycyna

Rapamycyna, znana również jako sirolimus, jest naturalnym antybiotykiem makrolidowym. Została ona po raz pierwszy wyizolowana w 1975 r. z promieniowca *Streptomyces hygroscopicus*, pochodzącego z próbki gleby z Wyspy Wielkanocnej (znanej również jako Rapa Nui). Początkowo RAPA została uznana za substancję o właściwościach przeciwgrzybiczych, jednakże w toku kolejnych badań poznano jej właściwości antyproliferacyjne, antynowotworowe i immunosupresyjne (Law, 2005; Martel i wsp., 1977; Sehgal i wsp., 1975). Sirolimus wprowadzono do transplantologii w 1999 r. (Danovitch, 2007).

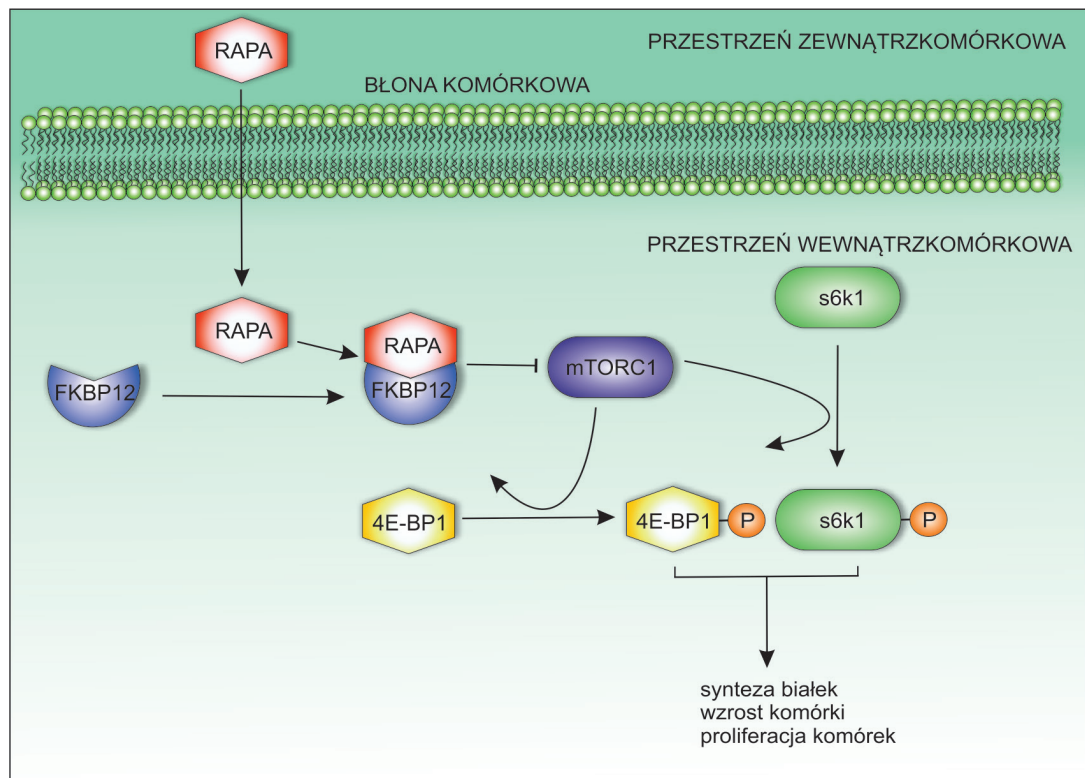
Podobnie jak CsA i FK506, RAPA należy do grupy leków oddziałujących z immunofilinami, lecz jej

mechanizm działania jest odmienny. W przeciwieństwie do CsA i FK506 rapamycyna nie hamuje zależnej od wapnia i CaN aktywacji transkrypcyjnej genów dla cytokin w komórkach T (Gummert i wsp., 1999). Sirolimus należy do inhibitorów kinazy mTOR – kluczowego enzymu zaangażowanego w procesie regulacji cyklu komórkowego (Law, 2005). Rapamycyna prowadzi do zahamowania proliferacji limfocytów T i B, zależnego od zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1. Podobnie jak FK506, RAPA wiąże się z cytoplazmatycznym białkiem regulatorowym – FKBP12. Powstały kompleks FKBP12-RAPA łączy się z tzw. domeną wiążącą FKBP12-RAPA (FRB, ang. *FKBP12-rapamycin binding domain*) kinazy mTOR, blokując w ten sposób wiązanie z jej substratami. Szlak mTOR składa się z dwóch odrębnych kompleksów białkowych – kompleksu 1 kinazy mTOR (mTORC1, ang. *mammalian target of rapamycin complex 1*) i kompleksu 2 kinazy mTOR (mTORC2, ang. *mammalian target of rapamycin complex 2*). Należy zauważyć, że RAPA hamuje aktywność tylko kompleksu mTORC1 poprzez jego autofosforylację i dysocjację. Powoduje to w efekcie wstrzymanie fosforylacji kinazy rybosomalnej S6 (S6K1, ang. *ribosomal protein S6 kinase 1*) i białka wiążącego eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E (4E-BP1, ang. *eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1*), uniemożliwiając tym samym syntezę białek niezbędnych do wzrostu i proliferacji komórek (rycina 5). Ponadto RAPA hamuje niektóre szlaki stymulacji limfocytów T i B, które są odporne na działanie CsA (Kay i wsp., 1991; Law, 2005; Yang i wsp., 2014).

Wpływ leków immunosupresyjnych na gonadę męską

Cyklosporyna A

Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych i u człowieka wskazują, że CsA wywiera niekorzystny wpływ na gonadę męską, powodując zmiany w osi podwzgórze–przysadka–gonada. Rozpoznaje się nieprawidłowości zarówno w tkance śródmiąższowej jąder, jak i w kanalikach nasiennych, a także wykazuje się zaburzenie równowagi pro- i antyoksydacyjnej gonady (Chen i wsp., 2013; Masuda i wsp., 2003; Seethalakshmi i wsp., 1987; Srinivas i wsp., 1998; Tauchmanová i wsp., 2004; Türk i wsp., 2007). Wielu autorów dowodzi, że CsA przyczynia się do zależnego od dawki spadku masy ciała i gonady męskiej u szczurów (Chen i wsp., 2013; Seethalakshmi i wsp., 1987). Lek ten w dawce 10, 15, 20, 25 i 40 mg/kg masy ciała podawanej podskórnie lub doustnie powodował istotny spadek masy jąder (Chen i wsp., 2013; Seethalakshmi i wsp., 1987; Türk i wsp., 2010). Zmiany w tkance śródmiąższowej jąder manifestowały się jej zwłóknieniem, przekrwieniem naczyń włosowatych i obrzękiem oraz zaburzeniami w funkcjonowaniu komórek Leydiga zaangażowanych w steroidogenezę (Cavallini i wsp., 1990; Chen i wsp., 2013; Seethalakshmi



Ryc. 5. Mechanizm działania rapamycyny. Rapamycyna (RAPA) po wnikięciu do komórki wiąże się z białkiem wiążącym takrolimus 12 (FKBP12). Powstały kompleks Rapa-FKBP12 łączy się z kompleksem mTORC1, hamując jego aktywność. Powoduje to w efekcie wstrzymanie fosforylacji kinazy rybosomalnej S6 (S6K1) i białka wiążącego eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E (4E-BP1), uniemożliwiając tym samym syntezę białek niezbędnych do wzrostu i proliferacji komórek

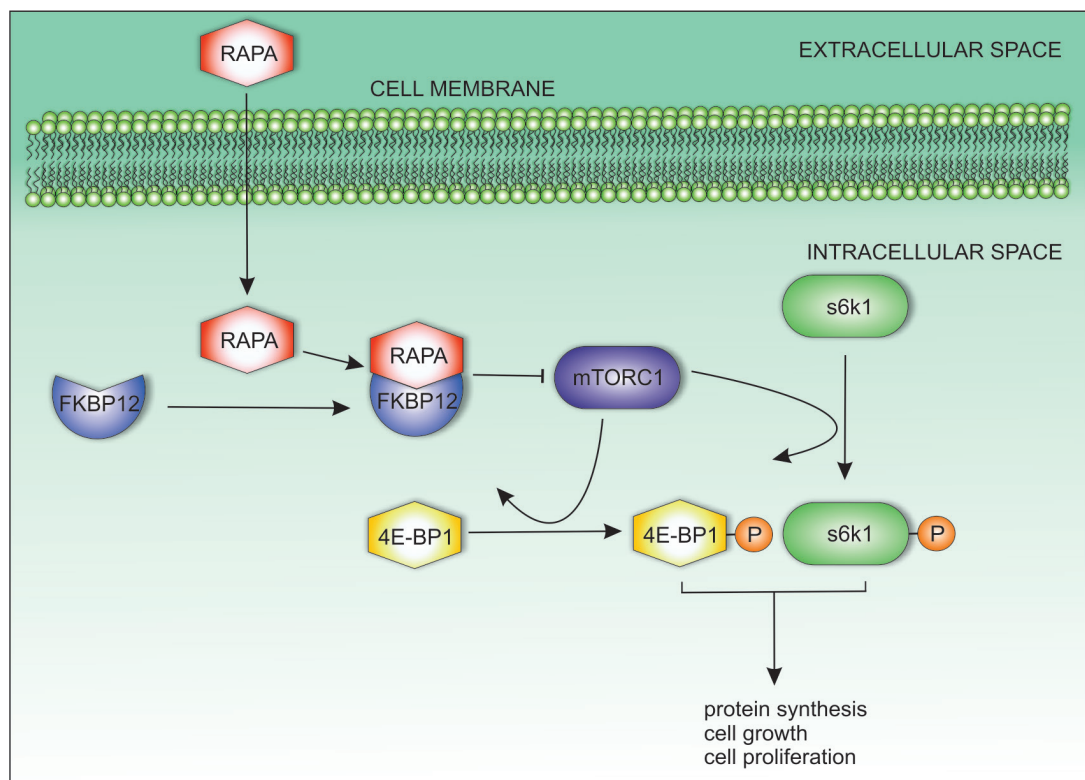


Fig. 5. Mechanism of action of rapamycin. Rapamycin (RAPA), after entering the cell, binds to the tacrolimus binding protein 12 (FKBP12). Next the Rapa-FKBP12 complex binds to the mTORC1 complex, inhibiting its activity. In effect phosphorylation ribosomal protein S6 kinase 1 (S6K1) and eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (4E-BP1) is inhibited and in consequence synthesis of proteins necessary for cell growth and proliferation is not possible

i wsp., 1987). Cyklosporyna A w dawce 20 mg/kg masy ciała indukowała znaczny spadek średniej objętości komórek Leydiga, najprawdopodobniej wskutek zmniejszenia liczby ich mitochondriów i wielkości siateczki śródplazmatycznej gładkiej, uczestniczących w biosyntezie testosteronu. Co ciekawe, 2 tygodnie po zaprzestaniu podawania CsA komórki Leydiga odzyskiwały swoją prawidłową strukturę (*Cavallini i wsp.*, 1990; *Masuda i wsp.*, 2003). W przypadku podawania CsA w dawce 40 mg/kg masy ciała zaobserwowano również nieprawidłowości kanalików nasiennych u szczurów. W nabłonku plemnikotwórczym stwierdzono nieprawidłowy rozwój spermatyd oraz liczne ciała resztkowe, najprawdopodobniej będące konsekwencją upośledzonej aktywności fagocytarnej komórek Sertolego (*Masuda i wsp.*, 2003). Z kolei *Chen i wsp.* (2013) wykazali, że u szczurów poddanych jednostronnej nefrektomii, którym podawano CsA w dawce 25 mg/kg masy ciała, obok zmian w tkance śródmiąższowej jąder zaobserwowano atrofię kanalików nasiennych, a także utratę nasienia i plemników. W innych badaniach zaobserwowano zmniejszenie liczby plemników (*Seethalakshmi i wsp.*, 1987) (tabela 1).

Należy podkreślić, że niewiele jest doniesień odnoszących się do wpływu CsA na ludzką gonadę męską. Wykazano jedynie, że podawanie CsA u pacjentów po transplantacji nerek było skorelowane z niskim poziomem testosteronu (*Tauchmanová i wsp.*, 2004).

Takrolimus

Przeprowadzone badania wskazują na niekorzystny wpływ FK506 na gonadę męską, w tym na oś podwzgórze–przysadka–gonada. Pomimo że lek ten wykazuje 50–100-krotnie silniejsze działanie niż CsA, nieprawidłowości obserwowane w gonadzie męskiej są mniej nasilone w porównaniu z CsA czy RAPA (*Chen i wsp.*, 2013). Wpływ FK506 na spadek masy jąder jest niejednoznaczny. Jedni autorzy stwierdzają ten spadek u szczurów, którym podawano FK506 w dawce 1 mg/kg masy ciała, natomiast inni nie wykazują istotnego spadku masy jąder u zwierząt otrzymujących FK506 zarówno w dawce 1 mg/kg, jak i 3 mg/kg masy ciała, a także u szczurów poddanych jednostronnej nefrektomii (*Caneguim i wsp.*, 2009; *Chen i wsp.*, 2013; *Hisatomi i wsp.*, 1996).

Ujawniono także niejednoznaczny wpływ FK506 na kanaliki nasienne szczura. Stwierdzono, że FK506, podawany w dawce 1 mg/kg masy ciała przez 30 i 60 dni, indukował zmiany w tkance okołokanalikowej, która niekiedy wykazywała liczne pofałdowania. Ujawniono także nieprawidłowości w histoarchitekturze nabłonka plemnikotwórczego (*Caneguim i wsp.*, 2009). Zaobserwowano nieregularnie zarysowane kanaliki nasienne, niekiedy z nieprawidłową organizacją nabłonka plemnikotwórczego, zmniejszoną liczbą spermatocytów i spermatyd oraz obecnością licznych komórek germinalnych w ich świetle. W obrębie nabłonka plemnikotwórczego zaobserwowano liczne puste przestrzenie. Kanaliki wykazywały cechy atrofii. Zmiany te były przyczyną znaczącego zmniejszenia

całkowitej powierzchni kanalików nasiennych, co przekładało się na spadek masy jąder. W zmienionych kanalikach nasiennych jądra komórek Sertolego charakteryzowały się nieregularnym kształtem i silnie zabarwioną chromatyną, a w sąsiedztwie tych komórek często obserwowano przestrzenie wakuolarne. Ponadto w różnych stadiach cyklu nabłonka plemnikotwórczego jądro komórki Sertolego zajmowało nieprawidłową pozycję, przemieszczało się z jej części bazalnej do apikalnej (*Caneguim i wsp.*, 2009). Z kolei u szczurów poddanych jednostronnej nefrektomii, które otrzymywały FK506 w dawce 0,8 mg/kg masy ciała przez 8 tygodni, zaobserwowano łagodne zmiany strukturalne kanalików nasiennych, niewielki spadek liczby plemników i poziomu testosteronu (*Chen i wsp.*, 2013) (tabela 1). Co ciekawe, wykazano, że liczba plemników szczurów i ich ruchliwość mogą powrócić do poziomu kontrolnego po odstawieniu leku (*Hisatomi i wsp.*, 1996). Warto wspomnieć, że u pacjentów po transplantacji nerek, którym podawano FK506, ujawniono niski poziom testosteronu (*Tauchmanová i wsp.*, 2004).

Nie wyklucza się także pozytywnego wpływu FK506 na gonadę męską. U szczurów lek ten zapobiegał toksycznemu oddziaływaniu kadmu na gonadę (*Martin i wsp.*, 2007). Z kolei u mężczyzn po przeszczepie nerki, w przypadku zastosowania konwersji leczenia z RAPA na FK506 w dawce 5 mg/kg masy ciała, odnotowano znaczną poprawę parametrów seminologicznych i przywrócenie płodności (*Bererhi i wsp.*, 2003).

Mykofenolan mofetylu

Istnieje niewiele doniesień dotyczących wpływu MMF na gonadę męską. Przeprowadzone badania wskazują jednak, że MMF zarówno w dawce 100 mg/kg masy ciała (podany doustnie), jak i 150 mg/kg masy ciała (podany dootrzewnowo) nie wywierał znaczącego wpływu na włączanie tymidyny do DNA spermatogoniów i spermatocytów u myszy (*Eugui i wsp.*, 1991). W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych dotyczących nieprawidłowości seminologicznych, które mogłyby być spowodowane podawaniem MMF. Sugeruje się, że MMF nie zaburza procesu spermatogenezy, jednak może niekorzystnie wpływać na płodność męską poprzez działanie mutagenne i teratogenne. U mężczyzn, którzy planują potomstwo, konieczna jest konwersja leczenia minimum 3 miesiące przed planowanym zapłodnieniem (*Semet i wsp.*, 2017).

Glikokortykosteroidy

Glikokortykosteroidy są często stosowane w celu złagodzenia bólu o różnym stopniu nasilenia i leczenia objawów u mężczyzn ze zdiagnozowanym nowotworem. Wykazano, że GS hamują wydzielanie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH, ang. *adrenocorticotrophic hormone*), co w konsekwencji powoduje m.in. obniżenie poziomu androgenów nadnerczy, czynników transkrypcyjnych i cytokin (*De Santis i Saad*, 2016). Przeprowadzone badania potwierdzają, że prednizon i prednizolon mogą upośledzać oś podwzgórze–przysadka–gonada.

Prednizon podawany zarówno u psów w dawce 2,2 mg/kg masy ciała, jak i u mężczyzn z reumatoidalnym zapaleniem stawów w dawce 5–10 mg powodował znaczące obniżenie koncentracji testosteronu (*Kemppainen i wsp., 1983; Martens i wsp., 1994*).

Wybrane doniesienia wskazują na korzystne efekty wywierane przez GS na jądra w przypadku występowania niektórych schorzeń (*Gülmez i wsp., 1987; Kanzawa i wsp., 2017*). *Milardi i wsp. (2017)* wykazali, że u pacjentów z oligozoospermia, którzy otrzymywali prednizon w dawce 5, 12,5 i 25 mg, nie stwierdzono żadnych istotnych działań niepożądanych. Autorzy ci sugerują, że leczenie prednizolem może wykazywać działanie w gonadzie męskiej poprzez: 1) zmniejszenie stresu oksydacyjnego, 2) zahamowanie uwalniania cytokin i 3) redukcję obrzęku i naciekania leukocytów. W ten sposób steryd ten może przyczynić się do poprawy spermatogenezy i jakości nasienia (*Milardi i wsp., 2017*). Z kolei u pacjenta ze stwierdzonym limfocytowym zapaleniem naczyń jądra, u którego podjęto terapię z GS i azatiopryną, prednizon szybko złagodził objawy miejscowe i ogólnoustrojowe (*Kanzawa i wsp., 2017*). U szczurów GS powodują zwiększenie względnej wagi jąder i zmniejszają uszkodzenia komórek nabłonka plemnikotwórczego u zwierząt z jednostronnym skrzytem jądra (*Gülmez i wsp., 1987; Hodges i Vernikos, 1958*).

Rapamycyna

Ogólne upośledzenie rozwoju jąder i spermatogenezy związane z podawaniem RAPA wykazuje analogię do nieprawidłowości powodowanych przez CsA, ale jest ono znacznie poważniejsze niż w przypadku FK506 (*Chen i wsp., 2013; Rovira i wsp., 2012*). Stwierdza się, że RAPA powoduje obniżenie stężenia testosteronu (*Chen i wsp., 2013; Huyghe i wsp., 2007; Rovira i wsp., 2012*). Wskazuje się jednak, że u zwierząt zahamowanie spermatogenezy i bezpłodność spowodowane przez RAPA są potencjalnie odwracalne (*Rovira i wsp., 2012*).

U szczurów poddanych jednostronnej nefrektomii, które otrzymywały RAPA w dawce 0,2 mg/kg masy ciała, a także u szczurów otrzymujących ten lek dootrzewnowo w dawce 1 mg/kg masy ciała 3 razy w tygodniu przez 4, 8 i 12 tygodni zanotowano wyraźny spadek masy jąder (*Chen i wsp., 2013; Rovira i wsp., 2012*). Obserwowano także zwłóknienie i obrzęk śródmiąższowy gonady, zahamowanie spermatogenezy, różny stopień atrofii kanalików nasiennych, zmniejszoną liczbę spermatocytów, spermatyd i plemników (*Chen i wsp., 2013; Huyghe i wsp., 2007; Rovira i wsp., 2012*). Podobne wyniki uzyskano w przypadku zastosowania większych dawek RAPA. *Liu i wsp. (2017)* wykazali, że u szczurów, które otrzymywały codziennie dootrzewnowo RAPA w dawkach 2, 4 i 6 mg/kg masy ciała przez 4 tygodnie, średnice kanalików nasiennych były znacznie zmniejszone i miała miejsce rozległa ich atrofia z wakuolizacją nabłonka plemnikotwórczego. Dodatkowo zaobserwowano hiperplazję komórek Leydiga.

W przypadku zastosowania konwersji leczenia z CsA na RAPA obserwowano podobne zmiany w gonadzie męskiej jak przy wykorzystaniu monoterapii z RAPA. U szczurów, u których wcześniej wykonywano transplantację nerki i zastosowano opisaną konwersję leczenia, stwierdzono znaczny spadek koncentracji testosteronu i masy jąder (*He i wsp., 2013*). Ponadto wykazano także obrzęk śródmiąższowy i przekrwienie naczyń. Pomimo braku reaktywnego rozrostu komórek Leydiga zaobserwowano w nich powiększenie mitochondriów i rozdęcia siateczki śródplazmatycznej gładkiej. Inne nieprawidłowości dotyczyły zmniejszenia średnicy kanalików nasiennych, zmian w obrębie błony własnej tych kanalików, dezorganizacji pokładów komórek nabłonka plemnikotwórczego, nieprawidłowości ultrastrukturalnych komórek Sertolego i w konsekwencji utraty plemników (*He i wsp., 2013*).

Wpływ leków immunosupresyjnych na najądrze

Cyklosporyna A

W dostępnym piśmiennictwie wciąż jest niewiele doniesień na temat wpływu CsA na najądrze. Nieliczne badania przeprowadzone na zwierzętach wykazują, że CsA przyczynia się do zmniejszenia masy najądrzy (*Seethalakshmi i wsp., 1987, 1990; Türk i wsp., 2010*). Jednakże uzyskane dane są niejednoznaczne. *Türk i wsp. (2010)* stwierdzili, że podawanie CsA w dawce 15 mg/kg masy ciała przez 21 dni powodowało jedynie nieznaczne zmniejszenie masy najądrzy, natomiast inni autorzy wykazali, że CsA w dawce 1 i 2 mg/kg masy ciała podawana przez 45 dni, a także w dawce 10, 20 i 40 mg/kg masy ciała podawana przez 14 dni była przyczyną istotnego spadku masy najądrzy (*Seethalakshmi i wsp., 1987, 1990*).

