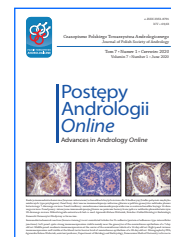




Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

WPŁYW LEKÓW IMMUNOSUPRESYJNYCH NA MĘSKI UKŁAD PŁCIOWY

THE INFLUENCE OF IMMUNOSUPPRESSIVE AGENTS ON MALE REPRODUCTIVE SYSTEM

Marta Grabowska *, Małgorzata Piasecka

Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

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

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

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

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

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

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

Streszczenie

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

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

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

Abstract

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

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

Skróty / Abbreviations

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

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

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

Leki immunosupresyjne i ich mechanizm działania

Cyklosporyna A

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

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

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

Takrolimus

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

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

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

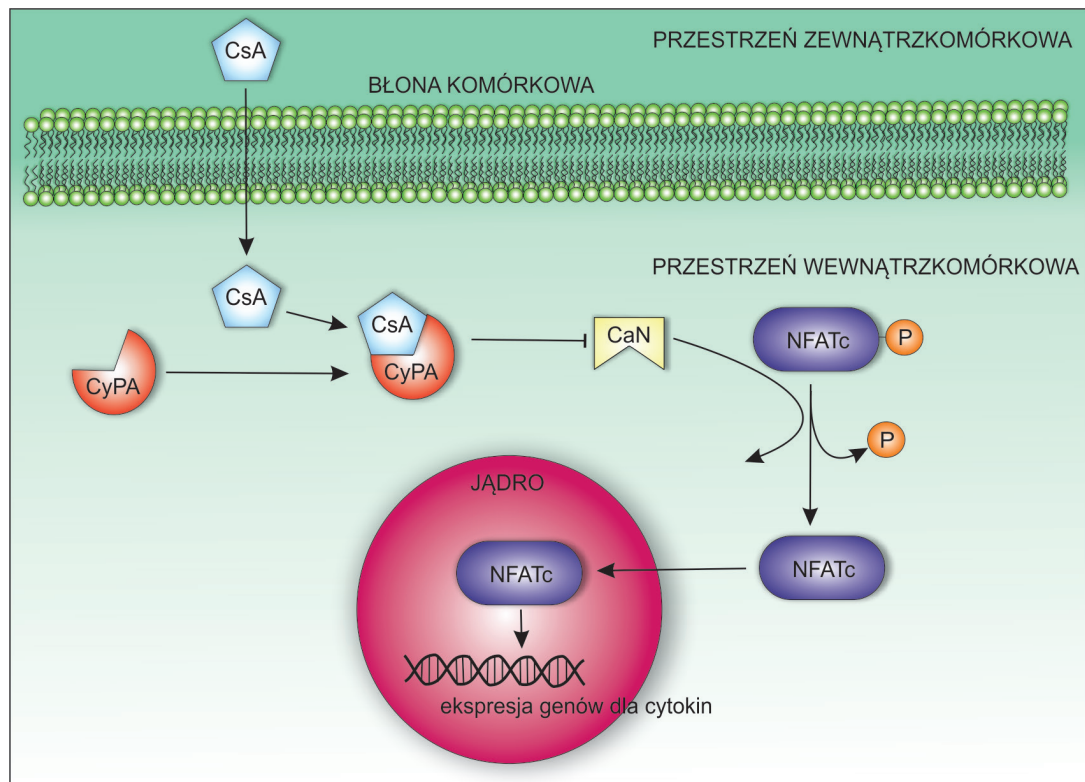
Narząd	LEK IMMUNOSUPRESYJNY				Pismienictwo	
	CsA	FK506	MMF	RAPA	prednizon/prednizolon	
	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zmniejszenie masy; - zwłóknienie, przekrwienie naczyń włosowatych i obrzęk w tkance śródniąższowej jąder; - spadek średniej objętości komórek Leydiga; - nieprawidłowy rozwój spermatyd oraz liczne ciała resztkowe w nabłonku plemnikotwórczym; - wakuolizacja i dezorganizacja nabłonka plemnikotwórczego; - zredukowana aktywność fagocytna komórek Sertolego; - atrofia kanalików nasiennych; - zmniejszenie liczby plemników; - zaburzenie równowagi pro- i antyoksydacyjnej.	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zmniejszenie masy; - zmiany w tkance okołokanalikowej; - kanalki nasienne ze zmniejszoną liczbą spermatocytów i spermatyd oraz obecnością licznych komórek germinalnych w ich świetle; - silnie zabarwiona chromatyna, nieregularny kształt i nieprawidłowa pozycja jąder komórek Sertolego; - przestrzelenie wakuolarne w nabłonku plemnikotwórczym; - atrofia kanalików nasiennych; - niewielki spadek liczby plemników.	