



e-ISSN 2353-8791

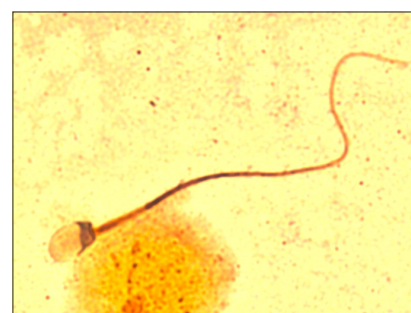
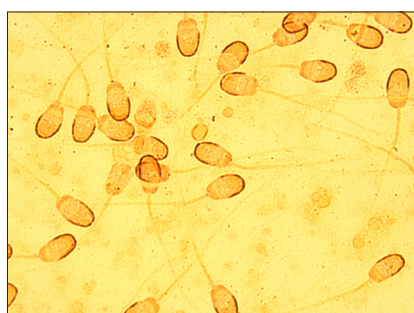
ICV = 69,63

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology

Tom 7 • Numer 2 • Grudzień 2020
Volumin 7 • Number 2 • December 2020

Postępy Andrologii *Online*

Advances in Andrology *Online*



Plemniki królika (panel lewy), lisa (panel środkowy) i szynszyli (panel prawy) barwione azotanem srebra (AgNO_3). Mikrofotografie autorstwa dr hab. inż., prof. uczelni Katarzyny Andraszek, Instytut Zootechniki i Rybactwa, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Silver nitrate (AgNO_3) stained-spermatozoa of rabbit (left panel), fox (middle panel) and chinchilla (right panel). Micrographs by PhD, prof. Katarzyna Andraszek, Institute of Zootechnics and Fisheries, Siedlce University of Natural Sciences and Humanities

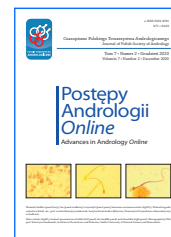


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny:

dr hab. n. med. **Małgorzata Piasecka**, Szczecin

Zastępca redaktora naczelnego:

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

Redaktor pomocniczy:

dr n. med. **Kamil Gill**, Szczecin

Sekretarz redakcji:

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

Skarbnik redakcji:

prof. dr hab. n. med. **Artur Wdowiak**, Lublin

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

prof. dr hab. n. med. **Małgorzata Kotwicka**, Poznań

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

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

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

dr hab. n. med., prof. UMK **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

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

lek. **Jan Karol Wolski**, 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

Małgorzata Piasecka

Kamil Gill

Korekta języka angielskiego:

Małgorzata Piasecka

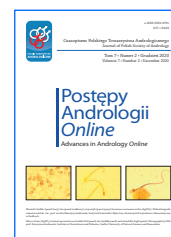
Kamil Gill

Skład i łamanie:

Waldemar Jachimczak



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

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

SPIS TREŚCI

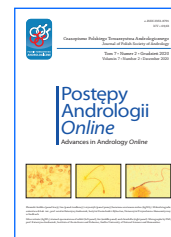
CONTENTS

Tom 7
Volumin 7
Strony 1–64
Pages 1–64
Grudzień 2020
December 2020

O czasopiśmie / About Journal	4
Artykuły poglądowe / Review	
<i>Kamil Gill, Tomasz Machałowski, Klaudia Piasecka, Patryk Harasny, Małgorzata Piasecka</i> Wpływ statusu chromatyny plemników ludzkich na wyniki rozrodu w warunkach <i>in vitro</i> / The influence of human sperm chromatin status on <i>in vitro</i> fertilization outcome	6
<i>Tomasz Machałowski, Kamil Gill, Małgorzata Piasecka</i> Udział czynnika męskiego w poronieniach nawracających / Male factor and recurrent pregnancy loss	26
Instrukcje dla autorów / Instructions for authors	53
Recenzenci prac opublikowanych w 2020 r. / Reviewers in 2020	57
Reklamy	58
Informacja o książce pod redakcją naukową Jolanty Słowikowskiej-Hilczner Andrologia. Zdrowie mężczyzny. Od fizjologii do patologii	59



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-Hilczer
wiceprzewodnicząca
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

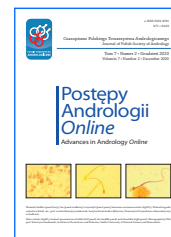
Jolanta Słowikowska-Hilczer
Vice-president
of Polish Society of Andrology



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

WPŁYW STATUSU CHROMATYNY PLEMNIKÓW LUDZKICH NA WYNIKI ROZRODU W WARUNKACH *IN VITRO*

THE INFLUENCE OF HUMAN SPERM CHROMATIN STATUS ON *IN VITRO* FERTILIZATION OUTCOME

Kamil Gill ^{1*}, Tomasz Machałowski ^{1,2}, Klaudia Piasecka ¹, Patryk Harasny ³, Małgorzata Piasecka ¹

¹Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ²Klinika Perinatologii, Położnictwa i Ginekologii SPSK1, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ³Klinika Urologii i Onkologii Urologicznej SPSK2, 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: 01.12.2020 r. Zaakceptowano/accepted: 21.12.2020 r.

DOI: [10.26404/PAO_2353-8791.2020.04](https://doi.org/10.26404/PAO_2353-8791.2020.04)



Kamil Gill – dr n. med., biolog, absolwent Uniwersytetu Szczecińskiego. Pierwszy autor i współautor artykułów naukowych opublikowanych w renomowanych polskich i zagranicznych czasopiśmie 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

Poniższy artykuł jest kontynuacją poprzedniego (Post Androl Online, 2020, 7(1), 30–43) i zawiera zebrane dane dotyczące oceny wpływu jakości chromatyny plemników ludzkich na rezultaty procedury zapłodnienia *in vitro*. Przeanalizowano wyniki badań, w których wykorzystano powszechnie stosowane testy molekularne weryfikujące status chromatyny męskich komórek rozrodczych oraz przedyskutowano związek między tym statusem a procesem zapłodnienia, rozwojem zarodka, uzyskaniem ciąży, jej przebiegiem oraz ryzykiem



Artykuł jest udostępniany na podstawie Licencji Creative Commons BY NC ND 3.0 Polska:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.pl>

poronienia i szansą na urodzenie żywego dziecka. Większość autorów uważa, że w wielu przypadkach wzrost stopnia uszkodzeń chromatyny męskich gamet niekorzystnie wpływa na każdy z ocenianych etapów rozwoju zarodka i przebieg ciąży. Jednak wyniki badań nie zawsze są jednoznaczne i oczywiste. Istnieją doniesienia, w których nieprawidłowości chromatyny plemnika niekoniecznie wpływają na wszystkie badane etapy rozwoju zarodka i przebieg ciąży. Ponadto niektórzy autorzy nie potwierdzają istnienia związku między statusem chromatyny plemników a sukcesem procedury zapłodnienia *in vitro*. Sugeruje się, że brak zgodności wyników uzyskanych przez autorów może być efektem wykorzystania przez nich różnych metod selekcji męskich gamet, odmiennych procedur zapłodnienia *in vitro* i testów oceny statusu chromatyny męskich komórek rozrodczych oraz odmiennych narzędzi statystycznych służących analizie uzyskanych danych. Należy także podkreślić, że badania prezentowane w piśmiennictwie wykonywane były na grupach, które wykazywały dużą heterogenność (odmienne liczebności grup, struktura wieku badanych i przyczyny niepłodności). Niemniej jednak w wielu najnowszych doniesieniach autorzy wskazują, że uszkodzenie chromatyny plemników jest istotnym determinantem sukcesu rozrodczego w warunkach zapłodnienia *in vitro* i w zależności od wartości tego parametru proponuje się różne scenariusze terapeutyczne.

Słowa kluczowe: chromatyna plemnika, zapłodnienie *in vitro*, rozwój zarodka, ciąża, poronienia

Abstract

The following article is a continuation of previous one (Post Androl Online, 2020, 7(1), 30–43) and contains a compilation of scientific reports concerning the impact of human sperm chromatin quality on *in vitro* fertilization outcomes. In this paper, the results of commonly used molecular sperm chromatin were presented. Furthermore, the relationships between sperm chromatin maturity/integrity and the fertilization, embryo development, the chance of getting pregnant, risk of miscarriage and chance of live birth were widely discussed. Most authors reports that in many cases the increase in the level of sperm chromatin damage adversely affects embryo development and the course of pregnancy. However, the results are not always in line and obvious. There are scientific papers in which the abnormalities of the sperm chromatin do not necessarily affect all of the embryo development stages and the course of pregnancy. Moreover, some authors do not confirm the existence of a associations between the sperm chromatin status and the *in vitro* fertilization outcomes. It has been suggested that the inconsistency of the obtained data may result from: 1) different methods used for male gametes selection, 2) different *in vitro* fertilization procedures, 3) diverse sperm chromatin tests and 4) different statistical tools used to analyze the obtained data. Moreover, it should be highlighted that the findings presented in the scientific papers were carried out on the high heterogeneity groups (different subjects, age structure of enrolled individuals and causes of infertility). However, in many recent reports, the authors indicate that high sperm chromatin quality is an important determinant of reproductive success in *in vitro* conditions. According to the level of sperm chromatin abnormalities proper therapeutic scenario should be chosen.

Key words: sperm chromatin, *in vitro* fertilization, embryo development, pregnancy, miscarriage

Skróty / Abbreviations

β-hCG – podjednostka β ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (ang. *human chorionic gonadotropin β-subunit*); AB – błękit aniliny (ang. *anilin blue*); ART – techniki wspomaganego rozrodu (ang. *assisted reproductive technology*); CMA3 – chromomycyna A3 (ang. *chromomycin A3*); DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); DGC – selekcja plemników z wykorzystaniem wirowania na gradientcie stężeń (ang. *density gradient centrifugation*); HDS – intensywne wiązanie oranżu akrydyny (ang. *high DNA stainability*); FR – odsetek zapłodnionych oocytów (ang. *fertilization rate*); ICM – węzeł zarodkowy (ang. *inner cell mass*); ICSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*); IMSI-MSOME – zapłodnienie ICSI z wykorzystaniem plemników poddanych szczegółowej ocenie morfologicznej z wykorzystaniem 6000–13000-krotnego powiększenia (ang. *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection with motile sperm organelle morphology examination*); IUI – inseminacja domaciczna (ang. *intrauterine insemination*); MESA-ICSI – zapłodnienie *in vitro* z wykorzystaniem plemników pobranych aspiracyjnie z najądrza (ang. *microscopic epididymal sperm aspiration*); m-TESE-ICSI – zapłodnienie *in vitro* z wykorzystaniem plemników pobranych mikrochirurgicznie z jądra (ang. *microsurgical testicular sperm extraction*); OA – oranż akrydyny (ang. *acridine orange*); OR – iloraz szans (ang. *odds ratio*); SCD – test dyspersji chromatyny plemników (ang. *sperm chromatin dispersion test*); SCSA – ocean struktury chromatyny plemników (ang. *sperm chromatin structure assay*); TB – błękit toluidyny (ang. *toluidin blue*); TE – trofoektoderma (ang. *trophoblast*); TESA-ICSI – zapłodnienie *in vitro* z wykorzystaniem plemników pobranych aspiracyjnie z jądra (ang. *testicular sperm aspiration*); TUNEL – znakowanie końców nacięć nici DNA za pośrednictwem terminalnej transferazy deoksynukleotydowej (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling*)

Na przestrzeni ostatnich kilku dekad ma miejsce intensywny rozwój technik wspomaganego rozrodu (ART, ang. *assisted reproductive technology*), głównie klasycznego zapłodnienia pozaustrojowego *in vitro* (IVF, ang. *in vitro fertilization*) i docytoplazmatycznej iniekcji plemnika (ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm injection*).

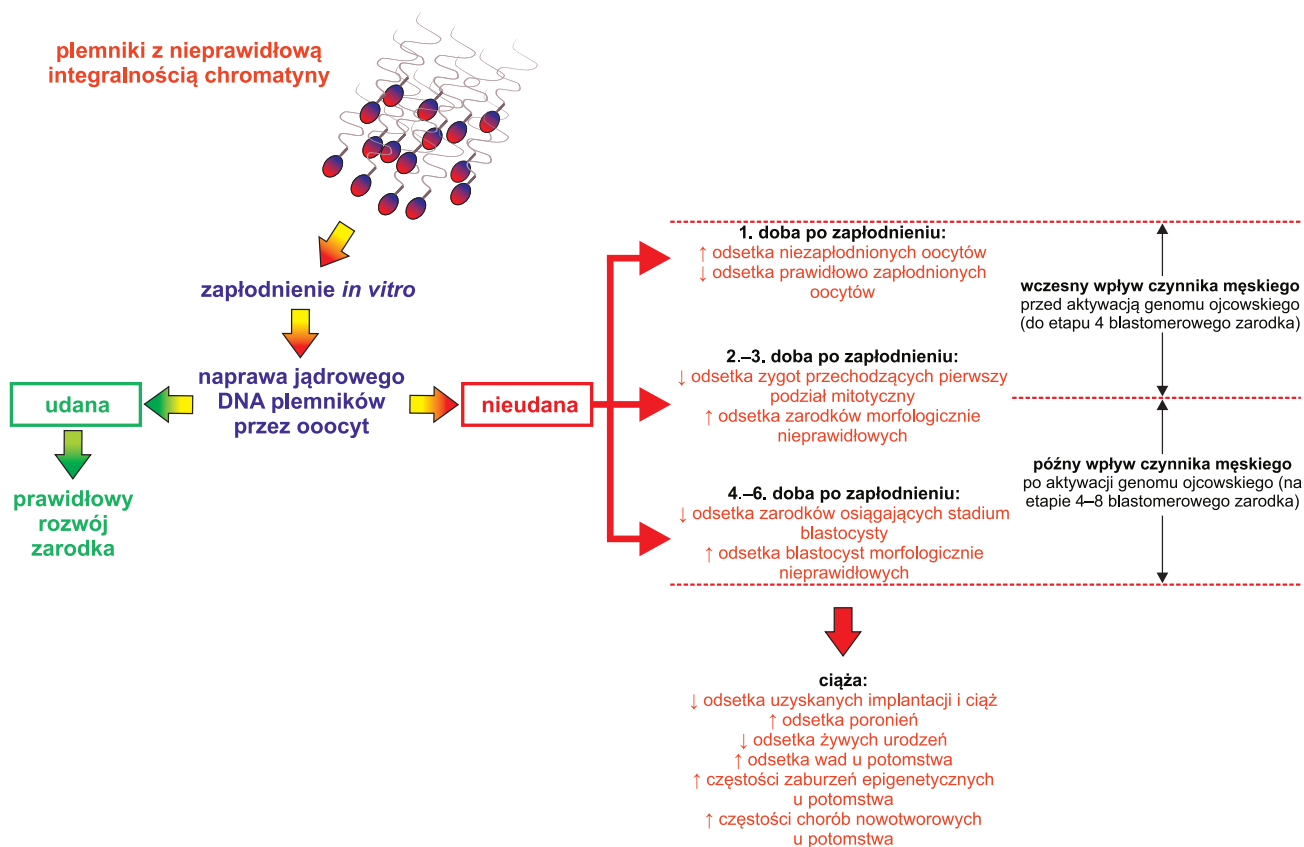
W przypadku tej drugiej techniki w zależności od sposobu wyselekcjonowania męskich gamet lub ich pozyskiwania wyróżnia się: 1) zapłodnienie z wykorzystaniem plemników ruchliwych i morfologicznie prawidłowych (IMSI-MSOME, ang. *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection with motile sperm organelle morphology*

examination), 2) aspirowanych z najądrza (MESA-ICSI, ang. *microscopic epididymal sperm aspiration*), 3) aspirowanych z jądra (TESA-ICSI, ang. *testicular sperm aspiration*) i 4) uzyskanych poprzez biopsję jądra (m-TESE, ang. *microsurgical testicular sperm extraction*). Początkowo sądzono, że w przypadku zastosowania tych technik, które szczególnie omijają naturalne bariery, na jakie napotyka plemnik podczas fizjologicznego zapłodnienia, wnikliwa, zwłaszcza molekularna weryfikacja męskich komórek rozrodczych niekoniecznie musi mieć znaczenie kliniczne. Jednakże obserwowane nieuzasadnione czynnikami żeńskim niepowodzenia w tych procedurach sprawiły, że ocena jakości męskich gamet ponownie stała się obiektem badań doświadczalnych i klinicznych mających na celu weryfikację wpływu czynnika męskiego na prognozowanie sukcesu reprodukcyjnego w warunkach *in vitro* (Benagiano i wsp., 2017; Kirkman-Brown i De Jonge, 2017; Piasecka i wsp., 2021; Rogenhofner i wsp., 2017).

Warto również podkreślić, że zastosowanie nawet metody IMSI-MSOME, podczas której embriolog dokonuje zapłodnienia komórki jajowej jednym precyzyjnie

wyselekcjonowanym plemnikiem, nie daje gwarancji wybrania gamety wolnej od wad substrukuralnych i molekularnych. Co więcej, ominięcie naturalnych barier, na jakie plemnik natrafia w trakcie spotkania się z komórką jajową, i uzyskanie zapłodnienia z wykorzystaniem uszkodzonego plemnika może stać się przyczyną nieprawidłowości obserwowanych podczas wczesnego rozwoju zarodka, przebiegu ciąży bądź też chorób u potomstwa, co niewątpliwie może wiązać się ze wzrostem ryzyka przeniesienia defektów genetycznych (rycina 1) (Drenth Olivares i wsp., 2019; Jauniaux i wsp., 2020; Piasecka i Gill, 2021; Spector i wsp., 2019; Taylor i wsp., 2014; Ventura-Juncá i wsp., 2015). Dlatego też prognozowanie sukcesu rozrodczego i oszacowanie ryzyka genetycznego wymaga prowadzenia badań weryfikujących jakość męskich gamet na poziomie molekularnym w przypadku wykorzystania technik zapłodnienia pozaustrojowego (Krausz i wsp., 2018; Piasecka i wsp., 2021; Watanabe, 2018).

Status chromatyny plemników (budowa, kondensacja, integralność) to jeden z najistotniejszych biomarkerów



Ryc. 1. Schemat przedstawiający możliwe konsekwencje wynikające z wykorzystania do procedury zapłodnienia *in vitro* plemników z nieprawidłową integralnością chromatyny, której naprawa przekracza możliwości oocytu. Naprawa ta rozpoczyna się już na etapie przedjądrzy i może trwać do 5. doby rozwoju zarodka, czyli osiągnięcia przez zarodek stadium blastocysty. Preferencyjnie naprawiane są pojedyncze pęknięcia nici DNA. Wczesny wpływ czynnika męskiego może przejawiać się jeszcze przed aktywacją genomu ojcowskiego, co w konsekwencji może prowadzić do zaburzeń procesu zapłodnienia oraz wczesnych etapów podziałów blastomerów (do etapu 4 blastomerowego zarodka). Z kolei późny wpływ czynnika męskiego występuje po aktywacji genomu ojcowskiego (na etapie 4-8 blastomerowego zarodka) i może skutkować nieprawidłowym rozwojem zarodka w 3. dobie po zapłodnieniu oraz zaburzeniami rozwoju blastocysty. W konsekwencji można spodziewać się spadku liczby uzyskanych ciąż, zwiększenia liczby poronień i zmniejszenia liczby żywych urodzeń. Wskazuje się, że nieprawidłowości chromatyny plemników mogą zakłócać epigenetyczne przeprogramowanie genomu ojcowskiego, które ma miejsce podczas tworzenia przedjądrza męskiego, co w efekcie może mieć znaczenie międzypokoleniowe. Ponadto sugeruje się, że nienaprawione uszkodzenia jądrowego DNA plemników mogą przyczynić się do zaburzeń organogenezy i wzrostu ryzyka chorób nowotworowych u potomstwa (Aitken, 2017; Drenth Olivares i wsp., 2019; Halvaei i wsp., 2020; Jauniaux i wsp., 2020; Piasecka i Gill, 2021; Spector i wsp., 2019; Taylor i wsp., 2014; Ventura-Juncá i wsp., 2015)

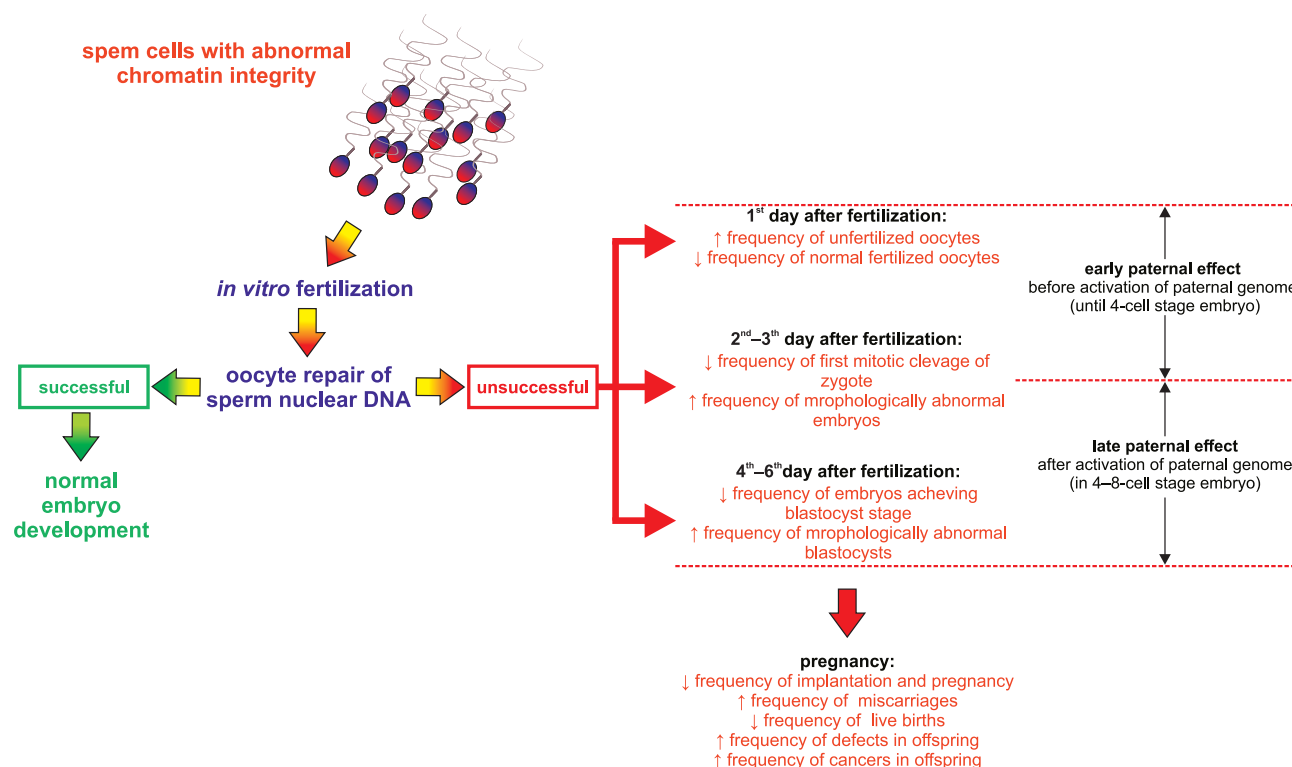
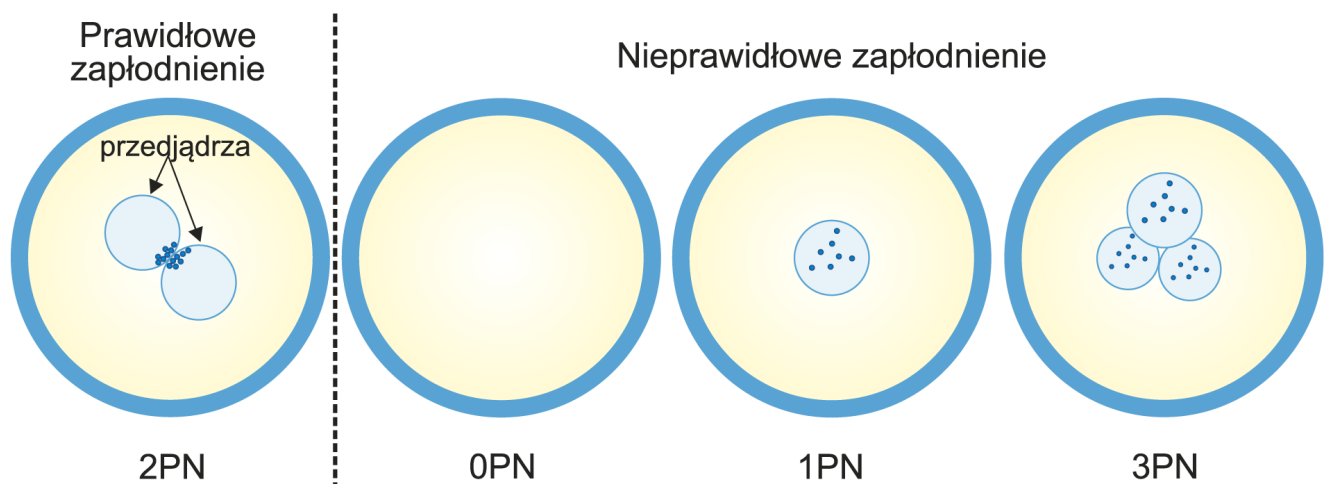


Fig. 1. Schema illustrating the possible consequences resulting from the using of the sperm cells with abnormal chromatin integrity in *in vitro* fertilization, the repair of which exceeds the ability of the oocyte. The repair starts at the pronuclei stage and can last up to 5th day of the embryo development, when the blastocyst stage is reached. The DNA single-strand breaks are preferentially repaired. Early paternal effect can manifest before the activation of the paternal genome, which in turn may lead to disturbances in the fertilization process and early embryo cleavage (up to the 4-cell embryo stage). On the other hand, late paternal effect occur after the activation of the paternal genome (at the 4–8-cell embryo stage) and may result in abnormal embryo development on the 3rd day after fertilization and abnormal blastocyst development. As a consequence, a decrease in the number of pregnancies obtained, an increase in the number of miscarriages and a decrease in the number of live births can be expected. It is suggested that sperm chromatin abnormalities can disturb epigenetic reprogramming of paternal genome during the male pronucleus formation which may have intergenerational effects. Furthermore, unrepaired sperm chromatin damages may contribute to abnormal organogenesis and an increase in frequency of cancers in offspring (Aitken, 2017; Drenth Olivares et al., 2019; Halvaei i wsp., 2020; Jauniaux et al., 2020; Piasecka and Gill, 2021; Spector et al., 2019; Taylor et al., 2014; Ventura-Juncá et al., 2015)

niepłodności męskiej, gdyż jak wskazuje wiele najnowszych doniesień, determinuje on proces zapłodnienia, rozwój zarodka i uzyskanie ciąży nie tylko w warunkach naturalnej koncepcji, ale również wspomaganie medycznie (Agarwal i wsp., 2020; Ambar i wsp., 2020; Borges i wsp., 2019; Chen i wsp., 2020; Gill i Piasecka, 2020; Jerre i wsp., 2019; Parrella i wsp., 2019; Tang i wsp., 2020; Zheng i wsp., 2018). Z drugiej strony, nie można pominąć faktu, że dane dotyczące wpływu jakości materiału genetycznego plemników na parametry embriologiczne i dalszy przebieg ciąży często są niejednoznaczne i nieoczywiste, a nawet pozostają ze sobą w sprzeczności. Wynikać to może z: 1) metod selekcji męskich gamet, 2) zastosowania różnych procedur zapłodnienia pozaustrojowego, 3) wykorzystania odmiennych metod oceny chromatyny męskich gamet, w których przyjmuje się różne (często empirycznie wyznaczone) wartości graniczne uznane za wynik prawidłowy tych testów i 4) heterogenności par objętych badaniami (odmienne liczebności grup, struktura wieku badanych i przyczyny niepłodności) (Green i wsp., 2020; Iranpour, 2014; Lopes i wsp., 1998; Oleszczuk i wsp., 2016; Pregl Breznik i wsp., 2013; Velez de la Calle i wsp., 2008; Wdowiak i wsp., 2015; Xue i wsp., 2016). Dodatkową trudność w ocenie wpływu

statusu chromatyny na wyniki procedury zapłodnienia *in vitro* stanowi zdolność oocytu do naprawy plemnikowego DNA (rycina 1). Ponadto w przypadku technik wykorzystujących zapłodnienie *in vitro* zarodki transferowane do macicy podlegają selekcji przeprowadzanej przez embriologa, co również może utrudnić ocenę wpływu jakości chromatyny męskich gamet na przebieg ciąży (Fishel i wsp., 2020; Gill i wsp., 2018; Piasecka i Gill, 2021; Sigalos i wsp., 2016).

Do weryfikacji dojrzałości chromatyny plemników stosuje się m.in. test z błękitem aniliny (AB, ang. *aniline blue*), chromomycyną A3 (CMA3, ang. *chromomycin A3*), błękitem toluidyny (TB, ang. *toluidine blue*), które odpowiednio identyfikują nadmiar resztkowych histonów, stopień protaminacji i nieprawidłowości kondensacji chromatyny. Natomiast w ocenie integralności jądrowego DNA plemników mają zastosowanie wystandaryzowane testy diagnostyczne, takie jak test dyspersji chromatyny plemników (SCD, ang. *sperm chromatin dispersion*) umożliwiające określenie odsetka plemników z pofragmentowanym DNA (SDF, ang. *sperm DNA fragmentation*) oraz test SCSA (ang. *sperm chromatin structure assay*) z wykorzystaniem oranżu akrydyny (OA, ang. *acridine orange*) umożliwiające określenie indeksu fragmentacji



Ryc. 2. Schemat ilustrujący kryteria oceny procesu zapłodnienia *in vitro*, przeprowadzanej w 1. dobie po zapłodnieniu. 0PN – brak widocznych przedjądrzy, 1PN – widoczne tylko jedno przedjądrze, 2PN – widoczne dwa przedjądrza, 3PN – widoczne trzy przedjądrza. Opracowane na podstawie Bączkowski i wsp. (2004) oraz ESHRE (2017)

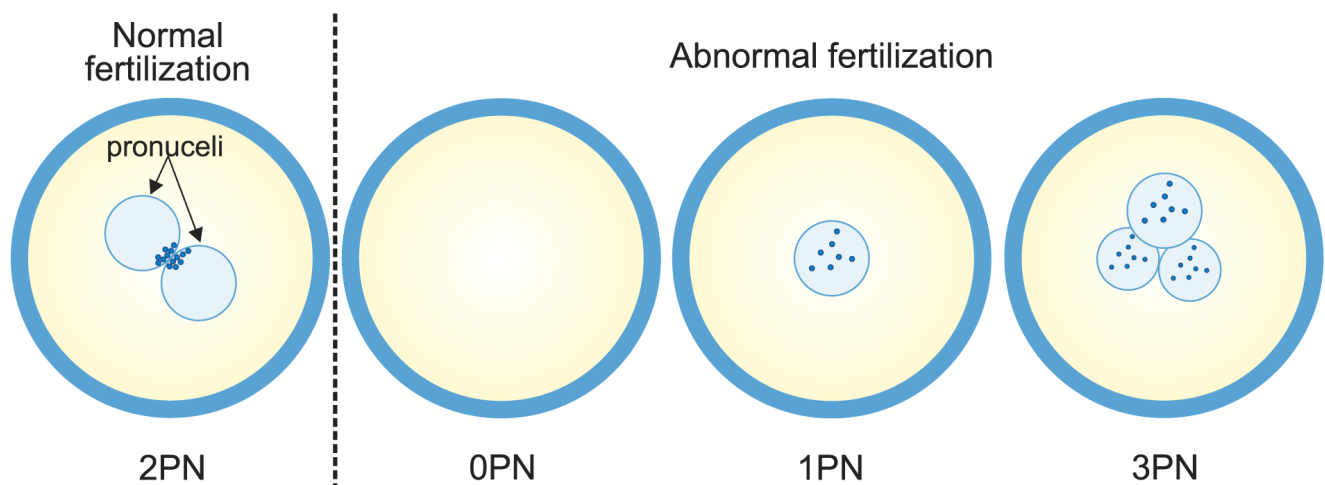


Fig. 2. Schema illustrating the criteria of fertilization in *in vitro* conditions in 1st day after fertilization. 0PN – no visible pronuclei, 1PN – only one visible pronucleus, 2PN – two visible pronuclei, 3PN – three visible pronuclei. Based on Bączkowski *et al.* (2004) and ESHRE (2017)

DNA plemników (DFI, ang. *DNA fragmentation index*) oraz odsetka plemników z dużą zawartością histonów jądrowych intensywnie wiążących OA (HDS, ang. *high DNA stainability*). Inne testy to test kometowy (ang. *comet assay*) i TUNEL (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling*) (Gill i Piasecka, 2020; Marchlewska i wsp., 2021).

Wpływ statusu chromatyny plemników na proces zapłodnienia

Potwierdzeniem uzyskania prawidłowego zapłodnienia jest obecność dwóch ciałek kierunkowych oraz dwóch przedjądrzy – żeńskiego i męskiego, które powinny być zbliżonej wielkości, zlokalizowane blisko siebie w centralnej części oocytu. Zgodnie z rekomendacjami II konsensusu wiedeńskiego (ESHRE, 2017) weryfikacja zarodka powinna odbywać się 17 h $\pm$ 1 h po zapłodnieniu.

Należy jednak zaznaczyć, że w przypadku metody ICSI wytworzenie przedjądrzy może mieć miejsce 1,5–2 h wcześniej niż w przypadku klasycznego IVF. Natomiast brak widocznych w 1. dobie przedjądrzy lub obecność tylko jednego przedjądrza bądź trzech przedjądrzy uznaje się za cechy nieprawidłowego zapłodnienia (rycina 2) (Bączkowski i wsp., 2004; ESHRE, 2017; Gill i wsp., 2018; Nasiri i Eftekhari-Yazdi, 2015; Tang i wsp., 2020; Wdowiak i wsp., 2015).

Wraz ze wzrostem odsetka plemników z obniżonym statusem chromatyny rośnie ryzyko niepowodzeń w uzyskaniu zapłodnienia

Istnienie zależności między jakością materiału genetycznego męskich komórek rozrodczych a procesem zapłodnienia potwierdzają prace licznych autorów. Wykazują

oni istotnie niższy odsetek prawidłowo zapłodnionych oocytów w stosunku do wszystkich zapładnianych oocytów (FR, ang. *fertilization rate*) w przypadku niepłodnych par, w których partnerami byli mężczyźni z:

- $\geq 10\%$ plemników TUNEL-pozytywnych vs. $< 10\%$ (metoda IVF i ICSI) (Benchaib i wsp., 2003),
- $> 17,60\%$ plemników TUNEL-pozytywnych vs. $\leq 17,60\%$ (metoda ICSI) (Avenidaño i wsp., 2010),
- $> 20\%$ plemników AB-pozytywnych vs. $\leq 20\%$ (metoda IVF) (Hammadeh i wsp., 1998),
- $\geq 30\%$ plemników CMA3-pozytywnych vs. $< 30\%$ (metoda ICSI) (Nasr-Esfahani i wsp., 2004),
- $\geq 40\%$ plemników CMA3-pozytywnych vs. $< 40\%$ (metoda IVF i ICSI) (Tavalaee i wsp., 2009).

Na podstawie analizy krzywej ROC (ang. *receiver operating characteristic*) oraz pola powierzchni pod krzywą (AUC, ang. *area under curve*) wykazano, że testy AB, CMA3, SCD mają istotną wartość predykcyjną¹ dla uzyskania zapłodnienia w warunkach *in vitro*. Nie wykazano tej wartości dla testu OA (Iranpour, 2014; Nasr-Esfahani i wsp., 2001; Tang i wsp., 2020). Odpowiednio, była to:

- średnia wartość predykcyjna testu AB (AUC = 0,614 przy optymalnej wartości granicznej² 20% plemników AB-pozytywnych, metoda IVF) (Nasr-Esfahani i wsp., 2001),
- średnia wartość predykcyjna testu CMA3 (AUC = 0,646 przy optymalnej wartości granicznej 48% plemników CMA3-pozytywnych, metoda ICSI) (Iranpour, 2014),
- satysfakcjonująca wartość testu SCD (AUC = 0,772 przy optymalnej wartości granicznej 31,25% SDF, metoda IVF) (Tang i wsp., 2020),
- bardzo dobra wartość predykcyjna testu CMA3 (AUC = 0,911 przy optymalnej wartości granicznej 30% plemników CMA3-pozytywnych, metoda IVF) (Nasr-Esfahani i wsp., 2001).

Wykazano także ujemną liniową zależność³ (korelację) między odsetkiem plemników AB-pozytywnych ($r = -0,342$) (metoda IVF) (Nasr-Esfahani i wsp., 2001), CMA3-pozytywnych ($r = -0,291$; $-0,565$; $-0,564$) (metody ICSI i IVF) (Nasr-Esfahani i wsp., 2001, 2005; Tavalaee i wsp., 2009), fragmentacją jądrowego DNA weryfikowaną testem kometowym ($r = -0,318$) (metoda IVF) (Simon i Lewis, 2011) oraz SDF (test SCD) ($r = -0,245$, $r = -0,291$) (metody IVF i ICSI) (Muriel i wsp., 2006; Tavalaee i wsp., 2009) a odsetkiem zapłodnionych

oocytów. Co więcej, zaobserwowano, że wraz ze wzrostem odsetka SDF wydłużeniu ulega czas wytworzenia przedjądrzy będących markerem zapłodnienia – ujawniono dodatnią korelację ($r = 0,473$; metoda ICSI) między SDF a czasem pojawienia się przedjądrzy (Wdowiak i wsp., 2015). Stwierdzono również, że iloraz szans (OR, ang. *odds ratio*)⁴ na uzyskanie niskiego odsetka zapłodnionych oocytów ($< 40\%$) był 9,5-krotnie wyższy, gdy w nasieniu mężczyzn będących partnerami w niepłodnych parach leczonych metodą IVF odsetek plemników z pofragmentowanym jądrowym DNA (test kometowy) wynosił $> 40\%$ w odniesieniu do mężczyzn z $\leq 40\%$ plemników z fragmentacją jądrowego DNA. Natomiast OR, zgodnie z oczekiwaniami, dla uzyskania wysokiego odsetka zapłodnionych oocytów ($> 70\%$) był 24,18-krotnie niższy (Simon i Lewis, 2011). W przypadku testu TUNEL również potwierdzono związek między odsetkiem zapłodnionych oocytów a odsetkiem plemników z pofragmentowanym jądrowym DNA, np. w przypadku odsetka plemników TUNEL-pozytywnych < 25 dla 43 par uzyskano $> 80\%$ zapłodnionych oocytów, z kolei w przypadku odsetka plemników TUNEL-pozytywnych > 25 dla żadnej z par nie uzyskano $> 80\%$ zapłodnionych oocytów (Lopes i wsp., 1998).

Wpływ statusu chromatyny plemników na uzyskanie zapłodnienia w zależności od zastosowanej metody zapłodnienia *in vitro*

Lopes i wsp. (1998) ujawnili istotne ujemne korelacje ($r = -0,230$) między odsetkiem zapłodnionych oocytów a odsetkiem plemników TUNEL-pozytywnych w przypadku par leczonych metodą ICSI. Nie wykazali jednak tych korelacji, gdy zastosowano procedurę IVF. Także Xue i wsp. (2016) stwierdzili istotne ujemne korelacje ($r = -0,433$) między SDF a odsetkiem zapłodnionych oocytów tylko w grupie pacjentów leczonych metodą ICSI, nie wykazali ich w przypadku procedury IVF. Ponadto badacze ci uzyskali średnią wartość prognostyczną testu SCD dla zapłodnienia metodą ICSI (AUC = 0,680 przy optymalnej wartości granicznej 22,30% SDF). Przeciwnie wyniki otrzymali inni autorzy (Borini i wsp., 2006; Pregl Breznik i wsp., 2013), którzy nie stwierdzili liniowego związku między wynikami testu TUNEL lub SCD a odsetkiem zapłodnionych oocytów w przypadku zastosowania procedury ICSI, ujawnili jednak ten związek w przypadku wykorzystania procedury IVF (odpowiednio: $r = -0,219$; $r = -0,436$). Kolejne badania przeprowadzone przez Oleszczuk i wsp. (2016) wykazały, że jeśli mężczyźni z par leczonych metodą IVF mieli $\leq 10\%$ DFI, to uzyskano istotnie więcej zapłodnionych oocytów

1 Wartość predykcyjną danego testu określa się na podstawie wartości AUC. Interpretuje się ją w następujący sposób: doskonała wartość predykcyjna – AUC $> 0,9$ – $1,0$, dobra wartość predykcyjna – AUC $> 0,8$ – $0,9$, satysfakcjonująca wartość predykcyjna – AUC $> 0,7$ – $0,8$, średnia wartość predykcyjna – AUC $> 0,6$ – $0,7$, niewystarczająca wartość predykcyjna – AUC $\geq 0,5$ – $0,6$.

