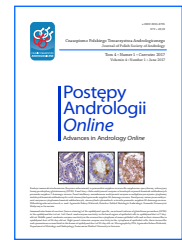




Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

AZOOSPERMIA – PRZYCZYNY, DIAGNOSTYKA, LECZENIE

AZOOSPERMIA – CAUSES, DIAGNOSTICS, TREATMENT

Agnieszka Cegłowska¹, Jolanta Słowikowska-Hilczer²¹Klinika Endokrynologii Ginekologicznej, Szpital Kliniczny im. Ks. Anny Mazowieckiej, ul. Karowa 2, 00-315 Warszawa²Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. S. Sterlinga 5, 91-425 Łódź

Autor do korespondencji/corresponding author: Jolanta Słowikowska-Hilczer, Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. S. Sterlinga 5, 91-425 Łódź;
jolanta.slowikowska-hilczer@umed.lodz.pl

Otrzymano/received: 21.12.2016 r. Zaakceptowano/accepted: 15.03.2017 r.



Agnieszka Cegłowska – dr n. med., absolwentka Akademii Medycznej w Łodzi, lekarz specjalista ginekologii i położnictwa, w trakcie specjalizacji z endokrynologii i szkolenia andrologicznego, lekarz Kliniki Endokrynologii Ginekologicznej Klinicznego Szpitala im. Ks. Anny Mazowieckiej w Warszawie; członek Europejskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu i Embriologii, Polskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu i Embriologii oraz Polskiego Towarzystwa Andrologicznego; pierwszy autor i współautor 10 cytowanych publikacji naukowych z zakresu ginekologii, położnictwa i endokrynologii. Praca zawodowa i naukowa autorki związana jest z badaniami nad kobiecą i męską

niepłodnością.

Agnieszka Cegłowska – MD, graduate of the Medical University of Lodz, specialist of gynecology and obstetrics, in the course of specialization of endocrinology and andrology; works in Department of Gynecological Endocrinology in Clinical Hospital of Duchess of Mazovia in Warsaw; fellow of European Society of Human Reproduction and Embryology, Polish Society of Reproduction Medicine and Embryology and Polish Society of Andrology; the first author and co-author of 10 quoted publications in the field of gynecology, obstetrics and endocrinology. Her professional and scientific work is associated with female and male infertility.

Streszczenie

Azoospermia to brak plemników w ejakulacie, również w osadzie pozostałym po jego odwirowaniu. Jest istotną przyczyną męskiej niepłodności. Pod względem przyczyn, diagnostyki i sposobu leczenia wyróżnia się azoospermie nieobturacyjną (60%) oraz azoospermie obturacyjną (40%). Leczenie operacyjne azoospermii obturacyjnej daje dużą szansę na uzyskanie ciąży, a w przypadku nieskuteczności tego postępowania pozyskuje się plemniki z najądrza lub jądra w celu przeprowadzenia zapłodnienia pozaustrojowego. Leczenie hormonalne w azoospermii nieobturacyjnej jest często nieskuteczne, a jedyną szansą na uzyskanie własnego biologicznie potomstwa może być pozyskanie plemników dla procedury *in vitro*. Duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem nowych testów genetycznych w diagnostyce przedkoncepcyjnej męskiej niepłodności oraz ocenie dziedziczenia zaburzeń u potomstwa.

Słowa kluczowe: jądra, nasienie, plemniki, niepłodność męska

Abstract

Azoospermia is the absence of sperm cells in the ejaculate, also in the sediment after spinning. It is a key reason of male infertility. In terms of reasons, diagnostics and treatment methods obstructive azoospermia (40%) and nonobstructive azoospermia (60%) are recognized. The operative treatment of obstructive azoospermia gives a big chance of pregnancy, but if it is non efficient the sperm cells are aspirated from epididymis or testis for *in vitro* fertilization. The hormonal treatment in nonobstructive azoospermia is often ineffective, but the only chance to have biologically own offspring may be sperm retrieval for *in vitro* fertilization. Hopefully new genetic tests can help in preconceptional diagnostics of male infertility and in assessment of inheritance of these abnormalities in offspring.

Key words: testes, ejaculate, spermatozoa, male infertility

Skróty / Abbreviations

ART – metoda rozrodu wspomaganego medycznie (ang. *assisted reproductive technique*), AZF – czynnik ulegający delecji w azoospermii (ang. *azoospermia factor*), CBAVD – wrodzony obustronny brak nasieniowodów (ang. *congenital bilateral absence of the vas deferens*), CFTR – regulator przewodnictwa przez błonowy w zwłóknieniu torbielowatym (ang. *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), CGH – porównawcza hybrydyzacja genomowa (ang. *comparative genomic hybridization*), CNV – warianty liczby kopii genów (ang. *copy number variation*), CIS – rak *in situ* (łac. *carcinoma in situ*), CUAVD – wrodzony jednostronny brak nasieniowodów (ang. *congenital unilateral absence of the vas deferens*), EDO – niedrożność przewodu wytryskowego (ang. *ejaculatory duct obstruction*), FGF8 – gen kodujący czynnik wzrostu fibroblastów 8 (ang. *fibroblast growth factor 8 gene*), FGFR1 – gen kodujący receptor typu 1 dla czynnika wzrostu fibroblastów (ang. *fibroblast growth factor receptor 1 gene*), FSH – hormon folikulotropowy (ang. *follicle-stimulating hormone*), GCNIS – nowotwór z komórek płciowych *in situ* (ang. *germ cell neoplasia in situ*), GCT – inwazyjny nowotwór z komórek płciowych (ang. *germ cell tumor*), hCG – ludzka gonadotropina kosmówkowa (ang. *human chorionic gonadotropin*), hMG – ludzka gonadotropina menopauzalna (ang. *human menopausal gonadotropin*), ICSI – wstrzyknięcie plemnika do cytoplazmy komórki jajowej (ang. *intracytoplasmic sperm injection*), IHH – idiopatyczny hipogonadyzm hipogonadotropowy (ang. *idiopathic hypogonadotropic hypogonadism*), IVF – zapłodnienie pozaustrojowe (ang. *in vitro fertilization*), KAL1 – gen kodujący białko anosminę 1 (ang. *anosmin-1 gene*), LH – hormon luteinizujący (ang. *luteinizing hormone*), MESA – mikrochirurgiczna aspiracja plemników z najądrzy (ang. *microsurgical epididymal sperm aspiration*), mRNA – matrycowy RNA (ang. *messenger RNA*), miRNA – mikroRNA (ang. *microRNA*), NAG – obojętna α -glukozydaza (ang. *neutral α -glucosidase*), NOA – azoospermia nieobturacyjna (ang. *nonobstructive azoospermia*), OA – azoospermia obturacyjna (ang. *obstructive azoospermia*), PESA – przezskórna aspiracja plemników z najądrzy (ang. *percutaneous epididymal sperm aspiration*), piRNA – niekodujące cząsteczki RNA tworzące kompleksy z białkami piwi (ang. *piwi-interacting RNA*), SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*), SCO – zespół samych komórek Sertolego (ang. *Sertoli cell only syndrome*), sncRNA – małe niekodujące RNA (ang. *small non-coding RNA*), T – testosteron, TESA – przezskórna aspiracja plemników z jąder i najądrzy (ang. *testicular epididymal sperm aspiration*), TESE – pobranie plemników z jąder (ang. *testicular sperm extraction*), TRUS – ultrasonografia przezodbytnicza (ang. *transrectal ultrasound*), TURED – przezcewkowe wycięcie ująć przewodów wytryskowych (ang. *transurethral resection of the ejaculatory ducts*), USG – ultrasonografia (ang. *ultrasonography*), WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*), YCMD – mikrodelecje chromosomu Y (ang. *Y chromosome microdeletions*)

Definicja. Według nomenklatury Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) terminem „azoospermia” określa się brak plemników w ejakulacie, również w osadzie pozostałym po jego odwirowaniu (15 min, 3000 g) (WHO, 2010). Inne podobne określenie nomenklaturowe to „aspermia”, które dotyczy braku ejakulatu np. z powodu braku ejakulacji, ejakulacji wstecznej, zablokowania dróg wyprowadzających nasienie. Z kolei „kryptozoospermia” oznacza brak plemników w preparatach bezpośrednich z nasienia, dopiero po odwirowaniu ejakulatu, stwierdza się ich obecność.

Klasyfikacja. Klasyfikacja przyczyn męskiej niepłodności na przedjądrowe, jądrowe i pozajądrowe odzwierciedla także przyczyny azoospermii (Kula i Słowikowska-Hilczner, 2016). Jako bardziej praktyczny przyjęto podział azoospermii na dwie grupy różniące się etiologią, diagnostyką i sposobem leczenia (Adamopoulos i wsp., 2010; Tüttelmann i Nieschlag, 2010; Wosnitzer i wsp., 2014):

- azoospermie obturacyjną – związaną z niedrożnością przewodów wyprowadzających plemniki (OA, ang. *obstructive azoospermia*),

- azoospermie nieobturacyjną, zwaną także sekrecyjną – niezwiązaną z niedrożnością przewodów wyprowadzających plemniki (NOA, ang. *nonobstructive azoospermia*).