- brak znaczącego wpływu na włączanie tymidyny w DNA spermatogoniów i spermatocytów; - potencjalny niekorzystny wpływ na płodność męską poprzez działanie mutagenne i teratogenne.	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zmniejszenie masy; - zwłóknienie i obrzęk śródniąższowy gonady; - hiperplazja komórek Leydiga; - zahamowanie spermatogenezy; - zmniejszona liczba spermatocytów, spermatyd; - różny stopień atrofi kanalików nasiennych, - wakuolizacja nabłonka plemnikotwórczego; - zmniejszona liczba plemników.	- upośledzenie osi podwzgórze–przysadka–gonada; - zwiększenie masy; - zmniejszenie stresu oksydacyjnego; - zahamowanie uwalniania cytokin; - redukcja obrzęku i naciekania leukocytów.	Canegum i wsp., 2009; Cavallini i wsp., 1990; Chen i wsp., 2013; De Santis i Saad, 2016; Eugui i wsp., 1991; Hisatomi i wsp., 1996; Huyghe i wsp., 2006; Kanzawa i wsp., 2015; Liu i wsp., 2017; Masuda i wsp., 2003; Milardi i wsp., 2017; Rovita i wsp., 2012; Seethalakshmi i wsp., 1987, 1990; Semet i wsp., 2017; Srinivas i wsp., 1998; Tauchmanová i wsp., 2004; Türk i wsp., 2007, 2010.
Najądrze	- zmniejszenie masy; - obecność konglomeratów plemników i plemników wykazujących nieprawidłowości strukturalne w świetle przewodu; - obniżenie koncentracji i ruchliwości plemników.	- zmniejszenie masy; - zmniejszenie liczby plemników w świetle najądrza; - obecność degenerujących gamet męskich; - spadek koncentracji L-karnityny.	- brak danych	- piknotyczne lub apoptotyczne jądra komórek nabłonka przewodu	- zahamowanie uwalniania cytokin; - redukcja obrzęku i naciekania leukocytów.	Canegum i wsp., 2009; Hisatomi i wsp., 1996, 2008; Masuda i wsp., 2003; Moore i wsp., 1971; Schell i wsp., 2016; Seethalakshmi i wsp., 1987, 1990; Türk i wsp., 2010.
Prostata	- zmniejszenie masy; - zmniejszenie światła pęcherzyków; - redukcja objętości nabłonka i komponentów zrębu; - zmniejszenie komórkowej zdolności wydzielniczej.	- zmniejszenie masy	- zmniejszenie ekspresji genu PAGE4	- spadek koncentracji PSA	- spadek koncentracji PSA; - zahamowanie uwalniania cytokin; - redukcja obrzęku i naciekania leukocytów.	Chamie i wsp., 2008; De Santis i Saad, 2016; Dun i wsp., 2014; Freitas i wsp., 2012; Hisatomi i wsp., 2008; Seethalakshmi i wsp., 1987, 1990; Türk i wsp., 2010.