2 Optymalna wartość graniczna/wartość odcięcia to wartość, powyżej której statystycznie istotnie zwiększa się ryzyko zajścia badanego zjawiska.

3 Wartości współczynnika korelacji interpretuje się w następujący sposób: brak zależności liniowej – $r < 0,2$, słaba zależność – $r > 0,2$ – $0,4$, umiarkowana zależność – $> 0,4$ – $0,7$, silna zależność – $r > 0,7$ – $0,9$, bardzo silna zależność – $r > 0,9$.

4 OR – parametr określający stosunek szans na wystąpienie badanego zdarzenia w danej grupie w odniesieniu do szans na wystąpienie tego samego zdarzenia w innej grupie, będącej punktem odniesienia.

w porównaniu z parami, w których mężczyźni mieli >30% DFI, >20–30% DFI lub >10–20% DFI. Natomiast gdy w tych samych badaniach analizie poddano wyniki uzyskane dla grupy leczonej metodą ICSI, nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych. Podobnie [Simon i wsp. \(2010\)](#) wykorzystując procedurę IVF, uzyskali istotnie niższy odsetek zapłodnionych oocytów, kiedy w nasieniu odsetek plemników z obniżoną integralnością DNA (test kometowy) wynosił 61–100 w porównaniu z grupą mężczyzn, w nasieniu których stwierdzono 21–40% lub 0–20% plemników z pofragmentowanym DNA. Co więcej, autorzy ci uzyskali średnią wartość predykcyjną testu kometowego dla procesu zapłodnienia metodą IVF (AUC = 0,629 lub 0,648 przy optymalnych wartościach granicznych odpowiednio 56% i 44% plemników z pofragmentowanym DNA), natomiast nie wykazali opisanych zależności w grupie pacjentów leczonych metodą ICSI.

Przytoczone powyżej dane sugerują, że w większości badanych przypadków wyraźniejszy wpływ statusu chromatyny na proces zapłodnienia stwierdzany jest, gdy wykorzystuje się metodę IVF. Sugestię tę potwierdzają wyniki badań, w których nie obserwuje się związku między uszkodzeniami chromatyny plemników a procesem zapłodnienia, kiedy w analizach statystycznych łącznie analizuje się dane uzyskane z procedur IVF i ICSI ([Borini i wsp., 2006](#); [Oleszczuk i wsp., 2016](#)). Wydaje się, że w tym aspekcie niebagatelne znaczenie ma omijanie przez plemnik naturalnych barier, które pozwalają na wyselekcjonowanie gamet najbardziej atrakcyjnych biologicznie również pod względem jakości chromatyny, koreluje ona bowiem ze strukturą i funkcją plemnika, co potwierdzają badania wielu autorów ([Evgeni i wsp., 2015](#); [Gill i wsp., 2019a, 2019b](#); [Homa i wsp., 2019](#); [Jakubik-Ułjasz i wsp., 2020](#); [Lu i wsp., 2018](#); [Montjean i wsp., 2015](#); [Piasecka i Gill, 2021](#)). W przypadku procedury IVF plemnik musi wykazać zdolność do hiperaktywacji i wiązania się z kwasem hialuronowym wieńca promienistego zbudowanego z komórek ziarnistych otaczających komórkę jajową, co pozwala mu nie tylko przedostać się przez barierę utworzoną przez te komórki, ale także wyeksponować receptory dla komórki jajowej i w konsekwencji odbyć reakcję akrosomalną, i dalej przedostać się przez osłonę przejrzystą. Następna bariera, na jaką natrafia męska gameta, to oolemma – błona komórkowa oocytu. Tylko plemniki, które mają odpowiednie receptory, podlegają fuzji z oolemmą i są „wciągane” do cytoplazmy komórki jajowej ([Piasecka i Gill, 2021](#)). W przypadku zastosowania metody ICSI opisane powyżej naturalne bariery są pomijane.

Nieoczywisty wpływ statusu chromatyny plemników na uzyskanie zapłodnienia

Z przeglądu piśmiennictwa jednak wynika, że badania, których celem było m.in. znalezienie związku między

statusem chromatyny plemników a procesem zapłodnienia w warunkach *in vitro*, nie zawsze dostarczają oczywistych i jednoznacznych danych. [Benchab i wsp. \(2003\)](#) wykazali negatywny wpływ fragmentacji plemnikowego DNA ($\geq 10\%$ plemników TUNEL-pozytywny vs. $< 10\%$) na proces zapłodnienia, natomiast nie uzyskali statystycznie istotnych korelacji między odsetkiem plemników z pofragmentowanym DNA a odsetkiem zapłodnionych oocytów. W innych badaniach, pomimo że ujawniono istotnie niższy odsetek zapłodnionych oocytów dla par, w których mężczyźni mieli $\geq 10\%$ plemników AB-pozytywnych (vs. $< 10\%$, metoda ICSI), nie wykazano tych różnic, gdy w nasieniu odsetek plemników AB-pozytywnych był wyższy ($> 20\%$ vs. $\leq 20\%$ lub $> 30\%$ vs. $\leq 30\%$). Podobnie brak różnic statystycznie istotnych stwierdzono dla testu CMA3, OA i TB i nie ujawniono istotnych korelacji między wynikami zastosowanych testów a odsetkiem zapłodnionych oocytów ([Sadeghi i wsp., 2009](#)). [Velez de la Calle i wsp. \(2008\)](#) wyróżniając grupę mężczyzn z różną wartością SDF (10%, 15%, 18%, 20% i 25%) (test SCD), wykazali, że jedynie wartość 18% SDF miała kliniczne znaczenie dla uzyskania zapłodnienia metodą IVF i ICSI (współczynnik regresji krokowej = $-5,52$). Co więcej, [Iranpour \(2014\)](#) z jednej strony wykazał istotne ujemne zależności między odsetkiem plemników CMA3-pozytywnych a odsetkiem zapłodnionych oocytów (metoda ICSI) (współczynnik regresji logarytmicznej = $-0,052$), z drugiej zaś nie stwierdził tych zależności w przypadku testów AB i OA ([Iranpour, 2014](#)). Z kolei [Tang i wsp. \(2020\)](#) ujawnili związek między SDF a odsetkiem zapłodnionych oocytów (metoda IVF), ale tylko w przypadku mężczyzn z astenozoospermia. Autorzy ci uzyskali niższy odsetek zapłodnionych oocytów dla par, w których mężczyźni mieli astenozoospermia i SDF $> 31,25\%$ w porównaniu z mężczyznami z astenozoospermia i z $\leq 31,25\%$ SDF, natomiast nie wykazano tych różnic, gdy mężczyźni mieli normozoospermia i $> 31,25\%$ SDF lub $\leq 31,25\%$ SDF. Wyniki tych badań wyraźnie pokazują, że związek między SDF a procesem zapłodnienia może być zależny od heterogenności grup badanych mężczyzn.

Również badania autorskie ([Gill i wsp., 2018](#)) prezentują niejednoznaczne dane. Wykazano w nich, że mężczyźni z par leczonych metodą ICSI, dla których uzyskano $> 50\%$ zapłodnionych oocytów, mieli istotnie niższy odsetek plemników TB-pozytywnych w porównaniu z parami, dla których uzyskano $\leq 50\%$ zapłodnionych oocytów. Co więcej, ujawniono, że test TB miał satysfakcjonującą wartość prognostyczną dla uzyskania $> 50\%$ zapłodnionych oocytów (AUC = 0,705, przy optymalnej wartości granicznej 17% plemników TB-pozytywnych). Z drugiej strony nie zaobserwowano istotnych korelacji między odsetkiem plemników TB-pozytywnych oraz odsetkiem zapłodnionych oocytów, a w przypadku testu AB i CMA3 nie potwierdzono żadnych statystycznych zależności.

Brak wpływu statusu chromatyny plemników na uzyskanie zapłodnienia

Opublikowano również szereg doniesień naukowych, które niezależnie od metody oceny chromatyny plemników i zastosowanej procedury zapłodnienia pozaustrojowego nie wykazują zależności między jakością jądrowego DNA plemników a procesem zapłodnienia. W badaniach tych wykazuje się brak różnic w odsetku zapłodnionych oocytów między parami, w których mężczyźni mieli:

- >15% DFI vs. ≤15% (ICSI) (*Green i wsp., 2020*),
- >15% HDS vs. 5–15% lub vs. <5% (IVF i ICSI) (*Lin i wsp., 2008*),
- >15% HDS vs. ≤15% (IVF) (*Niu i wsp., 2011*),
- ≥20% plemników TUNEL-pozytywnych vs. <20% (ICSI) (*Dariš i wsp., 2009*),
- ≥20% SDF vs. <20% (IVF i ICSI) (*Sun i wsp., 2018*),
- ≥21% SDF vs. 11–20% lub vs. ≤10% (IVF) (*Zheng i wsp., 2018*),
- >23,3% plemników TUNEL-pozytywnych vs. ≤24,3% (IVF i ICSI) (*Henkel i wsp., 2003*),
- >27% DFI vs. 9–27% lub vs. <9% (IVF i ICSI) (*Lin i wsp., 2008*),
- >27% DFI vs. ≤27% (IVF) (*Niu i wsp., 2011*),
- >29% plemników AB-pozytywnych vs. ≤29% (ICSI) (*Hammadeh i wsp., 1996*),
- ≥30% DFI vs. >15–<30% lub vs. ≤15% (IVF i ICSI) (*Chen i wsp., 2020*; *Yang i wsp., 2019*),
- ≥30% SDF vs. <30% (IVF i ICSI) (*Borges i wsp., 2019*; *Sun i wsp., 2018*; *Sivanarayana i wsp., 2013*; *Wang i wsp., 2014*),
- >30% plemników ze denaturowanym DNA vs. >15–30% lub vs. 0–15% (ICSI) (*Zini i wsp., 2005*),
- >35% SDF vs. ≤35% (IVF, ICSI) (*Anifandis i wsp., 2015*),
- >36,5% plemników TUNEL-pozytywnych vs. ≤36,5% (IVF i ICSI) (*Henkel i wsp., 2003*).

Ponadto nie wykazano różnic w odsetku zapłodnionych oocytów (metoda ICSI) w przypadku wykorzystania wyselekcjonowanego nasienia (komora ZyMöt™⁵) zawierającego średnio 1,2 ± 0,4% plemników TUNEL-pozytywnych oraz wyselekcjonowanego nasienia (wirowania na gradiencie stężeń – DGC, ang. *density gradient centrifugation*) zawierającego średnio 18,5 ± 11,00% plemników TUNEL-pozytywnych (*Parrella i wsp., 2019*). Nie stwierdzono również istotnych korelacji między odsetkiem zapłodnionych oocytów a wynikami testu:

- AB (IVF i ICSI) (*Hammadeh i wsp., 1998*; *Razavi i wsp., 2003*; *Sadeghi i wsp., 2011*),
- CMA3 (ICSI) (*Sadeghi i wsp., 2011*),
- SCD (IVF i ICSI) (*Antonouli i wsp., 2019*; *Tandara i wsp., 2014*),
- SCSA (IVF i ICSI) (*Larson-Cook i wsp., 2003*),
- TB (ICSI) (*Sadeghi i wsp., 2011*).

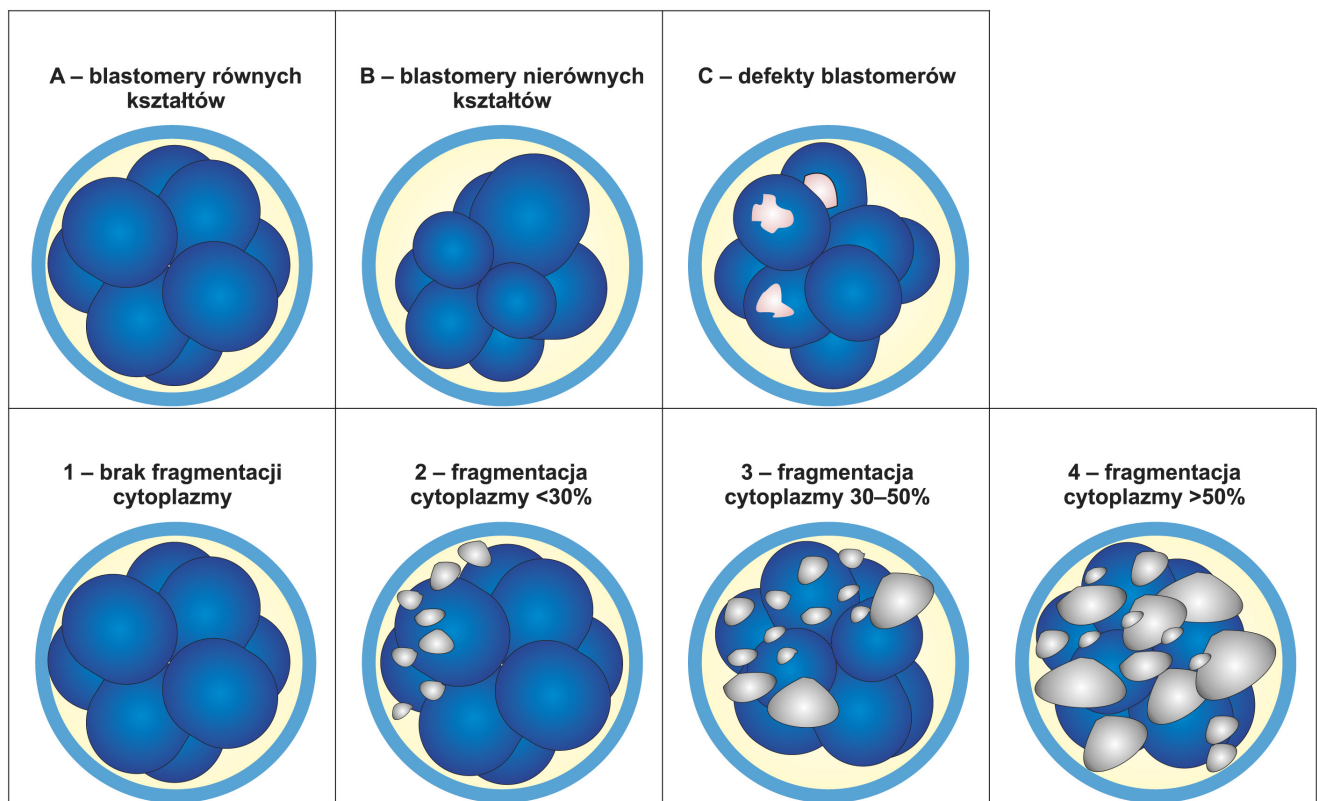
5 ZyMöt™ – urządzenie/komora wykorzystywana do selekcji męskich gamet wykorzystywanych w procedurach ART. Posiada ona specjalną membranę z porami o wielkości 8 µm, którą w założeniu producenta mogą pokonać jedynie plemniki wykazujące prawidłowy ruch postępowy i prawidłową budowę morfologiczną.

Wpływ statusu chromatyny plemników na rozwój zarodków w 2.–3. dobie po zapłodnieniu

W 2.–3. dobie po zapłodnieniu metodą *in vitro* ocenie podlega blastomerowa budowa zarodka. W 2. dobie między 26 h a 44 h ± 1 h po zapłodnieniu powinien nastąpić podział mitotyczny zygoty (ang. *first cleavage*), w efekcie czego powstaje 2 blastomerowy zarodek. Kolejnej oceny dokonuje się w 44 h ± 1 h po zapłodnieniu – prawidłowy zarodek wykazuje 4 blastomerową budowę. Z kolei po 68 h ± 1 h prawidłowy embrion ma 8 blastomerową budowę. Poza liczbą blastomerów jednocześnie ocenie podlega ich symetria i jakość cytoplazmy. W efekcie stosuje się 3-znakowy system ewaluacji, gdzie pierwszy symbol – cyfra odpowiada liczbie blastomerów, drugi symbol – litera odpowiada wzajemnej symetryczności blastomerów (A – blastomery symetryczne; B – blastomery nierównych kształtów, C – cytoplazmatyczne defekty blastomerów), trzeci symbol – cyfra odpowiada stopniowi fragmentacji cytoplazmy (1 – brak fragmentacji cytoplazmy; 2 – fragmentacja <30%; 3 – fragmentacja 30–50%; 4 – fragmentacja cytoplazmy >50%) (rycina 3) (*Baczkowski i wsp., 2004*; *ESHRE, 2017*; *Gill i wsp., 2018*; *Nasiri i Eftekhari-Yazdi, 2015*; *Tang i wsp., 2020*; *Wdowiak i wsp., 2015*).

Wraz ze wzrostem odsetka plemników z obniżonym statusem chromatyny rośnie ryzyko nieprawidłowego rozwoju zarodka w 2.–3. dobie po zapłodnieniu

Wyniki badań *Velez de la Calle i wsp. (2008)* wskazują, że wraz ze wzrostem stopnia uszkodzeń chromatyny plemników maleje odsetek zarodków o prawidłowej budowie blastomerowej. Wykazano, że mężczyźni z par, dla których uzyskano zarodki o optymalnej budowie morfologicznej, w 2. dobie po zapłodnieniu (metody IVF i ICSI) mieli istotnie niższy odsetek SDF (22,32% SDF) niż mężczyźni z par, dla których uzyskano zarodki niższej jakości (22,41% SDF). Inne badania, przeprowadzone przez *Simon i wsp. (2010)*, potwierdzają także wpływ jakości DNA plemników na wczesną embriogenezę w grupach leczonych metodą IVF i ICSI. Autorzy ujawnili większy odsetek zarodków morfologicznie prawidłowych w 3. dobie, u par, w których mężczyźni mieli 0–20% plemników z pofragmentowanym jądrowym DNA (test kometowy) w porównaniu z parami, w których mężczyźni mieli 61–100% lub 41–60% plemników z nieprawidłową integralnością genomu plemników. W kolejnych badaniach ujawniono istotnie mniej zarodków morfologicznie prawidłowych ocenianych w 2. i 3. dobie po zapłodnieniu (metoda IVF i ICSI), gdy wykorzystano nasienie zawierające 71–100% plemników z pofragmentowanym jądrowym DNA (test kometowy) vs. ≤30% plemników z pofragmentowanym jądrowym DNA (*Simon*



Ryc. 3. Schemat ilustrujący kryteria oceny budowy morfologicznej zarodków, przeprowadzanej w hodowli *in vitro*, w. 2.–3. dobie po zapłodnieniu. Górny panel odpowiednio: A – symetryczne blastomery; B – niesymetryczne blastomery; C – defekty cytoplazmy blastomerów. Dolny panel odpowiednio: 1 – brak fragmentacji cytoplazmy; 2 – fragmentacja cytoplazmy <30%; 3 – fragmentacja cytoplazmy 30–50%; 4 – fragmentacja cytoplazmy >50%. Opracowane na podstawie [Bączkowski i wsp. \(2004\)](#) oraz [ESHRE \(2017\)](#)

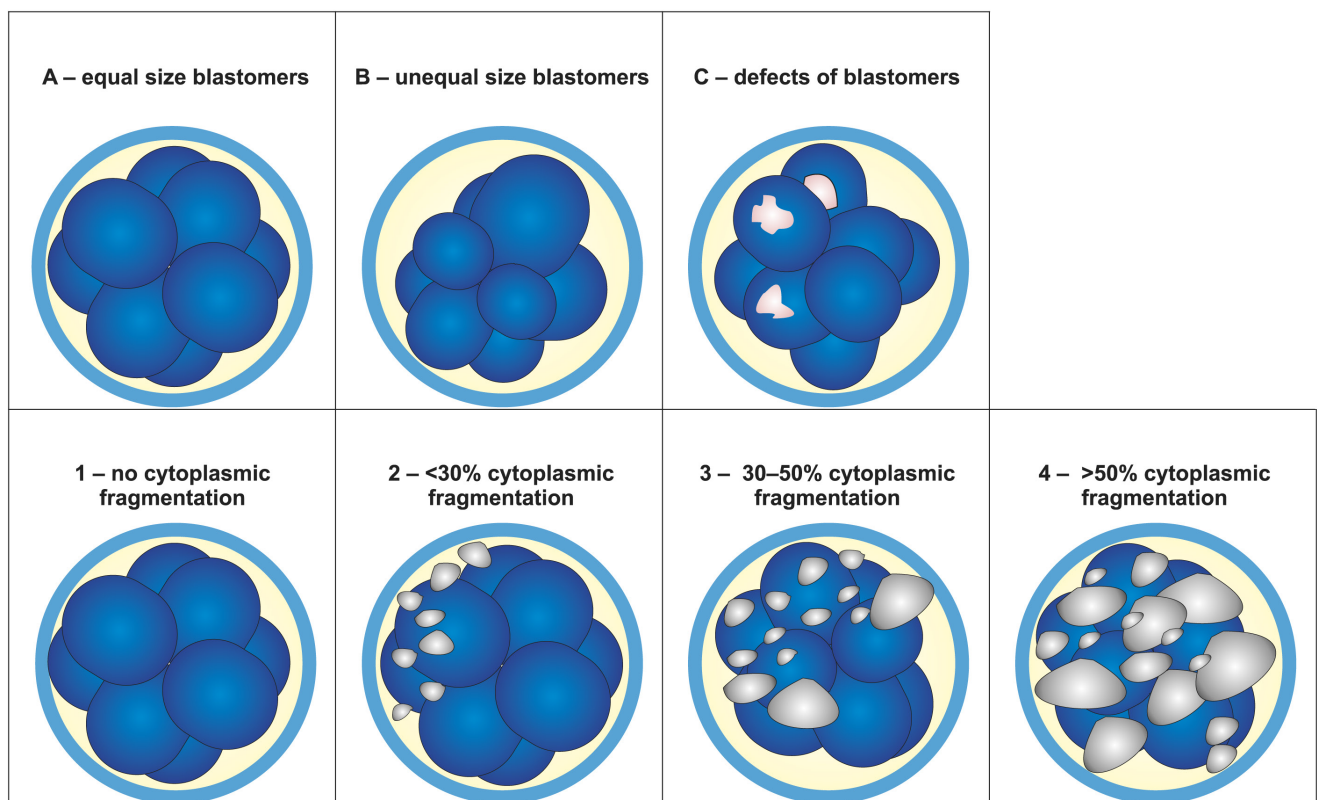


Fig. 3. Schema illustrating the criteria of embryo assessment in *in vitro* conditions on the 2nd–3th day after fertilization. Top panel: A – symmetrical blastomeres; B – asymmetrical blastomeres; C – cytoplasm defects of blastomers, respectively. Bottom panel: 1 – no cytoplasmic fragmentation; 2 – <30% of cytoplasmic fragmentation; 3 – 30–50% of cytoplasmic fragmentation; 4 – >50% of cytoplasmic fragmentation. Based on [Bączkowski et al. \(2004\)](#) and [ESHRE \(2017\)](#)

i wsp., 2014). Podobnie w innych publikacjach autorzy donoszą o uzyskaniu mniejszej liczby zarodków morfologicznie prawidłowych w 3. dobie dla par, w których mężczyźni mieli:

- $\geq 21\%$ SDF vs. 11–20% lub vs. $\leq 10\%$ (IVF) (*Zheng i wsp.*, 2018),
- $> 30\%$ SDF vs. $\leq 30\%$ (ICSI) (*Borges i wsp.*, 2019),
- $\geq 30\%$ SDF vs. $< 30\%$ (ICSI) (*Sivanarayana i wsp.*, 2013).

Co więcej, wykazano, że efekt dużego *halo*⁶ w teście SCD miał dobrą wartość prognostyczną (AUC = 0,830, przy optymalnej wartości granicznej 28% plemników z dużym halo) dla prawidłowego rozwoju zarodków ocenianych w 3. dobie po zapłodnieniu metodą IVF, podczas gdy pełna ocena fragmentacji DNA plemników w tym teście (patrz przypis 6) miała satysfakcjonującą wartość prognostyczną (AUC = 0,710, przy optymalnej wartości granicznej 26% SDF) (*Tandara i wsp.*, 2014). Uzupełnieniem powyższych danych są wyniki badań, w których stwierdzono istotne ujemne korelacje między prawidłowym rozwojem zarodka w 2. i 3. dobie a fragmentacją jądrowego DNA ocenianą w teście kometowym (odpowiednio, $r = -0,486$ i $r = -0,648$; metoda ICSI) (*Nasr-Esfahani i wsp.*, 2005) oraz między prawidłowym rozwojem zarodka ocenianym w 3. dobie a wartością odsetka plemników TUNEL-pozytywnych ($r = -0,640$, metoda ICSI) (*Avendaño i wsp.*, 2010). Wartość przytoczonych współczynników korelacji nie wskazuje na słabą siłę asocjacji, lecz na umiarkowaną.

Nieoczywisty wpływ statusu chromatyny plemników na rozwój zarodka w 2.–3. dobie po zapłodnieniu

Nie można pominąć faktu, że związek między statusem chromatyny a rozwojem zarodka może być zależny m.in. nie tylko od liczby plemników z uszkodzoną chromatyną, ale także od doby rozwoju zarodka, zastosowanego testu weryfikującego dojrzałość i integralność chromatyny oraz wykorzystanej metody zapłodniania *in vitro*. Wykazano bowiem istotne różnice w odsetku zarodków morfologicznie prawidłowych w 2. dobie, po zapłodnieniu metodą ICSI, uzyskanych dla par, w których mężczyźni mieli $> 30\%$ lub > 15 –30% plemników ze zde-naturowanym DNA vs. 0–15% (test z OA), nie wykazując tych różnic w odsetku zarodków morfologicznie prawidłowych w 3. dobie (*Zini i wsp.*, 2005). Z kolei inne badania przeprowadzone przez *Niu i wsp.* (2011) na grupie pacjentów leczonych metodą IVF nie ujawniły istotnych różnic w odsetku zarodków morfologicznie

prawidłowych w 2. dobie w zależności od odsetka plemników z nieprawidłowym statusem chromatyny ($> 27\%$ DFI vs. $\leq 27\%$ lub $> 15\%$ HDS vs. $\leq 15\%$). Z drugiej strony autorzy ci ujawnili istotnie wyższy odsetek zarodków morfologicznie prawidłowych w 3. dobie ($\leq 27\%$ DFI vs. $> 27\%$ DFI). Wyniki te potwierdzają również badania *Tang i wsp.* (2020), w których stwierdzono istotnie niższy odsetek prawidłowych zarodków w 3. dobie po zapłodnieniu metodą IVF uzyskany dla par, w których mężczyźni mieli astenozoospermie i $> 31,25\%$ SDF w porównaniu z mężczyznami z astenozoospermie i $\leq 31,25\%$ SDF, natomiast w badaniach tych nie wykazano różnic, gdy badani mieli normozoospermie i $> 31,25\%$ SDF w porównaniu z mężczyznami z normozoospermie i $\leq 31,25\%$ SDF.

Z kolei dane uzyskane przez *Sadeghi i wsp.* (2009) pokazują niebagatelne znaczenie zastosowanego testu weryfikującego status chromatyny plemników w przypadku oceny wpływu jej uszkodzeń na rozwój zarodków. Autorzy wykazali istotnie niższy odsetek prawidłowych zarodków w 3. dobie uzyskanych dla par, w których mężczyźni mieli $\geq 30\%$ plemników CMA3-pozytywnych vs. $< 30\%$ (metoda ICSI), jednak nie ujawnili tych różnic, kiedy zastosowano test AB, TB oraz OA. Zgodnie z sugestią *Sadeghi i wsp.* (2009) można uznać, że w przypadku badanej grupy mężczyzn poziom protaminacji chromatyny plemników (komórki CMA3-pozytywne z deficytem protamin) decydujący o jej upakowaniu mógł mieć istotny wpływ na rozwój zarodka w 3. dobie.

Inne badania, które obejmowały porównanie par, w których mężczyźni mieli $> 30\%$ DFI, > 20 – $\leq 30\%$ DFI, > 10 – $\leq 20\%$ DFI lub $\leq 10\%$ DFI, nie wykazały różnic w odsetku zarodków morfologicznie prawidłowych ocenianych zarówno w 2., jak i 3. dobie, gdy grupa badana nie była wyselekcjonowana w zależności od zastosowanej procedury zapłodnienia (IVF i ICSI). Natomiast gdy wyniki analizowano osobno dla grupy leczonej metodą IVF i grupy leczonej metodą ICSI, ocena statystyczna ujawniła wpływ uszkodzeń DNA plemników na rozwój zarodków: 1) dla wyizolowanej grupy pacjentów leczonych metodą IVF wykazano niższy iloraz szans na uzyskanie zarodków dobrej jakości w 2. dobie, gdy wartość DFI była $> 30\%$ lub > 20 – $\leq 30\%$ vs. $\leq 10\%$, 2) dla wyizolowanej grupy pacjentów leczonych metodą ICSI stwierdzono istotnie niższy iloraz szans na osiągnięcie zarodków o prawidłowej budowie w 2. dobie tylko w przypadku, gdy wartość DFI była > 20 – $\leq 30\%$ vs. $\leq 10\%$ (*Oleszczuk i wsp.*, 2016).

Uzyskiwane przez badaczy korelacje między stopniem uszkodzenia plemnikowego DNA a rozwojem embrionalnym nie zawsze są oczywiste. Stwierdzono istotne dodatnie korelacje między SDF a czasem osiągnięcia przez zarodek stadium 2 blastomerów ($r = 0,650$), 3 blastomerów ($r = 0,644$) oraz 4 blastomerów ($r = 0,677$) po zapłodnieniu metodą ICSI, nie wykazano jednak tych zależności w przypadku osiągnięcia przez zarodek stadium 5, 6, 7, 8 i 9 blastomerów (*Wdowiak i wsp.*, 2015). W kolejnych badaniach także ujawniono istotne

6 Efekt *halo* w teście SCD tworzony jest przez pętle DNA wyrzucane poza główkę plemnika, jeśli genomowe DNA jest integralne. Efekt ten uznawany jest za duży (duże *halo*), gdy jego średnica jest $\geq$ od średnicy główki plemnika, a za średni, gdy średnica jest $> \frac{1}{2}$ średnicy główki. Natomiast jeśli *halo* jest $\leq \frac{1}{2}$ średnicy główki plemnika lub nie występuje mimo wybarwienie główki bądź też stwierdza się tylko częściowo wybarwioną główkę albo niewybarwioną, uznaje się, że genomowe DNA uległo fragmentacji.

ujemne korelacje ($r = -0,242$) między SDF a rozwojem zarodka ocenianego w 3. dobie po zapłodnieniu, ale metodą IVF. Nie stwierdzono tych korelacji w przypadku zapłodnienia metodą ICSI (*Pregl Breznik i wsp., 2013*).

Brak wpływu statusu chromatyny plemników na rozwój zarodka w 2.–3. dobie po zapłodnieniu

Część autorów nie stwierdza statystycznie istotnego wpływu uszkodzeń chromatyny plemników na rozwój zarodków ocenianych w 2. i/lub 3. dobie. W badaniach tych nie wykazuje się różnic w odsetku zarodków morfologicznie prawidłowych, porównując zarodki uzyskane dla par, w których mężczyźni mieli:

- $>15\%$ HDS vs. $5\text{--}15\%$ lub vs. $<5\%$ (IVF i ICSI) (*Lin i wsp., 2008*),
- $\geq 20\%$ SDF vs. $<20\%$ (IVF i ICSI) (*Sun i wsp., 2018*),
- $>22,30\%$ SDF vs. $\leq 22,30\%$ (IVF i ICSI) (*Xue i wsp., 2016*),
- $>27\%$ DFI vs. $9\text{--}27\%$ lub vs. $<9\%$ (IVF i ICSI) (*Lin i wsp., 2008*),
- $>29\%$ plemników AB-pozytywnych vs. $\leq 29\%$ (IVF) (*Hammadeh i wsp., 1996*),
- $\geq 30\%$ DFI vs. $>15\text{--}<30\%$ lub vs. $\leq 15\%$ (IVF i ICSI) (*Yang i wsp., 2019*),
- $\geq 30\%$ SDF vs. $<30\%$ (IVF i ICSI) (*Sun i wsp., 2018*),
- $>30\%$ plemników CMA3-pozytywnych vs. $<30\%$ (ICSI) (*Nasr-Esfahani i wsp., 2004*),
- $>35\%$ SDF vs. $\leq 35\%$ (IVF i ICSI) (*Anifandis i wsp., 2015*).

Niektórzy autorzy nie ujawnili również korelacji między parametrami morfokinetycznymi zarodków ocenianych w 2.–3. dobie po zapłodnieniu a wynikami testu AB (metody IVF i ICSI) (*Hammadeh i wsp., 1998*; *Sadeghi i wsp., 2011*), TUNEL (metody IVF i ICSI) (*Henkel i wsp., 2003*), SCSA (metody IVF i ICSI) (*Larson-Cook i wsp., 2003*) oraz SCD (metody IVF i ICSI) (*Muriel i wsp., 2006*). Podobnie w badaniach autorskich (*Gill i wsp., 2018*) nie stwierdzono różnic w odsetkach plemników AB-, TB- i CMA3-pozytywnych między mężczyznami z par, dla których osiągnięto $>50\%$ lub $\leq 50\%$ zarodków morfologicznie prawidłowych w 3. dobie po zapłodnieniu metodą ICSI. Co więcej, w badaniach tych nie stwierdzono, aby testy te miały wartość predykcyjną dla uzyskania prawidłowych morfologicznie zarodków w 3. dobie po zapłodnieniu.

Wpływ statusu chromatyny plemników na rozwój zarodków w 4.–6. dobie po zapłodnieniu

$92\text{ h} \pm 2\text{ h}$ po zapłodnieniu embrion powinien znajdować się w stadium moruli zbudowanej z >10 ściśle przylegających do siebie blastomerów (kompakcja blastomerów)

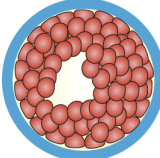
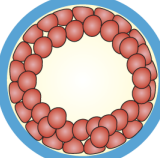
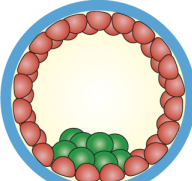
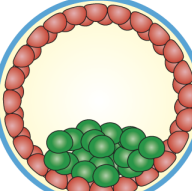
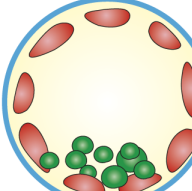
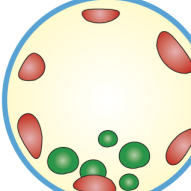
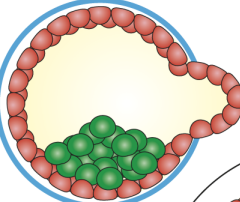
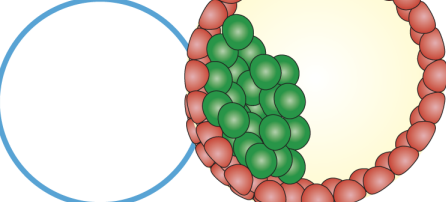
(*Kovacic i wsp., 2004*). Następnie w 5. dobie ($116\text{ h} \pm 2\text{ h}$ po zapłodnieniu) prawidłowo rozwijający się zarodek osiąga stadium blastuli i tworzy się jej jama (blastocel), która stopniowo zaczyna wypełniać zarodek. Wraz ze wzrostem objętości blastocelu pojawia się polaryzacja komórek, część komórek zgrupowanych na jednym z biegunów zarodka tworzy węzeł zarodkowy (embrioblast, ICM, ang. *inner cell mass*), natomiast druga pula komórek rozlokowana jest na obwodzie blastocysty i ulega spłaszczeniu, tworząc trofoektodermę (trofoblast, TE, ang. *trophoblast*). Jednocześnie blastocysta rozpręża się (objętość blastocelu staje się większa niż wczesna blastocysta), a osłona przejrzysta stopniowo staje się coraz cieńsza, co umożliwia wylęganie się zarodka przed jego implantacją do endometrium macicy (rycina 4) (*Baczkowski i wsp., 2004*; *ESHRE, 2017*; *Gardner i wsp., 2000*; *Gill i wsp., 2018*; *Kovacic i wsp., 2004*; *Nasiri i Eftekhari-Yazdi, 2015*; *Tang i wsp., 2020*; *Wdowiak i wsp., 2015*).

Wraz ze wzrostem odsetka plemników z obniżonym statusem chromatyny rośnie ryzyko nieprawidłowego rozwoju blastocysty

Wpływ jakości ojcowskiego materiału genetycznego na rozwój blastocysty potwierdzają publikacje, w których wykazano istotnie niższy odsetek zarodków osiągających stadium blastocysty dla par, w których mężczyźni mieli $\geq 10\%$ plemników TUNEL-pozytywnych vs. $<10\%$ (metody IVF i ICSI) (*Benchai i wsp., 2003*), $\geq 21\%$ SDF vs. $11\text{--}20\%$ lub vs. $\leq 10\%$ (metoda IVF) (*Zheng i wsp., 2018*) lub $\geq 30\%$ SDF vs. $<30\%$ (metoda ICSI) (*Borges i wsp., 2019*; *Sivanarayana i wsp., 2013*). Uzupełnieniem tych wyników są badania *Borges i wsp. (2019)*, w których wykazano niższy odsetek blastocyst o prawidłowej budowie morfologicznej, gdy mężczyźni mieli $\geq 30\%$ SDF vs. $<30\%$ (metoda ICSI). Stwierdzono także, że dla par, w których mężczyźni mieli $71\text{--}100\%$ plemników z uszkodzonym DNA vs. $0\text{--}30\%$ (test kometowy), osiągnięto istotnie więcej zarodków morfologicznie prawidłowych w 5. dobie po zapłodnieniu metodą IVF (*Simon i wsp., 2014*).

Nieoczywisty wpływ statusu chromatyny plemników na rozwój blastocysty

Istnieją badania, w których nie wykazano korelacji między SDF a czasem osiągnięcia przez zarodek stadium moruli, natomiast wykazano istotne ujemne korelacje między SDF a czasem osiągnięcia stadium blastocysty ($r = 0,537$) po zapłodnieniu metodą ICSI (*Wdowiak i wsp., 2015*). Z kolei w innych badaniach nie wykazano tej korelacji w przypadku ICSI, ale ujawniono ją, kiedy zastosowano metodę IVF ($r = -0,310$) (*Pregl Breznik i wsp., 2013*). Interesujące wyniki opublikowali *Tang i wsp.*

1 Wczesna blastocysta Blastocel wypełnia <50% objętości blastocysty			
2 Blastocysta Blastocel wypełnia >50% objętości blastocysty			
3 Wypełniona blastocysta Blastocel wypełnia blastocystę			
4 Rozprężona blastocysta Objętością blastocelu większa niż cała wczesna blastocysta, cieńsza osłona przejrzysta			
Węzeł zarodkowy (ICM, embrioblast)	A liczne, ściśle przylegające do siebie komórki	B kilk, luźno ułożonych komórek	C pojedyncze komórki
Trofoektoderma (TE, trofoblast)	A liczne, ściśle przylegające do siebie komórki	B kilk, luźno ułożonych komórek	C pojedyncze komórki
5 Wylęgająca się blastocysta	 wylęgająca się blastocysta z trofoektodermą wychodzącą poza osłonę przejrzystą		
6 Wylęgnięta blastocysta	 wylęgnięta blastocysta, która całkowicie opuściła osłonę przejrzystą		

Ryc. 4. Schemat ilustrujący kryteria oceny budowy morfologicznej zarodków osiągających stadium blastocysty, przeprowadzanej w hodowli *in vitro* w 5.–6. dobie po zapłodnieniu. Opracowane na podstawie [Bączkowski i wsp. \(2004\)](#), [Gardner i wsp. \(2000\)](#) oraz [ESHRE \(2017\)](#)

(2020), którzy wykorzystując procedurę IVF, wykazali istotnie niższy odsetek prawidłowych morfologicznie blastocyst uzyskanych dla par, w których mężczyźni mieli astenozoospermie i >31,25% SDF (vs. mężczyźni z astenozoospermie i z ≤31,25% SDF). Natomiast w przypadku par, w których mężczyźni mieli >31,25% SDF vs.

≤31,25% i jednocześnie normozoospermie, tych różnic nie wykazano.