Niestety brak jest doniesień odnoszących się do zmian morfologicznych najądrza w przypadku zastosowania terapii z CsA. Opisane zaburzenia dotyczą jedynie wpływu CsA (w dawce 15 i 40 mg/kg masy ciała) na komponenty komórkowe obecne w przewodzie najądrza, które stanowiły plemniki i liczne ich konglomeraty definiowane przez niektórych badaczy jako ciała resztkowe. Niekiedy w ich obrębie stwierdzano nieprawidłowości strukturalne witki plemnika. Zaobserwowano, że CsA spowodowała obniżenie koncentracji plemników w najądrzu (mln/g tkanki), ich ruchliwości i zwiększenie nieprawidłowości strukturalnych ich główki i witki (*Masuda i wsp., 2003; Türk i wsp., 2010*).

Takrolimus

Podobnie jak w przypadku CsA niewiele jest danych odnoszących się do wpływu FK506 na najądrze. Dostępne opracowania ujawniają, że FK506 powoduje zmniejszenie masy najądrzy szczura, nieprawidłowości plemników i spadek koncentracji L-karnityny, będącej istotnym komponentem wydzieliny najądrza, która ma bezpośredni

wpływ na ruchliwość i dojrzewanie plemników (*Caneguim i wsp.*, 2009; *Hisatomi i wsp.*, 1996, 2008). Jedni badacze wykazali, że FK506 w dawce 1, 2 i 3 mg/kg masy ciała spowodował istotny spadek masy najądrzy, natomiast inni autorzy u zwierząt otrzymujących FK506 zarówno w dawce 1 mg, jak i 3 mg/kg masy ciała statystycznej istotności nie stwierdzili (*Caneguim i wsp.*, 2009; *Hisatomi i wsp.*, 1996, 2008). Z kolei nieprawidłowości plemników dotyczyły zależnego od dawki zmniejszenia ich liczby i obecności degenerujących gamet męskich w świetle przewodu najądrza (*Caneguim i wsp.*, 2009; *Hisatomi i wsp.*, 2008).

Rapamycyna, mykofenolan mofetylu i glikokortykosteroidy

Dostępne piśmiennictwo dostarcza bardzo niewiele informacji na temat wpływu RAPA, MMF i GS na najądrze. Wykazano, że u myszy, które otrzymywały dootrzewnowo RAPA co 48 godzin w dawce 10 mg/kg masy ciała przez 3 tygodnie, jądra komórek nabłonka przewodu najądrzy były piknotyczne lub miały cechy apoptotyczne (*Schell i wsp.*, 2016). Z kolei w przypadku MMF nie ma danych dotyczących wpływu tego leku na najądrze. Jedynie *Bozzini i wsp.* (2013) wykazali, że u młodych pacjentów (mediana 25,6 lat), którzy otrzymywali MMF w kombinacji z CsA lub FK506, ujawniono mikrozwapienia najądrza. W przypadku GS dostępne dane ujawniają jedynie ich zastosowanie w celu złagodzenia bólu w trakcie przebiegu stanu zapalnego (m.in. w ostrym zapaleniu najądrzy) (*Moore i wsp.*, 1971).

Wpływ leków immunosupresyjnych na prostatę

Nieliczne badania przeprowadzone na szczurach ujawniły, że CsA powodowała statystycznie istotne zmniejszenie masy prostaty i zmniejszenie światła pęcherzyków, a także redukcję objętości nabłonka i komponentów zrębu (*Freitas i wsp.*, 2012; *Seethalakshmi i wsp.*, 1987, 1990; *Türk i wsp.*, 2010). U szczurów, które otrzymywały CsA w dawce 15 mg/kg masy ciała przez sondę żołądkową przez 56 dni, w prostatie brzusznej na kilku obszarach nabłonek wykazywał wyraźną atrofię, której towarzyszyło zmniejszenie komórkowej zdolności wydzielniczej (zmniejszenie wielkości siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i aparatu Golgiego) (*Freitas i wsp.*, 2012).

Niestety w dostępnym piśmiennictwie jest niewiele informacji dotyczących wpływu monoterapii z wykorzystaniem FK506, RAPA, MMF i GS na prostatę. U zwierząt otrzymujących FK506 zarówno w dawce 1 mg, jak i 3 mg/kg masy ciała stwierdzono istotny spadek masy prostaty (*Hisatomi i wsp.*, 2008). Z kolei u pacjentów, u których wykonywano transplantację i podawano RAPA, stwierdzono znaczący spadek koncentracji swoistego antygeny sterczowego (PSA, ang. *prostate-specific antigen*) (*Chamie i wsp.*, 2008). W przypadku MMF wykazano,

że powoduje on zmniejszenie ekspresji genu 4 związanego z prostatą (*PAGE4*, ang. *prostate-associated gene 4*), który może odgrywać istotną rolę w chorobach prostaty człowieka. Stwierdzono, że gen ten ulega silnej ekspresji w gonadzie i gruczole krokowym płodu, a wyciszenie jego ekspresji indukuje apoptozę (*Dun i wsp.*, 2014). Dostępne dane dotyczące wpływu GS na prostatę skupiają się na ich zastosowaniu w małych dawkach w leczeniu raka gruczołu krokowego. Wykazano, że u pacjentów onkologicznych prednizon i prednizolon wykazują działanie przeciwzapalne, a także powodują zmniejszenie bólu i obniżenie poziomu PSA (*De Santis i Saad*, 2016).

Wyniki badań autorskich (*Grabowska i wsp.*, 2015, 2016, 2020) dowodzą, że leki immunosupresyjne podawane w różnych kombinacjach przez 6 miesięcy wywierają niekorzystny wpływ na prostatę szczura. Jednak występowanie poszczególnych zmian było zależne od zastosowanego schematu leczniczego. U szczurów, które otrzymywały CsA (5 mg/kg masy ciała) w kombinacji z prednizonem (4 mg/kg masy ciała) i RAPA (0,5 mg/kg masy ciała), w nabłonku gruczolowym prostaty obserwowano atrofię, zmniejszenie organelli wydzielniczych i pęcherzyków lizosomalnych, a także liczne wakuole wewnątrzkomórkowe. Z kolei u zwierząt, które otrzymywały MMF (20 mg/kg masy ciała) w kombinacji z RAPA (0,5 mg/kg masy ciała) i prednizonem (4 mg/kg masy ciała), stwierdzono hiperplazję nabłonka gruczolowego z naciekiem komórek zapalnych. Protokoły immunosupresyjne, które zawierały inhibitory kalcyneuryny (CsA – 5 mg/kg masy ciała lub FK506 – 4 mg/kg masy ciała) w kombinacji z MMF (20 mg/kg masy ciała) i prednizonem (4 mg/kg masy ciała), spowodowały atypową ogniskową hiperplazję nabłonka gruczolowego prostaty szczura. Ogniskowa hiperplazja manifestowała się przez proliferację luminalnych komórek nabłonkowych, tworzących brodawkowate wpuklenia do światła pęcherzyków. Nietypowe komórki często charakteryzowały się zwiększonym stosunkiem jądra do cytoplazmy i hiperchromatycznym jądrem. Na niektórych obszarach nabłonek gruczolowy tworzył wiele warstw, gdzie następowała wyraźna stratyfikacja jąder komórkowych. Ponadto analiza ultrastrukturalna ujawniała zmiany w postaci pogrubionej błony jądrowej, prominentnego jąderka w jądrze i rozdętych cystern siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i aparatu Golgiego. Co więcej, stwierdzono, że średnia liczba komórek tucznych (CD117-pozytywnych) w porównaniu z grupą kontrolną była istotnie większa, co mogło być związane z zainicjowanym procesem zapalnym. Należy podkreślić, że u zwierząt, które otrzymywały inhibitory CaN w kombinacji z MMF i prednizonem przez 3 miesiące, a następnie przez kolejne 3 miesiące otrzymywały tylko RAPA, atypowa ogniskowa hiperplazja nabłonka gruczolowego występowała rzadziej, a zmiany ultrastrukturalne i średnia liczba mastocytów były mniejsze w porównaniu z grupami, w których nie nastąpiła konwersja leczenia (*Grabowska i wsp.*, 2015, 2016, 2020).

Podsumowanie

Opisane badania doświadczalne przeprowadzone na zwierzętach wskazują, że leki immunosupresyjne mają niezaprzeczalny niekorzystny wpływ na męski układ płciowy, co niewątpliwie może przyczynić się do obniżenia płodności męskiej. Niestety większość dostępnych opracowań dotyczy wpływu pojedynczych leków immunosupresyjnych na męski układ płciowy. Należy jednak podkreślić, że u pacjentów po transplantacji narządów monoterapię stosuje się niezmiernie rzadko. W praktyce klinicznej leczenie najczęściej oparte jest na schematach 3-lekowych, rzadziej 2-lekowych. W związku z tym istnieje uzasadniona potrzeba badań w celu określenia wpływu schematów wielolekowych na płodność męską. Wydaje się, że u pacjentów planujących ojcostwo należałoby uwzględnić pewne modyfikacje protokołów leczenia immunosupresyjnego (np. wskazana byłaby konwersja leczenia), które zwiększyłyby szanse na uzyskanie koncepcji, a w konsekwencji potomstwa. Nie można pominąć faktu, że zagadnienie to jest bardzo złożone, ponieważ dobór odpowiedniej terapii immunosupresyjnej wymaga uwzględnienia szeregu czynników takich jak wiek pacjenta czy też choroby współistniejące. Należy jednak podkreślić, że konwersja leczenia nie zawsze jest zalecana, ważniejsze jest bowiem zachowanie prawidłowej funkcji przeszczepu, która bezpośrednio przekłada się na przeżycie pacjenta, niż poprawa jego zdolności reprodukcyjnych.

Finansowanie

Badania statutowe nr WNoZ-322-03/S/16/2020.

Piśmiennictwo

Allison A.C., Eugui E.M.: Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplant*. 1996, 10, 77–84. PMID: 8680053.

Barnes P.J.: How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br J Pharmacol*. 2006, 148, 245–254. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706736. PMID: 16604091.

Barnes P.J., Adcock I.M.: How do corticosteroids work in asthma? *Ann Intern Med*. 2003, 139, 359–370. PMID: 12965945. DOI: 10.7326/0003-4819-139-5_part_1-200309020-00012.

Bartholome B., Spies C.M., Gaber T., Schuchmann S., Berki T., Kunkel D. i wsp.: Membrane glucocorticoid receptors (mGCR) are expressed in normal human peripheral blood mononuclear cells and up-regulated after in vitro stimulation and in patients with rheumatoid arthritis. *FASEB J*. 2004, 18, 70–80. DOI: 10.1096/fj.03-0328com. PMID: 14718388.

Berheri L., Flamant M., Martinez F., Karras A., Thervet E., Legendre C.: Rapamycin-induced oligospermia. *Transplantation*. 2003, 76, 885–886. DOI: 10.1097/01.TP.0000079830.03841.9E. PMID: 14501876.

Borel J.F., Feurer C., Gubler H.U., Stähelin H.: Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions*. 1994, 43, 179–186. DOI: 10.1007/BF01986686. PMID: 7725970.

Bozzini G., Lunelli L., Berlingheri M., Groppali E., Carmignani L.: Epididymis microlithiasis and semen abnormalities in young adult kidney transplant

recipients. *Andrologia*. 2013, 45, 357–360. DOI: 10.1111/and.12036. PMID: 23131006.

Buttgereit F., Scheffold A.: Rapid glucocorticoid effects on immune cells. *Steroids*. 2002, 67, 529–534. DOI: 10.1016/S0039-128X(01)00171-4. PMID: 11960631.

Caneguim B.H., Cerri P.S., Spolidório L.C., Miraglia S.M., Sasso-Cerri E.: Structural alterations in the seminiferous tubules of rats treated with immunosuppressor tacrolimus. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009, 7, 19. DOI: 10.1186/1477-7827-7-19. PMCID: PMC2660339.

Cavallini L., Malendowicz L.K., Mazzocchi G., Belloni A.S., Nussdorfer G.G.: Effects of prolonged cyclosporine-A treatment on the Leydig cells of the rat testis. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1990, 58, 215–220. DOI: 10.1007/BF02890074. PMID: 1970683.

Chamie K., Ghosh P.M., Koppie T.M., Romero V., Troppmann C., de Vere White R.W.: The effect of sirolimus on prostate-specific antigen (PSA) levels in male renal transplant recipients without prostate cancer. *Am J Transplant*. 2008, 8, 2668–2673. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02430.x. PMID: 18853950.

Chen Y., Zhang Z., Lin Y., Lin H., Li M., Nie P. i wsp.: Long-term impact of immunosuppressants at therapeutic doses on male reproductive system in unilateral nephrectomized rats: a comparative study. *Biomed Res Int*. 2013, 2013: DOI: 10.1155/2013/690382. ID: 690382. PMCID: PMC3727097.

Danovitch G.M.: Leki i protokoły immunosupresyjne w przeszczepianiu nerek. W: *Podręcznik transplantacji nerek*. Red. G.M. Danovitch. Wyd. Czelej, Warszawa 2007, 49–69.

de Mattos A.M., Olyaei A.J., Bennett W.M.: Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: long-term consequences and challenges for the future. *Am J Kidney Dis*. 2000, 35, 333–346. DOI: 10.1016/S0272-6386(00)70348-9. PMID: 10676738.

De Santis M., Saad F.: Practical Guidance on the Role of Corticosteroids in the Treatment of Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Urology*. 2016, 96, 156–164. DOI: 10.1016/j.urology.2016.02.010. PMID: 26905032.

Dun B., Sharma A., Xu H., Liu H., Bai S., Zeng L. i wsp.: Transcriptomic changes induced by mycophenolic acid in gastric cancer cells. *Am J Transl Res*. 2014, 6, 28–42. PMCID: PMC3853422. PMID: 24349619.

Eugui E.M., Almquist S.J., Muller C.D., Allison A.C.: Lymphocyte-selective cytostatic and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in vitro: role of deoxyguanosine nucleotide depletion. *Scand J Immunol*. 1991, 33, 161–173. DOI: 10.1111/j.1365-3083.1991.tb03746.x. PMID: 1826793.

Freitas K.M., Monteiro J.C., Gomes M.L., Taboga S.R., Dolder H.: Cyclosporin A causes impairment of the ventral prostate tissue structure of Wistar rats. *Hum Exp Toxicol*. 2012, 31, 1262–1270. DOI: 10.1177/0960327112444937. PMID: 22549095.

Goto T., Kino T., Hatanaka H., Nishiyama M., Okuhara M., Kohsaka M. i wsp.: Discovery of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant. Proc*. 1987, 19, 4–8. PMID: 2445072.

Grabowska M., Kędzierska K., Michalek K., Stuczankowska-Głębowska S., Grabowski M., Piasecka M. i wsp.: Effects of an immunosuppressive treatment on the rat prostate. *Drug Des Devel Ther*. 2016, 10, 2899–2915. DOI: 10.2147/DDDT.S111695. PMID: 27672312.

Grabowska M., Laszczyńska M., Kędzierska-Kapuzo K., Kram A., Gill K., Piasecka M.: The Effects of Long-Term Immunosuppressive Therapies on the Structure of the Rat Prostate. *Int J Environ Res Public Health*. 2020, 17, 4614. DOI: 10.3390/ijerph17124614. PMID: 32604947.

Grabowska M., Stuczankowska-Głębowska S., Kram A., Teresiński L., Piasecka M., Podhorska-Okołów M. i wsp.: The influence of immunosuppressants on the morphology, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and apoptosis in the rat ventral prostate. *Histol Histopathol*. 2015, 30, 1089–1100. PMID: 25772584.

Gülmez I., Karacagil M., Sade M., Kandemir B.: Effect of testicular torsion on the contralateral testis and prevention of this effect by prednisolone. *Eur Urol*. 1987, 13, 340–343. DOI: 10.1159/000472815. PMID: 3678305.

Gummert J.F., Ikonen T., Morris R.E.: Newer immunosuppressive drugs: a review. *J Am Soc Nephrol*. 1999, 10, 1366–1380. PMID: 10361877.

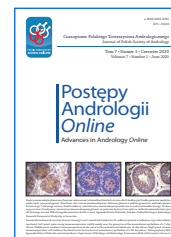
He Z., Qiu J., Li J., Zhao D., Chen G., Chen L.: Long-term effects of conversion from cyclosporine to rapamycin on testicular function and morphology in a rat transplantation model. *Transplant Proc*. 2013, 45, 763–769. DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.03.067. PMID: 23498818.

- Hisatomi A., Fujihira S., Fujimoto Y., Fujii T., Mine Y., Ohara K.: Effect of Prograf (FK506) on spermatogenesis in rats. *Toxicology*. 1996, 109, 75–83. DOI: 10.1016/0300-483x(96)03312-4. PMID: 8658548.
- Hisatomi A., Sakuma S., Fujiwara M., Seki J.: Effect of tacrolimus on the cauda epididymis in rats: analysis of epididymal biochemical markers or antioxidant defense enzymes. *Toxicology*. 2008, 243, 23–30. DOI: 10.1016/j.tox.2007.09.017. PMID: 17988778.
- Hodges Jr., Vernikos J.: A comparison of the pituitary inhibitory effects of prednisone, prednisolone, and hydrocortisone. *Br J Pharmacol Chemother*. 1958, 13, 98–102. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1958.tb00199.x. PMID: 13523144.
- Huyghe E., Zairi A., Nohra J., Kamar N., Plante P., Rostaing L.: Gonadal impact of target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) in male patients: an overview. *Transpl Int*. 2007, 20, 305–311. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2006.00423.x. PMID: 17326771.
- Ismaili N., Garabedian M.J.: Modulation of glucocorticoid receptor function via phosphorylation. *Ann N Y Acad Sci*. 2004, 1024, 86–101. DOI: 10.1196/annals.1321.007. PMID: 15265775.
- Kanzawa Y., Imai Y., Mizuno Y., Nishioka H.: Testicular lymphocytic vasculitis treated with prednisolone and azathioprine. *Mod Rheumatol*. 2017, 27, 705–707. DOI: 10.3109/14397595.2015.1026020. PMID: 25736359.
- Kay J.E., Kromwel L., Doe S.E., Denyer M.: Inhibition of T and B lymphocyte proliferation by rapamycin. *Immunology* 1991, 72, 544–549. PMID: 1709916.
- Kemppainen R.J., Thompson F.N., Lorenz M.D., Munnell J.F., Chakraborty P.K.: Effects of prednisone on thyroid and gonadal endocrine function in dogs. *J Endocrinol*. 1983, 96, 293–302. DOI: 10.1677/joe.0.0960293. PMID: 6827210.
- Kino T., Hatanaka H., Hashimoto M., Nishiyama M., Goto T., Okuhara M. *i wsp.*: FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot (Tokyo)*. 1987, 40, 1249–1255. DOI: 10.7164/antibiotics.40.1249. PMID: 2445721.
- Knoop C., Haverich A., Fischer S.: Immunosuppressive therapy after human lung transplantation. *Eur Respir J*. 2004, 23, 159–171. DOI: 10.1183/09031936.03.00039203. PMID: 14738248.
- Laliberté J., Yee A., Xiong Y., Mitchell B.S.: Effects of guanine nucleotide depletion on cell cycle progression in human T lymphocytes. *Blood*. 1998, 91, 2896–904. PMID: 9531600.
- Law B.K.: Rapamycin: an anti-cancer immunosuppressant? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005, 56, 47–60. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2004.09.009. PMID: 16039868.
- Lim M.A., Kohli J., Bloom R.D.: Immunosuppression for kidney transplantation: where are we now and where are we going? *Transplant Rev (Orlando)*. 2017, 31, 10–17. DOI: 10.1016/j.trre.2016.10.006. PMID: 28340885.
- Liu S., Huang L., Geng Y., He J., Chen X., Xu H. *i wsp.*: Rapamycin inhibits spermatogenesis by changing the autophagy status through suppressing mechanistic target of rapamycin-p70S6 kinase in male rats. *Mol Med Rep*. 2017, 16, 4029–4037. DOI: 10.3892/mmr.2017.7120. PMID: 28765938. PMID: PMC5646984.
- Mahmud N., Klipa D., Ahsan N.: Antibody immunosuppressive therapy in solid-organ transplant. *MAbs*. 2010, 2, 148–156. DOI: 10.4161/mabs.2.2.11159. PMID: 20150766. PMID: PMC2840233.
- Malavaud B., Rostaing L., Rischmann P., Sarramon J.P., Durand D.: High prevalence of erectile dysfunction after renal transplantation. *Transplantation*. 2000, 69, 2121–2124. DOI: 10.1097/00007890-200005270-00027. PMID: 10852609.
- Martel R.R., Klicius J., Galet S.: Inhibition of the immune response by rapamycin, a new antifungal antibiotic. *Can J Physiol Pharmacol*. 1977, 55, 48–51. DOI: 10.1139/y77-007. PMID: 843990.
- Martens H.F., Sheets P.K., Tenover J.S., Dugowson C.E., Bremner W.J., Starkebaum G.: Decreased testosterone levels in men with rheumatoid arthritis: effect of low dose prednisone therapy. *J Rheumatol*. 1994, 21, 1427–1431. PMID: 7983641.
- Martin L.J., Chen H., Liao X., Allayee H., Shih D.M., Lee G.S. *i wsp.*: FK506, a calcineurin inhibitor, prevents cadmium-induced testicular toxicity in mice. *Toxicol Sci*. 2007, 100, 474–485. DOI: 10.1093/toxsci/kfm229. PMID: 17785681.
- Masuda H., Fujihira S., Ueno H., Kagawa M., Katsuoka Y., Mori H.: Ultrastructural study on cytotoxic effects of cyclosporine A in spermiogenesis in rats. *Med Electron Microsc*. 2003, 36, 183–191. DOI: 10.1007/s00795-003-0213-4. PMID: 14505063.
- Matsuda S., Koyasu S.: Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology*. 2000, 47, 119–125. DOI: 10.1016/s0162-3109(00)00192-2. PMID: 10878286.
- McKay D.B., Josephson M.A., Armenti V.T., August P., Coscia L.A., Davis C.L. *i wsp.*: Women's Health Committee of the American Society of Transplantation. Reproduction and transplantation: report on the AST Consensus Conference on Reproductive Issues and Transplantation. *Am J Transplant*. 2005, 5, 1592–1599. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.00969.x. PMID: 15943616.
- Milardi D., Luca G., Grande G., Ghezzi M., Caretta N., Brusco G. *i wsp.*: Prednisone treatment in infertile patients with oligozoospermia and accessory gland inflammatory alterations. *Andrology*. 2017, 5, 268–273. DOI: 10.1111/andr.12300. PMID: 28125168.
- Miller L.W.: Cardiovascular toxicities of immunosuppressive agents. *Am J Transplant*. 2002, 2, 807–818. DOI: 10.1034/j.1600-6143.2002.20902.x. PMID: 12392286.
- Mitsui A., Suzuki S.: Immunosuppressive effect of mycophenolic acid. *J Antibiot (Tokyo)*. 1969, 22, 358–363. DOI: 10.7164/antibiotics.22.358. PMID: 53456978.
- Moore C.A., Lockett B.L., Lennox K.W., McAminch J.W., Wurster J.C., Ceccarelli F.E. *i wsp.*: Prednisone in the treatment of acute epididymitis: a cooperative study. *J Urol*. 1971, 106, 578–580. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)61345-4. PMID: 5119483.
- Ramamoorthy S., Cidlowski J.A.: Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016, 42, 15–31. DOI: 10.1016/j.rdc.2015.08.002. PMID: 26611548. PMID: PMC4662771.
- Ransom J.T.: Mechanism of action of mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit*. 1995, 17, 681–684. DOI: 10.1097/00007691-199512000-00023. PMID: 8588241.
- Ritter M.L., Pirofski L.: Mycophenolate mofetil: effects on cellular immune subsets, infectious complications, and antimicrobial activity. *Transpl Infect Dis*. 2009, 11, 290–297. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2009.00407.x. PMID: 19497072.
- Rovira J., Diekmann F., Ramirez-Bajo M., Bano-Maneus E., Moya-Rull D., Campistol J.M.: Sirolimus-associated testicular toxicity: detrimental but reversible. *Transplantation*. 2012, 93, 874–879. DOI: 10.1097/TP.0b013e31824bf1f0. PMID: 22357177.
- Saha M.T., Saha H.H., Niskanen L.K., Salmela K.T., Pasternack A.I.: Time course of serum prolactin and sex hormones following successful renal transplantation. *Nephron*. 2002, 92, 735–737. DOI: 10.1159/000064079. PMID: 12372970.
- Schell C., Kretz O., Liang W., Kiefer B., Schneider S., Sellung D. *i wsp.*: The Rapamycin-Sensitive Complex of Mammalian Target of Rapamycin Is Essential to Maintain Male Fertility. *Am J Pathol*. 2016, 186, 324–336. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.10.012. PMID: 26683665.
- Schreiber S.L.: Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. *Science*. 1991, 251, 283–287. DOI: 10.1126/science.1702904. PMID: 1702904.
- Schreiber S.L., Crabtree G.R.: The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today*. 1992, 13, 136–142. DOI: 10.1016/0167-5699(92)90111-J. PMID: 1374612.
- Seethalakshmi L., Flores C., Carboni A.A., Bala R., Diamond D.A., Menon M.: Cyclosporine: its effects on testicular function and fertility in the prepubertal rat. *J Androl*. 1990, 11, 17–24. PMID: 2312396.
- Seethalakshmi L., Menon M., Malhotra R.K., Diamond D.A.: Effect of cyclosporine A on male reproduction in rats. *J Urol*. 1987, 138, 991–995. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)43479-3. PMID: 3656581.
- Sehgal S.N., Baker H., Vézina C.: Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. *J Antibiot*. 1975, 28, 727–732. DOI: 10.7164/antibiotics.28.727. PMID: 1102509.
- Semet M., Paci M., Saias-Magnan J., Metzler-Guillemain C., Boissier R., Lejeune H. *i wsp.*: The impact of drugs on male fertility: a review. *Andrology*. 2017, 5, 640–663. DOI: 10.1111/andr.12366. PMID: 28622464.

