

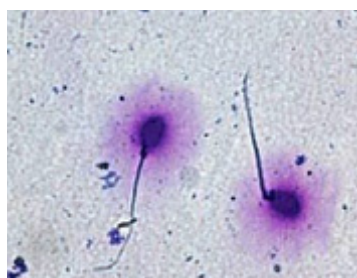
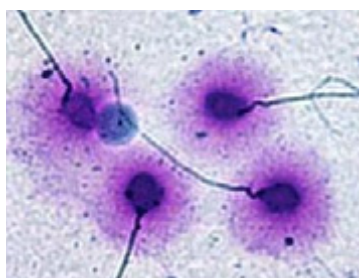


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Tom 2 • Numer 1 • Czerwiec 2015

Postępy Andrologii *Online*

Advances in Andrology *Online*



Plemniki ludzkie wykazujące prawidłową integralność DNA (panel lewy i środkowy), oraz ujawniające fragmentację DNA (panel prawy). Analiza przeprowadzona testem dyspersji chromatyny (Halotech DNA) w mikroskopie świetlnym. Mikrofotografie autorstwa dr n. med. Katarzyny Marchlewskiej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

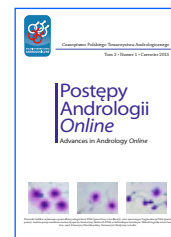


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.andrologia-pta.com.pl>



Redaktor naczelny:

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

Redaktor pomocniczy:

mgr biologii *Kamil Gill*, Szczecin

Zastępca redaktora naczelnego:

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

Sekretarz redakcji:

dr n. med. *Agnieszka Kolasa*, Szczecin

Skarbnik redakcji:

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

Członkowie komitetu redakcyjnego:

dr n. med. *Szymon Bakalczuk*, Lublin

dr n. med. *Leszek Bergier*, Kraków

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

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

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

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

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

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

lek. med. *Robert Kulik*, Warszawa

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

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

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

dr n. med. *Aleksandra Robacha*, Łódź

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

Adres redakcji:

Katedra i Zakład Histologii i Biologii Rozwoju

Wydział Nauk o Zdrowiu

Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

71-210 Szczecin ul. Żołnierska 48

tel. 91 48 00 917, 91 48 00 908

e-mail: mpiasecka@ipartner.com.pl

Projekt graficzny:

Agnieszka Hilczer

Waldemar Jachimczak

Małgorzata Piasecka

Jolanta Słowikowska-Hilczer

Korekta języka polskiego:

Wojciech Markowski

Korekta języka angielskiego:

Małgorzata Piasecka

Jolanta Słowikowska-Hilczer

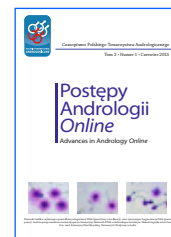
Zuzanna Słowikowska

Skład i łamanie:

Waldemar Jachimczak



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.andrologia-pta.com.pl>

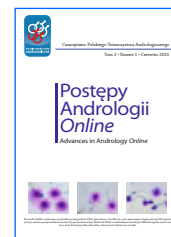
SPIS TREŚCI

Tom 2
Numer 1
Strony 1–68
Czerwiec 2015

O czasopiśmie	4
Artykuły poglądowe	
<i>Renata Walczak-Jędrzejowska</i> Stres oksydacyjny a niepłodność męska. Część I: Czynniki wywołujące stres oksydacyjny w nasieniu Oxidative stress and male infertility. Part I: Factors causing oxidative stress in semen	5
<i>Renata Walczak-Jędrzejowska</i> Stres oksydacyjny a niepłodność męska. Część II: Antyoksydanty w leczeniu męskiej niepłodności Oxidative stress and male infertility. Part II: Antioxidants in treatment of male infertility	16
<i>Natalia Ignaszak-Kaus, Piotr Jędrzejczak</i> Wpływ sportu na męski układ rozrodczy Sport influence on male reproductive system	34
<i>Małgorzata Maria Dobrzyńska</i> Wpływ wybranych ksenoestrogenów na męski układ rozrodczy ssaków The impact of some xenoestrogens on mammalian male reproductive system	41
Andrologia kliniczna – sprawozdanie z przebiegu szkolenia, egzaminu oraz konferencji w ramach Europejskiej Akademii Andrologii – <i>Marta Sochaj</i>	60
Konferencja Polskiego Towarzystwa Andrologicznego – 17. Dzień Andrologiczny	63
Aktualności sympozjalne	64
Instrukcje dla autorów	65



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.andrologia-pta.com.pl>

O CZASOPIŚMIE

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

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

4) przekazywanie informacji dotyczących konferencji i kursów o tematyce andrologicznej.

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

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

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

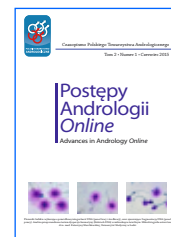
<http://www.andrologia-pta.com.pl>

Małgorzata Piasecka
redaktor naczelny

Jolanta Słowikowska-Hilcz
przewodnicząca
Polskiego Towarzystwa Andrologicznego



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.andrologia-pta.com.pl>

STRES OKSYDACYJNY A NIEPŁODNOŚĆ MĘSKA. CZĘŚĆ I: CZYNNIKI WYWOŁUJĄCE STRES OKSYDACYJNY W NASIENIU

OXIDATIVE STRESS AND MALE INFERTILITY.

PART I: FACTORS CAUSING OXIDATIVE STRESS IN SEMEN

Renata Walczak-Jędrzejowska

Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Autor do korespondencji: Renata Walczak-Jędrzejowska (renata.walczak-jedrzejowska@umed.lodz.pl)



Renata Walczak-Jędrzejowska – dr n. med., absolwentka Uniwersytetu Łódzkiego, biolog, specjalność biologia molekularna. Nauczyciel akademicki w Zakładzie Endokrynologii Płodności Katedry Andrologii i Endokrynologii Płodności Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Współwykonawca polskich i europejskich projektów badawczych. Pierwszy autor i współautor 93 publikacji naukowych. Skarbnik Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, członek Międzynarodowego Towarzystwa Andrologicznego, Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego, Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz Komisji Andrologii Komitetu Biologii Rozrodu PAN. Praca zawodowa i naukowa autorki związana jest z badaniami nad czynnością męskiego układu płciowego i jego zaburzeniami oraz diagnostyką andrologiczną.

Streszczenie

Reaktywne formy tlenu są produktami normalnego metabolizmu komórkowego i wytwarzane w niewielkich, kontrolowanych przez systemy antyoksydacyjne organizmu ilościach odgrywają istotną rolę w wielu procesach fizjologicznych. Jednakże zwiększona produkcja reaktywnych form tlenu, spowodowana zachwianiem równowagi między ich wytwarzaniem a działaniem ochronnego systemu antyoksydacyjnego, prowadzi nieuchronnie do wystąpienia stresu oksydacyjnego. Dochodzi wtedy do uszkodzenia głównych makromolekuł komórkowych, upośledzenia czynności i w konsekwencji śmierci komórki. Obecnie uważa się, że właśnie stres oksydacyjny występujący w nasieniu jest jedną z głównych przyczyn męskiej niepłodności, w tym niepłodności idiopatycznej, będącej konsekwencją zaburzenia czynności plemników, głównie na skutek utleniania lipidów błon komórkowych oraz uszkodzenia ojcowskiego DNA.

słowa kluczowe: plemniki, stres oksydacyjny, niepłodność męska

Abstract

Reactive oxygen species are products of normal cellular metabolism and when produced in small amounts, controlled by the antioxidant systems play an important role in many physiological processes. However, the increased production of reactive oxygen species, caused by imbalance between their generation and the protective effects of antioxidant system, inevitably leads to an oxidative stress. This causes damage to major cellular macromolecules, dysfunction and finally cell death. It is presently considered that oxidative stress is one of the main causes of male infertility, including idiopathic infertility, resulting from impairment of sperm function, mainly due to peroxidation of cell membrane's lipids and paternal DNA.

key words: sperm, oxidative stress, male infertility

Skróty / Abbreviations

ERC – nadmiar resztkowej cytoplazmy (ang. *excess residual cytoplasm*), G6PDH – dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (ang. *glucose-6-phosphate dehydrogenase*), GPX – peroksydaza glutationowa (ang. *glutathione peroxidase*), GR – reduktaza glutationowa (ang. *glutathione reductase*), H_2O_2 – nadtlenek wodoru (ang. *hydrogen peroxide*), $HO_2^\bullet$ – rodnik wodoronadtlenkowy (ang. *hydroperoxyl radical*), HOCl – kwas podchlorawy (ang. *hypochloric acid*), IL-1 β – interleukina 1 β (ang. *interleukin 1 β*), IL-6 – interleukina 6 (ang. *interleukin 6*), IL-8 – interleukina 8 (ang. *interleukin 8*), KT – katalaza (ang. *catalase*), MDA – dialdehyd malonowy (ang. *malondialdehyde*), NADH – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy, forma zredukowana (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced*), NADPH – fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, forma zredukowana (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced*), $NO^\bullet$ – tlenek azotu (ang. *nitric oxide*), $NO_2^\bullet$ – dwutlenek azotu (ang. *nitrogen dioxide*), $O_2^{\bullet -}$ – anionorodnik ponadtlenkowy (ang. *superoxide radical*), NOX – oksydaza NADPH (ang. *NADPH oxidase*), NOX1 – oksydaza NADPH typu 1 (ang. *NADPH oxidase 1*), NOX2 – oksydaza NADPH typu 2 (ang. *NADPH oxidase 2*), NOX3 – oksydaza NADPH typu 3 (ang. *NADPH oxidase 3*), NOX4 – oksydaza NADPH typu 4 (ang. *NADPH oxidase 4*), NOX5 – oksydaza NADPH typu 5 (ang. *NADPH oxidase 5*), 1O_2 – tlen singletowy (ang. *singlet oxygen*), O_3 – ozon (ang. *ozone*), $OH^\bullet$ – rodnik hydroksylowy (ang. *hydroxyl radical*), ONOOH – kwas nadtlenoazotawy (ang. *peroxynitrous acid*), RFA – reaktywne formy azotu (ang. *reactive nitrogen species*), RF-ERM – promieniowanie elektromagnetyczne o częstotliwości radiowej (ang. *radiofrequency electromagnetic radiation*), RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*), $RO^\bullet$ – rodnik alkoksylowy (ang. *alkoxyl radical*), $RO_2^\bullet$ – rodnik peroksyłowy (ang. *peroxyl radical*), SOD – dysmutaza ponadtlenkowa (ang. *superoxide dismutase*), TNF- α – czynnik martwicy nowotworów α (ang. *tumor necrosis factor α*), WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

Niepłodność według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) jest to niemożność uzyskania ciąży w czasie 12 miesięcy regularnego współżycia pary w celach koncepcyjnych (Rowe i wsp., 2000). Dotyka ona nawet do 20% par w Polsce i na świecie, bez względu na rasę czy przynależność etniczną i w wielu krajach uznana jest za chorobę społeczną (Bablok i wsp., 2011; Hull i wsp., 1985; Irvine, 1998; Kotzbach i Kotzbach, 2013). Ocenia się, że wśród par niepełnych czynnik męski stanowi od 25% do nawet 60% (Bablok i wsp., 2011; Esteves i Agarwal, 2011; Safarinejad, 2008; Sharlip i wsp., 2002; Ursini i wsp., 1999). W większości przypadków przyczyny męskiej niepłodności objawiają się obniżeniem liczby i ruchliwości plemników oraz ich nieprawidłową morfologią. Wskazuje się także na zaburzenia czynności plemników, które w niektórych przypadkach mogą stanowić jedyną przyczynę niepłodności (Hull i wsp., 1985). Wśród czynników odpowiedzialnych za te zaburzenia wymienia się zwykle, obok czynników genetycznych, czynniki środowiskowe oraz związane ze stylem życia, takie jak: narażenie na działanie związków chemicznych, metali ciężkich, środków ochrony roślin, ksenoestrogenów, podwyższonej temperatury, napromieniowania, a także palenie tytoniu, nadużywanie alkoholu, chroniczny stres czy nieprawidłowa dieta (Jurewicz i wsp., 2014a; Jurewicz i wsp., 2014b; Lahdetie, 1995; Słowikowska-Hilczner, 2006; Thonneau i wsp., 1998). Z obniżeniem męskiej płodności związane są także, często lekceważone, zapalenia i zakażenia w męskim układzie płciowym (De Celis i wsp., 1996; Purvis i Christiansen, 1992). Jednakże, pomimo rozwoju nauki i coraz doskonalszych metod diagnostycznych, w dalszym ciągu w ok. 20–30% przypadków etiologia i patogeneza zaburzeń męskiej płodności pozostaje nieznana, stanowiąc tzw. niepłodność idiopatyczną (Deng i wsp., 2008; Sanocka-Maciejewska i wsp., 2005). Obecnie uważa się, że stres oksydacyjny, będący konsekwencją działania większości wymienionych wyżej czynników, stanowi jedną z najbardziej prawdopodobnych przyczyn idiopatycznej niepłodności męskiej.

Reaktywne formy tlenu w nasieniu

Reaktywne formy tlenu (RFT, ang. *reactive oxygene species*) to związki tlenu wykazujące większą reaktywność niż tlen cząsteczkowy w stanie podstawowym (trypletowym). W każdej żywej komórce, a więc i w plemnikach, niewielkie ilości RFT powstają jako naturalne produkty metabolizmu komórkowego. Ich ilość jest ściśle kontrolowana przez mechanizmy antyoksydacyjne organizmu. Wiele badań wykazało, że niskie, kontrolowane (tzw. fizjologiczne) poziomy RFT odgrywają istotną rolę w prawidłowej czynności plemnika, biorąc udział w kluczowych procesach gwarantujących zapłodnienie, takich jak kapacytacja, hiperaktywacja, reakcja akrosomalna plemnika czy też jego fuzja z oocytem (Agarwal i Saleh, 2002; Amaral i wsp., 2013; Chen i wsp., 2013; Frączek i Kurpisz, 2013; Guerriero i wsp., 2014).

O stresie oksydacyjnym mówimy w sytuacji, gdy komórki czy też tkanki narażone są na dodatkowe źródła RFT, gdy zwiększa się tempo ich endogennej produkcji, czy też dochodzi do niewydolności ochronnych systemów antyoksydacyjnych. Jako cząsteczki bardzo reaktywne, RFT szybko wchodzi w reakcje, w tym reakcje łańcuchowe, i reagując z białkami, lipidami czy kwasami nukleinowymi, indukują powstanie kolejnych produktów wolnorodnikowych. Następstwem stresu oksydacyjnego są uszkodzenia najważniejszych makromolekuł komórkowych prowadzące do zaburzenia czynności komórki, a w konsekwencji do jej śmierci (Aitken i wsp., 2010).

Reaktywne formy tlenu możemy podzielić na dwie grupy: 1) wolne rodniki, mające jeden lub więcej niesparowanych elektronów na orbicie zewnętrznej, oraz 2) cząsteczki powstające w wyniku metabolizmu tlenu, niebędące jednak wolnymi rodnikami (tabela 1). Do głównych i najbardziej rozpowszechnionych RFT należy anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\bullet -}$, ang. *superoxide radical*), który jest wyjściową (pierwotną) formą RFT. Z niego powstają kolejne, znacznie bardziej reaktywne i toksyczne dla komórki RFT. I tak, jego dalsza redukcja w procesie

Tabela 1. Przykłady reaktywnych form tlenu (RFT) i azotu (RFA)
Table 1. Examples of reactive oxygen (RFT) and nitrogen (RFA) species

Wolnorodnikowe RFT i RFA / Radical RFT and RFA		RFT i RFA niebędące wolnymi rodnikami / Nonradical RFT and RFA	
rodnik wodoronadtlenkowy / hydroperoxyl radical	HO ₂ •	tlen singletowy / singlet oxygen	¹ O ₂
anionorodnik ponadtlenkowy / superoxide radical	O ₂ ^{•-}	nadtlenek wodoru / hydrogen peroxide	H ₂ O ₂
rodnik hydroksylowy / hydroxyl radical	OH•	ozon / ozone	O ₃
rodnik alkoksylowy / alkoxyl radical	RO•	kwas azotawy / nitrous acid	HNO ₂
rodnik peroksyłowy / peroxy radical	RO ₂ •	trinitlenek diazotu / dinitrogen trioxide	N ₂ O ₃
tlenek azotu / nitric oxide	NO•	kwas podchlorawy / hypochloric acid	HOCl
dwutlenek azotu / nitrogen dioxide	NO ₂ •	kwas nadtlenoazotawy / peroxyntous acid	ONOOH

enzymatycznym katalizowanym przez dysmutazę ponadtlenkową powoduje powstanie nadtlenku wodoru (H₂O₂, ang. *hydrogen peroxide*). Choć mało reaktywny, w przeciwieństwie do anionorodnika ponadtlenkowego, dyfunduje on łatwo przez błony komórkowe i w obecności metali przejściowych takich jak żelazo czy miedź może ulec przemianie do rodnika hydroksylowego (OH•, ang. *hydroxyl radical*). Rodnik hydroksylowy charakteryzuje się bardzo dużą reaktywnością i natychmiast po powstaniu reaguje z sąsiadującymi cząsteczkami, niezależnie od tego, czy są to białka, fragmenty DNA czy inne makromolekuły komórkowe. Innymi rodnikami powstającymi bezpośrednio w reakcjach z anionorodnikiem ponadtlenkowym są chociażby rodnik wodoronadtlenkowy (HO₂•, ang. *hydroperoxyl radical*) czy nadtlenoazotyn (ONOO•, ang. *peroxynitrite*), który jest wysoce reaktywną formą azotu. Do RFT należy także tlen singletowy (¹O₂, ang. *singlet oxygen*), powstający w wyniku wzbudzenia cząsteczek tlenu, ozon (O₃, ang. *ozone*), będący odmianą alotropową tlenu, czy też związki tworzące się w reakcjach metabolicznych komórki, np. kwas podchlorawy (HOCl, ang. *hypochloric acid*) czy kwas nadtlenoazotawy (ONOOH, ang. *peroxynitrous acid*), oraz wolne rodniki azotowe, takie jak tlenek azotu (NO•, ang. *nitric oxide*) czy dwutlenek azotu (NO₂•, ang. *nitrogen dioxide*). Dodatkowo, reakcje RFT ze związkami organicznymi prowadzą do powstawania wolnych rodników substancji organicznych, np. rodnika peroksyłowego (RO₂•, ang. *peroxy radical*) czy alkoksylowego – RO•, ang. *alkoxyl radical* (Agarwal i wsp., 2003; Frączek i Kurpisz, 2005; Ługowski i wsp., 2011; Puzanowska-Tarasiewicz i wsp., 2008).

Mechanizmy antyoksydacyjne w nasieniu

Organizm rozwinął szereg systemów obronnych zabezpieczających przed stresem oksydacyjnym i związanymi z nim uszkodzeniami komórek i tkanek. Zarówno plazma nasienia, jak i plemniki zawierają wiele systemów antyoksydacyjnych, które pozwalają na wytwarzanie fizjologicznych ilości RFT i utrzymanie równowagi oksydo-redukcyjnej poprzez neutralizację i usuwanie nadmiaru RFT. Należą do nich systemy ochronne oparte na czynnikach enzymatycznych i nieenzymatycznych związkach niskocząsteczkowych o charakterze przeciwutleniaczy

(tabela 2). Czynniki obu systemów ściśle współdziałają ze sobą w celu zapewnienia optymalnej ochrony przed RFT i wydaje się, że niedobór jednego z nich może powodować obniżenie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego organizmu.

Tabela 2. Przykłady enzymatycznych i nieenzymatycznych antyoksydantów w plemnikach i plazmie nasienia
Table 2. Examples of enzymatic and non-enzymatic antioxidants occurred in spermatozoa and seminal plasma

Antyoksydanty enzymatyczne / Enzymatic antioxidants
dysmutazy ponadtlenkowe / superoxide dismutases
katalaza / catalase
peroksydaza glutationowa / glutathione peroxidase
reduktaza glutationowa / glutathione reductase
Antyoksydanty nieenzymatyczne / Non-enzymatic antioxidants
glutation / glutathione
witaminy (A, E, C, B) / A, E, C, B vitamins
cysteina, homocysteina / cysteine, homocysteine
tauryna, hipotauryna / taurine, hypotaurine
flawonoidy / flavonoids
koenzym Q10 / coenzyme Q10
laktoferyna / lactoferrin
mikroelementy (cynk, selen, miedź) / microelements (zinc, selenium, copper)

Podstawowym antyoksydacyjnym systemem enzymatycznym w nasieniu jest tzw. triada enzymatyczna, do której zaliczamy dysmutazę ponadtlenkową, katalazę oraz peroksydazę glutationową. Dysmutazy ponadtlenkowe (SOD, ang. *superoxide dismutase*) są metaloenzymami katalizującymi reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenku wodoru. W swoim centrum aktywnym, w zależności od typu, mają miedź, cynk lub mangan. Katalaza (KT, ang. *catalase*) jest selenoproteiną i katalizuje reakcję dysproporcjonowania nadtlenku wodoru prowadzącą do powstania tlenu cząsteczkowego i wody. Kolejnym enzymem systemu antyoksydacyjnego w nasieniu jest peroksydaza glutationowa (GPX, ang. *glutathione peroxidase*), która katalizuje reakcję redukcji nadtlenku wodoru oraz nadtlenków organicznych, w tym nadtlenków fosfolipidów (Frączek i Kurpisz, 2005; Gałęcka i wsp., 2008; Walczak-Jędrzejowska i wsp., 2013). Reakcja z udziałem GPX wymaga obecności zredukowanej formy

glutationu, który sam jest też ważnym antyoksydantem. Jego regeneracja zachodzi w wyniku enzymatycznej redukcji utlenionego glutationu, reakcji katalizowanej przez reduktazę glutationową (GR, ang. *glutathione reductase*). Oprócz enzymów neutralizujących nadprodukcję RFT istotną rolę w antyoksydacyjnym systemie ochronnym odgrywają tzw. niskocząsteczkowe, nieenzymatyczne antyoksydanty, które wspomagają aktywność ww. enzymów. W nasieniu zidentyfikowano obecność m.in. witaminy C (Colagar i Marzony, 2009; Thiele i wsp., 1995), witaminy E (Kutlubay i wsp., 2007), kwasu moczowego (Xu i wsp., 2004; Zhang i wsp., 2007), pirogronianu (Webb i Arns, 2006), glutationu (Giannattasio i wsp., 2002; Lenzi i wsp., 1993), tauryny i hipotauryny (Alvarez i Storey, 1983) czy latoferyny (Tomar i wsp., 2011). Inne znane antyoksydanty niskocząsteczkowe to cysteina, homocysteina, koenzym Q10, witamina A, karoten, witaminy z grupy B, flawonoidy, mikroelementy takie jak cynk, selen czy miedź (Aprioku, 2013; Colagar i wsp., 2009; Frączek i Kurpisz, 2005; Walczak-Jędrzejowska i wsp., 2013).

Komórkowe źródła reaktywnych form tlenu w nasieniu

W ejakulacie oprócz plemników znajdują się także inne elementy komórkowe, takie jak komórki plemnikotwórcze wcześniejszych etapów spermatogenezy, leukocyty czy komórki nabłonkowe. Za główne endogenne, komórkowe źródło wytwarzania RFT uważa się leukocyty, głównie neutrofile i makrofagi, oraz plemniki o nieprawidłowej budowie.

Jednym z miejsc powstawania RFT w plemnikach jest mitochondrialny łańcuch oddechowy i zachodzący tam proces fosforylacji oksydacyjnej. Przepływ elektronów przez składowe łańcucha oddechowego nie jest szczelny i część elektronów „wycieka”, redukując cząsteczkę tlenu do anionorodnika ponadtlenkowego, w wyniku procesu jednoelektronowego, przy udziale głównie oksydoreduktazy NADH (ang. *NADH oxidoreductase*), a także koenzymu Q – ang. *coenzyme Q* (Potargowicz i wsp., 2005). Mechanizm ten wydaje się być głównym źródłem RFT w warunkach równowagi oksydoredukcyjnej w plemnikach prawidłowych (Aitken i De Iuliis, 2010), jak i przy nadprodukcji RFT w plemnikach o nieprawidłowej budowie, w których dochodzi do zwiększonego „wycieku” elektronów z łańcucha oddechowego (Koppers i wsp., 2008), prawdopodobnie w wyniku dysfunkcji samych mitochondriów (Wang i wsp., 2003). Dysfunkcja mitochondriów może być spowodowana wpływem już istniejącego stresu oksydacyjnego, który powoduje uszkodzenie błony mitochondriów, tym samym przyczyniając się do wzrostu wytwarzania w nich RFT. Zaobserwowano korelacje między wytwarzaniem nadmiaru RFT w mitochondriach a spadkiem ruchliwości plemników i wzrostem peroksydacji lipidów na terenie wstawki (Aitken i wsp., 2014; Evenson i wsp., 1982).

Drugim miejscem, w którym mogą być wytwarzane RFT w plemniku, jest błona komórkowa, gdzie powstają one głównie w wyniku działania zależnej od jonów wapnia oksydazy NADPH – powstaje anionorodnik ponadtlenkowy oraz syntazy tlenu azotu – powstaje tlenek azotu (Frączek i Kurpisz, 2013). Oksydazy NADPH są kompleksami enzymatycznymi¹, których budowa i funkcja oparte są na białkach NOX (ang. *NADPH oxidase*), będących podjednostkami katalitycznymi kompleksów aktywnych. Do tej pory wykryto kilka ich typów (NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5). Ostatnie badania nad wytwarzaniem anionorodnika ponadtlenkowego wykazały, że w plemnikach obecna jest zależna od jonów wapnia NOX5 (Musset i wsp., 2012). W warunkach prawidłowych w dojrzałym plemniku pozbawionym znacznej części przestrzeni cytoplazmatycznej następuje wytwarzanie, głównie w mitochondriach, stałych, kontrolowanych przez systemy antyoksydacyjne ilości RFT niezbędnych do indukcji procesów przygotowujących plemnik do zapłodnienia komórki jajowej. Jednakże w uszkodzonych plemnikach (tzw. niedojrzałych), w których występuje nadmiar resztkowej cytoplazmy (ERC, ang. *excess residual cytoplasm*), następuje wzrost wytwarzania RFT jako wynik zwiększonej ilości/aktywności enzymów występujących w cytoplazmie, takich jak dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (G6PDH, ang. *glucose-6-phosphate dehydrogenase*) czy SOD. Z wykorzystaniem szlaku pentozofosforanowego, G6PDH produkuje zwiększone ilości NADPH, którego większa dostępność w konsekwencji prowadzi do zwiększonego wytwarzania RFT (anionorodnika ponadtlenkowego) przez NOX5 w błonie komórkowej plemnika (Rengan i wsp., 2012). Anionorodnik ponadtlenkowy jest następnie przekształcany do nadtlenu wodoru przez SOD. Nadtlenek wodoru, jak już wspomniano wcześniej, może zostać przekształcony do najbardziej reaktywnej formy RFT, czyli rodnika hydroksylowego. Kiedy zwiększa się ilość RFT, tak jak to ma miejsce w przypadku plemników z ERC, systemy antyoksydacyjne plemnika nie są w stanie zneutralizować ich nadmiaru. Dodatkowo, RFT produkowane przez plemniki o nieprawidłowej budowie mogą powodować uszkodzenia oksydacyjne także w plemnikach prawidłowych podczas ich transportu z kanalików plemnikotwórczych do najądrza (Gil-Guzman i wsp., 2001; Ollero i wsp., 2001).