Warto podkreślić, że zarówno w przypadku analizy odsetka zarodków morfologicznie prawidłowych ocenianych w 5. dobie po zapłodnieniu dla całej badanej grupy pacjentów (bez uwzględnienia rodzaju procedury

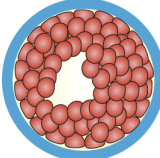
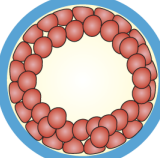
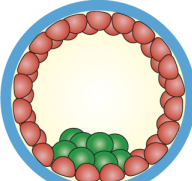
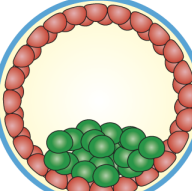
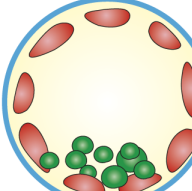
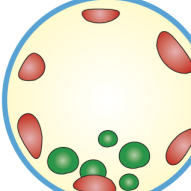
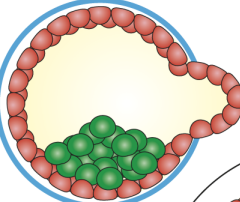
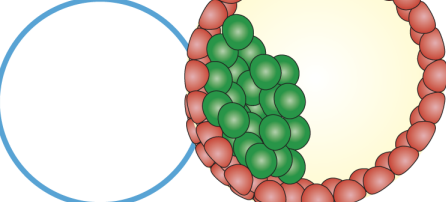
1 Early blastocysta Blastocel fills <50% of the blastocyst			
2 Blastocysta Blastocel fills >50% of the blastocyst			
3 Blastocysta Blastocel fills the blastocyst			
4 Expanded blastocyst The volume of blastocel is larger than the entire early blastocyst, the zona pellucida becomes thinner			
Inner cell mass (ICM)	A numerous and tightly packed cells	B several and loosely paced cells	C few cells
Trofoektoderma (TE, trofoblast)	A numerous cells organized in epithelium	B several cells organized in loose epithelium	C few cells
5 Hatching of the blastocyst	 hatching blastocyst with trophoectoderm extending beyond the zona pellucida		
6 Hatched blastocys	 hatched blastocyst that has completely left the zona pellucida		

Fig. 4. Schema illustrating the criteria of embryo development in blastocyst stage assessment in *in vitro* conditions on the 5th–6th day after fertilization. Based on [Bączkowski et al. \(2004\)](#), [Gardner et al. \(2000\)](#) and [ESHRE \(2017\)](#)

zapłodnienia pozaustrojowego), jak i dla wyizolowanych grup leczonych metodą IVF i ICSI nie ujawniono różnic statystycznie istotnych między parami, w których mężczyźni mieli >30% DFI, >20–≤30% DFI lub >10–≤20% DFI (vs. ≤10%) ([Oleszczuk i wsp., 2016](#)). Natomiast gdy podjęto próbę oszacowania ilorazu szans na uzyskanie

zarodków dobrej jakości w 5. dobie, wyniki analizy statystycznej były różne w zależności od zastosowanej metody zapłodnienia *in vitro*. Istotnie niższy iloraz szans na uzyskanie zarodków stwierdzono w przypadku par leczonych metodą IVF, w których mężczyźni mieli >30% DFI lub >20–≤30% DFI (vs. ≤10%), z kolei w przypadku par

leczonych metodą ICSI wykazano niższy iloraz szans tylko dla par, w których mężczyźni mieli $>20\text{--}\leq 30\%$ DFI (vs. $\leq 10\%$) (Oleszczuk i wsp., 2016).

Brak wpływu statusu chromatyny plemników na rozwój blastocysty

Nie zawsze potwierdza się związek między uszkodzeniami chromatyny a rozwojem blastocysty. Green i wsp. (2020) nie zaobserwowali różnic w liczbie blastocyst między grupami, w których mężczyźni mieli $>15\%$ DFI vs. $\leq 15\%$ (metoda ICSI). Podobnie w opisanych już badaniach przeprowadzonych przez Parrella i wsp. (2019) nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w odsetku zarodków morfologicznie prawidłowych w 5. dobie (metoda ICSI), gdy porównywano pary, dla których po selekcji nasienia (komora ZyMöt) uzyskano średnio $1,20 \pm 0,40\%$ plemników TUNEL-pozytywnych vs. pary, dla których uzyskano średnio $18,50 \pm 11,00\%$ plemników TUNEL-pozytywnych (metoda DGC). Co więcej, w innych badaniach nie wykazano istotnych korelacji między rozwojem zarodka w 5. dobie a wynikami testu SCSA (metody IVF i ICSI) (Larson-Cook i wsp., 2003) oraz SCD (metody IVF i ICSI) (Antonouli i wsp., 2019; Muriel i wsp., 2006). Również badania autorskie (Gill i wsp., 2018) nie ujawniły różnic w odsetkach plemników AB-, TB- i CMA3-pozytywnych między mężczyznami z par, dla których osiągnięto $>50\%$ lub $\leq 50\%$ zarodków morfologicznie prawidłowych w 5. dobie po zapłodnieniu metodą ICSI, jak również nie wykazały, aby testy te miały wartość predykcyjną dla uzyskania $>50\%$ morfologicznie prawidłowych blastocyst po procedurze ICSI.

Wpływ statusu chromatyny plemników na uzyskanie ciąży

W badaniach dotyczących wpływu statusu chromatyny męskich gamet na sukces rozrodczy w warunkach *in vitro* stosuje się wiele różnych parametrów będących miarą tego sukcesu. Zaliczyć do nich można: 1) Uzyskanie tzw. ciąży biochemicznej (ang. *biochemical pregnancy*), którą potwierdza się na podstawie oceny wzrostu poziomu podjednostki β ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (β -hCG, ang. *human chorionic gonadotropin β -subunit*) we krwi obwodowej kobiety. Badanie to wykonywane jest 12–14 dni po transferze zarodka z hodowli *in vitro* do macicy. 2) Odsetek implantacji (ang. *implantation rate*), który określany jest w oparciu o potwierdzenie, w badaniu ultrasonograficznym, obecności pęcherzyka ciążowego. Badanie to wykonywane jest w 4.–5. tygodniu ciąży. 3) Uzyskanie tzw. ciąży klinicznej (ang. *clinical pregnancy*), której potwierdzeniem jest zarejestrowanie w badaniu ultrasonograficznym bicia serca płodu. Badanie to przeprowadzane jest od 6. tygodnia ciąży. Co więcej, weryfikacji poddaje się asocjacje między

statusem chromatyny plemników a występowaniem poronień oraz żywych urodzeń (Avendaño i wsp., 2010; Borges i wsp., 2019; Bounartzi i wsp., 2016; Gill i wsp., 2018; Jerre i wsp., 2019; Parrella i wsp., 2019; Simon i wsp., 2011, 2014; Tandara i wsp., 2014).

Wraz ze wzrostem odsetka plemników z obniżonym statusem chromatyny rośnie ryzyko braku uzyskania ciąży i wystąpienia poronień

Podobnie jak w przypadku rozwoju zarodków w hodowli *in vitro*, tak też w przypadku uzyskania ciąży i jej prawidłowego przebiegu obserwuje się istotną rolę dojrzałości i integralności chromatyny plemników. Potwierdzają to wyniki badań, w których wykazano istotnie niższy odsetek uzyskanych ciąż biochemicznych, implantacji i/lub ciąż klinicznych, gdy mężczyźni mieli:

- 18,50% plemników TUNEL-pozytywnych vs. 1,20% (ICSI) (Parrella i wsp., 2019),
- $\geq 30\%$ SDF vs. $\leq 30\%$ (ICSI) (Sivanarayana i wsp., 2013),
- 50,30% plemników z pofragmentowanym DNA (test kometowy) vs. 23,20% (IVF) (Simon i wsp., 2011),
- 68,50% plemników z pofragmentowanym DNA (test kometowy) vs. 33,80% (IVF) (Simon i wsp., 2011),
- 71–100% plemników z pofragmentowanym DNA (test kometowy) vs. 0–30% (IVF i ICSI) (Simon i wsp., 2014).

Wartość predykcyjna testów oceniających jakość plemnikowej chromatyny także potwierdza wpływ uszkodzeń chromatyny plemników na uzyskanie ciąży. Ujawniono, że efekt dużego *halo* oceniany w teście SCD miał satysfakcjonującą wartość predykcyjną dla uzyskania ciąży klinicznej (AUC = 0,750, wartość graniczna 38% z dużym *halo*), podczas gdy pełna ocena fragmentacji DNA plemników w tym teście (patrz przypis 6) miała średnią wartość predykcyjną (AUC = 0,670, wartość graniczna 29% SDF) (Tandara i wsp., 2014). Podobne wyniki wykazano w innych badaniach, w których uzyskano satysfakcjonującą wartość kliniczną testu SCD dla prognozowania uzyskania ciąży klinicznej po procedurze IVF i ICSI (AUC = 0,700, brak podanej wartości granicznej) (Bounartzi i wsp., 2016) bądź też testu TUNEL (AUC = 0,700, przy optymalnej wartości granicznej 17,6% plemników TUNEL-pozytywnych, metoda ICSI) (Avendaño i wsp., 2010). Uzupełnieniem tych ostatnich wyników było oszacowanie ilorazu szans na uzyskanie ciąży w zależności od empirycznie wyliczonej wartości granicznej odsetka plemników TUNEL-pozytywnych. Dla par, w których mężczyźni mieli $>17,6\%$ plemników TUNEL-pozytywnych, iloraz szans na osiągnięcie ciąży był 3,5-krotnie niższy niż w przypadku mężczyzn z $\leq 17,6\%$ plemników TUNEL-pozytywnych.

Lepszą wartość prognostyczną uzyskano dla testu kometowego. Wykorzystując do zapłodnienia IVF plemniki wyselekcjonowane (metoda DGC) lub gamety nie-selekcjonowane, wykazano odpowiednio dobrą wartość

predykcyjną (AUC = 0,879, przy optymalnej wartości granicznej 42% plemników z fragmentacją DNA) oraz bardzo dobrą wartość predykcyjną (AUC = 0,905, przy optymalnej wartości granicznej 52% plemników z fragmentacją DNA) testu kometowego dla uzyskania ciąży klinicznej (*Simon i wsp., 2011*). Co więcej, w badaniach tych wykazano, że iloraz szans dla braku ciąży był aż 24,18-krotnie wyższy, gdy w wyselekcjonowanym nasieniu (metoda DGC) stwierdzano >42% plemników z uszkodzoną chromatyną, oraz 76,00-krotnie wyższy, kiedy w nieselekcjonowanym nasieniu stwierdzono >52% plemników z pofragmentowanym DNA (*Simon i wsp., 2011*).

Wykazano także, że uszkodzenia jądrowego DNA plemników mogą wpływać na wzrost ryzyka poronień, które częściej występowały u par, w których mężczyźni mieli $\geq 30\%$ SDF vs. $\leq 30\%$ (metoda ICSI) (*Sivanarayana i wsp., 2013*). Co więcej, ujawniono niemal 1,5-krotnie wyższe ryzyko wczesnych poronień (≤ 12 . tydzień ciąży), gdy mężczyźni mieli $>15\%$ HDS vs. $\leq 15\%$ (metody IVF i ICSI) (*Jerre i wsp., 2019*). Wykazano również, że wraz ze wzrostem uszkodzeń ojcowskiego materiału genetycznego $\geq 30\%$ SDF vs. $\leq 30\%$ (metoda ICSI) zmniejsza się liczba ciąż zakończonych porodem (*Sivanarayana i wsp., 2013*). Potwierdzają to również wyniki badań opublikowanych przez *Parrella i wsp. (2019)*. Istotnie więcej ciąż zakończonych porodem (procedura ICSI) stwierdzono, gdy do zapłodnienia wykorzystano wyselekcjonowane nasienie (komora ZyMót), w którym było średnio $1,20 \pm 0,40\%$ plemników TUNEL-pozytywnych w porównaniu z wyselekcjonowanym nasieniem (metoda DGC), w którym było średnio $18,50 \pm 11,00\%$ plemników TUNEL-pozytywnych.

Wpływ statusu chromatyny plemników na uzyskanie ciąży i wystąpienie poronień w zależności od zastosowanej metody zapłodnienia *in vitro*

Nie ulega wątpliwości, że sukces rozrodczy zapłodnienia pozaustrojowego w postaci ciąży może być zależny zarówno od liczby plemników z uszkodzoną chromatyną, jak i rodzaju zastosowanej procedury. *Borini i wsp. (2006)* wykazali istotnie wyższy odsetek uzyskanych ciąż klinicznych oraz niższy odsetek poronień przy zastosowaniu procedury ICSI, gdy mężczyźni mieli $\leq 10\%$ plemników TUNEL-pozytywnych vs. $>10\%$. Gdy autorzy zastosowali metodę IVF, nie uzyskali różnic w badanych parametrach między porównywanymi grupami. Odmienne wyniki zaprezentowali *Henkel i wsp. (2003)*. Jeśli pacjenci leczeni metodą IVF mieli $>36,5\%$ plemników TUNEL-pozytywnych, uzyskiwano niższy odsetek ciąż vs. $\leq 36,5\%$. Nie wykazano tych różnic w przypadku par leczonych metodą ICSI ($>24,3\%$ vs. $\leq 24,3\%$ plemników TUNEL-pozytywnych). Z kolei *Oleszczuk i wsp. (2016)* u pacjentów leczonych metodą IVF i ICSI nie stwierdzili

istotnych różnic w szansach na uzyskanie ciąży biochemicznej, gdy mężczyźni mieli $>30\%$ DFI, $>20\text{--}\leq 30\%$ DFI oraz $>10\text{--}\leq 20\%$ DFI vs. $\leq 10\%$. Natomiast ci sami autorzy wykazali istotnie wyższy iloraz szans na wystąpienie poronień, gdy wartość DFI wynosiła $>40\%$, ale tylko gdy rozpatrywano całą grupę bez podziału na rodzaj procedury zapłodnienia. Z kolei kiedy z badanej grupy wydzielono pary leczone metodą IVF i ICSI, szansa na urodzenie żywego dziecka była istotnie niższa, gdy DFI wynosiło $>20\%$ DFI vs. $\leq 10\%$, ale tylko w przypadku procedury IVF. Brak istotnych różnic w szansach na urodzenie żywego potomstwa uzyskano w przypadku procedury ICSI (*Oleszczuk i wsp., 2016*). Wyniki *Oleszczuk i wsp. (2016)* częściowo zgodne są z danymi uzyskanymi przez *Simon i wsp. (2010)*. Ci ostatni autorzy wykazali średnią wartość predykcyjną testu kometowego (AUC = 0,648, przy optymalnej wartości granicznej 56% plemników z fragmentacją DNA lub AUC = 0,629, przy optymalnej wartości granicznej 44% plemników z fragmentacją DNA) dla uzyskania ciąży, ale tylko w przypadku zastosowania procedury IVF. Szansa na uzyskanie ciąży była 4,52-krotnie oraz 6,20-krotnie wyższa, gdy mężczyźni mieli odpowiednio $<56\%$ lub $<44\%$ plemników z pofragmentowanym DNA w porównaniu z mężczyznami z odpowiednio $>56\%$ lub $>44\%$ plemników z pofragmentowanym DNA.

Nieoczywisty wpływ statusu chromatyny plemników na uzyskanie ciąży i wystąpienie poronień

Nieoczywisty wpływ uszkodzeń chromatyny plemników obserwuje się nie tylko w przypadku procesu zapłodnienia i wczesnego rozwoju zarodkowego, ale również w przypadku uzyskania i przebiegu ciąży. Wykazano bowiem, że dla par leczonych metodą ICSI, w których mężczyźni mieli $\geq 30\%$ SDF, uzyskano istotnie niższy odsetek implantacji oraz wyższy poronień vs. $<30\%$ SDF. Nie wykazano jednak różnic w odsetku ciąż biochemicznych i klinicznych (*Borges i wsp., 2019*). W innych badaniach nie tylko ujawniono różnice w odsetku implantacji, ale także ciąż klinicznych (metoda IVF) między grupami, w których mężczyźni mieli $\geq 21\%$ SDF vs. $11\text{--}20\%$ SDF lub vs. $\leq 10\%$. Nie wykazano jednak różnic w częstości poronień (*Zheng i wsp., 2018*). Co więcej, stwierdzono ujemne korelacje ($r = -0,250$) między SDF (*Muriel i wsp., 2006*) a odsetkiem implantacji (metody IVF i ICSI), ale nie ujawniono tych korelacji między SDF (*Muriel i wsp., 2006*) lub DFI (metody IVF i ICSI) (*Larson-Cook i wsp., 2003*) a odsetkiem ciąż odpowiednio klinicznych i biochemicznych. Jedni badacze stwierdzili, niezależnie od zastosowanej procedury zapłodnienia *in vitro*, brak ciąży, gdy wartość DFI była $>27\%$ (*Larson-Cook i wsp., 2003*). Drudzy natomiast nie wykazali różnic w odsetku uzyskanych ciąż klinicznych (metody IVF i ICSI) między grupami, w których mężczyźni mieli $>27\%$ DFI vs. $9\text{--}27\%$

DFI lub vs. <9% oraz >15% HDS vs. 5–15% HDS lub vs. <5%. Wykazano jednak wyższą częstość poronień w grupach, w których mężczyźni mieli >27% DFI i >15% HDS (Lin i wsp., 2008). Ujawniono również, że grupa płodnych mężczyzn (ciąża osiągnięta drogą naturalną) oraz grupa mężczyzn z par, dla których procedura IVF i ICSI zakończyła się uzyskaniem ciąży klinicznej, mieli istotnie niższy odsetek DFI (odpowiednio: 15% i 21% DFI) niż grupa mężczyzn z par, dla których mimo zastosowania zapłodnienia pozaustrojowego nie udało się uzyskać ciąży (38% DFI). Jednak grupy te nie różniły się odsetkiem HDS (Saleh i wsp., 2003). Wyniki te mogły sugerować, że w badanych przypadkach integralność genomu plemników miała większy wpływ na uzyskanie ciąży niż zwiększona zawartość histonów w ich chromatynie.

Ciekawe wyniki badań uzyskali Jin i wsp. (2015). Autorzy stwierdzili istotny spadek odsetka implantacji, klinicznych ciąż i żywych urodzeń oraz wzrost częstości poronień u par (metody IVF i ICSI), w których kobiety miały zredukowaną rezerwę jajnikową, a mężczyźni mieli >27,3% SDF w porównaniu z kobietami ze zmniejszoną rezerwę jajnikową i mężczyznami z ≤27,3% SDF. Jednak w przypadku gdy kobiety miały prawidłową rezerwę jajnikową, a mężczyźni >27,3% lub ≤27,3% SDF, wyniki te nie zostały potwierdzone, co sugeruje niezwykle istotną rolę czynnika żeńskiego w prognozowaniu sukcesu reprodukcyjnego. Równie interesujące dane uzyskali Tang i wsp. (2020), którzy stwierdzili istotnie mniej ciąż klinicznych uzyskanych dla par (metoda IVF), w których mężczyźni mieli astenozoospermie i >31,25% SDF vs. astenozoospermie i ≤31,25% SDF, natomiast nie stwierdzili istotności statystycznej, gdy porównywano mężczyzn z normozoospermia (>31,25% SDF vs. ≤31,25%).

Brak wpływu statusu chromatyny plemników na uzyskanie ciąży i wystąpienie poronień

Nie wszystkie opublikowane dane potwierdzają wpływ uszkodzeń plemnikowej chromatyny na uzyskanie ciąży. Wielu autorów nie stwierdza zależności między ciążą a poziomem uszkodzenia chromatyny plemników. W badaniach tych nie wykazuje się różnic w częstości osiąganych ciąż biochemicznych, implantacji i/lub ciąż klinicznych między parami, w których mężczyźni mieli:

- >15% HDS vs. ≤15% (IVF) (Niu i wsp., 2011),
- >15% DFI vs. ≤15% (ICSI) (Green i wsp., 2020),
- ≥20% SDF vs. <20% (IVF i ICSI) (Sun i wsp., 2018),
- >22,30% SDF vs. ≤22,30% (IVF i ICSI) (Xue i wsp., 2016),
- >25% SDF vs. <25% (ICSI) (Antonouli i wsp., 2019)
- >27% DFI vs. ≤27% (IVF) (Niu i wsp., 2011),
- >29% plemników AB-pozytywnych vs. odpowiednio ≤29% (IVF) (Hammadeh i wsp., 1996),
- >30% plemników ze denaturowanym DNA vs. >15–30% lub vs. 0–15% (ICSI) (Zini i wsp., 2005),

- >30% DFI vs. 15–30% lub vs. <15% (IVF i ICSI) (Chen i wsp., 2020),
- ≥30% DFI vs. >15–<30% lub vs. ≤15% (IVF i ICSI) (Yang i wsp., 2019),
- ≥30% SDF vs. <30% (IVF i ICSI) (Sun i wsp., 2018; Wang i wsp., 2014),
- >35% SDF vs. ≤35% (IVF i ICSI) (Anifandis i wsp., 2015).

Na brak wpływu statusu chromatyny na uzyskanie ciąży wskazuje się również w publikacjach, w których autorzy porównują odsetki plemników z uszkodzoną chromatyną między mężczyznami z par, dla których uzyskano ciążę biochemiczną, implantację i/lub ciążę kliniczną a mężczyznami z par, dla których implantacji i ciąż tych nie uzyskano. W badaniach tych nie wykazano różnic w odsetku plemników:

- AB-pozytywnych (IVF i ICSI) (Gill i wsp., 2018; Bichara i wsp., 2019),
- CMA3-pozytywnych (IVF i ICSI) (Gill i wsp., 2018; Tavalae i wsp., 2009),
- TB-pozytywnych (ICSI) (Gill i wsp., 2018),
- TUNEL-pozytywnych (IVF i ICSI) (Bichara i wsp., 2019),
- z dużymi wakuolami w obrębie główki będącymi wyrazem masywnych zaburzeń kondensacji chromatyny plemników (IVF i ICSI) (Bichara i wsp., 2019),
- z nieprawidłową dyspersją chromatyny (test SCD) (IVF i ICSI) (Tavalae i wsp., 2009; Velez de la Calle i wsp., 2008; Wang i wsp., 2014).

Ponadto istnieją doniesienia, w których nie wykazuje się wartości predykcyjnej testów weryfikujących status chromatyny (test AB, CMA3, SCD i TB) dla uzyskania ciąży biochemicznej lub klinicznej (Gill i wsp., 2018; Sun i wsp., 2018) bądź też korelacji między wynikami zastosowanych testów a odsetkiem uzyskanych ciąż biochemicznych lub klinicznych (Antonouli i wsp., 2019; Gill i wsp., 2018; Velez de la Calle i wsp., 2008). Nie obserwuje się także istotnego wzrostu częstości poronień między parami, w których mężczyźni mieli:

- >15% HDS vs. ≤15% (IVF) (Niu i wsp., 2011),
- >15% DFI vs. ≤15% (ICSI) (Green i wsp., 2020),
- >22,30% SDF vs. ≤22,30% (IVF i ICSI) (Xue i wsp., 2016),
- >27% DFI vs. ≤27% (IVF) (Niu i wsp., 2011),
- >30% SDF vs. ≤30% (ICSI) (Wang i wsp., 2014),
- >30% DFI vs. 15–30% DFI lub vs. <15% (ICSI) (Chen i wsp., 2020)
- ≥30% DFI vs. >15–<30% lub vs. ≤15% (IVF i ICSI) (Yang i wsp., 2019).

Nie potwierdzono także różnic w odsetku DFI między parami, u których wystąpiło lub nie wystąpiło poronienie (metody IVF i ICSI) (Yang i wsp., 2019). Podobnie w innych badaniach nie wykazano różnic w odsetku SDF między parami, u których ciążę po procedurach IVF i ICSI zakończyły się porodem, a parami, u których brak było ciąż zakończonych porodem (Velez de la Calle i wsp., 2008).

Postępowanie terapeutyczne w celu zwiększenie szans na posiadanie potomstwa w zależności od poziomu uszkodzenia chromatyny plemników

Postępowanie terapeutyczne w męskiej niepłodności powinno jednocześnie uwzględniać wyniki podstawowego badania nasienia, oceny jakości chromatyny plemników, czas starania się o potomstwo, wiek partnerów oraz występowanie żeńskiego czynnika niepłodności. W przypadku normozoospermii, niskiego stopnia uszkodzeń DNA plemników (0–15% DFI), braku czynnika żeńskiego, relatywnie młodego wieku obojga partnerów i okresu starania się o potomstwo <2 lat można rozważać kontynuowanie starań mających na celu osiągnięcie spontanicznej ciąży. Natomiast gdy mimo prawidłowych wyników badań ginekologicznych i andrologicznych czas ten wynosi ponad 2 lata, należy rozważyć zastosowanie inseminacji domacicznej (IUI, ang. *intrauterine insemination*). Procedura ta może być także wykorzystana, gdy mimo prawidłowego odsetka plemników z uszkodzoną chromatyną zdiagnozowano łagodny czynnik męski (np. nieznaczne obniżenie standardowych parametrów seminologicznych) lub gdy potwierdzono czynnik żeński niepłodności, w przypadku którego IUI jest rekomendowana (np. tzw. wrogi śluz szyjki macicy lub zespół Mariona-Simsa⁷) (*Bungum i wsp.*, 2011; *Cho i Agarwal*, 2017; *Esteves* 2016, 2019; *Majzoub i wsp.*, 2019; *Tesarik i Galán-Lázaro*, 2017).

U pacjentów, u których zostanie zdiagnozowany podwyższony odsetek plemników z nieprawidłowym statusem chromatyny (>15%, szczególnie >30% DFI), należy zastosować indywidualnie dobraną strategię terapeutyczną, mającą na celu poprawę parametrów nasienia (identyfikacja i eliminacja czynników takich jak: żylaki powrózka nasiennego, nieprawidłowa masa ciała, niezdrowe nawyki behawioralne, infekcje i stany zapalne układu moczowo-płciowego, stres oksydacyjny nasienia i inne), tym samym zwiększając szanse na uzyskanie ciąży w sposób naturalny lub dzięki IUI. W sytuacji braku powodzenia (>20% DFI szansa na uzyskanie ciąży naturalnej i uzyskanej po IUI zmniejsza się, a >25% DFI jest zdecydowanie niższa) lub gdy zastosowanie IUI nie ma medycznego uzasadnienia (np. ciężka oligozoospermia, astenozoospermia, brak jajowodów nienaprawialne ich uszkodzenia, endometrioza III i IV stopnia, nosicielstwo chorób wirusowych przez jednego z pacjentów), należy rozważyć wykorzystanie bardziej zaawansowanych metod leczenia niepłodności obejmujących zapłodnienie *in vitro* z wykorzystaniem nasienia ejakulowanego (IVF, ICSI lub IMSI), przy czym nie można pominąć faktu, że wartość DFI >40% może być przyczyną poronień i braku ciąży. Niepowodzenia

zastosowanych procedur lub inne wskazania (np. azoospermia) mogą uzasadniać wykorzystanie do zapłodnienia plemników pobranych z najądrza (MESA-ICSI), bądź też z jądra (TESE-ICSI). Należy jednak podkreślić, że w przypadku braku sukcesu terapeutycznego licznych wcześniejszych procedur, nawracających poronień oraz ryzyka transmisji choroby genetycznej na kolejne pokolenie jako opcję można rozważyć zapłodnienie nasieniem dawcy, adopcję prenatalną (transfer zarodków innej pary) czy też adopcję dziecka (*Bungum i wsp.*, 2011; *Cho i Agarwal*, 2017; *Esteves* 2016, 2019; *Evenson*, 2017; *Łukszuk i wsp.*, 2018; *Majzoub i wsp.*, 2019; *Marchlewska i wsp.*, 2021; *Tesarik i Galán-Lázaro*, 2017).

Finansowanie

Badania finansowane przez Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie (nr badań: WNoZ-322-01/S/19/2021).

Piśmiennictwo

- Agarwal A., Barbăroșie C., Ambar R., Finelli R.*: The Impact of Single- and Double-Strand DNA Breaks in Human Spermatozoa on Assisted Reproduction. *Int J Mol Sci.* 2020, 21(11), 3882. DOI: 10.3390/ijms21113882. PMID: 32485940.
- Aitken R.J.*: Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Mol Reprod Dev.* 2017, 84(10), 1039–1052. DOI: 10.1002/mrd.22871. PMID: 28749007.
- Ambar R.F., Agarwal A., Majzoub A., Vij S., Tadros N.N., Cho C.L. i wsp.*: The Use of Testicular Sperm for Intracytoplasmic Sperm Injection in Patients with High Sperm DNA Damage: A Systematic Review. *World J Mens Health.* 2020. DOI: 10.5534/wjmh.200084. PMID: 32648379.
- Anifandis G., Bounartzi T., Messina C.I., Dafopoulos K., Markandona R., Sotiriou S. i wsp.*: Sperm DNA fragmentation measured by Halosperm does not impact on embryo quality and ongoing pregnancy rates in IVF/ICSI treatments. *Andrologia.* 2015, 47(3), 295–302. DOI: 10.1111/and.12259. PMID: 24621442.
- Antonouli S., Papatheodorou A., Panagiotidis Y., Petousis S., Prapas N., Nottola S.A. i wsp.*: The impact of sperm DNA fragmentation on ICSI outcome in cases of donated oocytes. *Arch Gynecol Obstet.* 2019, 300(1), 207–215. DOI: 10.1007/s00404-019-05133-9. PMID: 30941554.
- Avendaño C., Franchi A., Duran H., Oehninger S.*: DNA fragmentation of normal spermatozoa negatively impacts embryo quality and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Fertil Steril.* 2010, 94(2), 549–557. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.050. PMID: 19339003.
- Bączkowski T., Kurzawa R., Głabowski W.*: Methods of embryo scoring in in vitro fertilization. *Reprod Biol.* 2004, 4(1), 5–22. PMID: 15094792.
- Benagiano G., Paoli D., Lombardo F., Brosens J.J., Brosens I.A.*: DNA fragmentation and the ultimate success of a pregnancy. *Transl Androl Urol.* 2017, 6(Suppl 4), 539–543. DOI: 10.21037/tau.2017.03.46. PMID: 29082175.
- Benchaib M., Braun V., Lornage J., Hadj S., Salle B., Lejeune H. i wsp.*: Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Hum Reprod.* 2003, 18(5), 1023–1028. DOI: 10.1093/hum-rep/deg228. PMID: 12721180.
- Bichara C., Berby B., Rives A., Jumeau F., Letailleur M., Setif V. i wsp.*: Sperm chromatin condensation defects, but neither DNA fragmentation nor aneuploidy, are an independent predictor of clinical pregnancy after intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet.* 2019, 36(7), 1387–1399. DOI: 10.1007/s10815-019-01471-4. PMID: 31289980.

7 Zespołu Mariona-Simsa – pochwica (łac. *vaginismus*), dysfunkcja seksualna uniemożliwiająca odbycie stosunku. Jej przyczyną jest mimowolne obkurczanie mięśni pochwy.

- Borges E. Jr., Zanetti B.F., Setti A.S., Braga D.P., Provenza R.R., Iaconelli A. Jr.: Sperm DNA fragmentation is correlated with poor embryo development, lower implantation rate, and higher miscarriage rate in reproductive cycles of non-male factor infertility. *Fertil Steril.* 2019, 112(3), 483–490. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.04.029. PMID: 31200969.
- Borini A., Tarozzi N., Bizzaro D., Bonu M.A., Fava L., Flamigni C. i wsp.: Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Hum Reprod.* 2006, 21(11), 2876–2881. DOI: 10.1093/humrep/del251. PMID: 16793992.
- Bounartzis T., Dafopoulos K., Anifandis G., Messini C.I., Koutsonikou C., Kouris S. i wsp.: Pregnancy prediction by free sperm DNA and sperm DNA fragmentation in semen specimens of IVF/ICSI-ET patients. *Hum Fertil (Camb).* 2016, 19(1), 56–62. DOI: 10.3109/14647273.2016.1157629. PMID: 27006263.
- Bungum M., Bungum L., Giwercman A.: Sperm chromatin structure assay (SCSA): a tool in diagnosis and treatment of infertility. *Asian J Androl.* 2011, 13(1), 69–75. DOI: 10.1038/aja.2010.73. PMID: 21057512.
- Chen L., Fang J., Jiang W., Wang J., Li D.: Effects of the sperm DNA fragmentation index on the clinical and neonatal outcomes of intracytoplasmic sperm injection cycles. *J Ovarian Res.* 2020, 13(1), 52. DOI: 10.1186/s13048-020-00658-z. PMID: 32359369.
- Cho C.L., Agarwal A.: Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: A systematic review. *Arab J Urol.* 2017, 16(1), 21–34. DOI: 10.1016/j.aju.2017.11.002. PMID: 29713533.
- Daris B., Goropevsek A., Hojnik N., Vlaisavljević V.: Sperm morphological abnormalities as indicators of DNA fragmentation and fertilization in ICSI. *Arch Gynecol Obstet.* 2010, 281(2), 363–367. DOI: 10.1007/s00404-009-1140-y. PMID: 19504115.
- Drenth Olivares M., Kuiper D.B., Haadsma M.L., Heineman K.R., Heineman M.J., Hadders-Algra M.: IVF procedures are not, but subfertility is associated with neurological condition of 9-year-old offspring. *Early Hum Dev.* 2019, 129, 38–44. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2018.12.017. PMID: 30639464.
- ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine: The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online.* 2017, 35(5), 494–510. DOI: 10.1016/j.rbmo.2017.06.015. PMID: 28784335.
- Esteves S.C.: Interventions to Prevent Sperm DNA Damage Effects on Reproduction. *Adv Exp Med Biol.* 2019, 1166, 119–148. DOI: 10.1007/978-3-030-21664-1_8. PMID: 31301050.
- Esteves S.C.: Novel concepts in male factor infertility: clinical and laboratory perspectives. *J Assist Reprod Genet.* 2016, 33(10), 1319–1335. DOI: 10.1007/s10815-016-0763-8. PMID: 27423664.
- 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, 6(Suppl 4), 495–500. DOI: 10.21037/tau.2017.07.20. PMID: 29082168.
- Evgeni E., Lymberopoulos G., Touloupidis S., Asimakopoulos B.: Sperm nuclear DNA fragmentation and its association with semen quality in Greek men. *Andrologia.* 2015, 47(10), 1166–1174. DOI: 10.1111/and.12398. PMID: 25586471.
- Fishel S., Campbell A., Foad F., Davies L., Best L., Davis N. i wsp.: Evolution of embryo selection for IVF from subjective morphology assessment to objective time-lapse algorithms improves chance of live birth. *Reprod Biomed Online.* 2020, 40(1), 61–70. DOI: 10.1016/j.rbmo.2019.10.005. PMID: 31831370.
- Gardner D.K., Lane M., Stevens J., Schlenker T., Schoolcraft W.B.: Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* 2000, 73(6), 1155–1158. DOI: 10.1016/S0015-0282(00)00518-5.
- 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., Piasecka M.: Znaczenie oceny statusu chromatyny plemników ludzkich w warunkach naturalnego poczęcia. *Post Androl.* 2020, 7(1), 30–43. DOI: 10.26404/PAO_2353-8791.2020.03.
- Gill K., Rosiak A., Gaczarzewicz D., Jakubik J., Kurzawa R., Kazienko A. i wsp.: The effect of human sperm chromatin maturity on ICSI outcomes. *Hum Cell.* 2018, 31(3), 220–231. DOI: 10.1007/s13577-018-0203-4. PMID: 29594950.
- 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.
- Green K.A., Patounakis G., Dougherty M.P., Werner M.D., Scott R.T. Jr., Franasiak J.M.: Sperm DNA fragmentation on the day of fertilization is not associated with embryologic or clinical outcomes after IVF/ICSI. *J Assist Reprod Genet.* 2020, 37(1), 71–76. DOI: 10.1007/s10815-019-01632-5. PMID: 31755002.
- Halvaei I., Litzky J., Esfandiari N.: Advanced paternal age: effects on sperm parameters, assisted reproduction outcomes and offspring health. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020, 18(1), 110. DOI: 10.1186/s12958-020-00668-y. PMID: 33183337.
- Hamadeh M.E., al-Hasani S., Stieber M., Rosenbaum P., Kupper D., Diedrich K.: The effect of chromatin condensation (aniline blue staining) and morphology (strict criteria) of human spermatozoa on fertilization, cleavage and pregnancy rates in an intracytoplasmic sperm injection programme. *Hum Reprod.* 1996, 11(11), 2468–2471. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019139. PMID: 8981135.
- Hamadeh M.E., Stieber M., Haidl G., Schmidt W.: Association between sperm cell chromatin condensation, morphology based on strict criteria, and fertilization, cleavage and pregnancy rates in an IVF program. *Andrologia.* 1998, 30(1), 29–35. DOI: 10.1111/j.1439-0272.1998.tb01379.x. PMID: 9567167.
- Henkel R., Kierspel E., Hajimohammad M., Stalf T., Hoogendijk C., Mehnert C. i wsp.: DNA fragmentation of spermatozoa and assisted reproduction technology. *Reprod Biomed Online.* 2003, 7(4), 477–484. DOI: 10.1016/S1472-6483(10)61893-7. PMID: 14656411.
- Homa S.T., Vassiliou A.M., Stone J., Killeen A.P., Dawkins A., Xie J. i wsp.: A Comparison Between Two Assays for Measuring Seminal Oxidative Stress and their Relationship with Sperm DNA Fragmentation and Semen Parameters. *Genes (Basel).* 2019, 10(3), 236. DOI: 10.3390/genes10030236. PMID: 30893955.
- Iranpour F.G.: Impact of sperm chromatin evaluation on fertilization rate in intracytoplasmic sperm injection. *Adv Biomed Res.* 2014, 3, 229. DOI: 10.4103/2277-9175.145719. PMID: 25538915.
- 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.
- Jauniaux E., Moffett A., Burton G.J.: Placental Implantation Disorders. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2020, 47(1), 117–132. DOI: 10.1016/j.ogc.2019.10.002. PMID: 32008663.
- Jerre E., Bungum M., Evenson D., Giwercman A.: Sperm chromatin structure assay high DNA stainability sperm as a marker of early miscarriage after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2019, 112(1), 46–53.e2. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.03.013. PMID: 31043234.
- Jin J., Pan C., Fei Q., Ni W., Yang X., Zhang L. i wsp.: Effect of sperm DNA fragmentation on the clinical outcomes for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in women with different ovarian reserves. *Fertil Steril.* 2015, 103(4), 910–916. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.014. PMID: 25747135.
- Kirkman-Brown J.C., De Jonge C.: Sperm DNA fragmentation in miscarriage – a promising diagnostic, or a test too far? *Reprod Biomed Online.* 2017, 34(1), 3–4. DOI: 10.1016/j.rbmo.2016.12.002. PMID: 28063527.
- Kovacic B., Vlaisavljevic V., Reljic M., Cizek-Sajko M.: Developmental capacity of different morphological types of day 5 human morulae and blastocysts. *Reprod Biomed Online.* 2004, 8(6), 687–694. DOI: 10.1016/S1472-6483(10)61650-1. PMID: 15169587.
- Krausz C., Cioppi F., Riera-Escamilla A.: Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Rev Mol Diagn.* 2018, 331–346. DOI: 10.1080/14737159.2018.1453358. PMID: 29540081.
- Larson-Cook K.L., Brannian J.D., Hansen K.A., Kasperon K.M., Aamold E.T., Evenson D.P.: Relationship between the outcomes of assisted reproductive techniques and sperm DNA fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril.* 2003, 80(4), 895–902. DOI: 10.1016/S0015-0282(03)01116-6. PMID: 14556809.
- Lin M.H., Kuo-Kuang Lee R., Li S.H., Lu C.H., Sun F.J., Hwu Y.M.: Sperm chromatin structure assay parameters are not related to fertilization rates, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection, but might be related to spontaneous abortion rates.