Azoospermia obturacyjna

Etiologia. Azoospermia obturacyjna stanowi 7–51% przypadków azoospermii i jest spowodowana niedrożnością dróg wyprowadzających plemniki od sieci jądra do cewki moczowej (Jarvi i wsp., 2010; Oszukowska i wsp., 2016). Najczęstszymi przyczynami są jatrogenne następstwa zabiegów operacyjnych lub diagnostycznych na nasieniowodach (wazektomia, operacje przepukliny pachwinowej, niepoprawnie wykonana wazografia) lub najądrzu, np. mikrochirurgiczna aspiracja plemników z najądrzy (MESA, ang. *microsurgical epididymal sperm aspiration*), przezskórna aspiracja plemników z najądrzy (PESA, ang. *percutaneous epididymal sperm aspiration*) i hydrocektomia. Rzadszymi przyczynami są wady genetyczne,

np. wrodzony obustronny brak nasieniowodów (CBAVD, ang. *congenital bilateral absence of the vas deferens*), będący następstwem mutacji genu odpowiedzialnego za przewodnictwo przez błonowe w zwłóknieniu torbielowatym (CFTR, ang. *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), na długim ramieniu chromosomu 7, całkowity lub częściowy brak najądrzy, niedrożność przewodu wytryskowego (EDO, ang. *ejaculatory duct obstruction*). Czynnikiem powodującym OA może być również zapalenie narządów męskiego układu moczowo-płciowego o różnej etiologii (Filipiak i wsp., 2015; Weidner i wsp., 2010).

Diagnostyka. Badaniem fizykalnym stwierdza się prawidłowej wielkości i konsystencji jądra oraz często twarde, tkliwe najądrza. Diagnostyka endokrynologiczna wskazuje na prawidłowe stężenia gonadotropin: hormonu folikulotropowego (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*, hormon folikulotropowy, folikulina) i luteinizującego

(LH, ang. *luteinizing hormone*, hormon luteotropowy), testosteronu i inhibiny B, co potwierdza niezakłóconą aktywność osi sprzężenia zwrotnego podwzgórze-przysadka-jądra (Andersson i wsp., 2004; Behre i wsp., 2010; Forti i wsp., 2010; Simoni i Nieschlag, 2010; Sochaj, 2015) (tabela 1). Ważnym badaniem jest ocena aktywności obojętnej α -glukozydazy (NAG, ang. *neutral α -glucosidase*) w płazmie nasienia (norma ≥ 20 IU/ejakulat) (Cooper i wsp., 2010; Dohle, 2010; Yeung i Cooper, 2010; WHO, 2010). Obniżenie aktywności NAG może wskazywać na niedrożność przewodów najądrza i nasieniowodów. Rozpoznanie CBAVD wymaga uzupełnienia diagnostyki o ocenę mutacji genu CFTR (Celep i wsp., 2006; Krausz, 2010; Simoni i Wieacker, 2010; Song i wsp., 2016) (rycina 1, tabela 2). Uzupełnienie diagnostyki o badanie ultrasonograficzne (USG, ang. *ultrasonography*) przezmosznowe lub przezodbytnicze (TRUS, ang. *transrectal ultrasonography*)

Tabela 1. Diagnostyka różnicowa w azoospermii obturacyjnej i nieobturacyjnej

Przyczyna	NAG	FSH	LH	Inhibina B	Testosteron	Objętość jąder
Azoospermia obturacyjna	↓	↔	↔	↔	↔	↔
Azoospermia nieobturacyjna						
Hipogonadyzm pierwotny	↔	↑	↑	↓	↓	↓
Hipogonadyzm wtórny	↔	↓	↓	↓	↓	↓

FSH – hormon folikulotropowy; LH – hormon luteinizujący; NAG – obojętna α -glukozydaza

Table 1. Differential diagnostics in obstructive and non-obstructive azoospermia

Cause	NAG	FSH	LH	Inhibin B	Testosterone	Testicular volume
Obstructive azoospermia	↓	↔	↔	↔	↔	↔
Non-obstructive azoospermia:						
Primary hypogonadism	↔	↑	↑	↓	↓	↓
Secondary hypogonadism	↔	↓	↓	↓	↓	↓

FSH – follicle stimulating hormone; LH – luteinizing hormone; NAG – neutral α -glucosidase

Tabela 2. Zalety i wady dostępnych testów genetycznych (Song i wsp., 2016)

Metoda	Zalety	Wady
CGH z wykorzystaniem mikromacierzy	CNV obecne, mniejsze koszty niż sekwencjonowanie	ograniczone rozwiązanie, brak SNP/ pojedynczej mutacji w porównaniu do kompleksowej analizy
weryfikacja SNP z wykorzystaniem mikromacierzy	ocena polimorfizmu pojedynczego nukleotydu / CNV obecne, mniejsze koszty niż sekwencjonowanie	ograniczone rozwiązanie, brak informacji o pojedynczej mutacji w porównaniu do kompleksowej analizy
Sekwencjonowanie eksomu	rozwiązanie wysokiej jakości: polimorfizm pojedynczego nukleotydu, mutacja, obecne	ograniczenie do kodowanych regionów, kompleksowa analiza, bardziej kosztowne niż mikromacierze
Sekwencjonowanie całego genomu	rozwiązanie wysokiej jakości, SNP, mutacja, CNV obecne, włączając niekodowane rejony	kompleksowa analiza, ok. 10 × bardziej kosztowna niż sekwencjonowanie ¹ eksomu

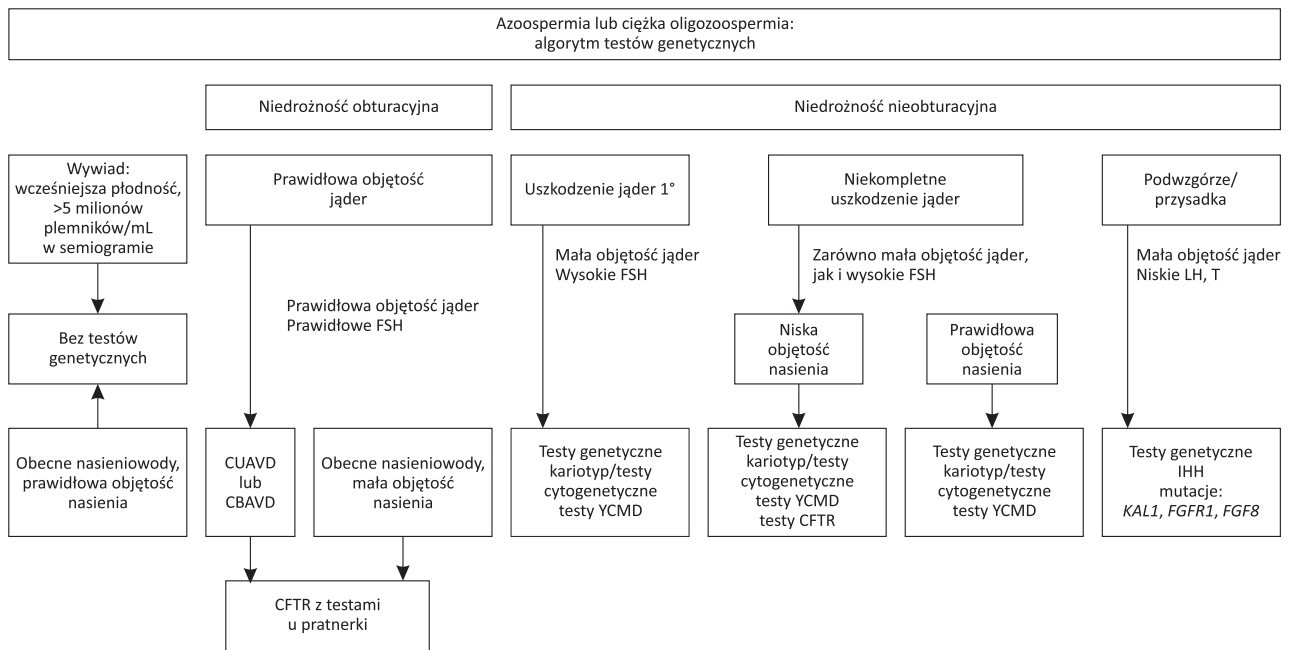
CGH – porównawcza hybrydyzacja genomowa, CNV – warianty liczby kopii genów, SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu

¹ sekwencja eksonów wszystkich genów, czyli ich odcinków kodujących (przyp. red.)

Table 2. Advantages and disadvantages of available genetic tests (Song et al., 2016)

Method	Advantages	Disadvantages
CGH microarray	CNV information, less costly than sequencing	limited resolution, no SNP/point mutation information, relatively complex analysis
SNP microarray	SNP/CNV information, less costly than sequencing	limited resolution, no point mutation, relatively complex analysis
Whole genome sequencing	high-resolution: SNP/ mutation/ CNV information, including noncoding regions	complex analysis, about 10 × more costly than exome sequencing

CGH – comparative genomic hybridization; CNV – copy number variation; SNP – single nucleotide polymorphism



Ryc. 1. Algorytm diagnostyki genetycznej (Wosnitzer, 2014). CBAVD – wrodzony obustronny brak nasieniowodów, CFTR – białkowy regulator przewodnictwa przez błonowego w zwłóknieniu torbielowatym, CUAVD – wrodzony jednostronny brak nasieniowodów, *FGF8* – gen kodujący czynnik wzrostu fibroblastów 8, *FGFR1* – gen kodujący receptor typu 1 dla czynnika wzrostu fibroblastów, FSH – hormon folikulotropowy, IHH – idiopatyczny hipogonadyzm hipogonadotropowy, *KAL1* – gen kodujący białko anosminę 1, LH – hormon luteinizujący, T – testosteron, YCMD – mikrodelecje chromosomu Y