W plemnikach, ale przede wszystkim w nasieniu, obecna jest także oksydaza ksantynowa, która bierze udział w przemianach metabolicznych zasad purynowych. Katalizuje ona między innymi reakcję utleniania hipoksantyny do ksantyny, a następnie ksantyny do kwasu moczowego. Jej aktywność jest związana z wytwarzaniem

¹ Oksydazy zależne od NADPH należące do rodziny oksydaz NOX (ang. *NOX oxidase family*) zbudowane są z 6 hydrofobowych transbłonowych α -heliks (NOX). Domena transbłonowa zawiera dwie grupy hemowe stanowiące nośnik dla elektronów, z kolei domena cytoplazmatyczna (–COOH) wiąże dinukleotyd flawinoadeninowy (FAD) oraz fosforan dinukleotydu niktynoamidoadeninowego (NADPH). W zależności od izoformy oksydazy domena cytoplazmatyczna (–NH₂) wiąże m.in. białka regulatorowe i stabilizujące oraz zawiera domenę wiążącą wapń (przyp. red.).

anionorodnika ponadtlenkowego i w konsekwencji nadtlenu wodoru w nasieniu. U niepłodnych mężczyzn zaobserwowano wzrost aktywności tego enzymu (Kurpisz i wsp., 1996; Frączek i Kurpisz, 2005).

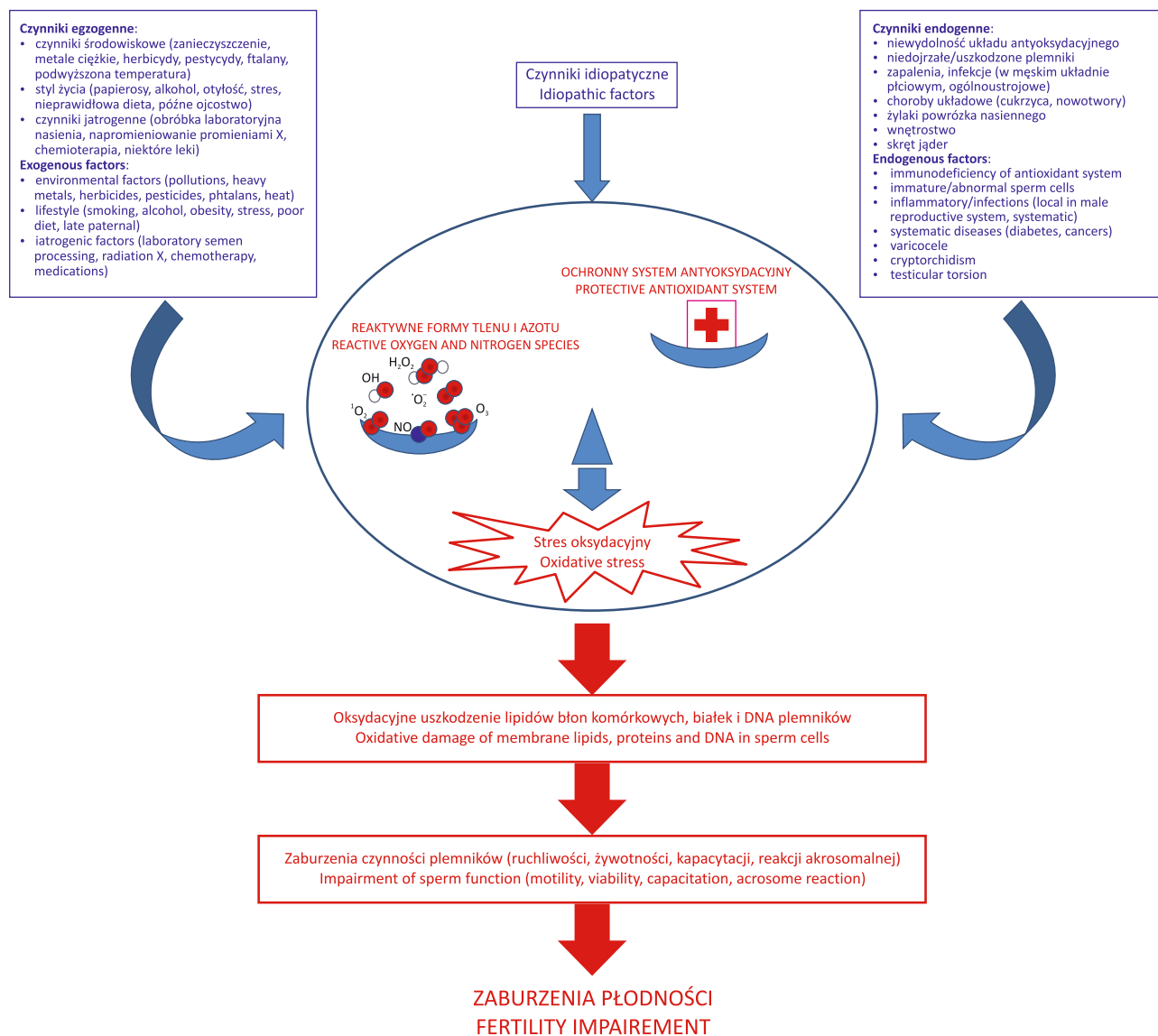
W nasieniu leukocyty, przede wszystkim granulocyty, stanowiące 50–60% wszystkich leukocytów, oraz makrofagi stanowiące 20–30%, pochodzą głównie z prostaty lub pęcherzyków nasiennych (Saleh i wsp., 2003). W momencie aktywacji, przy zakażeniach i stanach zapalnych, mogą one wytwarzać ponad 100 razy więcej RFT niż w warunkach prawidłowych i zwiększać produkcję NADPH z wykorzystaniem szlaku pentozaofosforanowego (Agarwal i wsp., 2003; Lavranos i wsp., 2012). Istnieje silna korelacja między występowaniem stresu oksydacyjnego w nasieniu a obecnością zwiększonej liczby leukocytów (Alvarez i wsp., 2002; Henkel i wsp., 2005; Sharma i wsp., 2001). Wzrost liczby leukocytów w nasieniu związany jest także z zaburzeniami parametrów nasienia lub obniżeniem potencjału zapładniającego plemników (Alvarez i wsp., 2002; Vogelpoel i wsp., 1991; Wolff i wsp., 1990).

■ Czynniki wywołujące stres oksydacyjny

Do stresu oksydacyjnego dochodzi w momencie, gdy zachwiana zostaje równowaga między wytwarzaniem RFT a ich neutralizacją przez systemy antyoksydacyjne organizmu. Może to mieć miejsce w momencie zwiększenia wytwarzania ilości RFT przez czynniki zarówno endogenne, jak i egzogenne i/lub niewydolności systemów antyoksydacyjnych.

Czynniki wywołujące stres oksydacyjny możemy podzielić na dwie grupy: 1) egzogenne, do których zaliczamy m.in. styl życia, czynniki środowiskowe czy czynniki jatrogenne, oraz 2) czynniki endogenne, do których zaliczamy m.in. żylaki powrózków nasiennych, wnetrostwo, skręt jądra czy też zapalenia i zakażenia w męskim układzie płciowym, choroby ogólnoustrojowe oraz czynniki idiopatyczne (Agarwal i wsp., 2014; Frączek i Kurpisz, 2013; Tremellen, 2008) (rycina 1).

Wśród czynników związanych ze stylem życia wywołujących stres oksydacyjny w nasieniu przede wszystkim



Ryc. 1. Przyczyny i skutki stresu oksydacyjnego w nasieniu

Fig. 1. Causes and effects of oxidative stress in semen

wymienić należy palenie papierosów. Toksyny z dymu papierosowego przedostają się do układu płciowego i reagują ze składnikami plazmy nasienia (Kulikauskas i wsp., 1985; Pacifici i wsp., 1993; Sepaniak i wsp., 2004; Trummer i wsp., 2002). Wykazano, że u palaczy występuje wzrost poziomu RFT, liczby leukocytów oraz komórek okrągłych w nasieniu, obniżenie ruchliwości i żywotności plemników i wzrost nasilenia fragmentacji DNA (Ochędalski i wsp., 1994; Pacifici i wsp., 1993; Saleh i wsp., 2002; Sepaniak i wsp., 2004; Taha i wsp., 2012). Dodatkowo w nasieniu palaczy obniżony jest poziom takich antyoksydantów jak witamina E, C oraz cynk, co wzmacnia ryzyko uszkodzeń oksydacyjnych plemników (Fraga i wsp., 1996; Mostafa i wsp., 2006; Taha i wsp., 2012).

Kolejnym czynnikiem zwiększającym poziom RFT jest konsumpcja alkoholu. Ponadto wykazano, że nadużywanie alkoholu często związane jest z niedożywieniem i dietą ubogą w antyoksydanty (Koch i wsp., 2004). Z kolei nieprawidłowa dieta, bogata w tłuszcze i węglowodany oraz siedzący tryb życia mogą prowadzić do otyłości. Nagromadzenie tkanki tłuszczowej może powodować uwalnianie z niej cytokin prozapalnych i wzrost wytwarzania RFT w leukocytach. Dodatkowo, otyłość doprowadza także do przegrzewania jąder w wyniku nagromadzenia tkanki tłuszczowej w regionie pachwin (Khullar i wsp., 2012; Palmer i wsp., 2012; Singer i Granger, 2007). Z drugiej strony zbyt intensywne ćwiczenia fizyczne powodują wzrost RFT w wyniku zwiększonego metabolizmu tlenowego w mięśniach (Peake i wsp., 2007). Hipoteza stresu oksydacyjnego związanego ze starzeniem się organizmu jest jedną z najbardziej popularnych hipotez wyjaśniających molekularne podstawy tego procesu (Olinski i wsp., 2007). Siomek i wsp. (2007) zaobserwowali np. dodatnią korelację występującą między wiekiem a poziomem markerów oksydacyjnego uszkodzenia DNA badanych w leukocytach krwi obwodowej, a także zależny od wieku spadek poziomu witaminy C we krwi. Dodatkowo, wykazano istnienie bezpośredniego związku między ogólnoustrojowym stresem oksydacyjnym występującym w procesie starzenia się organizmu a wzrostem uszkodzeń DNA w plemnikach zarówno u mężczyzn płodnych, jak i niepłodnych (Junqueira i wsp., 2004). Udokumentowano także wzrost zaburzeń genetycznych u dzieci starszych ojców, w wyniku pogarszania się jakości DNA plemników, czego podłożem może być właśnie zwiększona produkcja RFT, a zarazem obniżona zdolność antyoksydacyjna organizmu (Crosnoe i Kim, 2013; Paul i Robaire, 2013). Jednakże, o ile z jednej strony ogólnoustrojowy stres oksydacyjny, związany np. ze starzeniem się organizmu, może wpływać na uszkodzenia DNA w plemnikach, to z drugiej strony Guz i wsp. (2013) nie znaleźli związku między istniejącym stresem oksydacyjnym w nasieniu niepłodnych mężczyzn a tym badaniem w leukocytach krwi obwodowej (tzn. ogólnoustrojowym), co sugeruje, że stan oksydoredukcyjny nasienia może występować niezależnie od tego w innych tkankach.

Kolejny czynnik środowiskowy związany ze stylem życia, którego wpływ na męską płodność jest ostatnio intensywnie badany, to promieniowanie elektromagnetyczne o częstotliwości radiowej (RF-ERM, ang. *radiofrequency electromagnetic radiation*) emitowane głównie przez telefony komórkowe. Istnieje wiele doniesień wskazujących na obniżenie parametrów badania nasienia, głównie ruchliwości plemników, oraz wzrost uszkodzeń zarówno jądrowego, jak i mitochondrialnego DNA, prawdopodobnie w wyniku stresu oksydacyjnego będącego konsekwencją ekspozycji na RF-ERM (Agarwal i wsp., 2009; De Iuliis i wsp., 2009; Mailankot i wsp., 2009). W jednym z pierwszych badań klinicznych wykazano, że w nasieniu mężczyzn noszących telefony komórkowe w kieszeni spodni lub przypięte do paska od spodni występuje obniżenie koncentracji plemników w porównaniu z mężczyznami, którzy w ogóle nie nosili telefonu lub trzymali go w innym miejscu (Kilgallon i Simmons, 2005). W kolejnych badaniach wykazano, że zarówno okres posiadania telefonu komórkowego, jak i dzienny, średni czas prowadzonych rozmów czy transmisji danych powoduje spadek liczby plemników, odsetka plemników żywych i wykazujących ruch postępowy oraz wzrost częstości występowania plemników o nieprawidłowej budowie (Agarwal i wsp., 2008; Fejes i wsp., 2005; Gorpinchenko i wsp., 2014; Wdowiak i wsp., 2007). Ostatnio przeprowadzona metaanaliza 10 publikacji dotyczących badań (*in vivo* i *in vitro*) nad wpływem RF-ERM na plemniki i męską płodność wskazuje, że telefony komórkowe wpływają ujemnie na jakość nasienia (Adams i wsp., 2014).

Ftalany, stosowane powszechnie jako środki zmiękczające (tzw. plastyfikatory) w przemyśle chemicznym i w produkcji tworzyw sztucznych, także są czynnikiem wywołującym stres oksydacyjny na poziomie jądra, prowadząc do zaburzenia procesu spermatogenezy, zwiększenia częstości uszkodzeń DNA komórek płciowych, a w konsekwencji obniżenia jakości nasienia (Duty i wsp., 2003a; Duty i wsp., 2003b; Hauser i wsp., 2007; Jurewicz i wsp., 2013; Kasahara i wsp., 2002). Udokumentowano także uszkodzenia oksydacyjne plemników wywołane przez pestycydy oraz metale ciężkie – głównie kadm, ołów (Chitra i wsp., 2001; Hsu i Guo, 2002; Sujatha i wsp., 2001; Taha i wsp., 2013; Xu i wsp., 2003).

Podawanie cyklofosfamidu, leku cytostatycznego, powoduje spadek poziomu katalazy (Sanocka i wsp., 1997; Zini i wsp., 2000) oraz wzrost poziomu dialdehydu malonowego (MDA, ang. *malondialdehyde*), wskazując na peroksydacyjne uszkodzenie lipidów błon komórkowych (Das i wsp., 2002; Ghosh i wsp., 2002). Z kolei używanie tak powszechnych leków jak aspiryna czy paracetamol powoduje zwiększenie aktywności cytochromu P450, skutkujące wzrostem produkcji wolnych rodników (Agarwal i Said, 2005). Zwiększenie wytwarzania RFT może wystąpić także *in vitro* podczas procedur przygotowywania plemników do technik wspomaganego rozrodu, przede wszystkim w wyniku oczyszczania plemników z plazmy nasienia, tym samym pozbawiania ich

naturalnego środowiska antyoksydacyjnego (Tremellen, 2008). Oprócz tego wirowanie, krioprezervacja i późniejsze rozmrażanie plemników oraz niska zawartość antyoksydantów w mediach zabezpieczających plemniki mogą generować w nich stres oksydacyjny (Agarwal i wsp., 2006; Olszewska-Słonina, 2013; Sikka, 2004; Walczak-Jędrzejowska i wsp., 2013; Watson, 2000).

Nadmiar wytwarzania RFT spowodowany jest także zakażeniami i stanami zapalnymi w męskim układzie płciowym. Zakażenie patogenami wywołuje naturalne mechanizmy obronne, tzw. „wybuch tlenowy”, czyli nagłe uwolnienie dużych ilości RFT przez leukocyty i makrofagi – głównie anionorodnika nadtlenkowego i nadtlenku wodoru (Frączek i Kurpisz, 2007; Kowalski i wsp., 1992; Roos, 1991). U pacjentów z pozytywnym wynikiem posiewu nasienia na bakterie tlenowe wykazano znaczny wzrost poziomu anionorodnika nadtlenkowego w porównaniu z pacjentami zdrowymi (Mazzilli i wsp., 1994). W modelu *in vitro* stanu zapalnego w nasieniu wykazano, że szczepy takich bakterii jak *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus* i *Bacteroides ureolyticus* i/lub obecność leukocytów powodują zaburzenie ruchliwości plemników oraz peroksydacyjne uszkodzenie ich błony komórkowej (Frączek i wsp., 2007; Frączek i wsp., 2014). Także zakażenie chlamydiami czy też infekcje wirusowe (np. *herpes simplex virus*) związane są ze wzrostem uszkodzeń oksydacyjnych plemników (Krause i Bohring, 2003; Krause i wsp., 2003; Segnini i wsp., 2003). Wysoki poziom uszkodzeń oksydacyjnych plemników został także potwierdzony u mężczyzn ze zwiększoną skłonnością do zakażeń układu moczowo-płciowego z powodu np. paraliżu kończyn dolnych (Brackett i wsp., 2008). Z kolei w przebiegu przewlekłego, niebakteryjnego zapalenia prostaty obserwuje się wzrost poziomu prozapalnych cytokin i aktywację produkcji RFT (Batstone i wsp., 2002; Motrich i wsp., 2005). Sanocka i wsp. (2003) wykazali, że prozapalne cytokiny takie jak interleukina 1 β (IL-1 β , ang. *interleukin 1 β*), interleukina 6 i 8 (IL-6, IL-8) i czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α , ang. *tumor necrosis factor α*) mogą modulować aktywność pro- i antyoksydacyjną w przebiegu zapalenia dróg wyprowadzających nasienie. Wyniki badań *in vitro* sugerują, że podczas procesu zapalnego cytokiny wzmagają poziom stresu oksydacyjnego generowanego przez leukocyty, co może mieć poważne konsekwencje dla integralności błony komórkowej plemnika (Frączek i wsp., 2008). Wzrost ilości leukocytów, prozapalnych cytokin i produkcji RFT w nasieniu był obserwowany np. po operacji rekonstrukcyjnej dróg wyprowadzających nasienie po wazektomii (Kolettis i wsp., 1999; Shapiro i wsp., 1998). Wykazano także, że u pacjentów z żylakami powrózków nasennych istnieje ścisły związek między wzrostem poziomu RFT i uszkodzeniami DNA plemników (Smith i wsp., 2006). Dodatkowo wzrost poziomu RFT w nasieniu i uszkodzeń DNA plemników zaobserwowano także przy skręcie jąder czy wewnątrz, przy czym w tym ostatnim przypadku nieprawidłowości te utrzymywały

się nawet po operacyjnym sprowadzeniu jąder do moszny (Filho i wsp., 2004; Smith i wsp., 2007).

Niskie tzw. fizjologiczne poziomy RFT w nasieniu, których produkcja znajduje się pod stałą kontrolą występujących tam systemów antyoksydacyjnych, odgrywają istotną rolę w prawidłowej czynności plemnika, biorąc udział w kluczowych procesach gwarantujących zapłodnienie (tj. capacytacja, hiperaktywacja, reakcja akrosomalna plemnika, fuzja plemnika z oocytem). Jednakże, jakiegokolwiek zaburzenie istniejącej równowagi oksydoredukcyjnej skutkuje wystąpieniem stresu oksydacyjnego. W ciągu ostatnich 25 lat pojawiło się wiele prac doświadczalnych i klinicznych na temat patofizjologii stresu oksydacyjnego i jego wpływu na męską płodność. Nie ma obecnie wątpliwości, że stres oksydacyjny zaburza czynność plemników, ograniczając tym samym szansę na uzyskanie zapłodnienia komórki jajowej i/lub rozwój zarodka. Istnieje wiele czynników wywołujących stres oksydacyjny w nasieniu. Wśród nich są czynniki egzogenne związane np. ze stylem życia (palenie, alkohol, otyłość, niezdrowa dieta), na które mężczyzna ma wpływ i poprzez zmianę swojego stylu życia może je w łatwy sposób wyeliminować. Niestety możliwości zmiany innych czynników egzogennych, tj. zanieczyszczenie środowiska czy ekspozycja na ftalany, często pozostają poza naszym zasięgiem. Z kolei czynniki endogenne związane m.in. z zaburzeniami układu płciowego czy też stanami zapalnymi w nim występującymi oraz tzw. niepłodność idiopatyczna wymagają interwencji medycznej. Chociażby w tych dwóch ostatnich przypadkach zasadnym wydaje się pytanie o możliwość wspomagania leczenia niepłodności męskiej, u podłoża której leży stres oksydacyjny, substancjami o udokumentowanym działaniu antyoksydacyjnym.

■ Podziękowania

Praca napisana w ramach grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503/1-089-03/503-01 i grantu NCN nr UMO-2012/05/B/NZ5/01308

■ Piśmiennictwo

Adams J.A., Galloway T.S., Mondal D., Esteves S.C., Mathews F.: Effect of mobile telephones on sperm quality: a systematic review and meta-analysis. *Environ Int.* 2014, 70, 106–112.

Agarwal A., Deepinder F., Sharma R.K., Ranga G., Li J.: Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: an observational study. *Fertil Steril.* 2008, 89, 124–128.

Agarwal A., Desai N.R., Makker K., Varghese A., Mouradi R., Sabanegh E. i wsp.: Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an *in vitro* pilot study. *Fertil Steril.* 2009, 92, 1318–1325.

Agarwal A., Said T.M.: Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *BJU Int.* 2005, 95, 503–507.

- Agarwal A., Said T.M., Bedaiwy M.A., Banerjee J., Alvarez J.G.: Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertil Steril*. 2006, 86, 503–512.
- Agarwal A., Saleh R.A.: Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Am*. 2002, 29, 817–827.
- Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A.: Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 2003, 79, 829–843.
- Agarwal A., Virk G., Ong C., du Plessis S.S.: Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health*. 2014, 32, 1–17.
- Aitken R.J., De Iuliis G.N.: On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod*. 2010, 16, 3–13.
- Aitken R.J., De Iuliis G.N., Finnie J.M., Hedges A., McLachlan R.I.: Analysis of the relationships between oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. *Hum Reprod*. 2010, 25, 2415–2426.
- Aitken R.J., Smith T.B., Jobling M.S., Baker M.A., De Iuliis G.N.: Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl*. 2014, 16, 31–38.
- Alvarez J.G., Sharma R.K., Ollero M., Saleh R.A., Lopez M.C., Thomas A.J., Jr. *i wsp.*: Increased DNA damage in sperm from leukocytospermic semen samples as determined by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril*. 2002, 78, 319–329.
- Alvarez J.G., Storey B.T.: Taurine, hypotaurine, epinephrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biol Reprod*. 1983, 29, 548–555.
- Amaral A., Lourenco B., Marques M., Ramalho-Santos J.: Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction*. 2013, 146, 163–174.
- Aprioku J.S.: Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. *J Reprod Infertil*. 2013, 14, 158–172.
- Bablok L., Dziadecki W., Szymusik I., Wołczyński S., Kurzawa R., Pawelczyk L. *i wsp.*: Patterns of infertility in Poland – multicenter study. *Neuro Endocrinol Lett*. 2011, 32, 799–804.
- Batstone G.R., Doble A., Gaston J.S.: Autoimmune T cell responses to seminal plasma in chronic pelvic pain syndrome (CPPS). *Clin Exp Immunol*. 2002, 128, 302–307.
- Brackett N.L., Ibrahim E., Grotas J.A., Aballa T.C., Lynne C.M.: Higher sperm DNA damage in semen from men with spinal cord injuries compared with controls. *J Androl*. 2008, 29, 93–99; discussion 100–101.
- Chen S.J., Allam J.P., Duan Y.G., Haidl G.: Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches. *Arch Gynecol Obstet*. 2013, 288, 191–199.
- Chitra K.C., Sujatha R., Latchoumycandane C., Mathur P.P.: Effect of lindane on antioxidant enzymes in epididymis and epididymal sperm of adult rats. *Asian J Androl*. 2001, 3, 205–208.
- Colagar A.H., Marzony E.T.: Ascorbic Acid in human seminal plasma: determination and its relationship to sperm quality. *J Clin Biochem Nutr*. 2009, 45, 144–149.
- Colagar A.H., Marzony E.T., Chaichi M.J.: Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. *Nutr Res*. 2009, 29, 82–88.
- Crosnoe L.E., Kim E.D.: Impact of age on male fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2013, 25, 181–185.
- Das U.B., Mallick M., Debnath J.M., Ghosh D.: Protective effect of ascorbic acid on cyclophosphamide-induced testicular gametogenic and androgenic disorders in male rats. *Asian J Androl*. 2002, 4, 201–207.
- De Celis R., Pedron-Nuevo N., Feria-Velasco A.: Toxicology of male reproduction in animals and humans. *Arch Androl*. 1996, 37, 201–218.
- De Iuliis G.N., Newey R.J., King B.V., Aitken R.J.: Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro. *PLoS One*. 2009, 4, e6446, doi: 10.1371/journal.pone.0006446.
- Deng Y., Zhang W., Su D., Yang Y., Ma Y., Zhang H. *i wsp.*: Some single nucleotide polymorphisms of MSY2 gene might contribute to susceptibility to spermatogenic impairment in idiopathic infertile men. *Urology*. 2008, 71, 878–882.
- Duty S.M., Silva M.J., Barr D.B., Brock J.W., Ryan L., Chen Z. *i wsp.*: Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology*. 2003a, 14, 269–277.
- Duty S.M., Singh N.P., Silva M.J., Barr D.B., Brock J.W., Ryan L. *i wsp.*: The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay. *Environ Health Perspect*. 2003b, 111, 1164–1169.
- Esteves S.C., Agarwal A.: Novel concepts in male infertility. *Int Braz J Urol*. 2011, 37, 5–15.
- Evenson D.P., Darzynkiewicz Z., Melamed M.R.: Simultaneous measurement by flow cytometry of sperm cell viability and mitochondrial membrane potential related to cell motility. *J Histochem Cytochem*. 1982, 30, 279–280.
- Fejes I., Zavacki Z., Szollosi J., Koloszar S., Daru J., Kovacs L. *i wsp.*: Is there a relationship between cell phone use and semen quality? *Arch Androl*. 2005, 51, 385–393.
- Filho D.W., Torres M.A., Bordin A.L., Crezcynski-Pasa T.B., Boveris A.: Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med*. 2004, 25, 199–210.
- Fraga C.G., Motchnik P.A., Wyrobek A.J., Rempel D.M., Ames B.N.: Smoking and low antioxidant levels increase oxidative damage to sperm DNA. *Mutat Res*. 1996, 351, 199–203.
- Frączek M., Kurpisz M.: Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa. *J Androl*. 2007, 28, 325–333.
- Frączek M., Kurpisz M.: The redox system in human semen and peroxidative damage of spermatozoa. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2005, 59, 523–534.
- Frączek M., Kurpisz M.: Stres oksydacyjny w nasieniu. W: *Układ płciowy męski. Badania kliniczne i doświadczalne*. Red.: M. Piasecka. Wydawnictwo Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, Szczecin 2013.
- Frączek M., Sanocka D., Kamieniczna M., Kurpisz M.: Proinflammatory cytokines as an intermediate factor enhancing lipid sperm membrane peroxidation in in vitro conditions. *J Androl*. 2008, 29, 85–92.
- Frączek M., Szumala-Kakol A., Jędrzejczak P., Kamieniczna M., Kurpisz M.: Bacteria trigger oxygen radical release and sperm lipid peroxidation in in vitro model of semen inflammation. *Fertil Steril*. 2007, 88, 1076–1085.
- Frączek M., Wiland E., Piasecka M., Boksa M., Gączarzewicz D., Szumala-Kakol A. *i wsp.*: Fertilizing potential of ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection. *Fertil Steril*. 2014, 102, 711–719.e1.
- Galecka E., Jacewicz R., Mrowicka M., Florkowski A., Galecki P.: Antioxidative enzymes – structure, properties, functions. *Pol Merkur Lekarski*. 2008, 25, 266–268.
- Ghosh D., Das U.B., Misro M.: Protective role of alpha-tocopherol-succinate (provitamin-E) in cyclophosphamide induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders: a correlative approach to oxidative stress. *Free Radic Res*. 2002, 36, 1209–1218.
- Giannattasio A., De Rosa M., Smeraglia R., Zarrilli S., Cimmino A., Di Rosario B. *i wsp.*: Glutathione peroxidase (GPX) activity in seminal plasma of healthy and infertile males. *J Endocrinol Invest*. 2002, 25, 983–986.
- Gil-Guzman E., Ollero M., Lopez M.C., Sharma R.K., Alvarez J.G., Thomas A.J., Jr. *i wsp.*: Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum Reprod*. 2001, 16, 1922–1930.