- Srinivas M., Agarwala S., Datta Gupta S., Das S.N., Jha P., Misro M.M. i wsp.: Effect of cyclosporine on fertility in male rats. *Pediatr Surg Int.* 1998, 13, 388–391. DOI: 10.1007/s003830050346. PMID: 9639624.
- Stahn C., Löwenberg M., Hommes D.W., Buttgereit F.: Molecular mechanisms of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonists. *Mol Cell Endocrinol.* 2007, 275, 71–78. DOI: 10.1016/j.mce.2007.05.019. PMID: 17630118.
- Steiner R.W., Awdishu L.: Steroids in kidney transplant patients. *Semin Immunopathol.* 2011, 33, 157–167. DOI: 10.1007/s00281-011-0259-7. PMID: 21331501.
- Sun X.X., Dai M.S., Lu H.: Mycophenolic acid activation of p53 requires ribosomal proteins L5 and L11. *J Biol Chem.* 2008, 283, 12387–12392. DOI: 10.1074/jbc.M801387200. PMID: 18305114. PMCID: PMC2430998.
- Tasker J.G., Di S., Malcher-Lopes R.: Minireview: rapid glucocorticoid signaling via membrane-associated receptors. *Endocrinology.* 2006, 147, 5549–5556. DOI: 10.1210/en.2006-0981. PMID: 16946006. PMCID: PMC3280589.
- Tauchmanová L., Carrano R., Sabbatini M., De Rosa M., Orio F., Palomba S. i wsp.: Hypothalamic-pituitary-gonadal axis function after successful kidney transplantation in men and women. *Hum Reprod.* 2004, 19, 867–873. DOI: 10.1093/humrep/deh192. PMID: 15016774.
- Thomson A.W., Bonham C.A., Zeevi A.: Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit.* 1995, 17, 584–591. DOI: 10.1097/00007691-199512000-00007. PMID: 8588225.
- Türk G., Ateşşahin A., Sönmez M., Yüce A., Ceribaşı A.O.: Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology.* 2007, 67, 778–785. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.10.013. PMID: 17123593.
- Türk G., Sönmez M., Ceribaşı A.O., Yüce A., Ateşşahin A.: Attenuation of cyclosporine A-induced testicular and spermatozoal damages associated with oxidative stress by ellagic acid. *Int Immunopharmacol.* 2010, 10, 177–182. DOI: 10.1016/j.intimp.2009.10.013. PMID: 19883798.
- Yang L., Miao L., Liang F., Huang H., Teng X., Li S. i wsp.: The mTORC1 effectors S6K1 and 4E-BP play different roles in CNS axon regeneration. *Nat Commun.* 2014, 5, 5416. DOI: 10.1038/ncomms6416. PMID: 25382660. PMCID: PMC4228696.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.postepyandrologii.pl>

ZNACZENIE OCENY STATUSU CHROMATYNY PLEMNIKÓW LUDZKICH W WARUNKACH NATURALNEGO POCZĘCIA

THE SIGNIFICANCE OF EVALUATION OF HUMAN SPERM CHROMATIN STATUS IN NATURAL CONCEPTION

Kamil Gill *, Małgorzata Piasecka

Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

*Autor do korespondencji/corresponding author: Kamil Gill, Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, 70-210 Szczecin, ul. Żołnierska 48

tel. 91 48 00 907, e-mail: kamil.gill@pum.edu.pl

Otrzymano/received: 05.05.2020 r. Zaakceptowano/accepted: 15.06.2020 r.

DOI: [10.26404/PAO_2353-8791.2020.03](https://doi.org/10.26404/PAO_2353-8791.2020.03)

Kamil Gill – dr n. med., biolog, absolwent Uniwersytetu Szczecińskiego. Pierwszy autor i współautor artykułów naukowych, opublikowanych w renomowanych polskich i zagranicznych czasopismach naukowych. Laureat Nagrody Polskiego Towarzystwa Andrologicznego im. Prof. Bokińca. Członek Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, Polskiego Towarzystwa Biologii Komórki, Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz Polskiego Towarzystwa Biologii Rozrodu. Od 2019 r. adiunkt w Zakładzie Histologii i Biologii Rozwoju Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

Kamil Gill – PhD, biologist, graduate of the University of Szczecin. The first author and co-author of articles published in renowned Polish and foreign scientific journals. Winner Polish Society of Andrology Award of Prof. Bokinić for young scientists. Member of the Polish Society of Andrology, Polish Society of Cell Biology, Polish Society of Histochemistry and Cytochemistry as well as Polish Society of Reproductive Biology. Since 2019 senior lecturer in Department of Histology and Developmental Biology at Pomeranian Medical University in Szczecin.

Streszczenie

W niniejszym artykule dokonano przeglądu piśmiennictwa dotyczącego klinicznego znaczenia statusu chromatyny męskich komórek rozrodczych dla uzyskania poczęcia w warunkach naturalnych. Ponadto uwzględniono powszechnie stosowane techniki badawcze ujawniające nieprawidłowości chromatyny plemników na różnych poziomach jej organizacji (np. jedno- i dwuniciowe pęknięcia nici DNA, podwyższoną zawartość histonów, obniżoną protaminację, nieprawidłową kondensację). Opisane zostały także trzy główne teorie tłumaczące pochodzenie uszkodzeń chromatyny męskich gamet: zaburzenia reorganizacji chromatyny, „nieudana” apoptoza komórek gremialnych i stres oksydacyjny. Zwrócono także uwagę na czynniki etiologiczne odpowiedzialne za ich powstawanie (żyłaki powrózka nasienne, choroby systemowe, infekcje męskiego układu płciowego, zaburzenia hormonalne, niezdrowy styl życia, szkodliwe czynniki środowiskowe, czynniki jatrogenne, zaawansowany wiek mężczyzny). W celu zaprezentowania klinicznego znaczenia dojrzałości i integralności genomu plemników, z uwzględnieniem stosowanych przez badaczy testów, przedstawiono różnice między

mężczyznami płodnymi oraz zdrowymi ochotnikami z normozoospermia a mężczyznami niepłodnymi lub niepłodnymi pochodzącymi z par z historią nawracających poronień. Mężczyźni niepłodni mieli wyższy odsetek plemników z uszkodzonym materiałem genetycznym. Wykazano, że metody oceny statusu chromatyny miały dobrą lub bardzo dobrą wartość predykcyjną dla odróżnienia mężczyzn płodnych od niepłodnych lub od mężczyzn z par, u których doszło do utraty ciąży. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że status chromatyny plemników jest jednym z kluczowych czynników etiologicznych męskiej niepłodności.

Słowa kluczowe: chromatyna plemnika, zapłodnienie, niepłodność, poronienia

Abstract

The present paper aimed to describe the role of the sperm chromatin status in natural conception. In addition, the commonly used research techniques able to reveal abnormalities in sperm chromatin organization at various levels (e.g. single- and double-strand breaks in DNA, increase in histone content, deficiency in protamination, abnormal condensation) were included. Moreover, three main theories explaining the origin of chromatin damage in male gametes (disorders of chromatin reorganization, 'abortive' apoptosis of germinal cells, oxidative stress) were described. Additionally, the etiological factors of sperm chromatin damage (varicocele, systemic diseases, infections of the male reproductive system, hormonal disorders, unhealthy lifestyle, harmful environmental factors, iatrogenic factors, advanced paternal age) were taken to the consideration. To evaluate the clinical utility of the sperm genome maturity and integrity with particular attention on type of used laboratory methods, the differences between fertile men and healthy volunteers with normozoospermia vs. infertile ones and infertile men from couples with a history of recurrent miscarriages were discussed. The higher percentage of sperm cells with damaged genetic material was found in infertile men. Moreover, it was shown that the methods of sperm chromatin status evaluation had good or very good predictive value to distinguish fertile men from infertile or infertile male partners in couples experiencing recurrent pregnancy loss. Thus, the literature review shows that sperm chromatin status is one of the key etiological factors of male infertility.

Key words: sperm chromatin, fertilization, infertility, miscarriage

Skróty / Abbreviations

8-OHdG – 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna (ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*); AB – błękit aniliny (ang. *anilin blue*); AUC – pole powierzchni pod krzywą (ang. *area under curve*); ATP – adenozy-5'-trifosforan (ang. *adenosine-5'-triphosphate*); BER – wycinanie par zasad azotowych (ang. *base excision repair*); CMA3 – chromomycyna A3 (ang. *chromomycin A3*); DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); dNTP – deoksynukleotydy (ang. *deoxynucleotides*); dsSDF – dwuniciowe pęknięcia DNA (ang. *double stranded DNA fragmentation*); DTT – ditiotreitól (ang. *dithiothreitol*); EDC – związki chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną (ang. *endocrine disrupting chemicals/compounds*); HDS – intensywne wiązanie oranżu akrydyny (ang. *high DNA stainability*); NOX5 – oksydaza NAPH 5 (ang. *NADPH oxidase 5*), OA – oranż akrydyny (ang. *acridine orange*); OGG1 – glikozylaza 8-oksoguaniny (ang. *8-oxoguanine DNA glycosylase*); OR – iloraz szans (ang. *odds ratio*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*); SCD – test dyspersji chromatyny (ang. *sperm chromatin dispersion*); P1 – protamina 1 (ang. *protamine 1*); P2 – protamina 2 (ang. *protamine 2*); SCSA – test oceniający strukturę chromatyny plemników (ang. *sperm chromatin structure assay*); ssSDF – jednoniciowe pęknięcie DNA (ang. *single stranded DNA fragmentation*); TB – błękit toluidyny (ang. *toluidin blue*); TdT – terminalna transferaza deoksynukleotydów (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase*); TUNEL – znakowanie końców nacięć nici DNA za pośrednictwem terminalnej transferazy deoksynukleotydowej (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling*); WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

Niepłodność partnerska dotyczy 15–20% par w wieku reprodukcyjnym chcących posiadać potomstwo. Stanowi to ok. 186 mln niepłodnych par na świecie ([Agarwal i wsp., 2019](#); [Inhorn i Patrizio, 2015](#); [Machen i Sandlow, 2020](#); [Murshidi i wsp., 2020](#); [Pan i wsp., 2018](#); [Uppangala i wsp., 2016](#)). Jest to problem nie tylko medyczny, ale także demograficzny, ekonomiczny i psychologiczny. Wiąże się on ze stale obserwowanym spadkiem dzietności w krajach rozwiniętych, wysokimi kosztami leczenia niepłodności, konsekwencjami gospodarczymi wynikającymi ze starzenia się społeczeństwa i psychologicznymi związanymi z niemożnością posiadania potomstwa ([Agarwal i wsp., 2015, 2019](#); [Chanduszko-Salska, 2016](#); [Machen i Sandlow, 2020](#); [Szkodziak i wsp., 2020](#); [Vander Borcht i wsp., 2018](#)). Szacuje się, że udział czynnika męskiego w niepłodności

partnerskiej wynosi ok. 50%. Współistnieje on z czynnikiem żeńskim w ok. 30%, a w ok. 20% jest czynnikiem izolowanym. Doniesienia z ostatnich lat ujawniają jednak, że w niektórych regionach geograficznych (Bliski Wschód) następuje zdecydowany wzrost udziału czynnika męskiego, który może wynosić aż 70% ([Agarwal i wsp., 2015, 2019](#)). Ponadto, mimo coraz większej wiedzy na temat molekularnych podstaw funkcjonowania ludzkiego organizmu i rozwoju technik weryfikujących procesy i struktury komórkowe, głównym andrologicznym narzędziem diagnostycznym wciąż pozostaje standardowa ocena seminologiczna. Jest ona przeprowadzana zgodnie z rekomendacjami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) ([WHO, 2010](#)) i interpretowana w oparciu o ustalone wartości

referencyjne. W wielu przypadkach jest niewystarczająca do precyzyjnego odróżniania mężczyzn niepłodnych od płodnych. Okazuje się bowiem, że nie zawsze mężczyźni z obniżonymi standardowymi parametrami nasienia są niepłodni i nie zawsze mężczyźni z normozoospermia są płodni. Szacuje się, że około 15% niepłodnych mężczyzn charakteryzuje się prawidłowym wynikiem podstawowego badania nasienia (Agarwal i wsp., 2015, 2019; Schulte i wsp., 2010). W takich przypadkach najprawdopodobniej mają miejsce nieprawidłowości molekularne, które mogą być przyczyną niepłodności idiopatycznej, stanowiącej aż 50% niepłodności męskiej (Agarwal i wsp., 2019). Wymagają one wprowadzenia dodatkowych i komplementarnych testów oceniających jakość męskich komórek rozrodczych na poziomie molekularnym, co niewątpliwie jest niezbędne do prawidłowego postępowania terapeutycznego.

Wyniki badań doświadczalnych i klinicznych sugerują, że istotnym biomarkerem kompetencji biologicznej plemników może być status/jakość ich chromatyny, która może wpływać na: 1) czas oczekiwania na ciążę; 2) proces zapłodnienia; 3) rozwój zarodka; 4) wzrost ryzyka wystąpienia poronień; 5) zdrowie przyszłego potomstwa (Agarwal i wsp., 2015, 2016, 2019; Cho i Agarwal, 2018; Cho i wsp., 2017; Machen i Sandlow, 2020; Sharma i wsp., 2020; van der Horst i du Plessis, 2017). Dlatego też w niniejszym artykule poddano analizie wyniki badań naukowych dotyczące klinicznego znaczenia statusu chromatyny męskich komórek rozrodczych, z uwzględnieniem zastosowanych metod badawczych.

Etiologia i patomechanizm uszkodzeń chromatyny plemników

Uszkodzenia chromatyny plemników mogą przejawiać się na różnych poziomach jej organizacji. Ujawnia się: 1) jednoniciowe i dwuniciowe pęknięcia nici DNA; 2) niedojrzałość chromatyny związanej z zaburzoną jej przebudową podczas spermiogenezy obejmującą m.in. zastępowanie histonów jądrowych przez specyficzne białka chromatyny plemnika – protaminy 1 (P1, ang. *protamine 1*) i 2 (P2, ang. *protamine 2*) w procesie protaminacji; 3) nieprawidłową trzeciorzędową strukturę chromatyny, wyrażającą się nieprawidłową jej kondensacją. Wymienione zaburzenia mogą być izolowane lub współistniejące. W celu ich wykazania należy zastosować komplementarne, wzajemnie uzupełniające się testy (Henkel i Leisegang, 2020; Panner Selvam i wsp., 2020; Ribas-Maynou i Benet, 2019; Sharma i wsp., 2020; Ward, 2017).

Molekularny patomechanizm prowadzących do nieprawidłowości w obrębie struktury chromatyny plemników nie jest w pełni poznany. Istnieją jednak trzy główne teorie tłumaczące pochodzenie jej uszkodzeń: 1) zaburzenia przebudowy chromatyny; 2) „nieudana” apoptoza (ang. *‘abortive’ apoptosis*) komórek gremialnych; 3) stres oksydacyjny (rycina 1) (Agarwal i Sengupta, 2020;

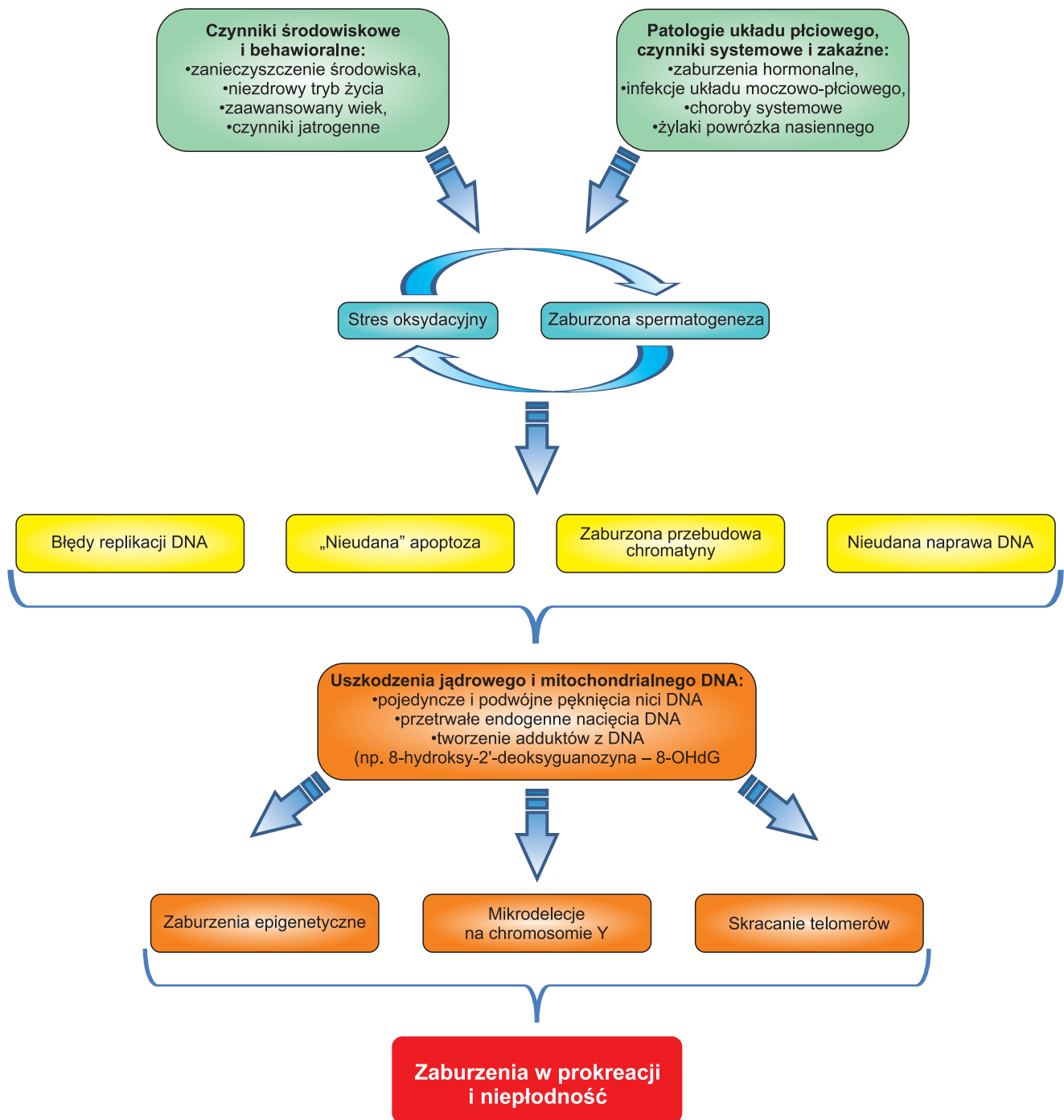
Bui i wsp., 2018; Cho i Agarwal, 2018; Majzoub i wsp., 2020; Muratori i wsp., 2019; Panner Selvam i wsp., 2020; Sakkas i El-Fakahany, 2018; Sakkas i wsp., 2003; Schulte i wsp., 2010; Sharma i wsp., 2020; Ward, 2017).

Zaburzenia przebudowy chromatyny

Nukleoproteinowy kompleks tworzący chromatynę plemników jest unikatowy. Zawiera on DNA upakowany w formie nukleosomów charakterystycznych dla komórek somatycznych oraz toroidów specyficznych dla męskich gamet. Jedynie 5–15% chromatyny związanych jest z histonami budującymi nukleosomy zawierające oktamer histonów (histony: H2A, H2B, H3 i H4), na który nawinięta jest helisa DNA. Natomiast pozostała część chromatyny zorganizowana jest w postaci toroidów, w skład których nie wchodzi histony, tylko protaminy. Białka te cechuje wysoka zawartość cysteiny i argininy, co warunkuje silną kondensację DNA. Toroidy tworzone są przez ściśle upakowane spiralne pętle DNA (50–100 kbp – tysiąc par zasad). Struktury te powiązane są ze sobą za pomocą łącznikowych pętli DNA (ang. *toroid linker*) o długości poniżej 1000 bp (par zasad). Pętle te nie tylko integrują sąsiadujące ze sobą toroidy, ale również wiążą je z włóknami macierzy jądrowej. Toroidy ściśle do siebie przylegają bocznymi powierzchniami i tworzą chromatynowe struktury wyższego rzędu. Taka organizacja chromatyny sprawia, że materiał genetyczny plemnika jest 6–20-krotnie mocniej skondensowany niż ten znajdujący się w komórkach somatycznych (Björndahl i Kvist, 2014; Patankar i Parte, 2017; Ward, 2017).