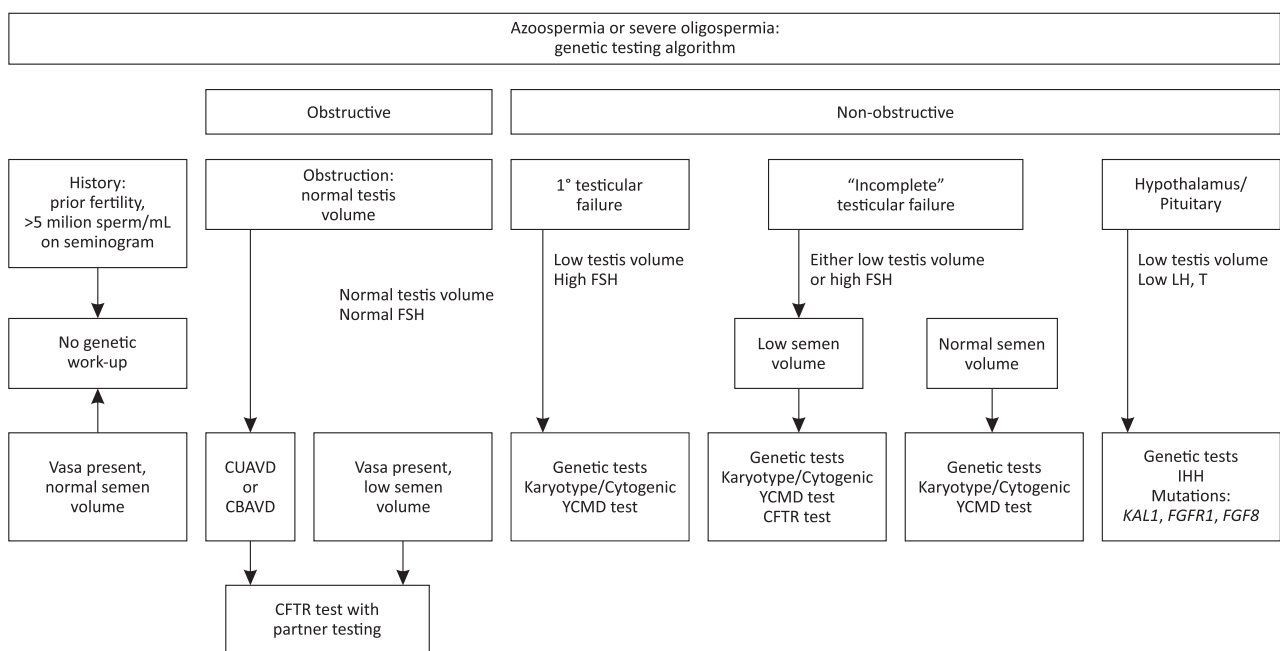


Fig. 1. Algorithm of genetic diagnostics (Wosnitzer, 2014). CBAVD – congenital bilateral absence of the vas deferens; CFTR – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CUAVD – congenital unilateral absence of the vas deferens, *FGF8* – fibroblast growth factor 8 gene, *FGFR1* – fibroblast growth factor receptor 1 gene, FSH – follicle-stimulating hormone; IHH – idiopathic hypogonadotropic hypogonadism, *KAL1* – anosmin-1 gene, LH – luteinizing hormone, T – testosterone, YCMD – Y chromosome microdeletions

pozwole ocenić budowę anatomiczną najądrzy, prostaty i pęcherzyków nasiennych (Behre i Zitzmann, 2010; Fisch i wsp., 2006; Isidori i Lenzi, 2008). Biopsja jądra chirurgiczna (otwarta) lub gruboigłowa (przezskórna) i badanie histopatologiczne wycinka to najlepsze, ale ostateczne metody oceny struktury jądra i stanu nabłonka plemnikotwórczego. Jest ona polecana w przypadku możliwej obecności plemników w jądrach i akceptacji ich

wykorzystania do metod rozrodu wspomaganego medycznie (ART, ang. *assisted reproductive technique*) przez nieplodną parę (Deja, 2009; Dohle i wsp., 2012). **Terapia.** Leczenie OA jest zwykle leczeniem operacyjnym obejmującym mikrochirurgiczną rekonstrukcję przewodów wyprowadzających plemniki (vasovasostomia lub vasoepididymostomia) z możliwym pozyskaniem plemników do zapłodnienia pozaustrojowego (IVF, ang.

in vitro fertilization), również na wypadek nieskutecznej operacji. Efektywność operacji rekonstrukcyjnych szacowana jest obecnie dla vasovasostomii na 70–95,5% uzyskania drożności i 36–92% uzyskania ciąży, a dla vasoepididymostomii na 30–90% uzyskania drożności i 20–50% uzyskania ciąży (Engelmann i Gralla, 2010; Wostnizer i wsp., 2014). Inna technika operacyjna stosowana w przypadku EDO polega na przezcewkowym wycięciu ujść przewodów wytryskowych (resekcja wzgórka nasennego) (TURED, ang. *transurethral resection of the ejaculatory ducts*), która może być uzupełniona pozyskaniem plemników do IVF. U pacjentów z CBAVD lub takich, u których nie udaje się przywrócić drożności przewodów wyprowadzających plemniki, leczeniem z wyboru jest MESA lub przeszczepna aspiracja plemników z jąder i najądrzy (TESA, ang. *testicular epididymal sperm aspiration*) w celu przeprowadzenia procedury zapłodnienia pozaustrojowego: IVF lub wstrzyknięcie plemnika do cytoplazmy komórki jajowej (ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm injection*). Wyniki uzyskania ciąży po zastosowaniu plemników świeżych lub mrożonych pobranych z najądrza lub jądra są porównywalne (van Wely i wsp., 2015).

Azoospermia nieobturacyjna

Etiologia. Azoospermia nieobstrukcyjna stanowi 60% przyczyn azoospermii i jest spowodowana pierwotnym lub wtórnym uszkodzeniem czynności jąder (Kula i Słowikowska-Hilczner, 2016). Przyczyny NOA dzieli się na:

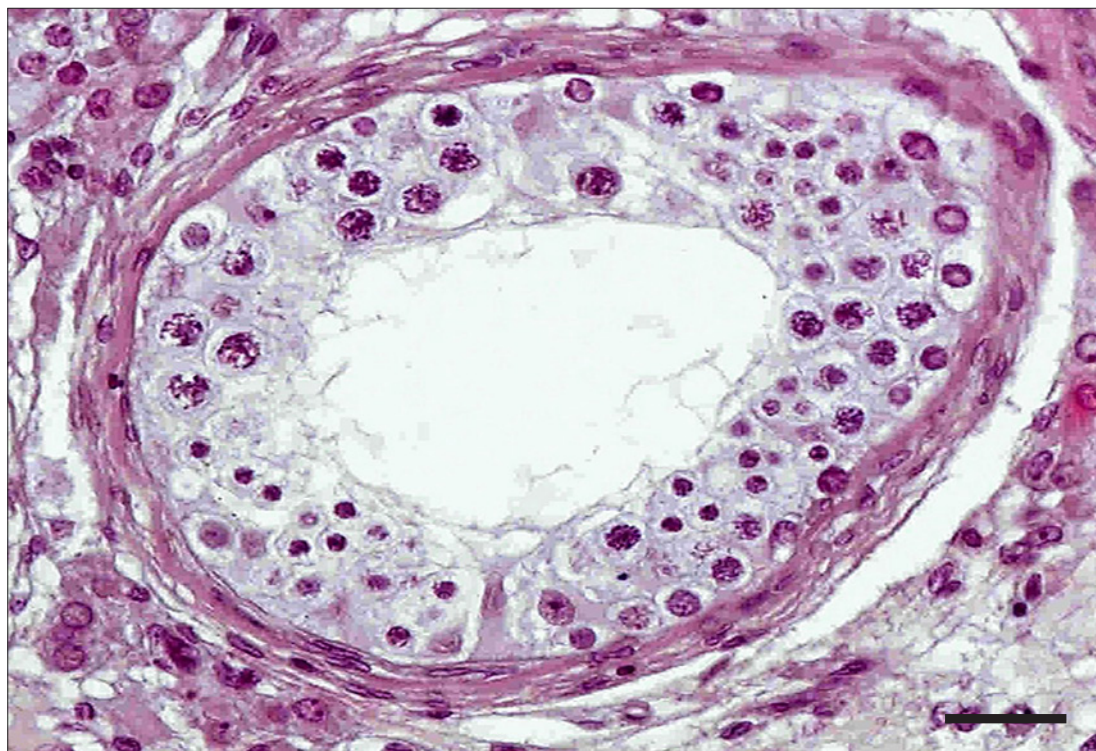
- przedjądrowe – genetyczne, np. zespół Kallmana, wrodzona niedoczynność przysadki, i nabyte, np. nowotwory okolicy podwzgórzowo-przysadkowej, zapalenia, urazy, naświetlania ośrodkowego układu nerwowego, hiperprolaktynemia,
- jądrowe – genetyczne, np. zespół Klinefeltera, dysgenезja jąder, mikrodelecje regionu AZF (ang. *azoospermic factor*) chromosomu Y, niewrażliwość na androgeny, i nabyte będące następstwem działania chorób, np. nowotwory, zapalenia, urazy jąder, oraz czynników fizycznych i chemicznych uszkadzających jądra, np. zwiększona temperatura, radio- i chemioterapia, niektóre leki, ksenoestrogeny.

Diagnostyka. Dla różnicowania przyczyn NOA istotne są wyniki badań hormonalnych oraz pomiarów wielkości jąder. W uszkodzeniu pierwotnym jąder podwyższone są stężenia FSH i LH (>8 IU/L) i obniżone stężenie inhibiny B (<100 ng/mL) we krwi, a wielkość jąder jest poniżej dolnej granicy normy (<12 mL) (tabela 1). We wtórnym zaburzeniu czynności jąder niskie stężenia FSH i LH (<1 IU/L) oraz małe jądra. W postaci niekompletnej można stwierdzić zwiększone stężenie FSH z prawidłową objętością jąder lub prawidłowe stężenie FSH z małymi jądrami albo prawidłowe FSH z prawidłową objętością jąder (Andersson i wsp., 2004; Behre i wsp., 2010; Forti i wsp., 2010; Kula i Słowikowska-Hilczner, 2016; Simoni i Nieschlag, 2010; Sochaj, 2015; Wostnizer i wsp., 2014).