- Gorpinchenko I., Nikitin O., Banyra O., Shulyak A.: The influence of direct mobile phone radiation on sperm quality. *Cent European J Urol.* 2014, 67, 65–71.
- Guerrero G., Trocchia S., Abdel-Gawad F.K., Ciarcia G.: Roles of reactive oxygen species in the spermatogenesis regulation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014, 5, 56, doi: 10.3389/fendo.2014.00056.
- Guz J., Gackowski D., Foksinski M., Rozalski R., Zarakowska E., Siomek A. i wsp.: Comparison of oxidative stress/DNA damage in semen and blood of fertile and infertile men. *PLoS One.* 2013, 8, e68490, doi: 10.1371/journal.pone.0068490.
- Hauser R., Meeker J.D., Singh N.P., Silva M.J., Ryan L., Duty S. i wsp.: DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Hum Reprod.* 2007, 22, 688–695.
- Henkel R., Kierspel E., Stalf T., Mehnert C., Menkveld R., Tinneberg H.R. i wsp.: Effect of reactive oxygen species produced by spermatozoa and leukocytes on sperm functions in non-leukocytospermic patients. *Fertil Steril.* 2005, 83, 635–642.
- Hsu P.C., Guo Y.L.: Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology.* 2002, 180, 33–44.
- Hull M.G., Glazener C.M., Kelly N.J., Conway D.I., Foster P.A., Hinton R.A. i wsp.: Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1985, 291, 1693–1697.
- Irvine D.S.: Epidemiology and aetiology of male infertility. *Hum Reprod.* 1998, 13 Suppl 1, 33–44.
- Junqueira V.B., Barros S.B., Chan S.S., Rodrigues L., Giavarotti L., Abud R.L. i wsp.: Aging and oxidative stress. *Mol Aspects Med.* 2004, 25, 5–16.
- Jurewicz J., Radwan M., Merecz-Kot D., Sobala W., Ligocka D., Radwan P. i wsp.: Occupational, life stress and family functioning: does it affect semen quality? *Ann Hum Biol.* 2014a, 41, 220–228.
- Jurewicz J., Radwan M., Sobala W., Ligocka D., Radwan P., Bochenek M. i wsp.: Lifestyle and semen quality: role of modifiable risk factors. *Syst Biol Reprod Med.* 2014b, 60, 43–51.
- Jurewicz J., Radwan M., Sobala W., Ligocka D., Radwan P., Bochenek M. i wsp.: Human urinary phthalate metabolites level and main semen parameters, sperm chromatin structure, sperm aneuploidy and reproductive hormones. *Reprod Toxicol.* 2013, 42, 232–241.
- Kasahara E., Sato E.F., Miyoshi M., Konaka R., Hiramoto K., Sasaki J. i wsp.: Role of oxidative stress in germ cell apoptosis induced by di(2-ethylhexyl) phthalate. *Biochem J.* 2002, 365, 849–856.
- Khullar K., Agarwal A., Du Plessis S.S.: A hormonal, physical, and proteomic view of obesity-induced effects on male infertility and possible lifestyle modifications. *Asian Pac J Reprod.* 2012, 1, 161–168.
- Kilgallon S.J., Simmons L.W.: Image content influences men's semen quality. *Biol Lett.* 2005, 1, 253–255.
- Koch O.R., Pani G., Borrello S., Colavitti R., Cravero A., Farre S. i wsp.: Oxidative stress and antioxidant defenses in ethanol-induced cell injury. *Mol Aspects Med.* 2004, 25, 191–198.
- Kolettis P.N., Sharma R.K., Pasqualotto F.F., Nelson D., Thomas A.J., Jr., Agarwal A.: Effect of seminal oxidative stress on fertility after vasectomy reversal. *Fertil Steril.* 1999, 71, 249–255.
- Koppers A.J., De Iuliis G.N., Finnie J.M., McLaughlin E.A., Aitken R.J.: Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008, 93, 3199–3207.
- Kotzbach R., Kotzbach M.: Niektóre współczesne problemy prokreacji. *Post Androl Online.* 2013, 1, 5–11.
- Kovalski N.N., de Lamirande E., Gagnon C.: Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility: protective effect of seminal plasma and scavengers. *Fertil Steril.* 1992, 58, 809–816.
- Krause W., Bohring C.: Male infertility and genital chlamydial infection: victim or perpetrator? *Andrologia.* 2003, 35, 209–216.
- Krause W., Bohring C., Gueth A., Horster S., Krisp A., Skrzypek J.: Cellular and biochemical markers in semen indicating male accessory gland inflammation. *Andrologia.* 2003, 35, 279–282.
- Kulikauskas V., Blaustein D., Ablin R.J.: Cigarette smoking and its possible effects on sperm. *Fertil Steril.* 1985, 44, 526–528.
- Kurpisz M., Miesel R., Sanocka D., Jędrzejczak P.: Seminal plasma can be a predictive factor for male infertility. *Hum Reprod.* 1996, 11, 1223–1226.
- Kutlubay R., Oguz E.O., Can B., Guven M.C., Sinik Z., Tuncay O.L.: Vitamin E protection from testicular damage caused by intraperitoneal aluminium. *Int J Toxicol.* 2007, 26, 297–306.
- Lahdetie J.: Occupation- and exposure-related studies on human sperm. *J Occup Environ Med.* 1995, 37, 922–930.
- Lavranos G., Balla M., Tzortzopoulou A., Syriou V., Angelopoulou R.: Investigating ROS sources in male infertility: a common end for numerous pathways. *Reprod Toxicol.* 2012, 34, 298–307.
- Lenzi A., Culasso F., Gandini L., Lombardo F., Dondero F.: Placebo-controlled, double-blind, cross-over trial of glutathione therapy in male infertility. *Hum Reprod.* 1993, 8, 1657–1662.
- Ługowski M., Saczko J., Kulbacka J., Baśas T.: Reactive oxygen and nitrogen species]. *Pol Merkur Lekarski.* 2011, 31, 313–317.
- Mailankot M., Kunnath A.P., Jayalekshmi H., Koduru B., Valsalan R.: Radio frequency electromagnetic radiation (RF-EMR) from GSM (0.9/1.8GHz) mobile phones induces oxidative stress and reduces sperm motility in rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2009, 64, 561–565.
- Mazzilli F., Rossi T., Marchesini M., Ronconi C., Dondero F.: Superoxide anion in human semen related to seminal parameters and clinical aspects. *Fertil Steril.* 1994, 62, 862–868.
- Mostafa T., Tawadrous G., Roaia M.M., Amer M.K., Kader R.A., Aziz A.: Effect of smoking on seminal plasma ascorbic acid in infertile and fertile males. *Andrologia.* 2006, 38, 221–224.
- Motrich R.D., Maccioni M., Molina R., Tissera A., Olmedo J., Riera C.M. i wsp.: Reduced semen quality in chronic prostatitis patients that have cellular autoimmune response to prostate antigens. *Hum Reprod.* 2005, 20, 2567–2572.
- Musset B., Clark R.A., DeCoursey T.E., Petheo G.L., Geiszt M., Chen Y. i wsp.: NOX5 in human spermatozoa: expression, function, and regulation. *J Biol Chem.* 2012, 287, 9376–9388.
- Ochędalski T., Lachowicz-Ochędalska A., Dec W., Czechowski B.: Evaluating the effect of smoking tobacco on some semen parameters in men of reproductive age. *Ginekolog Pol.* 1994, 65, 80–86.
- Olinski R., Siomek A., Rozalski R., Gackowski D., Foksinski M., Guz J. i wsp.: Oxidative damage to DNA and antioxidant status in aging and age-related diseases. *Acta Biochim Pol.* 2007, 54, 11–26.
- Ollero M., Gil-Guzman E., Lopez M.C., Sharma R.K., Agarwal A., Larson K. i wsp.: Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Hum Reprod.* 2001, 16, 1912–1921.
- Olszewska-Słonina D.: Sperm cryopreservation and oxidative damage. What does it mean? *Cent European J Urol.* 2013, 66, 50–51.
- Pacifici R., Altieri I., Gandini L., Lenzi A., Pichini S., Rosa M. i wsp.: Nicotine, cotinine, and trans-3-hydroxycotinine levels in seminal plasma of smokers: effects on sperm parameters. *Ther Drug Monit.* 1993, 15, 358–363.
- Palmer N.O., Bakos H.W., Fullston T., Lane M.: Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis.* 2012, 2, 253–263.
- Paul C., Robaire B.: Ageing of the male germ line. *Nat Rev Urol.* 2013, 10, 227–234.
- Peake J.M., Suzuki K., Coombes J.S.: The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. *J Nutr Biochem.* 2007, 18, 357–371.

- Potargowicz E., Szerszenowicz E., Staniszevska M., Nowak D.: Mitochondria as an source of reactive oxygen species. *Postępy Hig Med Dosw (Online)*. 2005, 59, 259–266.
- Purvis K., Christiansen E.: Male infertility: current concepts. *Ann Med*. 1992, 24, 259–272.
- Puzanowska-Tarasiewicz H., Starczewska B., Kuźmicka L.: Reaktywne formy tlenu. *Bromat Chem Toksykol*. 2008, 41, 1007–1015.
- Rengan A.K., Agarwal A., van der Linde M., du Plessis S.S.: An investigation of excess residual cytoplasm in human spermatozoa and its distinction from the cytoplasmic droplet. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012, 10, 92.
- Roos D.: The involvement of oxygen radicals in microbicidal mechanisms of leukocytes and macrophages. *Klin Wochenschr*. 1991, 69, 975–980.
- Rowe P.J., Comhaire F.H., Hargreave T.B., Mahmoud A.M.A.: WHO manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male. WHO, 2000
- Safarinejad M.R.: Infertility among couples in a population-based study in Iran: prevalence and associated risk factors. *Int J Androl*. 2008, 31, 303–314.
- Saleh R.A., Agarwal A., Nada E.A., El-Tonsy M.H., Sharma R.K., Meyer A. i wsp.: Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil Steril*. 2003, 79 Suppl 3, 1597–1605.
- Saleh R.A., Agarwal A., Sharma R.K., Nelson D.R., Thomas A.J., Jr.: Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril*. 2002, 78, 491–499.
- Sanocka-Maciejewska D., Ciupińska M., Kurpisz M.: Bacterial infection and semen quality. *J Reprod Immunol*. 2005, 67, 51–56.
- Sanocka D., Jędrzejczak P., Szumala-Kaekol A., Frączek M., Kurpisz M.: Male genital tract inflammation: The role of selected interleukins in regulation of pro-oxidant and antioxidant enzymatic substances in seminal plasma. *J Androl*. 2003, 24, 448–455.
- Sanocka D., Miesel R., Jędrzejczak P., Chelmońska-Soyta A.C., Kurpisz M.: Effect of reactive oxygen species and the activity of antioxidant systems on human semen; association with male infertility. *Int J Androl*. 1997, 20, 255–264.
- Segnini A., Camejo M.I., Proverbio F.: Chlamydia trachomatis and sperm lipid peroxidation in infertile men. *Asian J Androl*. 2003, 5, 47–49.
- Sepaniak S., Forges T., Fontaine B., Gerard H., Foliguet B., Guillet-May F. i wsp.: Negative impact of cigarette smoking on male fertility: from spermatozoa to the offspring. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2004, 33, 384–390.
- Shapiro R.H., Muller C.H., Chen G., Berger R.E.: Vasectomy reversal associated with increased reactive oxygen species production by seminal fluid leukocytes and sperm. *J Urol*. 1998, 160, 1341–1346.
- Sharlip I.D., Jarow J.P., Belker A.M., Lipshultz L.I., Sigman M., Thomas A.J. i wsp.: Best practice policies for male infertility. *Fertil Steril*. 2002, 77, 873–882.
- Sharma R.K., Pasqualotto A.E., Nelson D.R., Thomas A.J., Jr., Agarwal A.: Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic. *J Androl*. 2001, 22, 575–583.
- Sikka S.C.: Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J Androl*. 2004, 25, 5–18.
- Singer G., Granger D.N.: Inflammatory responses underlying the microvascular dysfunction associated with obesity and insulin resistance. *Microcirculation*. 2007, 14, 375–387.
- Siomek A., Gackowski D., Rozalski R., Dziaman T., Szpila A., Guz J. i wsp.: Higher leukocyte 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine and lower plasma ascorbate in aging humans? *Antioxid Redox Signal*. 2007, 9, 143–150.
- Słowikowska-Hilczner J.: Xenobiotics with estrogen or antiandrogen action – disruptors of the male reproductive system. *Centr Eur J Med*. 2006, 1, 205–227.
- Smith R., Kaune H., Parodi D., Madariaga M., Morales I., Rios R. i wsp.: Extent of sperm DNA damage in spermatozoa from men examined for infertility. Relationship with oxidative stress. *Rev Med Chil*. 2007, 135, 279–286.
- Smith R., Kaune H., Parodi D., Madariaga M., Rios R., Morales I. i wsp.: Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod*. 2006, 21, 986–993.
- Sujatha R., Chitra K.C., Latchoumycandane C., Mathur P.P.: Effect of lindane on testicular antioxidant system and steroidogenic enzymes in adult rats. *Asian J Androl*. 2001, 3, 135–138.
- Taha E.A., Ez-Aldin A.M., Sayed S.K., Ghandour N.M., Mostafa T.: Effect of smoking on sperm vitality, DNA integrity, seminal oxidative stress, zinc in fertile men. *Urology*. 2012, 80, 822–825.
- Taha E.A., Sayed S.K., Ghandour N.M., Mahran A.M., Saleh M.A., Amin M.M. i wsp.: Correlation between seminal lead and cadmium and seminal parameters in idiopathic oligoasthenozoospermic males. *Cent European J Urol*. 2013, 66, 84–92.
- Thiele J.J., Friesleben H.J., Fuchs J., Ochsendorf F.R.: Ascorbic acid and urate in human seminal plasma: determination and interrelationships with chemiluminescence in washed semen. *Hum Reprod*. 1995, 10, 110–115.
- Thonneau P., Bujan L., Multigner L., Mieusset R.: Occupational heat exposure and male fertility: a review. *Hum Reprod*. 1998, 13, 2122–2125.
- Tomar A.K., Sooch B.S., Raj I., Singh T.P., Yada S.: Isolation and identification of Concanavalin A binding glycoproteins from human seminal plasma: a step towards identification of male infertility marker proteins. *Dis Markers*. 2011, 31 (6), 379–386.
- Tremellen K.: Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. *Hum Reprod Update*. 2008, 14, 243–258.
- Trummer H., Habermann H., Haas J., Pummer K.: The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. *Hum Reprod*. 2002, 17, 1554–1559.
- Ursini F., Heim S., Kiess M., Maiorino M., Roveri A., Wissing J. i wsp.: Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science*. 1999, 285, 1393–1396.
- Vogelpoel F.R., van Kooij R.J., te Velde E.R., Verhoef J.: Influence of polymorphonuclear granulocytes on the zona-free hamster oocyte assay. *Hum Reprod*. 1991, 6, 1104–1107.
- Walczak-Jędrzejowska R., Wolski J.K., Słowikowska-Hilczner J.: The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol*. 2013, 66, 60–67.
- Wang X., Sharma R.K., Gupta A., George V., Thomas A.J., Falcone T. i wsp.: Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study. *Fertil Steril*. 2003, 80 Suppl 2, 844–850.
- Watson P.F.: The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci*. 2000, 60-61, 481–492.
- Wdowiak A., Wdowiak L., Wiktor H.: Evaluation of the effect of using mobile phones on male fertility. *Ann Agric Environ Med*. 2007, 14, 169–172.
- Webb G.W., Arns M.: Effect of pyruvate and lactate on motility of cold stored stallion spermatozoa challenged by hydrogen peroxide. *J Equine Vet Sci*. 2006, 26, 406–411.
- Wolff H., Politch J.A., Martinez A., Haimovici F., Hill J.A., Anderson D.J.: Leukocytospermia is associated with poor semen quality. *Fertil Steril*. 1990, 53, 528–536.
- Xu D.X., Shen H.M., Zhu Q.X., Chua L., Wang Q.N., Chia S.E. i wsp.: The associations among semen quality, oxidative DNA damage in human spermato-

zoa and concentrations of cadmium, lead and selenium in seminal plasma. *Mutat Res.* 2003, 534, 155–163.

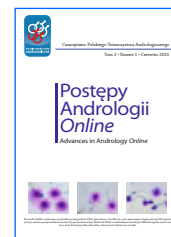
Xu K., Shang X., Chen Y., Zhao F., Zhu P., Huang Y.: Measurement of uric acid of seminal plasma in fertile and infertile males. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2004, 10, 900–901.

Zhang H.Y., Lu J.C., Zhang R.S., Xia Y.X., Huang Y.F.: Determination of uric acid in seminal plasma and correlation between seminal uric acid and semen parameters. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2007, 13, 1016–1019.

Zini A., Garrels K., Phang D.: Antioxidant activity in the semen of fertile and infertile men. *Urology.* 2000, 55, 922–926.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.andrologia-pta.com.pl>

STRES OKSYDACYJNY A NIEPŁODNOŚĆ MĘSKA. CZEŚĆ II: ANTYOKSYDANTY W LECZENIU MĘSKIEJ NIEPŁODNOŚCI

OXIDATIVE STRESS AND MALE INFERTILITY. PART II: ANTIOXIDANTS IN TREATMENT OF MALE INFERTILITY

Renata Walczak-Jędrzejowska

Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Autor do korespondencji: Renata Walczak-Jędrzejowska (renata.walczak-jedrzejowska@umed.lodz.pl)

Renata Walczak-Jędrzejowska – dr n. med., absolwentka Uniwersytetu Łódzkiego, biolog, specjalność biologia molekularna. Nauczyciel akademicki w Zakładzie Endokrynologii Płodności Katedry Andrologii i Endokrynologii Płodności Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Współwykonawca polskich i europejskich projektów badawczych. Pierwszy autor i współautor 93 publikacji naukowych. Skarbnik Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, członek Międzynarodowego Towarzystwa Andrologicznego, Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego, Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz Komisji Andrologii Komitetu Biologii Rozrodu PAN. Praca zawodowa i naukowa autorki związana jest z badaniami nad czynnością męskiego układu płciowego i jego zaburzeniami oraz diagnostyką andrologiczną.

Streszczenie

W ostatnich latach opublikowano wiele prac, w których wykazano, że reaktywne formy tlenu występują w zwiększonej ilości w nasieniu niepłodnych mężczyzn, zaburzając czynności plemników, głównie w wyniku utleniania lipidów błon komórkowych oraz uszkodzenia ojcowskiego DNA. W konsekwencji uważa się, że stres oksydacyjny jest jedną z głównych przyczyn męskiej niepłodności. Ponieważ w warunkach stresu oksydacyjnego naturalne systemy antyoksydacyjne nie są w stanie neutralizować i usuwać nadmiaru reaktywnych form tlenu, wydaje się uzasadnione twierdzenie, że złagodzenie stresu oksydacyjnego poprzez przyjmowanie egzogennych antyoksydantów może prowadzić do polepszenia czynności plemników i potencjalnie płodności mężczyzny. Mimo iż istnieje wiele badań, w których wykazano korzystny wpływ podawania antyoksydantów na parametry nasienia czy nawet wzrost odsetka ciąż u partnerek, to nie ma możliwości ustalenia na ich podstawie jednoznacznych wytycznych co do wprowadzenia terapii antyoksydantami do rutynowej praktyki leczenia męskiej niepłodności. Dlatego też, obecnie, leczenie antyoksydantami zaburzeń męskiej płodności pozostaje ciągle w sferze tzw. leczenia empirycznego.

słowa kluczowe: stres oksydacyjny, niepłodność męska, antyoksydanty

Abstract

In recent years many articles have showed, that reactive oxygen species are present in increased amounts in the semen of infertile men, causing sperm dysfunction, mainly due to peroxidation of cell membrane's lipids and paternal DNA. Thus, it is presently considered that oxidative stress is one of the main causes of male infertility. Since at oxidative stress, natural antioxidant systems are not able to neutralize and remove excess of reactive oxygen species, it seems logical that amelioration of oxidative stress by taking exogenous antioxidants may lead to improve sperm function and potentially male fertility. Although there are many studies that have demonstrated a beneficial effect of antioxidant administration to improve semen parameters or even increase in the pregnancy rates, it is still impossible to establish clear guidelines for the introduction of antioxidant therapy in routine treatment of male infertility. Thus, until now the treatment of male infertility with antioxidants stays an empirical one.

key words: oxidative stress, male infertility, antioxidants

Skróty / Abbreviations

4HNE – 4-hydroksynonenal (ang. *4-hydroxynonenal*), 8-OHdG – 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna (ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*), ATP – adenozy-5'-trifosforan (ang. *adenosine-5'-triphosphate*), CASA – analiza nasienia wspomagana komputerowo (ang. *computer-assisted semen analysis*), DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*), DHA – kwas dokozaheksaenowy (ang. *docosahexaenoic acid*), G6PDH – dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (ang. *glucose-6-phosphate dehydrogenase*), GPX – peroksydaza glutationowa (ang. *glutathione peroxidase*), GRADE – grupa robocza GRADE (ang. *Grades of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation Working Group*), ICSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*), iOAT – idiopatyczna oligoastenoteratozoospermia (ang. *idiopathic oligoasthenoteratozoospermia*), IMSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika wyselekcjonowanego pod względem morfologicznym (ang. *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection*), MDA – dialdehyd malonowy (ang. *malondialdehyde*), mtDNA – mitochondrialny DNA (ang. *mitochondrial DNA*), NADPH – fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, forma zredukowana (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced*), NLPZ – niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*), PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. *polyunsaturated fatty acids*), RDA – zalecane dzienne spożycie (ang. *recommended dietary allowance*), RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*), -SH – grupa sulfhydrylowa (ang. *sulfhydryl group*)

Stres oksydacyjny spowodowany jest zachwianiem równowagi między wytwarzaniem tzw. reaktywnych form tlenu (RFT, ang. *reactive oxygen species*), powstających w komórkach podczas wielu procesów metabolicznych, a działaniem ochronnego systemu antyoksydacyjnego organizmu odpowiedzialnego za ich neutralizowanie i usuwanie (Walczak-Jędrzejowska i wsp., 2013). Ocenia się, że u co najmniej 25% niepłodnych mężczyzn w porównaniu z mężczyznami płodnymi występuje w nasieniu podwyższony poziom RFT (Agarwal i wsp., 2004; Aitken i wsp., 2010; Fraga i wsp., 1991; Iwasaki i Gagnon, 1992; Zini i wsp., 2009). Nadmiar RFT jest przyczyną występowania reakcji patologicznych prowadzących do uszkodzenia ważnych cząsteczek biologicznych (lipidów błon komórkowych, białek, DNA), powodując nieodwracalne zmiany w ich strukturze i prowadząc do zaburzenia czynności plemników, a w konsekwencji obniżenia ich potencjału zapładniającego (Cummins i wsp., 1994). Dodatkowo wykazano, że podwyższeniu poziomu RFT towarzyszy często obniżenie zdolności antyoksydacyjnych nasienia (Lewis i wsp., 1997; Sanocka i wsp., 1996; Smith i wsp., 1996). Dlatego też w ostatnich latach ukazuje się coraz więcej artykułów naukowych poświęconych badaniu wpływu suplementacji substancjami o udokumentowanym działaniu antyoksydacyjnym na poprawę męskiej płodności.

Stres oksydacyjny a parametry nasienia i czynność plemników

W warunkach stresu oksydacyjnego zaburzone zostaje prawidłowe wytwarzanie plemników oraz ich jakość w wyniku interakcji RFT z lipidami błony komórkowej, białkami oraz DNA. Istnieje wiele doniesień wykazujących, że wzrost poziomu RFT i/lub obniżenie poziomu antyoksydantów w nasieniu korelują z zaburzeniem ruchliwości plemników (Aitken i wsp., 1993a; Aitken i wsp., 1997; Benedetti i wsp., 2012; de Lamirande i Gagnon, 1992a; 1992b; Gil-Guzman i wsp., 2001; Ollero i wsp., 2001; Sikka, 1996), nieprawidłową morfologią (Benedetti i wsp., 2012; Gil-Guzman i wsp., 2001; Ollero i wsp., 2001) czy oligozoospermia (Aitken i wsp., 1989; Guz i wsp., 2013;

Mahanta i wsp., 2012; Pasqualotto i wsp., 2000). Z drugiej strony, ocenia się, że u 30–80% niepłodnych mężczyzn zaobserwować można uszkodzenia oksydacyjne plemników nawet wtedy, gdy parametry rutynowych badań nasienia takie jak koncentracja, ruchliwość czy morfologia plemników są w granicach normy (Tremellen, 2008). Dlatego też uważa się, że właśnie stres oksydacyjny może leżeć u podstaw wielu przypadków męskiej niepłodności o nieznanym podłożu – tzw. niepłodności idiopatycznej.

Błona komórkowa plemników zawiera duże ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA, ang. *polyunsaturated fatty acids*), głównie kwasu dokozaheksaenowego (DHA, ang. *docosahexaenoic acid*), które z jednej strony odpowiedzialne są za płynność błony, a z drugiej czynią ją podatną na uszkodzenia peroksydacyjne wywoływane przez RFT (Alvarez i Storey, 1995; Alvarez i wsp., 1987). Peroksydacja lipidów jest procesem łańcuchowym, zapewniającym ciągłą dostawę wolnych rodników inicjujących następne reakcje peroksydacyjne. Proces ten uważany jest za jeden z głównych mechanizmów uszkodzeń oksydacyjnych plemników, skutkujący obniżeniem płynności błon, zmianami ich struktury, wzrostem niespecyficznego przepuszczalności jonów oraz unieczynnieniem związanych z błoną receptorów i białek, co nieuchronnie prowadzi do zaburzeń czynności plemników i niepłodności (Agarwal i wsp., 2014; Aitken i wsp., 2014; Frączek i Kurpisz, 2013). Jednym z głównych efektów tego procesu jest utrata ruchliwości i przeżywalności plemników głównie na skutek utraty adenozy-5'-trifosforanu (ATP, ang. *adenosine-5'-triphosphate*) i spadku fosforylacji białek aksonemalnych (Aitken i wsp., 1993b; Rao i wsp., 1989; Rivlin i wsp., 2004).

Reakcja peroksydacji lipidów prowadzi także do wytworzenia cytotoksycznych aldehydów takich jak dialdehyd malonowy (MDA, ang. *malondialdehyde*) czy 4-hydroksynonenal (4HNE, ang. *4-hydroxynonenal*), które w dalszym etapie mogą uszkadzać cząsteczki białek czy też DNA, w tym ostatnim przypadku tworząc tzw. addukty objętościowe i przyczyniając się do niestabilności DNA (Grosicka-Maciąg, 2011; Przybyszewski i wsp., 2005). Aitken i wsp. (2012) w badaniach *in vitro* wykazali, że 4HNE i akroleina powodują utratę ruchliwości

ludzkich plemników. Z kolei pomiar stężenia MDA jest wykorzystywany jako biochemiczny marker uszkodzeń peroksydacyjnych lipidów i koreluje z obniżeniem koncentracji, morfologii, a przede wszystkim ruchliwości plemników i jakością DNA, a w konsekwencji ich zdolnością zapładniającą (Atig i wsp., 2012; Benedetti i wsp., 2012; Hsieh i wsp., 2006; Jędrzejczak i wsp., 2005).

Oddziaływanie RFT z białkami powoduje ich utlenianie, które może prowadzić do rozerwania łańcucha polipeptydowego, pojawienia się zmienionych reszt aminokwasowych, czy też tworzenia dimerów bądź agregatów białkowych. Zmiany te w konsekwencji powodują zmianę struktury białka oraz utratę jego aktywności biologicznej. Oksydacyjne modyfikacje w strukturze i topografii białek błonowych główki i wtki plemnika mogą zaburzać capacytancję, reakcję akrosomalną i w efekcie fuzję plemnika z oocytą (Frączek i Kurpisz, 2013). W białkach najbardziej podatne na utlenianie są reszty cysteiny i metioniny zawierające grupy sulfhydrylowe (–SH, ang. *sulfhydryl group*) oraz tyrozyna i tryptofan. Głównymi mediatorami oksydacyjnego uszkodzenia białek są najczęściej rodnik hydroksylowy, nadtlenek wodoru i anionorodnik ponadtlenkowy (Grosicka-Maciąg, 2011; Zabłocka i Janusz, 2008). Przykładowo, wykazano, że nadtlenek wodoru powoduje hamowanie aktywności enzymu dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PDH, ang. *glucose-6-phosphate dehydrogenase*) w plemnikach, w konsekwencji zmniejszając ilości dostępnego, zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADPH, ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced*), który jest niezbędny w reakcji redukcji utlenionego glutationu do jego formy zredukowanej (D'Autreaux i Toledano, 2007; Meister, 1988). Wynika z tego, że zahamowanie aktywności G6PDH obniża dostępność zredukowanej formy glutationu, która jest niezbędna dla prawidłowego działania enzymu peroksydazy glutationowej (GPX, ang. *glutathione peroxidase*), powodując tym samym obniżenia zdolności antyoksydacyjnych plemnika (Griveau i wsp., 1995).