Aby proces przebudowy chromatyny męskich komórek rozrodczych był możliwy, konieczne są modyfikacje epigenetyczne histonów somatycznych spermatocytów (fosforylacja, ubikwitynacja, sumoilacja, ADP-rybozylacja, metylacja) i histonów jądrowych wydłużających się spermatyd (np. hiperacetylacja histonu H4). Pierwsze z nich umożliwiają usunięcie histonów somatycznych okrągłej spermatydy i wbudowanie histonów jądrowych. Z kolei hiperacetylacja histonu H4 powoduje rozluźnienie struktury chromatyny. Z jednej strony promuje to wymianę histonów jądrowych na białka przejściowe TP1 i TP2, które w wydłużających się spermatydach zastępowane są przez P1 i P2 (proces protaminacji), z drugiej natomiast sprzyja uszkodzeniu DNA. Należy podkreślić, że usunięcie histonów jądrowych i wbudowanie białek przejściowych, a następnie protamin wymaga także aktywności topoizomerazy II, która odpowiedzialna jest za powstanie fizjologicznych przejściowych podwójnych naciągów nici DNA (Hao i wsp., 2019; Henkel i Leisegang, 2020; Ward, 2017).

W końcowym etapie reorganizacji materiału genetycznego plemnika wolne końce DNA podlegają ligacji (łączeniu) katalizowanej także przez topoizomerazę II. Wynika z tego, że dojrzała chromatyna plemnika przy prawidłowej aktywności topoizomerazy II zawiera



Ryc. 1. Sugerowany patomechanizm uczestniczący w uszkodzeniach DNA plemników oraz konsekwencje tych nieprawidłowości (szczegóły w tekście)

integralny DNA, tym bardziej, że enzym ten również zaangażowany jest w naprawę materiału genetycznego. Funkcja tego enzymu jest kontrolowana przez polimerazę poli (ADP-rybozy), która jest aktywowana w obecności nacięć nici DNA. Rozważana jest hipoteza mówiąca o tym, że w przypadku nieprawidłowej aktywności tych enzymów może dojść do pojawienia się tzw. przetrwałych endogennych nacięć nici DNA, konsekwencją czego może być obecność w ejakulacie plemników z pofragmentowanym DNA (Henkel i Leisegang, 2020; McPherson i Longo, 1992; Muratori i wsp., 2019; Schulte i wsp., 2010).

Co więcej, po zakończonej protaminacji ma miejsce dalsza kondensacja i stabilizacja struktury chromatyny, która przede wszystkim zachodzi w najądrzu i jest efektem tworzenia się mostków dwusiarczkowych (S–S) wewnątrz cząsteczek protamin i pomiędzy nimi. Należy podkreślić, że procesy te chronią materiał genetyczny przed uszkodzeniami, co wydaje się niezwykle istotne ze względu na brak systemów naprawczych DNA w dojrzałym plemniku. Zatem zaburzenia protaminacji i stabilizacji struktury chromatyny predysponują do powstania uszkodzeń jądrowego DNA.

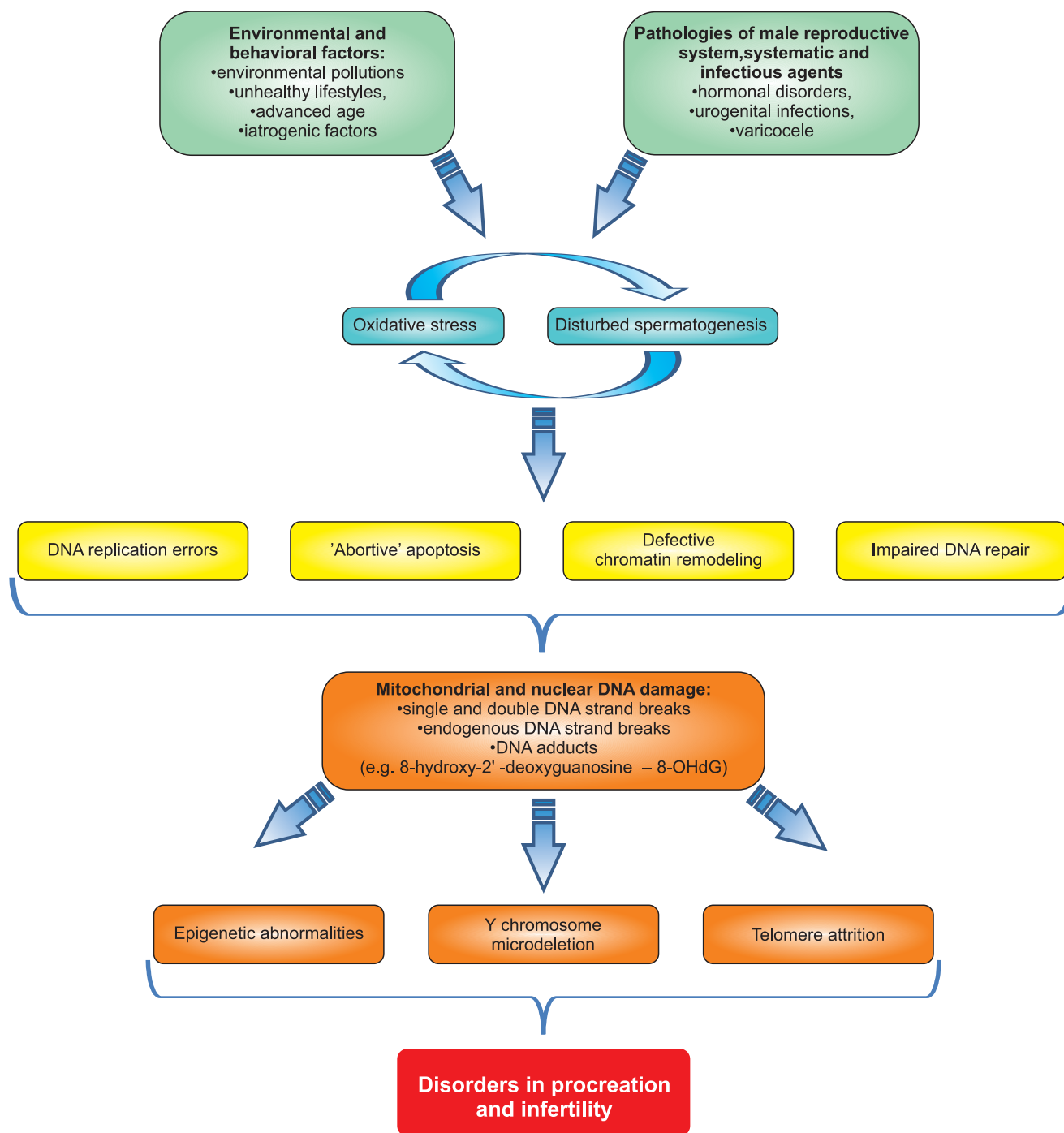


Fig. 1. Suggested pathomechanism involved in sperm DNA damage and the consequences of these abnormalities (details in text)

Wielu autorów ujawnia silną korelację między nieprawidłowo skondensowaną chromatyną plemnika (np. zwiększona zawartość histonów jądrowych, obniżona protaminacja, nieprawidłowy stosunek P1/P2) a uszkodzeniami jego jądrowego DNA (*Bianchi i wsp.*, 1993; *Evenson*, 1990; *Gorczyca i wsp.*, 1993; *Henkel i Leisegang*, 2020; *Javed i wsp.*, 2019; *Manicardi i wsp.*, 1995). Ponadto wykazano związek między integralnością genomu plemników a obniżonymi standardowymi parametrami seminologicznymi. Obecnie uważa się, że nieprawidłowa dojrzałość chromatyny plemnika i obniżona jej integralność mogą być wskaźnikiem zaburzeń spermatogenezy (*Gill i wsp.*,

2019a, 2019b; *Henkel i Leisegang*, 2020; *Jakubik-Uljasz i wsp.*, 2020; *Lopes i wsp.*, 1998; *McPherson i Longo*, 1992; *Rosiak-Gill i wsp.*, 2019) (rycina 1).

■ „Nieudana” apoptoza

Apoptoza, czyli zaprogramowana śmierć komórki, jest procesem zachodzącym w wielu komórkach ludzkiego organizmu, w tym w komórkach germinalnych. Ma ona szczególne znaczenie, gdyż jej efektywność gwarantuje selektywną eliminację komórek, w tym z wadliwym

materiałem genetycznym, co w konsekwencji zmniejsza ryzyko zapłodnienia komórki jajowej plemnikiem nieprawidłowym. Ponadto zdolności komórek Sertolego do podtrzymywania komórek linii spermatogenicznej są ograniczone i eliminacja tych niedoskonałych jest wysoce uzasadniona, zwłaszcza w przypadku tworzenia bariery krew-jądro. Szacuje się, że u ssaków nawet 75% komórek germinalnych podlega temu procesowi (*Sakkas i wsp., 2003; Schulte i wsp., 2010; Ward, 2017*). Jedną z hipotez tłumaczących powstawanie uszkodzeń genomu plemników jest zjawisko określane terminem „nieudana” apoptoza (ang. *‘abortive’ apoptosis*). Sugeruje się, że komórki, które weszły na szlak apoptozy z powodu m.in. uszkodzeń DNA (np. błędy replikacji DNA, nieudana naprawa DNA), mogą z niego „uciec” i finalnie nie podlegają eliminacji. Przemawia za tym fakt, iż u niepłodnych mężczyzn stwierdza się wysoki odsetek plemników z obniżoną jakością DNA, co zgodnie z tą hipotezą może być związane z aktywacją endonukleaz degradujących DNA podczas apoptozy. Jednocześnie w plemnikach tych stwierdza się ekspresję białek zaangażowanych w proces apoptozy: receptora śmierci FAS, białka p53, Bcl-2, polimerazy poli (ADP-rybozy) oraz kaspaz – kluczowych dla apoptozy proteinaz cysteinowych. Ponadto na powierzchni tych komórek ujawnia się obecność fosfolipidu fosfatydyloseryny – markera wczesnej apoptozy. Patomechanizm związany z „nieudaną” apoptozą nie został do końca wyjaśniony. Przypuszcza się, że ma miejsce nadekspresja białek antyapoptotycznych (np. Bcl-2 i Bcl-x). Brak równowagi między białkami pro- i antyapoptotycznymi może przyczynić się do zaburzeń spermatogenezy. Zwraca się także uwagę, że zawartość ligandu FAS prawdopodobnie jest zbyt mała, jak również sygnalizacja komórkowa przez receptor FAS i inne receptory nie funkcjonuje w sposób poprawny, zwłaszcza przy bardzo intensywnej spermatogenezie prowadzącej do produkcji nawet 200×10^6 plemników dziennie. W efekcie opisanych zjawisk zwiększa się liczba nieprawidłowych komórek rozrodczych w ejakulacie. Uważa się, że w takich przypadkach ma miejsce brak synchronizacji spermatogenezy z apoptozą (*Ammar i wsp., 2019; Henkel i Leisegang, 2020; Muratori i wsp., 2006, 2019; Panner Selvam i wsp., 2020; Sakkas i El-Fakahany, 2018; Sakkas i wsp., 2003; Schulte i wsp., 2010; Simon i wsp., 2017; Ward, 2017*).

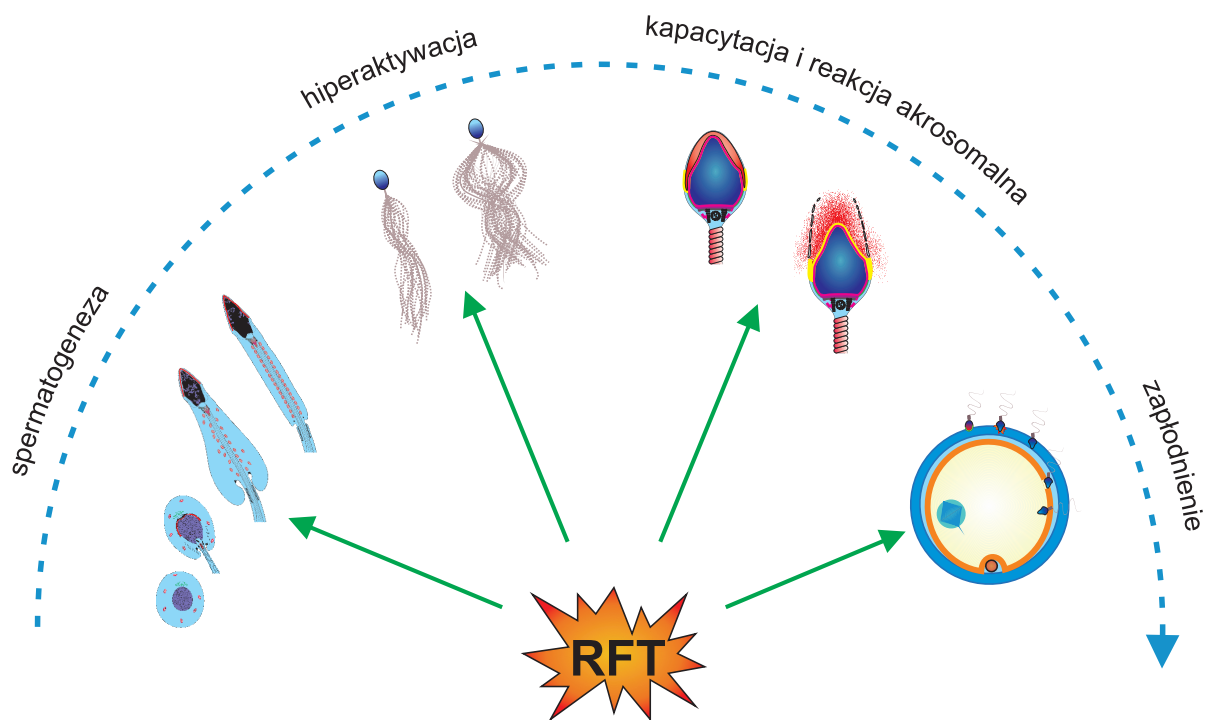
■ Stres oksydacyjny i reaktywne formy tlenu

Równowaga oksydacyjno-redukcyjna (redoks) nasienia jest niezwykle istotna dla funkcjonowania plemników. Reaktywne formy tlenu (RFT, ang. *reactive oxygen species*) biorą udział m.in. w procesie spermatogenezy, kapacytacji, hiperaktywacji, reakcji akrosomalnej i fuzji plemnika z oocytem, które są niezbędnymi etapami na drodze do uzyskania zapłodnienia (rycina 2) (*Adewoyin i wsp., 2017; Agarwal i Sengupta, 2020; Aitken, 2020; Aitken i Drevet, 2020; Aitken i wsp., 2015*). Zaburzenie tego

balansu, poprzez nadmierne generowanie wolnych rodników i/lub niewydolność systemów antyoksydacyjnych, może prowadzić do powstania stanu stresu oksydacyjnego, którego konsekwencjami mogą być zaburzenia spermatogenezy i uszkodzenia plemników, w tym ich DNA. Jest to bardzo istotny problem, ponieważ szacuje się, że nawet 80% mężczyzn z niepłodnością idiopatyczną ma podwyższoną zawartość RFT w nasieniu. Dlatego też wielu autorów wskazuje stres oksydacyjny nasienia jako istotny czynnik etiologiczny niepowodzeń w rozrodzie (*Agarwal i wsp., 2019; Agarwal i Sengupta, 2020; Aitken i Drevet, 2020; Aitken i wsp., 2015; Elbardisi i wsp., 2020; Henkel i Leisegang, 2020; Henkel i Solomon, 2018; Majzoub i wsp., 2018, 2020; Simon i wsp., 2017*) (rycina 1).

Zaburzenia równowagi redoks wpływają na męską płodność poprzez peroksydację błon lipidowych męskich gamet, która prowadzi do powstania cytotoksycznych aldehydów, np. 4-hydroksynonenalu (4HNE, ang. *4-hydroxynonenal*) i akroleiny. Ponadto ma miejsce oksydacja białek oraz DNA powodująca jego fragmentację i powstawanie w nim adduktów, np. 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny (8-OHdG, ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*) (rycina 1). Warto również zaznaczyć, że plemniki wykazują aktywność tylko jednego enzymu odpowiedzialnego za naprawę oksydacyjnych uszkodzeń DNA, którym jest glikozylaza 8-oksoguaniny (OGG1, ang. *8-oxoguanine DNA glycosylase*) (*Aitken i Drevet, 2020; Henkel i Leisegang, 2020*). Enzym ten katalizuje usuwanie 8-OHdG oraz naprawę DNA poprzez wycinanie par zasad azotowych (BER, ang. *base excision repair*). Co ciekawe, aktywność tego enzymu hamowana jest m.in. przez kadm zawarty w dymie papierosowym. Stąd też u palaczy obserwuje się wyższy poziom uszkodzeń DNA, w tym 8-OHdG. Może to nie tylko negatywnie wpływać na płodność, ale również na zdrowie przyszłych pokoleń. U potomstwa mężczyzn palących papierosy istotnie częściej stwierdza się złośliwe nowotwory, na co – jak sugerują – badacze ma wpływ jakość DNA plemników w momencie zapłodnienia (*Aitken i Baker, 2013; Aitken i Drevet, 2020; Aitken i wsp., 2015; Henkel i Leisegang, 2020*).

Należy podkreślić, że jednym z głównych źródeł RFT w nasieniu są plemniki. Reaktywne formy tlenu powstają w mitochondriach wstawki plemnika, na poziomie łańcucha oddechowego zlokalizowanego w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Rolą tego łańcucha jest wytworzenie źródła energii w postaci adenosyno-5'-trifosforanu (ATP, ang. *adenosine-5'-triphosphate*). Obok ATP wytwarzane są także RFT (anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik hydroksylowy, nadtlenek wodoru i tlen singletowy), które w przypadku dysfunkcji i uszkodzeń mitochondriów mogą być nadmiernie generowane, powodując stres oksydacyjny zarówno w matriksie mitochondrialnej, jak i w cytozolu komórki (*Aitken, 2020; Aitken i Drevet, 2020; Idelchik i wsp., 2017*). Warto zaznaczyć, że nadmiar RFT pochodzący z mitochondriów może indukować apoptozę komórek rozrodczych poprzez aktywację kaspaz (wewnętrzz pochodny szlak apoptozy)



Ryc. 2. Wybrane procesy fizjologiczne, związane z męskimi komórkami rozrodczymi, stymulowane przez reaktywne formy tlenu (RFT)

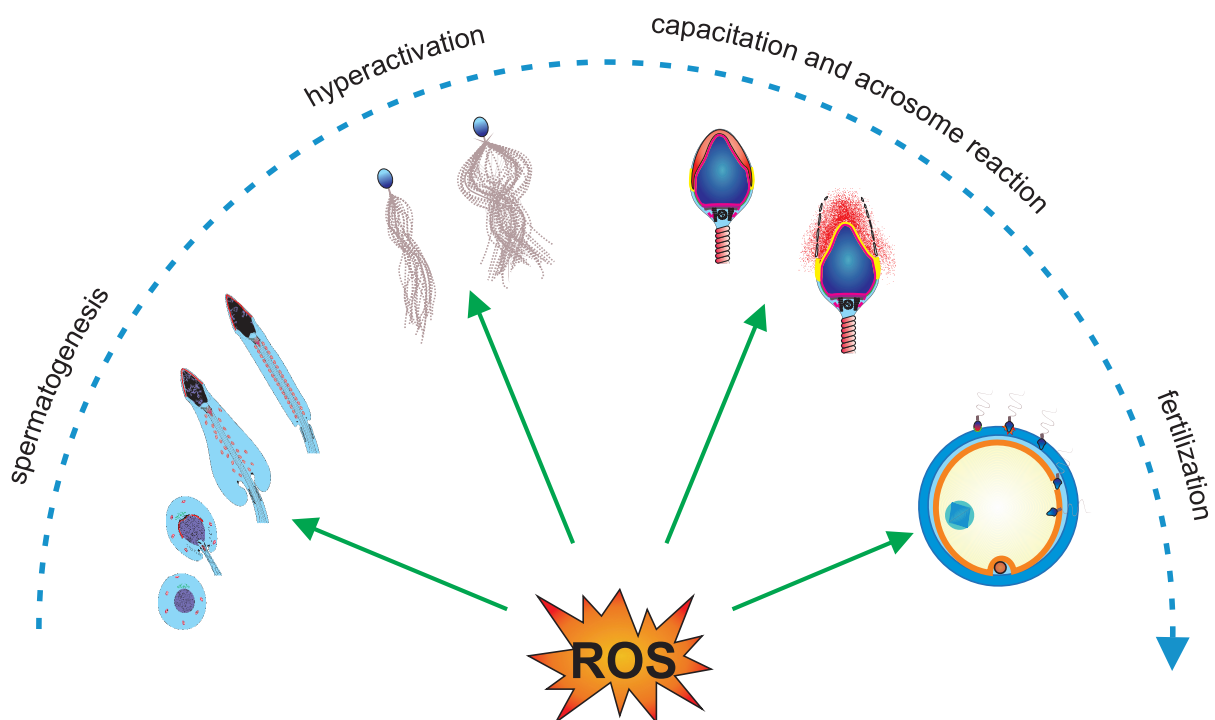


Fig. 2. Selected physiological processes related to male germ cells, stimulated by reactive oxygen species (ROS)

(Aitken, 2020; Aitken i Baker, 2013; Aitken i Drevet, 2020; Grunewald i wsp., 2005). Ponadto źródłem RFT są także niedojrzałe formy plemników, szczególnie te posiadające resztkową cytoplazmę bogatą w błonową oksydazę zależną od NADPH (identyfikowaną jako NOX5, ang. *NADPH oxidase 5*). Enzym ten zaangażowany jest

w intensywną generację RFT, głównie anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru (Aitken i Drevet, 2020; Vatannejad i wsp., 2019). Podczas wędrówki męskich gamet przez najądrze dochodzi do bliskiego kontaktu ich form niedojrzałych z prawidłowymi, co skutkuje wzrostem ryzyka uszkodzenia plemnikowego DNA.

Za stres oksydacyjny nasienia mogą być także odpowiedzialne leukocyty, których mechanizmem obronnym jest uwalnianie dużej ilości RFT podczas wybuchu tlenowego. Ponieważ jest to nieswoista i nieselektywna odpowiedź immunologiczna, uszkodzeniu ulegają nie tylko patogeny znajdujące się w nasieniu, ale również plemniki, tym bardziej że zdolność antyoksydacyjna nasienia jest niska (Agarwal i wsp., 2019; Agarwal i Sengupta, 2020; Aitken i Drevet, 2020; Henkel i Solomon, 2018; Majzoub i wsp., 2020).

Opisane powyżej zjawiska wskazują, że RFT mogą uszkadzać DNA plemników nie tylko w sposób bezpośredni (oksydacyjne uszkodzenie DNA), ale także pośredni, bowiem w obecności RFT ma miejsce aktywacja kaspaz i endonukleaz (nieoksydacyjne uszkodzenie DNA).