W badaniu histopatologicznym biopsatów z jąder z NOA stwierdza się:

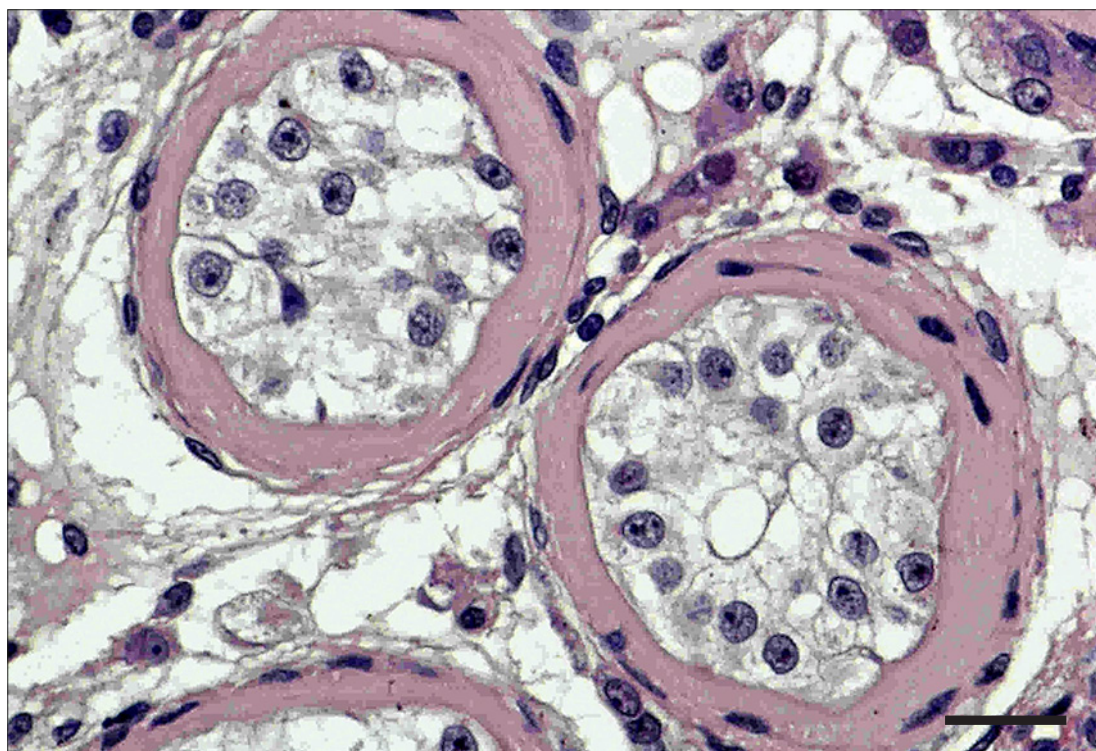
- hipospermatogenezę – znacznie zmniejszona liczebność komórek spermatogenezy i pojedyncze plemniki,
- zatrzymanie dojrzewania komórek spermatogenezy (ang. *spermatogenesis maturation arrest*) na różnych etapach rozwoju (spermatogonii, spermatocytów, spermatyd) (rycina 2),
- zespół samych komórek Sertolego (SCO, ang. *Sertoli cell only syndrome*) – brak jest komórek płciowych (rycina 3),
- niedojrzałość struktury jądra – kanaliki plemnikotwórcze o zmniejszonej średnicy, bez światła, zawierające komórki początkowych etapów spermatogenezy i niedojrzałe komórki Sertolego, przestrzenie międzykanalikowe są małe, brak jest komórek Leydiga (rycina 4),
- dysgenезję struktury jądra – kanaliki plemnikotwórcze o zmniejszonej średnicy, w obrębie światła częste są tzw. ciała hialinowe, płodowe komórki płciowe i spermatogonie oraz niedojrzałe komórki Sertolego, przestrzenie międzykanalikowe są znacznie poszerzone (rycina 5),
- zanik kanalików plemnikotwórczych – zwłóknienie błony kanalikowej, zanik nabłonka plemnikotwórczego, a w ostatnim stadium całkowity brak nabłonka i światła kanalików (tzw. cienie kanalikowe) (rycina 6),
- nowotwór z komórek płciowych *in situ* (GCNIS, ang. *germ cell neoplasia in situ*) – przetrwałe płodowe komórki płciowe (tzw. gonocyty) zmienione nowotworowo w kanalikach o zmniejszonej średnicy, a w sąsiedztwie mogą się znajdować kanaliki o większej średnicy z pełną spermatogenezą (rycina 7),
- inwazyjny nowotwór z komórek płciowych (GCT, ang. *germ cell tumour*) – nasieniaki (łac. *seminoma*), raki zarodkowe (łac. *carcinoma embryonale*), kosmówczaki (łac. *choriocarcinoma*), potworniaki (łac. *teratoma*) (rycina 8),
- hipoplazję komórek Leydiga – w przestrzeniach międzykanalikowych obecne tylko komórki fibroblastopodobne, które są prekursorami komórek Leydiga,
- hiperplazję komórek Leydiga – zwiększona liczebność komórek Leydiga, miejscami mogą powstawać mikrogruczołaki,
- nowotwór z komórek Leydiga (łac. *leydigoma*) – zwykle nowotwór łagodny,
- mieszany obraz histologiczny.

Diagnostyka genetyczna NOA obejmuje najczęściej wykonanie kariotypu i oceny mikrodelecji w długim ramieniu chromosomu Y u pacjentów z niepłodnością pierwotną, bez podejrzenia niedrożności dróg wyprowadzających nasienie lub toksycznego uszkodzenia. Ocena kariotypu pozwala na określenie liczbowych i strukturalnych nieprawidłowości chromosomalnych, które w NOA szacuje się na 19% (Alhalabi i wsp., 2015) (rycina 1, tabela 2). Najczęstszym zaburzeniem genetycznym jest zespół Klinefeltera (w 80% z kariotypem



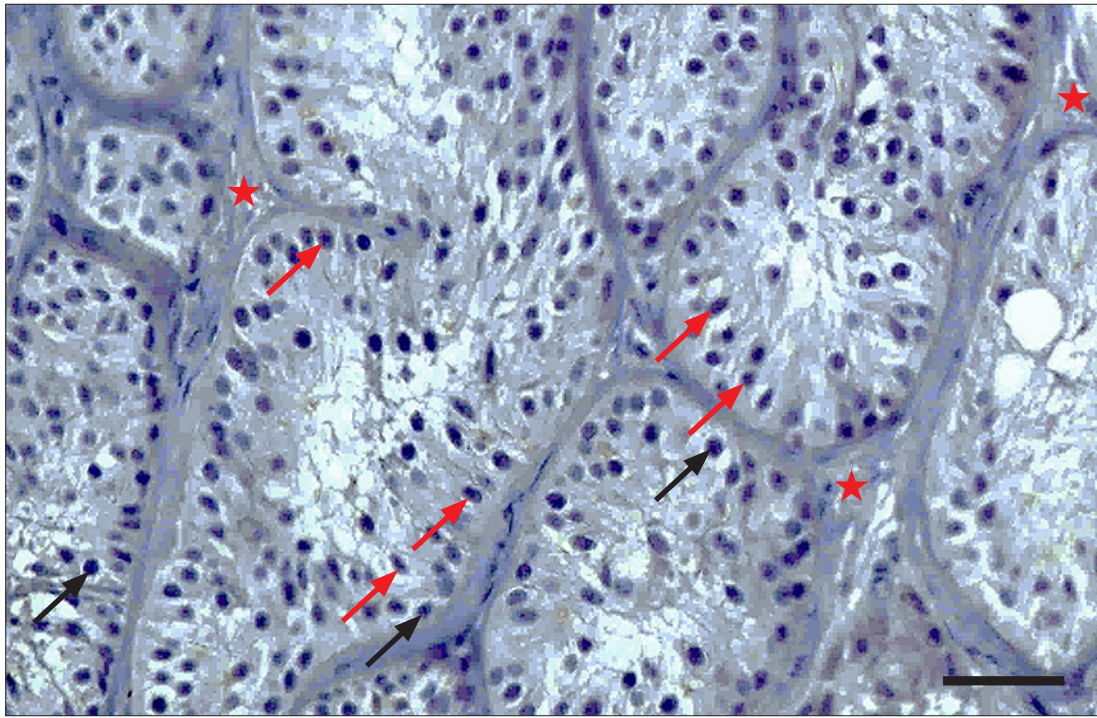
Ryc. 2. Przekrój poprzeczny przez kanalik plemnikotwórczy jądra dorosłego mężczyzny. Zatrzymanie dojrzewania komórek spermatogenezy na etapie spermatocytów. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Skala = 20 μ m

Fig. 2. Cross section through the seminiferous tubule of an adult man testis. Spermatogenesis maturation arrest at the stage of spermatocytes. Hematoxylin and eosin staining. Scale bar = 20 μ m