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

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

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

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



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

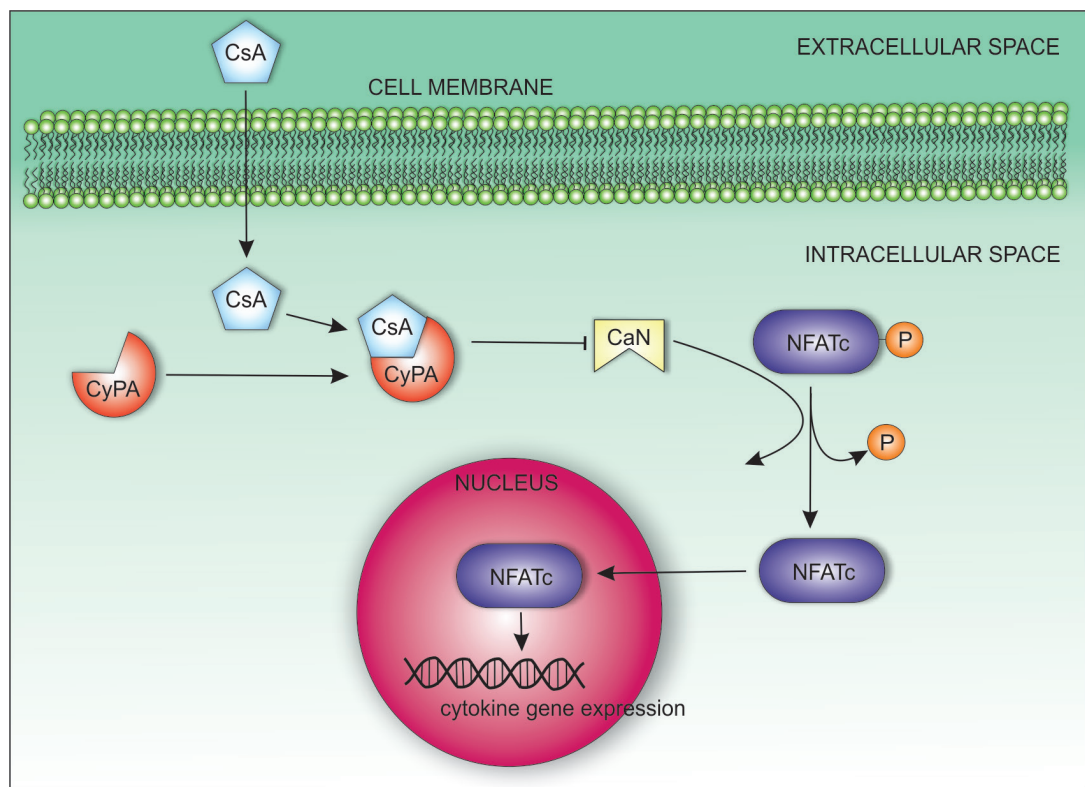


Fig. 1. Mechanism of action of cyclosporin A. Upon entry into the T cell, cyclosporin A (CsA) binds specifically to cytosolic cyclophilin A (CyPA). The resulting complex binds directly to calcineurin (CaN) and inhibits its action. Calcineurin dephosphorylates nuclear regulatory proteins such as nuclear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