- Fertil Steril. 2008, 90(2), 352–359. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.06.018. PMID: 17904130.
- 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.
- Lu J.C., Jing J., Chen L., Ge Y.F., Feng R.X., Liang Y.J. i wsp.: Analysis of human sperm DNA fragmentation index (DFI) related factors: a report of 1010 subfertile men in China. Reprod Biol Endocrinol. 2018, 16(1), 23. DOI: 10.1186/s12958-018-0345-y. PMID: 29540184.
- Łukaszuk K., Kozioł K., Jakiel G., Jakimiuk A., Jędrzejczak P., Kuczyński W. i wsp.: Diagnostyka i leczenie niepłodności – rekomendacje Polskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu i Embriologii (PTMRIE) oraz Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników (PTGP). Ginekol Perinatol Prakt. 2018, 3(3), 112–140.
- Majzoub A., Agarwal A., Esteves S.C.: Clinical utility of sperm DNA damage in male infertility. Panminerva Med. 2019, 61(2), 118–127. DOI: 10.23736/S0031-0808.18.03530-9. PMID: 30990284.
- Marchlewska K., Gill K., Piasecka M.: Dodatkowa diagnostyka związana z nasieniem. W: Andrologia. Zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii. Red. J. Hilczer-Słowikowska. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa, 2021, 349–376.
- Montjean D., Zini A., Ravel C., Belloc S., Dalleac A., Copin H. i wsp.: Sperm global DNA methylation level: association with semen parameters and genome integrity. Andrology. 2015, 3(2), 235–240. DOI: 10.1111/andr.12001. PMID: 25755112.
- Muriel L., Garrido N., Fernández J.L., Remohí J., Pellicer A., de los Santos M.J. i wsp.: Value of the sperm deoxyribonucleic acid fragmentation level, as measured by the sperm chromatin dispersion test, in the outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril. 2006, 85(2), 371–383. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2005.07.1327. PMID: 16595214.
- Nasiri N., Eftekhari-Yazdi P.: An overview of the available methods for morphological scoring of pre-implantation embryos in in vitro fertilization. Cell J. 2015, 16(4), 392–405. DOI: 10.22074/cellj.2015.486. PMID: 25685730.
- Nasr-Esfahani M.H., Razavi S., Mardani M.: Relation between different human sperm nuclear maturity tests and in vitro fertilization. J Assist Reprod Genet. 2001, 18(4), 219–225. DOI: 10.1023/a:1009412130417. PMID: 11432114.
- Nasr-Esfahani M.H., Razavi S., Mozdarani H., Mardani M., Azvagi H.: Relationship between protamine deficiency with fertilization rate and incidence of sperm premature chromosomal condensation post-ICSI. Andrologia. 2004, 36(3), 95–100. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2004.00612.x. PMID: 15206907.
- Nasr-Esfahani M.H., Salehi M., Razavi S., Anjomshoa M., Rozbahani S., Moulavi F.: Effect of sperm DNA damage and sperm protamine deficiency on fertilization and embryo development post-ICSI. Reprod Biomed Online. 2005, 11(2), 198–205. DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60959-5. PMID: 16168218.
- Niu Z.H., Shi H.J., Zhang H.Q., Zhang A.J., Sun Y.J., Feng Y.: Sperm chromatin structure assay results after swim-up are related only to embryo quality but not to fertilization and pregnancy rates following IVF. Asian J Androl. 2011, 13(6), 862–866. DOI: 10.1038/aja.2011.77. PMID: 21841807.
- Oleszczuk K., Giwercman A., Bungum M.: Sperm chromatin structure assay in prediction of in vitro fertilization outcome. Andrology. 2016, 4(2), 290–296. DOI: 10.1111/andr.12153. PMID: 26757265.
- Parrella A., Keating D., Cheung S., Xie P., Stewart J.D., Rosenwaks Z.: A treatment approach for couples with disrupted sperm DNA integrity and recurrent ART failure. J Assist Reprod Genet. 2019, 36(10), 2057–2066. DOI: 10.1007/s10815-019-01543-5. PMID: 31418108.
- Piasecka M., Gill K.: Zapłodnienie i pierwsze etapy rozwoju zarodka. W: Andrologia. Zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii. Red. J. Hilczer-Słowikowska. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2021, 261–310.
- Piasecka M., Gill K., Walczak-Jędrzejowska R.: Wybrane zaburzenia strukturalno-funkcjonalne plemników. W: Andrologia. Zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii. Red. J. Hilczer-Słowikowska. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2021, 613–638.
- Pregl Breznik B., Kovačič B., Vlaisavljević V.: Are sperm DNA fragmentation, hyperactivation, and hyaluronan-binding ability predictive for fertilization and embryo development in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection? Fertil Steril. 2013, 99(5), 1233–1341. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.11.048. PMID: 23290739.
- Razavi S., Nasr-Esfahani M.H., Mardani M., Mafi A., Moghdam A.: Effect of human sperm chromatin anomalies on fertilization outcome post-ICSI. Andrologia. 2003, 35(4), 238–243. DOI: 10.1046/j.1439-0272.2003.00566.x. PMID: 12950409.
- Rogenhofer N., Ott J., Pilatz A., Wolf J., Thaler C.J., Windischbauer L. i wsp.: Unexplained recurrent miscarriages are associated with an aberrant sperm protamine mRNA content. Hum Reprod. 2017, 32(8), 1574–1582. DOI: 10.1093/humrep/dex224. PMID: 28854581.
- Sadeghi M.R., Hodjat M., Lakpour N., Arefi S., Amirjannati N., Modarresi T. i wsp.: Effects of sperm chromatin integrity on fertilization rate and embryo quality following intracytoplasmic sperm injection. Avicenna J Med Biotechnol. 2009, 1(3), 173–180. PMID: 23408716.
- Sadeghi M.R., Lakpour N., Heidari-Vala H., Hodjat M., Amirjannati N., Hossaini Jadda H. i wsp.: Relationship between sperm chromatin status and ICSI outcome in men with obstructive azoospermia and unexplained infertile normozoospermia. Rom J Morphol Embryol. 2011, 52(2), 645–651. PMID: 21655656.
- 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–s1605. DOI: 10.1016/s0015-0282(03)00337-6. PMID: 12801566.
- Sigalos G.A., Triantafyllidou O., Vlahos N.F.: Novel embryo selection techniques to increase embryo implantation in IVF attempts. Arch Gynecol Obstet. 2016, 294(6), 1117–1124. DOI: 10.1007/s00404-016-4196-5. PMID: 27628754.
- Simon L., Brunborg G., Stevenson M., Lutton D., McManus J., Lewis S.E.: Clinical significance of sperm DNA damage in assisted reproduction outcome. Hum Reprod. 2010, 25(7), 1594–1608. DOI: 10.1093/humrep/deq103. PMID: 20447937.
- Simon L., Lewis S.E.: Sperm DNA damage or progressive motility: which one is the better predictor of fertilization in vitro? Syst Biol Reprod Med. 2011, 57(3), 133–138. DOI: 10.3109/19396368.2011.553984. PMID: 21299480.
- Simon L., Lutton D., McManus J., Lewis S.E.: Sperm DNA damage measured by the alkaline Comet assay as an independent predictor of male infertility and in vitro fertilization success. Fertil Steril. 2011, 95(2), 652–627. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.08.019. PMID: 20864101.
- Simon L., Murphy K., Shamsi M.B., Liu L., Emery B., Aston K.I. i wsp.: Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. Hum Reprod. 2014, 29(11), 2402–2412. DOI: 10.1093/humrep/deu228. PMID: 25205757.
- Sivanarayana T., Ravi Krishna C., Jaya Prakash G., Krishna K.M., Madan K., Sudhakar G. i wsp.: Sperm DNA fragmentation assay by sperm chromatin dispersion (SCD): correlation between DNA fragmentation and outcome of intracytoplasmic sperm injection. Reprod Med Biol. 2013, 13(2), 87–94. DOI: 10.1007/s12522-013-0168-7. PMID: 29699153.
- Spector L.G., Brown M.B., Wantman E., Letterie G.S., Toner J.P., Doody K. i wsp.: Association of In vitro Fertilization With Childhood Cancer in the United States. JAMA Pediatr. 2019, 173(6):e190392. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2019.0392. PMID: 30933244.
- Sun T.C., Zhang Y., Li H.T., Liu X.M., Yi D.X., Tian L. i wsp.: Sperm DNA fragmentation index, as measured by sperm chromatin dispersion, might not predict assisted reproductive outcome. Taiwan J Obstet Gynecol. 2018, 57(4), 493–498. DOI: 10.1016/j.tjog.2018.06.003. PMID: 30122567.
- Tandara M., Bajić A., Tandara L., Bilić-Zulle L., Šunj M., Kozina V. i wsp.: Sperm DNA integrity testing: big halo is a good predictor of embryo quality and pregnancy after conventional IVF. Andrology. 2014, 2(5), 678–686. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00234.x. PMID: 24947544.
- Tang L., Rao M., Yang W., Yao Y., Luo Q., Lu L. i wsp.: Predictive value of the sperm DNA fragmentation index for low or failed IVF fertilization in men with mild-to-moderate asthenozoospermia. J Gynecol Obstet Hum Reprod. 2020, 10, 101868. DOI: 10.1016/j.jogoh.2020.101868. PMID: 32663655.
- Tavalaee M., Razavi S., Nasr-Esfahani M.H.: Influence of sperm chromatin anomalies on assisted reproductive technology outcome. Fertil Steril. 2009, 91(4), 1119–1126. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.01.063. PMID: 18504041.
- Taylor T.H., Gitlin S.A., Patrick J.L., Crain J.L., Wilson J.M., Griffin D.K.: The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. Hum Reprod Update. 2014, 20(4), 571–581. DOI: 10.1093/humupd/dmu016. PMID: 24667481.

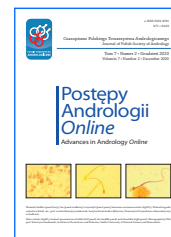
- Tesarik J., Galán-Lázaro M.: Clinical scenarios of unexplained sperm DNA fragmentation and their management. *Transl Androl Urol.* 2017, 6(Suppl 4), 566–569. DOI: 10.21037/tau.2017.03.70. PMID: 29082179.
- Velez de la Calle J.F., Muller A., Walschaerts M., Clavere J.L., Jimenez C., Wittemer C. *i wsp.*: Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as assessed by the sperm chromatin dispersion test in assisted reproductive technology programs: results of a large prospective multicenter study. *Fertil Steril.* 2008, 90(5), 1792–1799. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.09.021. PMID: 18166175.
- Ventura-Juncá P., Irarrázaval I., Rolle A.J., Gutiérrez J.I., Moreno R.D., Santos M.J.: In vitro fertilization (IVF) in mammals: epigenetic and developmental alterations. Scientific and bioethical implications for IVF in humans. *Biol Res.* 2015, 48, 68. DOI: 10.1186/s40659-015-0059-y. PMID: 26683055.
- Wang M., Sun J., Wang L., Gao X., Lu X., Wu Z. *i wsp.*: Assessment of density gradient centrifugation (DGC) and sperm chromatin dispersion (SCD) measurements in couples with male factor infertility undergoing ICSI. *J Assist Reprod Genet.* 2014, 31(12), 1655–1663. DOI: 10.1007/s10815-014-0339-4. PMID: 25227693.
- Watanabe H.: Risk of chromosomal aberration in spermatozoa during intracytoplasmic sperm injection. *J Reprod Dev.* 2018, 12, 64(5), 371–376. DOI: 10.1262/jrd.2018-040. PMID: 29984741.
- Wdowiak A., Bakalczuk S., Bakalczuk G.: The effect of sperm DNA fragmentation on the dynamics of the embryonic development in intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Biol.* 2015, 15(2), 94–100. DOI: 10.1016/j.repbio.2015.03.003. PMID: 26051457.
- Xue L.T., Wang R.X., He B., Mo W.Y., Huang L., Wang S.K. *i wsp.*: Effect of sperm DNA fragmentation on clinical outcomes for Chinese couples undergoing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *J Int Med Res.* 2016, 44(6), 1283–1291. DOI: 10.1177/0300060516664240. PMID: 28322098.
- Yang H., Li G., Jin H., Guo Y., Sun Y.: The effect of sperm DNA fragmentation index on assisted reproductive technology outcomes and its relationship with semen parameters and lifestyle. *Transl Androl Urol.* 2019, 8(4), 356–365. DOI: 10.21037/tau.2019.06.22. PMID: 31555559.
- Zheng W.W., Song G., Wang Q.L., Liu S.W., Zhu X.L., Deng S.M. *i wsp.*: Sperm DNA damage has a negative effect on early embryonic development following in vitro fertilization. *Asian J Androl.* 2018, 20(1), 75–79. DOI: 10.4103/aja.aja_19_17. PMID: 28675153.
- Zini A., Meriano J., Kader K., Jarvi K., Laskin C.A., Cadesky K.: Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. *Hum Reprod.* 2005, 20(12), 3476–3480. DOI: 10.1093/humrep/dei266. PMID: 16123087.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

UDZIAŁ CZYNNIKA MĘSKIEGO W PORONIENIACH NAWRACAJĄCYCH MALE FACTOR AND RECURRENT PREGNANCY LOSS

Tomasz Machałowski ^{1,2†}, Kamil Gill ^{1†}, Małgorzata Piasecka ^{1†*}¹Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ²Klinika Perinatologii, Położnictwa i Ginekologii SPSK1, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie[†]Wszyscy autorzy mają równy wkład w powstawanie pracy / All authors equally contributed to this study

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

tel. 91 48 00 907, e-mail: malgorzata.piasecka@pum.edu.pl

Otrzymano/received: 01.12.2020 r. Zaakceptowano/accepted: 01.02.2021 r.

DOI: [10.26404/PAO_2353-8791.2020.05](https://doi.org/10.26404/PAO_2353-8791.2020.05)

Tomasz Machałowski – lekarz rezydent, absolwent Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie (PUM). Autor i współautor artykułów naukowych w czasopismach polskich, zagranicznych i zjazdach naukowych. Od 2019 r. doktorant Szkoły Doktorskiej PUM w Szczecinie i rezydent w Klinice Perinatologii, Położnictwa i Ginekologii SPSK nr 1 PUM w Szczecinie. Członek Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników. Uczestnik wielu wymian naukowych w renomowanych Uniwersytetach, m.in. w Japonii, Niemczech i Tajlandii.

Tomasz Machałowski – MD, graduated from the Pomeranian Medical University in Szczecin (PUM). Author and co-author of articles in polish, foreign scientific journals and scientific meetings. Since 2019 PhD student at the Doctoral School of PUM in Szczecin and resident at the Department of Perinatology, Obstetrics and Gynecology, SPSK No. 1 PUM in Szczecin. Member of Polish Society of Gynecologists and Obstetricians. Participant of many scientific exchanges at prestigious universities, incl. in Japan, Germany and Thailand.

Streszczenie

W niniejszym artykule dokonano przeglądu piśmiennictwa związanego z udziałem czynnika męskiego w poronieniach, przede wszystkim nawracających. Zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Rozrodu i Embriologii Człowieka z 2017 r. (ESHRE, ang. *European Society of Human Reproduction and Embryology*) za samoistne poronienia nawracające uznaje się co najmniej 2 następujące po sobie poronienia (utrata ciąży wewnątrzmacicznej) przed 24. tygodniem ciąży. Nie ulega wątpliwości, że rozszerzona diagnostyka, zwłaszcza molekularna, pozwoliła na zweryfikowanie nie tylko udziału czynnika żeńskiego w poronieniach, ale także męskiego, który niejednokrotnie był pomijany. Dlatego też większość prac klinicznych i opracowań w postaci metaanaliz danych dotyczy populacji żeńskiej. Jednak wielu autorów jako przyczynę poronień podaje: 1) liczbowe i strukturalne zaburzenia chromosomowe często związane



Artykuł jest udostępniany na podstawie Licencji Creative Commons BY NC ND 3.0 Polska:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.pl>

z nieprawidłowościami spermatogenezy, 2) polimorfizmy genu *HLA-G* (ang. *human leukocyte antigen-G*), 3) allotypy antygenu *HLA-C* i związane z nimi haplotypy genów *KIR* (ang. *killer cell immunoglobulin-like receptors*), 4) mutacje i zmiany polimorficzne genów odpowiedzialnych za trombofilię, 5) mikrodelekcje i polimorfizmy chromosomu Y, 6) zaburzenia epigenetyczne, 7) strukturalne i funkcjonalne defekty plemników, ze szczególnym uwzględnieniem statusu ich chromatyny, 8) stres oksydacyjny w nasieniu oraz 9) zaawansowany wiek mężczyzny. Należy zwrócić uwagę, że prezentowane przez autorów wyniki często są niezgodne i niejednoznaczne, co powoduje potrzebę prowadzenia dalszych badań, również w celu opracowania odpowiednich i opartych na dowodach algorytmów diagnostyczno-terapeutycznych uwzględniających udział czynnika męskiego w poronieniach.

Słowa kluczowe: poronienia nawracające, niepłodność męska, aberracje chromosomowe, parametry seminologiczne, chromatyna plemnika, antygen *HLA-G*, receptory *KIR*, trombofilia, chromosom Y, stres oksydacyjny

Abstract

This article reviews the literature related to the participation of the male factor in miscarriages, mainly recurrent pregnancy loss. According to the 2017 guidelines of the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), spontaneous recurrent miscarriages are defined as at least two or more pregnancy losses before 24 weeks of pregnancy. There is no doubt that extended diagnostics, especially molecular ones, made it possible to verify not only the share of the female factor in miscarriages, but also the male factor, which was often overlooked. Therefore, most of the research work and data meta-analysis concerns the female population. However, many authors give the cause of miscarriages: 1) numerical and structural chromosomal aberrations often associated with abnormal course of spermatogenesis, 2) polymorphisms of the *HLA-G* (human leukocyte antigen-G), 3) *HLA-C* allotypes and *KIR* haplotypes (*killer cell immunoglobulin-like receptors*), 4) mutations and polymorphisms of genes responsible for thrombophilia, 5) microdeletions and polymorphisms of the Y chromosome, 6) epigenetics abnormalities, 7) structural and functional defects of spermatozoa, with particular emphasis on the status of their chromatin and 8) semen oxidative stress and 9) advanced paternal age. It should be noted that the results presented by the authors are often inconsistent and ambiguous, causing the need for further research, also in order to develop appropriate and evidence-based diagnostic and therapeutic algorithms take into account the participation of male factor in miscarriages.

Key words: recurrent pregnancy loss, male infertility, chromosomal aberrations, seminological parameters, sperm chromatin, *HLA-G* antigen, *KIR* receptors, thrombophilia, Y chromosome, oxidative stress

Skróty / Abbreviations

3'UTR – region nici DNA, na końcu 3', niepodlegający translacji (ang. *untranslated region*); APA – zaawansowany wiek ojcowski (ang. *advanced paternal age*); APC – komórki prezentujące antygen (ang. *antigen presenting cells*); AUC – pole powierzchni pod krzywą (ang. *area under curve*); AZF – czynnik azoospermii (ang. *azoospermia factor*); bp – pary zasad (ang. *base-pair*); DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); DMR – regiony DNA o zróżnicowanej metylacji (ang. *differentially methylated regions*); ESHRE – Europejskie Towarzystwo Rozrodu i Embriologii Człowieka (ang. *European Society of Human Reproduction and Embryology*); FGR – hipotrofia wewnątrzmaciczna (ang. *fetal growth restriction*); GM-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (ang. *granulocyte macrophage-colony stimulating factor*); HLA – ludzkie antygeny leukocytarne (ang. *human leukocyte antigens*); *HLA-G* – ludzki leukocytarny antygen G (ang. *human leukocyte antigen-G*); ICSI – docyt oplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*); *KIR* – immunoglobulinopodobne receptory komórek NK (ang. *killer cell immunoglobulin-like receptors*); MDA – dialdehyd malonowy (ang. *malonodialdehyde*); MHC – główny układ zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex*); miRNA – mikro RNA (ang. *microRNA*); MTHFR – reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianowa (ang. *5,10-methylenetetrahydrofolate reductase*); PGT – diagnostyka przedimplantacyjna (ang. *preimplantation genetic testing*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*); ROC – krzywa ROC (ang. *receiver operating characteristic*); RPL – poronienia nawracające (ang. *recurrent pregnancy loss*); SCD – test dyspersji chromatyny plemników (ang. *sperm chromatin dispersion*); SCOS – zespołu samych komórek Sertolego (ang. *Sertoli cell-only syndrome*); SCSA – test służący do oceny uszkodzeń DNA (ang. *sperm chromatin structure assay*); SNP – polimorfizm pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide polymorphisms*); TESE – pozyskanie plemników z jądra (ang. *testicular sperm extraction*)

Termin „poronienie” zgodnie z rozporządzeniem ministra zdrowia i opieki społecznej z dnia 25 kwietnia 1994 r. (Dz.U. 1994 nr 56 poz. 234) określa się jako zakończenie ciąży wewnątrz macicznej trwającej krócej niż 22 tygodnie liczonej od terminu ostatniej miesiączki. Może wystąpić jednorazowo nawet u 15–25% kobiet <35. r.ż. i ryzyko to rośnie wraz z wiekiem kobiet do 50% >40. r.ż. U 1–2% kobiet rozpoznaje się poronienia

nawracające (RPL, ang. *recurrent pregnancy loss*) tradycyjnie definiowane jako 3 i więcej poronień następujących po sobie przed ukończeniem 24. tygodnia ciąży (Ford i Schust, 2009; Ibrahim i Johnstone, 2018; Pandey i Gupta, 2019; Regan i wsp., 2011). Obecnie według wytycznych Europejskiego Towarzystwa Rozrodu i Embriologii Człowieka (ESHRE, ang. *European Society of Human Reproduction and Embryology*) z 2017 r. poronienie

definiowane jest jako utrata ciąży wewnątrzmacicznej przed 24. tygodniem ciąży, a za samoistne poronienia nawracające uznaje się co najmniej 2 kolejno występujące po sobie poronienia przed 24. tygodniem ciąży (*Bender Atik i wsp., 2018; ESHRE, 2017*). Według tej definicji częstość poronień nawracających rośnie do 2–3%. Możemy je podzielić na pierwotne, kiedy żadna z wcześniejszych ciąż nie trwała dłużej niż 24 tygodnie i wtórne przy co najmniej 1. wcześniejszej ciąży trwającej dłużej niż 24 tygodnie. Obecny stan wiedzy pozwala zidentyfikować przyczynę nawracającej utraty ciąży u ok. 5–60% kobiet, której etiopatogeneza może być wieloczynnikowa. Tak duża rozbieżność diagnostyczna wynika z różnych kryteriów będących podstawą definicji poronień nawracających (*Bender Atik i wsp., 2018; Boogaard i wsp., 2013; ESHRE, 2017; El Hachem i wsp., 2017; Ford i Schust, 2009; Pandey i Gupta, 2019; Pfeifer i wsp., 2012; van Dijk i wsp., 2020; Youssef i wsp., 2020*).

Do niedawna brano pod uwagę jedynie udział czynnika żeńskiego w etiologii poronień. Dotyczy on m.in. nieprawidłowości anatomicznych, zaburzeń endokrynologicznych, immunologicznych i genetycznych. W niemal 50% RPL nie udaje się znaleźć przyczyny (RPL idiopatyczne), co niesie ze sobą psychiczne i fizyczne następstwa dla pary (*Bender Atik i wsp., 2018; Boogaard i wsp., 2013; El Hachem i wsp., 2017; ESHRE, 2017; Ibrahim i Johnstone, 2018; Pandey i Gupta, 2019; Pfeifer i wsp., 2012; van Dijk i wsp., 2020; Youssef i wsp., 2020*).

Obecnie coraz więcej badań dotyczy rozszerzonej diagnostyki czynnika męskiego, który może być przyczyną zaburzeń zapłodnienia, implantacji, poronień i wrodzonych deformacji (*Agarwal i wsp., 2016, 2019, 2020, 2021; Carlini i wsp., 2017; Esteves i wsp., 2021; Gil-Villa i wsp., 2010; Ibrahim i Johnstone, 2018; Kim i wsp., 2010; Mohanty i wsp., 2016; Sharma i wsp., 2015; Softness i wsp., 2020*). Liczbowe i strukturalne zaburzenia chromosomowe, polimorfizmy genu *HLA-G* (ang. *human leukocyte antigen-G*), allotypy antygeny *HLA-C* i związane z nimi haplotypy genów *KIR* (ang. *killer cell immunoglobulin-like receptors*), mutacje i zmiany polimorficzne genów odpowiedzialnych za trombofilię, mikrodelecje i polimorfizmy w obrębie długiego ramienia chromosomu Y, zaburzenia epigenetyczne, strukturalne i funkcjonalne defekty plemników, ze szczególnym uwzględnieniem statusu ich chromatyny, stres oksydacyjny w nasieniu oraz zaawansowany wiek mężczyzny – to jedne z najczęściej stwierdzanych bądź sugerowanych i dyskutowanych przyczyn mogących prowadzić do spontanicznych poronień, szczególnie nawracających (rycina 1). Należy jednak podkreślić, że wyniki badań nie zawsze są zgodne i jednoznaczne, na co zwrócono uwagę w niniejszym opracowaniu (*Agarwal i wsp., 2021; Alibakhshi i wsp., 2020; Barut i wsp., 2018; du Fossé i wsp., 2020; Monti i wsp., 2019; Pfeiffer i wsp., 2001; Piasecka i Gill, 2021; Udry i wsp., 2014; Wang i wsp., 2017; Youssef i wsp., 2020; Zhang i wsp., 2020*).

■ Zaburzenia chromosomowe

Jedną z najistotniejszych przyczyn poronień jest czynnik genetyczny, w tym zaburzenia chromosomowe. Wśród nich wyróżnia się aberracje liczbowe i strukturalne. Pierwsze z nich są efektem nieprawidłowego rozdziału chromosomów podczas podziału komórki (nondysjunkcja), drugie z kolei powstają na skutek delecji, inwersji, duplikacji albo translokacji fragmentu chromosomu. Zaburzenia genetyczne tworzą się *de novo* (przed zapłodnieniem podczas oogenezy lub spermatogenezy bądź podczas rozwoju zygoty/zarodka) lub są dziedziczone od rodziców. Powyższe nieprawidłowości prowadzić mogą nie tylko do poronień, ale także porodów przedwczesnych, hipotrofii wewnątrzmacicznej (FGR, ang. *fetal growth restriction*) oraz zespołów wad wrodzonych (embriopatii) (*Esquerré-Lamare i wsp., 2018; Kohn i wsp., 2016; Marquard i wsp., 2010; Page i Silver, 2016; Pal i wsp., 2018; Rabiega-Gmyrek i wsp., 2015; Rodrigo, 2019; Softness i wsp., 2020*).

Aberracje chromosomowe stwierdza się nawet u 70% samoistnie poronionych płodów (*Marquard i wsp., 2010; Rabiega-Gmyrek i wsp., 2015*). *Wang i wsp. (2020)* w ciążach poronionych wykazali 59,1% zaburzeń chromosomowych, wśród których przeważającą większość stanowiły przypadki aneuploidii (81,1%), następnie aberracje strukturalne chromosomów (6,4%), rzadziej identyfikowano mozaikowość chromosomową (2,3%). Do stwierdzanych aneuploidii należą: trisomia 21. pary chromosomów (zespół Downa), 18. pary (zespół Edwardsa), 16. pary, 13. pary (zespół Patau) oraz monosomia chromosomu X (zespół Turnera) (*Kohn i wsp., 2016; Page i Silver, 2016; Pal i wsp., 2018; Rabiega-Gmyrek i wsp., 2015; Rodrigo, 2019*). Znaczący jest zarówno udział czynnika męskiego jak i żeńskiego. *Ramasamy i wsp., (2015a)* wykazał istotnie wyższe odsetki plemników z disomią chromosomu 13 i 21 (0,26% vs. 0,08%), 18 (0,18% vs. 0,03%) oraz płciowych (1,04% vs. 0,38%) wśród mężczyzn z par z RPL w porównaniu do mężczyzn płodnych z normozoospermia. Jedni badacze wykrywają nosicielstwo aberracji chromosomowych 2–4-krotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn z par z historią poronień (*Pal i wsp., 2018*), drudzy z kolei ujawniają porównywalną częstość zmian chromosomowych wśród kobiet (11%) i mężczyzn z niewielką przewagą wśród mężczyzn (11,8%) (*Alibakhshi i wsp., 2020*). Częstość ta wśród par z RPL jest różna w zależności od badanej populacji oraz liczby utraconych ciąż i wynosi 2–8% (vs. 0,3–0,4% lub 0,2–0,55% – generalna populacja), 9,88%, 11,5% lub 11,7% (*Alibakhshi i wsp., 2020; Fan i wsp., 2016; Ghazaey i wsp., 2015; Pal i wsp., 2018; Sheth i wsp., 2013*).

Alibakhshi i wsp. (2020) stwierdzili, że wśród anomalii chromosomowych weryfikowanych u par z RPL 13,95% stanowiły aberracje strukturalne, 0,78% nieprawidłowości liczbowe (jeden przypadek 47,XXY) i aż 85,27% warianty heteromorficzne chromosomów, dotyczące długości regionu heterochromatynowego, wielkości



Ryc. 1. Sugerowany udział czynnika męskiego w poronieniach nawracających (szczegóły w tekście)

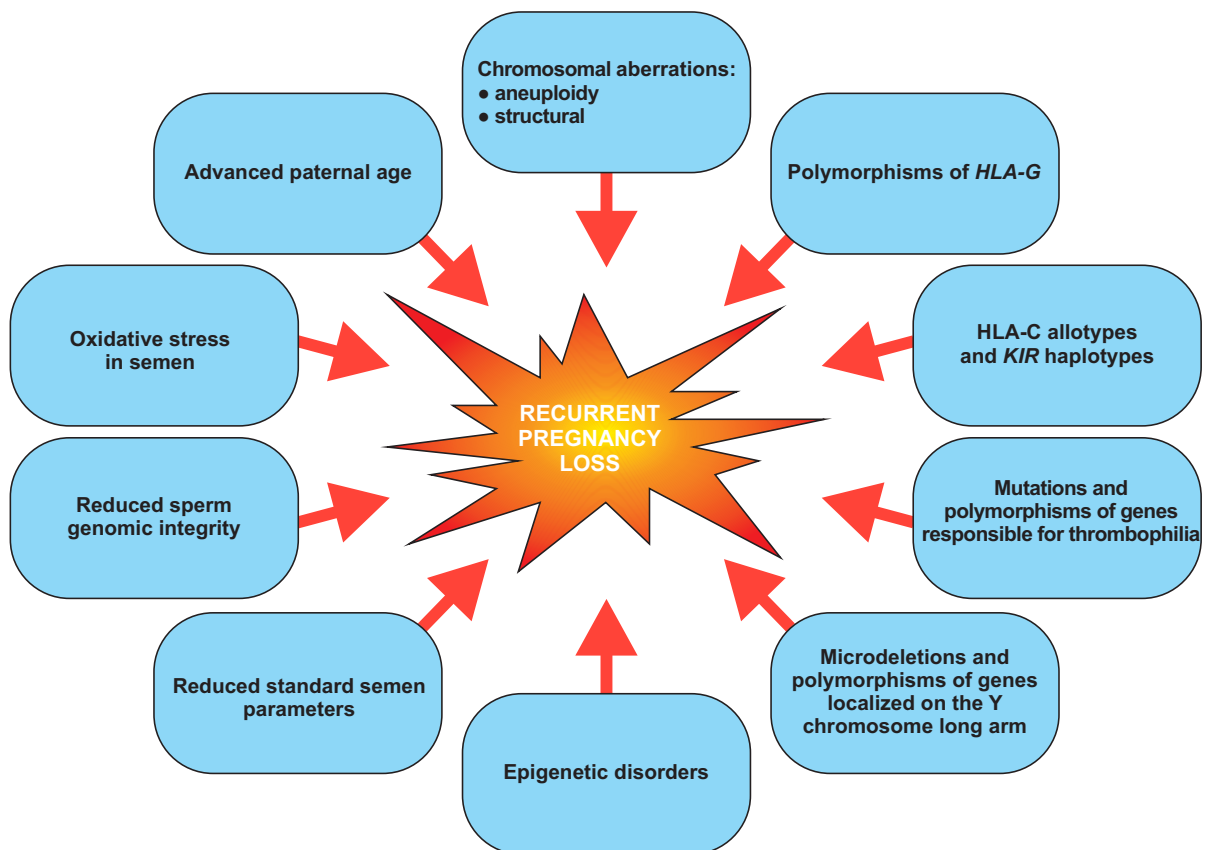


Fig. 1. Suggested male factor involved in recurrent pregnancy loss (details in the text)

satelitów oraz długości trzonu („stalk”) ramion krótkich chromosomów akrocentrycznych. W ramach aberracji strukturalnych chromosomów, ci sami autorzy ujawnili przypadki nosicielstwa zrównoważonych translokacji wzajemnych¹ (u 10 kobiet i 6 mężczyzn) oraz translokacji Robertsonowskich² (u 1 kobiety i 1 mężczyzny). Chromosomami zaangażowanymi w proces translokacji wzajemnej u mężczyzn były 1, 2, 4, 7, 9, 11 i 22 – 46,XY,t(1;7), 46,XY,t(4;7), 46,XY,t(2;9), 46,XY,t(4;6), 46,XY,t(11;22), z kolei w przypadku translokacji Robertsonowskiej chromosom 13 – 45,XY,der(13;13).

Inni autorzy także potwierdzili negatywny wpływ nosicielstwa translokacji chromosomowych na uzyskanie ciąży i jej donoszenie (Kar i wsp., 2018; Kohn i wsp., 2016; Page i Silver, 2016; Pal i wsp., 2018). W dwóch przypadkach translokacji Robertsonowskich 45,XY,der(14;21) (kobieta była nosicielem tej samej translokacji) i 45,XY,der(13;14) (kobieta miała prawidłowy kariotyp) wykonanie procedury ICSI (docyttoplazmatyczna iniekcja plemnika, ang. *intracytoplasmic sperm injection*) nie skutkowało ciążą kliniczną. Rekomendowana była procedura z wykorzystaniem dawcy nasienia. Z kolei w trzecim przypadku z potwierdzoną tą samą translokacją 45,XY,der(13;14) (kobieta miała prawidłowy kariotyp) po wykonaniu ICSI uzyskano ciążę, która skończyła się urodzeniem męskiego potomka z translokacją odziedziczoną po ojcu. We wszystkich opisanych przypadkach mężczyźni mieli ciężką oligoastenoteratozoospermiją (Kar i wsp., 2018). Należy podkreślić, że zaburzenia chromosomowe plemników, zarówno translokacje jak i aneuploidie zwykle wykazuje się u mężczyzn z nieprawidłowymi standardowymi parametrami seminologicznymi ze względu na poważne zaburzenia spermatogenezy (Almesned i wsp., 2020; Magli i wsp., 2020; Ramasamy i wsp., 2015b).

Na kliniczny indeks ciąż par objętych programem zapłodnienia *in vitro* korzystnie wpływa diagnostyka przedimplantacyjna (PGT, ang. *preimplantation genetic testing*), która zdecydowanie jest rekomendowana w przypadku stwierdzanych aberracji chromosomowych u partnerów i odnotowanych nawracających poronień. Nie można pominąć faktu, że niemal 60% zarodków uzyskanych od par z idiopatycznymi poronieniami nawracającymi w wywiadzie jest aneuploidalnych. Dzięki wykorzystaniu wyników PGT transfer zarodka euploidalnego pozwolił na zmniejszenie odsetka poronień z 23,7% na 6,9% lub zwiększenie odsetka żywych urodzeń z 4,9% do >80% (Alibakhshi i wsp., 2020; Almesned i wsp., 2020; Hodes-Wertz i wsp., 2012; Kar i wsp., 2018; Kohn i wsp.,

2016; Magli i wsp., 2020; Page i Silver, 2016; Rodrigo, 2019; Softness i wsp., 2020). Podsumowując, można stwierdzić, że za większość przyczyn idiopatycznych RPL mogą odpowiadać zaburzenia chromosomalne zarodka, będące efektem dziedziczenia bądź też mutacji *de novo*.

■ Polimorfizmy genu HLA-G

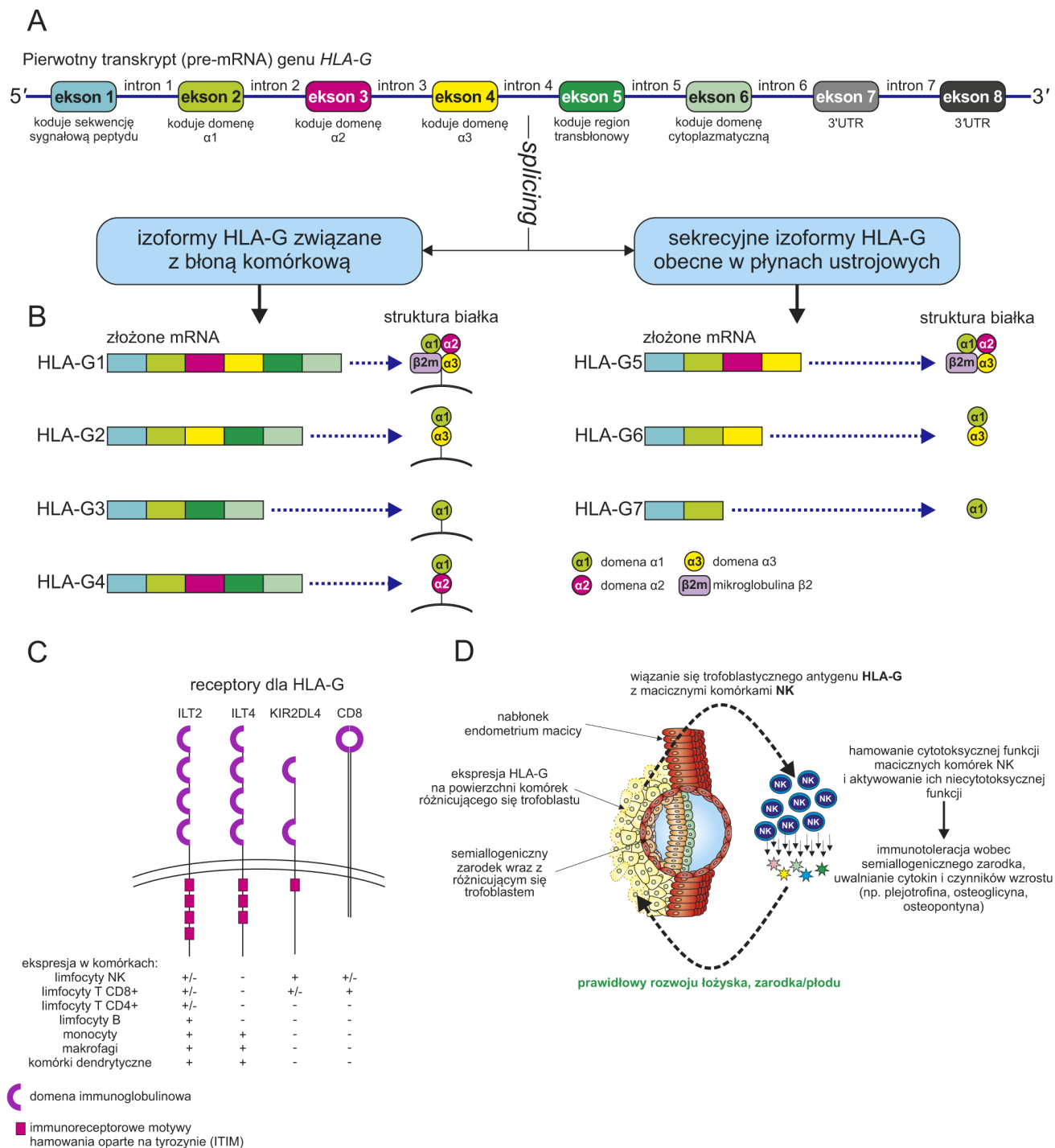
Główny układ zgodności tkankowej (MHC, ang. *major histocompatibility complex*) określany jest mianem ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA, ang. *human leukocyte antigens*). Białka je tworzące należą do istotnych makromolekuł zaangażowanych we wrodzoną odpowiedź immunologiczną. Uczestniczą m.in. w przyjęciu lub odrzuceniu przeszczepu, reakcje alergiczne, procesy nowotworowe i zaburzenia autoimmunologiczne. W tym ostatnim przypadku antygeny HLA mogą być odpowiedzialne za zagnieżdżenie zarodka i utrzymanie ciąży. Geny MHC znajdują się na ramieniu krótkim chromosomu 6 (6p21.3). Wyróżnia się dwie klasy antygenów HLA, różniące się budową, udziałem w prezentacji antygenów oraz miejscem występowania. HLA klasy I (a, b, c) zlokalizowane są na wszystkich jądrzastych komórkach organizmu, a także na płytkach krwi i erytrocytach, natomiast HLA klasy II na komórkach prezentujących antygen (APC, ang. *antigen presenting cells*) (Aldrich i wsp., 2001; Dahl i Hviid, 2012; Deshmukh i Way, 2019; Hviid, 2015; Klimkiewicz-Wojciechowska i Lech-Marańda, 2012; Koc i wsp., 2018; Persson i wsp., 2017, 2020; Wiktorowicz i Kaszkowiak, 2018).

Gen kodujący białko HLA-G składa się z 8 egzonów i 7 intronów. W wyniku alternatywnego *splicingu* transkryptu HLA-G tworzone są białka będące izoformami antygeny HLA-G (HLA-G1–G7). Antygen HLA-G, podobnie jak HLA-E i HLA-F, jest nieklasyczną częścią należącą do klasy Ib. Główna jego izoforma HLA-G1 jest transbłonową glikoproteiną zbudowaną z łańcucha lekkiego (β 2-mikroglobulina) oraz łańcucha ciężkiego zawierającego trzy domeny (α 1, α 2, α 3). Pozostałe izoformy HLA-G2–G4 związane są także z błoną komórkową, natomiast HLA-G5–G7 są antygenami sekrecyjnymi (sHLA-G) występującymi w płynach ustrojowych (rycina 2) (Attia i wsp., 2020; Carosella i wsp., 2008; Dahl i Hviid, 2012; Dahl i wsp., 2014a; Hviid, 2015; Klimkiewicz-Wojciechowska i Lech-Marańda, 2012; Lin i Yan, 2018; Persson i wsp., 2017, 2020). Jak wspomniano wcześniej, antygen HLA-G zaangażowany jest w proces implantacji zarodka i utrzymania ciąży. Wykrywa się go na powierzchni różnicującego się trofoblastu w początkowych tygodniach ciąży oraz na powierzchni powstałego z trofoblastu łożyska. Ponadto stwierdza się jego ekspresję w zapłodnionej komórce jajowej (rycina 2) (Andreotti i wsp., 2018; Hviid, 2015; Dahl i Hviid, 2012; Deshmukh i Way, 2019; Fu i wsp., 2017).