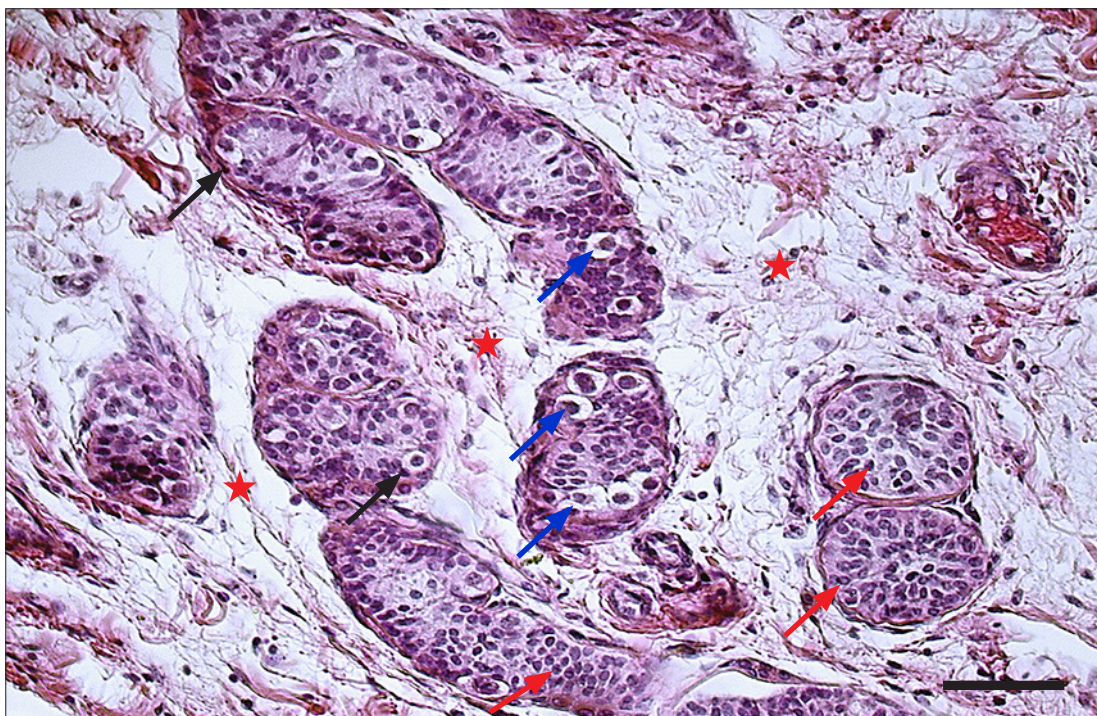
Ryc. 3. Przekrój poprzeczny przez kanaliki plemnikotwórcze jądra dorosłego mężczyzny. Zespół samych komórek Sertolego. Pogrubiała blaszka właściwa kanalik. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Skala = 20 μ m

Fig. 3. Cross section through the seminiferous tubules of an adult man testis. Sertoli cell only syndrome. Lamina propria of tubule is thickened. Hematoxylin and eosin staining. Scale bar = 20 μ m



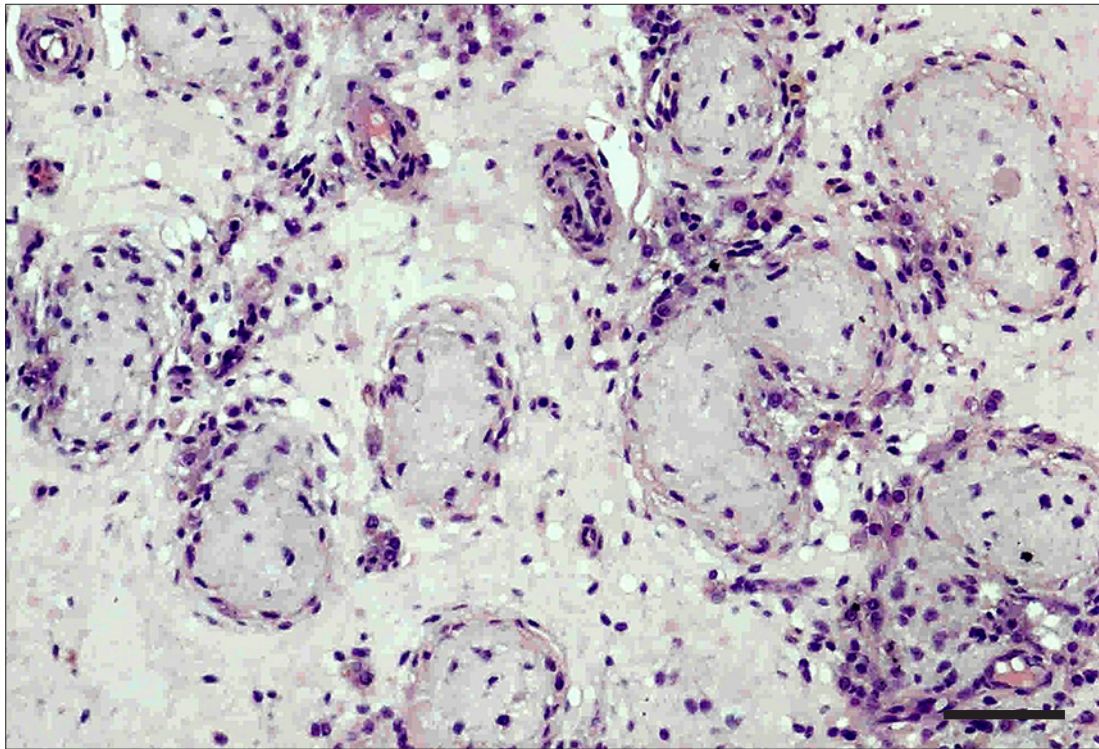
Ryc. 4. Niedojrzała struktura jądra chłopca w okresie przeddojrzewaniowym. Przekroje poprzeczne przez kanaliki plemnikotwórcze o zmniejszonej średnicy, bez światła, zawierające pojedyncze spermatogonie (strzałki czarne) i niedojrzałe komórki Sertolego (strzałki czerwone). Przestrzenie międzykanalikowe są małe, bez komórek Leydiga (gwiazdki). Barwienie hematoksyliną i eozyną. Skala = 40 μ m

Fig. 4. Immature structure of a prepubertal boy testis. Cross section through the seminiferous tubules with decreased diameter, without lumen, containing single spermatogonia (black arrows) and immature Sertoli cells (red arrows). Intertubular spaces are small, without Leydig cells (asterisks). Hematoxylin and eosin staining. Scale bar = 40 μ m



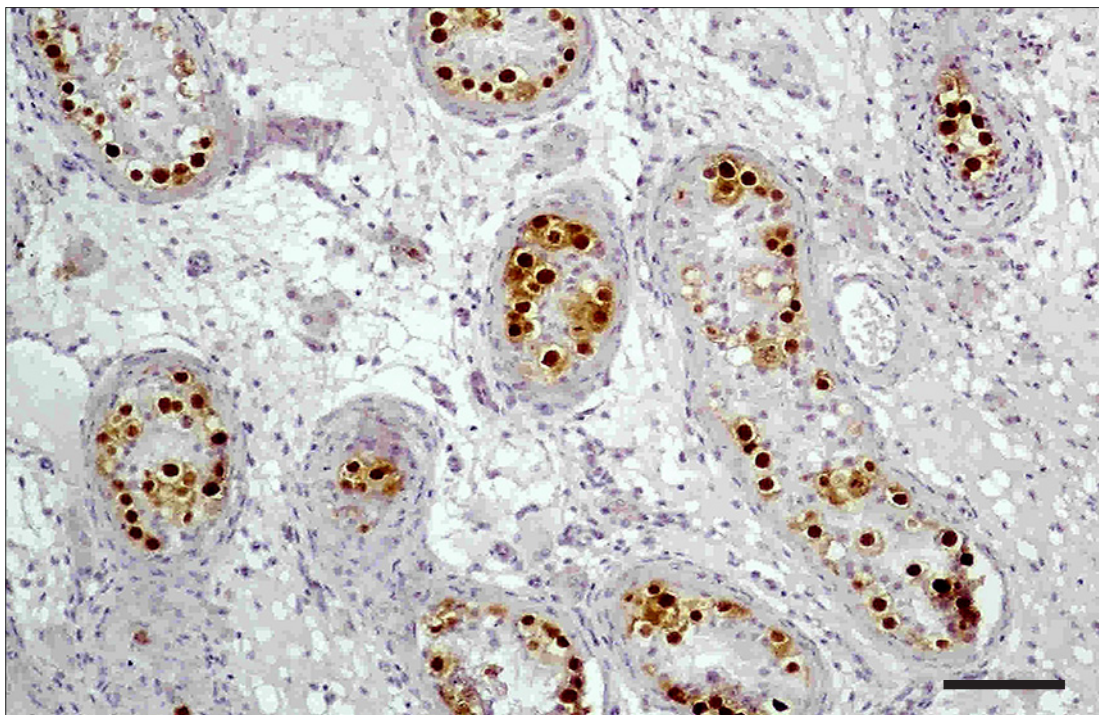
Ryc. 5. Struktura dysgenetycznego jądra dziecka. Przekroje przez kanaliki plemnikotwórcze o zmniejszonej średnicy, zawierające płodowe komórki płciowe (strzałka niebieska), spermatogonia (strzałki czarne) i niedojrzałe komórki Sertolego (strzałki czerwone). Przestrzenie międzykanalikowe są znacznie poszerzone, brak jest komórek Leydiga (gwiazdki). Barwienie hematoksyliną i eozyną. Skala = 40 μ m

Fig. 5. Structure of dysgenetic testis of a child. Section through the seminiferous tubules with decreased diameter, without lumen, containing fetal germ cells (blue arrow), spermatogonia (black arrows) and immature Sertoli cells (red arrows). Intertubular spaces are increased, without Leydig cells (asterisks). Hematoxylin and eosin staining. Scale bar = 40 μ m



Ryc. 6. Zanik kanalików plemnikotwórczych jądra dorosłego mężczyzny. Zwłóknienie blaszki właściwej kanalika i całkowity zanik nabłonka plemnikotwórczego, tzw. cienie kanalikowe. Barwienie hematoksylina i eozyną. Skala = 40 μm