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

Mykofenolan mofetylu

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

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

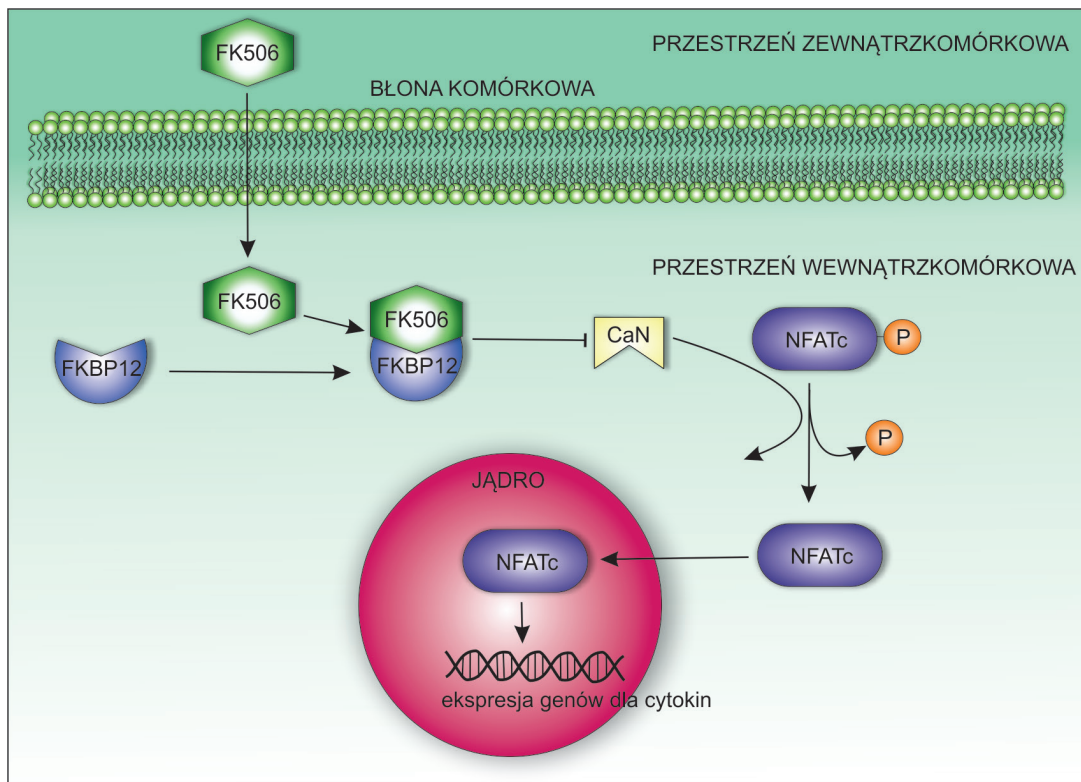
W limfocytach MPA może skutecznie indukować zatrzymanie cyklu komórkowego w późnej fazie G1. Wykazano, że MPA hamuje indukcję cykliny D3, będącej głównym składnikiem kinazy zależnej od cyklin (CDK, ang. *cyclin-dependent kinase*), a także degradację inhibitora CDK – białka p27kip1, co w efekcie powoduje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