Stres oksydacyjny jest uważany za główny czynnik powodujący uszkodzenia DNA plemników (Aitken i De Iuliis, 2010). Za oksydacyjne uszkodzenia DNA odpowiedzialny jest przede wszystkim rodnik hydroksylowy oraz tlen singletowy. Nadtlenek wodoru i anionorodnik ponadtlenkowy nie powodują uszkodzenia kwasów nukleinowych. Utlenianie DNA prowadzi do modyfikacji zasad azotowych, reszt cukrowych lub powstania pęknięć kwasów nukleinowych (jedno- i dwuniciowych) oraz wiązań poprzecznych DNA-białko. Jedną z zasad, która łatwo ulega utlenianiu, jest guanina. Produktem reakcji rodnika hydroksylowego z cząsteczką nukleozydu deoksyguanozyny jest 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna (8-OHdG, ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*), która jest najczęściej spotykanym mutagennym uszkodzeniem cząsteczki DNA (Grosicka-Maciąg, 2011), dzięki czemu może być markerem oksydacyjnych uszkodzeń DNA. Wykazano, że poziom jej koreluje dodatnio z ilością RFT

oraz pęknięciami jądrowego DNA plemnika u niepłodnych mężczyzn (Aitken i wsp., 2010; De Iuliis i wsp., 2009) oraz pacjentów z żylakami powrózków nasiennych lub wnetrostwem (Abd-Elmoaty i wsp., 2010; Agarwal i wsp., 2008). Obniżenie poziomu pojedynczych antyoksydantów oraz całkowitej zdolności antyoksydacyjnej nasienia oraz wzrost poziomu RFT w nasieniu korelują z uszkodzeniami DNA w plemnikach niepłodnych mężczyzn (Atig i wsp., 2013; Khosravi i wsp., 2012; Zini i wsp., 2009). Uszkodzenia te współwystępują często z obniżeniem liczby plemników i wzrostem odsetka nieprawidłowych plemników (Mehdi i wsp., 2009; Virro i wsp., 2004) oraz zaburzeniem ich ruchliwości (Appasamy i wsp., 2007; Erenpreiss i wsp., 2008; Piasecka i wsp., 2007). Jako że wysoki poziom fragmentacji jądrowego DNA wykazano także u niepłodnych mężczyzn z normozoospermia, wydaje się, że uszkodzenia DNA mogą być główną przyczyną niepłodności idiopatycznej (Erenpreiss i wsp., 2008; Oleszczuk i wsp., 2013; Piasecka i wsp., 2006).

W plemniku z prawidłowo dojrzałą i skondensowaną chromatyną tylko 10–15% jądrowego DNA związane jest z histonami i wykazuje budowę nukleosomową. Pozostała część genomowego DNA plemnika (85–90%), podczas procesu protaminacji obejmującego wymianę histonów somatycznych na histony jądrowe, tych z kolei na białka przejściowe i finalnie na specyficzne dla plemnika białka protaminowe (protamina 1 i protamina 2), upakowywana jest w formie toroidu, który zabezpiecza DNA przed szkodliwym działaniem czynników takich jak stres oksydacyjny. Defekty genów kodujących białka protaminy czy też zaburzenia ich transkrypcji lub translacji białek protaminowych mogą prowadzić do nieprawidłowej ilości i stosunku transkryptów obu protamin, następnie do deprotaminacji i nieprawidłowej kondensacji chromatyny, a tym samym do obniżenia integralności genomu plemników (Kazienko i wsp., 2012; Piasecka i wsp., 2013). Plemnikowe DNA staje się wtedy bardziej podatne na uszkodzenia oksydacyjne prowadzące m.in. do jego fragmentacji (Aoki i wsp., 2006; De Iuliis i wsp., 2009; Torregrosa i wsp., 2006). Fragmentacja DNA plemnika koreluje z jakością plemnika, zaburzeniami procesu zapłodnienia, częstością wystąpienia ciąży oraz urodzeń (Evenson i Wixon, 2006; Evenson i Wixon, 2008; Zhang i wsp., 2008; Zini, 2011; Zini i wsp., 2011). Ponadto, integralność plemnikowego DNA jest także silnie związana z przypadkami nawracających, spontanicznych poronień (Gil-Villa i wsp., 2010; Kennedy i wsp., 2011; Kumar i wsp., 2012; Zini, 2011). Najczęściej, w warunkach naturalnej selekcji (naturalne zapłodnienie, inseminacja czy też „klasyczne” zapłodnienie *in vitro*) plemniki z oksydacyjnym uszkodzeniem DNA, z powodu dodatkowo występujących uszkodzeń peroksydacyjnych błony komórkowej, nie są zdolne do zapłodnienia komórki jajowej. Jednakże, kiedy warunki naturalnej selekcji zostają pominięte, tak jak to jest w przypadku procedury docytoplazmatycznej iniekcji plemnika do komórki jajowej (ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm*

injection), pomimo uszkodzeń oksydacyjnych plemnika może dojść do zapłodnienia (Twigg i wsp., 1998b). Oczywiście, w takim przypadku istnieje jeszcze możliwość naprawy uszkodzonego DNA plemnika przez mechanizmy naprawcze komórki jajowej, co uzależnione może być w dużej mierze od jakości samego oocytu (Meseguer i wsp., 2011). Uważa się jednak, że mechanizmy naprawcze oocytu są w stanie naprawić np. DNA zmodyfikowane adduktami, a możliwości naprawy pęknięć nici DNA, zarówno jedno-, jak i dwuniciowych, jest w nich ograniczona, co znacząco może wpływać na proces zapłodnienia (Gonzalez-Marin i wsp., 2012; Menezo i wsp., 2010). Zastosowanie w przypadku procedury ICSI dodatkowych metod selekcji plemnika pod względem morfologicznym (IMSI, ang. *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection*) oraz ruchliwości, ocenianej z wykorzystaniem analizy nasienia wspomaganej komputerowo (CASA, ang. *computer assisted sperm analysis*), może ograniczyć zapłodnienie komórki jajowej plemnikiem ze zwiększoną fragmentacją DNA (Maettner i wsp., 2014; Sivanarayana i wsp., 2012). Jednakże zawsze w przypadku możliwości zapłodnienia komórki jajowej plemnikiem z podwyższoną ilością pęknięć DNA trzeba brać pod uwagę zwiększone ryzyko wystąpienia poronień, niepowodzenia w zagnieżdżeniu blastocysty, czy też kłopotów z donoszeniem ciąży oraz niekorzystnego wpływu na zdrowie potomstwa (Benchaib i wsp., 2007; Bungum i wsp., 2007; Davies i wsp., 2012; Hansen i Bower, 2014; Kennedy i wsp., 2011; Robinson i wsp., 2012).

Oprócz jądrowego DNA, uszkodzeniom oksydacyjnym może podlegać także DNA mitochondrialne (mtDNA, ang. *mitochondrial DNA*). W plemnikach można zaobserwować liczne zaburzenia budowy morfologicznej oraz czynności mitochondriów, takie jak: zmniejszenie aktywności lub ekspresji enzymów mitochondrialnych, w tym enzymów łańcuch oddechowego, zaburzenia oksydoredukcyjne, obniżony potencjał błony, mutacje, delecje i polimorfizmy mtDNA, czy zaburzenia ubikwitynacji mitochondriów (Piasecka, 2004). Wykazano na przykład, że komórki, w których obecne jest zmutowane mtDNA, wykazują niższą czynność mitochondrialnego łańcucha oddechowego i zwiększoną produkcję rodnika hydroksylowego, nadtlenu wodoru oraz anionorodnika ponadtlenkowego (Bogenhagen, 1999; Liu i wsp., 2004; Taylor i Turnbull, 2005). Ponadto, wykazano związek między RFT, funkcją mitochondriów a apoptozą, gdzie wysoki poziom RFT powodował uszkodzenie wewnętrznej i zewnętrznej błony mitochondrialnej i uwolnienie cytochromu C (Wang i wsp., 2003). Z kolei cytochrom C aktywuje kaspazy i indukuje apoptozę komórek, która wzrasta u nieplodnych mężczyzn z podwyższonym poziomem RFT w nasieniu. Badania doświadczalne na myszach wykazały, że zaburzenie czynności łańcucha oddechowego wynikające z nieprawidłowości w mtDNA prowadzi do zatrzymania podziałów mejotycznych komórek płciowych, a w konsekwencji oligozoospermii, astenozoospermii i teratozoospermii (Nakada i wsp., 2006). Podobnie u ludzi

zaobserwowano, że wzrost ilości mutacji mtDNA może prowadzić do zaburzeń budowy plemników i ich defektów ultrastrukturalnych (Shamsi i wsp., 2008).

Suplementacja antyoksydantami – czy jest uzasadniona?

Analizując badania nad wpływem stresu oksydacyjnego na płodność męską, wydaje się oczywiste, że istnieją naukowe przesłanki przemawiające za możliwością zastosowania suplementacji antyoksydantami do leczenia męskiej niepłodności. W nasieniu nieplodnych mężczyzn oznaczano wyższy poziom RFT oraz niższy poziom antyoksydantów w porównaniu z mężczyznami płodnymi (Agarwal i wsp., 2004; Aitken i wsp., 2010; Fraga i wsp., 1991; Iwasaki i Gagnon, 1992; Zini i wsp., 2009). Również w badaniach *in vitro* wykazywano, że wystawienie plemników na działanie RFT lub stymulacja wytwarzania RFT przez same plemniki powodowały spadek ich ruchliwości, zaburzenie integralności błony komórkowej oraz obniżenie jakości DNA, w konsekwencji prowadząc do obniżenia potencjału zapładniającego plemników (Aitken i wsp., 1996; Kemal Duru i wsp., 2000; Miesel i wsp., 1993; Potts i wsp., 2000; Twigg i wsp., 1998a). Z kolei po dodaniu do medium antyoksydantów następowało zahamowanie działania RFT, a tym samym zahamowanie powstawania uszkodzeń oksydacyjnych w plemnikach (Hong i wsp., 1994; Kobayashi i wsp., 1991; Parinaud i wsp., 1997; Verma i Kanwar, 1999). Nie dziwi więc fakt, że w ciągu ostatnich dwóch dekad pojawiły się liczne badania kliniczne analizujące wpływ suplementacji antyoksydantami na płodność męskiej (Agarwal i Sekhon, 2010; Gharagozloo i Aitken, 2011; Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; Ko i Sabanegh, 2012; Lombardo i wsp., 2011; Ross i wsp., 2010; Zini i Al-Hathal, 2011). Przy tak dużej liczbie badań oczekuje się, że możliwe będzie ostateczne wykazanie zasadności stosowania antyoksydantów w niepłodności męskiej. Jednakże nie jest to zadanie proste, ponieważ w badaniach tych występuje duże zróżnicowanie dotyczące typu, dawki oraz czasu podawania antyoksydantów. Ponadto w wielu z nich kryteria włączenia opierają się głównie na analizie parametrów podstawowego badania nasienia, a nie parametrów jednoznacznie wskazujących na występowanie w nasieniu stresu oksydacyjnego. Kolejnymi słabymi punktami większości z tych badań jest brak odpowiedniej grupy kontrolnej, mała liczebność grupy badanej, czy też różnorodność analizowanych efektów końcowych. Zwykle były to parametry podstawowego badania nasienia, takie jak liczba, ruchliwość czy morfologia, rzadziej testy oceniające np. uszkodzenia oksydacyjne poszczególnych makromolekuł plemnika, czy też częstość występowania ciąży i urodzeń. W ostatnich latach pojawiły się prace przeglądowe zawierające podsumowanie dotychczasowych badań klinicznych dotyczących wpływu zażywania różnego rodzaju antyoksydantów

na poprawę męskiej płodności (Agarwal i Sekhon, 2010; Gharagozloo i Aitken, 2011; Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; Ko i Sabanegh, 2012; Lombardo i wsp., 2011; Ross i wsp., 2010; Zini i Al-Hathal, 2011) (tabela 1a–f).

W jednym z najwcześniejszych z wymienionych artykułów przeglądowych Ross i wsp. (2010) wybrali do swojej analizy wyniki 17 artykułów opisujących tylko randomizowane badania kliniczne, kontrolowane *placebo* lub z grupą kontrolną nieotrzymującą leczenia, opublikowane przed 31 maja 2009 r., w których grupę docelową stanowili niepełodni mężczyźni ($n = 1665$). Niestety, z powodu niejednorodności analizowanych badań nie było możliwe dokonanie metaanalizy wyników. Kryteriami włączenia w analizowanych badaniach były niepełodność (4/17 artykułów), astenozoospermia (8/17 artykułów), oligozoospermia (1/17 artykułów), oligoastenozoospermia (2/17 artykułów) oraz stopień fragmentacji DNA plemników (2/17 artykułów). Badanymi antyoksydantami były: witamina C i E, cynk, selen, kwas foliowy, karnityna, N-acetyl-cysteina, astaksantyna oraz Menevit (komercyjnie dostępny zestaw antyoksydantów, w skład którego wchodzi witamina E i C, cynk, selen, kwas foliowy, likopen i czosnek), przy czym kuracja antyoksydantami trwała od 8 do 26 tygodni (mediana: 13 tygodni). We wszystkich badaniach analizowane efekty końcowe dotyczyły parametrów badania nasienia (16/17) i/lub częstości wystąpienia ciąży (10/17) oraz dodatkowo w siedmiu z nich jako efekt leczenia badano także stres oksydacyjny plemników. W podsumowaniu autorzy zaznaczają, że przeprowadzona analiza randomizowanych badań wskazuje na fakt, że leczenie niepełodnych mężczyzn antyoksydantami głównie zmniejsza stres oksydacyjny w nasieniu (7/7 badań) i może powodować poprawę ruchliwości plemników (10/16 badań), lecz w mniejszym stopniu oddziałuje na poprawę liczby plemników (5/15 badań) oraz morfologii (2/12 badań). Dodatkowo, w 6 z 10 analizowanych badań, w których jednym z badanych efektów końcowych była częstość wystąpienia ciąży u partnerek, zanotowano poprawę tego parametry po podawaniu antyoksydantów. Jednakże autorzy podkreślają, że na podstawie przedstawionej analizy nie ma możliwości wyciągnięcia jednoznacznych wniosków co do tego, który antyoksydant lub grupa antyoksydantów powinna być rekomendowana do stosowania w leczeniu męskiej niepełodności, jaka powinna być dawka każdego z antyoksydantów, a także czas trwania kuracji. Niestety, wyniki analizy także nie wskazują jednoznacznie, jaka grupa niepełodnych mężczyzn najbardziej skorzystałaby na takiej terapii, chociaż autorzy spekulują, że prawdopodobnie mogliby to być pacjenci z astenozoospermia i obniżoną zdolnością antyoksydacyjną nasienia, a czas trwania kuracji powinien być dłuższy niż 9 tygodni.

Agarwala i Sekhona (2010) dokonali przeglądu badań klinicznych, w których grupę badaną stanowili mężczyźni z idiopatyczną oligoastenoteratozoospermia (iOAT, ang. *idiopathic oligoastenoteratozoospermia*). Autorzy postanowili zastosować do analizy wyników tych badań

systematyczny i jasno sprecyzowany punktowy system oceny jakości danych i klasyfikacji siły zaleceń opracowany przez Grupę Roboczą „GRADE” (ang. *Grades of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation Working Group*). Zastosowanie tego systemu pozwoliło wykazać, że najwyższa jakość dotychczasowych dowodów naukowych przemawia za stosowaniem karnityny w leczeniu iOAT, oraz, choć w mniejszym stopniu, także za stosowaniem cynku czy witaminy E i C.

W 2011 r. opublikowano kolejne artykuły, w których dokonano przeglądu aktualnej literatury naukowej dotyczącej wykorzystania suplementacji antyoksydantami w męskiej niepełodności. Podobnie jak Ross i wsp. (2010), także Zini i Al-Hathal (2011) analizowali randomizowane badania kliniczne dotyczące suplementacji różnymi antyoksydantami mężczyzn z zaburzoną płodnością. Najczęściej badanymi antyoksydantami w artykułach analizowanych przez tych autorów były witamina C, E, selen, cynk, glutation, L-karnityna oraz N-acetyl-cysteina. Na 24 analizowane badania w 18 wykazano dodatni wpływ podawanych antyoksydantów na poprawę parametrów nasienia, głównie ruchliwości (14/18), koncentracji (12/18), a w najmniejszym stopniu morfologii (5/18). Z kolei w 6 z 24 analizowanych badań nie zanotowano żadnych różnic między grupą kontrolną a grupą badaną. W przypadku szczególnie analizowanych antyoksydantów podawanie samej witaminy C (1 badanie) powodowało poprawę parametrów nasienia. Poprawę parametrów nasienia, głównie ruchliwości, uzyskano także 1) w 3 z 6 badań, w których podawano witaminę E samą lub w połączeniu z witaminą C lub selenem, 2) w 5 na 5 badań, w których oceniano wpływ cynku podawanego oddzielnie lub w połączeniu z kwasem foliowym, 3) w 2 z 3, w których podawano sam selen lub w połączeniu z N-acetyl-cysteiną, 4) w 3 z 4, gdzie podawano samą L-karnitynę lub w połączeniu z L-acetyl-karnityną. Autorzy przeanalizowali także 8 artykułów, w których kryterium włączenia pacjentów do badań był podwyższony poziom fragmentacji DNA plemnika lub obecny w nasieniu stres oksydacyjny. Parametry te wykazują mniejszą biologiczną zmienność od parametrów badania nasienia i wydają się bardziej od nich wiarygodne, jeśli chodzi o dobór grupy badanej, w której suplementacja antyoksydantami mogłaby przynieść korzyść. Badane antyoksydanty to Menevit (2/8), a także witamina C i E podawane razem (2/8) lub dodatkowo w połączeniu z β -karotenem, cynkiem, selenem czy np. glutationem. We wszystkich badaniach podawanie antyoksydantów powodowało polepszenie jakości DNA plemników i w niektórych przypadkach także wzrost odsetka ciąży po zastosowaniu metod wspomaganego rozrodu (3/8).

Lombardo i wsp. (2011) wybrali do swojej analizy 78 artykułów, w których badano wpływ antyoksydantów na męską płodność w badaniach klinicznych *in vivo* (40 badań) oraz w modelach *in vitro* (38 badań). Jeśli chodzi o badania kliniczne, jednym z głównych zarzutów

Tabela 1a. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1a. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used analysed antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Balercia i wsp., 2005	astenozoospermia asthenozoospermia	L-karnityna 3 g i acetyl-L-karnityna 500 mg/dziennie, lub L-karnityna 2 g i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 3 g and acetyl-L-carnitine 500 mg/day, or L-carnitine 2 g and acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa ruchu postępowego plemników i całkowitej zdolności antyoksydacyjnej nasienia improvement of sperm progressive motility and semen total antioxidant capacity	1, 2, 3, 4, 6
Lenzi i wsp., 2004	astenozoospermia asthenozoospermia	L-karnityna 2 g/dziennie i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 2 g/day and acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	1, 3, 4, 7
Omu i wsp., 1998	astenozoospermia asthenozoospermia	cynk 500 mg/dziennie, 13 tygodni zinc 500 mg/day; 13 weeks	poprawa ruchu i liczby plemników, integralności błony komórkowej improvement of sperm count and motility, and integrity of cell membrane	1, 2, 3
Omu i wsp., 2008	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina C 10 mg, witamina E 20 mg, cynk 400 mg/dziennie, lub witamina E 20 mg, cynk 400 mg/dziennie lub cynk 400 mg/dziennie; 13 tygodni vitamin C 10 mg, vitamin E 20 mg, zinc 400 mg/day or vitamin E 20 mg, zinc 400 mg/day; 13 weeks	poprawa ruchu i zdolności zapładniającej plemników (<i>in vivo</i>), spadek fragmentacji DNA improvement of sperm motility and fertilizing capability (<i>in vivo</i>), decrease in DNA fragmentation	1, 2, 3, 6, 7
Rolfi i wsp., 1999	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina C 1000 mg, witamina E 800 mg/dziennie; 8 tygodni vitamin C 1000 mg, vitamin E 800 mg/day; 8 weeks	brak efektu no effect	1, 2, 3, 4, 7
Scott i wsp., 1998	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina A 1 mg, witamina C 10 mg, witamina E 15 mg, selen 100 µg/dziennie; 13 tygodni vitamin A 1 mg, vitamin C 10 mg, vitamin E 15 mg, selenium 100 µg/day; 13 weeks	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	1, 2, 3, 4
Suleiman i wsp., 1996	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina E 300 mg/dziennie; 26 tygodni vitamin E 300 mg/day; 26 weeks	poprawa ruchu plemników, spadek peroksydacji lipidów błon komórkowych improvement of sperm motility, decrease of cell membrane lipid peroxidation	1, 2, 3, 4, 6, 7
Wang i wsp., 2010	astenozoospermia asthenozoospermia	grupa A: L-karnityna 2 g, witamina E/dziennie; 3 miesiące grupa B: witamina E/dziennie; 3 miesiące group A: L-carnitine 2 g, vitamin E/day; 3 months group B: vitamin E/day; 3 months	grupa A poprawa ruchu plemników, odsetek spontanicznych ciąż u partnerek 31,1% vs. 3,8% w grupie B group A: sperm motility improvement, rate of spontaneous pregnancies 31.1% vs. 3.8% in group B	5
Sigman i wsp., 2006	astenozoospermia asthenozoospermia	L-karnityna 1 g i L-acetyl-karnityna 500 mg/dziennie; 16 tygodni L-carnitine 1 g and L-acetyl-carnitine/day; 16 weeks	brak efektu no effect	1, 2, 3, 4
Balercia i wsp., 2004	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	koenzym Q10 200 mg/2 × dziennie; 6 miesięcy coenzyme Q10 200 mg/twice a day; 6 months	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	5
Costa i wsp., 1994	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	L-karnityna 3 g/dziennie; 4 miesiące L-carnitine 3 g/day; 4 months	poprawa koncentracji, ruchu, morfologii plemników improvement of sperm concentration, motility and morphology	3, 7
Moselimi i Tavanbakhsh, 2011	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	selen 200 µg, witamina E 400 j./dziennie; 100 dni selenium 200 µg, vitamin E 400 u/day; 100 days	poprawa ruchu i/lub morfologii plemników (52,6% pacjentów); odsetek uzyskanych ciąż u partnerek 10,8% improvement of sperm motility and/or morphology (52.6% of patients); rate of pregnancies – 10.8%	5
Vitali i wsp., 1995	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	L-karnityna 3 g/dziennie; 3 miesiące L-carnitine 3 g/day; 3 months	poprawa liczby i ruchu plemników improvement of sperm count and motility	7
Kumar i wsp., 2011	idiopatyczna astenoteratozoospermia idiopathic asthenoteratozoospermia	addyzoa (preparat mineralno-ziółowy) 2 kapsułki/2 × dziennie; 3 miesiące addyzoa (mineral-herbal preparation) 2 caps./twice a day; 3 months	poprawa ruchu całkowitego i postępowego plemników improvement of total and progressive motility	5

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Busetto i wsp., 2012</i>	idiopatyczna astenoteratozoospermia idiopathic asthenoteratozoospermia	Proxeed Sigma Tau (preparat złożony)/raz dziennie; 4 miesiące Proxeed Sigma Tau (complex preparation)/once per day; 4 months	poprawa ruchu postępowego; odsetek spontanicznych ciąż u partnerek 16% improvement of sperm progressive motility, rate of spontaneous pregnancies in 16% of female partners	5
<i>Abad i wsp., 2013</i>	astenoteratozoospermia asthenoteratozoospermia	L-karnityna 1500 mg, witamina C 60 mg, koenzym Q10 20 mg, witamina E 10 mg, cynk 10 mg, witamina B9 200 µg, selen 50 µg, witamina B1 21 µg/dziennie; 3 miesiące L-carnitine 1500 mg, vitamin C 60 mg, coenzyme Q10 20 mg, vitamin E 10 mg, zinc 10 mg, vitamin B9 200 µg, selenium 50 µg, vitamin B1 21 µg/day; 3 months	poprawa koncentracji, ruchu, żywotności i morfologii, poprawa integralności DNA, spadek liczby plemników ze zdegradowanym DNA improvement of sperm motility, viability and morphology; improvement of sperm DNA integrity, decrease in sperm number with degraded DNA	5
<i>Piomboni i wsp., 2008</i>	astenoteratozoospermia z leukocytozpermia asthenoteratozoospermia with leukocytospermia	β-glukan 20 mg, papaja 50 mg, laktoferyna 97 mg, witamina C 30 mg, witamina E 5 mg/2 × dziennie; 3 miesiące β-glucan 20 mg, papaya 50 mg, lactoferrin 97 mg, vitamin C 30 mg, vitamin E 5 mg/twice a day; 3 months	poprawa ruchu i morfologii plemników, spadek liczby leukocytów improvement of sperm motility and morphology, decrease in leucocytes count	2, 5

(*) nr pracy poglądowej / review no: (1) *Ross i wsp., 2010*; (2) *Zini i Al-Hathal, 2011*; (3) *Lombardo i wsp., 2011*; (4) *Ko i Sabanegh, 2012*; (5) *Imamovic Kumalic i Pinter, 2014*; (6) *Gharagozloo i Aitken, 2011*; (7) *Agarwal i Sekhon, 2011*.