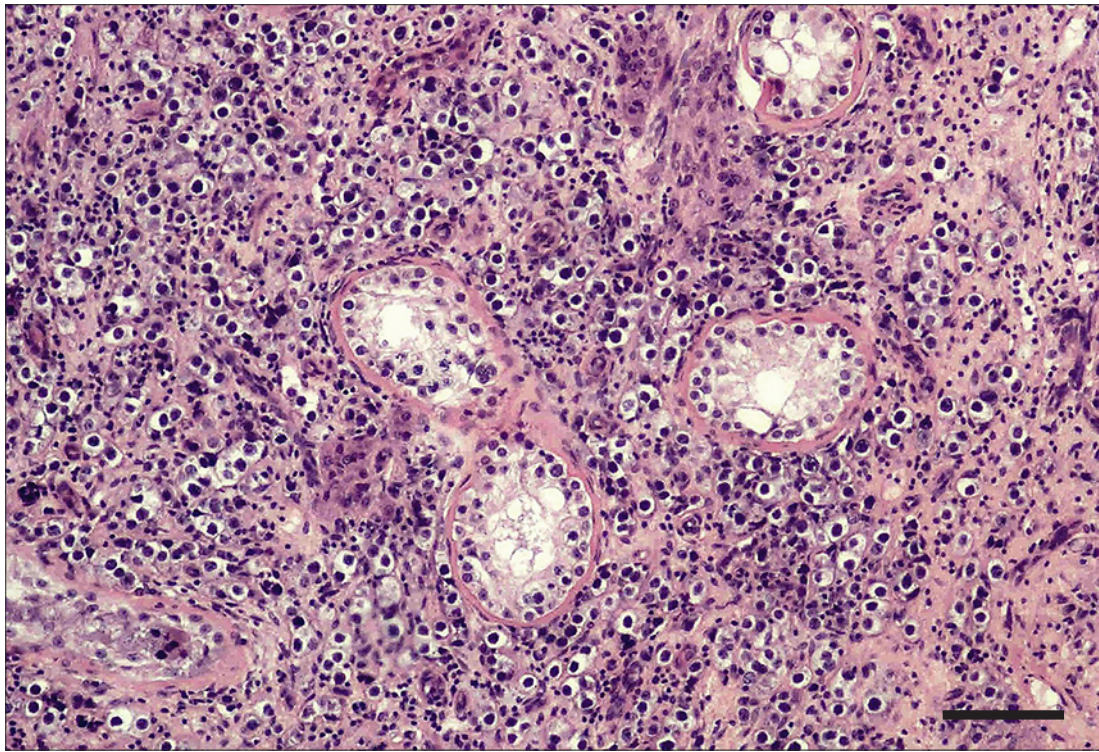
Fig. 6. Atrophy of seminiferous tubules in an adult man testis. Fibrosis of lamina propria and total atrophy of seminiferous epithelium (tubular shadows). Hematoxylin and eosin staining. Scale bar = 40 μm



Ryc. 7. Nowotwór z komórek płciowych *in situ*. Zmienione nowotworowo przetrwałe płodowe komórki płciowe w kanalikach plemnikotwórczych o zmniejszonej średnicy i pogrubiałej blaszce właściwej w dysgenetycznym jądrze dorosłego mężczyzny. Pozytywna reakcja immunohistochemiczna z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko OCT3/4¹ w jądrach płodowych komórek płciowych (brązowe zabarwienie). Barwienie hematoksylina. Skala = 40 μm

Fig. 7. Germ cell neoplasia *in situ*. Persisted fetal germ cells transformed neoplastically in seminiferous tubules with decreased diameter and thickened lamina propria in a dysgenetic testis of an adult man. Positive immunohistochemical reaction with antibodies against OCT3/4 in fetal germ cells (brown staining). Hematoxylin staining. Scale bar = 40 μm

¹ OCT3/4 – czynnik transkrypcyjny zawierający homeodomenę klasy 5 POU, znany również jako POU5F1. Istotny we wczesnych etapach embriogenezy, jeden z kluczowych regulatorów pluripotencji. Wykazuje swoją ekspresję w jądrach wczesnych komórek embrionalnych, płciowych i macierzystych. Marker m. in. nowotworów wywodzących się z pierwotnych płodowych komórek płciowych i raków zarodkowych (przyp. red.)



Ryc. 8. Inwazyjny nowotwór z komórek płciowych – nasieniak (łac. *seminoma*) w jądrze dorosłego mężczyzny. Widoczne kanalikule plemnikotwórcze ze zmienionymi nowotworowo przetrwałymi płodowymi komórkami płciowymi i niedojrzałymi komórkami Sertolego. Barwienie hematoksyliną i eozyną. Skala = 40 μ m

Fig. 8. Invasive germ cell neoplasia – seminoma in the testis of an adult man. Seminiferous tubules with persisted fetal germ cells transformed neoplastically. Hematoxylin and eosine staining. Hematoxylin and eosin staining. Scale bar = 40 μ m

47,XXY). Częstość występowania tego schorzenia określa się na 1/500–1000 mężczyzn (Nieschlag, 2013; Purwin i Słowikowska-Hilczler, 2015). Mutacje w regionie AZF na długim ramieniu chromosomu Y stwierdzono u 10–20% mężczyzn z azoospermia (Fu i wsp., 2015; Miyamoto i wsp., 2015; Liu i wsp., 2016; Wosnitzer, 2014). Umieszczenie mutacji w określonym regionie AZF determinuje skuteczność pozyskania plemników z biopsji oraz efektywność uzyskania ciąży przy użyciu tak pobranych gamet (Choi i wsp., 2004; Liu i wsp., 2016). Najlepsze wyniki uzyskuje się u pacjentów z mikrodelecjami w rejonie AZFc. Męskie potomstwo tych pacjentów dziedziczy te same nieprawidłowości genetyczne co ich ojcowie i wykazuje podobne zaburzenia płodności.

Trwają intensywne prace nad poszukiwaniem testów genetycznych, które usprawniłyby diagnostykę i leczenie NOA oraz ciężkiej oligozoospermii (rycina 1). Biorąc pod uwagę fakt, iż spermatogeneza jest złożonym procesem sterowanym wielogenowo (ponad 2000 genów) oraz zależnym od działania czynników środowiskowych, wydaje się, że zastosowanie w praktyce testów genetycznych może mieć duże znaczenie w algorytmie diagnostyczno-terapeutycznym. Duże nadzieje wiąże się z wprowadzeniem do praktyki testów molekularnych nasienia, takich jak:

- analiza małych niekodujących RNA (sncRNA, ang. *small non-coding RNA*), matrycowych RNA (mRNA, ang. *messenger RNA*), mikro RNA (miRNA, ang. *micro*

RNA), niekodujących cząsteczek RNA tworzących kompleksy z białkami piwi (piRNA, ang. *piwi-interacting RNA*),

- analiza modyfikacji epigenetycznych (modyfikacje chemiczne w obrębie histonów i/lub protamin),
- analiza produktów potranslacyjnej modyfikacji genów i genów naprawy DNA (ang. *DNA damage repair genes*),
- analiza polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP, ang. *single nucleotide polymorphism*),
- identyfikacja innych czynników zaburzających spermatogenezę.

Wymienione powyżej analizy różnią się rodzajem i złożonością przekazywanej informacji oraz kosztami (Bienie i wsp., 2016; Hong i wsp., 2016; Song i wsp., 2016) (tabela 2). Wstępne badania nowych testów diagnostyki genetycznej prowadzone na modelu zwierzęcym napotykały trudności w sytuacji ekstrapolowania ich zastosowania u ludzi. Są jednak nadal niezbędnym i cennym źródłem wiedzy (Massart i wsp., 2012).

Terapia. Wydaje się, iż brak jest istotnej skuteczności w leczeniu hormonalnym wszystkich pacjentów z NOA. Próby podawania preparatów o działaniu antyestrogennym (klomifen, tamoksyfen, inhibitory aromatazy) i słabo działających androgenów (undecylenian testosteronu) oraz preparatów ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG, ang. *human chorionic gonadotropin*) lub menopauzalnej (hMG, ang. *human menopausal gonadotropin*), a także preparatów czystego FSH i LH tylko w niektórych

przypadkach prowadzą do pojawienia się plemników w nasieniu lub do zwiększenia liczebności dojrzałych spermatyd w jądrach (Ramasamy i wsp., 2009; Reifsnnyder i wsp., 2012; Rohayem i wsp., 2015). Mechanizm działania preparatów o działaniu antyestrogennym polega na wyeliminowaniu hamującego wpływu estradiolu na przysadkę, co powoduje zwiększenie wydzielania gonadotropin pod warunkiem, że przysadka nie jest uszkodzona. Podwyższone stężenia FSH i LH stymulują spermatogenezę i biosyntezę testosteronu w jądrach. Jednak zbyt mało jest badań klinicznych przeprowadzonych na większych grupach pacjentów z NOA, aby określić jednoznacznie wskazania do podawania tych preparatów (Anawalt, 2013; Chua i wsp., 2013; Koukkou i wsp., 2012). Są one stosowane na razie poza zarejestrowanymi wskazaniami (ang. *off-label*). Jedynym zarejestrowanym wskazaniem do stosowania gonadotropin u pacjentów z NOA jest hipogonadyzm hipogonadotropowy. Substytucyjne podawanie jedynie preparatów testosteronu prowadzi do zablokowania wydzielania gonadotropin przez przysadkę, a tym samym do zatrzymania czynności plemnikotwórczej i hormonalnej jąder, nie poprawia więc płodności.

Leczenie operacyjne żyłaków powrózków nasieniowych u pacjentów z NOA może usprawnić spermatogenezę na drodze poprawy krążenia w obrębie jąder, obniżenia stresu oksydacyjnego i zmniejszenia temperatury w jądrach. Skuteczność tej metody ocenianej pojawieniem się plemników w ejakulacji wynosi 22–55% (Wosnitzer i wsp., 2014). Szacuje się, iż ogranicza ona wykonanie zabiegu TESA i pobrania plemników z jąder (TESE, ang. *testicular sperm extraction*) oraz procedury ICSI u 10–40% mężczyzn (Wosnitzer i wsp., 2014).