Glikokortykosteroidy

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

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

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



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

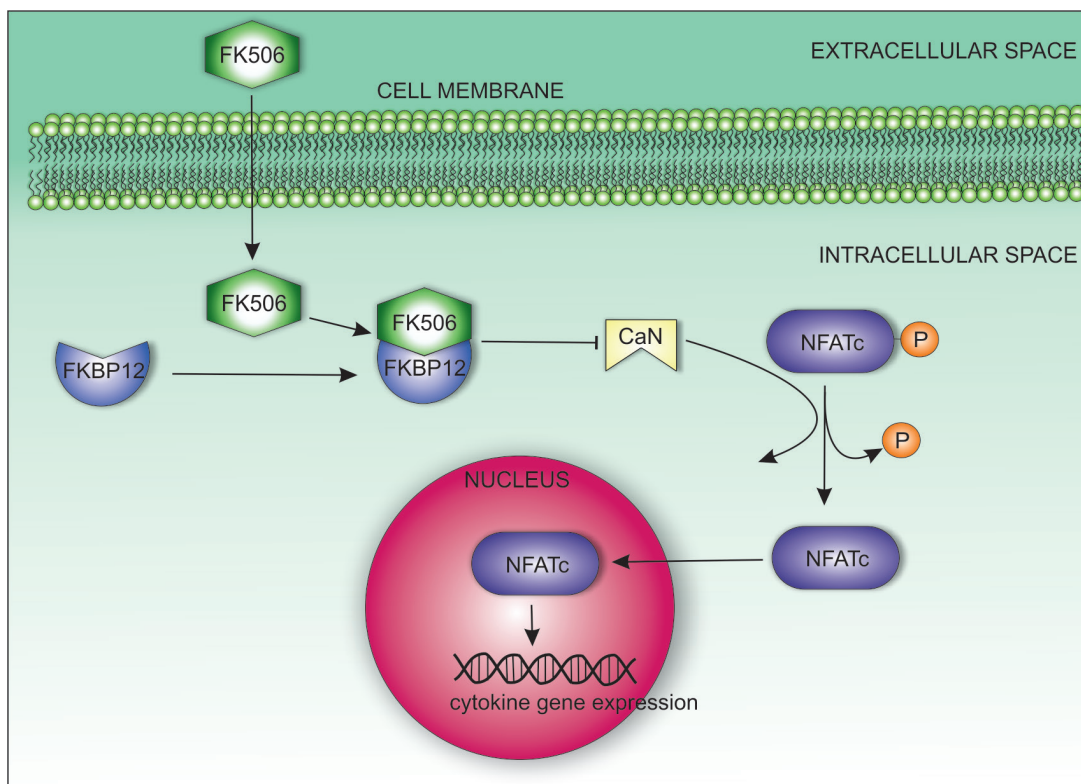
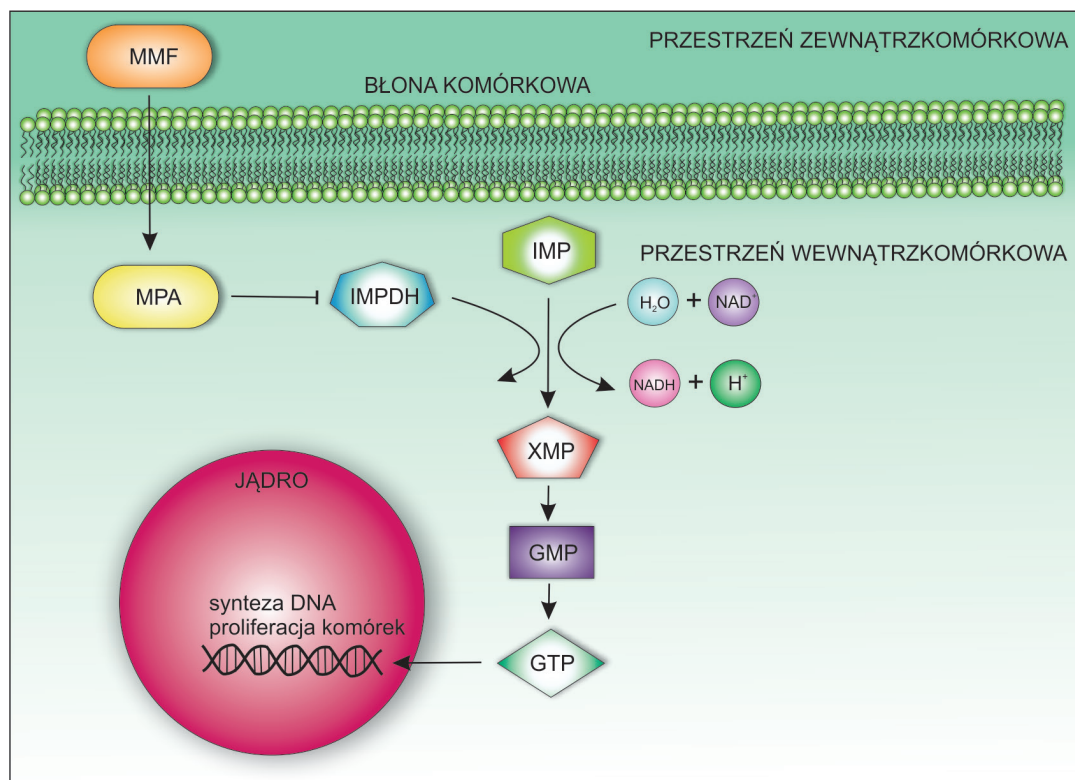