Tabela 1b. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1b. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>De Aloysio i wsp., 1982</i>	astenozoospermia lub oligoastenozoospermia asthenozoospermia or oligoasthenozoospermia	arginina 9 lub 18 g/dziennie i gonadotropiny lub antybiotyki lub NLPZ; 80 dni arginine 9 or 18 g/day and gonadotrophins or antibiotics or NLPZ; 80 days	poprawa liczby i morfologii plemników, odsetek ciąż u partnerek 50% improvement of sperm count and morphology; rate of pregnancies – 50%	4
<i>Akmal i wsp., 2006</i>	oligozoospermia oligozoospermia	witamina C 1000 mg/2 × dziennie; 2 miesiące vitamin C 1000 mg/twice a day; 2 months	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm count, motility and morphology	5
<i>Landau i wsp., 1978</i>	oligozoospermia oligozoospermia	kwas foliowy 10 mg/3 × dziennie; 30 dni folic acid 10 mg/3 times a day; 30 days	brak efektu no effect	7
<i>Pryor i wsp., 1978</i>	oligozoospermia oligozoospermia	arginina 4 g/dziennie; 12 tygodni arginin 4 g/day; 12 weeks	brak efektu no effect	4
<i>Chen i wsp., 2012</i>	oligozoospermia lub astenozoospermia oligozoospermia or asthenozoospermia	oligozoospermia: Tamoksifen 10 mg/2 × dziennie, witamina E 100 mg/3 × dziennie; 3 miesiące astenozoospermia: L-karnityna roztwór/2 × dziennie, witamina E 100 mg/3 × dziennie; 3 miesiące oligozoospermia: Tamoxifen 10 mg/twice a day, vitamin E 100 mg/3 times a day; 3 months asthenozoospermia: L-carnitine solution/twice a day, vitamin E 100 mg/3 times a day; 3 months	oligozoospermia: odsetek spontanicznych ciąż u partnerek 0% grupa kontrolna, 18% grupa badana astenozoospermia: poprawa ruchu plemników; odsetek spontanicznych ciąż u partnerek 25% grupa kontrolna i 40% grupa badana oligozoospermia: rate of spontaneous pregnancies: 0% – control group; 18% – treatment group asthenozoospermia: improvement of sperm motility; rate of spontaneous pregnancies: 25% – control group and 40% – treatment group	5
<i>Suzuki i wsp., 2003</i>	oligozoospermia i astenozoospermia oligozoospermia and asthenozoospermia	Spirei-to (lek ziołowy) 9 g/dziennie; 3 miesiące Spirei-to (herbal medicine) 9 g/day; 3 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	5
<i>Paradiso Galatioto i wsp., 2008</i>	oligozoospermia / 6 m. po embolizacji żyłaków powrózków nasiennych oligozoospermia / 6 m. after retrgrade embolization of varicocele	skład złożony: N-acetyl-cysteina + witaminy + minerały; 13 tygodni complex preparation: N-acetyl-cysteine + vitamins + minerale; 13 weeks	poprawa liczby plemników improvement of sperm count	1, 2, 3, 4

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Tikkiwal i wsp., 1987	idiopatyczna oligozoospermia idiopathic oligozoospermia	cynk 220 mg/dziennie; 4 miesiące zinc 220 mg/day; 4 months	poprawa liczby, ruchu, morfologii plemników; odsetek ciąż u partnerek 21% improvement of sperm count, motility and morphology; pregnancies rate – 21%	7
Shi i wsp., 2004	oligoasthenozoospermia oligoasthenozoospermia	XinXibao (tabletki z cynkiem i selenem), 3 × dziennie; 90 dni, następnie 5 tabletek/dziennie; 90 dni XinXibao (tablets with zinc and selenium), 3 times a day; 90 days followed with 5 tablets/day; 90 days	poprawa jakości nasienia po 60 i 90 dniach po leczeniu semen quality improvement after 60 and 90 days of treatment	5
Cavallini i wsp., 2004	oligoasthenozoospermia z żylakami powrózków nasiennych oligoasthenozoospermia with varicocele	L-karnityna 2 g/dziennie i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 2 g i acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa koncentracji, ruchliwości i morfologii plemników u pacjentów z żylakami powrózków nasiennych stopnia I, II i III; u pacjentów ze stadium IV i V – brak poprawy improvement of sperm concentration, motility and morphology in patient with the I, II and III degree of varicocele; no effect in patients with IV and V grade of varicocele	1, 2, 3, 4, 7
Cavallini i wsp., 2004	oligoasthenozoospermia z żylakami powrózków nasiennych oligoasthenozoospermia with varicocele	L-karnityna 2 g/dziennie i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 2 g i acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa koncentracji, ruchliwości i morfologii plemników u pacjentów z żylakami powrózków nasiennych stopnia I, II i III; u pacjentów ze stadium IV i V – brak poprawy improvement of sperm concentration, motility and morphology in patient with the I, II and III degree of varicocele; no effect in patients with IV and V grade of varicocele	1, 2, 3, 4, 7
Ghanem i wsp., 2010	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	cytrynian kłomifenu 25 mg, witamina E 400 mg/dziennie; 6 miesięcy clomiphene citrate 25 mg, vitamin E 400 mg/day; 6 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników, odsetek spontanicznych ciąż: 36,7% w grupie badanej vs. 13,3% w grupie kontrolnej improvement of sperm concentration and motility; rate of spontaneous pregnancies: 36.7% in treatment group vs. 13.3% in control group	5
Giovenco i wsp., 1987	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	kalikreina 100 k.u./3 × dziennie lub witamina E 100 mg/3 × dziennie kallikrein 100 k.u./3 times a day or vitamin E 100 mg/3 times a day	poprawa liczby i zdolności penetracyjnej plemników po zażywaniu kalikreiny; grupa otrzymująca witaminę E – brak efektu improvement of sperm count and penetration capacity after kallikrein treatment; no effect after vitamin E treatment	7
Marrama i wsp., 1985	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	pentoksyfilina 1200 mg/dziennie; 6 miesięcy pentoxifiline 1200 mg/day; 6 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	7
Song i wsp., 2012	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	witamina E + Xuanju (preparat ziołowy) lub sama witamina E; 3 miesiące vitamin E + Xuanju (herbal medicine) or only Vitamin E; 3 months	spadek DFI w grupie zażywającej witaminę E i Xuanju decrease of DFI in group treated with vitamin E and Xuanju	5

DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); NLPZ – niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*); (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) Ross i wsp., 2010; (2) Zini i Al-Hathal, 2011; (3) Lombardo i wsp., 2011; (4) Ko i Sabanegh, 2012; (5) Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; (7) Agarwal i Sekhon, 2011.

Tabela 1c. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1c. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Vezina i wsp., 1996	oligoasthenoteratozoospermia oligoasthenoteratozoospermia	selen 100 µg i witamina E 400 mg/dziennie; 1 miesiąc, następnie selen 200 µg i witamina E 400 mg/dziennie; 5 miesięcy selenium 100 µg and vitamin E 400 mg/day; 1 month, followed by selenium 200 µg and vitamin E 400 mg/day; 5 months	poprawa ruchu, morfologii i żywotności plemników improvement of sperm motility, morphology and vitality	3, 7

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Wirleitner i wsp., 2012	oligoasthenoteratozoospermia oligoasthenoteratozoospermia	fertilovit M plus (preparat złożony); 2–12 miesięcy fertilovit M plus; 2–12 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	5
Cavallini i wsp., 2012	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	L-karnityna 1 g, acetyl-L-karnityna 500 mg/ 2 × dziennie, 30 mg cinnoxiam/ raz dziennie co 4 dni; 3 miesiące L-carnitine 1 g, acetyl-L-carnitine 500 mg/twice a day, 30 mg cinnoxiam/every 4 days; 3 months	poprawa morfologii plemników, spadek częstości występowania aneuploidii plemników; odsetek uzyskanych ciąż (procedura ICSI) 50%; odsetek urodzeń żywych dzieci 45,4% improvement of sperm morphology, decrease of frequency of aneuploids sperm; rate of pregnancies 50% (ICSI procedure); rate of live births – 45.4%	5
Gupta i Kumar, 2002	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	likopen 2000 µg/2 × dziennie; 3 miesiące lycopene 2000 µg/twice a day; 3 months	poprawa koncentracji (66% pacjentów) i ruchu (53% pacjentów) plemników improvement of sperm concentration (66% of patients) and motility (53% of patients)	5, 7
Nadjarzadeh i wsp., 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	koenzym Q10 200 mg/dziennie; 12 tygodni coenzyme Q10 200 mg/day; 12 weeks	wzrost całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, brak istotnej poprawy parametrów nasienia the increase of total antioxidant capacity, no significant improvement in semen parameters	5
Raigani i wsp., 2013	oligoasthenoteratozoospermia oligoasthenoteratozoospermia	kwas foliowy 5mg i/lub cynk 220 mg/dziennie; 16 tygodni folic acid 5 mg and/or zinc 220 mg/day; 16 weeks	wzrost integralności chromatyny plemników w grupie otrzymującej tylko cynk; nieznamienista poprawa koncentracji plemników w grupie otrzymującej cynk i kwas foliowy i w grupie otrzymującej tylko kwas foliowy increase in sperm chromatin integrity in group treated with zinc alone; nonsignificant improvement sperm concentration in group treated with zinc and folic acid and in group treated only with folic acid	5
Safarinejad, 2009	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	koenzym Q 10 300 mg/dziennie; 26 tygodni coenzyme Q10 300 mg/day; 26 weeks	poprawa liczby i ruchu plemników improvement of sperm count and motility	4, 5
Safarinejad i Safarinejad, 2009	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	N-acetyl-cysteina 600 mg/dziennie lub N-acetyl-cysteina 600 mg, selen 200 µg/dziennie lub selen 200 µg/dziennie; 26 tygodni N-acetyl-cysteine 600 mg/day or N-acetyl-cysteine 600 mg, selenium 200 µg/day or lub selenium 200 µg/day; 26 weeks	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm count, motility and morphology	1, 2, 3, 4, 5, 7
Safarinejad, 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	kwas eikozapentaenowy i dokozaheksaenowy 1,84 g/dziennie; 32 tygodnie eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids, 1.84 g per day 32 weeks	poprawa liczby i koncentracji plemników improvement of sperm count and concentration	5
Safarinejad i wsp., 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	szafran 60 mg/dziennie; 26 tygodni saffron 60 mg/day; 26 weeks	brak efektu no effect	5
Safarinejad, 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	pentoksyfyllina 400 mg/2 × dziennie; 28 tygodni pentoxifylline 400 mg/twice a day, 28 weeks	poprawa liczby, ruchu, morfologii plemników, wzrost aktywności SOD i katalazy, wzrost reakcji akrosomalnej plemników improvement of sperm count, motility and morphology, increase in SOD and catalase activity, improvement of acrosome reaction	5

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Safarinejad i wsp.</i> , 2012	idiopatyczna oligoasteno-teratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	koenzym Q10 200 mg/dziennie; 26 tygodni coenzyme Q10 200 mg/day; 26 weeks	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm count, motility and morphology	5
<i>Safarinejad</i> , 2012	idiopatyczna oligoasteno-teratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	koenzym Q10 300 mg/2 × dziennie; 12 miesięcy coenzyme Q10 300 mg/twice a day; 26 months	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników; odsetek uzyskanych spontanicznych ciąż u partnerek 34,1%; średni czas do uzyskania ciąży 8,4 ± 4,7 miesięcy improvement of sperm count, motility and morphology; rate of spontaneous pregnancies 34.1%, mean time to pregnancy 8.4 ± 4.7 months	5

ICSI – docyt oplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*); SOD – dysmutaza podantlenkowa (ang. *superoxide dismutase*), (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) *Ross i wsp.*, 2010; (2) *Zini i Al-Hathal*, 2011; (3) *Lombardo i wsp.*, 2011; (4) *Ko i Sabanegh*, 2012; (5) *Imamovic Kumalic i Pinter*, 2014; (7) *Agarwal i Sekhon*, 2011.

Tabela 1d. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1d. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Comhaire i wsp.</i> , 2000	obniżona płodność subfertility	N-acetyl-cysteina, witamina A 30 mg, witamina E 180 mg/dziennie; 3 miesiące N-acetyl-cysteine, vitamin A 30 mg, vitamin E 180 mg/day; 3 months	spadek poziomu RFT i 8-OHdG; wzrost koncentracji plemników u mężczyzn z oligozoospermią decrease of RFT level and 8-OHdG; increase of sperm concentration in oligozoospermic men	3, 5, 7
<i>Comhaire i wsp.</i> , 2005	obniżona płodność subfertility	astaksantyna 16 mg/dziennie; 13 tygodni astaxanthin 16 mg/day; 13 weeks	brak efektu no effect	1, 2, 6
<i>Ebisch i wsp.</i> , 2006	obniżona płodność subfertility	kwas foliowy 5 mg, cynk 66 mg/dziennie; 26 tygodni folic acid 5 mg, zinc 66 mg/day; 26 weeks	poprawa koncentracji plemników improvement of sperm concentration	2, 7
<i>Iwanier i Zachara</i> , 1995	obniżona płodność subfertility	selen 200 µg/dziennie; 3 miesiące selenium 200 µg/day; 3 months	brak efektu no effect	3
<i>Keskes-Ammar i wsp.</i> , 2003	obniżona płodność subfertility	witamina E 400 mg, selen 225 µg/dziennie; 13 tygodni vitamin E 400 mg, selenium 225 µg/day; 13 weeks	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
<i>Roseff i wsp.</i> , 2002	obniżona płodność subfertility	piknogenol 200 mg/dziennie; 90 dni pycnogenol 200 mg/day; 90 days	poprawa morfologii i kapacytacji plemników; nieznamienisty spadek liczby plemników improvement of sperm morphology and capacitation; nonsignificant decrease of sperm count	5
<i>Wong i wsp.</i> , 2002	obniżona płodność subfertility	kwas foliowy 5 mg/dziennie i/lub cynk 66 mg/dziennie; 26 tygodni folic acid 5 mg/day and/or zinc 66 mg/day; 26 weeks	poprawa całkowitej liczby prawidłowych plemników improvement of total normal sperm count	1, 2, 3, 4, 7
<i>Lenzi i wsp.</i> , 1994	niepłodni mężczyźni infertile men	glutathione 600 mg domięśniowo/co drugi dzień; 2 miesiące glutathione 600 mg i.m./every 2 nd day; 2 months	poprawa koncentracji, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm concentration, motility and morphology	3
<i>Abel i wsp.</i> , 1982	niepłodność infertility	witamina C 200 mg/dziennie; 6 miesięcy vitamin C 200 mg/Day; 6 months	brak efektu no effect	3
<i>De Rosa i wsp.</i> , 2005	niepłodność infertility	L-karnityna 1 g/dziennie lub 500 mg L-acetyl-karnityna/2 × dziennie; 6 miesięcy L-carnitine 1 g/day or 500 mg L-acetyl-carnitine/twice a day; 6 months	poprawa liczby, ruchu, żywotności, integralności DNA plemników improvement of sperm count, motility, viability, DNA integrity	4

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Kodama i wsp., 1997	niepłodność infertility	witamina C 200 mg, witamina E 200 mg, glutation 400 mg/dziennie; 2 miesiące vitamin C 200 mg, vitamin E 200 mg, glutathione 400 mg/day; 2 months	spadek poziomu 8-OHdG decrease of 8-OHdG level	2, 3
Lenzi i wsp., 2003	niepłodność infertility	L-karnityna 2 g/dziennie, 4 miesiące L-carnitine 2 g/day; 4 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	2, 3, 7
Balercia i wsp., 2009	idiopatyczna niepłodność idiopathic infertility	koenzym Q10 100 mg/2 × dziennie; 6 miesięcy coenzyme Q10 100 mg/twice a day; 6 months	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	4
Ciftci i wsp., 2009	idiopatyczna niepłodność idiopathic infertility	N-acetyl-cysteina 600 mg/dziennie, 13 tygodni N-acetyl-cysteine 600 mg/day; 13 weeks	poprawa ruchu plemników i całkowitej zdolności antyoksydacyjnej surowicy krwi, spadek indeksu całkowitego stresu peroksydacyjnego/oksydacyjnego improvement of sperm motility and total antioxidant capacity in serum; decrease of index of total peroxidative/oxidative stress	1, 2, 3, 4, 6
Moilanen i wsp., 1993	idiopatyczna niepłodność idiopathic infertility	witamina C 100 mg; 3 miesiące vitamin C 100 mg; 3 months	brak efektu no effect	2

8-OHdG – 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna (ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxigene species*); (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) Ross i wsp., 2010; (2) Zini i Al-Hathal, 2011; (3) Lombardo i wsp., 2011; (4) Ko i Sabanegh, 2012; (5) Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; (6) Gharagozloo i Aitken, 2011; (7) Agarwal i Sekhon, 2011

Tabela 1e. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1e. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Kessopoulou i wsp., 1995	niepłodność, podwyższony poziom RFT infertility, increased RFT level	witamina E 600 mg/dziennie; 3 miesiące vitamin E 600 mg/day; 3 months	brak efektu no effect	2, 3, 4, 7
Tunc i wsp., 2009	niepłodność, stres oksydacyjny infertility, oxidative stress	Menevit (preparat złożony); 3 miesiące Menevit (complex preparation); 3 months	spadek DFI, spadek wytwarzania RFT, wzrost protaminacji chromatyny plemników decrease in DFI, RFT production increase in sperm chromatin protamination	2
Greco i wsp., 2005	zwiększona fragmentacja DNA (> 15% DFI) increased DNA fragmentation (> 15% DFI)	witamina C 1000 mg i witamina E 1000 mg/dziennie; 9 tygodni vitamin C 1000 mg and vitamin E 1000 mg/day; 9 weeks	spadek fragmentacji DNA decrease in DNA fragmentation	1, 2, 3, 4, 5, 6
Greco i wsp., 2005	jedna nieudana próba ICSI; TUNEL > 15% one previous failure ICSI; TUNEL > 15%	witamina C 1 g, witamina E 1 g/dziennie; 2 miesiące vitamin C 1 g and vitamin E 1 g/day; 2 months	spadek uszkodzeń DNA, wzrost odsetka zapłodnień w procedurze ICSI decrease in sperm DNA damage; increased rate of fertilisation in ICSI procedure	2, 5, 6
Menezo i wsp., 2007	mężczyźni z par po 2 nieudanych próbach ICSI, DFI > 15%, dekondensacja chromatyny > 15% infertile men after 2 failure of ICSI, DFI > 15%, chromatin decondensation > 15%	witamina C 400 mg, witamina E 400 mg, cynk, selen, β-karoten; 3 miesiące vitamin C 400 mg, vitamin E 400 mg, zinc, selenium, β-karoten; 3 months	spadek DFI, ale wzrost dekondensacji chromatyny decrease of DFI but increase in chromatin decondensation	2, 5

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Gill-Villa i wsp., 2009	utrata ciąży u partnerki przed 12. tygodniem, podwyższone markery stresu oksydacyjnego (peroksydacja lipidów i DFI) pregnancy loss before 12 weeks, increased markers of oxidative stress (lipid peroxidation and DFI)	witamina C, witamina E, cynk, β -karoten; 3 miesiące vitamin C, vitamin E, zinc, β -carotene; 3 months	odsetek uzyskanych ciąż 67% rate of pregnancies – 67%	2
Tremellen i wsp., 2007	nieprawidłowa morfologia, ruchliwość lub integralność błony plemnika, DFI > 25% abnormal morphology, motility and sperm membrane integrity; DFI > 25%	Menevit (preparat złożony), 13 tygodni Menevit (complex preparation); 13 weeks	wzrost odsetka żywych ciąż increase of live births rate	1, 2, 5

DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); ICSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*); TUNEL – znakowanie końcówek nacięć nici DNA przy użyciu terminalnej transferazy deoksynukleotydowej (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUDP nic-end labelling, TUNEL*); (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) Ross i wsp., 2010; (2) Zini i Al-Hathal, 2011; (3) Lombardo i wsp., 2011; (4) Ko i Sabanegh, 2012; (5) Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; (6) Gharagozloo i Aitken, 2011; (7) Agarwal i Sekhon, 2011.

Tabela 1f. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1f. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Hawkes i wsp., 2009	normozoospermia normozoospermia	selen 300 μ g/dziennie; 48 tygodni selenium 300 μ g/day; 48 weeks	brak efektu no effect	2
Geva i wsp., 1996	plodni ochotnicy z normozoospermią fertile volunteers with normozoospermia	witamina E 200 mg/dziennie; 3 miesiące vitamin E 200 mg/day; 3 months	brak efektu no effect	3, 6
Moilanen i Hovatta, 1995	ochotnicy volunteers	witamina E 600 mg, lub 800 mg lub 1200 mg/dziennie; 3 tygodnie vitamin E 600 mg, or 800 mg Or 1200 mg/day; 3 weeks	brak efektu no effect	3, 7
Fraga, 1991	ochotnicy palacze i niepalacze volunteers smokers and non-smokers	witamina C 5 lub 60 lub 250 mg/dziennie; 15 tygodni vitamin C 5 or 60 or 250 mg/day; 15 weeks	poprawa jakości DNA plemników improvement of sperm DNA quality	6
Dawson i wsp., 1992	nałogowi palacze heavy smokers	witamina C 1 g/dziennie lub witamina C 200 mg/dziennie; 1 miesiąc vitamin C 1 g/day or vitamin C 200 mg/day; 1 month	poprawa liczby, ruchu, żywotności i morfologii plemników zależna od dawki improvement of sperm count, motility, viability and morphology (dose-dependent)	2, 4
Mahajan i wsp., 1982	dysfunkcja gonad u pacjentów z moczną dysfunkcją gonadal gonadal dysfunction in uremic patients	cynk 50 mg/dziennie; 6 miesięcy zinc 50 mg/day; 6 months	poprawa koncentracji plemników improvement of sperm concentration	2
Vicari i Calogero, 2001	niebakteryjny stan zapalny prostaty, pęcherzyków nasiennych i najądrzy bez (grupa A) i z leukocytospermią (grupa B) abacterial prostate-vesiculo-epididymitis (PVE) without (group A) or with leukocytospermia (group B)	L-karnityna 1 g i L-acetyl-karnityna 500 mg/2 $\times$ dziennie; 3 miesiące L-carnitine 1 g i L-acetyl-carnitine 500 mg/2 $\times$ a day; 3 months	grupa A: poprawa ruchu i żywotności plemników, spadek wytwarzania RFT; grupa B: poprawa żywotności plemników; odsetek spontanicznych ciąż u partnerek: grupa – A 11,7%, grupa B – 0% group A: improvement of sperm motility and vitality, decrease in RFT production; group B: improvement of sperm vitality rate of spontaneous pregnancies: group – A 11.7%, group B – 0%	3

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Vicari i wsp., 2002	niebakteryjny stan zapalny prostaty, pęcherzyków nasiennych i najądrzy z leukocytospermią abacterial prostatic-vesiculo-epididymitis (PVE) and leukocytospermia	grupa A: L-karnityna 1 g i L-acetyl-karnityna 500 mg/2 × dziennie; 4 miesiące grupa B: NLPZ; 4 miesiące grupa C: NLPZ; 2 miesiące następnie 1 g L-karnityna i 500 mg L-acetyl-karnityna/2 × dziennie; 2 miesiące grupa D: NLPZ i 1g L-karnityna i 500 mg L-acetyl-karnityna/2 × dziennie; 4 miesiące group A: L-carnitine 1 g and acetyl-L-carnitine 500 mg/2 × a day; 4 months group B: NLPZ; 4 months group C: NLPZ; 2 months followed L-carnitine 1 g and L-acetyl-carnitine 500 mg/2 × a day; 2 months group D: NLPZ and L-karnityna 1 g and L-acetyl-karnityna 500 mg/2 × a day; 4 months	grupa C: największy spadek wytwarzania RFT, poprawa ruchu i żywotności plemników grupa B i D – umiarkowana poprawa badanych parametrów grupa A – brak efektu odsetek spontanicznych ciąży u partnerek – 8,2% (grupa B – 1, grupa C – 6, grupa d – 1) group C: the highest reduction in production of RFT, increased sperm motility and viability, group B and D – intermediate effects group A – no effect rate of spontaneous pregnancies – 8.2% (group B – 1, group C – 6, group D – 1)	3, 4
Lenzi i wsp., 1993	niepłodni mężczyźni z jednostronnymi żylakami powrózków nasiennych lub zapaleniem dróg wyprowadzających nasienie infertile men with unilateral varicocele or genital tract inflammation	glutathione 600 mg domięśniowo/co drugi dzień; 2 miesiące glutathione 600 mg i.m./every 2 nd day; 2 months	poprawa ruchu i morfologii plemników improvement of sperm motility and morphology	2, 3, 4

NLPZ – niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxigene species*), (*) nr pracy poglądowej / review no: (2) Zini i Al-Hathal, 2011; (3) Lombardo i wsp., 2011; (4) Ko i Sabanegh, 2012; (6) Gharagozloo i Aitken, 2011; (7) Agarwal i Sekhon, 2011

przedstawionych przez autorów dotyczących jakości metodologicznej większości z nich był brak oceny częstotliwości wystąpienia ciąży u partnerek jako kluczowego efektu końcowego. Wskazywali oni na fakt, że poprawa parametrów badania nasienia stosowana najczęściej jako oceniany efekt końcowy terapii nie zawsze przekłada się na uzyskanie ciąży u partnerki, gdyż mężczyźni z prawidłowymi parametrami nasienia mogą w dalszym ciągu wykazywać obniżony potencjał zapładniający. Wśród analizowanych przez autorów artykułów w 15 raportowano odsetek uzyskanych ciąży jako efekt końcowy terapii antyoksydantami. W dwóch uzyskano wyższy odsetek uzyskanych ciąży, jednak nie był on znamieny statystycznie. W dwóch następnych badaniach grupa mężczyzn, której podawano witaminę C, była porównywana z grupą mężczyzn, którzy otrzymywali cytrynian klomifenu (selektywny modulator receptora estrogenowego) lub mesterolone (pochodna dihydrotestosteronu o silnym działaniu androgennym). Odsetek ciąży był niższy w grupach mężczyzn otrzymujących witaminę C. W dwóch kolejnych badaniach nie zanotowano żadnego wpływu podawania antyoksydantów na odsetek uzyskanych ciąży, jednak w pozostałych badaniach był on statystycznie znamienie wyższy w grupach mężczyzn leczonych antyoksydantami. W czterech badaniach, w których zanotowano wzrost odsetka uzyskanych ciąży, uzyskano także poprawę co najmniej jednego z parametrów nasienia i zawsze wśród tych parametrów poprawie ulegała ruchliwość plemników. Wydaje

się, że antyoksydantami, których podawanie zwiększa odsetek ciąży, są witamina A, E i karnityna. Dodatkowo, autorzy tego przeglądu podkreślają fakt, że znaczne obniżenie poziomu RFT poprzez egzogenne antyoksydanty może wpływać negatywnie na płodność mężczyzn, jako że RFT są niezbędne w procesach prowadzących do uzyskania przez plemnik zdolności do zapłodnienia komórki jajowej (kapacytacja, hiperaktywacja, reakcja akrosomalna).

Gharagozloo i Aitken (2011) postanowili przyjrzeć się dokładniej badaniom klinicznym nad efektem podawania antyoksydantów na stres oksydacyjny w plemnikach lub uszkodzenie ich DNA. Na 20 analizowanych badań w 19 wykazano znamiennej redukcję stresu oksydacyjnego lub poprawę jakości DNA w plemnikach po zastosowaniu terapii antyoksydantami. Spośród parametrów badania nasienia w żadnym z badań nie zaobserwowano wpływu antyoksydantów na poprawę morfologii, a tylko w 3 zanotowano poprawę koncentracji plemników. Z kolei w 10 z 16 badań zanotowano poprawę ruchliwości plemników, przy czym warto zauważyć, że parametr ten ulegał zawsze poprawie, gdy terapii poddana była grupa mężczyzn, u których kryterium włączenia do badania była astenozoospermia (7 badań). W 10 z analizowanych badań jednym z badanych efektów końcowych był odsetek uzyskanych ciąży i w 6 z nich było on wyższy po podawaniu antyoksydantów. Biorąc także pod uwagę fakt, że parametry nasienia mogą ulec poprawie po zastosowaniu antyoksydantów o właściwościach

hydrofilowych, jak i lipofilowych, autorzy podsumowania postanowili dokładniej przeanalizować wpływ łącznego podawania antyoksydantów pochodzących z tych dwóch grup, włączając do analizy 12 artykułów. Witamina E, antyoksydant lipofilowy, była najczęściej używana w badaniach razem z takimi antyoksydantami hydrofilowymi jak witamina C, selen czy cynk. Niestety, wyniki uzyskane z tych badań odzwierciedlają te uzyskane po podawaniu antyoksydantów pojedynczo, co nie potwierdziło spodziewanego synergistycznego lub też addytywnego efektu ich łącznego podawania. Podsumowując, autorzy jednoznacznie wskazują na to, że terapia antyoksydantami redukuje stres oksydacyjny w nasieniu i wpływa na poprawę ruchliwości u pacjentów z athenozoospermia, jednakże nie można jednoznacznie stwierdzić, czy efekty te przekładają się na uzyskanie ciąży i ich donoszenie.