Uważa się, że HLA-G poprzez wiązanie się z receptorami zlokalizowanymi na komórkach immuno-

1 Translokacja wzajemna ma miejsce wtedy, gdy dochodzi do wymiany odcinków między chromosomami niehomologicznymi. Liczba chromosomów nie zmienia się. Chromosomy, pomiędzy którymi nastąpiła wymiana odcinków, mają zmienioną budowę. Wyróżnia się translokacje zrównoważone (brak utraty materiału genetycznego) i niezrównoważone (utrata materiału genetycznego)

2 Translokacja Robertsonowska ma miejsce wtedy, gdy dochodzi do łączenia się całych lub prawie całych ramion długich chromosomów akrocentrycznych. Długie ramiona łączą się na poziomie centromeru, z kolei krótkie ramiona są tracone. Liczba chromosomów zmniejsza się i wynosi 45.



Ryc. 2. Budowa pierwotnego transkryptu genu *HLA-G* (A), alternatywnych transkryptów i izoform białkowych HLA-G1–7 (B), receptorów dla antygeny HLA-G (C) oraz rola trofoblastycznego antygeny HLA-G w prawidłowym rozwoju łożyska, zarodka/płodu (D). 3'UTR – region mRNA występujący na końcu 3' niepodlegający translacji, ILT-2 – ludzki hamujący receptor immunoglobulinopodobny 2, ILT-4 – ludzki hamujący receptor immunoglobulinopodobny 4, KIR2DL4 – hamujący receptor 2DL4, NK – komórki naturalnej cytotoxyczności (szczegóły w tekście)

kompetentnych uczestniczy w regulacji wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Antygen ten, za pośrednictwem odpowiednich receptorów: 1) wpływa na aktywność macicznych (macicznych) komórek NK (ang. *natural killer*) – hamuje ich cytotoxyczne działanie i jednocześnie stymuluje je do uwalniania cytokin i czynników wzrostu, 2) wpływa na funkcję limfocytów T cytotoxycznych (CD8+) oraz 3) bierze udział w immunoregulacji komórek APC, limfocytów T

pomocniczych (CD4+) i T regulatorowych (Treg) (supresorowych). Zjawiska te prowadzą do tolerancji semiallogenicznego zarodka/płodu przez maciczny układ odpornościowy, co niewątpliwie ma kluczowe znaczenie dla utrzymania ciąży (rycina 2) (*Andreotti i wsp., 2018; Attia i wsp., 2020; Craenmehr i wsp., 2019b; Dahl i Hviid, 2012; Deshmukh i Way, 2019; Fu i wsp., 2017; Havrylyuk i wsp., 2015; Hviid, 2015; Nilsson i wsp., 2014; Persson i wsp., 2017, 2020*).

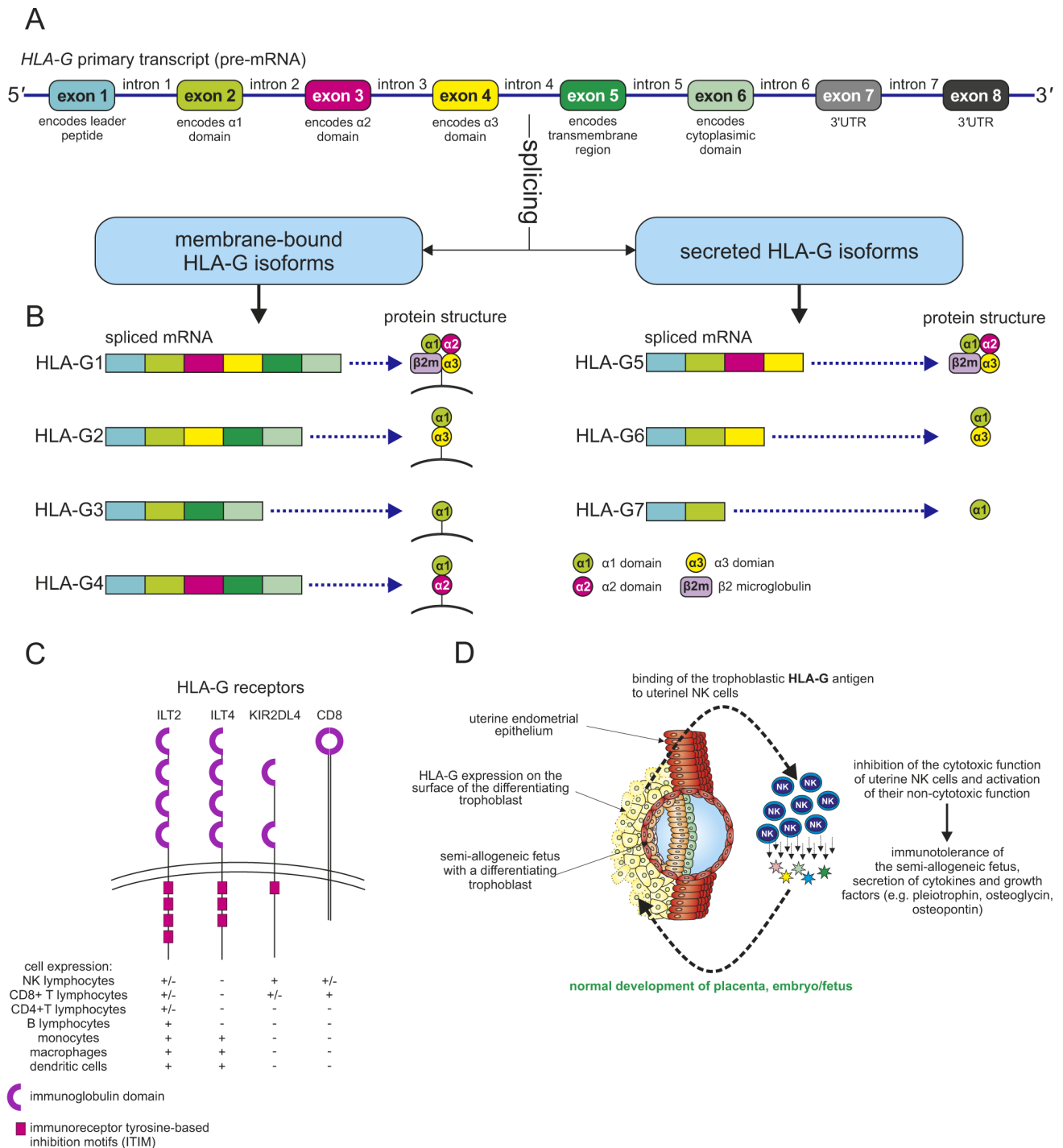


Fig. 2. HLA-G primary transcript (A), alternative transcripts and HLA-G1–7 protein isoforms (B), HLA-G receptors (C) and role of trophoblastic HLA-G antigen in normal development of placenta, embryo/fetus (D). 3'UTR – 3' untranslated region of mRNA, ILT-2 – human inhibitory receptors immunoglobulin-like transcript 2, ILT-4 – human inhibitory receptors immunoglobulin-like transcript 4, KIR2DL4 – immunoglobulin-like receptor 2DL4, NK – natural killer cells (details in the text)

Wykazano, że zmniejszona ekspresja antygenu HLA-G występuje w przypadku RPL oraz stanie przedrzucawkowym, co potwierdza jego ochronne działanie na ciążę (Nilsson i wsp., 2014; Persson i wsp., 2017, 2020; Wiktorowicz i Kaszkowiak, 2018; Yazdani i wsp., 2018). Opinie jednak co do klinicznego znaczenia HLA-G w przypadku poronień nie zawsze są zgodne i oczywiste, co podkreślił Dahl i wsp. (2014a). Z kolei, Eskicioğlu i wsp. (2016) wykazali większą ekspresję antygenu HLA-G w grupie

kobiet płodnych w odniesieniu do kobiet z poronieniami w wywiadzie, ale różnica ta nie była statystycznie istotna.

W układzie płciowym męskim ekspresję antygenu HLA-G wykrywa się w gonadzie, w tym w komórkach Sertolego, co jest zrozumiałe, komórki te bowiem m.in. uczestniczą w immunomodulacji na terenie gonady. Haploidalne komórki germinalne zlokalizowane w części adluminalnej kanalik nasennego jako komórki antygenowo obce nie mogą być rozpoznawane przez układ

immunologiczny. Ponadto ekspresję HLA-G wykazano w kanalikach odprowadzających jądra (łac. *ductuli efferentes*), najądrzu, prostatie i plazmie nasiennej, w której występuje rozpuszczalna izoforma tego antygenu – sHLA-G (Dahl i Hviid, 2012; Dahl i wsp., 2014a; 2014b; Hviid, 2015; Nederlof i wsp., 2017; Schallmoser i wsp., 2019).

Plazma deponowana w żeńskich drogach rodnych, wraz z ich wydzieliną, uczestniczy w immunomodulacji, plemniki bowiem jako komórki allogeniczne mogą być rozpoznawane przez układ immunologiczny kobiety i inicjować odpowiedź immunologiczną. Zawiera ona m.in. cytokiny, chemokiny i czynniki wzrostu, silne modulatory dla mieloidalnych komórek prezentujących antygen i rozwoju limfocytów. Warto zaznaczyć, że obecny w nasieniu transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β , ang. *transforming growth factor* β), inicjujący produkcję czynnika hemopoetycznego odpowiedzialnego za powstanie granulocytów i makrofagów (GM-CSF, ang. *granulocyte macrophage colony stimulating factor*), wraz z prostaglandyną E2 uczestniczy w promowaniu tolerancji immunologicznej, np. w rekrutacji matczynych limfocytów Treg (Deshmukh i Way, 2019; Hviid, 2015; Szczykutowicz i wsp., 2019). Istotną rolę w tych procesach może odgrywać sHLA-G, który uczestniczy w immunosupresji. Można przypuszczać, że zmiany w ekspresji tego antygenu mogą doprowadzić do rozpoznania ojcowskich antygenów przed osiągnięciem ciąży bądź zmniejszać immunotolerancję na semiallogeniczny zarodek, co prawdopodobnie może obniżać szansę na zapłodnienie, prawidłową implantację i utrzymanie ciąży (Dahl i Hviid, 2012; Dahl i wsp., 2014a; 2014b; Hviid, 2015; Nederlof i wsp., 2017). Istnieją jednak doniesienia, w których nie wykazuje się powiązań między poziomem sHLA-G w plazmie nasienia a jego jakością (Nilsson i wsp., 2020; Schallmoser i wsp., 2019), poronieniami (Craenmehr i wsp., 2019a) bądź uzyskaniem ciąży (Schallmoser i wsp., 2019).

Większość autorów uznaje polimorfizmy genu HLA-G jako czynnik etiologiczny RPL. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że m.in. kliniczne znaczenie mają allele HLA-G*0104, HLA-G*0105N, HLA-G*01013 (Aldrich i wsp., 2001; Dahl i Hviid, 2012; Dahl i wsp., 2014a; Koc i wsp., 2018; Persson i wsp., 2020; Pfeiffer i wsp., 2001; Puscheck i Jeyendran, 2007). Aldrich i wsp. (2001) analizując genotypy u 113 par z historią niewyjaśnionych RPL (vs. pary płodne), po uwzględnieniu wieku matki, liczby wcześniejszych poronień i żywo urodzonych, stwierdzili zwiększone ryzyko (OR, ang. *odds ratio*) poronienia, jeśli którykolwiek z partnerów był nosicielem allele HLA-G*0104 lub HLA-G*0105N. Ryzyko to było ponad 3,5-krotnie wyższe w przypadku nosicielstwa (OR = 3,62). Z kolei trzeci z wymienionych allele HLA-G*01013 nie wykazywał asocjacji z poronieniami. Uważa się, że allele HLA-G*0104, HLA-G*0105N są odpowiedzialne za zmiany polimorficzne występujące w domenie $\alpha 2$ łańcucha ciężkiego antygenu HLA-G. Wyniki te częściowo były zgodne z wynikami Pfeiffer i wsp. (2001), którzy analizując częstość występowania allele HLA-G*0105N i HLA-G*01013

w grupie par z RPL (n = 78) i w grupie par płodnych (n = 52), stwierdzili statystycznie większą częstość występowania obu allele w pierwszej z wymienionych grup, zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn. W efekcie opisywanych zmian genetycznych powstaje niefunkcjonalna izoforma G1 antygenu – HLA-G1. Powyższe nieprawidłowości mogą stanowić nawet do 1/3 przyczyn poronień nawracających (Aldrich i wsp., 2001; Persson i wsp., 2017; 2020; Pfeiffer i wsp., 2001; Puscheck i Jeyendran, 2007).

Obok opisanych powyżej polimorfizmów na szczególną uwagę zasługują zmiany polimorficzne w regionie 3'UTR³ (ang. 3' *untranslated region*) genu HLA-G, które powodują zmiany w ekspresji/poziomie rozpuszczalnego antygenu sHLA-G stwierdzanego w płynach ustrojowych, w tym – jak wspomniano wcześniej – plazmie nasiennej (Craenmehr i wsp., 2019a; Dahl i Hviid, 2012; Dahl i wsp., 2014a; 2014b; Nilsson i wsp., 2020). Region 3' UTR jest miejscem docelowym dla cząsteczek mikro RNA (miRNA, ang. *microRNA*) uczestniczących w posttranskrypcyjnej regulacji. Polimorfizmy w tym regionie mogą mieć wpływ na stabilność wiązania miRNA, co w konsekwencji może zmniejszać/zwiększać ekspresję sHLA-G w zależności od haplotypu⁴ 3' UTR (Amodio i wsp., 2016; Craenmehr 2019a; Dahl i wsp., 2014a). Do najczęściej identyfikowanych zmian należą zmiany pojedynczych nukleotydów (SNP, ang. *single nucleotide polymorphisms*), G/C w pozycji +3142, A/G w pozycji +3187, C/T w pozycji +3035, C/G w pozycji +3010, C/G w pozycji +3196, G/T w pozycji +3509 oraz polimorfizm insercyjno-delecyjny (Ins/Del) 14 par zasad (bp, ang. *base-pair*) (Amodio i wsp., 2016; Craenmehr i wsp., 2019a; Dahl i Hviid, 2012; Dahl i wsp., 2014b; Fan i wsp., 2014, 2017; Hviid, 2015; Kalotra i wsp., 2018; Koc i wsp., 2018; Monti i wsp., 2019; Nilsson i wsp., 2014, 2018).

Uważa się, że zmiany polimorficzne 14 bp mogą być czynnikiem ryzyka poronień, co wykazało wielu autorów (Amodio i wsp., 2016; Dahl i Hviid, 2012; Fan i wsp., 2014, 2017; Koc i wsp., 2018; Nilsson i wsp., 2014; Monti i wsp., 2019). Amodio i wsp. (2016) stwierdzili powiązanie polimorfizmu +14 bp Ins ze zmniejszoną ekspresją HLA-G, z kolei polimorfizmu -14 bp Del ze zwiększoną ekspresją sHLA-G w grupie kobiet z RPL w wywiadzie (2 poronienia) w porównaniu z grupą kontrolną. Jednak nie zawsze ujawnia się wpływ zmian polimorficznych 14 bp na wystąpienie poronień (Craenmehr i wsp., 2019a; Fan i wsp., 2017; Kalotra i wsp., 2018). Craenmehr i wsp. (2019a) nie stwierdzili różnic w częstości tych zmian identyfikowanych w genie kodującym antygen sHLA-G plazmy nasiennej u mężczyzn z par z historią RPL w porównaniu z grupą kontrolną. Z kolei Fan i wsp. (2017), przeprowadzając metanalizę opublikowanych danych, doszli do wniosku,

3 Region 3' UTR to region zlokalizowany na końcu 3'mRNA, nie kodujący struktury białka, dlatego też nie podlegający translacji (synteza białka), czyli przepisywaniu sekwencji nukleotydów na sekwencję aminokwasów.

4 Haplotyp to grupa sprzężonych polimorficznych allele, zlokalizowanych na tym samym chromosomie, w całości odziedziczona od jednego rodzica i przekazywana na następne pokolenie.

że związek między polimorfizmem 14 bp a poronieniami może być zależny od grupy etnicznej. Rasa kaukaska wykazuje zdecydowanie większe ryzyko wystąpienia poronienia niż populacja generalna (OR = 3,09).

Allotypy antygeny HLA-C i związane z nim receptory KIR

Antygen HLA-C jest klasycznym, wysoce polimorficznym antygenem należącym do klasy Ia. Jako jedyny antygen tej klasy wykazuje ekspresję na powierzchni komórek trofoblastu. Zgodnie z dostępną wiedzą jest dominującym ligandem dla receptorów KIR (ang. *killer cell immunoglobulin-like receptors*) zlokalizowanych na powierzchni komórek NK występujących w macicy. HLA-C wiąże się zarówno z receptorami hamującymi (KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3) jak i aktywującymi (KIR2DS1, KIR2DS2), przez co ma miejsce modulacja wrodzonej odpowiedzi immunologicznej związana z funkcją komórek NK. Antygen ten wchodząc w interakcję z receptorami KIR aktywującymi pośredniczy w niecytotoksycznej (nielitycznej) aktywacji macicznych komórek NK, co w konsekwencji prowadzi do wydzielania cytokin lub czynników wzrostu promujących rozwój łożyska i zarodka. Zatem silna aktywacja komórek NK przez HLA-C za pośrednictwem receptorów KIR aktywujących jest zjawiskiem niezbędnym i korzystnym dla prawidłowego przebiegu ciąży (rycina 3) (*Dahl i Hviid, 2012; Havrylyuk i wsp., 2015; Hviid, 2015; Moffett i Hiby, 2007; Papúchová i wsp., 2019; Würfel i wsp., 2019; Yang i wsp., 2020*).

Wyróżnia się dwa allotypy cząsteczki HLA-C w zależności od jej wiązania się z receptorami KIR. Allotyp HLA-C1 (asparagina w pozycji 80 domeny $\alpha 1$) wchodzi w interakcję z hamującymi receptorami KIR2DL2, KIR2DL3 i aktywującym KIR2DS2, natomiast HLA-C2 (lizyna w pozycji 80 domeny $\alpha 1$) z hamującym KIR2DL1 i aktywującym KIR2DS1 (rycina 3). Allotyp HLA-C2 wiąże się z większą aktywacją receptorów hamujących. Genotyp HLA-C komórek trofoblastu w połowie określony jest przez odziedziczony allotyp od ojca i w połowie od matki. Zatem genotyp HLA-C trofoblastu może być następujący: C1C1 (homozygota), C2C2 (homozygota), C1C2 (heterozygota). Wyróżnia się także dwa haplotypy genów kodujących receptory KIR komórek NK w zależności od dominującego występowania aktywujących lub hamujących receptorów. W haplocie A dominują receptory hamujące, z kolei w B aktywujące. Matczyne genotypy KIR to AA (brak aktywujących receptorów KIR), BB lub AB (obecność od 1 do 5 aktywujących receptorów KIR). Największe ryzyko powikłań łożyskowych (stan przedrzucawkowy, poronienia) ma miejsce w przypadku matczynego genotypu AA i płodowego genotypu C2C2, ponieważ brak jest prawidłowej aktywacji niecytotoksycznej działalności matczynek komórek NK (rycina 3) (*Dahl i Hviid, 2012; Havrylyuk i wsp., 2015; Hviid, 2015; Moffett i Hiby, 2007; Würfel i wsp., 2019*).

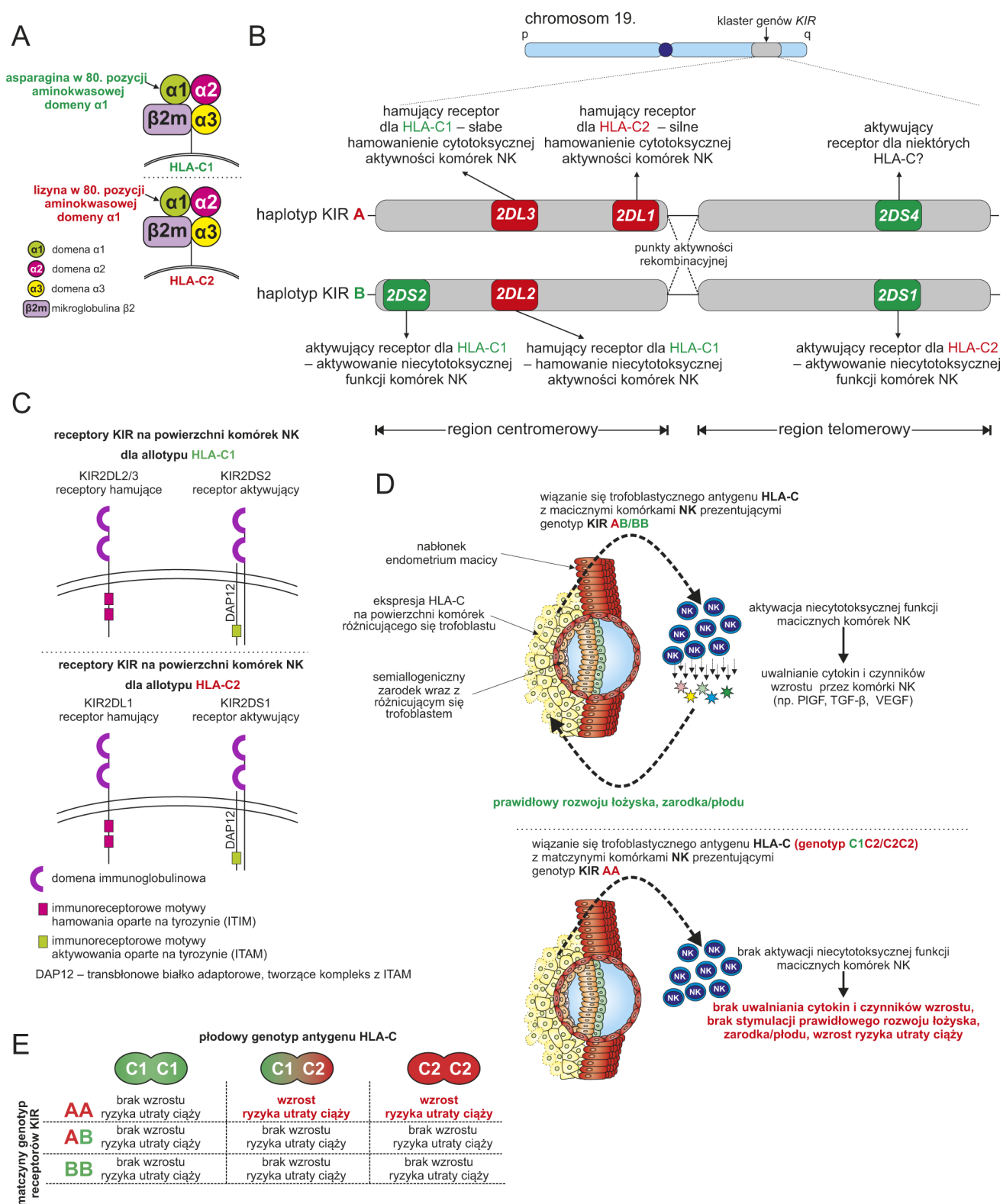
Oryginalne prace badawcze potwierdzają związek między antygenem HLA-C i jego receptorami KIR a RPL (*Elbaşı i wsp., 2020; Hiby i wsp., 2008, 2010*). *Elbaşı i wsp. (2020)* przeprowadzając badania na populacji tureckiej (pary z historią RPL w wywiadzie [3–6 poronień, brak wcześniejszej ciąży] vs. zdrowe pary z potomstwem) stwierdzili większą częstość homozygoty HLA-C2 w grupie mężczyzn z par z RPL ($n = 25$) w porównaniu do grupy mężczyzn z par zdrowych ($n = 24$) i populacji generalnej ($n = 1528$) oraz niższą częstość genu *KIR2DS3* w grupie kobiet z RPL ($n = 25$) w porównaniu do płodnych kobiet ($n = 39$). Z kolei, *Hiby i wsp. (2008)* również ujawnili większą częstość allotypu C2 zarówno u kobiet jak i u mężczyzn z par z RPL niż u par płodnych (brak powikłań łożyskowych, urodzenie dziecka z prawidłową masą ciała) (kaukaska grupa etniczna). Co więcej, w grupie kobiet z RPL wykazano większą częstość genotypu KIR AA niż w grupie kontrolnej. W następnych badaniach *Hiby i wsp. (2010)* potwierdzili, że współistnienie występowania genotypu KIR AA u kobiet i allotypu C2 płodu predysponuje do komplikacji przebiegu ciąży (hipotrofia wewnątrzmaciczna, nawracające poronienia). Autorzy stwierdzili większą częstość allotypu C2 płodu (komórki łożyska) (genotyp C2C2, C1C2) niż allotypu C2 u matki (genotyp C1C1, C1C2). Na tej podstawie pośrednio sugerowali, że za powikłania w czasie ciąży mógł być odpowiedzialny genotyp ojca (C2C2, C1C2).

Mutacje i polimorfizmy genów odpowiedzialnych za trombofilie

Trombofilia jest zespołem chorobowym, który charakteryzuje się zwiększoną skłonnością do powstawania zakrzepów żylnych, niekiedy tętniczych, spowodowanych zaburzeniami w układzie krzepnięcia. Wyróżniamy trombofilie wrodzone uwarunkowane genetycznie spowodowane jedno- lub dwuallelicznymi mutacjami bądź też polimorfizmami genów, które biorą udział w kaskadzie krzepnięcia i fibrynolizie: mutacja genu czynnika V krzepnięcia (1691G>A – mutacja Leiden)⁵, mutacja genu protrombiny (20210G>A)⁶ oraz polimorfizm (677C>T) genu *MTHFR* kodującego reduktazę 5,10-metylenotetrahydrofolianową (*MTHFR*, ang.

5 Czynn timer V krzepnięcia uczestniczy w szlaku pro- i antykoagulacyjnym. Czynn timer V Leiden jest wariantem czynn timer V, powstaje w wyniku mutacji punktowej 1691G>A (Leiden) genu kodującego czynn timer V zlokalizowanego na długim ramieniu chromosomu 1. Powstałe białko podlega prawidłowej aktywacji w procesie krzepnięcia, niemniej jednak wykazuje oporność na działanie aktywowanego białka C, które spełnia rolę antykoagulacyjną. Mutacja Leiden dziedziczna w sposób dominujący zwiększa ryzyko chorób zakrzepowo-zatorowych.

6 Protrombina (czynn timer II krzepnięcia), nieaktywny rozpuszczalny prekursor trombiny występujący w surowicy krwi. Jest glikoproteiną wytwarzaną przez wątrobę w obecności witaminy K. Trombina odpowiedzialna jest za przekształcanie fibrynogenu do fibryny, która jest głównym białkiem skrzepu krwi. Mutacja punktowa 20210G>A występująca w regionie 3'UTR genu protrombiny zlokalizowanego na krótkim ramieniu chromosomu 11 prowadzi do wzrostu stężenia protrombiny we krwi, a w następstwie do zwiększenia krzepliwości krwi, co zwiększa ryzyko chorób zakrzepowo-zatorowych. Mutacja 20210G>A dziedziczy się w sposób dominujący.



Ryc. 3. Budowa allotypów antygenu *HLA-C* (A), haplotypy genów *KIR* (B), budowa receptorów *KIR* (C), rola trofoblastycznego antygenu *HLA-C* w rozwoju łożyska, zarodka/płod (D) oraz znaczenie haplotypów genów *KIR* i allotypów antygenów *HLA-C* w utrzymaniu ciąży (E). NK – komórki naturalnej cytotoksyczności, PIGF – łożyskowy czynnik wzrostu, TGF- β – transformujący czynnik wzrostu β , VEGF – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (szczegóły w tekście)

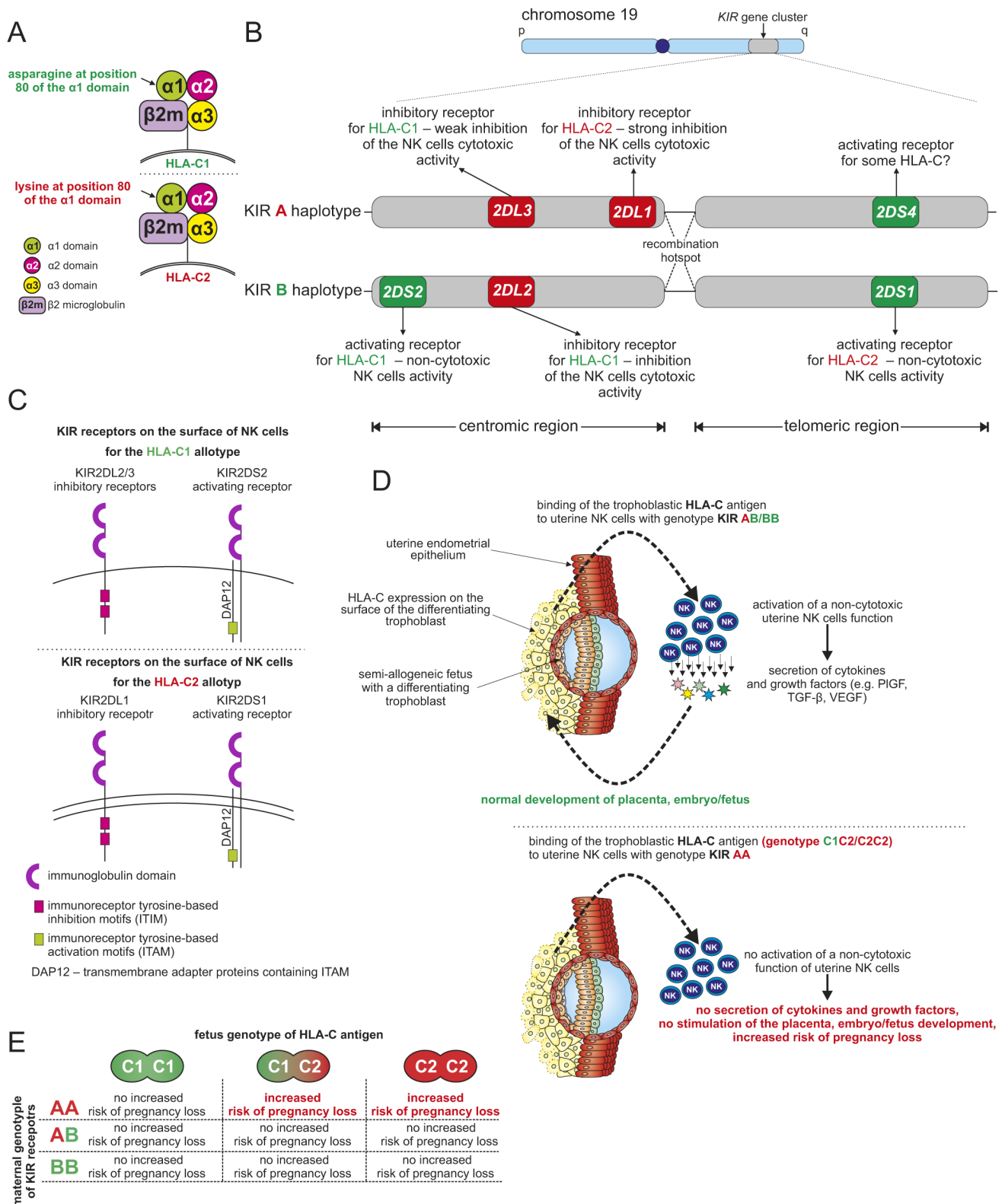


Fig. 3. Structure of HLA-C allotypes (A), KIR haplotypes (B), structure of KIR receptors (C), role of trophoblastic HLA-C antigen in development of placenta, embryo/fetus (D) and significance of KIR haplotypes and HLA-C antigen allotypes in pregnancy maintenance (E) NK – natural killer cells, PlGF – placental growth factor, TGF- β – transforming growth factor- β , VEGF – vascular endothelial growth factor (details in the text)

5,10-methylenetetrahydrofolate reductase)⁷. Dodatkowo zwraca się uwagę na wrodzone niedobory białek C⁸ i S⁹, a także niedobór antytrombiny III. Z kolei trombofilie nabyte mogą być spowodowane zespołem antyfosfolipidowym, trombocytopenią indukowaną heparyną oraz nieprawidłowościami białek uczestniczących w krzepnięciu (np. nabyta oporność na białko C). Ponadto czynnikiem ryzyka mogą być choroby nowotworowe, nocna napadowa hemoglobinuria, chemio- i radioterapia, palenie, otyłość i zaawansowany wiek (*Alecsandru i wsp.*, 2021; *Kurzawińska i wsp.*, 2009; *Pasińska i wsp.*, 2012; *Regan i wsp.*, 2011; *Stevens i wsp.*, 2016; *van Dijk i wsp.*, 2020; *Voicu i wsp.*, 2020). W przebiegu trombofilii dochodzić może do zakrzepicy w łożysku, niewydolności łożyskowej, stanu przedrzucawkowego oraz wewnątrzmacicznego zahamowania wzrastania płodu, a w efekcie poronień nawracających lub utraty płodu w drugiej połowie ciąży (*Barut i wsp.*, 2018; *Eslami i wsp.*, 2020; *Jivraj i wsp.*, 2006; *Puscheck i Jeyendran*, 2007; *Rastogi i wsp.*, 2019; *Voicu i wsp.*, 2020; *Youssef i wsp.*, 2020).

W przypadku kobiet wpływ defektów genów odpowiedzialnych za trombofilie na poronienia jest dobrze udokumentowany (*Ahangari i wsp.*, 2019; *Barut i wsp.*, 2018; *Eslami i wsp.*, 2020), natomiast w przypadku mężczyzn jest on niejednoznaczny. Jedni autorzy wskazują na mutację tych genów jako potencjalną przyczynę poronień (*Barut i wsp.*, 2018; *Jivraj i wsp.*, 2006; *De Galan-Roosen i wsp.*, 2005; *Regan i wsp.*, 2011; *Udry i wsp.*, 2014), inni z kolei nie wykazują związku między tymi mutacjami a poronieniami (*Pasquier i wsp.*, 2009; *Toth i wsp.*, 2008).

Jivraj i wsp. (2006) wykazali zmniejszoną szansę na urodzenie żywego dziecka, jeśli którykolwiek z partnerów był nosicielem więcej niż 1 mutacji powodującej trombofilie (mutacja Leiden, genu protrombiny 20210G>A, polimorfizm 677C>T genu *MTHFR*) w porównaniu z parami, u których nie stwierdzono tych mutacji. Względne ryzyko poronień nawracających wzrastało prawie 2-krotnie. Ponadto odsetek żywo urodzonych podczas następnej ciąży przy braku zastosowania profilaktyki zakrzepowozatorowej był zdecydowanie mniejszy (odpowiednio: 17% vs. 56%). Z kolei *Udry i wsp.* (2014) wykazali, że częstość mutacji Leiden genu czynnika V krzepnięcia była istotnie wyższa w grupie mężczyzn z par z historią RPL w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio: 16,7% vs. 3%). W przypadku częstości mutacji genu protrombiny 20210 G>A nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych między porównywanymi grupami mężczyzn.

Ponadto autorzy ujawnili, że mutacja Leiden zwiększała ponad 6-krotnie ryzyko (OR = 6,47) wystąpienia poronień nawracających, co zostało również potwierdzone przez analizę retrospektywną opracowaną przez *Regan i wsp.* (2011). Wykazali oni, że mutacja Leiden była związana z 2-krotnym wzrostem częstości RPL w I trymestrze ciąży (OR = 2,01) oraz prawie 8-krotnym wzrostem po 22. tygodniu ciąży (OR = 7,83). Również *De Galan-Roosen i wsp.* (2005) ujawnili, że u mężczyzn z par z historią RPL częściej występowała oporność na aktywowane białko C (22% vs. 0% w grupie kontrolnej) powodująca prozakrzepowy defekt hemostazy (patrz przyp. 5 i 8). Z kolei *Toth i wsp.* (2008) oraz *Pasquier i wsp.* (2009) nie znaleźli żadnego istotnie statystycznego powiązania między mutacją Leiden, mutacją protrombiny 20210G>A oraz polimorfizmem 677C>T u mężczyzn z par z historią RPL.

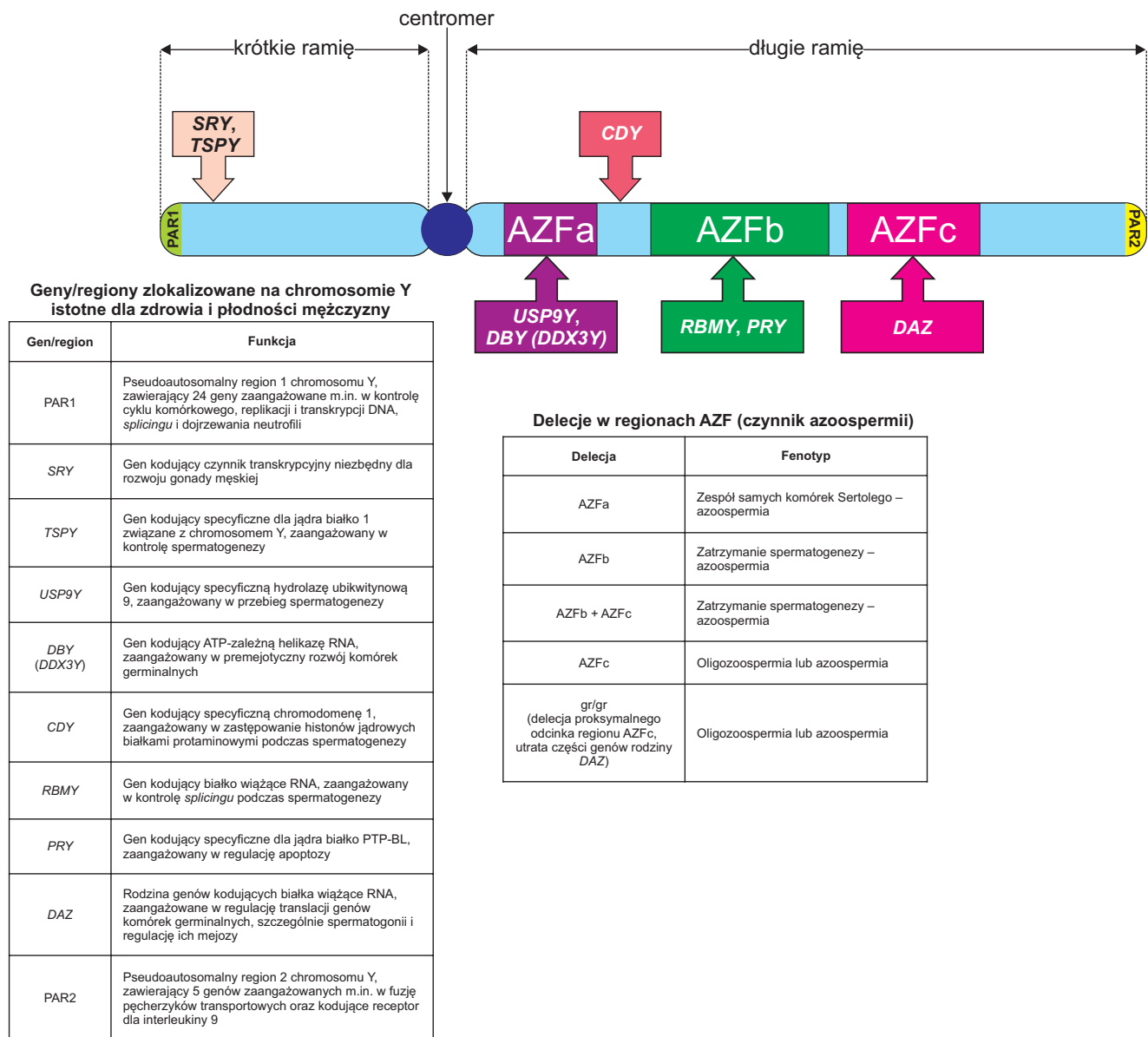
Mikrodelecje i polimorfizmy długiego ramienia chromosomu Y

Chromosom Y odgrywa istotną rolę zarówno podczas różnicowania się gonady męskiej, jak i w utrzymaniu zdrowia i płodności mężczyzny. Istotne geny/regiony zlokalizowane są na krótkim i długim ramieniu tego chromosomu. W obrębie długiego ramienia występuje zespół genów krytycznych dla spermatogenezy, nazwanych czynnikiem azoospermii (AZF, ang. *azoospermia factor*). W obrębie tego zespołu wyróżnia się 3 regiony: AZFa, AZFb oraz AZFc. Delekcje w tych regionach powodują hipospermatogenezę, kryptospermatogenezę, jej zatrzymanie bądź całkowity brak, stąd też prowadzą do niepłodności męskiej (rycina 4) (*Kayser*, 2017; *Krausz i Casamonti*, 2017; *O'Flynn i wsp.*, 2010; *Signore i wsp.*, 2020). Wśród mężczyzn niepłodnych od 2% do 4% ma mikrodelecję w regionie AZF (*Abur i wsp.*, 2019; *Arumugam i wsp.*, 2021). Aż 80% przypadków związanych jest z delecją AZFc powodującą azoospermie lub ciężką oligozoospermie. U ok. 66% mężczyzn z tą delecją wykazuje się obecność plemników w nasieniu (*Devan i wsp.*, 2006). Należy podkreślić, że weryfikacja mutacji w regionie AZFc rekomendowana jest, gdy w nasieniu występuje <1 mln/mL plemników. Z kolei bardzo rzadko stwierdza się delecję w tym regionie, gdy koncentracja plemników w nasieniu wynosi >5 mln/mL. Korzystny prognostycznie jest fakt, iż w przypadku azoospermii u mężczyzn z mutacją w AZFc istnieje szansa na pozyskanie plemników z jądra (TESE, ang. *testicular sperm extraction*). Z kolei delecja regionu AZFb powodująca zatrzymanie spermatogenezy zdecydowanie zmniejsza szansę na zastosowanie metody TESE, która w tym przypadku nie jest rekomendowana, podobnie jak w przypadku delecji w regionie AZFa prowadzącej do zespołu samych komórek Sertolego (SCOS, ang. *Sertoli cell-only syndrome*) (*Devan i wsp.*, 2006; *Dhanoa i wsp.*, 2016; *Dziuba*, 2017; *Kayser*, 2017; *Krausz i Casamonti*, 2017; *Witczak i wsp.*, 2013; *O'Flynn i wsp.*, 2010; *Signore i wsp.*, 2020).