Fig. 2. Mechanism of action of tacrolimus. After entry into the cell, tacrolimus (FK506) forms a complex with tacrolimus binding protein 12 (FKBP12). The FK506-FKBP12 complex binds to calcineurin (CaN), thereby inhibiting its enzymatic activity. Calcineurin dephosphorylates nuclear regulatory proteins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



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

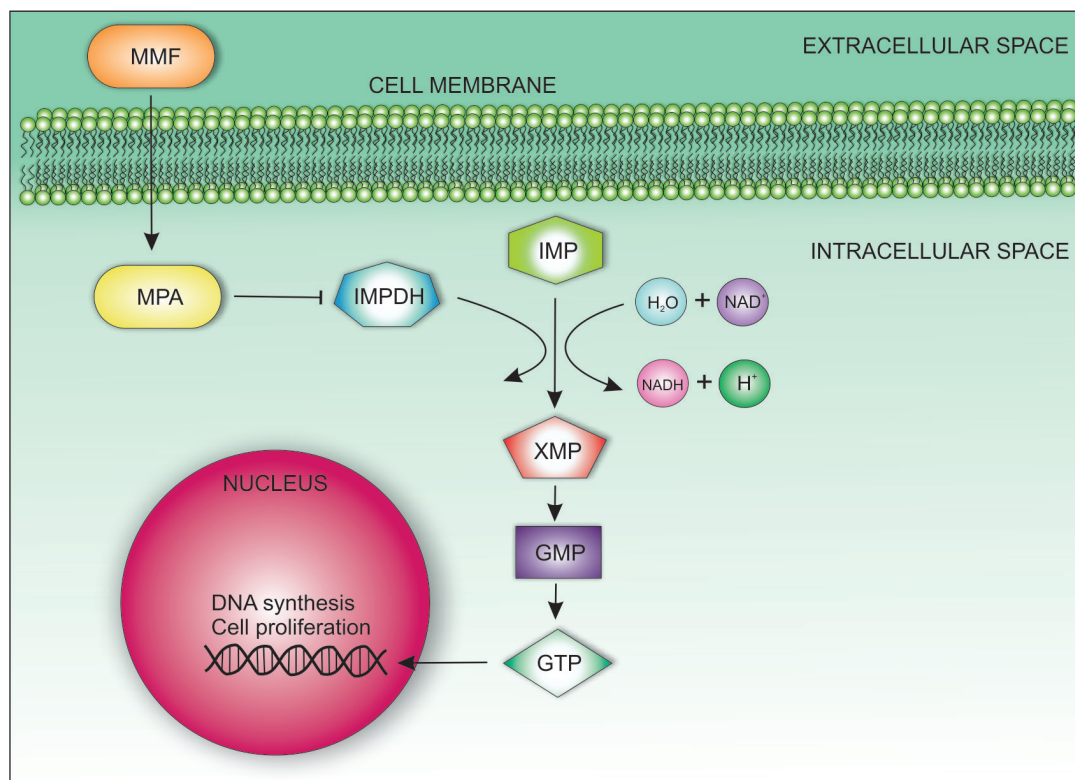
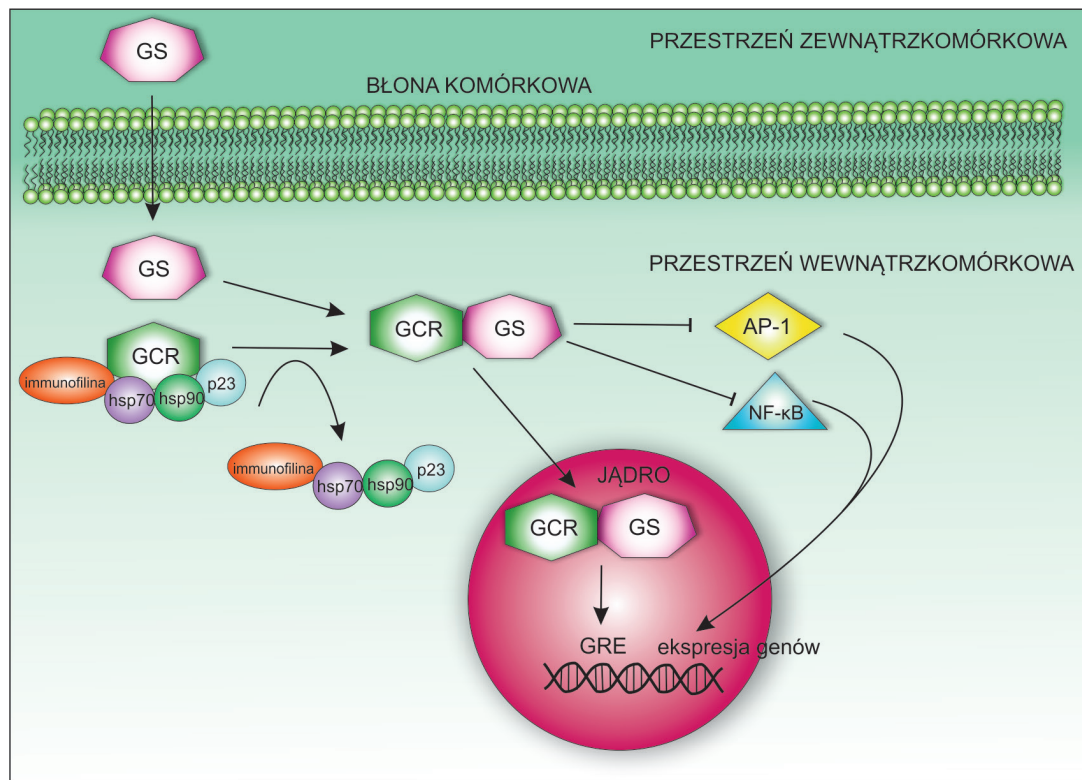


Fig. 3. Mechanism of action of mycophenolate mofetil. Mycophenolate mofetil (MMF) is metabolised to mycophenolic acid (MPA), which inhibits inosine-5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH). IMPDH catalyzes the oxidation of inosine-5'-monophosphate (IMP) to xanthosine-5'-monophosphate (XMP), while reducing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