W kolejnym podsumowaniu Ko i Sabanegh (2012) wybrali do swojej analizy 22 randomizowane badania kliniczne z ostatnich 30 lat, w których badanymi antyoksydantami były między innymi karnityny, koenzym Q10, kwas foliowy, glutation, likopen, N-acetyl-cysteina, witaminy A, C i E oraz selen i cynk. Autorzy analizując dodatkowo inne dostępne badania dotyczące źródeł badanych antyoksydantów w pożywieniu, ich zalecanego dziennego spożycia (RDA, ang. *recommended dietary allowance*) oraz biodostępności przy doustnym przyjmowaniu, a także skutków ubocznych, pokusili się o wyciągnięcie wniosków na temat ich optymalnej dawki przy leczeniu męskiej niepłodności. I tak, według analizy przedstawionej przez autorów artykułu, wydaje się, że w przypadku karnityn dawka nieprzekraczająca 3 g/dziennie przedstawia potencjalne korzyści przy leczeniu męskiej niepłodności. Kwas foliowy jest dobrze tolerowany w dawce nieprzekraczającej 1 mg/dziennie, podczas gdy 5 mg może powodować już skutki uboczne. Z drugiej strony już dawki 800–1200 µg mogą być przyczyną wzrostu ryzyka zawału mięśnia sercowego u pacjentów kardiologicznych. Autorzy dodatkowo sugerują, że chociaż kwas foliowy jest potrzebny dla prawidłowego przebiegu spermatogenezy, to nie ma przekonujących dowodów na to, że jego dodatkowe spożycie, ponad RDA, które zapewnia zbilansowana dieta, wpłynie korzystnie na męską płodność. Jeśli chodzi o koenzym Q10, to wydaje się, że optymalna dawka mieści się w zakresie 200–300 mg/dzień i w niektórych przypadkach może ona być zwiększona do 12 mg/kg/dzień. Chociaż suplementacja glutationem nieprzekraczająca 3 g/dziennie nie wykazuje skutków ubocznych, a sam glutation wpływa korzystnie na jakość nasienia, to jego niska biodostępność po doustnym spożyciu i potrzeba przyjmowania go w postaci domięśniowych wstrzyknięć powoduje, że jego wykorzystanie w terapii męskiej niepłodności jest ograniczone. Jeśli chodzi o likopen, to wydaje się, że jego dodatkowa suplementacja przy diecie bogatej w pomidory jest niepotrzebna, chociaż można rozważyć jej stosowanie przy diecie ubogiej lub

z różnych innych względów niezawierającej pomidorów. Optymalną dawką dla N-acetyl-cysteiny wydaje się być 600 mg/dzień. Jednakże podobnie jak przy glutationie, chociaż wydaje się ona wpływać dodatnio na męską płodność, to niska biodostępność przy doustnym przyjmowaniu, a także poważne skutki uboczne ograniczają jej wykorzystanie. Jest mało prawdopodobne, aby przyjmowanie witaminy A w dawce 10000 IU/dziennie powodowało wystąpienie skutków ubocznych. Jednakże odkłada się ona w organizmie i przy długotrwałym przyjmowaniu wysokich dawek (więcej niż 4000 IU/kg/dzień) może dojść do wystąpienia poważnych skutków ubocznych. Chociaż brak jest danych dotyczących wpływu podawania samej witaminy A na męską płodność, to jej podawanie wraz z innymi antyoksydantami (witamina E, C, selen, N-acetylcysteina, cynk) wykazywało dodatni efekt na parametry nasienia takie jak ruchliwość plemników. Autorzy podsumowania sugerują jednak, że nie ma jednoznacznych wskazań do dodatkowej suplementacji witaminą A przy odpowiednim spożyciu bogatych w nią produktów spożywczych. Z kolei, według autorów dawka witaminy C nie powinna przekraczać 500 mg/dziennie, a optymalna dawka dla witaminy E powinna być niższa niż 1000 mg/dziennie (1600 IU/dziennie). Z powodu możliwości wystąpienia poważnych hematologicznych i sercowo-naczyniowych skutków ubocznych autorzy rekomendują dawkę dla witaminy E w zakresie 200–400 IU/dziennie. Optymalna dawka dla suplementacji selenem wydaje się mieścić między 100 a 210 µg/dziennie. Dla cynku RDA wynosi 11 mg/dziennie, a potencjalne efekty uboczne mogą być obserwowane przy 200 mg, z kolei poważne działania niepożądane przy dawce większej niż 450 mg/dziennie. Podsumowując, autorzy tego opracowania przestrzegają przed powszechnym używaniem suplementów diety czy witamin sprzedawanych bez recepty w dawkach przekraczających RDA, wskazując przy tym, że dawki te mogą być uzyskane przez odpowiednio zbilansowaną dietę.

W opublikowanym w ostatnim czasie przeglądzie piśmiennictwa Imamaovic Kumalic i Pinter (2014) przeanalizowali 32 badania kliniczne opublikowane w okresie od 1 stycznia 2000 r. do 31 grudnia 2013 r., badające wpływ podawania antyoksydantów u mężczyzn z iOAT. W 13 z nich wykazano dodatni wpływ badanych antyoksydantów na koncentrację plemników, przy czym w większości tych badań pacjenci otrzymywali połączenie różnych antyoksydantów, tj.: L-karnityny, koenzymu Q10, witaminy E i C, cynku czy selenu. Podobnie jak w poprzednich podsumowaniach, poprawę ruchliwości plemników zanotowano w największej ilości analizowanych badań (20/32), przy czym, podobnie jak przy koncentracji plemników, pacjenci otrzymywali terapię łączoną, w której głównymi składnikami były witamina E i selen. Poprawę morfologii plemników wykazano w 10 z analizowanych publikacji. Niestety, pomimo wykorzystania do swojej analizy nowszych badań niż te analizowane w poprzednich podsumowaniach (16

badan opublikowanych w latach 2010–2013, nieanalizowane w poprzednich podsumowaniach) w dalszym ciągu tylko w 6 analizowano jako efekt końcowy jakość plemnikowego DNA, przy czym w każdym z nich zanotowano poprawę badanego parametru oceniającego fragmentację DNA czy integralność chromatyny. Badane antyoksydanty, które wpływały na jakość DNA, to głównie witamina C i E podawane łącznie oraz cynk i selen. W podsumowaniu autorzy wskazują, że korzystny wpływ na parametry nasienia w przypadku iOAT miały głównie koenzym Q10, witamina E, C, selen, i N-acetyl-cysteina. W przypadku oligozoospermii najczęściej dodatni wpływ był udokumentowany dla witaminy E i koenzymu Q10, w przypadku astenoospermii – witaminy E, selenu i koenzymu Q10, a w przypadku teratoospermii – selenu i koenzymu Q10.

Stres oksydacyjny uważany jest obecnie za jedną z głównych przyczyn męskiej niepłodności. Jego obecność koreluje z zaburzeniem ruchliwości, liczby, morfologii i czynności plemników. Wiele badań wykazało dodatni wpływ podawania różnych substancji, o udowodnionym działaniu antyoksydacyjnym, na poprawę parametrów nasienia, czynności plemników czy odsetek uzyskanych ciąż u partnerek. I tak, antyoksydanty takie jak witamina E, C, selen, cynk, karnityna, wydają się korzystnie wpływać na poprawę parametrów nasienia oraz jakości plemników w wyniku zmniejszania poziomu RFT, spadku peroksydacji lipidów błon komórkowych i uszkodzeń DNA. Jednakże w badaniach tych występuje duże zróżnicowanie, jeśli chodzi o typ, dawki oraz czas podawania antyoksydantów, przy czym w wielu z nich kryteria włączenie opierają się głównie na analizie parametrów podstawowego badania nasienia, a nie na parametrach jednoznacznie wskazujących na występowanie w nasieniu stresu oksydacyjnego. Dodatkowo, grupy badane były mało liczne, często bez odpowiedniej kontroli, a analizowane efekty końcowe dotyczą głównie parametrów badania nasienia rzadziej, odsetka uzyskanych i donoszonych ciąż. Tak więc, zanim suplementacja antyoksydantami wejdzie do rutynowego postępowania medycznego w leczeniu męskiej niepłodności, niezbędne są, po pierwsze, ogólna dostępność badań diagnostycznych oceniających stres oksydacyjny w nasieniu i plemnikach, po drugie, przeprowadzenie dużych, randomizowanych, kontrolowanych placebo, wielośrodkowych badań potwierdzających, że okołokoncepcyjna suplementacja mężczyzn poszczególnymi antyoksydantami powoduje poprawę parametrów nasienia i czynności plemników oraz istotny wzrost odsetka żywych urodzeń u ich partnerek.

Podziękowania

Praca napisana w ramach grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503/1-089-03/503-01 i grantu NCN nr UMO-2012/05/B/NZ5/01308

Piśmiennictwo

- Abd-Elmoaty M.A., Saleh R., Sharma R., Agarwal A.: Increased levels of oxidants and reduced antioxidants in semen of infertile men with varicocele. *Fertil Steril*. 2010, 94, 1531–1534.
- Agarwal A., Makker K., Sharma R.: Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol*. 2008, 59, 2–11.
- Agarwal A., Nallella K.P., Allamaneni S.S., Said T.M.: Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online*. 2004, 8, 616–627.
- Agarwal A., Sekhon L.H.: The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Hum Fertil (Camb)*. 2010, 13, 217–225.
- Agarwal A., Virk G., Ong C., du Plessis S.S.: Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health*. 2014, 32, 1–17.
- Aitken R.J., Buckingham D.W., Carreras A., Irvine D.S.: Superoxide dismutase in human sperm suspensions: relationship with cellular composition, oxidative stress, and sperm function. *Free Radic Biol Med*. 1996, 21, 495–504.
- Aitken R.J., Buckingham D., Harkiss D.: Use of a xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa. *J Reprod Fertil*. 1993a, 97, 441–450.
- Aitken R.J., Clarkson J.S., Hargreave T.B., Irvine D.S., Wu F.C.: Analysis of the relationship between defective sperm function and the generation of reactive oxygen species in cases of oligozoospermia. *J Androl*. 1989, 10, 214–220.
- Aitken R.J., De Iuliis G.N.: On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod*. 2010, 16, 3–13.
- Aitken R.J., De Iuliis G.N., Finnie J.M., Hedges A., McLachlan R.I.: Analysis of the relationships between oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. *Hum Reprod*. 2010, 25, 2415–2426.
- Aitken R.J., Fisher H.M., Fulton N., Gomez E., Knox W., Lewis B. i wsp.: Reactive oxygen species generation by human spermatozoa is induced by exogenous NADPH and inhibited by the flavoprotein inhibitors diphenylene iodonium and quinacrine. *Mol Reprod Dev*. 1997, 47, 468–482.
- Aitken R.J., Harkiss D., Buckingham D.: Relationship between iron-catalysed lipid peroxidation potential and human sperm function. *J Reprod Fertil*. 1993b, 98, 257–265.
- Aitken R.J., Smith T.B., Jobling M.S., Baker M.A., De Iuliis G.N.: Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl*. 2014, 16, 31–38.
- Aitken R.J., Whiting S., De Iuliis G.N., McClymont S., Mitchell L.A., Baker M.A.: Electrophilic aldehydes generated by sperm metabolism activate mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis by targeting succinate dehydrogenase. *J Biol Chem*. 2012, 287, 33048–33060.
- Alvarez J.G., Storey B.T.: Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Mol Reprod Dev*. 1995, 42, 334–346.
- Alvarez J.G., Touchstone J.C., Blasco L., Storey B.T.: Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *J Androl*. 1987, 8, 338–348.
- Aoki V.W., Emery B.R., Liu L., Carrell D.T.: Protamine levels vary between individual sperm cells of infertile human males and correlate with viability and DNA integrity. *J Androl*. 2006, 27, 890–898.
- Appasamy M., Muttukrishna S., Pizzey A.R., Ozturk O., Groome N.P., Serhal P. i wsp.: Relationship between male reproductive hormones, sperm DNA damage and markers of oxidative stress in infertility. *Reprod Biomed Online*. 2007, 14, 159–165.
- Atig F., Kerkeni A., Saad A., Ajina M.: Effects of reduced seminal enzymatic antioxidants on sperm DNA fragmentation and semen quality of Tunisian infertile men. *J Assist Reprod Genet*. 2013, doi: 10.1007/s10815-013-9936-x.

- Atig F., Raffa M., Ali H.B., Abdelhamid K., Saad A., Ajina M.: Altered antioxidant status and increased lipid per-oxidation in seminal plasma of tunisian infertile men. *Int J Biol Sci.* 2012, 8, 139–149.
- Benchai M., Lornage J., Mazoyer C., Lejeune H., Salle B., Francois Guerin J.: Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. *Fertil Steril.* 2007, 87, 93–100.
- Benedetti S., Tagliamonte M.C., Catalani S., Primiterra M., Canestrari F., De Stefani S. i wsp.: Differences in blood and semen oxidative status in fertile and infertile men, and their relationship with sperm quality. *Reprod Biomed Online.* 2012, 25, 300–306.
- Bogenhagen D.F.: Repair of mtDNA in vertebrates. *Am J Hum Genet.* 1999, 64, 1276–1281.
- Bungum M., Humaidan P., Axmon A., Spano M., Bungum L., Erenpreiss J. i wsp.: Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum Reprod.* 2007, 22, 174–179.
- Cummins J.M., Jequier A.M., Kan R.: Molecular biology of human male infertility: links with aging, mitochondrial genetics, and oxidative stress? *Mol Reprod Dev.* 1994, 37, 345–362.
- D'Autreaux B., Toledano M.B.: ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007, 8, 813–824.
- Davies M.J., Moore V.M., Willson K.J., Van Essen P., Priest K., Scott H. i wsp.: Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med.* 2012, 366, 1803–1813.
- De Iuliis G.N., Thomson L.K., Mitchell L.A., Finnie J.M., Koppers A.J., Hedges A. i wsp.: DNA damage in human spermatozoa is highly correlated with the efficiency of chromatin remodeling and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidative stress. *Biol Reprod.* 2009, 81, 517–524.
- Erenpreiss J., Elzanaty S., Giwercman A.: Sperm DNA damage in men from infertile couples. *Asian J Androl.* 2008, 10, 786–790.
- Evenson D.P., Wixon R.: Data analysis of two in vivo fertility studies using Sperm Chromatin Structure Assay-derived DNA fragmentation index vs. pregnancy outcome. *Fertil Steril.* 2008, 90, 1229–1231.
- Evenson D., Wixon R.: Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. *Reprod Biomed Online.* 2006, 12, 466–472.
- Fraga C.G., Motchnik P.A., Shigenaga M.K., Helbock H.J., Jacob R.A., Ames B.N.: Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991, 88, 11003–11006.
- Frączek M., Kurpisz M.: Stres oksydacyjny w nasieniu. W: Układ płciowy męski. Badania kliniczne i doświadczalne. Red. M. Piasecka Wydawnictwo Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Szczecin, 2013.
- Gharagozloo P., Aitken R.J.: The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Hum Reprod.* 2011, 26, 1628–1640.
- Gil-Guzman E., Ollero M., Lopez M.C., Sharma R.K., Alvarez J.G., Thomas A.J., Jr. i wsp.: Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum Reprod.* 2001, 16, 1922–1930.
- Gil-Villa A.M., Cardona-Maya W., Agarwal A., Sharma R., Cadavid A.: Assessment of sperm factors possibly involved in early recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2010, 94, 1465–1472.
- Gonzalez-Marin C., Gosalvez J., Roy R.: Types, causes, detection and repair of DNA fragmentation in animal and human sperm cells. *Int J Mol Sci.* 2012, 13, 14026–14052.
- Griveau J.F., Dumont E., Renard P., Callegari J.P., Le Lannou D.: Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence systems in human spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1995, 103, 17–26.
- Grosicka-Maciąg E.: Biological consequences of oxidative stress induced by pesticides. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2011, 65, 357–366.
- Guz J., Gackowski D., Foksiński M., Różalski R., Zarakowska E., Siomek A. i wsp.: Comparison of oxidative stress/DNA damage in semen and blood of fertile and infertile men. *PLoS One.* 2013, 8, e68490. doi: 10.1371/journal.pone.0068490.
- Hansen M., Bower C.: The impact of assisted reproductive technologies on intra-uterine growth and birth defects in singletons. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2014, 19, 228–233.
- Hong C.Y., Lee M.F., Lai L.J., Wang C.P.: Effect of lipid peroxidation on beating frequency of human sperm tail. *Andrologia.* 1994, 26, 61–65.
- Hsieh Y.Y., Chang C.C., Lin C.S.: Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *Int J Biol Sci.* 2006, 2, 23–29.
- Imamovic Kumalic S., Pinter B.: Review of clinical trials on effects of oral antioxidants on basic semen and other parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Biomed Res Int.* 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/426951
- Iwasaki A., Gagnon C.: Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril.* 1992, 57, 409–416.
- Jędrzejczak P., Frączek M., Szumała-Kąkol A., Taszarek-Hauke G., Pawelczyk L., Kurpisz M.: Consequences of semen inflammation and lipid peroxidation on fertilization capacity of spermatozoa in in vitro conditions. *Int J Androl.* 2005, 28, 275–283.
- Kazienko A., Piasecka M., Rymaszewska A., Gączarzewicz D., Kurzawa R., Frączek M. i wsp.: Molekularne markery niepłodności męskiej: zaburzenia transkrypcji i translacji protamin chromatyny plemnika – część II. *Post Biol Kom.* 2012, 39, 371–394.
- Kemal Duru N., Morshedi M., Oehninger S.: Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil Steril.* 2000, 74, 1200–1207.
- Kennedy C., Ahlering P., Rodriguez H., Levy S., Sutovsky P.: Sperm chromatin structure correlates with spontaneous abortion and multiple pregnancy rates in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2011, 22, 272–276.
- Khosravi F., Valojerdi M.R., Amanlou M., Karimian L., Abolhassani F.: Relationship of seminal reactive nitrogen and oxygen species and total antioxidant capacity with sperm DNA fragmentation in infertile couples with normal and abnormal sperm parameters. *Andrologia.* 2012, doi: 10.1111/and.12034.
- Ko E.Y., Sabanegh E.S., Jr.: The role of over-the-counter supplements for the treatment of male infertility – fact or fiction? *J Androl.* 2012, 33, 292–308.
- Kobayashi T., Miyazaki T., Tatori M., Nozawa S.: Protective role of superoxide dismutase in human sperm motility: superoxide dismutase activity and lipid peroxide in human seminal plasma and spermatozoa. *Hum Reprod.* 1991, 6, 987–991.
- Kumar K., Deka D., Singh A., Mitra D.K., Vanitha B.R., Dada R.: Predictive value of DNA integrity analysis in idiopathic recurrent pregnancy loss following spontaneous conception. *J Assist Reprod Genet.* 2012, 29, 861–867.
- de Lamirande E., Gagnon C.: Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *J Androl.* 1992a, 13, 368–378.
- de Lamirande E., Gagnon C.: Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *J Androl.* 1992b, 13, 379–386.
- Lewis S.E., Sterling E.S., Young I.S., Thompson W.: Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 1997, 67, 142–147.

- Liu C.Y., Lee C.F., Hong C.H., Wei Y.H.: Mitochondrial DNA mutation and depletion increase the susceptibility of human cells to apoptosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2004, 1011, 133–145.
- Lombardo F., Sansone A., Romanelli F., Paoli D., Gandini L., Lenzi A.: The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: an overview. *Asian J Androl.* 2011, 13, 690–697.
- Maettner R., Sterzik K., Isachenko V., Strehler E., Rahimi G., Alabart J.L. i wsp.: Quality of human spermatozoa: relationship between high-magnification sperm morphology and DNA integrity. *Andrologia.* 2014, 46, 547–555.
- Mahanta R., Gogoi A., Chaudhury P.N., Roy S., Bhattacharyya I.K., Sharma P.: Association of oxidative stress biomarkers and antioxidant enzymatic activity in male infertility of north-East India. *J Obstet Gynaecol India.* 2012, 62, 546–550.
- Mehdi M., Khantouche L., Ajina M., Saad A.: Detection of DNA fragmentation in human spermatozoa: correlation with semen parameters. *Andrologia.* 2009, 41, 383–386.
- Meister A.: Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem.* 1988, 263, 17205–17208.
- Menezes Y., Dale B., Cohen M.: DNA damage and repair in human oocytes and embryos: a review. *Zygote.* 2010, 18, 357–365.
- Meseguer M., Santiso R., Garrido N., Garcia-Herrero S., Remohi J., Fernandez J.L.: Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. *Fertil Steril.* 2011, 95, 124–128.
- Miesel R., Jędrzejczak P.J., Kurpisz M.: Oxidative stress during the interaction of gametes. *Biol Reprod.* 1993, 49, 918–923.
- Nakada K., Sato A., Yoshida K., Morita T., Tanaka H., Inoue S. i wsp.: Mitochondria-related male infertility. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006, 103, 15148–15153.
- Oleszczuk K., Augustinsson L., Bayat N., Giwercman A., Bungum M.: Prevalence of high DNA fragmentation index in male partners of unexplained infertile couples. *Andrology.* 2013, 1, 357–360.
- Ollero M., Gil-Guzman E., Lopez M.C., Sharma R.K., Agarwal A., Larson K. i wsp.: Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Hum Reprod.* 2001, 16, 1912–1921.
- Parinaud J., Le Lannou D., Vieitez G., Griveau J.F., Milhet P., Richoille G.: Enhancement of motility by treating spermatozoa with an antioxidant solution (Sperm-Fit) following ejaculation. *Hum Reprod.* 1997, 12, 2434–2436.
- Pasqualotto F.F., Sharma R.K., Nelson D.R., Thomas A.J., Agarwal A.: Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. *Fertil Steril.* 2000, 73, 459–464.
- Piasecka M.: Morfologia i funkcja mitochondriów plemnika a męska płodność. Część II. Zaburzenia morfologiczno-funkcjonalne mitochondriów wstawki plemnika. *Post Biol Kom.* 2004, 31, 489–516.
- Piasecka M., Gączarzewicz D., Laszczyńska M.: Evaluation of sperm genomic integrity of normozoospermic men: a prospective study. *Folia Histochem Cytobiol.* 2006, 44, 117–122.
- Piasecka M., Gączarzewicz D., Laszczyńska M., Starczewski A., Brodowska A.: Flow cytometry application in the assessment of sperm DNA integrity of men with asthenozoospermia. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007, 45 Suppl 1, 127–136.
- Piasecka M., Gill K., Gączarzewicz D., Kazienko A., Rosiak A., Udała J. i wsp.: Znaczenie morfologicznej oceny plemników w diagnostyce seminologicznej. W: Układ płciowy męski. Badania kliniczne i doświadczalne. Red. M. Piasecka. Wyd. Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, Szczecin 2013, 97–123
- Potts R.J., Notarianni L.J., Jefferies T.M.: Seminal plasma reduces exogenous oxidative damage to human sperm, determined by the measurement of DNA strand breaks and lipid peroxidation. *Mutat Res.* 2000, 447, 249–256.
- Przybyszewski W.M., Kasperczyk J., Stokłosa K., Bkhiyan A.: DNA damage induced by products of lipid peroxidation. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2005, 59, 75–81.
- Rao B., Soufir J.C., Martin M., David G.: Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility. *Gamete Res.* 1989, 24, 127–134.
- Rivlin J., Mendel J., Rubinstein S., Etkovitz N., Breitbart H.: Role of hydrogen peroxide in sperm capacitation and acrosome reaction. *Biol Reprod.* 2004, 70, 518–522.
- Robinson L., Gallos I.D., Conner S.J., Rajkhowa M., Miller D., Lewis S. i wsp.: The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2012, 27, 2908–2917.
- Ross C., Morriss A., Khairy M., Khalaf Y., Braude P., Coomarasamy A. i wsp.: A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online.* 2010, 20, 711–723.
- Sanocka D., Miesel R., Jędrzejczak P., Kurpisz M.K.: Oxidative stress and male infertility. *J Androl.* 1996, 17, 449–454.
- Shamsi M.B., Kumar R., Bhatt A., Bamezai R.N., Gupta N.P., Das T.K. i wsp.: Mitochondrial DNA Mutations in etiopathogenesis of male infertility. *Indian J Urol.* 2008, 24, 150–154.
- Sikka S.C.: Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci.* 1996, 1, 78–86.
- Sivanarayana T., Krishna Ch R., Prakash G.J., Krishna K.M., Madan K., Rani B.S. i wsp.: CASA derived human sperm abnormalities: correlation with chromatin packing and DNA fragmentation. *J Assist Reprod Genet.* 2012, 29, 1327–1334.
- Smith R., Vantman D., Ponce J., Escobar J., Lissi E.: Total antioxidant capacity of human seminal plasma. *Hum Reprod.* 1996, 11, 1655–1660.
- Taylor R.W., Turnbull D.M.: Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet.* 2005, 6, 389–402.
- Torregrosa N., Dominguez-Fandos D., Camejo M.I., Shirley C.R., Meistrich M.L., Ballesca J.L. i wsp.: Protamine 2 precursors, protamine 1/protamine 2 ratio, DNA integrity and other sperm parameters in infertile patients. *Hum Reprod.* 2006, 21, 2084–2089.
- Tremellen K.: Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. *Hum Reprod Update.* 2008, 14, 243–258.
- Twigg J., Fulton N., Gomez E., Irvine D.S., Aitken R.J.: Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. *Hum Reprod.* 1998a, 13, 1429–1436.
- Twigg J.P., Irvine D.S., Aitken R.J.: Oxidative damage to DNA in human spermatozoa does not preclude pronucleus formation at intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998b, 13, 1864–1871.
- Verma A., Kanwar K.C.: Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian J Androl.* 1999, 1, 151–154.
- Virro M.R., Larson-Cook K.L., Evenson D.P.: Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril.* 2004, 81, 1289–1295.
- Walczak-Jędrzejowska R., Wolski J.K., Słowikowska-Hilczner J.: The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol.* 2013, 66, 60–67.
- Wang X., Sharma R.K., Gupta A., George V., Thomas A.J., Falcone T. i wsp.: Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study. *Fertil Steril.* 2003, 80 Suppl 2, 844–850.

Zabłocka A., Janusz M.: The two faces of reactive oxygen species. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2008, 62, 118–124.

Zhang Y., Wang H., Wang L., Zhou Z., Sha J., Mao Y. i wsp.: The clinical significance of sperm DNA damage detection combined with routine semen testing in assisted reproduction. *Mol Med Rep*. 2008, 1, 617–624.

Zini A.: Are sperm chromatin and DNA defects relevant in the clinic? *Syst Biol Reprod Med*. 2011, 57, 78–85.

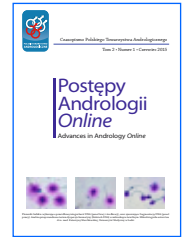
Zini A., Al-Hathal N.: Antioxidant therapy in male infertility: fact or fiction? *Asian J Androl*. 2011, 13, 374–381.

Zini A., Jamal W., Cowan L., Al-Hathal N.: Is sperm DNA damage associated with IVF embryo quality? A systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2011, 28, 391–397.

Zini A., San Gabriel M., Baazeem A.: Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *J Assist Reprod Genet*. 2009, 26, 427–432.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.andrologia-pta.com.pl>

WPŁYW SPORTU NA MĘSKI UKŁAD ROZRODCZY SPORT INFLUENCE ON MALE REPRODUCTIVE SYSTEM

Natalia Ignaszak-Kaus, Piotr Jędrzejczak

Katedra Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej, Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu w Poznaniu

Autor do korespondencji: Natalia Ignaszak-Kaus (natalia.ignaszak@gmail.com)

Natalia Ignaszak-Kaus – Absolwentka Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Od października 2014 r. lekarz stażysta w Szpitalu Klinicznym im. H. Święcickiego UM w Poznaniu. Wielokrotnie brała czynny udział w konferencjach naukowych, prezentując własne prace naukowe, realizowane w okresie studiów. Współautorka kilku artykułów medycznych. Swoją przyszłość chciałaby związać z ginekologią i położnictwem. Zainteresowania naukowe: niepłodność, endokrynologia ginekologiczna.