7 Reduktaza *MTHFR* jest enzymem odgrywającym kluczową rolę w metabolizmie folianów i w regulacji stężenia homocysteiny i metioniny. Polimorfizm 677C>T genu *MTHFR* zlokalizowanego na krótkim ramieniu chromosomu 1 prowadzi do nieprawidłowej aktywności reduktazy *MTHFR*, co w efekcie powoduje wzrost stężenia homocysteiny w surowicy krwi i w konsekwencji staje się czynnikiem ryzyka zmian zakrzepowych. Mutacja dziedziczy się w sposób dominujący.

8 Białko C, zależne od witaminy K, jako aktywna proteaza serynowa jest inhibitorem czynnika V i VIII krzepnięcia krwi.

9 Białko S jest glikoproteiną zależną od witaminy K, niezbędną do aktywacji białka C.



Ryc. 4. Schemat chromosomu Y z zaznaczonymi genami/regionami istotnymi dla rozwoju gonady męskiej, zdrowia i płodności mężczyzny

Trudno jednoznacznie ustalić, czy zmiany w długim ramieniu chromosomu Y są czynnikiem ryzyka RPL, dane z piśmiennictwa bowiem nie zawsze są zgodne. *Dewan i wsp. (2006)* u 14 z 17 mężczyzn z par z RPL (82%) stwierdzili mikrodelecje w proksymalnym regionie AZFc, w tym u 11 (65%) liczba mikrodelecji wynosiła >3. Zmian takich autorzy nie ujawnili w przypadku mężczyzn płodnych. Podobne wyniki uzyskali *Karaer i wsp. (2008)*. Badacze u 7 z 43 mężczyzn z par z RPL (16%) wykazali ≥1 mikrodelecji w regionie AZF (vs. 0% w grupie 43 mężczyzn płodnych). Większość mikrodelecji występowała w regionie AZFb. Z kolei *Wang i wsp. (2017)* u 12,03% mężczyzn z par z RPL (61 z 507) stwierdzili polimorfizmy (1qh+, inv(9), 9qh+, 16qh+, grup D/G, Yqh- and Yqh+) w długim ramieniu chromosomu Y (vs. 2,15% w grupie 465 mężczyzn płodnych). Ryzyko występowania badanych zmian polimorficznych u tych

mężczyzn było zdecydowanie wyższe w porównaniu z grupą płodną i zależało od rodzaju polimorfizmu (OR od 2,805 do 12,07).

Nie można pominąć faktu, że istnieją doniesienia, w których autorzy nie wykazują związku między mikrodelecjami w regionie AZFa, AZFb, AZFc a RPL i nie rekomendują genetycznej analizy długiego ramienia chromosomu Y w przypadku mężczyzn z par z RPL (*Ahmadi i wsp., 2018; Bellver i wsp., 2010; Ghorbian i wsp., 2012; Perez i wsp., 2013; Wettasinghe i wsp., 2010*).

Zaburzenia epigenetyczne

Obok zmian genetycznych oraz cytogenetycznych, obejmujących mutacje, polimorfizmy i strukturalne zaburzenia chromosomów, w etiopatogenezie poronień

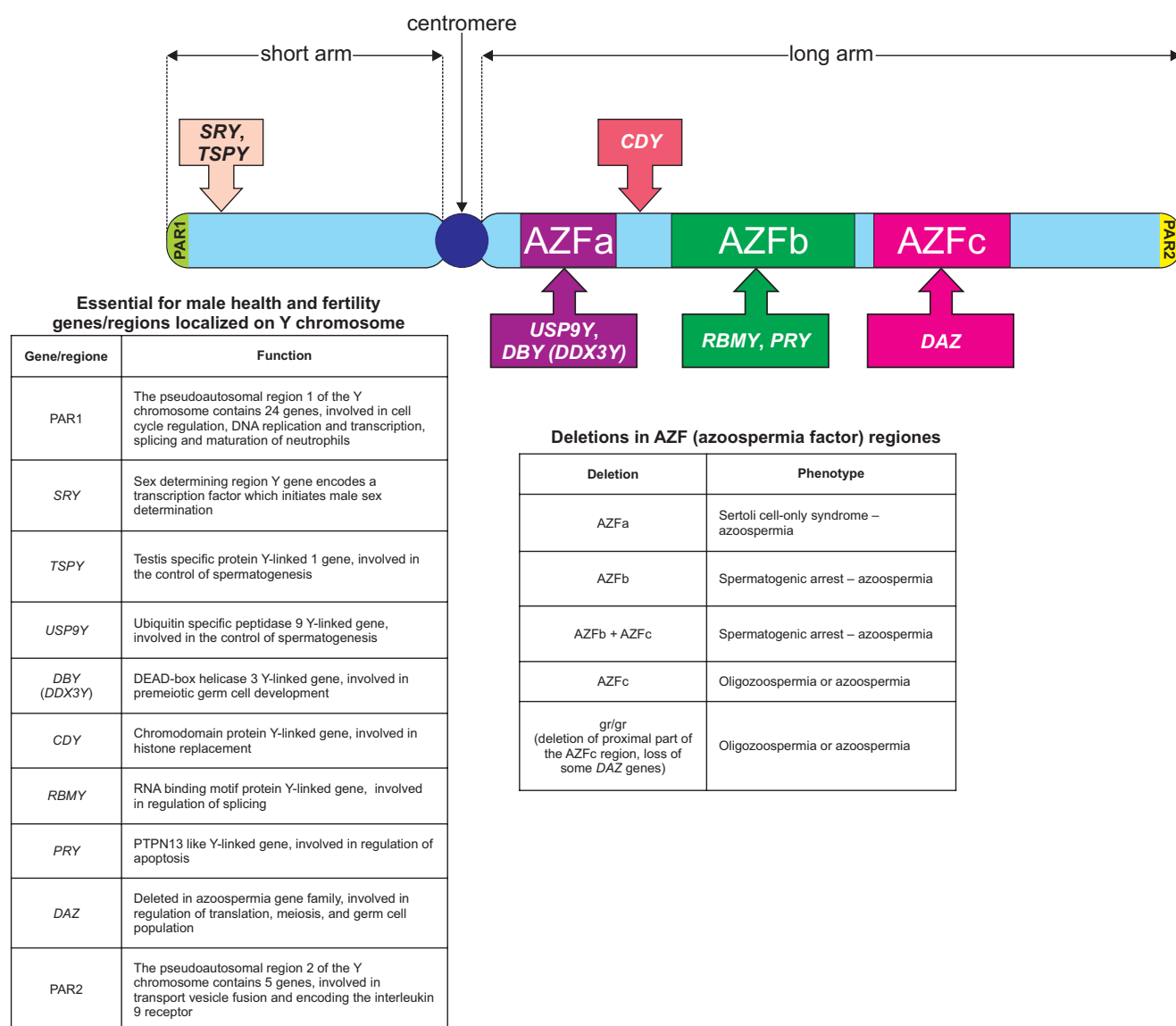
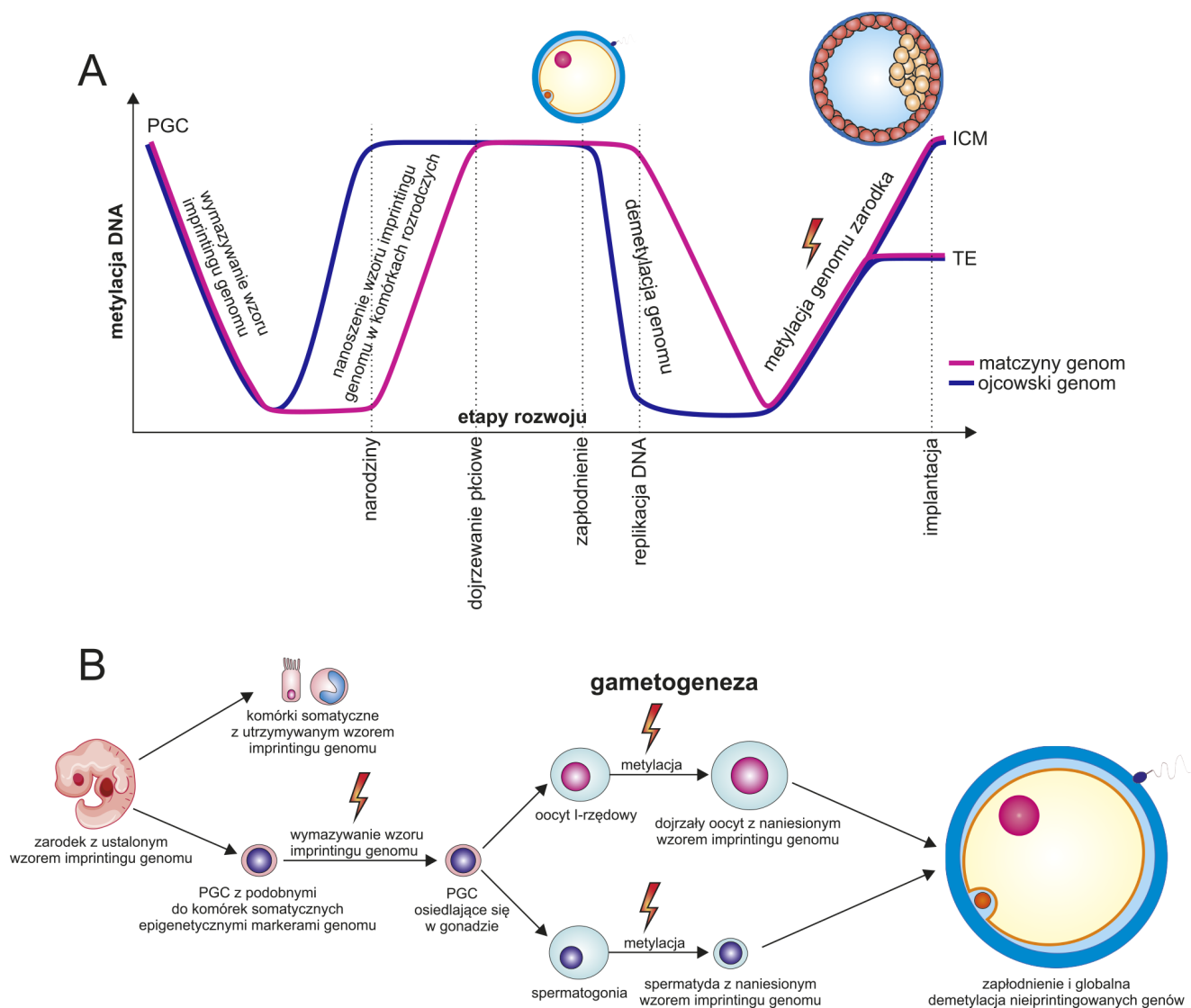


Fig. 4. Scheme of Y chromosome displaying genes/regions associated with testis development, male health and fertility

na znaczeniu zyskują również badania dotyczące zmian epigenetycznych (Cheung i wsp., 2019; El Hajj i wsp., 2011; Ibrahim i Hotaling, 2018). W odróżnieniu od mutacji, zmiany epigenetyczne odpowiedzialne są za kontrolę ekspresji materiału genetycznego bez zmian w jego nukleotydowej sekwencji. Jednym z mechanizmów tej kontroli jest tzw. piętno genomowe (imprinting genomic, ang. *genomic imprinting*) (rycina 5). Kontroluje ono dostępność genów i ich promotorów dla czynników transkrypcyjnych, reguluje ekspresję 1–2% genów kodujących białka ludzkiego organizmu. Mechanizm ten oparty jest na znacznikach epigenetycznych, które pozwalają komórce rozróżniać rodzicielskie pochodzenie alleli, co skutkuje monoalleliczną ekspresją kopii genu odziedziczonej po matce lub po ojcu. Główne modyfikacje materiału genetycznego w tym procesie to: 1) metylacja cytozyny w wyspach CpG (rejonu DNA bogate w cytozynę i guaninę) zlokalizowanych między innymi w promotorach genów i w regionach DNA o zróżnicowanej metylacji

(DMR, ang. *differentially methylated regions*) i 2) metylacja histonów. Co interesujące, materiał genetyczny męskich gamet wydaje się bardziej podatny na zaburzenia epigenetyczne niż komórki somatyczne, ponadto zaburzenia te zwiększają się wraz z wiekiem mężczyzny. Jak wykazali Jenkins i wsp. (2014) średnia liczba zmian w metylacji genomu plemników w regionach hipermetylowanych wynosiła 0,3% rocznie a w regionach hipometylowanych 0,28%, podczas gdy w komórkach somatycznych było to tylko 0,15%. Należy wyraźnie podkreślić, że błędy w imprintingu materiału genetycznego, w tym ojcowskiego, podobnie jak mutacje są dziedziczone, zatem mogą przyczyniać się zarówno do nieprawidłowego rozwoju zarodka i/lub niskiego wskaźnika uzyskiwanych ciąży, jak i wzrostu częstości poronień. Dzieje się tak ponieważ prawidłowy wzór ekspresji genów ojcowskich i matczynych ma kluczowe znaczenie dla rozwoju i funkcjonowania zarodka oraz łożyska (Arias-Sosa i wsp., 2018; Elbracht i wsp., 2020; Marques i wsp., 2017; Sebire i wsp., 2020).



Ryc. 5. Schemat przedstawiający zmiany poziomu metylacji DNA w czasie życia płodowego, ontogenezy oraz zapłodnienia i wczesnego rozwoju zarodka (A) ze szczególnym uwzględnieniem zmian w poziomie metylacji genomu komórek PGC i gamet (B). Specyficzne dla rodzicielskich alleli znaczniki epigenetyczne są dziedziczne, ale muszą być „wymazywane” w każdym kolejnym pokoleniu. U ssaków podczas gametogenezy i wczesnej embriogenezy zachodzą dwa główne zdarzenia epigenetycznego przeprogramowania całego genomu. Po zapłodnieniu dochodzi do globalnej demetylacji rodzicielskiego DNA. Ojcowski genom w sposób aktywny jest demetylowany już przed pierwszym podziałem zygoty (na etapie przedjądźry), z kolei matczyński jest demetylowany pasywnie później w czasie wczesnych podziałów blastomerów zarodka aż do osiągnięcia stadium blastocysty. Następnie, przed implantacją zarodka do endometrium macicy, nanoszony jest *de novo* wzór metylacji DNA zależny od płci zarodka i od przeznaczenia komórek (komórki ICM wykazują wyższy poziom metylacji DNA niż komórki TE). Ustalony nowy wzór metylacji utrzymuje się w komórkach zarodka, za wyjątkiem komórek PGC. W tych komórkach zostaje usunięty wzór metylacji DNA, a następnie jest on nanoszony ponownie w czasie gametogenezy. Nieprawidłowy wzór metylacji DNA może być efektem nieprawidłowego imprintingu genomu podczas gametogenezy, w wyniku niepowodzenia w usuwaniu i ustaleniu nowego wzoru metylacji lub może być efektem braku utrzymania wzoru metylacji nanoszonego po zapłodnieniu (patrz błyskawice na rycinie). Co ważne, nieprawidłowości te mogą być przyczyną nieprawidłowego rozwoju zarodka i stać się czynnikiem idioopatycznych poronień lub też mogą nie powodować utraty ciąży. Konsekwencją tego mogą być choroby związane z nieprawidłowym imprintingiem (rzadkie choroby, często o bardzo ciężkim przebiegu). Wskazuje to, że odpowiednia ekspresja niewielkiej grupy genów (1–2%) jest kluczowa dla prawidłowego rozwoju. ICM – węzeł zarodkowy, PGC – komórki prapłciowe, TE – trofoblastektoderma (*Gunes i Esteves, 2021; Ishida i Moore, 2013; Elbracht i wsp., 2020; Swales i Spears, 2005*).

Wpływ znaczenia zaburzeń imprintingu genomu plemników na sukces rozrodczy potwierdzają wyniki badań *El Hajj i wsp. (2011)*. Autorzy ci ujawnili dodatnią zależność między poziomem metylacji regionów ALU¹⁰

10 Sekwencje ALU to wielokrotnie powtórzone (ok. 1 mln) sekwencje nukleotydowe (280 par zasad) występujące w ludzkim genomie. Sekwencje ALU należą do transpozonów (skaczących genów), a dokładnie do retrotranspozonów. Sekwencje retrotranspozonowe przepisane są na RNA a następnie za pomocą odwrotnej transkryptazy na DNA i z wykorzystaniem integracji wbudowywane w nowe loci.

(retrotranspozonów) a urodzeniem żywego dziecka, jednocześnie wykazując, że obniżenie poziomu metylacji tych regionów może prowadzić do poronień. Również *Khambata i wsp. (2021)*, w genomie plemników mężczyzn z par z historią RPL, ujawnili znaczny spadek globalnego poziomu metylacji DNA, spadek poziomu metylacji wysp CpG w promotorze genów należących do LINE-1¹¹ oraz

11 LINE-1 (ang. *long interspersed nuclear elements*) to długie rozproszone sekwencje retrotranspozonowe o wielkości przynajmniej kilku tysięcy par zasad.

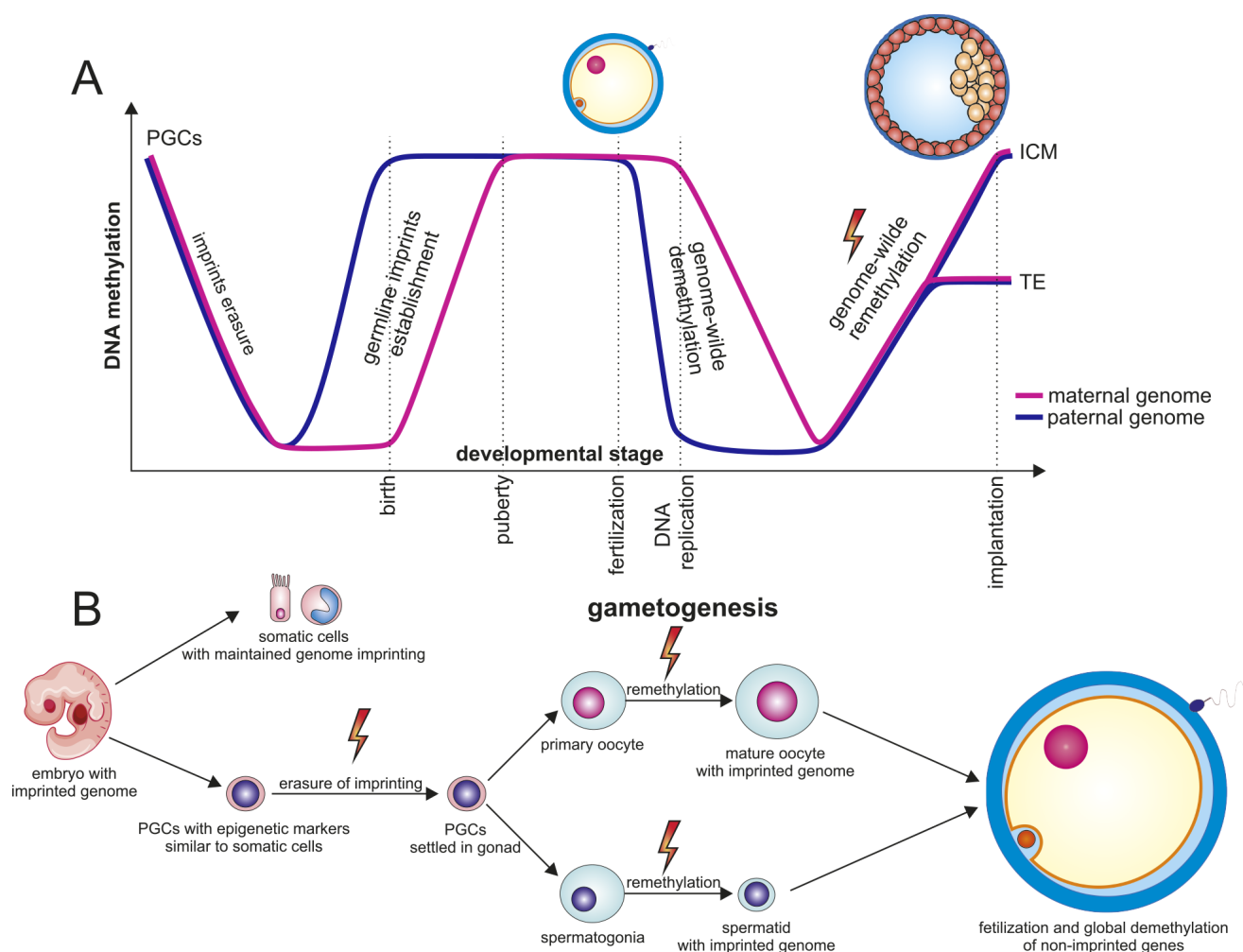


Fig. 5. Scheme showing changes in the DNA methylation level during fetal life, ontogenesis, fertilization and early embryo development (A) with particularly emphasis on changes in genome methylation occurring in PGCs and gametes (B). Maternal and paternal allele-specific epigenetic markers are inherited but have to be 'erased' in each generation. Two major events of genome-wide epigenetic reprogramming take place in mammals during gametogenesis and early embryogenesis. After fertilization, global demethylation is carried out. The paternal genome undergoes active demethylation before the first zygote division (at the pronuclei stage), while maternal genome is demethylated later by a DNA replication-dependent passive mechanism, until embryo reach blastocyst stage. Then, before implantation, *de novo* DNA methylation pattern is established depending on the embryo sex and the cell type (ICM cells have been found to carry higher methylation than the TE cells). The established new DNA methylation pattern is maintained in the embryo cells, except for PGCs. In PGCs, the DNA methylation pattern is 'erased' and *de novo* established during gametogenesis. The abnormal DNA methylation pattern may be a defect introduced during spermatogenesis (failure of 'erasure' and remethylation of DNA) or it may arise from ineffective post-fertilization methylation maintenance (see lightning in figure). Importantly, these abnormalities may cause the abnormal development of the embryo and become a factor of idiopathic miscarriages or it may not result in pregnancy loss, but may lead to diseases associated with disturbed imprinting (rare and often very severe diseases). This indicates that the proper expression of a small group of genes (1–2%) is crucial for normal development. ICM – inner cell mass, PGCs – primordial germ cell, TE – trophoblast (Gunes and Esteves, 2021; Ishida and Moore, 2013; Elbracht et al., 2020; Swales and Spears, 2005).

w regionach DMR genów *IGF2/H19*¹², a także w regionach IG-DMR¹³.

Jednakże badania dotyczące wpływu tych zmian na ryzyko wystąpienia poronień wciąż są nieliczne i nie zawsze są zgodne. Przykładowo, *Poorang i wsp. (2018)*

12 Gen *H19* znajduje się w ulegającym imprintingowi regionie chromosomu 11 w pobliżu genu insulinopodobnego czynnika wzrostu 2 (*IGF2*, ang. *insulin-like growth factor 2*). Ten gen jest aktywny tylko w chromosomie dziedziczonym po matce, podczas gdy *IGF2* jest aktywny tylko w chromosomie dziedziczonym po ojcu. Produktem tego genu jest długi niekodujący RNA, który działa jako supresor nowotworu. Mutacje w tym genie powiązane z zespołem Beckwitha-Wiedemanna i nowotworem Wilmsa.

13 IG-DMR (ang. *intergenic germline-derived differentially methylated regions*) to sekwencje DNA o zróżnicowanej metylacji, których wzorce metylacji ustalają się w komórkach zarodkowych po zapłodnieniu

nie wykazali różnic w częstości epigenotypu metylacji promotora genu *MTHFR* w plemnikach mężczyzn z par z historią PRL w odniesieniu do mężczyzn z potwierdzoną płodnością. Stąd też, uzasadniona wydaje się konieczność prowadzenia dalszych badań w celu dogłębnej weryfikacji znaczenia zmian epigenetycznych genomu plemników w poronieniach.

Standardowe parametry nasienia

Nie ulega wątpliwości, że konwencjonalna ocena nasienia odgrywa istotną rolę w postępowaniu diagnostycznym i terapeutycznym w przypadku niepłodności partnerskiej.

W standardowym badaniu seminologicznym ocenia się nie tylko plemniki, ale także cały ejakulat. Analiza składa się z oceny mikroskopowej (np. całkowita liczba, koncentracja, ruchliwość, morfologia, żywotność plemników) oraz makroskopowej (np. czas upłynięcia, wygląd, objętość, pH, lepkość nasienia). Biorąc pod uwagę wyniki podstawowej oceny seminologicznej, wielu autorów podejmowało próbę znalezienia związku między nimi a poronieniami. Należy wyraźnie podkreślić, że związek między standardowymi parametrami nasienia a poronieniami może mieć charakter pośredni, bowiem jak wspomniano już wcześniej, m.in. aberracje chromosomowe, nie obojętne dla przebiegu spermatogenezy, są czynnikiem etiologicznym obniżonych parametrów seminologicznych i poronień (*Almesned i wsp., 2020; Kar i wsp., 2018; Magli i wsp., 2020; Ramasamy i wsp., 2015b*).

Uzyskane dane nie zawsze są jednoznaczne i zgodne. Jedni autorzy wykazują związek między konwencjonalną charakterystyką plemników a RPL, inni nie potwierdzają tego związku, co więcej wykazują go jedynie między wyselekcjonowanymi parametrami nasienia (*Carlini i wsp., 2017; Eisenberg i wsp., 2017; Li i wsp., 2021; Zhang i wsp., 2012, 2020; Zidi-Jrah i wsp., 2016*). Na podstawie przeglądu piśmiennictwa można stwierdzić, że średnia liczba plemników z ruchem postępowym w grupie mężczyzn płodnych (grupa kontrolna) była 1,69-krotnie (*Venkatesh i wsp., 2011*), 1,7-krotnie (*Zidi-Jrah i wsp., 2016*), 1,26-krotnie (*Gil-Villa i wsp., 2010*) oraz 1,14-krotnie (*Absalan i wsp., 2012*) większa niż w grupach mężczyzn z par z RPL w wywiadzie (grupa badana). Z kolei całkowita ruchliwość plemników była 1,83-krotnie (*Brahem i wsp., 2011*), 1,67-krotnie (*Imam i wsp., 2011*), 1,42-krotnie (*Bellver i wsp., 2010*) oraz 1,26-krotnie (*Bhattacharya, 2008*) większa w grupie kontrolnej w porównaniu z grupą RPL. Podobnie koncentracja plemników była 4,3-krotnie (*Venkatesh i wsp., 2011*), 1,44-krotnie (*Bellver i wsp., 2010*), 1,23-krotnie (*Zhang i wsp., 2012*) oraz 1,21-krotnie (*Gil-Villa i wsp., 2010*) większa w grupie mężczyzn płodnych niż w grupie mężczyzn z par z RPL. Biorąc pod uwagę odsetek plemników morfologicznie prawidłowych, był on 1,8-krotnie (*Zidi-Jrah i wsp., 2016*), 1,51-krotnie (*Absalan i wsp., 2012*), 1,47-krotnie (*Carrell i wsp., 2003*), 1,42-krotnie (*Imam i wsp., 2011*), 1,38-krotnie (*Gil-Villa i wsp., 2010*), 1,2-krotnie (*Venkatesh i wsp., 2011*), 1,19-krotnie (*Zhang i wsp., 2012*) i 1,12-krotnie (*Khadem i wsp., 2014*) większy w grupie mężczyzn płodnych niż w grupie badanej. Dodatkowo wady główki ponad 1,5-krotnie częściej występowały u mężczyzn z par z RPL (*Zidi-Jrah i wsp., 2016*). Potwierdzeniem znacznego wpływu parametrów nasienia na występowanie poronień jest metaanaliza z 2020 r. (*Zhang i wsp., 2020*), w której grupą badawczą stanowiło prawie 2500 mężczyzn z par z niewyjaśnionymi przyczynami RPL. Ujawniono, iż w nasieniu tych mężczyzn była istotnie obniżona całkowita liczba plemników, ich koncentracja, ruchliwość oraz morfologia w porównaniu z grupą kontrolną mężczyzn płodnych.

Nie można jednak pominąć faktu, że w dostępnym piśmiennictwie istnieją doniesienia, w których nie wykazano różnic między grupą kontrolną a grupą mężczyzn z par z RPL w przypadku objętości nasienia (*Brahem i wsp., 2011; Eisenberg i wsp., 2017; Zhu i wsp., 2020*), koncentracji plemników (*Bhattacharya, 2008; Brahem i wsp., 2011; Carrell i wsp., 2003; Eisenberg i wsp., 2017; Zidi-Jrah i wsp., 2016*), ich morfologii (*Brahem i wsp., 2011; Eisenberg i wsp., 2017*) oraz ruchu postępowego (*Bhattacharya, 2008; Eisenberg i wsp., 2017*). Stąd też w przypadkach trudnych klinicznie nie można poprzestać tylko na standardowej ocenie seminologicznej, która jak wiadomo nie zawsze dostarcza wyczerpujących informacji dotyczących zdolności plemników do zapłodnienia. Dlatego też wielu autorów uzupełnia standardową charakterystykę plemników o ocenę statusu ich chromatyny i stresu oksydacyjnego w nasieniu (*Agarwal i wsp., 2019; Dhawan i wsp., 2019; Esteves i wsp., 2021; Jayasena i wsp., 2019; Khadem i wsp., 2014; Selvam i wsp., 2021; Zhang i wsp., 2020; Zhu i wsp., 2020*).

■ Stres oksydacyjny w nasieniu

Stres oksydacyjny jest spowodowany zachwianiem równowagi pomiędzy wytwarzaniem reaktywnych form tlenu (RFT, ang. *reactive oxygen species*) (rodnik hydroksylowy, tlen singletowy, nadtlenek wodoru, anionorodnik ponadtlenkowy) a ochronnym działaniem antyoksydacyjnym obejmującym układ enzymatyczny (np. dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationu, reduktaza glutationu, katalaza) jak i nieenzymatyczny (np. witaminy A, E, C, B, glutation, koenzym Q10, karnityna, tauryna, hipotauryna, cysteina, homocysteina, laktoferyna, cynk, miedź, selen). Stanowić może czynnik etiologiczny wielu zaburzeń ogólnoustrojowych, w tym niepłodności męskiej (*Aitken i Drevet, 2020; Fraczek i Kurpisz, 2015; Ritchie i Ko, 2021; Walczak-Jedrzejowska, 2015; Walczak-Jedrzejowska i wsp., 2013*). W sposób fizjologiczny RFT uczestniczą w procesie spermiogenezy, apoptozy, proliferacji, przekazywania sygnałów wewnątrz- i międzykomórkowych oraz prawidłowym zapłodnieniu. Ich stężenie może rosnać w wielu sytuacjach klinicznych. Wyróżniamy czynniki egzogenne i endogenne powodujące wzrost RFT. Do pierwszych należą styl życia (palenie papierosów, otyłość, stres, alkohol, nieprawidłowa dieta uboga w antyoksydanty), zaawansowany wiek, zaburzenia endokrynologiczne, zawodowe i środowiskowe narażenie na metale ciężkie, toksyny i temperaturę, niektóre leki, przebyta chemio- i radioterapia. Do endogennych czynników wpływających na poziom stresu oksydacyjnego należą miejscowe stany zapalne/infekcyjne układu moczowo-płciowego, zaburzenia procesu spermatogenezy, choroby układowe, żylaki powrózka nasiennego, wnetrostwo, wazektomia oraz niewydolność układu antyoksydacyjnego (*Agarwal i Majzoub, 2017; Agarwal i wsp., 2019; Aitken i Drevet, 2020; Aitken i wsp., 2003; Dutta i wsp., 2019; Esteves i wsp., 2021; Walczak-Jedrzejowska, 2015*).

W wyniku stresu oksydacyjnego w układzie płciowym męskim dochodzi do peroksydacyjnego uszkodzenia fosfolipidów błon komórkowych, co w efekcie powoduje obniżenie ich płynności oraz zmniejszenie ich funkcji transportowych i receptorowych. Jednym z produktów peroksydacji lipidów jest cytotoksyczny dialdehyd malonowy (MDA, ang. *malonodialdehyde*), którego stężenie rośnie wraz ze zwiększonym wydzielaniem RFT. W dalszym etapie powstałe aldehydy mogą uszkadzać zarówno białka, jak i kwasy nukleinowe. Oksydacyjne uszkodzenie białek dotyczy przede wszystkim tych aminokwasów, które zawierają grupy sylfhydrylowe (-SH). W wyniku ich utleniania powstają mostki dwusiarczkowe (-S-S-). Ponadto ma miejsce nieodwracalna modyfikacja aminokwasów (np. wprowadzenie grup karbonylowych lub hydroksyloowych), fragmentacja łańcucha polipeptydowego i tworzenie się niekorzystnych wiązań wewnątrz cząsteczki białka i pomiędzy nimi, co może powodować utratę aktywności biologicznej białka, zaburzenie działania enzymów i transporterów błonowych. Z kolei w wyniku uszkodzenia materiału genetycznego przez RFT wykrywa się modyfikację zasad azotowych (np. 8-OHdG – 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna) i reszt cukrowych, a także rozerwanie wiązań fosfodiesterowych łańcucha DNA. W konsekwencji dochodzi do fragmentacji zarówno jądrowego, jak i mitochondrialnego DNA (mogą powstawać pojedyncze i podwójne nacięcia nici DNA) (Agarwal i wsp., 2017, 2020, 2021; Ahmadi i wsp., 2016; Barati i wsp., 2020; Gill i wsp., 2019; Ritchie i Ko, 2021; Walczak-Jedrzejowska i wsp., 2013).

Nie ulega wątpliwości, że zmiany, jakie mogą zachodzić w układzie płciowym męskim pod wpływem stresu oksydacyjnego na poziomie komórkowym, będą skutkowały zaburzeniami spermatogenezy i w konsekwencji mogą prowadzić do oksydacyjnego uszkodzenia męskich komórek rozrodczych skutkującego zaburzeniem ich czynności i finalnie obniżeniem płodności mężczyzny lub wystąpieniem niepłodności. Wykazuje się bowiem, że aż w 80% niepłodności idiopatycznej męskiej ma miejsce stres oksydacyjny w nasieniu. Co więcej, stres ten przenoszony do żeńskich dróg rodnych może niekorzystnie wpływać nie tylko na proces kapacytacji męskich gamet, ale także na komórkę jajową i rozwijający się zarodek, a w efekcie powodować jego poronienie, zarówno w przypadkach naturalnej koncepcji, jak i wspomaganych medycznie (Agarwal i Majzoub, 2017; Agarwal i wsp., 2019, 2021; Aitken i Drevet, 2020; Dhawan i wsp., 2017, 2019; du Fossé i wsp., 2020; Gil-Villa i wsp., 2009; Shamsi i wsp., 2011; Showell i wsp., 2014). Należy zwrócić uwagę – o czym wspomniano już wcześniej – że jednym z etiologicznych czynników stresu oksydacyjnego w nasieniu są stany zapalne/infekcyjne w męskim układzie moczowo-płciowym (np. zapalenie gruczołu krokowego, pęcherzyków nasiennych, dróg moczowych) związane ze wzrostem mikropatogenów, leukocytów i cytokin prozapalnych (np. IL-1 β , IL-6, TNF- α), które jak sugeruje się mogą niekorzystnie wpływać na parametry

seminologiczne i przebieg ciąży. Stąd wnikliwa analiza biomarkerów stanu zapalnego/infekcji jest jak najbardziej uzasadniona (Aitken i Drevet, 2020; Fraczek i Kurpisz, 2015; Havrylyuk i wsp., 2015; Liu i wsp., 2021; Walczak-Jedrzejowska, 2015).

Badacze potwierdzają związek stresu oksydacyjnego z poronieniami. Wykazano wyższe stężenie RFT w nasieniu mężczyzn z par z RPL w porównaniu z grupą mężczyzn z par płodnych (Dhawan i wsp., 2019; Jayasena i wsp., 2019; Kamkar i wsp., 2018; Shamsi i wsp., 2011; Venkatesh i wsp., 2011). Stężenie to było ok. 19,5-krotnie (Venkatesh i wsp., 2011), 9,3-krotnie (Shamsi i wsp., 2011), 4,5-krotnie (Jayasena i wsp., 2019) oraz 1,8-krotnie wyższe (Dhawan i wsp., 2019). Wykazano, że aż 62,5% mężczyzn z par z RPL miało podwyższone stężenie RFT w nasieniu (vs. 32,5% mężczyzn z par płodnych) (Shamsi i wsp., 2011). Interesujące wyniki uzyskali Dhawan i wsp. (2019). Badacze analizując krzywą ROC (ang. *receiver operating characteristic*) i pole powierzchni pod tą krzywą (AUC, ang. *area under curve*), ujawnili, że wartością graniczną (odcietcia) stężenia RFT w nasieniu mężczyzn była wartość 27,88 RLU/s/mln plemników (metoda chemiluminescencji), powyżej której statystycznie wzrastało ryzyko poronienia. Aż 69,4% badanych mężczyzn z par z RPL miało stężenie RFT powyżej eksperymentalnie ustalonej wartości granicznej (vs. 24,6% mężczyzn z par płodnych). Co więcej, autorzy tych badań podają, że ryzyko wystąpienia poronienia było ponad 4-krotnie wyższe, gdy stężenie RFT w nasieniu wynosiło powyżej uzyskanej wartości odcietcia (Dhawan i wsp., 2019).

Nie można pominąć faktu, że w przypadku stresu oksydacyjnego w nasieniu istnieje ryzyko obniżenia jakości nasienia, w tym integralności jądrowego DNA plemników, co w konsekwencji może upośledzać proces zapłodnienia, rozwój zarodka i uzyskanie ciąży (Agarwal i wsp., 2019, 2020; Aitken i wsp., 2017; Baskaran i wsp., 2021; Bellver i wsp., 2010; Cho i Agarwal, 2018; Dhawan i wsp., 2019; Esteves i wsp., 2021; Homa i wsp., 2019; Jayasena i wsp., 2019; Kamkar i wsp., 2018; Selvam i wsp., 2021; Shamsi i wsp., 2011; Venkatesh i wsp., 2011). Stąd też na szczególną uwagę zasługują badania, w których autorzy wykazują korzystny wpływ suplementacji antyoksydantami (np. β -karoten, witamina C, witamina E, koenzym Q10, L-karnityna, cynk, likopen) na konwencjonalne parametry seminologiczne, obniżenie stresu oksydacyjnego, zwiększenie integralności DNA plemników, liczby uzyskanych ciąż oraz żywych urodzeń (Agarwal i wsp., 2019; Ahmadi i wsp., 2016; Cardoso i wsp., 2018; Gil-Villa i wsp., 2009; Ross i wsp., 2010; Showell i wsp., 2014). Na podstawie przeprowadzonej metaanalizy Showell i wsp. (2014) wykazali, że stosowanie antyoksydantów u mężczyzn z obniżoną płodnością lub niepłodnych (od 3 do 26 tygodni) może zwiększać ponad 3-krotnie szansę na uzyskanie ciąży oraz ponad 4-krotnie szansę na żywe urodzenia. Ponadto 2-miesięczna lub 3-miesięczna terapia antyoksydantami mężczyzn z par korzystających z zapłodnienia *in vitro*

pozwoili na uzyskanie odpowiednio 48,3% ciąż klinicznych (vs. 6,9%) lub 38,5% (vs. 16%) (*Ahmadi i wsp.*, 2016; *Ross i wsp.*, 2010). Ujawniono także, że minimum 3-miesięczna suplementacja antyoksydantami w grupie mężczyzn z par z RPL, podwyższonym indeksem fragmentacji jądrowego DNA plemników (DFI >24, ang. *DNA fragmentation index*) lub ze zwiększoną peroksydacją jego lipidów umożliwiła uzyskanie potomstwa w przypadku 6 z 9 suplementowanych mężczyzn (*Gil-Villa i wsp.*, 2009). Z przeglądu piśmiennictwa jednak wynika, że wpływ terapii antyoksydantami na zmniejszenie odsetka poronień nie jest oczywisty i wymaga większej liczby badań randomizowanych (*Showell i wsp.*, 2014).