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

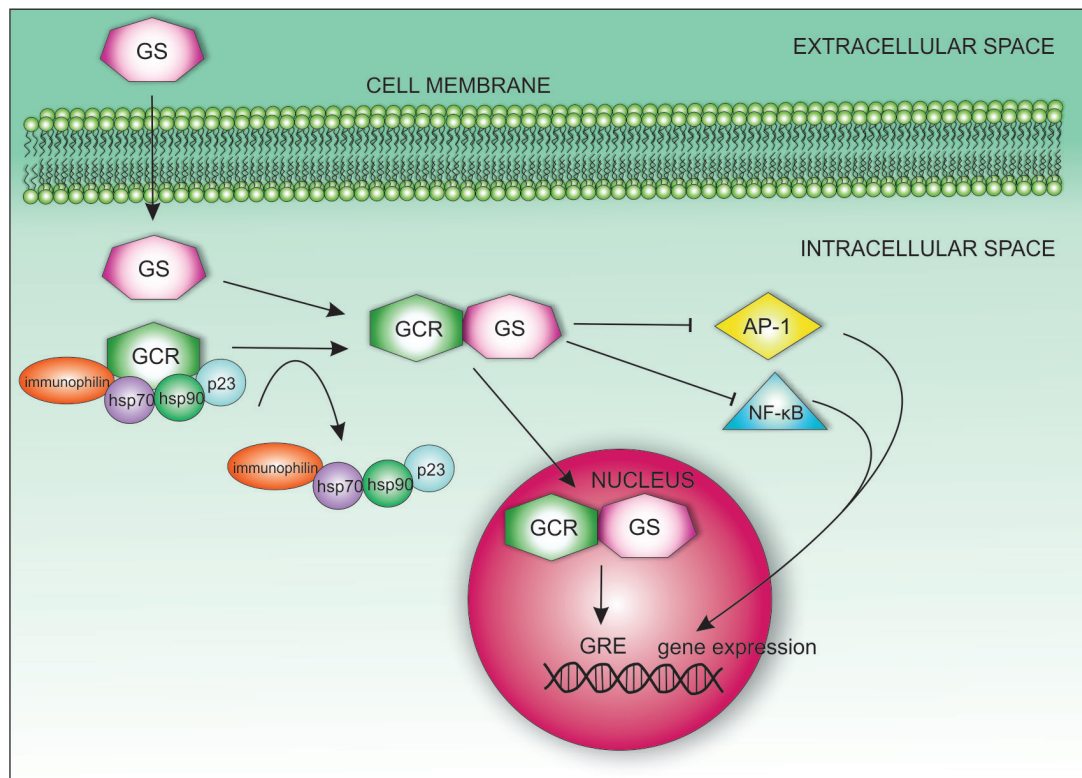


Fig. 4. Mechanism of action of glucocorticosteroids. Unbound glucocorticosteroids (GS) passively diffuse across the cell membrane into the interior of cells where they bind to the cytosolic glucocorticoid receptor (GCR). This initiates changes in the spatial conformation of the receptor and the dissociation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

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

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

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

Rapamycyna

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

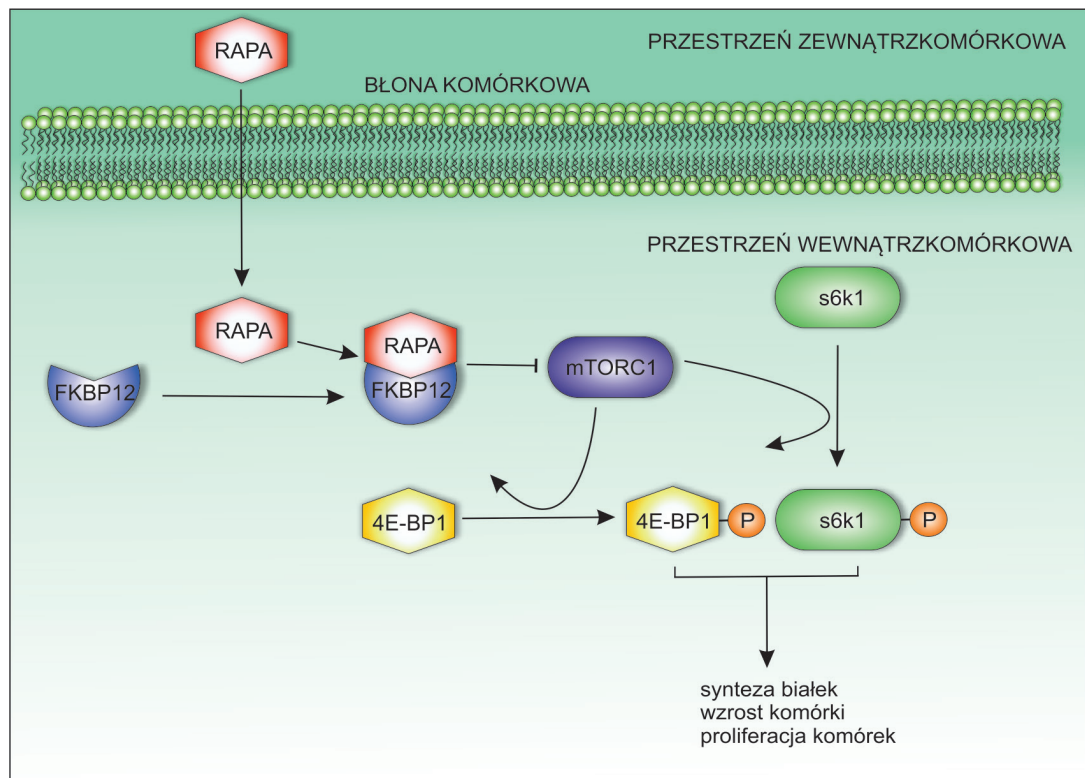
Podobnie jak CsA i FK506, RAPA należy do grupy leków oddziałujących z immunofilinami, lecz jej