Czynniki etiologiczne uszkodzeń chromatyny

Poza wymienionymi trzema głównymi teoriami tłumaczącymi powstawanie uszkodzeń DNA plemników istnieje szerokie spektrum osobniczo zależnych endo- i egzogennych czynników etiologicznych, które wpływają negatywnie na proces spermatogenezy. Zaliczyć do nich można m.in.: 1) niewydolność układu krążenia, w tym żylaki powrózka nasiennego; 2) choroby systemowe, takie jak cukrzyca, nowotwory; 3) przewlekłe infekcje, szczególnie prostaty i innych gruczołów dodatkowych męskiego układu płciowego; 4) zaburzenia hormonalne; 5) niezdrowy styl życia, w tym brak aktywności fizycznej, palenie tytoniu, nadużywanie alkoholu i innych środków odurzających oraz nadwaga; 6) szkodliwe czynniki środowiskowe, w tym promieniowanie jonizujące, toksyny czy też związki chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną (związki endokrynnie czynne, EDC, ang. *endocrine disrupting chemicals/compounds*); 7) czynniki jatrogenne takie jak krioprezervacja nasienia; 8) zaawansowany wiek mężczyzny (>35.–40. r.ż.) i wynikająca z niego obniżona sprawność systemów naprawy DNA i antyoksydacyjnych. Warto również podkreślić, że patomechanizm uszkodzenia DNA plemników w wyniku wymienionych czynników w większości związany jest ze stresem oksydacyjnym (rycina 1) (Bui i wsp., 2018; Cho i Agarwal, 2018; Elbardisi i wsp., 2020; Henkel i Leisegang, 2020; Panner Selvam i wsp., 2020; Ribas-Maynou i Benet, 2019; Sakkas i El-Fakahany, 2018; Schulte i wsp., 2010; Simon i wsp., 2017).

Znaczenie uszkodzeń chromatyny plemników w przypadkach naturalnej koncepcji z uwzględnieniem zastosowanych testów

Test z błękitem aniliny i błękitem toluidyny

Testy z błękitem aniliny (AB, ang. *aniline blue*) i błękitem toluidyny (TB, ang. *toluidine blue*) weryfikujące dojrzałość chromatyny plemników przeważnie stosowane

są w badaniach naukowych. Nie mają one jednak statusu testów diagnostycznych. Test AB ujawnia plemniki ze zwiększoną zawartością histonów jądrowych (plemniki AB-pozytywne), gdyż barwnik ten wiąże się z rodnikiem aminokwasu lizyny występującej w histonach. Z kolei TB łącząc się z grupami fosforanowymi łańcuchów polinukleotydowych DNA, pozwala na wykazanie plemników z nieprawidłową strukturą/kondensacją chromatyny (plemniki TB-pozytywne) (Agarwal i wsp., 2016; Erenpreiss i Zubkova, 2018; Kazerooni i wsp., 2009; Schulte i wsp., 2010; Sharma i wsp., 2020).

Kliniczne znaczenie oceny dojrzałości chromatyny plemników z wykorzystaniem AB i TB zweryfikowali Pourmasumi i wsp. (2019). Autorzy ci wykazali, że mężczyźni z normozoospermia rozważani jako potencjalnie płodni mieli istotnie niższy odsetek plemników AB- i TB-pozytywnych (odpowiednio średnie: 49,75% oraz 58,95%) w porównaniu do całej analizowanej populacji mężczyzn niepłodnych (odpowiednio średnie: 54,29% oraz 62,52%), do wyselekcjonowanej grupy mężczyzn z niepłodnością idiopatyczną (odpowiednio średnie: 51,35% oraz 60,95%), z oligozoospermia (odpowiednio średnie: 67,76% oraz 69,76%), astenozoospermia (odpowiednio średnie: 58,71% oraz 64,17%) i z oligoastenozoospermia (odpowiednio średnie: 67,49% oraz 71,00%). Podobne wyniki uzyskali również inni autorzy, którzy wykazali, że mężczyźni płodni z normozoospermia mieli istotnie niższy odsetek plemników TB-pozytywnych niż niepłodni (średnie: 24,00% vs. 47,00%) lub niepłodni z astenoteratozoospermia (średnie: 30,88% vs. 61,37%) (Ajina i wsp., 2017; Tsarev i wsp., 2009). Ponadto wykazano istotne różnice w odsetkach plemników AB- i TB-pozytywnych między grupą mężczyzn płodnych (odpowiednio średnie: 15,75% i 16,70%), niepłodnych z żylakami powrózka nasiennego (odpowiednio średnie: 40,95% i 60,85%) i niepłodnych bez żylaków powrózka nasiennego (odpowiednio średnie: 40,60% i 33,50%) (Talebi i wsp., 2008). Co więcej, wykazano, że zdrowi ochotnicy z normozoospermia mieli istotnie niższy odsetek plemników nie tylko AB-pozytywnych, ale i TB-pozytywnych (odpowiednio średnie: 24,20% i 29,10% oraz 30,20% i 32,80%) niż mężczyźni niepłodni z urazami rdzenia kręgowego (odpowiednio średnie: 52,45% i 63,54%) oraz mężczyźni z częściową lub całkowitą globozoospermia (odpowiednio średnie: 81,30% i 79,80% oraz 73,10% i 86,30%) (Talebi i wsp., 2013, 2018).

Analiza krzywej ROC (ang. *receiver operating characteristic*) i pola powierzchni pod krzywą (AUC, ang. *area under curve*)¹ wykazała satysfakcjonującą wartość predykcyjną testu TB (AUC = 0,750) dla odróżnienia mężczyzn płodnych od niepłodnych. Wartość graniczną stanowiło 42% plemników TB-pozytywnych, co sugerowało, że u mężczyzn z odsetkiem plemników >42%

1 Analiza krzywej ROC i pola powierzchni pod krzywą jest narzędziem statystycznym oceniającym potencjał danego testu dla odróżnienia dwóch badanych populacji w zależności od posiadania danej cechy/wystąpienia zjawiska (np. płodny/niepłodny, ciąża/poronienie).

istniało istotnie wyższe ryzyko niepłodności. Co więcej, kobiety z par, w których mężczyźni mieli >45% plemników TB-pozytywnych, miały 7,2-krotnie mniejsze szanse (OR, ang. *odds ratio*) na zajście w ciążę w porównaniu z kobietami z par, w których mężczyźni mieli ≤45% plemników TB-pozytywnych (Tsarev i wsp., 2009). Wykazano również różnice w odsetkach plemników AB- i TB-pozytywnych mężczyzn z par, u których zdiagnozowano ≥3 nieuzasadnione nawracające poronienia w odniesieniu do mężczyzn płodnych (Kazerooni i wsp., 2009; Talebi i wsp., 2012). Wykazano, że mężczyźni z tej pierwszej grupy mieli istotnie wyższy odsetek plemników AB-pozytywnych (odpowiednio średnie: 25,90% i 46,84% vs. 13,00% i 28,12%) i TB-pozytywnych (odpowiednio średnie: 63,51% vs. 28,82%).

Test dyspersji chromatyny plemników

Diagnostyczny test dyspersji chromatyny plemników (SCD, ang. *sperm chromatin dispersion*) (Halosperm G2® test) pozwala na zidentyfikowanie plemników, których chromatyna nie podlega dyspersji po denaturacji (komórki z pofragmentowanym DNA) (Agarwal i wsp., 2016; Fernández i wsp., 2018; Majzoub i wsp., 2020; Schulte i wsp., 2010; Sharma i wsp., 2020; Simon i wsp., 2017).

Badania wielu autorów ujawniają, że mężczyźni płodni mają istotnie niższy odsetek plemników z pofragmentowanym DNA (SDF, ang. *sperm DNA fragmentation*) (np. średnie: 10,80%, 10,83%, 11,54%, 17,46%) niż mężczyźni niepłodni (np. średnie: 20,40%, 25,70%, 33,00%), niepłodni z astenozoospermia (średnia: 18,76%), astenoteratozoospermia (średnia: 25,23%), oligozoospermia (średnia: 23,31%), oligoastenozoospermia (średnia: 24,54%) i z oligoastenoteratozoospermia (średnie: 24,64 i 47,30%) (Chohan i wsp., 2006; Choucair i wsp., 2016; Evgeni i wsp., 2015; Fernández i wsp., 2005; Majzoub i wsp., 2018; Wiweko i Utami, 2017; Zhang i wsp., 2010). Podobne wyniki uzyskano również w przypadku badań autorских, w których stwierdzono istotnie niższy odsetek SDF w grupie zdrowych mężczyzn z normozoospermia w porównaniu z mężczyznami niepłodnymi (mediana: 14,00% vs. 23,00%) (Gill i wsp., 2019b). Należy jednak podkreślić, że nie zawsze podwyższonemu odsetkowi plemników z pofragmentowanym DNA towarzyszą zaburzenia podstawowych parametrów nasienia. Stwierdzono bowiem, że pomimo normozoospermii potwierdzonej u mężczyzn niepłodnych odsetek ten był istotnie wyższy (średnia: 27,30%) w porównaniu z mężczyznami płodnymi (średnia: 16,30%) (Fernández i wsp., 2005). Zatem standardowa analiza nasienia nie może być jedynym kryterium definiującym potencjał reprodukcyjny nasienia.

Wyższy odsetek SDF, w porównaniu z mężczyznami płodnymi lub zdrowymi ochotnikami z normozoospermia, ujawnia się także w grupie mężczyzn niepłodnych z infekcjami układu moczowo-płciowego spowodowanymi przez *Chlamydia trachomatis* i *Mycoplasma* (średnia: 35,22%) (Gallegos i wsp., 2008),

z żyłakami powrózka nasiennego (średnia: 25,54%) (Cortés-Gutiérrez i wsp., 2016), z częściową lub całkowitą globozoospermia (średnie: 61,70% i 57,80%) (Talebi i wsp., 2018), jak również w przypadku mężczyzn z par, u których stwierdzono idiopatyczne nawracające poronienia (średnia: 19,28%) (Ribas-Maynou i wsp., 2012b). Jednak mimo licznych dowodów naukowych potwierdzających kliniczne znaczenie SDF opublikowane zostały także wyniki badań, które nie wykazały istotnych różnic między grupą mężczyzn płodnych a grupą mężczyzn, których partnerki zaszły w ciążę spontaniczną lub wspomaganą medycznie, ale ciąża nie zakończyła się urodzeniem żywego dziecka (Evgeni i wsp., 2015).

Niektórzy autorzy podjęli próbę określenia wartości predykcyjnej testu SCD. Analizując krzywą ROC, uzyskano dobrą wartość predykcyjną tego testu (AUC = 0,862, 0,871 i 0,899) dla odróżnienia mężczyzn płodnych od niepłodnych. Wartość graniczna odsetka plemników z pofragmentowanym DNA, powyżej której istniało wysokie ryzyko niepłodności, dla poszczególnych AUC wynosiła odpowiednio: 26,10%, 24,74% i 22,50% (Javed i wsp., 2019; Ribas-Maynou i wsp., 2012b; Wiweko i Utami, 2017). Ponadto wykazano dobrą wartość predykcyjną (AUC = 0,814) testu dyspersji chromatyny odróżniającą mężczyzn płodnych od tych z par, u których stwierdzono idiopatyczne nawracające poronienia. W badaniach tych wartością graniczną, powyżej której istotnie rosło ryzyko utraty ciąży, było 18,50% SDF (Ribas-Maynou i wsp., 2012b). Z kolei badania autorskie ujawniły satysfakcjonującą wartość testu SCD, gdy analizowano fragmentację plemnikowego DNA zdrowych ochotników z normozoospermia i mężczyzn z nieprawidłowymi podstawowymi parametrami seminologicznymi (AUC = 0,753) lub też gdy porównywano mężczyzn z normozoospermia i mężczyzn niepłodnych (AUC = 0,785) (Gill i wsp., 2019a, 2019b). Co ciekawe, w badaniach tych wykazano, że wartością graniczną odróżniającą obie populacje mężczyzn było odpowiednio 18% i 20% SDF, podobnie jak w przypadkach wspomnianych wcześniej poronień (Ribas-Maynou i wsp., 2012b). Ponadto ryzyko wystąpienia nieprawidłowych parametrów seminologicznych w grupie mężczyzn z >18% SDF było ponad 5-krotnie wyższe (OR: 5,394) niż w grupie mężczyzn z ≤18% SDF (Gill i wsp., 2019a). Co więcej, w grupie mężczyzn niepłodnych ryzyko wystąpienia >20% SDF było ponad 6,5-krotnie wyższe (OR: 6,5909) niż w grupie zdrowych ochotników z normozoospermia (Gill i wsp., 2019b).

Biorąc pod uwagę opisane wyniki badań, w których wykorzystuje się test dyspersji chromatyny plemników, szansa na ciążę uzyskaną drogą naturalną może zmniejszać się już w przypadku wartości SDF >18%, która jest wartością niższą od wartości 30% uznanej przez producenta testu SCD jako wartość graniczna, powyżej której zmniejsza się potencjał płodności mężczyzn. Wydaje się zatem, że badani z SDF >18%, a w szczególności >20%, mogą wymagać interwencji terapeutycznej w celu osiągnięcia sukcesu rozrodczego. Zatem wynik SDF już

w przedziale 18–30% może mieć znaczenie kliniczne dla osiągnięcia sukcesu reprodukcyjnego.

Test z wykorzystaniem fluorochromu chromomycyny A3

Fluorochrom chromomycyny A3 (CMA3, ang. *chromomycin A3*) wykazuje powinowactwo do tych obszarów nici DNA, które bogate są w sekwencje guanina-cytosyna (G-C), z którymi wiążą się protaminy. Tym samym test ten pozwala na weryfikację plemników z obniżoną protaminacją chromatyny (komórki CMA3-pozytywne) (Agarwal i wsp., 2016; Erenpreiss i Zubkova, 2018; Kazerooni i wsp., 2009; Schulte i wsp., 2010; Sharma i wsp., 2020).

Wykazano, że mężczyźni płodni lub zdrowi ochotnicy z normozoospermia mają istotnie niższy odsetek gamet CMA3-pozytywnych (np. średnie: 13,00%, 14,35%, 21,10%, 24,43%, mediana: 25,00%) niż mężczyźni niepłodni (np. średnie: 47,82, 55,80%), niepłodni z oligozoospermia (średnia: 33,00%), astenozoospermia (średnia: 45,00%), oligoastenozoospermia (średnia: 62,00%), oligoastenoteratozoospermia (mediana: 41,00%), częścią (średnie: 49,70 i 60,10%) lub całkowitą globozoospermia (średnia: 68,60%), żyłakami powrózka nasennego (średnia: 57,15%) i z urazami rdzenia kręgowego (średnia: 49,95%) (Darmishonnejad i wsp., 2020; Hosseinifar i wsp., 2015; Kazerooni i wsp., 2009; Nasr-Esfahani i wsp., 2009; Nili i wsp., 2009; Talebi i wsp., 2008, 2012, 2013, 2016, 2018; Zandemami i wsp., 2012). Co więcej, wykazano, że nieprawidłowa protaminacja chromatyny plemników może być przyczyną poronień. U mężczyzn z par, u których stwierdzono nawracające poronienia, ujawniono istotnie wyższy odsetek plemników CMA3-pozytywnych (średnie: 25,90% i 42,35%) niż u mężczyzn płodnych (Kazerooni i wsp., 2009; Talebi i wsp., 2016). Warto również zaznaczyć, że test CMA3 uzyskał dobrą wartość prognostyczną (AUC = 0,855) dla dyskryminacji grupy mężczyzn płodnych i niepłodnych. W badaniach tych wartość graniczną stanowiło 61,00% plemników CMA3-pozytywnych (Nasr-Esfahani i wsp., 2009).

Test kometowy

Test kometowy (ang. *comet assay*) umożliwia bezpośrednią ocenę nacięć DNA podczas jego elektroforezy w żelu agarozowym. W analizie tej chromatynę plemników poddaje się działaniu soli o dużym stężeniu (w celu usunięcia białek związanych z DNA) oraz działaniu ditio-treitolu (DTT, ang. *dithiothreitol*) (redukcja mostków S–S). Wyróżnia się dwa warianty testu, pierwszy przeprowadzany jest w warunkach wysokiego pH (alkaliczny test kometowy, denaturacja przy pH >13), drugi przy pH neutralnym (obojętny/neutralny test kometowy, brak denaturacji). Alkaliczny test kometowy umożliwia zarówno weryfikację jednoniciowych pęknięć nici DNA (ssSDF, ang. *single stranded DNA fragmentation*), jak i podwójnych (dsSDF, ang. *double stranded DNA fragmentation*), natomiast neutralny jedynie dsSDF. Jednakże nie jest to metoda mająca status testu diagnostycznego

(Agarwal i wsp., 2016; Cortés-Gutiérrez i wsp., 2018; Majzoub i wsp., 2020; Schulte i wsp., 2010; Sharma i wsp., 2020; Simon i wsp., 2017; Sheikh i wsp., 2008).

Stosując alkaliczną odmianę testu kometowego, wykazano, że mężczyźni płodni mieli istotnie niższy stopień uszkodzeń DNA² (średnie: 21,10% i 30,40%) niż mężczyźni niepłodni (średnia: 68,22%), niepłodni z astenozoospermia (średnia: 45,00%), oligozoospermia (średnia: 33,00%), astenoteratozoospermia bez i z żyłakami powrózka nasennego (odpowiednio średnie: 60,52% i 78,98%), oligoastenozoospermia (średnia: 62,00%), oligoastenoteratozoospermia (średnia: 60,81%) oraz z translokacjami chromosomowymi (średnia: 73,24%). Stosując również neutralny test kometowy, uzyskano podobne różnice (Nili i wsp., 2009; Ribas-Maynou i wsp., 2012a). Ponadto badania (Enciso i wsp., 2009), w których osobno analizowano dsSDF i ssSDF (alkaliczny test kometowy), wykazały, że mężczyźni płodni mieli istotnie niższy odsetek plemników z dsSDF niż mężczyźni niepłodni (średnie: 6,60% vs. 33,60%), jednak nie różnili się odsetkiem plemników z ssSDF. Stąd też autorzy badań sugerują, że dsSDF mogą mieć większe znaczenie w etiopatogenezie męskiej niepłodności niż ssSDF. Ponadto podkreślają oni, że podwójne nacięcia nici DNA, w przeciwieństwie do pojedynczych nacięć, rzadziej podlegają efektywnej naprawie przez oocyty. Jednak nie zawsze wyniki testu kometowego korespondują ze statusem płodności mężczyzny. Nie stwierdzono bowiem różnic między grupą płodnych mężczyzn i grupą mężczyzn z niepłodnością idiopatyczną, gdy zastosowano alkaliczny test kometowy (Verit i wsp., 2006). Jednak ujawniono związek między wynikami testu kometowego a nawracającymi poronieniami (Ribas-Maynou i wsp., 2012b). Wykazano, że mężczyźni płodni mieli istotnie niższy odsetek plemników z pofragmentowanym DNA od mężczyzn z par, u których potwierdzono idiopatyczne nawracające poronienie niezależnie od zastosowanego wariantu metody. Istniała jednak duża różnica w średnich odsetkach plemników z uszkodzonym DNA w zależności od wariantu metody. W przypadku zastosowania neutralnego testu kometowego stwierdzono wyższe odsetki plemników z uszkodzonym DNA zarówno w grupie mężczyzn płodnych, jak i mężczyzn z par z historią poronień (średnie: 44,00% vs. 84,64%) w porównaniu z wynikami uzyskanymi z wykorzystaniem alkalicznego testu kometowego (średnie: 23,53% vs. 33,61%). Ponadto wartość predykcyjna testu kometowego zależała od wariantu tego testu. W przypadku alkalicznego wariantu osiągnięto dobrą (AUC = 0,899) i bardzo dobrą (AUC = 0,977) wartość prognostyczną dla odróżnienia mężczyzn płodnych od niepłodnych (Javed i wsp., 2019; Ribas-Maynou i wsp., 2012b). Wartość graniczną stanowiło 45,65% lub 48,47% plemników z fragmentacją DNA. Jednakże nie potwierdzono istotnej wartości prognostycznej tego testu dla

² Odsetek plemników z uszkodzonym DNA zawierał zarówno odsetek komórek z pojedynczymi, jak i podwójnymi nacięciami DNA.

odróżnienia mężczyzn z par, u których wystąpiły nawracające poronienia od mężczyzn płodnych. Natomiast stosując neutralny test kometowy, wykazano dobrą wartość prognostyczną testu (AUC = 0,858) dla odróżnienia tych grup mężczyzn. Wartością graniczną było 77,50% plemników z pofragmentowanym DNA. Jednakże w badaniach tych nie wykazano wartości prognostycznej tego wariantu metody dla osiągnięcia ciąży (Ribas-Maynou i wsp., 2012b).

Testy z wykorzystaniem oranżu akrydyny

Do oceny integralności DNA wykorzystuje się również metachromatyczny fluorochrom oranżu akrydyny (OA, ang. *acridine orange*), który po uprzedniej denaturacji chromatyny za pomocą niskiego pH wiąże się z jądrowym DNA plemników. Gamety zawierające pojedynczą nić DNA emitują czerwoną fluorescencję w obrębie główki (komórki OA-pozytywne czerwone), z kolei te z podwójną nicią DNA zieloną (komórki OA-pozytywne zielone, prawidłowe). Jednakże ocena odsetka plemników barwionych OA w mikroskopie fluorescencyjnym nie ma statusu testu diagnostycznego (Agarwal i wsp., 2016; Kazerooni i wsp., 2009; Majzoub i wsp., 2020; Schulte i wsp., 2010; Sharma i wsp., 2020). Natomiast weryfikacja przeprowadzona w cytometrze przepływowym – test SCSA (ang. *sperm chromatin structure assay*) – jest wystandaryzowaną metodą diagnostyczną, w której ustala się indeks fragmentacji DNA (DFI, ang. *DNA fragmentation index*) oraz odsetek niedojrzałych plemników z dużą zawartością histonów, które silnie wiążą OA (HDS, ang. *high DNA stainability*) (Agarwal i wsp., 2016; Evenson, 2018; Majzoub i wsp., 2020; Schulte i wsp., 2010; Sharma i wsp., 2020).

Badania z wykorzystaniem OA i mikroskopii fluorescencyjnej wykazały, że mężczyźni płodni i zdrowi ochotnicy z normozoospermia mają istotnie niższy odsetek plemników OA-pozytywnych (czerwonych) (np. średnie: 11,50%, 17,12%, 17,30%) niż mężczyźni nieplodni (średnie: 31,06 i 33,50%), z żylakami powrózka nasiennego (średnia: 60,55%), z urazami rdzenia kręgowego (średnia: 62,66%), z częściową (średnia: 33,20%) lub całkowitą globozoospermia (średnia: 30,10%) (Ajina i wsp., 2017; Talebi i wsp., 2008, 2013, 2018). Jednakże część autorów nie wykazała różnic, w odsetku plemników OA-pozytywnych czerwonych, między grupą mężczyzn płodnych i nieplodnych (Chohan i wsp., 2006), jak również między grupą mężczyzn z par, u których stwierdzono nawracające poronienia (Kazerooni i wsp., 2009).