■ Status chromatyny plemnika

Status chromatyny plemnika (integralność DNA, protaminacja, odpowiednia ilość histonów jądrowych, prawidłowa kondensacja chromatyny) coraz powszechniej staje się uznanym i rekomendowanym biomarkerem, zwłaszcza w takich przypadkach jak: zylaki powrózka nasienne, idiopatyczna niepłodność, niepłodność związana ze stylem życia, parametry seminologiczne na granicy prawidłowe/nieprawidłowe, zastosowanie technik wspomaganą prokreacji oraz w przypadkach nawracających poronień (*Agarwal i wsp.*, 2021; *Bender Atik i wsp.*, 2018; *Esteves i wsp.*, 2021). Zatem ocena integralności i dojrzałości chromatyny plemników może być czynnikiem predykcyjnym w warunkach naturalnej koncepcji, jak i w sytuacji wykorzystania technik wspomaganą prokreacji, ponieważ – o czym wspomniano wcześniej – status chromatyny może mieć wpływ na proces zapłodnienia, rozwój zarodka i uzyskaniu ciąży i w konsekwencji w przypadku jego obniżenia może stać się przyczyną poronień (*Agarwal i wsp.*, 2020, 2021; *Carlini i wsp.*, 2017; *Cissen i wsp.*, 2016; *Esteves i wsp.*, 2021; *Gill i wsp.*, 2019; *Kazerooni i wsp.*, 2009; *Rodrigo*, 2019; *Selvam i wsp.*, 2021; *Softness i wsp.*, 2020; *Talebi i wsp.*, 2016; *Tsuribe i wsp.*, 2016; *Wang i wsp.*, 2020).

Obecnie uznaje się istnienie trzech mechanizmów odpowiedzialnych za powstawanie nacięć podwójnej helisy DNA: zaburzenia przebudowy chromatyny podczas spermiogenezy, „nieudaną” apoptozę plemników (ang. *abortive sperm apoptosis*) i stres oksydacyjny. Uważa się, że zaburzenia reorganizacji chromatyny plemników podczas spermiogenezy wiążą się z nieprawidłową jej protaminacją i zwiększeniem w niej zawartości histonów jądrowych, w efekcie dochodzi do obniżenia jej integralności manifestującej się obecnością podwójnych nacięć nici DNA, które nie są naprawiane wskutek upośledzenia procesu naprawczego i mają status przetrwałych nacięć DNA. Podwójne nacięcia nici DNA to również efekt „nieudanej” apoptozy plemników. Dotyczy on uszkodzonych komórek germinalnych/gamet, które nie do końca przeszły proces apoptozy, uniknęły bowiem eliminacji przez komórki Sertolego wchodzące w skład nabłonka

plemnikotwórczego. Aktywacja wykonawców apoptozy – kaspaz (proteazy cysteinowe) i w konsekwencji jądrowych endonukleaz prowadzi do pojawienia się w ejakulacie plemników z nacięciami DNA. Z kolei pojedyncze, a także podwójne nacięcia nici DNA powstają wskutek oksydacyjnego uszkodzenia DNA (np. w najądrzu), w wyniku którego powstaje np. 8-OHdG, o czym wspomniano już wcześniej. W efekcie dochodzi do rozerwania nici DNA i powstania pojedynczych jej pęknięć. Jednak w następstwie stresu oksydacyjnego ma miejsce także tworzenie się toksycznych produktów peroksydacji lipidów błonowych plemnika (np. MDA lub 4HNE [4-hydroksynonenal]), które mogą aktywować kaspazy i endonukleazy i w efekcie generować podwójne nacięcia DNA (*Agarwal i wsp.*, 2020, 2021; *Esteves i wsp.*, 2021; *Gill i wsp.*, 2020; *Softness i wsp.*, 2020; *Zhu i wsp.*, 2020).

Z przeglądu piśmiennictwa, w tym przeprowadzonych przez autorów metaanaliz, wynika, że wzrost odsetka plemników z nieprawidłowym statusem chromatyny wiąże się z istotnym zwiększeniem ryzyka RPL zarówno w przypadku naturalnej prokreacji, jak i wspomaganą medycznie. Wielu badaczy wykazało, że odsetek plemników z uszkodzoną chromatyną mężczyzn z par z historią RPL (grupa badana) był istotnie wyższy w porównaniu z grupą mężczyzn płodnych (grupa kontrolna). Autorzy stosują różne metody weryfikacji statusu chromatyny – oceniają zarówno fragmentację DNA plemników, jak i protaminację oraz kondensację ich chromatyny (*Carlini i wsp.*, 2016; *Haddock i wsp.*, 2021; *Khadem i wsp.*, 2014; *Klimczak i wsp.*, 2021; *Li i wsp.*, 2021; *McQueen i wsp.*, 2019; *Robinson i wsp.*, 2012; *Tan i wsp.*, 2018; *Yifu i wsp.*, 2020; *Zhao i wsp.*, 2014; *Zidi-Jrah i wsp.*, 2016).

Haddock i wsp. (2021) ujawnili 33,32 ± 0,57% plemników z pofragmentowanym DNA (test kometowy) w grupie badanej (vs. 14,87 ± 0,66%), z kolei inni autorzy wykazali 30,05 ± 6,3% (vs. 9,03 ± 2,9%), 18,8 ± 7,0% (vs. 12,8 ± 5,3%), 17,1% (vs. 10,2%) i 14,49 ± 6,09% (vs. 9,65 ± 3,66%) plemników TUNEL-pozytywnych z pęknięciami nici DNA (*Carlini i wsp.*, 2016; *Kamkar i wsp.*, 2018; *Talebi i wsp.*, 2016; *Zidi-Jrah i wsp.*, 2016), natomiast *Khadem i wsp.* (2014) zanotował aż 43,3% (vs. 16,7%) plemników z nieprawidłową dyspersją chromatyny (test SCD, ang. *sperm chromatin dispersion*), a *Kamkar i wsp.* (2018) 25,95 ± 10,20% (vs. 19,44 ± 7,62%) plemników z pofragmentowanym DNA (DFI, test SCSA [ang. *sperm chromatin structure assay*]). W nasieniu mężczyzn z par z RPL stwierdza się również istotnie wyższe odsetki plemników o obniżonej protaminacji (test z chromomycyną A3) (42,35 ± 13,12% vs. 23,03 ± 7,5%) (*Talebi i wsp.*, 2016) i ze zwiększoną zawartością histonów jądrowych (test z błękitem aniliny) (23,6% vs. 11,8%; 88,94 ± 2% vs. 73,60 ± 3%) (*Mohanty i wsp.*, 2016; *Zidi-Jrah i wsp.*, 2016).

Ciekawe analizy przeprowadzili *Zhu i wsp.* (2020). Badacze wykazali, że w grupie mężczyzn z par z RPL było istotnie więcej przypadków (42,3%) z wysokim poziomem uszkodzenia plemnikowej chromatyny (DFI >30%) w porównaniu z mężczyznami (13,1%) z par,

u których wykazano kliniczną ciężą w wyniku procedury *in vitro*. Potwierdza się, że wartość DFI >40% zdecydowanie zwiększa ryzyko poronienia. Za wartość prawidłową, która wiąże się z wysoką płodnością, uznaje się DFI od 1 do 15% (*Cheng i wsp.*, 2020; *Cho i wsp.*, 2017; *Esteves i wsp.*, 2021; *Evenson*, 2017; *Oleszczuk i wsp.*, 2016).

Nie zawsze jednak ujawnia się związek między statusem chromatyiny plemników a poronieniami. Wartość odsetka plemników z nieprawidłową chromatyną nie koniecznie może być czynnikiem ryzyka utraty ciąży (*Chen i wsp.*, 2020; *Green i wsp.*, 2020). Sugeruje się, że uszkodzenia DNA plemnika mogą być naprawiane przez komórkę jajową na poziomie tworzenia się przedjąra męskiego jeszcze przed replikacją ojcowskiego genomu i mogą być kontynuowane aż do osiągnięcia przez zarodek stadium blastocysty, co ma istotne znaczenie kliniczne podczas hodowli zarodków w warunkach *in vitro*. Stąd też można przypuszczać, że patomechanizm odpowiedzialny za poronienia może być powiązany z niepoprawieniem uszkodzeń nici DNA plemnika, które nie są tolerowane. Brak naprawy pęknięć DNA może uniemożliwić konieczną przebudowę chromatyiny męskiej gamety (usuwanie protamin i histonów jądrowych a wbudowywanie histonów somatycznych) i jej epigenetyczne przeprogramowanie. Kompetencje oocyty i jego dojrzałość będą decydowały o dalszych losach zarodka. Należy wspomnieć, że zdolności oocyty do naprawy uszkodzeń plemnikowego DNA istotnie się zmniejszają po 35. r.ż. kobiety (*Horta i wsp.*, 2020; *Jeřeta i wsp.*, 2020; *Khokhlova i wsp.*, 2020; *Kuhakulla i wsp.*, 2021).

Zaawansowany wiek mężczyzny

Nieodwracalnym, a przez to niebagatelnym czynnikiem wpływającym na sukces rozrodczy danej pary jest nie tylko wiek kobiety, ale także wiek mężczyzny. Badacze poszukują tzw. zaawansowanego wieku ojcowskiego (APA, ang. *advanced paternal age*), powyżej którego istnieje ryzyko niepowodzeń w rozrodzie, sugeruje się 35. lub 40. r.ż. (*Agarwal i wsp.*, 2016; *Alshahrani i wsp.*, 2014; *du Fossé i wsp.*, 2020; *Halvaei i wsp.*, 2020; *Harris i wsp.*, 2017; *Jaleel i Khan*, 2013; *Nybo Andersen i Urhoj*, 2017; *Piasecka i Gill*, 2021; *Rosiak i wsp.*, 2017a, 2017b, 2019; *Sharma i wsp.*, 2015; *Wang i wsp.*, 2017; *Wu i wsp.*, 2015).

Wraz z wiekiem mężczyzny obniżają się podstawowe parametry seminologiczne oraz rośnie poziom uszkodzenia chromatyiny plemnika (*Gill i wsp.*, 2019, 2020; *Piasecka i Gill*, 2021; *Rosiak i wsp.*, 2017a, 2019). Według *Stone i wsp.* (2013) wartość parametrów nasienia nie zmienia się do 34. r.ż., po czym dynamicznie spada, powodując wzrost niepowodzeń rozrodu niezależnie od wieku matki. Stwierdzono, że wiek negatywnie wpływa na objętość ejakulatu (>40. r.ż.), liczbę plemników (>50. r.ż.), ich morfologię (>40. r.ż.), ruchliwość (>35. r.ż. lub 43. r.ż.) i żywotność (>35. r.ż.) (*Jaleel i Khan*, 2013; *Molina i wsp.*, 2010; *Piasecka i Gill*, 2021; *Stone i wsp.*, 2013).

Proces starzenia powoduje również zmianę stężenia pierwiastków śladowych (wapń, cynk, siarka, miedź), fruktozy i aktywności α -glukozydazy obojętnej w płazmie nasienia (>45. r.ż.), co sugeruje dysfunkcję pęcherzyków nasiennych, prostaty i jądra (*Henkel i wsp.*, 2005; *Molina i wsp.*, 2010; *Nybo Andersen i Urhoj*, 2017). Nie ulega wątpliwości, że wymienione zaburzenia mogą obniżać zdolność plemników do zapłodnienia w warunkach naturalnej koncepcji. Większość doniesień wskazuje, że ryzyko niepłodności, a w następstwie konieczność zastosowania metod wspomaganego rozrodu wzrasta znacznie >40. r.ż. mężczyzny (*Agarwal i wsp.*, 2016; *du Fossé i wsp.*, 2020; *Mukhopadhyay i wsp.*, 2010; *Ramasamy i wsp.*, 2015a). Warto zwrócić uwagę, że w przypadku mężczyzny już >35. r.ż. szansa na uzyskanie naturalnej koncepcji u ich partnerek w ciągu 12 miesięcy była 2-krotnie niższa (vs. mężczyźni <25. r.ż.) (*Ramasamy i wsp.*, 2015a). Klinicznie wiąże się to m.in. z zaburzeniami zapłodnienia, rozwoju zarodka i dłuższym czasem oczekiwania na ciążę oraz ze zwiększonym ryzykiem poronienia (*du Fossé i wsp.*, 2020; *Eisenberg i Meldrum*, 2017; *Harris i wsp.*, 2017; *Jaleel i Khan*, 2013; *Johnson i wsp.*, 2015; *Nybo Andersen i Urhoj*, 2017; *Nybo Andersen i wsp.*, 2004; *Puscheck i Jeyendran*, 2007; *Ramasamy i wsp.*, 2015a; *Sharma i wsp.*, 2015; *Yatsenko i Turek*, 2018).

Du Fossé i wsp. (2020), którzy dokonali przeglądu piśmiennictwa i przeprowadzili metaanalizę danych, wykazali, iż ryzyko poronień spontanicznych rośnie ponad 1,2-krotnie, gdy mężczyzna w momencie poczęcia dziecka miał >40. r.ż., prawie 1,5-krotnie, gdy miał >45. r.ż. w porównaniu z mężczyznami w wieku 25–29 lat. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy (*De La Rochebrochard i Thonneau*, 2002; *De La Rochebrochard i wsp.*, 2003), którzy stwierdzili prawie 2-krotnie wyższe ryzyko poronień, gdy mężczyzna był >40. r.ż. (vs. mężczyźni w wieku 20–29 lat), w szczególności gdy kobieta była ≥ 35 . r.ż. Z kolei *Slama i wsp.* (2005) ujawnili, że ryzyko poronień spontanicznych, niezależnie od wieku kobiety w I trymestrze ciąży, wzrastało 1,27-krotnie, gdy mężczyźni byli ≥ 35 . r.ż. w porównaniu z mężczyznami <35. r.ż. Jednak w grupie kobiet <30. r.ż. ryzyko to było ok. 1,6-krotnie wyższe. Według tych samych autorów ryzyko poronień u kobiet, których partnerzy w chwili poczęcia potomstwa mieli 40, 45, i 50 lat, zdecydowanie wzrastało i wynosiło odpowiednio 1,58, 1,74, 1,90.

Uważa się, że patomechanizm poronień związanych z wiekiem mężczyzny może być spowodowany zmniejszeniem integralności jądrowego DNA plemników, ponieważ wiek partnera może być czynnikiem ryzyka zaburzeń reorganizacji materiału genetycznego komórek germinalnych (*Rosiak i wsp.*, 2017a, 2019; *Zhu i wsp.*, 2020). Potwierdzają to wyniki badań, w których wykazano korelację między wiekiem mężczyzny a fragmentacją DNA plemników i w efekcie wzrost częstości RPL (*Carlini i wsp.*, 2017; *Zhu i wsp.*, 2020). Jednak wpływ wieku mężczyzny na ryzyko poronień jest niejednoznaczny, nie zawsze bowiem obserwuje się związek między wiekiem partnera

a poronieniami (*Dain i wsp., 2011; Ferreira i wsp., 2010*), co więcej może być on zależny od standardowych parametrów seminologicznych (*Ferreira i wsp., 2010*). *Ferreira i wsp. (2010)* donoszą, że w przypadku mężczyzn z oligozoospermia wiek badanych miał wpływ na odsetek implantacji i uzyskanych ciąży; u par z oligozoospermia szansa na uzyskanie ciąży zmniejszała się o 5% na każdy rok życia partnera. Zależności tych autorzy nie obserwowali w grupie mężczyzn z normozoospermia.

Nie można pominąć faktu, że wiek ojca może mieć wpływ również na organogenezę i w następstwie powodować wady wrodzone u potomstwa (*Janeczko i wsp., 2020; Nybo Andersen i Olsen, 2011; Rosiak i wsp., 2017b; Sharma i wsp., 2015; Taylor i wsp., 2019; Yatsenko i Turek, 2018*). Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że częstość przetok tchawiczo-przetykowych oraz achondroplazji u urodzonych dzieci była odpowiednio 2,55-krotnie i 3,48-krotnie wyższa, gdy mężczyzna w chwili poczęcia miał >30. r.ż. w porównaniu z mężczyznami <30. r.ż. Z kolei częstość występowania ubytków przegrody międzykomorowej i przedsionkowej wzrastała odpowiednio 3,63-krotnie oraz 1,95-krotnie, gdy mężczyzna w chwili poczęcia miał >35. r.ż. (*Piasecka i Gill, 2021; Sharma i wsp., 2015*).

■ Podsumowanie

Wiele opublikowanych danych dowodzi, że rola czynnika męskiego w poronieniach nawracających, przede wszystkim w przypadkach poronień idiopatycznych powinna być szczególnie brana pod uwagę i niebagatelizowana, zwłaszcza gdy niepłodne pary kwalifikowane są do zapłodnienia pozaustrojowego. Do najczęstszych i najlepiej poznanych czynników ryzyka poronień należy czynnik genetyczny, który związany jest nie tylko z klasycznymi aberracjami liczbowymi chromosomów autosomalnych lub płciowych i aberracjami strukturalnymi (np. translokacje wzajemne lub Robertsonowskie) uniemożliwiającymi prawidłowy rozwój zarodka/płodu i utrzymanie ciąży, ale także z polimorfizmami genów uczestniczących we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej (antygen HLA-G, HLA-C, receptory KIR), która w warunkach prawidłowych od momentu dostania się plemników do dróg rodnych kobiety jest modulowana i w konsekwencji ma miejsce tolerancja układu odpornościowego kobiety wobec semiallogenicznego zarodka. Inne czynniki genetyczne to mutacje i polimorfizmy genów odpowiedzialnych za trombofilie, mikrodelecie i polimorfizmy stwierdzane w długim ramieniu chromosomu Y, a także zaburzenia epigenetyczne związane z nieprawidłowym poziomem metylacji piętnowanych genów plemnika (zaburzenia imprintingu genomowego). Jeszcze inne dyskutowane i sugerowane czynniki ryzyka poronień to obniżona jakość nasienia, często powiązana z aberracjami chromosomów i ze stresem oksydacyjnym przyczyniającym się m.in. do nieprawidłowego statusu chromatyny męskich komórek rozrodczych. Ponadto, zaawansowany

wiek mężczyzny (>35 r.ż. lub >40 r.ż.), który często jest niedoceniany, szczególnie wraz z zaawansowanym wiekiem kobiety (>35 r.ż.) może powodować utratę ciąży.

Mając na uwadze wymienione powyżej czynniki ryzyka poronień należy szczególną uwagę zwrócić na weryfikację nosicielstwa zaburzeń genetycznych i istotnych biomarkerów jakości nasienia (np. status chromatyny, markery stanu zapalnego). Ponadto, nie można bagatelizować oceny strukturalno-funkcjonalnej męskich komórek rozrodczych, bowiem w przypadkach drastycznych ich nieprawidłowości można spodziewać się podłoża genetycznego, które może być przyczyną braku koncepcji bądź nawracających poronień. Uwaga również powinna być zwrócona na styl życia partnerów, gdyż czynniki środowiskowe mają swój istotny wpływ na jakość gamet.

Należy jednak podkreślić, że wyniki wielu autorów dotyczące etiologii poronień często są niezgodne i niejednoznaczne, co może być związane z zastosowaniem różnych, nie zawsze dostępnych metod badawczych, trudnościami w interpretacji uzyskanych danych i z ich potencjalnym znaczeniem klinicznym. Ponadto, ujawnienie jednoznacznej przyczyny poronień nie zawsze jest możliwe ze względu na różnorodność przypadków klinicznych uwarunkowanych zarówno czynnikiem żeńskim jak i męskim. Stąd też istnieje ciągła potrzeba prowadzenia dalszych badań, szczególnie randomizowanych na dużej liczbie par, również w celu opracowania nowych, opartych na dowodach medycznych algorytmów diagnostyczno-terapeutycznych uwzględniających udział czynnika męskiego w poronieniach.

■ Piśmiennictwo

- Absalan F., Ghannadi A., Kazerooni M., Parifar R., Jamalzadeh F., Amir S.: Value of sperm chromatin dispersion atest in couples with unexplained recurrent abortion. *J Assist Reprod Genet.* 2012, 29(1), 11–14. doi: 10.1007/s10815-011-9647-0. PMID: 22009642.
- Abur U., Gunes S., Asci R., Altundag E., Akar O.S., Ayas B. i wsp.: Chromosomal and Y-chromosome microdeletion analysis in 1,300 infertile males and the fertility outcome of patients with AZFc microdeletions. *Andrologia.* 2019, 51(11), 1–8. doi: 10.1111/and.13402. PMID: 31650616.
- Agarwal A., Barbároşie C., Ambar R., Finelli R.: The Impact of Single- and Double-Strand DNA Breaks in Human Spermatozoa on Assisted Reproduction. *Int J Mol Sci.* 2020, 21(11), 3882. doi: 10.3390/ijms21113882. PMID: 32485940.
- Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Cho C.L., Henkel R., Vij S. i wsp.: Male infertility. *Lancet.* 2021, 397(10271), 319–333. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32667-2. PMID: 33308486.
- Agarwal A., Majzoub A.: Role of Antioxidants in Assisted Reproductive Techniques. *World J Mens Health.* 2017, 35(2), 77–93. doi: 10.5534/wjmh.2017.35.2.77. PMID: 28497913.
- 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., Parekh N., Selvam M.K.P., 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.

- Ahangari N., Doosti M., Mousavifar N., Attaran M., Shahrokhzadeh S., Memarpour S. *i wsp.*: Hereditary thrombophilia genetic variants in recurrent pregnancy loss. *Arch Gynecol Obstet.* 2019, 300(3), 777–782. doi: 10.1007/s00404-019-05224-7. PMID: 31317253.
- Ahmadi H., Mirfakhraie R., Irani S.: The relation between Y chromosome microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Tehran Univ Med J.* 2018, 75(10), 730–737.
- Ahmadi S., Bashiri R., Ghadiri-Anari A., Nadjarzadeh A.: Antioxidant supplements and semen parameters: An evidence based review. *Int J Reprod Biomed.* 2016, 14(12), 729–736. PMID: 28066832.
- Aitken R.J., Baker M.A., Sawyer D.: Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male infertility and genetic disease. *Reprod Biomed Online.* 2003, 7(1), 65–70. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61730-0. PMID: 12930576.
- Aitken R.J.: Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Mol Reprod Dev.* 2017, 84(10), 1039–1052. doi: 10.1002/mrd.22871. PMID: 28749007.
- Aitken R.J., Drevet J.R.: The importance of oxidative stress in determining the functionality of mammalian spermatozoa: A two-edged sword. *Antioxidants.* 2020, 9(2). doi: 10.3390/antiox9020111. PMID: 32012712.
- Andreotti J.P., Paiva A.E., Prazeres P.H.D.M., Guerra D.A.P., Silva W.N., Vaz R.S. *i wsp.*: The role of natural killer cells in the uterine microenvironment during pregnancy. *Cell Mol Immunol.* 2018, 15(11), 941–943. doi: 10.1038/s41423-018-0023-1. PMID: 29572543.
- Aldrich C.L., Stephenson M.D., Karrison T., Odem R.R., Branch D.W., Scott J.R. *i wsp.*: HLA-G genotypes and pregnancy outcome in couples with unexplained recurrent miscarriage. *Mol Hum Reprod.* 2001, 7(12), 1167–1172. doi: 10.1093/molehr/7.12.1167. PMID: 11719594.
- Alecsandru D., Klimczak A.M., Garcia Velasco J.A., Pirtea P., Franasiek J.M.: Immunologic causes and thrombophilia in recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2021, 115(3), 561–566. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.01.017.
- Alibakhshi R., Nejati P., Hamani S., Mir-Ahadi N., Jalilian N.: Cytogenetic analysis of 570 couples with recurrent pregnancy loss: Reporting 11 years of experience. *J Hum Reprod Sci.* 2020, 13(3), 216–220. doi: 10.4103/jhrs.JHRS_138_19. PMID: 33311908.
- Almesned R.K., Alsuhailani S.S., Alali H.J., Qubbaj W.A., Al Hathal N.K.: Male Infertility in Robertsonian Translocation: A Case Report. *Am J Case Rep.* 2020, 21, e921616. doi: 10.12659/AJCR.921616. PMID: 32413022.
- Alshahrani S., Agarwal A., Assidi M., Abuzenadah A.M., Durairajanayagam D., Ayaz A. *i wsp.*: Infertile men older than 40 years are at higher risk of sperm DNA damage. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014, 12(1), 1–9. doi: 10.1186/1477-7827-12-103. PMID: 25410314.
- Amodio G., Canti V., Maggio L., Rosa S., Castiglioni M.T., Rovere-Querini P. *i wsp.*: Association of genetic variants in the 3'UTR of HLA-G and the Interaction with Its Receptors: Where to Intervene for Cancer Immunotherapy? *Int J Mol Sci.* 2020, 21(22), 8678. doi: 10.3390/ijms21228678. PMID: 33213057.
- Barati E., Nikzad H., Karimian M.: Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. *Cell Mole Life Sci.* 2020, 77(1), 93–113. doi: 10.1007/s00018-019-03253-8. PMID: 31377843.
- Barut M.U., Bozkurt M., Kahraman M., Yıldırım E., İmirzalioglu N., Kubar A. *i wsp.*: Thrombophilia and recurrent pregnancy loss: The enigma continues. *Med Sci Monit.* 2018, 24, 4288–4294. doi: 10.12659/MSM.908832. PMID: 29932168.
- Baskaran S., Finelli R., Agarwal A., Henkel R.: Reactive oxygen species in male reproduction: A boon or a bane? *Andrologia.* 2021, 53(1). doi: 10.1111/and.13577. PMID: 32271474.
- Bellver J., Meseguer M., Muriel L., García-Herrero S., Barreto M.A., Garda A.L. *i wsp.*: Y chromosome microdeletions, sperm DNA fragmentation and sperm oxidative stress as causes of recurrent spontaneous abortion of unknown etiology. *Hum Reprod.* 2010, 25(7), 1713–1721. doi: 10.1093/humrep/deq098. PMID: 20501469.
- Bender Atik R., Christiansen O.B., Elson J., Kolte A.M., Lewis S., Middeldorp S. *i wsp.*: ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod Open.* 2018, 2018(2), hoy004. doi: 10.1093/hropen/hoy004. PMID: 31486805.
- Bhattacharya S.M.: Association of various sperm parameters with unexplained repeated early pregnancy loss-which is most important? *Int Urol Nephrol.* 2008, 40(2), 391–395. doi: 10.1007/s11255-007-9282-y. PMID: 17899427.
- Boogaard E. van den, Cohn D.M., Korevaar J.C., Dawood F., Vissenberg R., Middeldorp S. *i wsp.*: Number and sequence of preceding miscarriages and maternal age for the prediction of antiphospholipid syndrome in women with recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 2013, 99(1), 188–192. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.002. PMID: 23043688.
- Brahem S., Mehdi M., Landolsi H., Mougou S., Elghezal H., Saad A.: Semen parameters and sperm DNA fragmentation as causes of recurrent pregnancy loss. *Urology.* 2011, 78(4), 792–796. https://doi.org/10.1016/j.urol.2011.05.049. PMID: 21813165.
- Cardoso J.P., Cocuzza M., Elterman D.: Optimizing male fertility: oxidative stress and the use of antioxidants. *World J Urol.* 2019, 37, 1029–1034. doi: 10.1007/s00345-019-02656-3. PMID: 30719570.
- Carlini T., Paoli D., Pelloni M., Faja F., Dal Lago A., Lombardo F. *i wsp.*: Sperm DNA fragmentation in Italian couples with recurrent pregnancy loss. *Reprod Biomed Online.* 2017, 34(1), 58–65. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.09.014. PMID: 27838218.
- Carosella E.D., Favier B., Rouas-Freiss N., Moreau P., Lemaoult J.: Beyond the increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule. *Blood.* 2008, 111(10), 4862–4870. doi: 10.1182/blood-2007-12-127662. PMID: 18334671.
- Carrell D.T., Liu L.: Altered protamine 2 expression is uncommon in donors of known fertility, but common among men with poor fertilizing capacity, and may reflect other abnormalities, of spermiogenesis. *J Androl.* 2001, 22(4), 604–610. doi: 10.1002/j.1939-4640.2001.tb02220.x. PMID: 11451357.
- Carrell D.T., Liu L., Peterson C.M., Jones K.P., Hatasaka H.H., Erickson L. *i wsp.*: Sperm DNA fragmentation is increased in couples with unexplained recurrent pregnancy loss. *Arch Androl.* 2003, 49(1), 49–55. doi: 10.1080/01485010290099390. PMID: 12647778.
- Carrell D.T., Nyboe Andersen A., Lamb D.J.: The need to improve patient care through discriminate use of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and improved understanding of spermatozoa, oocyte and embryo biology. *Andrology.* 2015, 3(2), 143–146. doi: 10.1111/andr.12034.
- Chen L., Fang J., Jiang W., Wang J., Li D.: Effects of the sperm DNA fragmentation index on the clinical and neonatal outcomes of intracytoplasmic sperm injection cycles. *J Ovarian Res.* 2020, 13, 52. doi.org/10.1186/s13048-020-00658-z. PMID: 32359369.
- Cheng H., Han M., Ding J., Wang F., Wang G., Shen L. *i wsp.*: Importance of a semen analysis report for determining the relationship between SCSA sperm DNA fragmentation index and assisted re-productive technology pregnancy rate. *Reprod. Biol.* 2020, 20, 460–464. doi: 10.1016/j.repbio.2019.09.002. PMID: 32798137.
- Cheung S., Parrella A., Rosenwaks Z., Palermo G.D.: Genetic and epigenetic profiling of the infertile male. *PLoS One.* 2019, 14(3), e0214275. doi: 10.1371/journal.pone.0214275. PMID: 30897172.
- 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: 10.1016/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, 6(Suppl 4), S501–S503. doi: 10.21037/tau.2017.08.12. PMID: 29082949.
- Cissen M., Van Wely M., Scholten I., Mansell S., De Bruin J.P., Mol B.W. *i wsp.*: Measuring sperm DNA fragmentation and clinical outcomes of medically

- assisted reproduction: A systematic review and meta analysis. PLoS ONE. 2016, 11(11). doi: 10.1371/journal.pone.0165125. PMID: 27832085.
- Craenmehr M.H., Haasnoot G.W., Drabbels J.J., Spruyt-Gerritse M.J., Cao M., van der Keur C. *i wsp.*: Soluble HLA-G levels in seminal plasma are associated with HLA-G 3'UTR genotypes and haplotypes. HLA. 2019a, 94(4), 339–346. doi: 10.1111/tan.13628. PMID: 31321883.
- Craenmehr M.H., Nederlof I., Cao M., Drabbels J.J., Spruyt-Gerritse M.J., Anholts J.D. *i wsp.*: Increased HLA-G expression in term placenta of women with a history of recurrent miscarriage despite their genetic predisposition to decreased HLA-G levels. Int J Mol Sci. 2019b, 20(3). doi: 10.3390/ijms20030625. PMID: 30717132.
- Dahl M., Djurisic S., Hviid T.V.: The many faces of human leukocyte antigen-G: relevance to the fate of pregnancy. J Immunol Res. 2014a, 591489. doi: 10.1155/2014/591489. PMID: 24741608.
- Dahl M., Hviid T.V.: Human leukocyte antigen class Ib molecules in pregnancy success and early pregnancy loss. Hum Reprod Update. 2012, 18(1):92–109. doi: 10.1093/humupd/dmr043. PMID: 22114131.
- Dahl M., Perin T.L., Djurisic S., Rasmussen M., Ohlsson J., Buus S., Lindhard A., Hviid T.V.: Soluble human leukocyte antigen-G in seminal plasma is associated with HLA-G genotype: possible implications for fertility success. Am J Reprod Immunol. 2014b, 72(1), 89–105. doi: 10.1111/aji.12251. PMID: 24735563.
- Dain L., Auslander R., Dirnfeld M.: The effect of paternal age on assisted reproduction outcome. Fertil Steril. 2011, 95(1), 1–8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.08.029. PMID: 20932518.
- De Galan-Roosen A.E.M., Kuijpers J.C., Rosendaal F.R., Steegers E.A., Van Beers W.A., Ponjee G.A. *i wsp.*: Maternal and paternal thrombophilia: Risk factors for perinatal mortality. BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2005, 112(3), 306–311. doi: 10.1111/j.1471-0528.2004.00435.x.
- De La Rochebrochard E., McElreavey K., Thonneau P.: Paternal Age over 40 Years: The "Amber Light" in the Reproductive Life of Men? J Androl. 2003, 24(4), 459–465. doi: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02694.x. PMID: 12826682.
- De La Rochebrochard E., Thonneau P.: Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage: Results of a multicentre European study. Hum Reprod. 2002, 17(6), 1649–1656. doi: 10.1093/humrep/17.6.1649. PMID: 12042293.
- Deshmukh H., Way S.S.: Immunological Basis for Recurrent Fetal Loss and Pregnancy Complications. Annu Rev Pathol. 2019, 14, 185–210. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012743. PMID: 30183507.
- Dewan S., Puscheck E.E., Coulam C.B., Wilcox A.J., Jeyendran R.S.: Y-chromosome microdeletions and recurrent pregnancy loss. Fertil Steril. 2006, 85(2), 441–445. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.08.035. PMID: 16595224.
- Dhanoo J.K., Mukhopadhyay C.S., Arora J.S.: Y-chromosomal genes affecting male fertility: A review. Vet World. 2016, 9(7), 783–791. doi: 10.14202/vetworld.2016.783-791. PMID: 27536043.
- Dhawan V., Kumar M., Dada R.: Effect of Sperm Molecular Factors, Oxidative Damage and Transcripts in Childhood Disorders. J Child Dev Disord. 2017, 3(01), 2–4. doi: 10.4172/2472-1786.100044.
- Dhawan V., Kumar M., Deka D., Malhotra N., Singh N., Dadhwal V. *i wsp.*: Paternal factors and embryonic development: Role in recurrent pregnancy loss. Andrologia. 2019, 51(1), 1–8. doi: 10.1111/and.13171. PMID: 30324700.
- du Fossé N.A., van der Hoorn M.L., van Lith J.M., le Cessie S., Lashley E.E.: Advanced paternal age is associated with an increased risk of spontaneous miscarriage: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2020, 26(5), 650–669. doi: 10.1093/humupd/dmaa010. PMID: 32358607.
- Dutta S., Majzoub A., Agarwal A.: Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. Arab J Urol. 2019, 17(2), 87–97. doi: 10.1080/2090598X.2019.1599624. PMID: 31285919.
- Dziuba U.: Genetyczne przyczyny niepłodności. Med Rodz. 2017, 20(3). doi: 10.25121/mr.2017.20.3.198.
- Eisenberg M.L., Meldrum D.: Effects of age on fertility and sexual function. Fertil Steril. 2017, 107(2), 301–304. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.12.018. PMID: 28160919.
- Eisenberg M.L., Sapra K.J., Kim S.D., Chen Z., Buck Louis G.M.: Semen quality and pregnancy loss in a contemporary cohort of couples recruited before conception: Data from the LIFE Study. Fertil Steril. 2017, 108(4), 613–619. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.008. PMID: 28863939.
- Elbaşı M.O., Tulunay A., Karagözoğlu H., Kahraman S., Ekşioğlu-Demiralp E.: Maternal killer-cell immunoglobulin-like receptors and paternal human leukocyte antigen ligands in recurrent pregnancy loss cases in Turkey. Clin Exp Reprod Med. 2020, 7(2), 122–129. doi: 10.5653/cerm.2019.03223. PMID: 32450627.
- Elbracht M., Mackay D., Begemann M., Kagan K.O., Eggermann T.: Disturbed genomic imprinting and its relevance for human reproduction: causes and clinical consequences. Hum Reprod Update. 2020, 26(2), 197–213. doi: 10.1093/humupd/dmz045. PMID: 32068234.
- El Hachem H., Crepau V., May-Panloup P., Descamps P., Legendre G., Bouet P.E.: Recurrent pregnancy loss: Current perspectives. Int J Womens Health. 2017, 9, 331–345. doi: 10.2147/IJWH.S100817. PMID: 28553146.
- El Hajj N., Zechner U., Schneider E., Tresch A., Gromoll J., Hahn T. *i wsp.*: Methylation status of imprinted genes and repetitive elements in sperm DNA from infertile males. Sex Dev. 2011, 5(2), 60–69. doi: 10.1159/000323806. PMID: 21293114.
- ESHRE. Recurrent pregnancy loss. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. European Society of Human Reproduction and Embryology. 2017. <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Recurrent-pregnancy-loss>. data wejścia 12.12.2020 r.
- Eskicioğlu F., Özdemir A.T., Özdemir R.B., Turan G.A., Akan Z., Hasdemir S.P.: The association of HLA-G and immune markers in recurrent miscarriages. J Matern Fetal Neonatal Med. 2016, 29(18), 3056–3060. doi: 10.3109/14767058.2015.1114085. PMID: 26513380.
- Eslami M.M., Khalili M., Soufizomorrod M., Abroun S., Razi B.: Factor V Leiden 1691G > A mutation and the risk of recurrent pregnancy loss (RPL): systematic review and meta-analysis. Thromb J. 2020, 18, 11. doi: 10.1186/s12959-020-00224-z. PMID: 32595420.
- Esquerré-Lamare C., Walschaerts M., Chansel Debordeaux L., Moreau J., Bretelle F., Isus Francois *i wsp.*: Sperm aneuploidy and DNA fragmentation in unexplained recurrent pregnancy loss: a multicenter case-control study. Basic Clin Androl. 2018, 28:4. doi: 10.1186/s12610-018-0070-6. PMID: 29619224.
- Esteves S.C., Zini A., Coward R.M., Evenson D.P., Gosálvez J., Lewis S.E. *i wsp.*: Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations. Andrologia. 2021, 53(2). doi: 10.1111/and.13874.
- 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, 6, S495–S500. doi: 10.21037/tau.2017.07.20. PMID: 32798137.
- Fan H.T., Zhang M., Zhan P., Yang X., Tian W.J., Li R.W.: Structural chromosomal abnormalities in couples in cases of recurrent spontaneous abortions in Jilin Province, China. Gen Mol Res. 2016, 15(1). doi: 10.4238/gmr.15017443. PMID: 26909916.
- Fan W., Huang Z., Li S., Xiao Z.: The HLA-G 14-bp polymorphism and recurrent implantation failure: a meta-analysis. J Assist Reprod Genet. 2017, 34(11), 1559–1565. doi: 10.1007/s10815-017-0994-3. PMID: 28707147.
- Fan W., Li S., Huang Z., Chen Q.: Relationship between HLA-G polymorphism and susceptibility to recurrent miscarriage: a meta-analysis of non-family-based studies. J Assist Reprod Genet. 2014, 31(2), 173–184. doi: 10.1007/s10815-013-0155-2. PMID: 24346507.
- Ferreira R.C., de Almeida Ferreira Braga D.P., de Souza Bonetti T.C., Pasqualotto F.F., Iaconelli A., Borges E.: Negative influence of paternal age on clinical intracytoplasmic sperm injection cycle outcomes in oligozoospermic patients. Fertil Steril. 2010, 93(6), 1870–1874. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.043. PMID: 19409557.
- Ford H.B., Schust D.J.: Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. Rev Obstet Gynecol. 2009, 2(2), 76–83. PMID: 19609401.
- Fraczek M., Kurpisz M.: Mechanisms of the harmful effects of bacterial semen infection on ejaculated human spermatozoa: Potential inflammatory markers in semen. Folia Histochem Cytobiol. 2015, 53(3), 201–217. doi: 10.5603/FHC.a2015.0019. PMID: 26306512.
- Fu B., Zhou Y., Ni X., Tong X., Xu X., Dong Z., *i wsp.*: Natural Killer Cells Promote Fetal Development through the Secretion of Growth-Promoting Factors. Immunity. 2017, 47(6), 1100–1113.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2017.11.018. PMID: 29262349.