Pozyskiwanie plemników lub spermatyd z jąder i wykorzystanie ich do ICSI jest często jedynym możliwym sposobem uzyskania własnego biologicznie potomstwa przez pacjentów z NOA (Świniarski, 2015) (tabela 3). U mężczyzn z zespołem Klinefeltera plemniki

w nasieniu znajduje się w 10–50% przypadków (Aksglaede i Juul, 2013; Ramasamy i wsp., 2009; Rohayem i wsp., 2015). Zespół Klinefeltera jest najczęstszą genetyczną przyczyną męskiej niepłodności i występuje u 11% mężczyzn z NOA (Nieschlag, 2013). Skuteczne naturalne zapłodnienie plemnikami mężczyzny z kariotypem 47,XXY opisano w 1982 roku (Laron i wsp., 1982), a za pomocą ICSI w 1997 roku (Bourne i wsp., 1997). U chłopców w okresie dojrzewania płciowego lub młodych mężczyzn szansa na uzyskanie plemników z jąder wydaje się największa, gdyż wraz z wiekiem postępuje degeneracja kanalików jądra i zanik nabłonka plemnikotwórczego (Aksglaede i Juul, 2013; Bryson i wsp., 2014; Damani i wsp., 2001; Ramasamy i wsp., 2009; Rohayem i wsp., 2015; Scuriano i wsp., 2009). Większość potomstwa mężczyzn z zespołem Klinefeltera ma prawidłowy kariotyp (Lanfranco i wsp., 2004; Morel i wsp., 2003), ale ze względu na zwiększone ryzyko autosomalnych aneuploidii w plemnikach (głównie trisomii 13, 18 i 21 pary chromosomów) istotna jest przedkoncepcyjna i przedimplantacyjna diagnostyka genetyczna (Nieschlag, 2013; Purwin i Słowikowska-Hilczner, 2015).

Dysgeneza jąder może być różnie zaawansowana: od całkowitego braku struktury jąder do nieznacznych zaburzeń rozwoju kanalików plemnikotwórczych. Im większy stopień zaburzenia, tym mniejsza szansa na istnienie prawidłowej spermatogenezy, za to duże ryzyko występowania GCT (Rajpert-DeMeyts, 2006; Skakkebaek i wsp., 2001; Słowikowska-Hilczner i wsp., 2007). W przypadku podejrzenia dysgenezy jąder takie gonady są zwykle usuwane w okresie przeddojrzewaniowym jako prewencja nowotworowa. Pozbawia się jednak te osoby szansy na płodność, gdyż nie wykluczone, że plemniki (zwykle pojedyncze) mogą się pojawić w gonadach dorosłych osób. W ostatnich latach coraz więcej jest zwoleńników pozostawiania gonad dysgenetycznych oraz wykonania biopsji i oceny histopatologicznej biopsji w kierunku ryzyka zmian nowotworowych (Dieckmann i wsp., 2011; Słowikowska-Hilczner i wsp., 2015).

Tabela 3. Skuteczność leczenia azoospermii nieobturacyjnej z pozyskaniem plemników do IVF/ICSI za pomocą microTESE w Uniwersytecie Cornell (Nowy Jork, USA) w zależności od przyczyny (Wosnitzer i wsp., 2014)

Choroba	% uzyskanych plemników	% uzyskanych ciąż
Wnętrostwo	64	50%
Azoospermia po chemioterapii	48	40%
Zespół Klinefeltera (47,XXY i mozaiki)	65	40%
Mikrodelecie w rejonie AZFc chromosomu Y	72	46%
Zatrzymanie spermatogenezy	50	29%
Zespół samych komórek Sertolego	44	46%

AZF – czynnik ulegający delecji w azoospermii, ICSI – wstrzyknięcie plemnika do cytoplazmy komórki jajowej, IVF – zapłodnienie pozaustrojowe, microTESE – mikrochirurgiczne pobranie plemników z jąder

Table 3. The effectiveness of nonobstructive azoospermia treatment with sperm retrieval using microTESE for IVF/ICSI at Cornell University (New York, USA) depending on the cause (Wosnitzer et al., 2014).

Condition	Sperm retrieval rate (%)	Pregnancy rate (%)
Cryptorchidism	6	50
Post-chemotherapy azoospermia	48	40
Klinefelter syndrome (47,XXY and mosaics)	65	40
Microdeletion of AZFc region in Y chromosome	72	46
Spermatogonial maturation arrest	50	29
Sertoli cell only syndrome	44	46

AZF – azoospermia factor; ICSI – intracytoplasmic sperm injection; IVF – *in vitro* fertilization; microTESE – microsurgical testicular sperm extraction

Piśmiennictwo

- Adamopoulos D., Mitos G., Nicosopolou S.: Defining male factor infertility. W: Clinical Andrology. EAU/ESAU course guidelines. Red. L. Bjorndahl, A. Giwercman, H. Tournaye, W. Weidner. Informa Health, 2010, 293–300.
- Akslaade L., Juul A.: Testicular function and fertility in men with Klinefelter syndrome: a review. *Eur J Endocrinol.* 2013, 168 (4), 67–76. doi: 10.1530/EJE-12-0934. PMID: 23504510.
- Alhalabi M., Kenj M., Monem F., Mahayri Z., Abou Alchamat G., Madania A.: High prevalence of genetic abnormalities in Middle Eastern patients with idiopathic non-obstructive azoospermia. *J Assist Reprod Genet.* 2015, 30 (6), 799–805. doi: 10.1007/s10815-013-9995-z. PMID: 23615726.
- Anawalt B.D.: Approach to male infertility and induction of spermatogenesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013, 98 (9), 3532–3542. doi:10.1210/jc.2012-2400. PMID: 24014811.
- Andersson A.-M., Petersen J.H., Jorgensen N., Jensen T.K., Skakkebaek N.E.: Serum inhibin B and follicle-stimulating hormone levels as tools in the evaluation of infertile men: significance of adequate reference values from proven fertile men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004, 89, 2873–2879. doi: 10.1210/jc.2003-032148. PMID: 15181071.
- Behre H.M., Nieschlag E., Weidner W., Wieacker P.: Diseases of seminal ducts. W: Andrology. Male reproductive health and dysfunction. E. Nieschlag, H.M. Behre, S. Nieschlag. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, 2010, 273–288.
- Behre H., Zitzmann M.: Imaging diagnostics. W: Andrology. Male reproductive health and dysfunction. Red. E. Nieschlag, H.M. Behre, S. Nieschlag. Springer-Verlag, Heidelberg–Berlin 2010, 101–107.
- Bieniek J.M., Drabovich A.P., Lo K.C.: Seminal biomarkers for the evaluation of male infertility. *Asian J Androl.* 2016, 18(3), 426–433. doi: 10.4103/1008-682X.175781. PMID: 26975492.
- Bourne H., Stern K., Clarke G., Pertile M., Speirs A., Baker H.W.: Delivery of normal twins following the intracytoplasmic injection of spermatozoa from a patient with 47,XXY Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod.* 1997, 12, 2447–2450. doi: 10.1093/humrep/12.11.2447. PMID: 9436682.
- Bryson C.F., Ramasamy R., Sheehan M., Palermo G.D., Rosenwaks Z., Schlegel P.N.: Severe testicular atrophy does not affect the success of microdissection testicular sperm extraction. *J Urol.* 2014, 191 (1), 175–178. doi: 10.1016/j.juro.2013.07.065. PMID: 23911635.
- Celep F., Karaguzel A., Ozeren M., Bozkaya H.: The frequency of chromosomal abnormalities in patients with reproductive failure. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006, 127, 106–109. doi: 10.1016/j.ejogrb.2005.12.019. PMID: 16443317.
- Choi J.M., Chung P., Veeck L., Mielnik A., Palermo G.D., Schlegel P.N.: AZF microdeletions of the Y chromosome and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2004, 81(2), 337–341. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.06.030. PMID: 14967370.
- Chua M.E., Escusa K.G., Luna S., Tapia L.C., Dofitas B., Morales M.: Revisiting oestrogen antagonists (clomiphene or tamoxifen) as medical empiric therapy for idiopathic male infertility: a meta-analysis. *Andrology.* 2013, 1 (5), 749–757. doi: 10.1111/j.2047-927.2013.00107.x. PMID: 23970453.
- Cooper T.G., Noonan E., von Eckardstein S., Auger J., Baker H.W., Behre H.M. i wsp.: World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update.* 2010, 16 (3), 231–245. doi: 10.1093/humupd/dmp048. PMID: 19934213.
- Damani M.N., Mittal R., Oates R.D.: Testicular tissue extraction in a young male with 47,XXY Klinefelter's syndrome: potential strategy for preservation of fertility. *Fertil Steril.* 2001, 76, 1054–1056. doi: 10.1016/S0015-0281(01)02837-0. PMID: 11704135.
- Deja T.: Pozyskiwanie plemników u pacjentów z azoospermią. *Przegl Urol* 2009, 6 (58), 49–52.
- Dieckmann K.P., Kulejewski M., Heinemann V., Loy V.: Testicular biopsy for early cancer detection – objectives, technique and controversies. *Int J Androl.* 2011, 34, e7–13. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01152.x. PMID: 21615417.
- Dohle G.R.: Clinical investigation of the infertile man. W: Clinical andrology. EAU/ESAU course guidelines. Red. L. Bjorndahl, A. Giwercman, H. Tournaye, W. Weidner. Informa Health, 2010, 293–300. doi: 10.1038/aja.2011.57. PMID: 22157985.
- Dohle G.R., Elzanaty S., van Casteren N.J.: Testicular biopsy: clinical practice and interpretation. *Asian J Androl.* 2012, 14 (1), 88–93. doi: 10.1038/aja.2011.57. PMID: 22157985.
- Engelmann U., Gralla O.: Vasectomy and refertilization. W: Andrology. Male reproductive health and dysfunction. Red. E. Nieschlag, H.M. Behre, S. Nieschlag. Springer-Verlag, Heidelberg–Berlin, 2010, 565–576.
- Filipiak E., Marchlewska K., Oszkowska E., Walczak-Jedrzejowska R., Swierczynska-Cieplucha A., Kula K. i wsp.: Presence of aerobic microorganisms and their influence on basic semen parameters in infertile men. *Andrologia.* 2015, 47 (7), 826–831. doi: 10.1111/and.12338. PMID: 25209133.
- Fisch H., Lambert S.M., Goluboff E.T.: Management of ejaculatory duct obstruction: etiology, diagnosis, and treatment. *World J Urol.* 2006, 24 (6), 604–610. doi:10.1007/s00345-006-0129-4. PMID: 17077974.
- Forti G., Corona G., Maggi M.: Clinical investigation and laboratory analyses in male hypogonadism. EAU/ESAU course guidelines. Red. L. Bjorndahl, A. Giwercman, H. Tournaye, W. Weidner. Informa Health, 2010, 245–259.
- Fu L., Mao X., Chen S., Zhang H., Wang M., Huang G. i wsp.: Analysis of microdeletions of azoospermia factor genes on Y chromosome in infertile males. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2015, 32 (1), 85–88. doi: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2015.01.019. PMID: 25636108.
- Hong Y., Wang Ch., Fu Z., Liang H., Zhang S., Lu M. i wsp.: Systematic characterization of seminal plasma piRNAs as molecular biomarkers for male infertility. *Sci Rep.* 2016, 6, 224–229. doi: 10.1038/srep24229. PMID: 27068805.
- Isidori A.M., Lenzi A.: Scrotal ultrasound: morphological and functional atlas. Forum Service Editore s.r.l., Genua, 2008.
- Jarvi K., Lo K., Fischer A., Grantmyre J., Zini A., Chow V. i wsp.: CUA Guideline: The workup of azoospermic males. *Can Urol Assoc J.* 2010, 4, 3, 163–167. doi:10.5489/cuaj.10050. PMID: 20514278
- Koukkou E., Billa E., Kapolla N., Pappa A., Venaki E., Andreou L. i wsp.: An empiric treatment for idiopathic oligozoospermia revisited: a 20-year investigative saga. *Andrologia.* 2012, 44 (5), 337–342. doi: 10.1111/j.1439-0272.2012.01286.x. PMID: 22946848.
- Krausz C.: Genetic causes of male infertility and their impact on future generations. W: Clinical andrology. EAU/ESAU course guidelines. Red. L. Bjorndahl, A. Giwercman, H. Tournaye, W. Weidner. Informa Health, 2010, 39–48.
- Kula K., Słowikowska-Hilczner J.: Choroby jąder. W: Interna Szczeklika. Podręcznik chorób wewnętrznych 2016. Red. P. Gajewski. Medycyna Praktyczna, Kraków 2016, 1371–1380.
- Lafranco F., Kamischke A., Zitzmann M., Nieschlag E.: Klinefelter's syndrome. *Lancet.* 2004, 364, 273–283. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16678-6. PMID: 15262106.
- Laron Z., Dickerman Z., Zamir R., Galatzer A.: Paternity in Klinefelter's syndrome: a case report. *Arch Androl.* 1982, 8, 149–151. doi: 10.3109/01485018208987032. PMID: 6803694.
- Liu X.G., Hu H.Y., Guo Y.H., Sun Y.P.: Correlation between Y chromosome microdeletion and male infertility. *Genet Mol Res.* 2016, 15 (2). doi: 10.4238/gmr.15028426. PMID: 27313142.
- Massart A., Lissens W., Tournaye H., Stouffs K.: Genetic causes of spermatogenic failure. *Asian J Androl.* 2012, 14, 40–48. doi: 10.1038/aja.2011.67. PMID: 22138898.
- Miyamoto T., Minase G., Okabe K., Ueda H., Sengoku K.: Male infertility and its genetic causes. *J Obstet Gynaecol Res.* 2015, 41 (10), 1501–1505. doi: 10.1111/jog.12765. PMID: 26178295.
- Morel F., Bernicot I., Herry A., Le Bris M.J., Amice V., De Braekeleer M.: An increased incidence of autosomal aneuploidies in spermatozoa from a patient with Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril.* 2003, 79, 1644–1646. doi: 10.1016/S0015-0282(03)00343-1. PMID: 12801572.
- Nieschlag E.: Klinefelter's syndrome: the commonest form of hypogonadism, but of ten overlooked or untreated. *Dtsch Arztebl Int.* 2013, 110 (20), 347–353. doi: 10.3238/arztebl.2013.0347. PMID: 2382548.
- Oszkowska E., Walczak-Jedrzejowska R., Marchlewska K., Lipiński M., Różański W., Słowikowska-Hilczner J.: Niedrożność dróg wyprowadzających plemniki jako przyczyna niepłodności u mężczyzn. *Postępy Androl Online*, 2016, 3(2), 6–15. [przeglądany: 15.12.2016 r.]. Dostępny w: <http://www.postepyandrologii.pl>