Podobnie w przypadku testu SCSA wykazano, że mężczyźni płodni mają istotnie niższy DFI (np. średnie: 8,90, 11,10%, 11,80%, mediana: 25,65%) niż mężczyźni nieplodni (np. średnie: 20,30%, 22,00%, 23,10%), z nieplodnością idiopatyczną (mediana: 34,28%) lub częściową globozoospermia (średnia: 33,83%) (Chohan i wsp., 2006; Hosseinifar i wsp., 2015; Saleh i wsp., 2003; Venkatesh i wsp., 2011; Zini i wsp., 2001, 2002). Jednak wyniki badań autorów nie zawsze są zgodne. Stwierdza się także brak różnic między grupą mężczyzn płodnych i nieplodnych,

ale z normozoospermia (Zini i wsp., 2002). Wykazuje się również, że mężczyźni płodni oraz nieplodni z normozoospermia mają istotnie niższy odsetek HSD niż mężczyźni nieplodni z nieprawidłowymi standardowymi parametrami seminologicznymi (odpowiednio mediany: 8,00% i 9,00% vs. 11,00%) (Saleh i wsp., 2003).

Podobnie jak w przypadku opisywanych już wcześniej metod, dokonano analizy krzywej ROC w celu określenia wartości predykcyjnej testu SCSA. Analiza ta wykazała, że test ten ma nie tylko satysfakcjonującą (AUC = 0,790), ale również bardzo dobrą (AUC = 0,919) wartość predykcyjną dla odróżnienia mężczyzn płodnych od nieplodnych. Wartość graniczna DFI dla poszczególnych AUC, powyżej której istnieje ryzyko nieplodności, wynosiła odpowiednio 20,08% i 30,28% (Javed i wsp., 2019; Venkatesh i wsp., 2011). Dane te zgodne są z wynikami innych autorów, którzy wskazują, że DFI ≤ 20% wiąże się z wysoką szansą na uzyskanie ciąży spontanicznej oraz po zastosowaniu inseminacji domacicznej, natomiast przy >20–30% szansa ta zdecydowanie się zmniejsza. Z kolei w przypadku DFI >30% sugeruje się wykorzystanie procedury zapłodnienia pozaustrojowego. Nie można pominąć faktu, że DFI >40% istotnie zwiększa ryzyko na wystąpienia poronień (Cho i wsp., 2017; Evenson, 2017).

Test TUNEL

Metoda TUNEL (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling*) jest metodą bezpośrednio weryfikującą nacięcia DNA. Dzięki egzogennej terminalnej transferazie deoksynukleotydów (TdT, ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase*) do wolnych końców 3'-OH pojedynczych i podwójnych nacięć nici DNA przyłączane są deoksynukleotydy (dNTP, ang. *deoxynucleotides*). Nacięcia DNA znakowane są fluoresceiną. Weryfikacja odsetka plemników z pofragmentowanym DNA (komórki TUNEL-pozytywne emitujące zieloną fluorescencję) przeprowadzana jest przeważnie w cytometrze przepływowym, ale można jej dokonać również przy pomocy mikroskopii fluorescencyjnej. Niezależnie od wykorzystanej aparatury badawczej metoda TUNEL nie ma statusu testu diagnostycznego (Agarwal i wsp., 2016; Muratori i Baldi, 2018; Schulte i wsp., 2010; Simon i wsp., 2017).

Jak wykazało wielu autorów, odsetek plemników TUNEL-pozytywnych u mężczyzn płodnych lub zdrowych ochotników z normozoospermia (np. średnie: 5,90%, 7,75%, 9,03%) jest istotnie niższy niż u mężczyzn nieplodnych (np. średnie: 18,84%, 32,91%, 40,90%), z urazami rdzenia kręgowego (średnia: 32,91%) oraz z częściową lub całkowitą globozoospermia (odpowiednio średnie: 12,30% i 18,30%) (Chohan i wsp., 2006; Darmishonnejad i wsp., 2020; Sergerie i wsp., 2005; Sharma i wsp., 2010; Talebi i wsp., 2013, 2018; Zhang i wsp., 2010). Ponadto ustalono, że mężczyźni z par, u których stwierdzono nawracające poronienia, mieli istotnie wyższy odsetek plemników TUNEL-pozytywnych niż mężczyźni płodni (średnie: 30,05% vs. 9,03%) (Talebi i wsp., 2016). Test TUNEL wydaje się również użytecznym

narzędziem umożliwiającym odróżnienie męczyzn płodnych od niepłodnych. Wykazano bowiem, że ma on dobrą (AUC = 0,820) lub bardzo dobrą (AUC = 0,901, 0,930) wartość predykcyjną. Stwierdzana wartość graniczna odsetka plemników TUNEL-pozytywnych, dla poszczególnych AUC wynosiła odpowiednio 19,25%, 22,08% i 20,00% (*Javed i wsp.*, 2019; *Sergerie i wsp.*, 2005; *Sharma i wsp.*, 2010).

Podsumowanie

Wyniki opisanych badań naukowych wyraźnie wskazują, że uszkodzenia chromatyny plemników są jednym z kluczowym czynników determinujących męską płodność, który może wpływać na sukces reprodukcyjny. Nieprawidłowości te mogą całkowicie uniemożliwiać zapłodnienie bądź też mogą być tolerowane na wczesnych etapach rozwoju prenatalnego, zwiększając jednak ryzyko utraty ciąży. Można zatem uznać, że ocena chromatyny plemników dostarcza cennych informacji o ich kompetencji do zapłodnienia, prawidłowego rozwoju zarodka i przebiegu ciąży. Analizy te powinny być rozważane wspólnie z wynikami standardowej oceny semilogicznej.

Finansowanie

Badania statutowe Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie nr: WNoZ-322-01/S/19/2020

Piśmiennictwo

Adewoyin M., Ibrahim M., Roszaman R., Md Isa M.L., Alewi N.A.M., Rafa A.A. i wsp.: Male Infertility: The Effect of Natural Antioxidants and Phytocompounds on Seminal Oxidative Stress. *Diseases*. 2017, 5 (1), 9. DOI: 10.3390/diseases5010009. PMID: 28933362.

Agarwal A., Majzoub A., Esteves S.C., Ko E., Ramasamy R., Zini A.: Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios. *Transl Androl Urol*. 2016, 5 (6), 935–950. DOI: 10.21037/tau.2016.10.03. PMID: 28078226.

Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R.: A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015, 13, 37. DOI: 10.1186/s12958-015-0032-1. PMID: 25928197.

Agarwal A., Parekh N., Panner Selvam M.K., Henkel R., Shah R., Homa S.T. i wsp.: Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*. 2019, 37 (3), 296–312. DOI: 10.5534/wjmh.190055 PMID: 31081299.

Agarwal A., Sengupta P.: Oxidative Stress and Its Association with Male Infertility. W: *Male Infertility*. Red. Parekattil S., Esteves S., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2020, 57–68. DOI: 10.1007/978-3-030-32300-4_6.

Aitken R.J.: Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction*. 2020, 159 (4), 189–201. DOI: 10.1530/REP-19-0452. PMID: 31846434.

Aitken R.J., Baker M.A.: Causes and consequences of apoptosis in spermatozoa; contributions to infertility and impacts on development. *Int J Dev Biol*. 2013, 57 (2–4), 265–272. DOI: 10.1387/ijdb.130146ja. PMID: 23784837.

Aitken R.J., Baker M.A., Nixon B.: Are sperm capacitation and apoptosis the opposite ends of a continuum driven by oxidative stress? *Asian J Androl*. 2015, 17 (4), 633–639. DOI: 10.4103/1008-682X.153850. PMID: 25999358.

Aitken R.J., Drevet J.R.: The Importance of Oxidative Stress in Determining the Functionality of Mammalian Spermatozoa: A Two-Edged Sword. *Antioxidants* (Basel). 2020, 9 (2), 111. DOI: 10.3390/antiox9020111. PMID: 32012712.

Ajina T., Ammar O., Haouas Z., Sallem A., Ezzi L., Grissa I. i wsp.: Assessment of human sperm DNA integrity using two cytochemical tests: Acridine orange test and toluidine blue assay. *Andrologia*. 2017, 49 (10). DOI: 10.1111/and.12765. PMID: 28224638.

Ammar O., Mehdi M., Tekeya O., Neffati F., Haouas Z.: Novel association between apoptotic sperm biomarkers with seminal biochemical parameters and acetylcholinesterase activity in patients with teratozoospermia. *J Assist Reprod Genet*. 2019, 36 (11), 2367–2378. DOI: 10.1111/and.12765:10.1007/s10815-019-01579-7. PMID: 31512048.

Bianchi P.G., Manicardi G.C., Bizzaro D., Bianchi U., Sakkas D.: Effect of deoxyribonucleic acid protamination on fluorochrome staining and in situ nick-translation of murine and human mature spermatozoa. *Biol Reprod*. 1993, 49 (5), 1083–1088. DOI: 10.1111/and.12765: 10.1095/biolreprod49.5.1083. PMID: 8286574.

Björndahl L., Kvist U.: Structure of Chromatin in Spermatozoa. W: *Genetic Damage in Human Spermatozoa*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Red. Baldi E., Muratori M. Springer, New York, USA, 2014, 1–11. DOI: 10.1111/and.12765: 10.1007/978-1-4614-7783-9_1.

Bui A.D., Sharma R., Henkel R., Agarwal A.: Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility. *Andrologia*. 2018, 50 (8), e13012. DOI: 10.1111/and.12765:10.1111/and.13012. PMID: 29644708.

Chanduszko-Salska J.: Znaczenie pomocy psychologicznej i psychoterapii we wspomaganiu leczenia niepłodności partnerskiej. *Post Androl*. 2016, 3 (1), 22–32.

Cho C.-L., Agarwal A.: Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: A systematic review. *Arab. J. Urol*. 2018, 16 (1), 21–34. DOI: 10.1111/and.12765:10.1016/j.aju.2017.11.002. PMID: 29713533.

Cho C.L., Agarwal A., Majzoub A., Esteves S.C.: A single cut-off value of sperm DNA fragmentation testing does not fit all. *Transl Androl Urol*. 2017 (4), 501–503. DOI: 10.21037/tau.2017.08.12. PMID: 29082949.

Chohan K.R., Griffin J.T., Lafromboise M., De Jonge C.J., Carrell D.T.: Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm. *J Androl*. 2006, 27 (1), 53–59. DOI: 10.2164/jandrol.05068. PMID: 16400078.

Choucair F.B., Rachkida E.G., Raada G.C., Salibaa E.M., Zeidanb N.S., Jounblata R.A. i wsp.: High level of DNA fragmentation in sperm of Lebanese infertile men using Sperm Chromatin Dispersion test. *Middle East Fertil Society Journal*. 2016, 21, 269–276. DOI: 10.1016/j.mefs.2016.06.005.

Cortés-Gutiérrez E.I., Dávila-Rodríguez M.I., Fernández J.L., López-Fernández C., Aragón-Tovar A.R., Urbina-Bernal L.C. i wsp.: DNA damage in spermatozoa from infertile men with varicocele evaluated by sperm chromatin dispersion and DBD-FISH. *Arch Gynecol Obstet*. 2016, 293 (1), 189–196. DOI: 10.1007/s00404-015-3822-y. PMID: 26223186.

Cortés-Gutiérrez E.I., Dávila-Rodríguez M.I., López-Fernández C.: The Comet Assay. W: *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage*. Red. Zini A., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2018, 119–135. DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6_7.

Darmishonnejad Z., Zarei-Kheirabadi F., Tavalae M., Zarei-Kheirabadi M., Zohrabi D., Nasr-Esfahani M.H.: Relationship between sperm telomere length and sperm quality in infertile men. *Andrologia*. 2020, 52 (5), e13546. DOI: 10.1111/and.13546. PMID: 32189393.

Elbardisi H., Finelli R., Agarwal A., Majzoub A., Henkel R., Arafa M.: Predictive value of oxidative stress testing in semen for sperm DNA fragmentation assessed by sperm chromatin dispersion test. *Andrology*. 2020, 8 (3), 610–617. DOI: 10.1111/andr.12743. PMID: 31828966.

Enciso M., Sarasa J., Agarwal A., Fernández J.L., Gosálvez J.: A two-tailed Comet assay for assessing DNA damage in spermatozoa. *Reprod Biomed Online*. 2009, 18 (5), 609–616. DOI: 10.1016/s1472-6483 (10)60003-x. PMID: 19549437.

Erenpreiss J., Zubkova K.: Cytochemical Tests of Sperm Chromatin Maturity W: *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage*. Red.

- Zini A., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2018, 153–162. DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6_9.
- Evenson D.P.: Evaluation of sperm chromatin structure and DNA strand breaks is an important part of clinical male fertility assessment. *Transl Androl Urol.* 2017 (4), 495–S500. DOI: 10.21037/tau.2017.07.20. PMID: 29082168. PMCID: PMC5643675.
- Evenson D.P.: Flow cytometric analysis of male germ cell quality. *Methods Cell Biol.* 1990, 33, 401–410. DOI: 10.1016/s0091-679x(08)60543-9. PMID: 1707492.
- Evenson D.P.: Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®): Evolution from Origin to Clinical Utility. W: *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage*. Red. Zini A., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2018, 65–90. DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6_4.
- Evgeni E., Lymberopoulos G., Gazouli M., Asimakopoulos B.: Conventional semen parameters and DNA fragmentation in relation to fertility status in a Greek population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015, 188, 17–23. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2015.02.026. PMID: 25770843.
- Fernández J.L., Johnston S., Gosálvez J.: Sperm Chromatin Dispersion (SCD) Assay. W: *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage*. Red. Zini A., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2018, 137–152. DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6_8.
- Fernández J.L., Muriel L., Goyanes V., Segrelles E., Gosálvez J., Enciso M. *i wsp.*: Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertil Steril.* 2005, 84 (4), 833–842. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.089. PMID: 16213830.
- Gallegos G., Ramos B., Santiso R., Goyanes V., Gosálvez J., Fernández J.L.: Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by Chlamydia trachomatis and Mycoplasma. *Fertil Steril.* 2008, 90 (2), 328–334. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.06.035. PMID: 17953955.
- Gill K., Jakubik J., Rosiak-Gill A., Kups M., Lukaszuk M., Kurpisz M. *i wsp.*: Utility and Predictive Value of Human Standard Semen Parameters and Sperm DNA Dispersion for Fertility Potential. *Int J Environ Res Public Health.* 2019a, 16 (11), 2004. DOI: 10.3390/ijerph16112004. PMID: 31195656.
- Gill K., Rosiak-Gill A., Jakubik J., Patorski L., Lukaszuk M., Piasecka M.: The higher risk for sperm DNA damage in infertile men. *Ginek Pol.* 2019b, 90 (12), 684–691. DOI: 10.5603/GP.2019.0117. PMID: 31909460.
- Gorczyca W., Traganos F., Jesionowska H., Darzynkiewicz Z.: Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. *Exp Cell Res.* 1993, 207 (1), 202–205. DOI: 10.1006/excr.1993.1182. PMID: 8391465.
- Grunewald S., Paasch U., Said T.M., Sharma R.K., Glander H.J., Agarwal A.: Caspase activation in human spermatozoa in response to physiological and pathological stimuli. *Fertil Steril.* 2005, 83 (1), 1106–1112. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.12.011. PMID: 15831282.
- Hao S.L., Ni F.D., Yang W.X.: The dynamics and regulation of chromatin remodeling during spermiogenesis. *Gene.* 2019, 706, 201–210. DOI: 10.1016/j.gene.2019.05.027. PMID: 31085275.
- Henkel R., Leisegang K.: Origins of Sperm DNA Damage. W: *Male Infertility*. Red. Parekattil S., Esteves S., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2020, 361–376. DOI: 10.1007/978-3-030-32300-4_29
- Henkel R., Solomon M.: Oxidative Stress. W: *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage*. Red. Zini A., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2018, 179–195. DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6_11.
- Hosseiniifar H., Yazdanikah S., Modarresi T., Totonchi M., Sadighi Gilani M.A., Sabbaghian M.: Correlation between sperm DNA fragmentation index and CMA3 positive spermatozoa in globozoospermic patients. *Andrology.* 2015, 3 (3), 526–531. DOI: 10.1111/andr.12030. PMID: 25865619.
- Idelchik M.D., Begley U., Begley T.J., Melendez J.A.: Mitochondrial ROS control of cancer. *Semin Cancer Biol.* 2017, 47, 57–66. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.04.005. PMID: 28445781.
- Inhorn M.C., Patrizio P.: Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update.* 2015, 21 (4), 411–426. DOI: 10.1093/humupd/dmv016. PMID: 25801630.
- Jakubik-Uljasz J., Gill K., Rosiak-Gill A., Piasecka M.: Relationship between sperm morphology and sperm DNA dispersion. *Transl Androl Urol.* 2020, 9 (2), 405–415. DOI: 10.21037/tau.2020.01.31. PMID: 32420146.
- Javed A., Talkad M.S., Ramaiah M.K.: Evaluation of sperm DNA fragmentation using multiple methods: a comparison of their predictive power for male infertility. *Clin Exp Reprod Med.* 2019, 46 (1), 14–21. DOI: 10.5653/term.2019.46.1.14. PMID: 30827073.
- Kazerooni T., Asadi N., Jadid L., Kazerooni M., Ghanadi A., Ghaffarpassand F. *i wsp.*: Evaluation of sperm's chromatin quality with acridine orange test, chromomycin A3 and aniline blue staining in couples with unexplained recurrent abortion. *J Assist Reprod Genet.* 2009, 26 (11-12), 591–596. DOI: 10.1007/s10815-009-9361-3. PMID: 19894107.
- Lopes S., Sun J.G., Jurisicova A., Meriano J., Casper R.F.: Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 1998, 69 (3), 528–532. DOI: 10.1016/s0015-0282(97)00536-0. PMID: 9531891.
- Machen G.L., Sandlow J.I.: Causes of Male Infertility. W: *Male Infertility*. Red. Parekattil S., Esteves S., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2020, 3–14. DOI: 10.1007/978-3-030-32300-4_1.
- Majzoub A., Agarwal A., Cho C-L., Esteves S.C.: Best Practice Guidelines for Sperm DNA Fragmentation Testing. W: *Male Infertility*. Red. Parekattil S., Esteves S., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2020, 793–804. DOI: 10.1007/978-3-030-32300-4_63.
- Majzoub A., Arafa M., Mahdi M., Agarwal A., Al Said S., Al-Emadi I. *i wsp.*: Oxidation-reduction potential and sperm DNA fragmentation, and their associations with sperm morphological anomalies amongst fertile and infertile men. *Arab J Urol.* 2018, 16 (1), 87–95. doi:10.1016/j.aju.2017.11.014. PMID: 29713539.
- Manicardi G.C., Bianchi P.G., Pantano S., Azzoni P., Bizzaro D., Bianchi U. *i wsp.*: Presence of endogenous nicks in DNA of ejaculated human spermatozoa and its relationship to chromomycin A3 accessibility. *Biol Reprod.* 1995, 52 (4), 864–867. DOI: 10.1095/biolreprod52.4.864. PMID: 7540051.
- McPherson S.M., Longo F.J.: Localization of DNase I-hypersensitive regions during rat spermatogenesis: stage dependent patterns and unique sensitivity of elongating spermatids. *Mol Reprod Dev.* 1992, 31, 268–79. DOI: 10.1002/mrd.1080310408. PMID: 1315143.
- Muratori M., Baldi E.: TUNEL Assay. W: *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage*. Red. Zini A., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2018, 91–102. DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6_5.
- Muratori M., Marchiani S., Maggi M., Forti G., Baldi E.: Origin and biological significance of DNA fragmentation in human spermatozoa. *Front Biosci.* 2006, 11, 1491–1499. DOI: 10.2741/1898. PMID: 16368531.
- Muratori M., Marchiani S., Tamburrino L., Baldi E.: Sperm DNA Fragmentation: Mechanisms of Origin. W: *Genetic Damage in Human Spermatozoa, Advances in Experimental Medicine and Biology*. Red. Baldi E., Muratori M. Springer Cham, Switzerland, 2019, 75–86. DOI: 10.1007/978-3-030-21664-1_5.
- Murshidi M.M., Choy J.T., Eisenberg M.L.: Male Infertility and Somatic Health. *Urol Clin North Am.* 2020, 47 (2), 211–217. DOI: 10.1016/j.ucl.2019.12.008. PMID: 32272993.
- Nasr-Esfahani M.H., Aboutorabi R., Razavi S.: Credibility of Chromomycin A3 Staining in Prediction of Fertility. *Intern J of Fertile and Steril.* 2009, 3 (1), 5–10.
- Nili H.A., Mozdarani H., Aleyasin A.: Correlation of sperm DNA damage with protamine deficiency in Iranian subfertile men. *Reprod Biomed Online.* 2009, 18 (4), 479–485. DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60123-x. PMID: 19400988.
- Pan M.M., Hockenberry M.S., Kirby E.W., Lipshultz L.I.: Male Infertility Diagnosis and Treatment in the Era of In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. *Med Clin North Am.* 2018, 102 (2), 337–47. DOI: 10.1016/j.mcna.2017.10.008. PMID: 29406062.
- Panner Selvam M.K., Ambar R.F., Agarwal A., Henkel R.: Etiologies of sperm DNA damage and its impact on male infertility. *Andrologia.* 2020, e13706. DOI: 10.1111/and.13706. PMID: 32559347.
- Patankar A., Parte P.: Sperm Chromatin Compaction and Male Infertility. W: *Male Infertility: Understanding, Causes and Treatment*. Red. Singh R., Singh K. Springer, Singapore, 2017, 295–315. DOI: 10.1007/978-981-10-4017-7_17.
- Pourmasumi S., Khoradmehr A., Rahiminia T., Sabeti P., Talebi A.R., Ghasemzadeh J.: Evaluation of Sperm Chromatin Integrity Using Aniline Blue and Toluidine Blue Staining in Infertile and Normozoospermic Men. *J Reprod Infertil.* 2019, 20 (2), 95–101. PMID: 31058054.