Streszczenie

W artykule przedstawiono przegląd piśmiennictwa dotyczącego wpływu różnych dyscyplin sportu oraz intensywności treningów na parametry seminologiczne i poziomy hormonów płciowych u mężczyzn. Sport jest nieodłącznym elementem zdrowego stylu życia, a korzyści wynikające z aktywności fizycznej są bezsporne. Brak ćwiczeń ruchowych oraz związana z nim otyłość negatywnie wpływają na męski potencjał rozrodczy. Niestety, także zbyt intensywne treningi mogą doprowadzić do zaburzeń hormonalnych, pogarszając jakość nasienia. Niniejszy artykuł porusza też kwestię urazów układu moczowo-płciowego, do których dochodzi u sportowców, najczęściej rowerzystów i jeźdźców konnych. Przedstawiono możliwe przyczyny zaburzeń płodności u mężczyzn wyczynowo uprawiających sport. Problem niepłodności męskiej powinien być obszarem zainteresowania nie tylko andrologów, ale też urologów, endokrynologów oraz lekarzy medycyny sportowej.

słowa kluczowe: niepłodność męska, jakość nasienia, stres oksydacyjny, jazda na rowerze, jazda konna, urazy jąder

Abstract

In this article review of the literature concerning the influence of different sport disciplines and intensity of workouts on seminal parameters and sex hormone levels has been presented. Sport is inseparable element of healthy lifestyle and benefits of physical activity are indisputable. Lack of physical activity and associated obesity have negative influence on male reproductive potential. Unfortunately also too intense workouts can lead to hormonal imbalance, worsening the quality of semen. This paper also have been discussed genitourinary injuries which occur in athletes, especially cyclists and equestrians. In this article potential causes of fertility disorders among competitive athletes has been shown. The problem of male infertility should be an area of interest not only andrologists but also urologists, endocrinologists and sports medicine doctors.

key words: male infertility, semen quality, oxidative stress, cycling, riding, testicular injuries

Skróty / Abbreviations

AMH – hormon antymüllerowski (ang. *anti-Müllerian hormone*), BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*), CRH – hormon uwalniający kortykotropinę (ang. *corticotropin-releasing hormone*), FSH – hormon folikulotropowy (ang. *follicle-stimulating hormone*), GnRH – hormon uwalniający gonadotropiny (ang. *gonadotropin-releasing hormone*), HPA – oś podwzgórze–przysadka–nadnercza (ang. *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*), IL-1 β – interleukina 1 β (ang. *interleukin 1 β*), IL-6 – interleukina 6 (ang. *interleukin 6*), IL-8 – interleukina 8 (ang. *interleukin 8*), LH – hormon luteinizujący (ang. *luteinizing hormone*), PNE – zespół ucisku na nerw sromowy (ang. *puddendal nerve entrapment*), PRL – prolaktyna (ang. *prolactin*), SHBG – globulina wiążąca hormony płciowe (ang. *sex hormone binding globulin*), TNF- α – czynnik martwicy nowotworów α (ang. *tumor necrosis factor α*); VO_{2max} – maksymalny pułap tlenowy (ang. *maximal oxygen consumption*); WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*).

Sport jest nieodłącznym elementem zdrowego stylu życia. Regularny wysiłek fizyczny zapobiega wielu chorobom cywilizacyjnym, zmniejsza ryzyko otyłości, cukrzycy typu 2, chorób sercowo-naczyniowych. Ćwiczenia fizyczne wspomagają produkcję masy kostnej, przez co chronią przed rozwojem osteoporozy. Sport pomaga utrzymać zarówno zdrowie fizyczne, jak i psychiczne (WHO, 2010). Światowa Organizacja Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) zaleca osobom w wieku 18–65 lat minimum 150 minut umiarkowanego wysiłku fizycznego w tygodniu lub minimum 75 minut ćwiczeń o wysokiej intensywności w tygodniu. Korzystne jest również połączenie obu wymienionych intensywności aktywności fizycznej (WHO, 2010).

Według danych Głównego Urzędu Statystycznego coraz więcej Polaków deklaruje podejmowanie regularnej aktywności fizycznej. Najpopularniejszymi dyscyplinami sportu są jazda na rowerze (64,8%) oraz pływanie (42,1%). W porównaniu do 2008 r. odsetek mężczyzn uprawiających jakiegokolwiek sport wzrósł o 8,8% (GUS, 2013).

Z kolei siedzący tryb życia nie tylko zwiększa ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych i ma negatywny wpływ na gospodarkę węglowodanowo-lipidową, ale może też upośledzać męską płodność. Optymalna temperatura dla spermatogenezy jest 3–4°C niższa od temperatury wnętrza ciała. Do jej utrzymania przyczynia się nie tylko położenie jąder w mosznie, które w warunkach prawidłowych zstępują do niej pod koniec życia płodowego, ale również pofałdowana, bogato unaczyniona powierzchnia worka mosznowego umożliwia oddawanie nadmiaru ciepła. Wchodzący w skład powrózka nasiennego splot wiciowaty również odgrywa istotną rolę w regulacji temperatury jąder. Długie przebywanie w pozycji siedzącej powoduje wzrost temperatury w mosznie, co przyczynia się do zaburzeń spermatogenezy i obniżenia płodności (Jung i wsp., 2007). Podobne wyniki, wskazujące na negatywny wpływ hipertermii na spermatogenezę, przedstawiono też w innych pracach (Durairajanayagam i wsp., 2015; Korfanty i wsp., 2014).

Garolla i wsp. (2013) przeprowadzili badania dotyczące wpływu regularnego korzystania z sauny (15 minutowe sesje, 2-krotnie w tygodniu przez 3 miesiące) na spermatogenezę. Grupę badaną stanowili mężczyźni z prawidłowymi parametrami seminologicznymi, którzy próbki nasienia do analizy oddawali przed rozpoczęciem korzystania z sauny, w momencie zakończenia

regularnego korzystania, a następnie po 3 i po 6 miesiącach od ekspozycji na wysoką temperaturę panującą w saunie (80–90°C). W nasieniu zebranym w momencie zakończenia regularnego korzystania z sauny odnotowano statystycznie istotne ($p < 0,001$) zmniejszenie ruchliwości i liczby plemników w odniesieniu do parametrów oznaczonych przed rozpoczęciem korzystania z sauny. Obniżone parametry seminologiczne utrzymywały się także 3 miesiące po zaprzestaniu korzystania z sauny. Dopiero po 6 miesiącach wszystkie parametry powróciły do wartości wyjściowych.

Otyłość a zdrowie reprodukcyjne mężczyzn

Wysiłek fizyczny pomaga w utrzymaniu właściwej masy ciała, a jak wykazało wiele badań, nadmierna masa ciała wpływa negatywnie zarówno na gospodarkę hormonalną, jak i parametry nasienia (Eisenberg i wsp., 2014; Fariello i wsp., 2012; Macdonald i wsp., 2013). Fariello i wsp. (2012) przeprowadzili badanie parametrów nasienia uzyskanego od 305 mężczyzn, których podzielono na trzy grupy według wskaźnika masy ciała (BMI, ang. *body mass index*): 1) grupa z prawidłową masą ciała ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$), 2) nadwagą ($BMI \geq 25 \text{ i } < 30 \text{ kg/m}^2$) oraz 3) otyłością ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$). Nasienie mężczyzn z prawidłowym BMI charakteryzowało się istotnie wyższą ($p = 0,008$) koncentracją plemników niż nasienie mężczyzn z otyłością. Wykazano również istotnie wyższy ($p = 0,001$) odsetek plemników o ruchu postępowym w nasieniu grupy mężczyzn z prawidłowym BMI w porównaniu do grupy z nadwagą i otyłością. Istotne różnice ($p = 0,012$) między parametrami seminologicznymi analizowanych grup wykazano także w całkowitej liczbie plemników wykazujących ruch. Ponadto, u mężczyzn z grupy o najwyższym współczynniku BMI stwierdzono istotnie niższą ($p = 0,0045$) aktywność oksydoredukcyjną mitochondriów plemników oraz istotnie wyższą ($p = 0,002$) odsetek męskich komórek rozrodczych niewykazujących aktywności mitochondriów w porównaniu do pozostałych badanych grup. Wykazano również, że mężczyźni otyli posiadali istotnie wyższy ($p = 0,0004$) procent plemników z dużą fragmentacją DNA. Z przedstawionego badania wynika, że wzrost masy ciała istotnie obniża nie tylko standardowe parametry seminologiczne, ale

również ma wpływ na aktywność oksydoredukcyjną mitochondriów oraz integralność DNA plemników. Z kolei w dużym badaniu przekrojowym, przeprowadzonym w Nowej Zelandii wśród mężczyzn, którzy wraz z partnerkami zgłosili się do ośrodka leczenia niepłodności, stwierdzono istotną statystycznie negatywną korelację pomiędzy BMI a stężeniem testosteronu całkowitego ($r = -0,35$, $p = 0,0001$), wolnego testosteronu ($r = -0,25$, $p = 0,0012$) oraz globuliną wiążącą hormony płciowe (SHBG, ang. *sex hormone binding globulin*) – $r = -0,44$, $p = 0,0001$ (Macdonald i wsp., 2013). Ponadto, jak wykazali Eisenberg i wsp. (2014), nie tylko nadmierna masa ciała, ale także zbyt duży obwód talii wiąże się z gorszymi parametrami nasienia.

Tezę, która głosi, że otyłość jest związana z potencjalnym pogorszeniem zdrowia reprodukcyjnego, potwierdzają również badania stężenia inhibiny B i hormonu antymüllerowskiego (AMH, ang. *anti-Müllerian hormone*) w surowicy krwi. Wartości tych hormonów są proporcjonalne do liczby komórek Sertoliego, które wykazują działanie podporowe, ochronne i odżywcze dla komórek plemnikotwórczych. Robeva i wsp. (2012) wykazali, że zarówno stężenie inhibiny B, jak i AMH były statystycznie istotnie niższe (odpowiednio: $p = 0,025$; $p = 0,002$) w grupie mężczyzn otyłych z towarzyszącymi objawami zespołu metabolicznego w porównaniu do grupy kontrolnej, którą stanowili mężczyźni z prawidłową masą ciała. Tym bardziej niepokojące są ostatnie dane opublikowane przez Główny Urząd Statystyczny, z których wynika, że odsetek mężczyzn z nadwagą i otyłych ciągle wzrasta i w 2009 r. wynosił odpowiednio 45% i 17%. Z tego wynika, że blisko 62% mężczyzn miało nieprawidłową, zbyt wysoką masę ciała. W porównaniu z latami poprzednimi największy wzrost odnotowano niestety wśród mężczyzn w wieku reprodukcyjnym – 20–39 lat (GUS, 2011).

Intensywny trening a oś podwzgórze–przysadka–jądro i parametry nasienia

Należy odróżnić sport rekreacyjny od wyczynowego. Jak wynika z danych prezentowanych przez portal bieganie.pl, w 2013 r. w Polsce odbyło się aż 69 biegów maratońskich, co stawia nasz kraj na 15. miejscu, jeśli chodzi o liczbę zorganizowanych maratonów. Liczba osób, które ukończyły ten dystans, również jest imponująca (36 533 zawodników), co plasuje Polskę na 8. lokacie. Trójbój (triathlon) do niedawna mniej popularny w Polsce, także zyskuje rzesze fanów. Jest to niezwykle wymagająca dyscyplina, łącząca jazdę na rowerze, pływanie oraz bieg. Obecnie trenuje go 6–8 tys. osób, ale ich liczba co roku podwaja się. Czy tak intensywny sport również wywiera pozytywny wpływ na zdrowie mężczyzny, a zwłaszcza jego funkcje rozrodcze?

Odpowiedź organizmu na długotrwały, intensywny wysiłek fizyczny jest podobna do odpowiedzi na chroniczny stres. Dochodzi do aktywacji autonomicznego

układu nerwowego i osi podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA, ang. *hypothalamic–pituitary–adrenal axis*). Hormon uwalniający kortykotropinę (CRH, ang. *corticotropin-releasing hormone*), zarówno poprzez oś HPA, jak i stymulację wydzielania β -endorfin, upośledza wydzielanie hormonu uwalniającego gonadotropiny – GnRH, ang. *gonadotropin-releasing hormone* (Chrousos, 1992). Podobna supresja podwzgórza i jednocześnie całego układu rozrodczego jest obserwowana również u intensywnie trenujących kobiet. Biologiczne podłoże tego zjawiska wynika z ciągłej stymulacji przez glikokortykosteroidy, będące „hormonami stresu”. Organizm zmuszony jest więc do oszczędzania energii na wypadek sytuacji nagłych, kosztem wyłączenia w pierwszej kolejności aktywności gonad. U kobiet przejawia się to w postaci tzw. triady sportsmenek, na którą składają się zaburzenia odżywiania, brak miesiączki i osteoporoza (Szygula i wsp., 2010). Czynnikiem prowadzącym do tych dysfunkcji jest hipoestrogenemia powiązana z hiperkortyzolemią (Łagowska i wsp., 2011). U sportowców mężczyzn narażonych na przewlekły, intensywny trening poziom wolnego i całkowitego testosteronu oraz hormonu luteinizującego (LH, ang. *luteinizing hormone*) jest obniżony. Zjawisko to nazywane jest stanem hipogonadyzmu zależnego od ćwiczeń – ang. *exercise-hypogonadal male condition* (Hackney, 2008).

Safarinejad i wsp. (2009) wykazali, że długotrwały, intensywny wysiłek fizyczny negatywnie wpływa na jakość nasienia oraz oś podwzgórze–przysadka–jądro. Uczestników badania podzielono na dwie grupy, którym zalecono 2-godzinny bieg na bieżni sportowej 5 razy w tygodniu przez 60 tyg. Grupa pierwsza biegła ze średnią intensywnością (jak sportowcy wyczynowi), na poziomie maksymalnego pułapu tlenowego (VO_{2max} , ang. *maximal oxygen consumption*) ~60%; grupa druga z bardzo wysoką intensywnością, VO_{2max} ~80%, po czym następował okres regeneracji, w którym obie grupy wykonywały ten sam trening przez kolejne 36 tyg., ale przy niskiej intensywności, na poziomie VO_{2max} ~30%. Po pierwszych 24 tyg. wykonano badania, które wykazały istotnie gorsze parametry nasienia (koncentracja, ruchliwość i morfologia plemników) w grupie biegającej z większą intensywnością ($p = 0,03$). Różnice między obiema grupami nasiliły się w kolejnych badaniach nasienia (w 36. i 48. tyg. ćwiczeń, odpowiednio: $p = 0,02$; $p = 0,01$). W grupie biegającej ze średnią intensywnością parametry nasienia były istotnie niższe w porównaniu z wynikami uzyskanymi przed rozpoczęciem ćwiczeń, a u wykonujących wysiłek o bardzo dużej intensywności zaburzenia jakości nasienia po 60 tyg. treningów były zaniżone w jeszcze większym stopniu. Również istotne zmiany dotyczyły stężeń poziomu hormonów: stężenie testosteronu całkowitego, wolnego, LH i hormonu folikularnego (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*) uległo obniżeniu; wzrósł natomiast poziom SHBG i prolaktyny (PRL, ang. *prolactin*). Nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian stężeń hormonów w grupie ćwiczącej

ze średnią intensywnością. Po okresie 36-tyg. regeneracji wszystkie parametry w obu grupach wróciły do poziomów przedtreningowych. Jest to dowód na to, że nadmierny trening o wysokiej intensywności negatywnie wpływa na funkcje rozrodcze, natomiast po rezygnacji ze zbyt obciążających ćwiczeń parametry nasienia i poziomy hormonów płciowych wracają do normy.

Ciekawe wyniki uzyskano także w dużym badaniu kohortowym oceniającym nasienie mężczyzn, którzy zgłosili się wraz z partnerkami do ośrodka leczenia niepłodności (Wise i wsp., 2011). Pobrano 2261 próbek nasienia przed procedurą zapłodnienia *in vitro*. Zebrano szczegółowy wywiad dotyczący rodzaju aktywności fizycznej, jej intensywności i długości treningów. Interesującym wydaje się fakt, że istotny spadek koncentracji i ruchliwości plemników wykazano tylko w grupie mężczyzn jeżdżących na rowerze dłużej niż 5 godz./tyg. Wysiłek o mniejszym natężeniu nie wpłynął istotnie na parametry nasienia.

Podczas kolejnych badań prowadzonych przez Kupchaka i wsp. (2014) sprawdzano, jaki wpływ na gospodarkę hormonalną ma przebiegnięcie ultramaratonu (trasa 161 km). Próbkę krwi pobrano od 12 mężczyzn przed zawodami, bezpośrednio po ukończeniu biegu oraz jeden, dwa i trzy dni po wysiłku. W porównaniu do wyników sprzed przebiegnięcia ultramaratonu poziom testosteronu, LH oraz SHBG był istotnie statystycznie niższy, a poziom kortyzolu wyższy tuż po przebiegnięciu trasy ($p \leq 0,05$). Podobne wyniki uzyskano również w następnych pomiarach. Jest to kolejny niezaprzeczalny dowód na to, że nawet jednorazowy ekstremalny wysiłek fizyczny upośledza funkcjonowanie osi podwzgórze-przysadka-jądro.

Stres oksydacyjny powiązany ze sportem a jakość nasienia

Intensywny wysiłek fizyczny 10-krotnie zwiększa zużycie tlenu przez komórki. Jednocześnie nasila się produkcja reaktywnych form tlenu, które mogą uszkadzać błony komórkowe. Istnieje wiele mechanizmów obronnych usuwających wolne rodniki. Do głównych enzymów zapobiegających peroksydacji lipidów błonowych i uszkodzeniu DNA komórek, w tym komórek plemnikotwórczych, należą: dysmutaza nadtlenkowa, katalaza i peroksydaza (Koziorowska-Gilun, 2013).

Liczne badania dowodzą, że intensywne uprawianie sportu wyczynowego zwiększa stężenie wykładników stanu zapalnego: interleukin prozapalnych (Bernecker, 2013) oraz białka C-reaktywnego (Kasprowicz, 2013). W jednym z badań sprawdzano zależność poziomu reaktywnych form tlenu i enzymów antyoksydacyjnych od intensywności treningów. Próbkę nasienia pobrano od mężczyzn uprawiających sport wyczynowo (4–5 razy w tyg., tętno 180–190 skurczów serca/min), rekreacyjnie (2–3 razy w tyg., tętno 127–132 skurczów serca/min)

i od mężczyzn nieuprawiających żadnego sportu. Najlepsze wyniki, czyli statystycznie istotnie wyższe ($p < 0,001$) poziomy katalazy i dysmutazy nadtlenkowej przy obniżonych wykładnikach stresu oksydacyjnego (8-izoprostanu, kwasu metylomalonowego, reaktywnych form tlenu), wykazano w nasieniu mężczyzn rekreacyjnie uprawiających sport (Hajizadeh i wsp., 2013). Co więcej, mężczyźni uprawiający sport wyczynowo prezentowali istotnie wyższe ($p < 0,001$) stężenia wykładników stanu zapalnego zarówno od tych uprawiających sport rekreacyjnie, jak i od mężczyzn nie-treningujących w ogóle. Parametry nasienia: prawidłowa morfologia, ruchliwość i liczba plemników korelowały z wysokim stężeniem enzymów antyoksydacyjnych i niskim stężeniem reaktywnych form tlenu. Najlepsze parametry wykazano w grupie rekreacyjnie uprawiających sport, następnie w grupie nieuprawiających żadnych sportów. Najgorsze parametry oznaczono w grupie treningujących wyczynowo. Nie tylko kolarstwo i biegi długodystansowe mogą zaburzać równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną nasienia i tym samym pogarszać parametry seminologiczne. Analizowano wyniki w dwóch grupach: 1) 56 sportowców wyczynowych treningujących sporty walki (trening intensywny: 4–5 razy w tyg., tętno 180–190 skurczów serca/min, $VO_{2max} \sim 62\%$) oraz 2) 52 sportowców rekreacyjnych (2–3 razy w tyg., tętno 127–132 skurczów serca/min, $VO_{2max} \sim 50\%$). Również zwracały uwagę istotnie statystycznie gorsze parametry seminologiczne, wyższe stężenia wykładników stresu oksydacyjnego, powiązane z zaburzoną integralnością DNA plemników w grupie treningujących wyczynowo (Tartibian i wsp., 2012).

Czy można więc określić, przy jakiej intensywności aktywności fizycznej parametry nasienia, a tym samym i płodność, nie zostają pogorszone? Wyniki badań nie wskazują jednoznacznie bezpiecznej intensywności i częstotliwości treningów.

Hajizadeh i wsp. (2014) udowadniają, że nawet 16-tyg. trening na rowerze o średniej intensywności ($VO_{2max} < 52\%$) może obniżyć jakość nasienia. W ramach badań od 24 mężczyzn jeżdżących amatorsko na rowerze, uzyskano i zbadano nasienie przed okresem treningowym, po 8 i po 16 tyg. treningów oraz 7 i 30 dni po zakończonej sesji treningowej. Zarówno objętość, koncentracja, ruchliwość, jak i morfologia plemników były istotnie statystycznie niższe ($p < 0,008$) w porównaniu z wynikami sprzed okresu treningowego. Także wykładniki stanu zapalnego: interleukina 1 β (IL-1 β , ang. *interleukin 1 β*), interleukina 6 (IL-6, ang. *interleukin 6*), interleukina 8 (IL-8, ang. *interleukin 8*) oraz czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α , ang. *tumor necrosis factor α*) były podwyższone po sesji treningów ($p < 0,008$). Pogorszenie jakości nasienia było obserwowalne po 8 i 16 tyg. jazdy na rowerze, a obniżone parametry utrzymywały się jeszcze w 7. dniu po treningach. Dopiero po 30 dniach regeneracji zaobserwowano powrót do poziomów wejściowych niektórych parametrów nasienia, jednak morfologia

i liczba plemników pozostały obniżone, a poziom IL-1 β , IL-6 oraz IL-8 podwyższony ($p < 0,008$).

Wpływ jazdy na rowerze na męski układ moczowo-płciowy

Kolarstwo, rekreacyjne lub wyczynowe, to najbardziej popularna dyscyplina sportu, znajdująca rzesze fanów na całym świecie. Jazda na rowerze to sport ogólnodostępny, jako wysiłek aerobowy pomagający utrzymać organizm w dobrej kondycji fizycznej i pozytywnie wpływający na układ sercowo-naczyniowy. Jak jednak wynika z omówionych wyników badań, może wiązać się z pogorszeniem jakości nasienia, a tym samym negatywnie wpływać na męską płodność. Co więcej, jeździe na rowerze towarzyszyć mogą też inne zaburzenia, niewystępujące w przypadku uprawiania innych dyscyplin. Do najczęstszych należą: zespół ucisku na nerw sromowy (PNE, ang. *pudendal nerve entrapment*) oraz zaburzenia erekcji. Zespół ucisku może przejawiać się zarówno bólem w obrębie moszny i krocza, jak i drętwieniem, upośledzeniem czucia w tej lokalizacji. W trakcie jazdy dochodzi też do ucisku struktur naczyniowych; przewlekłe niedotlenienie tkanek w prąciu może prowadzić do rozplemienia tkanki łącznej w obrębie ciał jamistych i jednocześnie zniszczenia mięśni gładkich (Sommer i wsp., 2010). Konsekwencją tak zmienionej struktury prącia mogą być zaburzenia erekcji (Tomada i wsp., 2010). Wśród 100 badanych kolarzy, pokonujących tygodniowo dystans powyżej 400 km, zespół ucisku nerwu sromowego występował u 61% z nich, podczas gdy zaburzenia erekcji zgłaszało 24% badanych (Sommer i wsp., 2001). Nieco mniejszy odsetek powikłań związanych z jazdą na rowerze przedstawiony został w pracy Andersen i wsp. (1997): zespół ucisku oraz zaburzenia erekcji prezentowało odpowiednio 21% i 13% długodystansowych kolarzy amatorów. Odmienne wyniki badań mogą być związane z chorobami towarzyszącymi, różnym wiekiem kolarzy, intensywnością trenowania. Mimo to duża częstość wymienionych powikłań wśród rowerzystów jest nie do podważenia.

Priapizm to długotrwały, bolesny wzwód członka, który nie jest związany z podnieceniem lub pobudzeniem seksualnym. Wiele badań dowodzi, że zaburzenie to może być związane z jazdą na rowerze. Priapizm powiązany z kolarstwem ma przeważnie charakter wysokoprężowy (Ul Islam i wsp., 2014). Jest on spowodowany uszkodzeniem naczyń i wytworzeniem przetok lub przecieków tętniczo-żylnych, przez które krew w sposób niekontrolowany wpływa do zatok ciał jamistych prącia.

Okazuje się, że sposobem na uniknięcie niektórych powikłań, związanych z jazdą na rowerze, może być dobranie odpowiedniego ekwipunku rowerowego. Wskazane są ergonomiczne, szerokie siodełka, na których ciężar ciała rozkłada się bardziej równomiernie niż w przypadku wąskich sportowych modeli (Guess i wsp., 2011). Co więcej, największy wpływ na miejscowy nacisk

na okolicę krocza podczas jazdy ma masa ciała (Bressel i wsp., 2010). Redukcja masy ciała może więc przyczynić się do zmniejszenia ryzyka zaburzeń erekcji czy zespołu ucisku na nerw sromowy u rowerzystów.

Urazy jąder wśród sportowców

Urazy układu moczowo-płciowego stanowią ok. 13% wszystkich urazów związanych z uprawianiem sportu (Sacco, 2010). W jednej z prac wykazano, że w latach 2002–2012 w Stanach Zjednoczonych było ponad 137 tys. interwencji lekarskich powiązanych z tymi kontuzjami (Bagga i wsp., 2015). Do uszkodzeń układu moczowo-płciowego dochodzi najczęściej u długodystansowych kolarzy, osób uprawiających jeździectwo konne oraz u sportowców trenujących sporty kontaktowe, m.in. piłkę nożną (Frauscher i wsp., 2001; Grinsell i wsp., 2012; Turgut i wsp., 2005). W badaniu ankietowym, przeprowadzonym w Danville, w Stanach Zjednoczonych wśród nastoletnich sportowców okazało się, że 18% z nich doświadczyło urazów jądra związanych z uprawianiem sportu, 36,4% z ankietowanych potwierdziło, że tego typu urazu doznał przynajmniej jeden członek z ich drużyny, a tylko 12,9% respondentów przyznało, że używa ochraniacza na okolicę krocza w trakcie treningów. Najniższy odsetek urazów dotyczył chłopców trenujących piłkę nożną (17,8%), a najwyższy (48,5%) lacrosse oraz zapasy (32,8%). Jak wynika z przeprowadzonego badania, urazy jąder nie należą do rzadkości wśród aktywnych sportowo nastolatków (Bieniek i wsp., 2014). Mając na uwadze potencjalne zagrożenia związane z tego typu kontuzjami oraz częstość ich występowania, powinno zwracać się większą uwagę na ochronę krocza w trakcie uprawiania sportu (Dalton i wsp., 2014).

W przypadku jeździectwa już po 5 latach regularnych treningów obserwuje się wzrost występowania nieprawidłowości opisywanych podczas badania ultrasonograficznego worka mosznowego, w porównaniu do mężczyzn nieuprawiających tej dyscypliny sportu – $p < 0,05$ (Turgut i wsp., 2005). Do najczęściej występujących zaburzeń u jeźdźców należą żylaki powrózka nasiennego (46%), wodniaki jądra (19%), torbiele najądrzy (35%) oraz zwapnienia w jądrach i najądrzach (odpowiednio 19% i 8%).

Kolarstwo, jak już wspomniano, jest jedną z dyscyplin związanych najsilniej z zaburzeniami płodności męskiej. Spowodowane jest to także częstością urazów układu moczowo-płciowego wśród kolarzy. Korzystanie ze specjalistycznej odzieży oraz kasku w czasie jazdy zmniejsza istotnie ryzyko poważnych kontuzji (de Rome i wsp., 2014). W Austrii wykonano badania ultrasonograficzne moszny u 85 mężczyzn, jeżdżących na rowerze górskim 6 dni w tyg. przez min. 2 godz. oraz u 31 mężczyzn nietrenujących tej dyscypliny. W grupie kolarzy aż u 94% mężczyzn wykazano patologiczne zmiany. Do najczęstszych należały: zwapnienia w jądrach i najądrzach (odpowiednio 32% i 40%), torbiele najądrza (46%), wodniaki jądra (28%)

oraz żylaki powrózka nasiennego (11%). W grupie nie-treningujących jazdy na rowerze opisano zmiany jedynie u 16% badanych; wszystkie przypadki dotyczyły torbieli najądrza (*Frauscher i wsp.*, 2001). Rowerzyści są bardziej predysponowani do występowania zaburzeń ultrasonograficznych od jeźdźców konnych (tabela 1). Choć torbiele najądrza dominują w obu grupach, to już zwapnienia w ich obrębie występują częściej u rowerzystów. Co ciekawe, żylaki powrózka nasiennego, najczęstsze w grupie jeźdźców, były tylko w niewielkim odsetku opisywane u rowerzystów. Być może wynika to z innego rodzaju wstrząsów i nacisku w trakcie jazdy konnej.