- Purwin T., Słowikowska-Hilcz J.: Zespół Klinefeltera – aktualne zalecenia odnośnie postępowania medycznego. *Postępy Andrologii Online*, 2015, 2(2), 12-24. [przeglądany: 10.04.2015 r.]. Dostępny w: <http://www.postepyandrologii.pl>
- Rajpert-DeMeyts E.: Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update*. 2006, 12, 303–323. doi: 10.1093/humupd/dmk006. PMID: 16540528.
- Ramasamy R., Ricci J.A., Palermo G.D., Gosden L.V., Rosenwaks Z., Schlegel P.N.: Successful fertility treatment for Klinefelter's syndrome. *J Urol*. 2009, 182(3), 1108–1113. doi: 10.1016/j.juro.2009.05.019. PMID: 19616796.
- Reifsnnyder J.E., Ramasamy R., Hussein J., Schlegel P.N.: Role of optimizing testosterone before microdissection testicular sperm extraction in men with nonobstructive azoospermia. *J Urol*. 2012, 188 (2), 532–536. doi: 10.1016/j.juro.2012.04.002. PMID: 22704105.
- Rohayem J., Fricke R., Czeloth K., Mallidis C., Wistuba J., Krallmann C. i wsp.: Age and markers of Leydig cell function, but not of Sertoli cell function predict the success of sperm retrieval in adolescents and adults with Klinefelter's syndrome. *Andrology* 2015, 3 (5), 868–875. doi: 10.1111/andr.12067. PMID: 26235799.
- Scuriano R.B., Luna Hisano C.V., Rahn M.I., Brugo Olmedo S., Rey Valzacchi G., Coco R. i wsp.: Focal spermatogenesis originates in euploid germ cells in classical Klinefelter patients. *Hum Reprod*. 2009, 24, 2353–2361. doi: 10.1093/humrep/dep180. PMID: 19443454.
- Simoni M., Nieschlag E.: Endocrine laboratory diagnosis. W: *Andrology. Male reproductive health and dysfunction*. Red. E. Nieschlag, H.M. Behre, S. Nieschlag. Springer-Verlag, Heidelberg–Berlin 2010, 109–118.
- Simoni M., Wieacker P.: Cytogenetic and molecular genetic investigations. W: *Andrology. Male reproductive health and dysfunction*. Red. E. Nieschlag, H.M. Behre, S. Nieschlag. Springer-Verlag, Heidelberg–Berlin 2010, 131–136.
- Skakkebaek N.E., Rajpert-DeMeyts E., Main K.M.: Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*. 2001, 16, 972–978. PMID: 11331648.
- Słowikowska-Hilcz J., Gumińska A., Kula K.: Pathogenesis and active prevention of testicular germ cell neoplasia. *J Reprod Med Endocrinol*. 2007, 4, 313–321.
- Słowikowska-Hilcz J., Szarras-Czapnik M., Wolski J.K., Oszukowska E., Hilcz J.M., Jakubowski L. i wsp.: The risk of neoplasm associated with dysgenetic testes in prepubertal and pubertal/adult patients. *Folia Histochem Cytobiol*. 2015, 53 (3), 218–226. doi: 10.5603/FHC.a2015.0021. PMID: 26314751.
- Sochaj M.: Diagnostyka niepłodnego mężczyzny. *Przegl Urol*. 2015, 5 (93), 43–48.
- Song S.H., Chiba K., Ramasamy R., Lamb D.J.: Recent advances in the genetics of testicular failure. *Asian J Androl*. 2016, 18 (3), 350–355. doi:10.4103/1008-682X.178857. PMID: 27048782.
- Świniarski P.P.: Plemniki w rozrodzie wspomaganym oraz transplantacja komórek rozrodczych. *Przegl Urol*. 2015, 5 (93), 49–51.
- Tüttelmann F., Nieschlag E.: Classification of andrological disorders. W: *Andrology. Male reproductive health and dysfunction*. Red. E. Nieschlag, H.M. Behre, S. Nieschlag. Springer-Verlag, Heidelberg–Berlin 2010, 100–105.
- Weidner W., Diemer T., Wagenlehner F.M.: Male infertility in chronic urogenital infections and inflammation with special reference to ejaculate findings. W: *Clinical andrology. EAU/ESAU course guidelines*. L. Björndahl, A. Giwercman, H. Tournaye, W. Weidner. Informa Health, 2010, 293–300.
- van Wely M., Barbey N., Meissner A., Repping S., Silber S.J.: Live birth rates after MESA or TESE in men with obstructive azoospermia: is there a difference? *Hum Reprod*. 2015, 30 (4), 761–766. doi: 10.1093/humrep/dev032. PMID: 25740877.
- WHO: Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edition. WHO Press, 2010.
- Wosnitzer M.: Genetic evaluation of male infertility. *Transl Androl Urol*. 2014, 3 (1), 17–26. doi: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.02.04. PMID: 26813518.
- Wosnitzer M., Goldstein M., Hardy M.P.: Review of azoospermia. *Spermatogenesis*. 2014, 4, e28218. eCollection 2014. doi:10.4161/spmg.28218 PMID: 25105055.
- Yeung C., Cooper T.: Sperm quality and function tests. W: *Andrology. Male reproductive health and dysfunction*. Red. E. Nieschlag, H.M. Behre, S. Nieschlag. Springer-Verlag, Heidelberg–Berlin 2010, 151–166.