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

Wpływ leków immunosupresyjnych na gonadę męską

Cyklosporyna A

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



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

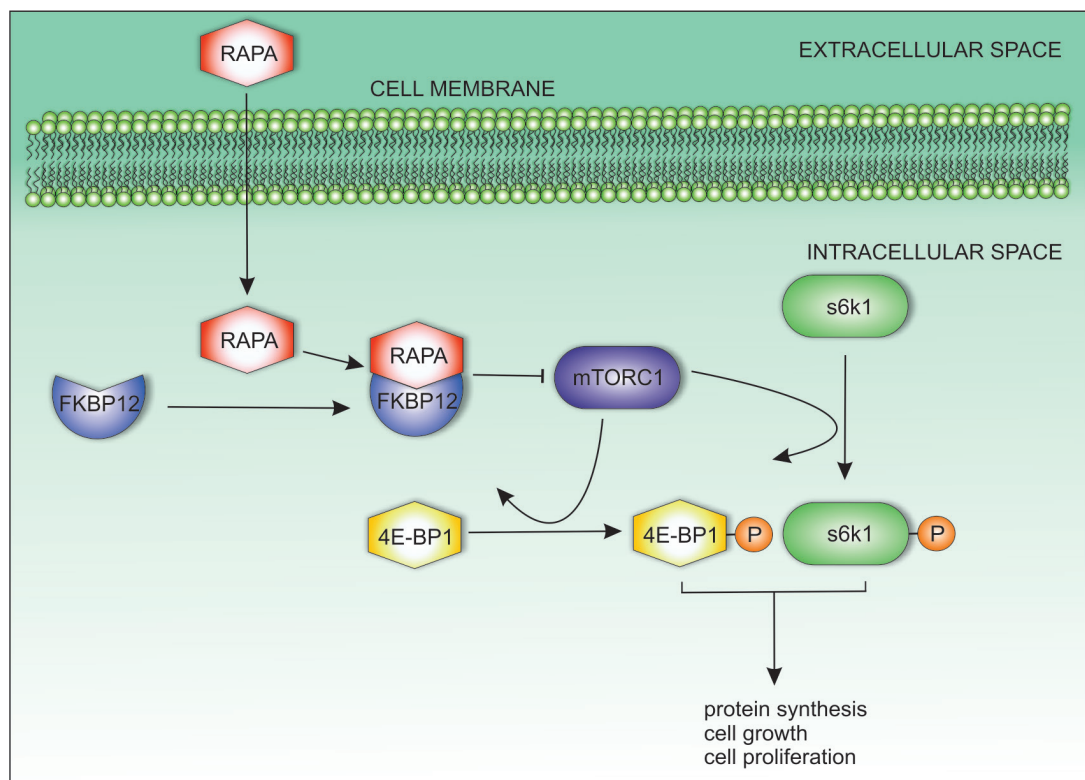


Fig. 5. Mechanism of action of rapamycin. Rapamycin (RAPA), after entering the cell, binds to the tacrolimus binding protein 12 (FKBP12). Next the Rapa-FKBP12 complex binds to the mTORC1 complex, inhibiting its activity. In effect phosphorylation ribosomal protein S6 kinase 1 (S6K1) and eukaryotic translation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

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

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

Takrolimus

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

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

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

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

Mykofenolan mofetylu

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

Glikokortykosteroidy

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

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

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

Rapamycyna

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

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

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

Wpływ leków immunosupresyjnych na najądrze

Cyklosporyna A

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

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

Takrolimus

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

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

Rapamycyna, mykofenolan mofetylu i glikokortykosteroidy

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

Wpływ leków immunosupresyjnych na prostatę

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

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

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

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

Podsumowanie

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

Finansowanie

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

Piśmiennictwo

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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