- Ribas-Maynou J., Benet J.: Single and Double Strand Sperm DNA Damage: Different Reproductive Effects on Male Fertility. *Genes* (Basel). 2019, 10 (2), 105. DOI: 10.3390/genes10020105. PMID: 30708937.
- Ribas-Maynou J., García-Peiró A., Abad C., Amengual M.J., Navarro J., Benet J.: Alkaline and neutral Comet assay profiles of sperm DNA damage in clinical groups. *Hum Reprod*. 2012a, 27 (3), 652–658. DOI: 10.1093/humrep/der461. PMID: 22252081.
- Ribas-Maynou J., García-Peiró A., Fernandez-Encinas A., Amengual M.J., Prada E., Cortés P. i wsp.: Double stranded sperm DNA breaks, measured by Comet assay, are associated with unexplained recurrent miscarriage in couples without a female factor. *PLoS One*. 2012b, 7 (9), e44679. DOI: 10.1371/journal.pone.0044679. PMID: 23028579.
- Rosiak-Gill A., Gill K., Jakubik J., Fraczek M., Patorski L., Gaczarzewicz D. i wsp.: Age-related changes in human sperm DNA integrity. *Aging* (Albany NY). 2019, 11 (15), 5399–5411. DOI: 10.18632/aging.102120. PMID: 31412318.
- Sakkas D., El-Fakahany H.M.: Apoptosis in Ejaculated Spermatozoa and in the Normal and Pathological Testes: Abortive Apoptosis and Sperm Chromatin Damage. W: *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage*. Red. Zini A., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2018, 197–218. DOI: 10.1007/978-3-319-71815-6_12.
- Sakkas D., Seli E., Bizzaro D., Tarozzi N., Manicardi G.C.: Abnormal spermatozoa in the ejaculate: abortive apoptosis and faulty nuclear remodelling during spermatogenesis. *Reprod Biomed Online*. 2003, 7 (4), 428–432. DOI: 10.1016/s1472-6483(10)61886-x. PMID: 14656403.
- Saleh R.A., Agarwal A., Nada E.A., El-Tonsy M.H., Sharma R.K., Meyer A. i wsp.: Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil Steril*. 2003, 79 (3), 1597–1605. DOI: 10.1016/s0015-0282(03)00337-6. PMID: 12801566.
- Schulte R.T., Ohl D.A., Sigman M., Smith G.D.: Sperm DNA damage in male infertility: etiologies, assays, and outcomes. *J Assist Reprod Genet*. 2010, 27 (1), 3–12. DOI: 10.1007/s10815-009-9359-x. PMID: 20012685.
- Sergerie M., Laforest G., Bujan L., Bissonnette F., Bleau G.: Sperm DNA fragmentation: threshold value in male fertility. *Hum Reprod*. 2005, 20 (12), 3446–3451. DOI: 10.1093/humrep/dei231. PMID: 16085665.
- Sharma R., Martinez M.P., Agarwal A.: Sperm Chromatin Integrity Tests and Indications. W: *Male Infertility*. Red. Parekattil S., Esteves S., Agarwal A. Springer, Cham, Switzerland, 2020, 99–122. DOI: 10.1007/978-3-030-32300-4_8.
- Sharma R.K., Sabanegh E., Mahfouz R., Gupta S., Thiyagarajan A., Agarwal A.: TUNEL as a test for sperm DNA damage in the evaluation of male infertility. *Urology*. 2010, 76 (6), 1380–1386. DOI: 10.1016/j.urology.2010.04.036. PMID: 20573380.
- Sheikh N., Amiri I., Farimani M., Najafi R., Hadeie J.: Correlation between sperm parameters and sperm DNA fragmentation in fertile and infertile men. *Iran J Reprod Med*. 2008, 6 (1), 13–18.
- Simon L., Emery B.R., Carrell D.T.: Review: Diagnosis and impact of sperm DNA alterations in assisted reproduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017, 44, 38–56. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2017.07.003. PMID: 28935366.
- Szkodziak F., Krzyżanowski J., Szkodziak P.: Psychological aspects of infertility. A systematic review. *J Int Med Res*. 2020, 48 (6), 300060520932403. DOI: 10.1177/0300060520932403. PMID: 32600086.
- Talebi A.R., Fesahat F., Mangoli E., Ghasemzadeh J., Nayeri M., Sadeghian-Nodoshan F.: Relationship between sperm protamine deficiency and apoptosis in couples with unexplained repeated spontaneous abortions. *Int J Reprod Biomed*. 2016, 14 (3), 199–204. PMID: 27294219.
- Talebi A.R., Ghasemzadeh J., Khalili M.A., Halvaei I., Fesahat F.: Sperm chromatin quality and DNA integrity in partial versus total globozoospermia. *Andrologia*. 2018, 50 (1). DOI: 10.1111/and.12823. PMID: 28517043.
- Talebi A.R., Khalili M.A., Vahidi S., Ghasemzadeh J., Tabibnejad N.: Sperm chromatin condensation, DNA integrity, and apoptosis in men with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. 2013, 36 (2), 140–146. DOI: 10.1179/2045772312Y.0000000055. PMID: 23809529.
- Talebi A.R., Moein M.R., Tabibnejad N., Ghasemzadeh J.: Effect of varicocele on chromatin condensation and DNA integrity of ejaculated spermatozoa using cytochemical tests. *Andrologia*. 2008, 40 (4), 245–251. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2008.00852.x. PMID: 18727735.
- Talebi A.R., Vahidi S., Aflatoonian A., Ghasemi N., Ghasemzadeh J., Firoozabadi R.D. i wsp.: Cytochemical evaluation of sperm chromatin and DNA integrity in couples with unexplained recurrent spontaneous abortions. *Andrologia*. 2012, 44 (1), 462–470. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2011.01206.x. PMID: 21806662.
- Tsarev I., Bungum M., Giwercman A., Erenpreisa J., Ebbesen T., Ernst E. i wsp.: Evaluation of male fertility potential by Toluidine Blue test for sperm chromatin structure assessment. *Hum Reprod*. 2009, 24 (7), 1569–1574. DOI: 10.1093/humrep/dep068. PMID: 19304993.
- Uppangala S., Pudakalakatti S., D'souza F., Salian S.R., Kalthur G., Kumar P. i wsp.: Influence of sperm DNA damage on human preimplantation embryo metabolism. *Reprod Biol*. 2016, 16 (3), 234–241. DOI: 10.1016/j.repbio.2016.07.004. PMID: 27492188.
- van der Horst G., du Plessis S.S.: Not just the marriage of figaro: but the marriage of WHO/ESHRE semen analysis criteria with sperm functionality. *Post Androl Online*. 2017, 4 (1), 6–21.
- Vander Borgh M., Wyns C.: Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018, 62, 2–10. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012. PMID: 29555319.
- Vatannejad A., Tavilani H., Sadeghi M.R., Karimi M., Lakpour N., Amanpour S. i wsp.: Evaluation of the NOX5 protein expression and oxidative stress in sperm from asthenozoospermic men compared to normozoospermic men. *J Endocrinol Invest*. 2019, 42 (10), 1181–1189. DOI: 10.1007/s40618-019-01035-4. PMID: 30963466.
- Venkatesh S., Singh A., Shamsi M.B., Thilagavathi J., Kumar R., Mitra D.K. i wsp.: Clinical significance of sperm DNA damage threshold value in the assessment of male infertility. *Reprod Sci*. 2011, 18 (10), 1005–1013. DOI: 10.1177/1933719111401662. PMID: 21960513.
- Verit F.F., Verit A., Kocyigit A., Ciftci H., Celik H., Koksall M.: No increase in sperm DNA damage and seminal oxidative stress in patients with idiopathic infertility. *Arch Gynecol Obstet*. 2006, 274 (6), 339–344. DOI: 10.1007/s00404-006-0172-9. PMID: 16912857.
- Ward S.W.: Sperm Chromatin Stability and Susceptibility to Damage in Relation to Its Structure. W: *The Sperm Cell*, Second Edition. De Jonge C.J., Barratt C.L. (red). Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2017, 21–35. DOI: 10.1017/9781316411124.004.
- Wiweko B., Utami P.: Predictive value of sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation index in male infertility. *Basic Clin Androl*. 2017, 27, 1. DOI: 10.1186/s12610-016-0046-3. PMID: 28239474.
- World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. World Health Organization Press, Geneva 2010.
- Zandemami M., Qujeq D., Akhondi M.M., Kamali K., Raygani M., Lakpour N. i wsp.: Correlation of CMA3 Staining with Sperm Quality and Protamine Deficiency. *Lab Medicine*. 2012, 43 (6), 262–267. DOI: 10.1309/LMB42F9QXYKFLJNG.
- Zhang L.H., Qiu Y., Wang K.H., Wang Q., Tao G., Wang L.G.: Measurement of sperm DNA fragmentation using bright-field microscopy: comparison between sperm chromatin dispersion test and terminal uridine nick-end labeling assay. *Fertil Steril*. 2010, 94 (3), 1027–1032. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.04.034. PMID: 19505686.
- Zini A., Fischer M.A., Sharir S., Shayegan B., Phang D., Jarvi K.: Prevalence of abnormal sperm DNA denaturation in fertile and infertile men. *Urology*. 2002, 60 (6), 1069–1072. DOI: 10.1016/s0090-4295(02)01975-1. PMID: 12475672.
- Zini A., Kamal K., Phang D., Willis J., Jarvi K.: Biologic variability of sperm DNA denaturation in infertile men. *Urology*. 2001, 58 (2), 258–261. DOI: 10.1016/s0090-4295(01)01180-3. PMID: 11489713.

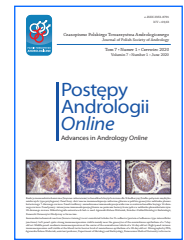


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



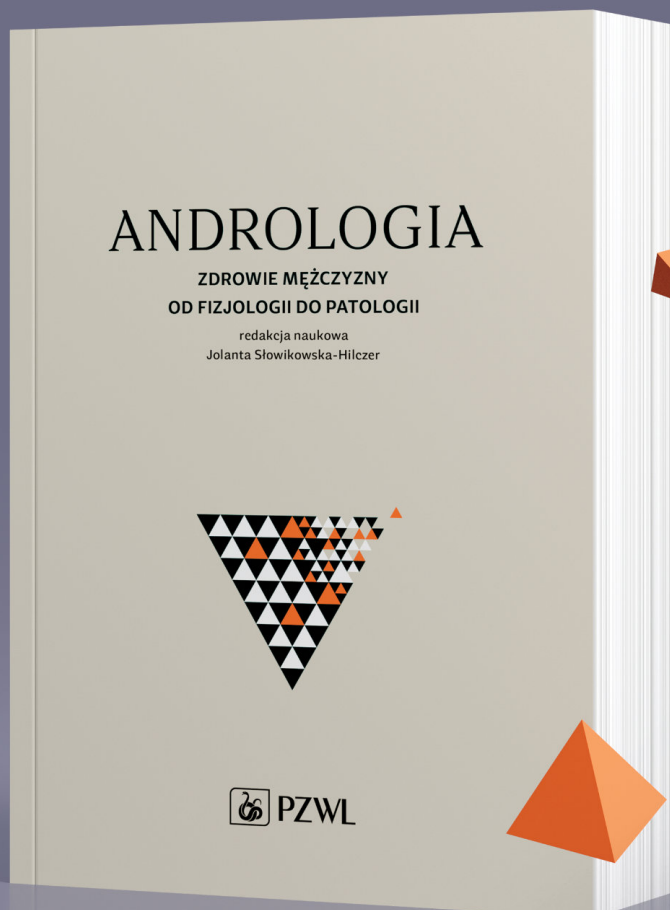
Premiera!

- Kompleksowe ujęcie postępowania diagnostycznego i terapeutycznego
- Ponad 1300 stron praktycznej wiedzy od wybitnych polskich specjalistów

RABAT
25%
Z KODEM
PZWL25



Patron medialny



 szukaj na pzwł.pl

Tu można złożyć zamówienie → PZWL Księgarnia Medyczna

Oddajemy do rąk czytelników starannie przygotowany podręcznik „Andrologii” przygotowany przez najlepszych specjalistów w kraju. To pierwsze tak obszerne opracowanie na temat zdrowia mężczyzn na rynku wydawniczym. Obszerne, całościowe ujęcie zagadnień andrologicznych przygotowane przez andrologów, endokrynologów, urologów, seksuologów, chirurgów, pediatrów, genetyków, biologów, diagnostów, a także psychologów i prawników.

Andrologia jest dziedziną medycyny, która zajmuje się męskim układem płciowym i zdrowiem mężczyzn w zakresie prawidłowego rozwoju płciowego, płodności, sprawności seksualnej i starzenia się, z zachowaniem dobrej jakości życia.

Jako dziedzina medycyny andrologia wyodrębniła się na pograniczu endokrynologii, urologii, seksuologii, medycyny rozrodu i pediatrii. Obejmuje takie problemy

zdrowotne mężczyzn jak: niepłodność, niedobór androgenów, zaburzenia seksualne i zaburzenia rozwoju płciowego.

W ostatnich latach obserwuje się niezwykle dynamiczny rozwój andrologii spowodowany zastosowaniem nowych metod badawczych z dziedziny biochemii, biologii molekularnej i genetyki oraz powrót do bardziej intensywnych badań nad zaburzeniami męskiego układu płciowego. Powstają coraz doskonalsze metody diagnostyki laboratoryjnej i obrazowej. Pojawiają się nowe preparaty stosowane w terapii zaburzeń hormonalnych, seksualnych i niepłodności. Opracowywane są rekomendacje dotyczące postępowania w zaburzeniach andrologicznych oparte na coraz silniejszych dowodach naukowych.

Praktyczna księga postępowania diagnostycznego i terapeutycznego w zaburzeniach andrologicznych.

Ewa Rajpert-De Meyts, MD, PhD, DMSc

Konsultant naukowy, Department of Growth and Reproduction, Copenhagen University Hospital (Rigshospitalet), Sekretarz Europejskiej Akademii Andrologii (EAA)

Znakomity podręcznik andrologii obejmujący wszystkie aspekty tej multidyscyplinarnej dziedziny, która zajmuje się problemami zdrowia specyficznymi dla mężczyzn, więc wymaga znajomości wielu aspektów endokrynologii, urologii, medycyny rozrodu, seksuologii, diagnostyki laboratoryjnej, genetyki, onkologii i chorób wewnętrznych, szczególnie kardiologii. Gorąco polecam książkę specjalistom różnych dyscyplin. Uważam również, że powinna być obowiązkową lekturą dla każdego praktykującego androloga, a także dla specjalistów w leczeniu niepłodności, włączając ginekologów.

Książka będzie niezwykle pomocna dla młodych lekarzy, którzy planują specjalistyczne egzaminy z andrologii.

Wielką zaletą książki jest kompleksowe podejście do tematu, ze szczegółowym omówieniem najnowszej wiedzy dotyczącej męskiej fizjologii i patologii od wczesnego okresu rozwojowego aż do wieku starczego, co uczyni ją bardzo przydatną również dla pediatrów, urologów dziecięcych i lekarzy ogólnych. Nie pominięto

również ważnych aspektów psychologicznych, etycznych i prawnych. Redaktor naukowy i autorzy są ekspertami na najwyższym poziomie w skali międzynarodowej i ich zalecenia są oparte na najnowszych doniesieniach ze światowego piśmiennictwa i przyjętych dowodach naukowych, z komentarzami i doświadczeniami dostosowanymi do specyfiki sytuacji w kraju. Książka jest dowodem postępów polskiej andrologii i na pewno przyczyni się do dalszego rozwoju tej dynamicznej dyscypliny.

Książka, którą przeczytałam z wielkim zainteresowaniem, jest jednym z najlepszych podręczników andrologii, jakie kiedykolwiek widziałam – i to w skali międzynarodowej. Gratulacje za wybór tematów i autorów należą się redaktorowi naukowemu, prof. Jolancie Słowikowskiej-Hilcz, długoletniej przewodniczącej Polskiego Towarzystwa Andrologicznego. Imponująca jest wszechstronność tematyki pasująca do nowoczesnego holistycznego podejścia do pacjenta.

prof. Aleksander Giwercman

Uniwersytet w Lund, Malmö, Szwecja

Trzymanie w ręku nowego podręcznika z andrologii klinicznej zdecydowanie nie jest codziennym wydarzeniem! Jest to doskonała publikacja nie tylko pod względem treści, lecz także pedagogicznego sposobu przedstawienia informacji, zarówno w odniesieniu do zestawu tematów, struktury poszczególnych rozdziałów, jak i szerokiego wyboru wysokiej jakości ilustracji i tabel. Wszystkie rozdziały są napisane przez ekspertów w swojej dziedzinie. Książka jest nie tylko doskonałym narzędziem dla tych lekarzy, którzy chcą zostać andrologami klinicznymi, lecz także klinicystów reprezentujących inne specjalności oraz badaczy

zainteresowanych zagadnieniami związanymi z chorobami męskiego układu płciowego. Jestem przekonany, że niezależnie od tego, do której z tych kategorii należysz, ta książka udzieli odpowiedzi na wiele pytań z dziedziny andrologii. Gratuluję moim polskim Koleżankom i Kolegom opracowania, które z pewnością będzie dobrym dodatkiem do ich innych działań mających na celu rozwój polskiej andrologii. Miejmy nadzieję, że w przyszłości pojawią się kolejne wydania książki, która może stać się inspiracją dla andrologów z innych krajów do stworzenia podobnych publikacji w różnych językach.



SPIS TREŚCI

	Rekomendacja	XV
	<i>Aleksander Giwerzman</i>	
1	Wstęp	1
	<i>Jolanta Słowikowska-Hilczner</i>	
OKRES ROZWOJOWY – fizjologia i zaburzenia		
2	Genetyczna determinacja płci	5
	<i>Lucjusz Jakubowski</i>	
3	Różnicowanie i rozwój płci – fizjologia i zaburzenia	19
	<i>Maria Szarras-Czapnik, Jolanta Słowikowska-Hilczner</i>	
4	Rozwój jąder	35
	<i>Maria Szarras-Czapnik, Jolanta Słowikowska-Hilczner</i>	
5	Wnętrostwo – niezstąpienie jąder	45
	<i>Jerzy Niedzielski</i>	
6	Leczenie chirurgiczne dzieci z zaburzeniami różnicowania płci, prowadzonych po linii męskiej	67
	<i>Kinga Kowalczyk</i>	
7	Problemy psychologiczne w zaburzeniach rozwoju płci	93
	<i>Katarzyna Bajszczak</i>	
8	Zaburzenia płci psychicznej	103
	<i>Aleksandra Robacha</i>	
9	Dojrzewanie płciowe u chłopców	121
	<i>Maria Szarras-Czapnik, Jolanta Słowikowska-Hilczner</i>	
10	Młodzieńcze żylaki powrózka nasiennego	133
	<i>Jerzy Niedzielski</i>	
FIZJOLOGIA MĘSKIEGO UKŁADU PŁCIOWEGO		
11	Jądro – budowa, czynność i jej regulacja	155
	<i>Renata Walczak-Jędrzejowska, Elżbieta Oszukowska, Piotr Oszukowski, Kamil Gill, Małgorzata Piasecka</i>	
12	Anatomia wewnętrznych i zewnętrznych męskich narządów płciowych	193
	<i>Marta Sochaj</i>	
13	Fizjologia męskich reakcji płciowych	201
	<i>Marta Sochaj</i>	
14	Receptory androgenowe i estrogenowe u mężczyzn	209
	<i>Barbara Bilińska, Anna Hejmej, Małgorzata Kotula-Balak</i>	
15	Budowa plemnika	225
	<i>Małgorzata Piasecka, Kamil Gill, Renata Walczak-Jędrzejowska</i>	
16	Zapłodnienie i pierwsze etapy rozwoju zarodka	261
	<i>Małgorzata Piasecka, Kamil Gill</i>	

DIAGNOSTYKA ANDROLOGICZNA

17	—	Badanie andrologiczne: podmiotowe i przedmiotowe	311
		<i>Elżbieta Oszukowska</i>	
18	—	Podstawowe badanie nasienia	319
		<i>Katarzyna Marchlewska, Renata Walczak-Jędrzejowska</i>	
19	—	Dodatkowa diagnostyka związana z nasieniem	349
		<i>Katarzyna Marchlewska, Kamil Gill, Małgorzata Piasecka</i>	
20	—	Badanie mikrobiologiczne nasienia	387
		<i>Magdalena Kozłowska</i>	
21	—	Badania hormonalne w diagnostyce andrologicznej	393
		<i>Leszek Bergier, Emilia Martin</i>	
22	—	Badania obrazowe w andrologii	403
		<i>Jan Karol Wolski</i>	
23	—	Badania genetyczne	419
		<i>Edyta Budzyńska</i>	
24	—	Biopsja jądra	429
		<i>Jan Karol Wolski</i>	
25	—	Ocena histopatologiczna tkanki jądra	441
		<i>Renata Walczak-Jędrzejowska, Jolanta Słowikowska-Hilczer</i>	

NIEPŁODNOŚĆ

26	—	Epidemiologia niepłodności męskiej	471
		<i>Roman Kotzbach</i>	
27	—	Klasyfikacja niepłodności i strategia postępowania u niepłodnej pary	479
		<i>Jolanta Słowikowska-Hilczer</i>	
28	—	Genetyczne przyczyny niepłodności męskiej	489
		<i>Lucjusz Jakubowski</i>	
29	—	Zaburzenia czynności układu podwzgórzowo-przysadkowego	517
		<i>Michał Rabijewski</i>	
30	—	Wpływ innych zaburzeń endokrynologicznych na płodność mężczyzn	529
		<i>Katarzyna Jankowska</i>	
31	—	Wpływ czynników środowiskowych na męską płodność	549
		<i>Joanna Jurewicz, Wojciech Hanke</i>	
32	—	Przyczyny jądrowe niepłodności	559
		<i>Jolanta Słowikowska-Hilczer, Renata Walczak-Jędrzejowska</i>	
33	—	Żyłki powrózka nasiennego	569
		<i>Łukasz Kupis, Piotr Dobroński</i>	
34	—	Niedrożność dróg wyprowadzających plemniki	589
		<i>Piotr Dobroński, Łukasz Kupis</i>	
35	—	Wybrane zaburzenia strukturalno-funkcjonalne plemników	613
		<i>Małgorzata Piasecka, Renata Walczak-Jędrzejowska, Kamil Gill</i>	

36	Autoimmunologiczne przyczyny niepłodności męskiej	639
	<i>Marzena Kamieniczna, Maciej Kurpisz</i>	
37	Wpływ infekcji na czynność plemników	657
	<i>Monika Frączek, Maciej Kurpisz</i>	
38	Przyczyny i postępowanie w oligoasthenoteratozoospermii	679
	<i>Grzegorz Jakiel</i>	
39	Empiryczne metody leczenia męskiej niepłodności	697
	<i>Grzegorz Bakalczuk, Szymon Bakalczuk</i>	
40	Techniki wspomaganego rozrodu	711
	<i>Piotr Jędrzejczak, Monika Serdyńska-Szuster</i>	
41	Krioprezervacja męskich komórek rozrodczych i tkanki jądrowej	723
	<i>Piotr Jędrzejczak, Anna Berger</i>	
42	Psychologiczne aspekty funkcjonowania mężczyzn w sytuacji niepłodności . .	741
	<i>Jolanta Chanduszek-Salska</i>	
43	Wybrane aspekty prawne leczenia niepłodności u mężczyzn	761
	<i>Rafał Kubiak</i>	
44	Antykoncepcja męska	773
	<i>Piotr Jędrzejczak, Natalia Ignaszak-Kaus</i>	

ZABURZENIA SEKSUALNE

45	Zdrowie seksualne polskich mężczyzn	789
	<i>Zbigniew Izdebski</i>	
46	Zaburzenia popędu płciowego	807
	<i>Sławomir Jakima</i>	
47	Zaburzenia erekcji	819
	<i>Józef Haczyński</i>	
48	Zaburzenia wytrysku	841
	<i>Sławomir Jakima, Barbara Darewicz</i>	
49	Zaburzenia orgazmu (szczytowania) u mężczyzn	853
	<i>Sławomir Jakima</i>	
50	Wpływ chorób i leków na sprawność seksualną u mężczyzn	861
	<i>Józef Haczyński</i>	
51	Zaburzenia budowy anatomicznej prącia i ich leczenie	875
	<i>Marta Skrodzka, Piotr Świniarski</i>	