- Ghazaey S., Keify F., Mirzaei F., Maleki M., Tootian S., Ahadian M. i wsp.: Chromosomal analysis of couples with repeated spontaneous abortions in Northeastern Iran. *Int J Fertil Steril*. 2015, 9(1), 47–54. doi: 10.22074/ijfs.2015.4208. PMID: 25918592.
- Ghorbian S., Saliminejad K., Sadeghi M.R., Javadi G.H., Kamali K., Amirjannati N.: The association between Y Chromosome microdeletion and recurrent pregnancy loss. *Iran Red Crescent Med J*. 2012, 14(6):358–362 PMID: 22924114.
- Gil-Villa A.M., Cardona-Maya W., Agarwal A., Sharma R., Cadavid Á.: Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect? *Fertil Steril*. 2009, 92(2), 565–571. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.1715. PMID: 18829003.
- Gil-Villa A.M., Cardona-Maya W., Agarwal A., Sharma R., Cadavid Á.: Assessment of sperm factors possibly involved in early recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2010, 94(4), 1465–1472. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.05.042. PMID: 19540481.
- Gill K., Jakubik-Uljasz J., Rosiak-Gill A., Grabowska M., Matuszewski M., Piasecka M.: Male aging as a causative factor of detrimental changes in human conventional semen parameters and sperm DNA integrity. *Aging Male*. 2020, 23(5), 1321–1332. doi: 10.1080/13685538.2020.1765330. PMID: 32425138.
- Gill K., Jakubik J., Rosiak-Gill A., Kups M., Lukaszuk M., Piasecka 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*. 2019, 16(11). doi: 10.3390/ijerph16112004. PMID: 31195656.
- Green K.A., Patounakis G., Dougherty M.P., Werner M.D., Scott R.T. Jr, Franasiak J.M.: Sperm DNA fragmentation on the day of fertilization is not associated with embryologic or clinical outcomes after IVF/ICSI. *J Assist Reprod Genet*. 2020, 37(1), 71–76. doi: 10.1007/s10815-019-01632-5. PMID: 31755002.
- Gunes S., Esteves S.C.: Role of genetics and epigenetics in male infertility. *Andrologia*. 2021 53(1), e13586. doi: 10.1111/and.13586. PMID: 32314821.
- Haddock L., Gordon S., Lewis S.E., Larsen P., Shehata A., Shehata H.: Sperm DNA fragmentation is a novel biomarker for early pregnancy loss. *Reprod Biomed Online*. 2021, 42(1), 175–184. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.09.016. PMID: 33082108.
- Halvaei I., Litzky J., Esfandiari N.: Advanced paternal age: effects on sperm parameters, assisted reproduction outcomes and offspring health. *Reprod Biol Endocrinol*. 2020, 18(1), 110. doi: 10.1186/s12958-020-00668-y. PMID: 33183337.
- Harris B.S., Bishop K.C., Kemeny H.R., Walker J.S., Rhee E., Kuller J.A.: Risk factors for birth defects. *Obstet Gynecol Surv*. 2017, 72(2), 123–135. doi: 10.1097/OGX.0000000000000405. PMID: 28218773.
- Havrylyuk A., Chopyak V., Nakonechnyyi A., Kurpisz M.: Nowe aspekty niepłodności partnerskiej:czynnik męski. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015, 12, 69, 1228–1238. doi: 10.5604/17322693.1179651. PMID: 26561850.
- Henkel R., Maass G., Schuppe H.C., Jung A., Schubert J., Schill W.B.: Molecular aspects of declining sperm motility in older men. *Fertil Steril*. 2005, 84(5), 1430–1437. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.05.020.
- Hiby S.E., Apps R., Sharkey A.M., Farrell L.E., Gardner L., Mulder A. i wsp.: Maternal activating KIRs protect against human reproductive failure mediated by fetal HLA-C2. *J Clin Invest*. 2010, 120(11), 4102–2110. doi: 10.1172/JCI43998. PMID: 20972337.
- Hiby S.E., Regan L., Lo W., Farrell L., Carrington M., i wsp.: Association of maternal killer-cell immunoglobulin-like receptors and parental HLA-C genotypes with recurrent miscarriage. *Hum Reprod*. 2008, 23(4), 972–976. doi: 10.1093/humrep/den011. PMID: 18263639.
- Hodes-Wertz B., Grifo J., Ghadir S., Kaplan B., Laskin C.A., Glassner M., Munné S.: Idiopathic recurrent miscarriage is caused mostly by aneuploid embryos. *Fertil Steril*. 2012, 98(3), 675–680. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.05.025. PMID: 22683012.
- Homa S.T., Vassiliou A.M., Stone J., Killeen A.P., Dawkins A., Xie J. i wsp.: A comparison between two assays for measuring seminal oxidative stress and their relationship with sperm DNA fragmentation and semen parameters. *Genes*. 2019, 10(3), 2019; 6–9. doi: 10.3390/genes10030236. PMID: 30893955.
- Horta F., Catt S., Ramachandran P., Vollenhoven B., Temple-Smith P.: Female ageing affects the DNA repair capacity of oocytes in IVF using a controlled model of sperm DNA damage in mice. *Hum Reprod*. 2020, 35(3), 529–544. doi: 10.1093/humrep/dez308. PMID: 32108237.
- Hwang K., Weedin J.W., Lamb D.J.: The use of fluorescent in situ hybridization in male infertility. *Ther Adv Urol*. 2010, 2(4), 157–169. doi: 10.1177/1756287210373758. PMID: 21789092.
- Hviid T.V.: Human Leukocyte Antigen-G Within the Male Reproductive System: Implications for Reproduction. W: *The Male Role in Pregnancy Loss and Embryo Implantation Failure*. Red. Richard Bronson. Springer International Publishing AG, Cham Switzerland 2015, 171–190.
- Ibrahim Y., Hotaling J.: Sperm Epigenetics and Its Impact on Male Fertility, Pregnancy Loss, and Somatic Health of Future Offsprings. *Semin Reprod Med*. 2018, 36(3–04), 233–239. doi: 10.1055/s-0038-1677047. PMID: 30866010.
- Ishida M., Moore G.E.: The role of imprinted genes in humans. *Mol Aspects Med*. 2013 34(4), 826–840. doi: 10.1016/j.mam.2012.06.009. PMID: 22771538.
- Ibrahim Y., Johnstone E.: The male contribution to recurrent pregnancy loss. *Trans Androl Urol*. 2018, 7(3), S317–S327. doi: 10.21037/tau.2018.05.14. PMID: 30159238.
- Imam S.N., Shamsi M.B., Kumar K., Deka D., Dada R.: Idiopathic recurrent pregnancy loss: Role of paternal factors; a pilot study. *J Reprod Infertil*. 2011, 12(4), 267–276. PMID: 23926513.
- Jaleel R., Khan A.: Paternal factors in spontaneous first trimester miscarriage. *Pak J Med Sci*. 2013, 29(3), 748–752. doi: 10.12669/pjms.293.3388. PMID: 24353621.
- Janeczko D., Hołowczuk M., Orzeł A., Klatka B., Semczuk A.: Paternal age is affected by genetic abnormalities, perinatal complications and mental health of the offspring. *Biomed Rep*. 2020, 12(3), 83–88. doi: 10.3892/br.2019.1266. PMID: 32042416.
- Jayasena C.N., Radia U.K., Figueiredo M., Revill L.F., Dimakopoulou A., Osagie M. i wsp.: Reduced testicular steroidogenesis and increased semen oxidative stress in Male partners as novel markers of recurrent miscarriage. *Clin Chem*. 2019, 65(1), 161–169. doi: 10.1373/clinchem.2018.289348. PMID: 30602480.
- Jeřeta M., Myšková M., Žáková J., Crha I., Crha K., Chmelikova E., Kistanova E., Ventruba P.: Can oocytes repair fragmented DNA of spermatozoa? *Med J Cell Biol*. 2020, 8(2), 73–77.
- Jenkins T.G., Aston K.I., Pflueger C., Cairns B.R., Carrell D.T.: Age-associated sperm DNA methylation alterations: possible implications in offspring disease susceptibility. *PLoS Genet*. 2014, 10(7), e1004458. doi: 10.1371/journal.pgen.1004458. PMID: 25010591.
- Jivraj S., Rai R., Underwood J., Regan L.: Genetic thrombophilic mutations among couples with recurrent miscarriage. *Hum Reprod*. 2006, 21(5), 1161–1165. doi: 10.1093/humrep/dei466. PMID: 16431900.
- Johnson S.L., Dunleavy J., Gemmell N.J., Nakagawa S.: Consistent age-dependent declines in human semen quality: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2015, 19, 22–33. doi: 10.1016/j.arr.2014.10.007. PMID: 25462195.
- Kalotra V., Lall M., Verma I.C., Kaur A., Kaur A.: The HLA-G 14 bp insertion/deletion polymorphism and its association with soluble HLA-G levels in women with recurrent miscarriages. *HLA*. 2018, 91(3), 167–174. doi: 10.1111/tan.13198. PMID: 29280596.
- Kamkar N., Ramezanali F., Sabbaghian M.: The relationship between sperm DNA fragmentation, free radicals and antioxidant capacity with idiopathic repeated pregnancy loss. *Reprod Biol*. 2018, 18(4), 330–335. doi: 10.1016/j.repbio.2018.11.002. PMID: 30448091.
- Kar B., Sivamani S., Kundavi S., Varma T.R.: The Importance of Cytogenetics and Associated Molecular Techniques in the Management of Patients Carrying Robertsonian Translocation and Their Pregnancy Outcome by Intracytoplasmic Sperm Injection. *J Obstet Gynaecol India*. 2018, 68(2), 93–97. doi: 10.1007/s13224-017-0999-y. PMID: 29662277.
- Karaer A., Karaer K., Ozaksit G., Ceylaner S., Percin E.F.: Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol*. 2008, 199(6), 662.e1–662.e5. doi: 10.1016/j.ajog.2008.06.013. PMID: 18822402.
- Kayser M.: Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. *Hum Genet*. 2017, 136(5), 621–635. doi: 10.1007/s00439-017-1776-9. PMID: 28315050.

- Kazerooni T., Asadi N., Jadid L., Kazerooni M., Ghanadi A., Ghaffarpasand 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.
- Khadem N., Poorhoseyni A., Jalali M., Akbary A., Heydari S.T.: Sperm DNA fragmentation in couples with unexplained recurrent spontaneous abortions. *Andrologia.* 2014, 46(2), 126–130. doi: 10.1111/and.12056. PMID: 23278374.
- Khambata K., Raut S., Deshpande S., Mohan S., Sonawane S., Gaonkar R. *i wsp.*: DNA methylation defects in spermatozoa of male partners from couples experiencing recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod.* 2021 Jan 1;36(1):48–60. doi: 10.1093/humrep/deaa278. PMID: 33319906.
- Khokhlova E.V., Fesenko Z.S., Sopova J.V., Leonova E.I.: Features of DNA Repair in the Early Stages of Mammalian Embryonic Development. *Genes (Basel).* 2020, 11(10), 1138. doi: 10.3390/genes11101138. PMID: 32992616.
- Kim J.W., Lee W.S., Yoon T.K., Seok H.H., Cho J.H., Kim Y.S. *i wsp.*: Chromosomal abnormalities in spontaneous abortion after assisted reproductive treatment. *BMC Med Genet.* 2010, 11(1), 153. doi: 10.1186/1471-2350-11-153. PMID: 21044350.
- Klimczak A.M., Patel D.P., Hotaling J.M., Scott R.T. Jr.: Role of the sperm, oocyte, and embryo in recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2021, 115(3), 533–537. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.12.005. PMID: 33712098.
- Klimkiewicz-Wojciechowska G., Lech-Marañda E.: Rola ludzkiego antygenu leukocytarnego G w procesach immunologicznych i jego znaczenie kliniczne. *Hematologia.* 2012, 3(4), 327–342.
- Koc A., Kirbiyik O., Kutbay Y.B., Ozyilmaz B., Ozdemir T.R., Kaya O.O. *i wsp.*: Fetal HLA-Galleles and their effect on miscarriage. *Adv Clin Exp Med.* 2018, 27(9), 1233–1237. doi: 10.17219/acem/69692. PMID: 29809322.
- Kohn T.P., Kohn J.R., Darilek S., Ramasamy R., Lipshultz L.: Genetic counseling for men with recurrent pregnancy loss or recurrent implantation failure due to abnormal sperm chromosomal aneuploidy. *J Assist Reprod Genet.* 2016, 3(5), 571–576. doi: 10.1007/s10815-016-0702-8. PMID: 27020275.
- Krausz C., Casamonti E.: Spermatogenic failure and the Y chromosome. *Hum Genet.* 2017, 136(5), 637–655. doi: 10.1007/s00439-017-1793-8. PMID: 28456834.
- Kurzawińska G., Seremak-Mrozikiewicz A., Drews K., Barlik M., Mrozikiewicz P.: Trombofilia wrodzona jako przyczyna poronień nawracających w I trymestrze ciąży. *Ginekolog Pol.* 2009, 80(9), 657–663.
- Kuchakulla M., Narasimman M., Khodamoradi K., Khosravizadeh Z., Ramasamy R.: How defective spermatogenesis affects sperm DNA integrity. *Andrologia.* 2021, 53(1), e13615. doi: 10.1111/and.13615. PMID: 32324913.
- Li J., Luo L., Diao J., Li Y., Zhang S., Chen L., Yang T., Qin J.: Male sperm quality and risk of recurrent spontaneous abortion in Chinese couples: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2021, 100(10), e24828. doi: 10.1097/MD.00000000000024828. PMID: 33725837.
- Lin A., Yan W.H.: Heterogeneity of HLA-G Expression in Cancers: Facing the Challenges. *Front Immunol.* 2018, 9, 2164. doi: 10.3389/fimmu.2018.02164. PMID: 30319626.
- Liu K.S., Mao X.D., Pan F., An R.F.: Effect and mechanisms of reproductive tract infection on oxidative stress parameters, sperm DNA fragmentation, and semen quality in infertile males. *Reprod Biol Endocrinol.* 2021, 28, 19(1), 97. doi: 10.1186/s12958-021-00781-6. PMID: 34183027.
- Moffett A., Hiby S.E.: How Does the maternal immune system contribute to the development of pre-eclampsia? *Placenta.* 2007, 28 (Suppl A), S51–S56. doi: 10.1016/j.placenta.2006.11.008. PMID: 17292469.
- Magli M.C., Crippa A., Benincasa M., Terzuoli G., Azzena S., Maresca L. *i wsp.*: Sperm chromosome abnormalities in patients with normal karyotype and in translocation carriers: clinical relevance for assisted reproductive technology. *Reprod Biomed Online.* 2020, 41(6), 1055–1069. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.08.005. PMID: 33032906.
- Marquard K., Westphal L.M., Milki A.A., Lathi R.B.: Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35 years. *Fertil Steril.* 2010, 94(4), 1473–1477. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.06.041.
- Marques P.I., Fernandes S., Carvalho F., Barros A., Sousa M., Marques C.J.: DNA methylation imprinting errors in spermatogenic cells from maturation arrest azoospermic patients. *Andrology.* 2017, 5(3), 451–459. doi: 10.1111/andr.12329. PMID: 28296202.
- McQueen D.B., Zhang J., Robins J.C.: Sperm DNA fragmentation and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2019, 112(1), 54. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.03.003. PMID: 31056315.
- Meuleman T., Haasnoot G.W., van Lith J.M.M., Verduijn W., Bloemenkamp K.W.M., Claas F.H.J.: Paternal HLA-C is a risk factor in unexplained recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2018, 79(2), e12797. doi: 10.1111/aji.12797. Epub 2017 Dec 4. PMID: 29205643.
- Mohanty G., Swain N., Goswami C., Kar S., Samanta L.: Histone retention, protein carbonylation, and lipid peroxidation in spermatozoa: Possible role in recurrent pregnancy loss. *Syst Biol Reprod Med.* 2016, 62(3), 201–212. doi: 10.3109/19396368.2016.1148798. PMID: 26980262.
- Molina R.I., Martini A.C., Tissera A., Olmedo J., Senestrari D., De Cuneo M.F. *i wsp.*: Semen quality and aging: Analysis of 9.168 samples in Cordoba, Argentina. *Archivos Espanoles de Urologia.* 2010, 63(3), 214–222.
- Monti M., Lupoli R., Sosa Fernandez L.M., Cirillo F., Di Minno M.: Association of human leukocyte antigen-G 14 bp polymorphism with recurrent pregnancy loss in European countries: a meta-analysis of literature studies. *Fertil Steril.* 2019, 112(3), 577–585.e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.05.003. PMID: 31280950.
- Mukhopadhyay D., Varghese A.C., Pal M., Banerjee S.K., Bhattacharyya A.K., Sharma R.K. *i wsp.*: Semen quality and age-specific changes: A study between two decades on 3,729 male partners of couples with normal sperm count and attending an andrology laboratory for infertility-related problems in an Indian city. *Fertil Steril.* 2010, 93(7), 2247–2254. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.01.135. PMID: 19328484.
- Nederlof I., Meuleman T., van der Hoorn M., Claas F., Eikmans M.: The seed to success: The role of seminal plasma in pregnancy. *J Reprod Immunol.* 2017, 123, 24–28. doi: 10.1016/j.jri.2017.08.008.
- Nilsson L.L., Funck T., Kjersgaard N.D., Hviid T.V.F.: Next-generation sequencing of HLA-G based on long-range polymerase chain reaction. *HLA.* 2018, 92(3), 144–153. doi: 10.1111/tan.13342. PMID: 30014615.
- Nilsson Lyngre L., Djuricic S., Hviid T.V.: Controlling the Immunological Crosstalk during Conception and Pregnancy: HLA-G in Reproduction. *Front Immunol.* 2014, 5, 198. doi: 10.3389/fimmu.2014.00198. PMID: 24860568.
- Nilsson Lyngre L., Hornstrup M.B., Perin T.L., Lindhard A., Funck T., Bjerrum P. *i wsp.*: Soluble HLA-G and TGF- β in couples attending assisted reproduction - A possible role of TGF- β isoforms in semen? *J Reprod Immunol.* 2020, 137, 102857. doi: 10.1016/j.jri.2019.102857.
- Nybo Andersen A.M., Olsen J.: The Danish National Birth Cohort: Selected scientific contributions within perinatal epidemiology and future perspectives. *Scand J Public Health.* 2011, 39(7), 115–120. doi: 10.1177/1403494811407674. PMID: 21775368.
- Nybo Andersen A.M., Hansen K.D., Andersen P.K., Davey Smith G.: Advanced paternal age and risk of fetal death: a cohort study. *Am J Epidemiol.* 2004, 160(12), 1214–1222. doi: 10.1093/aje/kwh332. PMID: 15583374.
- Nybo Andersen A.M., Urhøj S.K.: Is advanced paternal age a health risk for the offspring? *Fertil Steril.* 2017, 107(2), 312–318. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.12.019. PMID: 28088314.
- O'Flynn O'Brien K.L., Varghese A.C., Agarwal A.: The genetic causes of male factor infertility: a review. *Fertil Steril.* 2010, 93(1), 1–12. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.10.045. PMID: 20103481.
- Oleszczuk K., Giwerzman A., Bungum M.: Sperm chromatin structure assay in prediction of in vitro fertilization outcome. *Andrology.* 2016, 4(2), 290–296. doi: 10.1111/andr.12153. Epub 2016 Jan 12. PMID: 26757265.
- Page J.M., Silver R.M.: Genetic Causes of Recurrent Pregnancy Loss. *Clin Obstet Gynecol.* 2016, 59(3), 498–508. doi: 10.1097/GRF.0000000000000217. PMID: 27414972.
- Pal A.K., Ambulkar P.S., Waghmare J.E., Wankhede V., Shende M.R., Tarnekar A.M.: Chromosomal aberrations in couples with pregnancy loss: A retrospective study. *J Hum Reprod Sci.* 2018, 11(3), 247–253. doi: 10.4103/jhrs.JHRS_124_17. PMID: 30568354.
- Pandey D., Gupta S.: Current Update on Recurrent Pregnancy Loss. *J Basic Clin Reprod Sci.* 2019, 8(1), 1–6. doi: 10.4103/2278-960X.194515.

- Pasińska M., Soszyńska K., Runge A., Dąbrowska A., Juraszek A., Janiszewska T.: Badania molekularne w kierunku trombofilii u pacjentek skierowanych do poradni genetycznej z powodu niepowodzeń ciążowych. Doświadczenia jednego ośrodka Molecular diagnostic tests for thrombophilia in patients referred to genetic One center's experience. 3. Ginekol Pol. 2012, 83, 178–182.
- Papúchová H., Meissner T.B., Li Q., Strominger J.L., Tilburgs T.: The Dual Role of HLA-C in Tolerance and Immunity at the Maternal-Fetal Interface. Front Immunol. 2019, 10, 2730. doi: 10.3389/fimmu.2019.02730. PMID: 31921098.
- Pasquier E., Bohec C., Mottier D., Jaffuel S., Mercier B., Férec C. i wsp.: Inherited thrombophilias and unexplained pregnancy loss: An incident case-control study. J Thromb Haemost. 2009, 7(2), 306–311. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03229.x.
- Pereza N., Črnjar K., Buretić-Tomljanović A., Volk M., Kapović M., Peterlin B. i wsp.: Y chromosome azoospermia factor region microdeletions are not associated with idiopathic recurrent spontaneous abortion in a Slovenian population: Association study and literature review. Fertil Steril. 2013, 99(6), 1663–1667. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.101. PMID: 23410896.
- Persson G., Jørgensen N., Nilsson L.L., Andersen L.H.J., Hviid T.V.: A role for both HLA-F and HLA-G in reproduction and during pregnancy? Hum Immunol. 2020, 81(4), 127–133. doi: 10.1016/j.humimm.2019.09.006. PMID: 31558330.
- Persson G., Melsted W.N., Nilsson L.L., Hviid T.V.: HLA class Ib in pregnancy and pregnancy-related disorders. Immunogenetics. 2017, 69(8–9), 581–595. doi: 10.1007/s00251-017-0988-4. PMID: 28699111.
- Pfeiffer K.A., Fimmers R., Engels G., Van Der Ven H., Van Der Ven K.: The HLA-G genotype is potentially associated with idiopathic recurrent spontaneous abortion. Molecular Human Reproduction. 2001, 7(4), 373–378. doi: 10.1093/molehr/7.4.373. PMID: 11279300.
- Pfeifer S., Fritz M., Goldberg J., McClure R.D., Thomas M., Widra E. i wsp.: Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil Steril. 2012, 98 (5), 1103–1111. doi: doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.06.048. PMID: 22835448.
- Piasecka M., Gill K.: Wpływ wieku na płodność. W: Andrologia. Zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii. Red. Prof. dr hab. n. med. Jolanta Słowikowska-Hilczar. Wyd. PZWL. Warszawa 2021, 1159–1177.
- Poorang S., Abdollahi S., Anvar Z., Tabei S.M.B., Jahromi B.N., Moein-Vaziri N. i wsp.: The Impact of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Sperm Methylation and Variants on Semen Parameters and the Chance of Recurrent Pregnancy Loss in the Couple. Clin Lab. 2018, 64(7), 1121–1128. doi: 10.7754/Clin.Lab.2018.171231. PMID: 30146842.
- Puscheck E.E., Jeyendran R.S.: The impact of male factor on recurrent pregnancy loss. Curr Opin Obstet Gynecol. 2007, 19(3), 222–228. doi: 10.1097/GCO.0b013e32813e3ff0. PMID: 17495637.
- Rabiega-Gmyrek D., Olcijniczak T., Niepsuj-Biniaś J., Guglas-Bochyńska B., Jachowski P., Latos-Bieleńska A. i wsp.: Aberracje chromosomowe jako przyczyna poronień samoistnych. Ginekol Pol. 2015, 86(5), 357–361. doi: 10.17772/gp/2422.
- Ramasamy R., Chiba K., Butler P.L.: Male biological clock: a critical analysis of advanced paternal age. Fertil Steril. 2015a, 103, 1402–1406. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.03.011. PMID: 25881878.
- Ramasamy R., Scovell J.M., Kovac J.R., Cook P.J., Lamb D.J., Lipshultz L.I.: Fluorescence in situ hybridization detects increased sperm aneuploidy in men with recurrent pregnancy loss. Fertil Steril. 2015b, 103(4), 906–909. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.029. PMID: 25707335.
- Rastogi P., Kumar N., Ahluwalia J., Das R., Varma N., Suri V. i wsp.: Thrombophilic risk factors are laterally associated with Apolipoprotein E gene polymorphisms in deep vein thrombosis patients: An Indian study. Phlebology. 2019, 34(5), 324–335. doi: 10.1177/0268355518802693. PMID: 30282515.
- Regan L., Backos M., Rai R.: The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent First-trimester and Second-trimester Miscarriage Green-top Guideline No. 17 Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 2011.
- Ritchie C., Ko E.Y.: Oxidative stress in the pathophysiology of male infertility. Andrologia. 2021, 53(1). doi: 10.1111/and.13581.
- Rodrigo L., Meseguer M., Mateu E., Mercader A., Peinado V., Bori L. i wsp.: Sperm chromosomal abnormalities and their contribution to human embryo aneuploidy. Biol Reprod. 2019, 101(6), 1091–1101. doi: 10.1093/biolre/iox125. PMID: 31318411.
- Robinson L., Gallos I.D., Conner S.J., Rajkhowa M., Miller D., Lewis S.: The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: A systematic review and meta-analysis. Hum Reprod. 2012, 27(10), 2908–2917. doi: 10.1093/humrep/des261. PMID: 22791753.
- Rosiak A., Gill K., Jakubik K., Kupś M., Patorski Ł., Kurzawa R. i wsp.: Czy zaawansowany wiek ojcowski ma wpływ na sukces rozrodczy? Część I: Ocena wybranych parametrów seminologicznych. Post Androl Online. 2017a, 4(2), 23–32.
- Rosiak A., Gill K., Jakubik K., Kupś M., Patorski Ł., Kurzawa R. i wsp.: Czy zaawansowany wiek ojcowski ma wpływ na sukces rozrodczy? Część II: Rozwój zarodka, uzyskanie ciąży oraz zdrowie potomstwa. Post Androl Online. 2017b, 4(2), 33–40.
- Rosiak-Gill A., Gill K., Jakubik J., Fraczek M., Patorski Ł., 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.
- Ross C., Morriss A., Khairy M., Khalaf Y., Braude P., Coomarasamy A. i wsp.: A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. Reprod Biomed Online. 2010, 20(6), 711–723. doi: 10.1016/j.rbmo.2010.03.008. PMID: 20378409.
- Schallmoser A., Raab M., Karn T., Königsberger S., Schmidt E., Breitenbach-Koller H. i wsp.: Quantitative analysis of the sHLA-G protein in seminal plasma. Am J Reprod Immunol. 2019, 82(3):e13152. doi: 10.1111/aji.13152. PMID: 31132194.
- Sebire N.J.: Recurrent GTD and GTD coexisting with normal twin pregnancy. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2020 Dec 21:S1521-6934(20)30177-2. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.12.002. PMID: 33451920.
- Selvam P.M., Ambar R.F., Agarwal A., Henkel R.: Etiologies of sperm DNA damage and its impact on male infertility. Andrologia. 2021, 53(1), 1–15. doi: 10.1111/and.13706. PMID: 32559347.
- Shamsi M.B., Venkatesh S., Pathak D., Deka D., Dada R.: Sperm DNA damage & oxidative stress in recurrent spontaneous abortion (RSA). Indian J Med Res. 2011, 133(5), 550. PMID: 21623044.
- Sharma R., Agarwal A., Rohra V.K., Assidi M., Abu-Elmagd M., Turki R.F.: Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. Reprod Biol Endocrinol. 2015, 13(1), 1–20. doi: 10.1186/s12958-015-0028-x PMID: 25928123.
- Sheth F.J., Liehr T., Kumari P., Akinde R., Sheth H.J., Sheth J.J.: Chromosomal abnormalities in couples with repeated fetal loss: An Indian retrospective study. Indian J Hum Genet. 2013, 19(4), 415–422. doi: 10.4103/0971-6866.124369. PMID: 24497706.
- Showell M.G., Smits R.M., Mackenzie-Proctor R., Yazdani A., Stankiewicz M.T., Jordan V.: Antioxidants for male subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 2014(12). doi: 10.1002/14651858.CD007411.pub4 PMID: 30866036.
- Signore F., Gulia C., Votino R., Leo V. De, Zaami S., Putignani L. i wsp.: The role of number of copies, structure, behavior and copy number variations (CNV) of the Y chromosome in male infertility. Genes. 2020, 11(1). doi: 10.3390/genes11010040. PMID: 31905733.
- Slama R., Bouyer J., Windham G., Fenster L., Werwatz A., Swan S.H.: Influence of paternal age on the risk of spontaneous abortion. Am J Epidemiol. 2005, 161(9), 816–823. doi: 10.1093/aje/kwi097. PMID: 15840613.
- Softness K.A., Trussler J.T., Carrasquillo R.J.: Advanced sperm testing. Curr Opin Urol. 2020, 30(3). 290–295. doi: 10.1097/MOU.0000000000000761. PMID: 32235275.
- Stevens S.M., Woller S.C., Bauer K.A., Kasthuri R., Cushman M., Streiff M. i wsp.: Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia J Thromb Thrombolysis 2016, 41, 154–164. doi: 10.1007/s11239-015-1316-1. PMID: 26780744.
- Stone B.A., Alex A., Werlin L.B., Marrs R. P.: Age thresholds for changes in semen parameters in men. Fertil Steril. 2013, 100(4), 952–958. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.05.046. PMID: 23809502.
- Swales A.K., Spears N.: Genomic imprinting and reproduction. Reproduction. 2005, 130(4), 389–399. doi: 10.1530/rep.1.00395. PMID: 16183857.
- Szczykutowicz J., Kałuża A., Kaźmierowska-Niemczuk M., Ferens-Sieczkowska M.: The Potential Role of Seminal Plasma in the Fertilization Outcomes. Biomed Res Int. 2019, 2019:5397804. doi:10.1155/2019/5397804. PMID: 31531356.

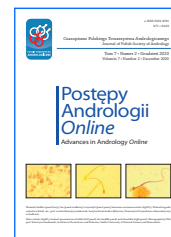
- Talebi A.R., Fesahat F., Mangoli E., Ghasemzadeh H.J., Nayeri M., Sadeghian-Nodoshan F.: Relationship between sperm protamine deficiency and apoptosis in couples with unexplained repeated spontaneous abortions. *Int J Reprod Biomed.* 2016, 14(3), 199–204. doi: 10.29252/ijrm.14.3.199. PMID: 27294219.
- Tan J., Taskin O., Albert A., Bedaiwy M.A.: Association between sperm DNA fragmentation and idiopathic recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2018, 38(6), 951–960. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.12.029. PMID: 30979611.
- Taylor J.L., Debost J.C.P.G., Morton S.U. i wsp.: Paternal-age-related de novo mutations and risk for five disorders. *Nat Commun.* 2019, 10, 3043 doi: 10.1038/s41467-019-11039-6.
- Toth B., Vocke F., Rogenhofer N., Friese K., Thaler C.J., Lohse P.: Paternal thrombophilic gene mutations are not associated with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2008, 60(4), 325–332. doi: 10.1111/j.1600-0897.2008.00630.x. PMID: 18754836.
- Tsuribe P.M., Neto J.F., Golim M. de A., Dell'Aqua C. de P.F., Issa J.P., Gobbo C.A.: Assessment of sperm DNA in patients submitted the assisted reproduction technology procedures. *JBRA Assist Reprod.* 2016, 20(1), 17–22. doi: 10.5935/1518-0557.20160005. PMID: 27203301.
- Udry S., Aranda F.M., Latino J.O., De Larrañaga G.F.: Paternal factor V Leiden and recurrent pregnancy loss: A new concept behind fetal genetics? *J Thromb Haemost.* 2014, 12(5), 666–669. doi: 10.1111/jth.12526. PMID: 24977289.
- van Dijk M.M., Kolte A.M., Limpens J., Kirk E., Quenby S., van Wely M. i wsp.: Recurrent pregnancy loss: diagnostic workup after two or three pregnancy losses? A systematic review of the literature and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2020, 26(3), 356–367. doi: 10.1093/humupd/dmz048. PMID: 32103270.
- Venkatesh S., Thilagavathi J., Kumar K., Deka D., Talwar P., Dada R.: Cytogenetic, Y chromosome microdeletion, sperm chromatin and oxidative stress analysis in male partners of couples experiencing recurrent spontaneous abortions. *Arch Gynecol Obstet.* 2011, 284(6), 1577–1584. doi: 10.1007/s00404-011-1990-y. PMID: 21779778.
- Voicu D., Munteanu O., Gherghiceanu F., Arsene L., Bohiltea R., Gradinaru D. i wsp.: Maternal inherited thrombophilia and pregnancy outcomes. *Exp Ther Med.* 2020, 20(3), 2411–2414. doi: 10.3892/etm.2020.8747. PMID: 32765725.
- Walczak-Jedrzejowska 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(1), 5–15. <http://www.andrologia-pta.com.pl>.
- Walczak-Jedrzejowska R., Wolski J.K., Slowikowska-Hilczner J.: The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol.* 2013, 66(1), 60–67. doi: 10.5173/ceju.2013.01.art19. PMID: 24578993.
- Wang Y., Li Y., Chen Y., Zhou R., Sang Z., Meng L. i wsp.: Systematic analysis of copy-number variations associated with early pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020, 55(1), 96–104. doi: 10.1002/uog.20412.
- Wang Y., Li G., Zuo M.Z., Fang J.H., Li H.R., Quan D.D. i wsp.: Y chromosome polymorphisms may contribute to an increased risk of male-induced unexplained recurrent miscarriage. *Biosci Rep.* 2017, 37(2), 1–8. doi: 10.1042/BSR20160528. PMID: 28183871.
- Wettasinghe T.K., Jayasekara R.W., Dissanayake V.H.: Y chromosome microdeletions are not associated with spontaneous recurrent pregnancy loss in a Sinhalese population in Sri Lanka. *Hum Reprod.* 2010, 25(12), 3152–3156. doi: 10.1093/humrep/deq271. PMID: 20943704.
- Wiktorowicz K., Kaszkowiak K.: Budowa i funkcja ludzkich antygenów zgodności tkankowej. Część 1. Kodowanie i budowa. *Forum Reumatologiczne.* 2018, 4(1), 37–44.
- Witczak B., Klusek J., Klusek J.: Genetic aspects of male infertility. *Studia Medyczne.* 2014, 30(4):276–279. doi: 10.5114/ms.2014.47928.
- Wu Y., Kang X., Zheng H., Liu H., Liu J.: Effect of paternal age on reproductive outcomes of in vitro fertilization. *PLoS ONE.* 2015, 10(9), 1–9. doi: 10.1371/journal.pone.0135734.
- Würfel F.M., Winterhalter C., Trenkwalder P., Wirtz R.M., Würfel W.: European Patent in Immunoncology: From Immunological Principles of Implantation to Cancer Treatment. *Int J Mol Sci.* 2019, 20(8), 1830. doi: 10.3390/ijms20081830. PMID: 31013867.
- Yang X., Yang Y., Yuan Y., Liu L., Meng T.: The Roles of Uterine Natural Killer (NK) Cells and KIR/HLA-C Combination in the Development of Preeclampsia: A Systematic Review. *Biomed Res Int.* 2020, 2020, 4808072. doi: 10.1155/2020/4808072. PMID: 32309433.
- Yatsenko A.N., Turek P.J.: Reproductive genetics and the aging male. *J Assist Reprod Genet.* 2018 Jun;35(6):933–941. doi: 10.1007/s10815-018-1148-y. Epub 2018 Mar 9. PMID: 29524155; PMCID: PMC6030011.
- Yazdani N., Shekari Khaniani M., Bastami M., Ghasemnejad T., Afkhami F., Mansoori Derakhshan S.: HLA-G regulatory variants and haplotypes with susceptibility to recurrent pregnancy loss. *Int J Immunogenet.* 2018, 45(4), 181–189. doi: 10.1111/iji.12364. PMID: 29797531.
- Yifu P., Lei Y., Shaoming L., Yujin G., Xingwang Z.: Sperm DNA fragmentation index with unexplained recurrent spontaneous abortion: A systematic review and meta-analysis. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2020, 101740. doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101740. PMID: 32348878.
- Youssef A., Lashley L., Dieben S., Verburg H., van der Hoorn M.L.: Defining recurrent pregnancy loss: associated factors and prognosis in couples with two versus three or more pregnancy losses. *Reprod Biomed Online.* 2020, 41(4), 679–685. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.05.016. PMID: 32811769.
- Zhang X., Wang H., Feng T., Yang J., Huang Q., Lu C. i wsp.: The relationship between semen factors and unexplained recurrent spontaneous abortion. *Clinica Chimica Acta.* 2020, 510(June), 605–612. doi: 10.1016/j.cca.2020.08.022.
- Zhang L., Wang L., Zhang X., Xu G., Zhang W., Wang K. i wsp.: Sperm chromatin integrity may predict future fertility for unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *Int J Androl.* 2012, 35(5), 752–757. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2012.01276.x>. PMID: 22519675.
- Zhao J., Zhang Q., Wang Y., Li Y.: Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2014, 102(4), 998–1005.e8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.033. PMID: 25190048.
- Zhu X.B., Chen Q., Fan W.M., Niu Z.H., Xu B.F., Zhang A.J.: Sperm DNA fragmentation in Chinese couples with unexplained recurrent pregnancy loss. *Asian J Androl.* 2020, 22(3), 296–301. doi: 10.4103/aja.aja_60_19. PMID: 31339112.
- Zidi-Jrah I., Hajlaoui A., Mougou-Zerelli S., Kammoun M., Meniaoui I., Sallem A. i wsp.: Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss Presented at the 17th World Congress on in Vitro Fertilization, Tunis, Tunisia, on September 4-7, 2013. *Fertil Steril.* 2016, 105(1), 58–64. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.041. PMID: 26493117



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, deklarują 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 klinicyisty 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. [przełądany: 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 obowiązuje 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).

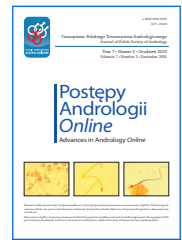


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



RECENZENCI PRAC OPUBLIKOWANYCH W 2020 R. REVIEWERS IN 2020

Grażyna Adler
Piotr Jędrzejczak
Maciej Kurpisz
Rafał Kurzawa
Katarzyna Marchlewska
Olimpia Sipak
Jolanta Słowikowska-Hilczer

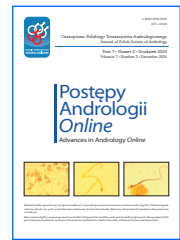


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



REKLAMA



VEGE



BEZ LAKTOZY



BEZ GLUTENU



SUPLEMENT DIETY

TENfertil™

OPTIMALNE WSPARCIE PŁODNOŚCI



10
składników

- L-karnityna
- Cholina
- Cynk organiczny
- Witamina C
- Koenzym Q10 (ubichinon)
- L-arginina
- Witamina E
- Selen organiczny
- Witamina B12
- Kwas foliowy (L-metylofolian wapnia)

Bez żadnych zbędnych dodatków i zagęszczaczy, celulozowa kapsułka. Optymalny dla vegan.

www.tenfertil.pl

www.nhinstitute.pl

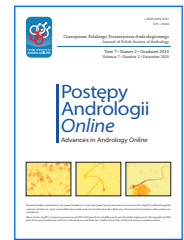


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



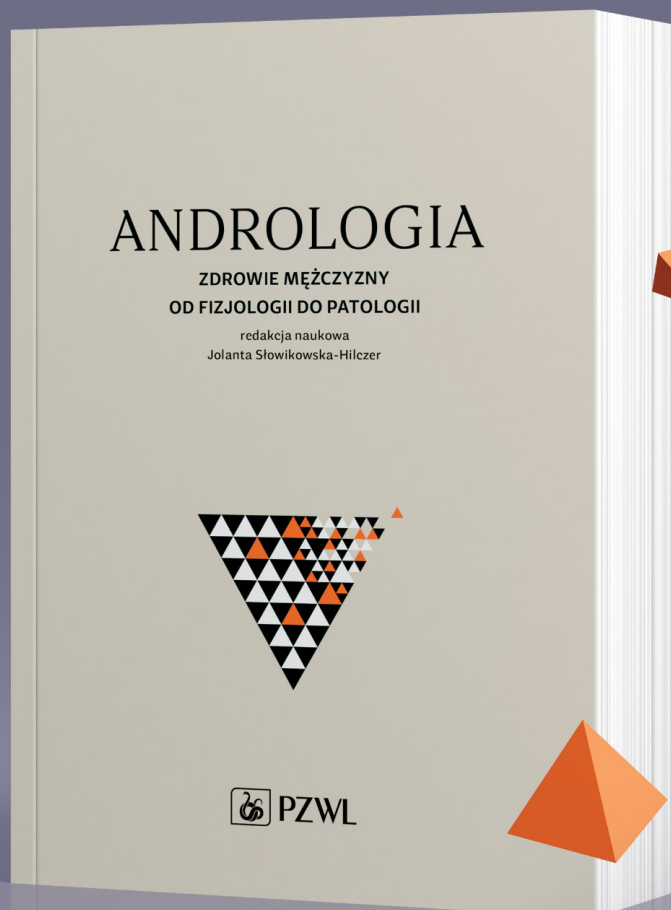
Premiera!

- 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.

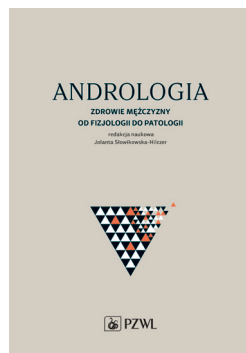
Książka, którą przeczytałam z wielkim zainteresowaniem, jest jednym z najlepszych podręczników andrologii, jakie kiedykolwiek widziałam – i to w skali międzynarodowej. Gratulacje za wybór tematów i autorów należą się redaktorowi naukowemu, prof. Jolancie Słowikowskiej-Hilcz, długoletniej przewodniczącej 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 Giwercman</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 MĘŻCZYZN 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