INNE PROBLEMY ZDROWOTNE MĘŻCZYŹN W PRAKTYCE ANDROLOGICZNEJ

52	Hipogonadyzm u mężczyzn	905
	<i>Michał Rabijewski</i>	
53	Nadużywanie testosteronu i substancji androgenno-anabolicznych jako problem społeczny oraz medyczny	935
	<i>Marek Mędraś</i>	

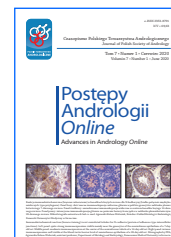
54	—	Wpływ androgenów na włosy mężczyzn	951
		<i>Mariola Marchlewicz, Ewa Duchnik, Barbara Wiszniewska</i>	
55	—	Choroby sutka u mężczyzn	961
		<i>Ireneusz Marek Salata</i>	
56	—	Choroby przenoszone drogą płciową	973
		<i>Magdalena Kozłowska</i>	
57	—	Choroby skóry i błon śluzowych okolic narządów płciowych u mężczyzn	991
		<i>Adriana Polańska, Aleksandra Dańczak-Pazdrowska</i>	
58	—	Choroby zapalne narządów układu płciowego męskiego	1015
		<i>Elżbieta Oszukowska</i>	
59	—	Łagodny rozrost gruczołu krokowego	1043
		<i>Elżbieta Oszukowska</i>	
60	—	Rak stercza	1059
		<i>Paweł Wiechno</i>	
61	—	Nowotwory jąder	1073
		<i>Paweł Wiechno</i>	
62	—	Rak prącia	1091
		<i>Paweł Wiechno</i>	
63	—	Chirurgia moszny i prącia	1101
		<i>Piotr Świniarski, Marta Skrodzka</i>	
64	—	Depresja u mężczyzn	1135
		<i>Jolanta Chanduszek-Salska, Karolina Kossakowska</i>	

STARZENIE SIĘ MĘŻCZYZN

65	—	Wpływ wieku na płodność	1159
		<i>Małgorzata Piasecka, Kamil Gill</i>	
66	—	Zmiany w układzie hormonalnym u starzejących się mężczyzn	1177
		<i>Michał Rabijewski</i>	
67	—	Choroby układu krążenia a zaburzenia erekcji	1193
		<i>Dariusz Kałka</i>	
68	—	Zespół metaboliczny i inne czynniki wpływające na rozrost gruczołu krokowego	1205
		<i>Aleksandra Rył, Weronika Ratajczak, Maria Laszczyńska</i>	
69	—	Aspekty prawne w praktyce lekarza androloga	1227
		<i>Rafał Kubiak</i>	
		Historia Polskiego Towarzystwa Andrologicznego	1259
		<i>Szymon Bakalczuk</i>	
		Wykaz skrótów	1261
		Skorowidz	1285



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.postepyandrologii.pl>

INSTRUKCJE DLA AUTORÓW

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Informacje ogólne

Czasopismo „Postępy Andrologii Online” jest periodykiem ukazującym się co 6 miesięcy (półrocznik) w wersji elektronicznej. Czasopismo publikuje prace z zakresu fizjologii i patologii męskiego układu płciowego. Tematyka obejmuje zarówno zagadnienia kliniczne (etiopatogeneza, diagnostyka i terapia zaburzeń), jak i wyniki badań doświadczalnych. Czasopismo przyjmuje prace oryginalne, poglądowe oraz kazuistyczne. Ponadto będą zamieszczane listy do Redakcji, streszczenia i tłumaczenia publikacji anglojęzycznych, informacje o działalności Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, komunikaty informujące o konferencjach naukowych oraz sprawozdania i streszczenia prezentacji z kongresów i konferencji naukowych w Polsce i zagranicą.

Opłaty związane z publikacją artykułów

Czasopismo nie pobiera żadnych opłat za przygotowanie, opublikowanie i rozpowszechnianie artykułów za wyjątkiem komercyjnych reklam.

Odpowiedzialność etyczna autorów

Procedury etyczne stosowane w Postęпах Andrologii Online zostały stworzone w oparciu o wytyczne *Committee on Publication Ethics (COPE)*, *European Association of Science Editors (EASE)*, *International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)* i *World Association of Medical Editors (WAME)*, które mają na celu utrzymanie integralności badań i ich prezentacji. Manuskrypt zgłoszony do Redakcji musi spełniać następujące kryteria:

- Praca nie była wcześniej publikowana w części lub całości (autoplgiat), z wyjątkiem materiałów zjazdowych, chyba że nowa praca dotyczy rozszerzenia wcześniejszych opublikowanych danych.
- Praca nie została równocześnie skierowana do publikacji w innym czasopiśmie.
- Uzyskane dane z badań oryginalnych nie powinny być publikowane w częściach w celu zwiększenia

liczby publikacji („salami” *publications*), ale w całości. Takie postępowanie jest nieetyczne i nie do przyjęcia. Jednakże, dopuszczalne jest prezentowanie danych w częściach, jeśli ma to na celu uzyskanie przejrzystej interpretacji wyników oraz analizę konkretnych wyników w różnych manuskryptach.

- Żadne dane zamieszczone w manuskrypcie nie zostały sfabrykowane i/lub zmanipulowane.
- Autorzy powinni być przygotowani na przesłanie odpowiedniej dokumentacji lub danych w celu weryfikacji wyników.
- Publikacja nie narusza praw autorskich innych osób. Prezentowane dane, teksty i teorie nie są plagiatem. Autorzy powinni cytować publikacje innych autorów oraz własnej grupy badawczej, które są niezbędne dla analizy i interpretacji prezentowanych danych.
- Wszyscy autorzy powinni wnieść znaczący wkład naukowy w badania, a także uczestniczyć w pisaniu i rewizji manuskryptu. Autorzy dzielą się zbiorową odpowiedzialnością i odpowiedzialnością za wyniki. Wypełnili i podpisali oświadczenie autorów (http://www.postepyandrologii.pl/pdf/Oswiadczenie_autorow.pdf), akceptując skierowanie pracy do druku.
- Honorowe autorstwo jest niedozwolone.
- Dodawanie i/lub usuwanie autorów i/lub zmiana kolejności autorów na etapie rewizji może być dopuszczalna i wymaga pisemnego uzasadnienia oraz zgody wszystkich autorów. Zmiany w autorstwie i/ lub kolejności autorów nie są akceptowane po zatwierdzeniu manuskryptu do druku.
- Autorzy zobowiązani są do podania w manuskrypcie wszelkich źródeł finansowania badań.

Jeżeli zgłoszony do Redakcji manuskrypt nie będzie spełniał powyższych kryteriów Redaktor Naczelny ma prawo odrzucić artykuł i zwrócić Autorowi.

Badania z udziałem ludzi i/lub zwierząt

Badania przeprowadzone na ludziach powinny być zgodne z ogólnie przyjętymi standardami etycznymi określonymi w Deklaracji Helsińskiej z 1964 r. i późniejszymi

poprawkami lub porównywalnymi standardami etycznymi. Z kolei, badania prowadzone na zwierzętach powinny być zgodne z międzynarodowymi, krajowymi i/lub instytucjonalnymi wytycznymi dotyczącymi opieki i wykorzystania zwierząt. Informacja o zgodzie właściwej Komisji Etycznej na przeprowadzenie badania i świadomej zgodzie pacjentów na udział w badaniu powinna znaleźć się w rozdziale „Materiał i metody”. W przypadku badań retrospektywnych taka zgoda nie jest wymagana. Autorzy opisów przypadków są zobowiązani do nieujawniania personaliów opisywanych pacjentów, a w przypadku fotografii umożliwiających identyfikację pacjenta zawsze należy uzyskać pisemną zgodę pacjenta.

Konflikt interesów

W pracy powinny być ujawnione wszelkie finansowe i osobiste relacje autorów z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby niewłaściwie wpłynąć na ich pracę. Ewentualny konflikt interesów powinien być opisany w oświadczeniu autorów (http://www.postepyandrologii.pl/pdf/Oswiadczenie_autorow.pdf). Informacje te nie będą ujawniane recenzentom.

Informacje o prawach autorskich

Autor/autorzy przysyłając manuskrypt wraz z ilustracjami i tabelami, automatycznie i nieodpłatnie przenosi/przenoszą na „Postępy Andrologii Online” i Polskie Towarzystwo Andrologiczne wszelkie prawa autorskie do wydawania oraz rozpowszechniania nadesłanych materiałów we wszystkich znanych formach i na wszystkich znanych polach eksploatacji, bez ograniczeń terytorialnych i językowych, pod warunkiem, że materiały te zostaną zaakceptowane do publikacji. Publikacja w całości ani żadna z jej części nie może być powielana, ani upowszechniana w jakikolwiek mechaniczny lub elektroniczny sposób bez pisemnej zgody Redaktora Naczelnego.

Ochrona danych osobowych

Nazwiska i adresy e-mail wprowadzane do serwisu czasopisma „Postępy Andrologii Online” będą wykorzystywane wyłącznie do celów publikacji ich prac i nie będą udostępniane do żadnych innych celów.

Zasady recenzowania prac

Nadsyłane manuskrypty wstępnie ocenia Komitet Redakcyjny czasopisma. Manuskrypty niekompletne lub przygotowane w stylu niezgodnym z zasadami podanymi poniżej Redakcja odsyła Autorom bez oceny merytorycznej. Pozostałe artykuły zostają zarejestrowane

i są następnie przekazywane do oceny dwóm niezależnym recenzentom będącym ekspertami w danej dziedzinie, z zachowaniem anonimowości autorów pracy i recenzentów (*double-blind peer review process*). Recenzenci są odpowiedzialni za obiektywną ocenę manuskryptu, deklarując brak konfliktu interesów podpisując oświadczenie (http://www.postepyandrologii.pl/pdf/Formularz_recenzenta_Postepy_Andrologii_Online_19-05-2016.pdf). Przyjęcie pracy odbywa się na podstawie pozytywnych opinii obydwóch recenzentów. W przypadku rozbieżnych opinii Redakcja prosi o opinię trzeciego recenzenta. Autorzy zobowiązani są odnieść się do uwag recenzentów w ciągu 3 tygodni od daty otrzymania recenzji. Wszelka korespondencja z Autorami odbywa się drogą e-mailową.

Sposób przygotowania manuskryptu

Nadsyłane prace mogą być pisane w **języku polskim** lub **angielskim**.

Liczbowe wartości i symbole wszystkich wielkości winny być podane wg międzynarodowego układu jednostek SI.

W manuskrypcie należy używać 12-punktowego fontu **Times New Roman**, z zachowaniem **1,5-punktowego odstępu** między wierszami i marginesami 2,5 cm z każdej strony. Strony należy numerować kolejno, zaczynając od tytułowej. Numery stron należy umieszczać w dolnym, prawym rogu każdej strony. Należy zachować następujący **układ**: strona tytułowa (osobna strona), stosowane skróty (osobna strona), streszczenie i słowa kluczowe (do 5) w języku polskim i angielskim (osobna strona), tekst podstawowy, piśmiennictwo, podpisy rycin i tabel, materiał ilustracyjny.

Strona tytułowa powinna zawierać: stopień naukowy, imię i nazwisko autora (autorów) wraz z afiliacją, adres e-mail, kontaktowy numer telefonu każdego autora (należy podkreślić nazwisko autora do korespondencji), tytuł artykułu i skróconą wersję tytułu (w języku polskim i angielskim) (40 znaków ze spacjami), oraz źródła finansowania.

Spis skrótów należy podać w języku polskim i angielskim w jednym akapicie, według kolejności alfabetycznej np.:

hESC – ludzkie embrionalne komórki macierzyste (ang. *human embryonic stem cells*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*); RT-PCR – łańcuchowa reakcja polimerazy z wykorzystaniem odwrotnej transkryptazy (ang. *reverse transcription polymerase chain reaction*); itd.

Skróty użyte w tekście podstawowym po raz pierwszy należy podać w pełnym brzmieniu. Nie należy rozpoczynać zdania od skrótu.

Streszczenie powinno zawierać najistotniejsze informacje wprowadzające czytelnika w publikowaną tematykę oraz wnioski końcowe (do 400 wyrazów). Nie należy używać skrótów.

Tekst podstawowy

Artykuł poglądowy powinien zawierać przegląd informacji z danej tematyki. Zaleca się uwzględnienie prac publikowanych w ostatnich 5–10 latach (ok. 60%) oraz w latach wcześniejszych (ok. 40%). Dopuszczalna liczba pozycji piśmiennictwa to 100. W manuskrypcie autorzy powinni zawrzeć własne przemyślenia, opinie i wnioski, a istotne informacje przedstawić w postaci schematów, tabel i rycin. Ponadto, artykuł mogą wzbogacić wyniki badań autorskich. Liczba stron manuskryptu łącznie z tabelami i rycinami nie powinna być większa niż 20.

Artykuł oryginalny powinien zawierać opis własnych badań klinicznych lub doświadczalnych Autorów. Powinien składać się z takich podrozdziałów jak: Wstęp, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie. Dopuszczalna liczba pozycji piśmiennictwa to 100. Liczba stron manuskryptu łącznie z tabelami i rycinami nie powinna być większa niż 20.

Praca kazuistyczna to krótka forma publikacji prezentująca ciekawe przypadki kliniczne i ich omówienie oparte na własnych doświadczeniach praktyka klinicyści i doświadczeniach innych autorów. Streszczenie nie powinno przekraczać 150 wyrazów, Wstęp powinien zawierać nie więcej niż dwa krótkie akapity, Materiał i Metody nie powinny być podzielone na podrozdziały, a Wyniki, Dyskusja i Podsumowanie powinny stanowić jeden rozdział. Liczba rycin i tabel ograniczona do 2–3, piśmiennictwa do 10. Liczba stron manuskryptu nie powinna być większa niż 10.

Komunikat to krótka praca oryginalna zawierająca wstępne, ale istotne wyniki badań. W tego typu publikacjach streszczenie nie powinno przekraczać 150 wyrazów, Wstęp powinien zawierać nie więcej niż dwa krótkie akapity, Materiał i Metody nie powinny być podzielone na podrozdziały, a Wyniki, Dyskusja i Podsumowanie powinny stanowić jeden rozdział. Liczba rycin i tabel ograniczona do 2–3, piśmiennictwa do 10. Liczba stron manuskryptu nie powinna być większa niż 10.

Artykuł będący tłumaczeniem publikacji z języka angielskiego powinien dotyczyć najnowszych i istotnych pozycji piśmiennictwa anglojęzycznego. Należy dołączyć zgodę redaktora naczelnego czasopisma, w którym artykuł został opublikowany i autora na tłumaczenie artykułu. Streszczenie artykułu powinno zawierać treść istotną do przekazania dla czytelników polskich (do 400 wyrazów).

List do Redakcji jest formą wyrażenia swojej opinii, a jednocześnie głosem w dyskusji na temat współczesnych zjawisk w świecie medycyny i nauki. Dopuszczalna liczba stron manuskryptu nie większa niż 3.

Piśmiennictwo należy podać w kolejności alfabetycznej, nie wprowadzając kolejnych numerów. Każdą pozycję piśmiennictwa należy zapisywać od nowej linii. Należy podać nazwisko autora (autorów) pisane kursywą z inicjałami imion, po których stawiana jest kropka. Jeśli jest do sześciu autorów, należy przytoczyć wszystkich. Powyżej tej liczby należy podać pierwszych

sześciu autorów z dopiskiem i wsp. Tytuły periodyków powinny być skracane zgodnie ze sposobem przyjętym w Index Medicus (Medline).

Oto przykłady, jak należy cytować książkę: 1) w całości, 2) fragment konkretnego rozdziału wraz z podaniem numerów stron, 3) oryginalną pracę naukową, 4) oryginalną pracę naukową w czasopiśmie elektronicznym (data przeglądania i adres URL) i 5) stronę internetową (nazwa strony – materiału źródłowego, adres URL i datę wejścia na stronę):

1. Semczuk M., Kurpisz M. (red.): Andrologia. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2006.
2. Woźniak W., Bruska M., Kromer P.: Pęcherzyki nasienne, gruczoł krokowy i gruczoły cewkowo-opuszkowe. W: Andrologia. Red. M. Semczuk, M. Kurpisz. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2006, 94–89.
3. Kobori Y., Suzuki K., Iwahata T., Shin T., Sadaoka Y., Sato R. i wsp.: Improvement of seminal quality and sexual function of men with oligoasthenoteratozoospermia syndrome following supplementation with L-arginine and Pycnogenol®. Arch Ital Urol Androl. 2015, 87, 190–193. doi: 10.4081/aiua.2015.3.190. PMID: 26428638
4. Walczak-Jędrzejowska R.: Stres oksydacyjny a niepłodność męska. Część I: czynniki wywołujące stres oksydacyjny w nasieniu / Oxidative stress and male infertility. Part I: factors causing oxidative stress in semen. Post Androl Online. 2015, 2, 5–15. [przeładowany: 07.10.2015 r.]. Dostępny w: <http://www.postepyandrologii.pl>
5. Wiley Online Library <http://onlinelibrary.wiley.com/enhanced/doi/10.1111/andr.12051/>, data wejścia 07.10.2015 r.

Cytowane w tekście piśmiennictwo należy podać alfabetycznie w **okrągłych nawiasach, wymieniając pierwszego autora i podając rok publikacji**, np. (Bungum i wsp., 2011; Cheng i wsp., 2011).

Nazwiska autorów prac wprowadzone w tekście powinny być napisane kursywą, np.

„Według Bungum i wsp. (2011) należy wprowadzić określony algorytm leczenia niepłodności męskiej w zależności od standardowych parametrów seminologicznych i wyników otrzymanych na podstawie testu z wykorzystaniem oranżu akrydyny ujawniającego zaburzenia kondensacji chromatyny plemników (SCSA)...”

Piśmiennictwo powinno zawierać publikacje innych autorów oraz własnej grupy badawczej, które są istotne dla badań.

Materiał ilustracyjny obejmuje ryciny (wykresy, diagramy, zdjęcia, schematy) oraz tabele opatrzone tytułami i podpisami. W przypadku rycin zarówno tytuł, jak i opis powinny być umieszczone pod rycinami, a w przypadku tabel nad tabelami. Tytuł tabeli należy wytłuszczyć. Podpisy rycin i tabel oraz ich tytuły, a także informacje wewnętrzne na rycinach i w tabelach

należy podać w języku polskim i angielskim (dotyczy prac w języku polskim). Ryciny i tabele powinny być opatrzone numerami zgodnie z kolejnością odniesień w tekście. Osobną numerację posiadają ryciny i osobną tabele (numery arabskie). Skrót Ryc. (pisany kursywą) wprowadzamy w podpisie pod rycinami, natomiast w tytule tabeli nie stosujemy skrótu Tab., lecz Tabela. Nie stosujemy w tekście podstawowym skrótów ryc. lub tab., lecz rycina lub tabela.

Mikrofotografie mikroskopowe powinny posiadać wewnętrzną skalę, a stosowane symbole, strzałki lub litery muszą być wyraźnie uwidocznione na tle. Zdolność rozdzielcza mikrofotografii nie powinna być mniejsza niż 300 dpi. Stosowane znaki do opisu danej ryciny powinny być ujednolicone w całym artykule.

Stosowane oznaczenia i skróty na rycinach i w tabelach powinny być wyjaśnione w opisie rycin i tabel, niezależnie do ich rozwinięcia w tekście podstawowym.

Uwaga: pojedyncze ryciny bądź ryciny złożone z kilku zdjęć, wykresów, diagramów lub schematów należy zintegrować z wewnętrznymi oznaczeniami.

Rozmiary rycin i tabel: szerokość rycin i tabel powinna wynosić **17,3 cm** lub **8,3 cm**, natomiast ich długość nie powinna przekraczać **24,5 cm**. Tekst będzie składany dwułamowo, dlatego też szerokość rycin i tabel nie może przekraczać szerokości jednego lub dwóch łamów, z kolei długość może być dowolna, ale nie większa niż długość łamu; wielkość powierzchni zadrukowanej na stronie formatu A4 będzie wynosiła **24,7 cm/17,5 cm**.

■ Przesyłanie prac do Redakcji

Prace należy przesłać elektronicznie na adres redaktora naczelnego: mpiasecka@ipartner.com.pl

Tekst podstawowy, piśmiennictwo oraz podpisy rycin i tabel powinny być umieszczone w jednym pliku (*Word*), natomiast każda rycina (format *CDR*, *TIF*, *JPG*) i tabele (*Word*) w osobnych plikach. Tytuł pliku zawierający tekst manuskryptu powinien zawierać nazwisko autora do korespondencji oraz pierwsze słowa tytułu artykułu, natomiast tytuły plików zawierające ryciny i tabele, obok nazwiska autora, powinny zawierać numery rycin i tabel.

Do pracy należy dołączyć oświadczenie, że m.n. praca nie została opublikowana lub skierowana do publikacji w innym czasopiśmie, została zaaprobowana przez wszystkich współautorów (**wymagane są podpisy wszystkich autorów**) oraz zostały ujawnione wszelkie źródła finansowania (oświadczenie dostępne na stronie internetowej http://www.postepyandrologii.pl/pdf/Oswiadczenie_autorow.pdf).

■ Publikowanie prac

Prace będą publikowane w kolejności otrzymywania, jednak redakcja zastrzega sobie prawo zmian uzasadnionych treścią drukowanego numeru. Ponadto zastrzega sobie prawo wprowadzenia poprawek stylistycznych i dotyczących mianownictwa oraz stosowanych skrótów bez uzgodnienia z autorem.

Po zaakceptowaniu pracy do publikacji autorzy otrzymują korektę drukarską. Celem korekty drukarskiej jest sprawdzenie błędów składu lub konwersji oraz kompletności i dokładności tekstu, tabel i rycin. Autorzy są zobowiązani w ciągu trzech dni od otrzymania korekty drukarskiej przesłać ewentualne poprawki. Zmiana tytułu i/lub autorstwa oraz wprowadzanie nowych wartości jest niedozwolone.

■ Zasady udostępniania informacji naukowych zawartych w czasopiśmie

Informacje zawarte w czasopiśmie są udostępniane na zasadzie Open Access - dostęp do informacji naukowej jest bezpłatny i nieograniczony. Użytkownicy mogą czytać, pobierać, kopiować, rozpowszechniać, drukować, wyszukiwać, łączyć informacje z pełnymi tekstami artykułów lub wykorzystywać je do jakichkolwiek innych celów zgodnych z obowiązującą licencją CC BY NC ND 3.0 Polska (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/pl/legalcode>). Licencja ta obliguje do uznania autorstwa, zezwala na rozpowszechnianie, przedstawianie i wykonywanie utworu jedynie w celach niekomercyjnych oraz pod warunkiem zachowania go w oryginalnej postaci (bez tworzenia utworów zależnych).