Korzyści wynikające z aktywności fizycznej są bezsporne. Brak ćwiczeń ruchowych negatywnie wpływa

Tabela 1. Porównanie nieprawidłowości zaobserwowanych podczas badania ultrasonograficznego moszny rowerzystów i jeźdźców konnych. Według *Frauscher i wsp.*, 2001 i *Turgut i wsp.* (2005)

Table 1. Comparison of scrotal sonographic abnormalities between mountain bikers and equestrians. According to *Frauscher et al.* (2001) and *Turgut et al.* (2005)

	Rowerzyści górscy Mountain bikers n = 85*	Jeźdźcy konni Equestrians n = 26*
Torbiele najądrza Epididymal cysts	39 (46%)	9 (35%)
Zwapnienia w najądrzach Epididymal calcifications	34 (40%)	2 (8%)
Zwapnienia w jądrach Testicular calcifications	27 (32%)	5 (19%)
Wodniak jądra Hydroceles	24 (28%)	5 (19%)
Żylaki powrózka nasiennego Varicoceles	9 (11%)	12 (46%)

*Więcej niż 1 nieprawidłowość może być opisywana u 1 osoby / More than 1 abnormalities could be described in 1 person

na męski potencjał rozrodczy, jednakże zbyt intensywne treningi mogą doprowadzić do zaburzeń hormonalnych i zaburzeń równowagi oksydacyjnej, pogarszając jakość nasienia. Również urazy jąder, zdarzające się najczęściej w grupie rowerzystów i jeźdźców konnych, są problemem klinicznym, na który należy zwrócić uwagę.

Rozwój sportów wyczynowych, coraz większa popularność aktywności fizycznej, zauważalna chociażby w statystykach maratonów czy triathlonów, to z pewnością zjawisko pozytywne. Należy jednak uwzględnić wpływ zaawansowanych treningów na zdrowie reprodukcyjne mężczyzn. Poprawa edukacji w zakresie możliwych powikłań, korzystanie z ergonomicznych siodełek w trakcie jazdy na rowerze oraz lepsza protekcja jąder podczas uprawiania sportów jest niezbędna. Być może rozwiązaniem byłoby też przesiewowe badanie ultrasonograficzne wśród mężczyzn wyczynowo uprawiających sport, a przede wszystkim badanie palpacyjne jąder. Jest ono tanie, łatwo dostępne, a często pozwala wykryć patologiczne zmiany. Problem niepłodności męskiej powinien być obszarem zainteresowania nie tylko andrologów, ale też urologów, endokrynologów oraz lekarzy medycyny sportowej.

■ Piśmiennictwo

Andersen K.V., Bovim G.: Impotence and nerve entrapment in long distance amateur cyclists. *Acta Neurol Scand.* 1997, 95, 233–240.

Bagga H.S., Fisher P.B., Tasian G.E., Blaschko S.D., McCulloch C.E., McAninch J.W. i wsp.: Sports-related genitourinary injuries presenting to United States emergency departments. *Urology.* 2015, 1, 239–244.

Bernecker C., Scherr J., Schinner S., Braun S., Scherbaum W.A., Halle M.: Evidence for an exercise induced increase of TNF- α and IL-6 in marathon runners. *Scand J Med Sci Sports.* 2013, 2, 207–214.

Bieniek J.M., Sumfest J.M.: Sports-related testicular injuries and the use of protective equipment among young male athletes. *Urology.* 2014, 6, 1485–1489.

Bressel E., Nash D., Dolny D.: Association between attributes of a cyclist and bicycle seat pressure. *J Sex Med.* 2010, 10, 3424–3433.

Chrousos G.P.: Regulation and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1992, 21, 833–858.

Dalton D.M., Davis N.F., O'Neill D.C., Brady C.M., Kiely E.A., O'Brien M.F.: Aetiology, epidemiology and management strategies for blunt scrotal trauma. *Surgeon.* 2014, doi: 10.1016/j.surge.2014.06.006.

Durairajanayagam D., Agarwal A., Ong C.: Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. *Reprod Biomed Online.* 2015, 1, 14–27.

Eisenberg M.L., Kim S., Chen Z., Sundaram R., Schisterman E.F., Buck Louis G.M.: The relationship between male BMI and waist circumference on semen quality: data from the LIFE study. *Hum Reprod.* 2014, 2, 193–200.

Fariello R.M., Pariz J.R., Spaine D.M., Cedenho A.P., Bertolla R.P., Fraietta R.: Association between obesity and alteration of sperm DNA integrity and mitochondrial activity. *BJU Int.* 2012, 6, 863–867.

Frauscher F., Klauser A., Stenzl A., Helweg G., Amort B., zur Nedden D.: US findings in the scrotum of extreme mountain bikers. *Radiology.* 2001, 2, 427–431.

Garolla A., Torino M., Sartini B., Cosci I., Patassini C., Carraro U., Foresta C.: Seminal and molecular evidence that sauna exposure affects human spermatogenesis. *Hum Reprod.* 2013, 4, 877–885.

Grinsell M.M., Butz K., Gurka M.J., Gurka K.K., Norwood V.: Sport-related kidney injury among high school athletes. *Pediatrics.* 2012, 1, 40–45.

Guess M.K., Partin S.N., Schrader S., Lowe B., LaCombe J., Reutman S.: Women's bike seats: a pressing matter for competitive female cyclists. *J Sex Med.* 2011, 8 (11), 3144–3153.

GUS (Główny Urząd Statystyczny). Departament Badań Społecznych i Warunków Życia. Red. Łysoń P. Uczestnictwo Polaków w sporcie i rekreacji ruchowej w 2012. Zakład Wydawnictw Statystycznych, Warszawa 2013.

GUS (Główny Urząd Statystyczny). Departament Badań Społecznych. Stan zdrowia ludności Polski w 2009. Opracowanie: Zająkowska-Kozłowska A. Zakład Wydawnictw Statystycznych. Warszawa 2011.

Hackney A.C.: Effects of endurance exercise on the reproductive system of men: the "exercise-hypogonadal male condition. *J Endocrinol Invest.* 2008, 10, 932–938.

Hajizadeh M.B., Tartibian B., Eghbali M., Asri-Rezaei S.: Comparison of seminal oxidants and antioxidants in subjects with different levels of physical fitness. *Andrology.* 2013, 4, 607–614.

Hajizadeh M.B., Tartibian B.: Long-term low-to-intensive cycling training: impact on semen parameters and seminal cytokines. *Clin J Sport Med.* 2014, doi: 10.1097/JSM.0000000000000122

Jung A., Schuppe H.C.: Influence of genital heat stress on semen quality in humans. *Andrology.* 2007, 6, 203–15.

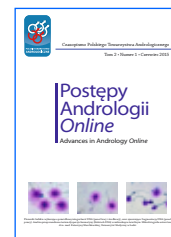
- Kasprowicz K., Ziemann E., Ratkowski W., Laskowski R., Kaczor J.J., Dadci R. i wsp.: Running a 100-km ultra-marathon induces an inflammatory response but does not raise the level of the plasma iron-regulatory protein hepcidin. *J Sports Med Phys Fitness*. 2013, 5, 533–537.
- Korfanty J., Stokowy T., Widlak P., Gogler-Pigłowska A., Handschuh L., Podkowiński J.: Crosstalk between HSF1 and HSF2 during the heat shock response in mouse testes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014, 57, 76–83.
- Koziorowska-Gilun M., Gilun P., Fraser L., Koziorowski M., Kordan W., Stefanczyk-Krzyszowska S.: Antioxidant enzyme activity and mRNA expression in reproductive tract of adult male European Bison (*Bison bonasus*, Linnaeus 1758). *Reprod Domest Anim*. 2013, 1, 7–14.
- Kupchak B.R., Kraemer W.J., Hoffman M.D., Phinney S.D., Volek J.S.: The impact of an ultramarathon on hormonal and biochemical parameters in men. *Wilderness Environ Med*. 2014, 3, 278–288.
- Łagowska K., Jeszka J.: Are young female athletes at risk of amenorrhoea? An analysis of body composition and nutritional and endocrine factors. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*. 2011, 10, 227–232.
- Macdonald A.A., Stewart A.W., Farquhar C.M.: Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones in New Zealand men: a cross-sectional study in fertility clinics. *Hum Reprod*. 2013, 12, 3178–3187.
- Robeva R., Tomova A., Kirilov G., Kumanov P.: Anti-Müllerian hormone and inhibin B levels reflect altered Sertoli cell function in men with metabolic syndrome. *Andrologia*. 2012, 44, Suppl 1, 329–334.
- de Rome L., Boufous S., Georgeson T., Senserrick T., Ivers R.: Cyclists' clothing and reduced risk of injury in crashes. *Accid Anal Prev*. 2014, 73, 392–398.
- Sacco E., Marangi F., Pinto F., D'Addessi A., Racioppi M., Gulino G. i wsp.: Sports and genitourinary traumas. *Urologia*. 2010, 2, 112–125.
- Safarinejad M.R., Azma K., Kolahi A.A.: The effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus-pituitary-testis axis, and semen quality: a randomized controlled study. *J Endocrinol*. 2009, 3, 259–271.
- Sommer F., Goldstein I., Korda J.B.: Bicycle riding and erectile dysfunction: a review. *J Sex Med*. 2010, 7, 2346–2358.
- Sommer F., König D., Graft C., Schwarzer U., Bertram C., Klotz T. i wsp.: Impotence and genital numbness in cyclists. *Int J Sports Med*. 2001, 22, 410–413.
- Szyguła Z., Strzała M., Rolski Z.: Triada zaburzeń u kobiet uprawiających sport – nieprawidłowe łaknienie, brak miesiączki i osteoporoza. *Med Sport Practica*, 2010, 1, 1–7.
- Tartibian B., Maleki B.H.: Correlation between seminal oxidative stress biomarkers and antioxidants with sperm DNA damage in elite athletes and recreationally active men. *Clin J Sport Med*. 2012, 2, 132–139.
- Tomada N., Tomada I., Cruz F., Vendeira P., Neves D.: Characterization of VEGF and angiopoietins expression in human corpus cavernosum during aging. *J Sex Med*. 2010, 7, 1410–1418.
- Turgut A.T., Kosar U., Kosar P., Karabulut A.: Scrotal sonographic findings in Equestrians. *J Ultrasound Med*. 2005, 24, 911–917.
- Ul Islam J., Browne R., Thornhill J.: Mountain bikers priapism: a rare phenomenon. *Ir Med J*. 2014, 1, 21–22.
- WHO. Global recommendations on physical activity for health. World Health Organization Press, Geneva; 2010.
- Wise L.A., Cramer D.W., Hornstein M.D., Ashby R.K., Missmer S.A.: Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril*. 2011, 3, 1025–1030.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

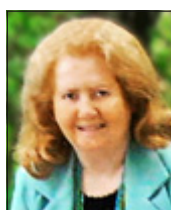
<http://www.andrologia-pta.com.pl>

WPŁYW WYBRANYCH KSENOESTROGENÓW NA MĘSKI UKŁAD ROZRODCZY SSAKÓW

THE IMPACT OF SOME XENOESTROGENS ON MAMMALIAN MALE REPRODUCTIVE SYSTEM

Małgorzata Maria Dobrzyńska

Zakład Higieny Radiacyjnej i Radiobiologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Autor do korespondencji: Małgorzata Maria Dobrzyńska (mdobrzynska@pzh.gov.pl)

Małgorzata Maria Dobrzyńska – dr hab. n. med., prof. nadzwyczajny Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny (NIZP-PZH) w Warszawie. Absolwentka Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Kierownik Pracowni Mutagenyzy Radiacyjnej i Chemicznej Zakładu Higieny Radiacyjnej i Radiobiologii NIZP-PZH. Członek Europejskiego Towarzystwa Mutagenyzy Środowiskowej, Polskiego Genetycznego, Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych. Stypendystka Royal Society w BIBRA International i na Uniwersytecie w Bradford w Wielkiej Brytanii oraz na Uniwersytecie Padewskiego we Włoszech. Kierownik i współwykonawca projektów naukowych krajowych i zagranicznych. Praca naukowo-badawcza autorki związana jest głównie z badaniami wpływu czynników fizycznych i chemicznych, ze szczególnym uwzględnieniem związków estrogenopodobnych, na gamety męskie *in vivo* oraz *in vitro*, oraz na reprodukcję i rozwój potomstwa. Zajmuje się także mutagenizacją radiacyjną i chemiczną oraz wpływem nanocząstek na komórki somatyczne i generatywne.

Streszczenie

Ksenoestrogeny to związki pochodzenia egzogenne o niejednorodnej strukturze chemicznej, które wykazują zdolność interakcji z układem hormonalnym i modulowania jego czynności w sposób charakterystyczny dla estrogenów, i które wykazują również działanie antyandrogenne. Powszechne narażenie na ksenoestrogeny, które wchodzi w skład wielu produktów powszechnego użytku, uważane jest za jedną z przyczyn zmniejszającej się objętości nasienia oraz pogarszającej się jego jakości. Może to prowadzić do niepłodności i przyczyniać się do zwiększenia częstości występowania wad wrodzonych męskich narządów rozrodczych.

W niniejszej pracy omówiono działanie ftalanów butylobenzylu, dibutyli i dietyloheksylu oraz nonylofenolu i bisfenolu A. Wszystkie te ksenoestrogeny powodują u ssaków zmniejszenie liczby gamet męskich, zwiększenie częstości występowania zmian morfologicznych oraz uszkodzeń DNA plemników, szczególnie w przypadku długotrwałego narażenia oraz narażenia, które rozpoczęło się przed osiągnięciem dojrzałości płciowej. Zmiany indukowane w gametach męskich mogą powodować mutacje prowadzące do zwiększonej śmiertelności pre- i postnatalnej potomstwa oraz do wystąpienia wad rozwojowych, opóźnienia w rozwoju i osiągnięciu dojrzałości płciowej, zaburzenia stosunku płci, a także obniżenia jakości nasienia w pokoleniu F1, dlatego wskazane jest ograniczenie kontaktu z ksenoestrogenami osób dorosłych, a przede wszystkim dzieci.

słowa kluczowe: ksenoestrogeny, ilość i jakość plemników, potomstwo

Abstract

Xenoestrogens are exogenous group of compounds, which own heterogenous chemical structure. They may interact with endocrine system and mimic the action of natural hormones as well as may act as antiandrogens. Widespread exposure to xenoestrogens, which enter to composition of many articles of general applications, is considered one of reason reduced sperm volume and diminished sperm quality, and may lead to infertility as well as contribute for increased frequency of congenital defects of male genitals.

Current paper describes the effects of benzylbutyl phthalate (BBP), di-n-butyl phthalate (DBP), di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), nonylphenol (NP) and bisphenol A (BPA). All above xenoestrogens cause diminished sperm count, increased frequency of abnormal spermatozoa and DNA damage in mammals, especially following long exposure and after starting of exposure before achievement of sexual maturity. Changes induced in male gametes may cause mutations leading to increased pre- and postnatal mortality of the offspring and to incidence of congenital malformations, growth retardation, delay in sexual development, disturbances in sex ratio and diminished quality of semen in F1 generation. So, limitation of contact with xenoestrogens of adult and particularly of children is recommended.

key words: xenoestrogens, sperm count and quality, offspring

Skróty / Abbreviations

BBP – ftalan butylobenzylu (ang. *benzylbutyl phthalate*); BPA – bisfenol A (ang. *bisphenol A*); DBP – ftalan dibutyli (ang. *di-n-butyl phthalate*); DEHP – ftalan di-2-etyloheksylu (ang. *di-(2-ethylhexyl) phthalate*); FSH – hormon folikulotropowy (ang. *follicle-stimulating hormone*); 3- β -HSD – dehydrogenaza Δ -5-3- β -hydroksysteroidowa (ang. *3- β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ -5-4 isomerase*); NP – nonylofenol (ang. *nonylphenol*); PCV – polichlorek winylu (ang. *polyvinyl chloride*); WWF – Światowy Fundusz na Rzecz Przyrody (ang. *World Wide Fund for Nature*)

Parametry seminologiczne współczesnego mężczyzny

W latach 90. minionego stulecia w czasopismach naukowych zaczęły pojawiać się doniesienia dotyczące obniżenia potencjału rozrodczego mężczyzn. Na podstawie analizy 61 publikacji, które ukazały się pomiędzy 1938 a 1990 rokiem i obejmowały dane dotyczące 14 947 mężczyzn, *Carlsen i wsp.* (1992) stwierdzili, że w ciągu 50-lecia średnia liczebność plemników w 1 mL nasienia zmniejszyła się ze 113 mln w 1940 r. do 66 mln w 1990 r. Jednocześnie średnia objętość nasienia zmniejszyła się z 3,40 mL do 2,75 mL. Wyniki te zostały potwierdzone w późniejszych badaniach obejmujących analizę 101 prac opublikowanych w latach 1934–1996 (*Swan i wsp.*, 2000), natomiast najnowsze badania przeprowadzone w Danii i Szwecji nie potwierdziły wcześniejszych wyników co do zmniejszającej się liczebności plemników (*Axelsson i wsp.*, 2011, *Jorgensen i wsp.*, 2012). Pogorszeniu uległa też jakość nasienia – zaobserwowano wzrost częstości występowania zmian morfologicznych plemników i zmniejszoną ich ruchliwość (*Bonde i Giwercman*, 1995; *Carlsen i wsp.*, 1992). W tym samym czasie 2–4-krotnie wzrosła zachorowalność mężczyzn na nowotwory, takie jak rak jąder i rak prostaty (*Boyle i wsp.*, 1987). Ponadto, dwukrotnie częściej rodzą się chłopcy, u których stwierdza się wady narządów płciowych, takie jak wnętrostwo i spodziectwo (*Bonde i Giwercman*, 1995; *Carlsen i wsp.*, 1992). Zjawisko zmniejszającej się liczby plemników w nasieniu współczesnych mężczyzn, przy pogarszającej się równocześnie jego jakości, powoduje zmniejszenie szans reprodukcji. Stanowi to istotny problem z punktu widzenia zdrowia publicznego i jest prawdopodobnie jedną z przyczyn ujemnego przyrostu naturalnego w wielu krajach Europy.

Mechanizm działania estrogenów i ksenoestrogenów

Człowiek narażony jest na działanie naturalnych i syntetycznych związków chemicznych. Wśród nich ważną rolę odgrywają związki estrogenopodobne (ksenoestrogeny). Są to związki pochodzenia egzogenne o niejednorodnej strukturze chemicznej, które wykazują zdolność interakcji z układem hormonalnym i modulowania jego czynności w sposób charakterystyczny dla estrogenów, i które wykazują również działanie antyandrogenne (*Pfleger-Bruss i wsp.*, 2004; *Słowikowska-Hilczer*, 2006; *Toft i wsp.*, 2004). W piśmiennictwie angielskim ksenoestrogeny zaliczane

są do grupy związków zwanych *endocrine disruptor* lub *endocrine disrupting compounds*. W języku polskim nazywane są one najczęściej „modulatorami hormonalnymi” lub „pseudohormonami” (*Słowikowska-Hilczer i wsp.*, 2013). Ksenoestrogenami są niektóre farmaceutyki (np. środki antykoncepcyjne), metale (np. aluminium, kadm, miedź), parabeny używane jako konserwanty w kosmetykach, detergenty oraz związki używane do utwardzania plastików, np. bisfenol A, ftalany (*Langauer-Lewowicka i Pawlas*, 2015; *Markey i wsp.*, 2002; *Soto i wsp.*, 1995; *Woźniak i Murias*, 2008).

Ksenoestrogeny dostają się do organizmu człowieka i innych ssaków przede wszystkim drogą pokarmową. Migrują one z opakowań do żywności i napojów, szczególnie po podgrzaniu. Rzadszą, ale bardzo toksyczną drogą narażenia jest inhalacja. Ponadto, ksenoestrogeny mogą wnikać do organizmu przez skórę oraz dostawać się bezpośrednio do krwioobiegu, przedostając się z produktów medycznych podczas przeprowadzanych procedur. Charakteryzują się lipofilnością, która ułatwia znacznie pokonywanie błon biologicznych i wnikanie do wnętrza komórek oraz akumulację w tkance tłuszczowej. Właściwość ta umożliwia również pokonanie zarówno bariery łożyskowej, jak i bariery krew–mózg, dlatego ksenoestrogeny oddziałują na rozwijające się organizmy już od najwcześniejszych etapów życia (*Latini i wsp.*, 2004; *Swan i wsp.*, 2005; *Szychowski i Wojtowicz*, 2013).

W organizmie kobiety estrogeny odpowiedzialne są m.in. za kształtowanie narządów płciowych i piersi, rozwój drugo- i trzeciorzędowych cech płciowych, regulują cykl miesięczkowy, gospodarkę wapniową i lipidową, wpływają na zwiększanie syntezy białek wiążących hormony tarczycy i nadnerczy oraz fibrynogenu, a także zwiększają krzepliwość krwi i pobudliwość mięśni gładkich (*Frye*, 2009; *Świtalska i Strzdała*, 2007). Hormony żeńskie, głównie estradiol, występują również w organizmie mężczyzny. Estrogeny powstają z androgenów dzięki aktywności enzymu aromatazy¹. Obecność receptorów estrogenowych i aromatazy stwierdzono w układzie rozrodczym, sercowo-naczyniowym, tkance tłuszczowej, komórkach mięśniowych, mózgu, kościach i płucach samców. Estrogeny wytwarzane są w nadnerczach, wątrobie, gruczołach sutkowych i włosach oraz w gonadzie męskiej. W mózgu samców oprócz receptorów dla testosteronu występują receptory dla estrogenów oraz enzym aromataza. Estrogeny pełnią ważną fizjologiczną rolę w męskim układzie rozrodczym, odpowiadają za

1 Aromataza cytochromu P450 kodowana przez gen CYP19 (przyp. red)

prawidłowy rozwój układu rozrodczego w prenatalnym okresie życia. Fizjologiczne działanie estradiolu polega na współdziałaniu z hormonem folikulotropowym (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*) przy dojrzewaniu kanalików jądra oraz zapoczątkowaniu spermatogenezy. W okresie dojrzewania płciowego są odpowiedzialne za rozpoczęcie spermatogenezy, a następnie za utrzymanie jej efektywności w całym okresie dojrzałości płciowej poprzez wpływ na funkcjonowanie komórek Leydiga, komórek Sertoliego oraz komórek plemnikotwórczych. Hormony żeńskie odpowiadają także za resorpcję wody przez kanaliky odprowadzające oraz komórki nabłonka najądrza, wpływając w ten sposób na zagęszczenie plemników, a także na kapacytację i reakcję akrosomalną plemników oraz ich przeżywalność. Ponadto, estrogeny wpływają na pobudzanie wzrostu i mineralizacji kości, hamowanie wzrostu kości długich w końcowym okresie dojrzewania płciowego, przeciwdziałanie rozwojowi otyłości brzusznej i rozwój zaburzeń lipidowych oraz mają działanie kardioprotekcyjne (Bilińska i wsp., 2001, 2006; Hejmej i wsp., 2013; Filipiak i wsp., 2012; Kula i wsp., 2001, 2004; O'Donnell i wsp., 2001; Walczak-Jędrzejowska i Kula, 2013).

Żeńskie hormony płciowe mogą wpływać bezpośrednio lub pośrednio na ekspresję genów za pomocą jądrowych receptorów estrogenowych α i β oraz oddziaływać na komórkę poprzez receptory estrogenowe obecne w rejonie błony komórkowej (działanie niegenomowe). Estrogeny i ksenoestrogeny mogą wywierać wpływ tylko na komórki zaopatrzone w receptory estrogenowe. Najdokładniej poznane działanie estrogenów polega na regulacji ekspresji określonych genów. Połączenie hormonu z receptorem estrogenowym powoduje jego fosforylację, zmianę konformacji i łączenie się z określonym rejonem DNA. Kompleks estrogen-receptor stanowi czynnik transkrypcyjny i nasila lub hamuje ekspresję genów. Może także stymulować produkcję innych czynników transkrypcyjnych wpływających na transkrypcję niektórych genów (Diel, 2002; Switalska i Strzagała, 2007).

Jednym z najpowszechniejszych mechanizmów działania ksenoestrogenów jest mimikra hormonalna. Podobieństwo strukturalne ksenoestrogenów szczególnie do steroidowych hormonów płciowych powoduje, że łatwo wiążą się one z receptorami estrogenów, a także

androgenów, najprawdopodobniej na zasadzie mechanizmu kompetycyjnego (ligand o podobnej do estradiolu budowie chemicznej łączy się z receptorem estrogenowym i działa jako jego antagonist, aktywując receptor). Ksenoestrogeny mogą także blokować receptory estrogenowe lub za pośrednictwem receptora hamować oddziaływanie naturalnych hormonów, wpływać na syntezę, rozpad lub eliminację z ustroju hormonów, na biodostępność hormonów, np. poprzez ograniczenie stężenia białka wiążącego hormony płciowe, mogą też wpływać bezpośrednio na ekspresję genów w DNA. Ponadto, mogą zaburzać gospodarkę hormonalną oraz oddziaływać na aktywność podwzgórza lub przysadki mózgowej (Sharpe, 2006). W gonadach ksenoestrogeny m.in. zaburzają aktywność dehydrogenazy Δ -5-3- β -hydroksysteroidowej (3 β -HSD, ang. *3- β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ -5-4 isomerase*) i sekrecję hormonów steroidowych, lokalizację i ekspresję ER α w komórkach Leydiga, ekspresję receptora androgenowego i innych białek w gonadzie, modulują reakcję akrosomalną (Hejmej i wsp., 2011; Kotula-Balak i wsp., 2011, 2013, 2014).

Powszechne narażenie na ksenoestrogeny, uważane za jedną z przyczyn zmniejszającej się objętości nasienia oraz pogarszającej się jego jakości, może prowadzić do niepłodności i przyczyniać się do zwiększenia częstości występowania wad wrodzonych męskich narządów rozrodczych (Carlsen i wsp., 1992; Rajpert-DeMeyts, 2006; Sharpe i wsp., 1995; Sharpe, 2001; Słowikowska-Hilczner, 2006). Danych na temat wpływu ksenoestrogenów na męski układ rozrodczy dostarczają głównie badania na zwierzętach doświadczalnych. Omówione zostanie działanie ftalanów butylobenzylu (BBP, ang. *benzylbutyl phthalate*), dibutyli (DBP, ang. *di-n-butyl phthalate*) i di-2-etyloheksylu (DEHP, ang. *di-2(2-ethylhexyl) phthalate*) oraz nonylofenolu (NP, ang. *nonylphenol*) i bisfenolu A (BPA, ang. *bisphenol A*). Wyniki podsumowano w tabeli 1.

■ Ftalan butylobenzylu

Ftalan butylobenzylu jest cieczą oleistą, przezroczystą, o słabym zapachu, stosowaną przede wszystkim jako plastifikator przy produkcji wyrobów zawierających polichlorek winylu (PCW, ang. *polyvinyl chloride*). Budowę chemiczną BBP przedstawiono na rycinie 1. Ftalan ten

Tabela 1. Wpływ ksenoestrogenów na zwierzęta doświadczalne

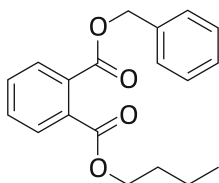
Nazwa związku	Drogi narażenia	Skutki narażania samców	Skutki narażania samic podczas ciąży i laktacji	Skutki narażania samców przed kojarzeniem
Ftalan butylobenzylu (BBP)	Inhalacja, droga pokarmowa	Zmniejszenie masy jąder, najądrzy i prostaty; zmniejszenie liczby i pogorszenie jakości (głównie morfologii) plemników	Wpływa toksycznie na zarodki i płody (śmierć przed implantacją lub po implantacji); zmniejszenie wielkości miotów i ciężaru osesków, zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy oraz odległości anogenitalnej; zwiększenie częstości występowania nieprawidłowości w budowie narządów rozrodczych potomstwa, zmniejszenie liczby plemników, ich ruchliwości oraz zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej budowie; zaburzenia w produkcji testosteronu u dojrzałych samców pokolenia F1; zmiany histopatologiczne w budowie kanalików nasiennych i komórek Leydiga; opóźnienie w osiągnięciu dojrzałości płciowej pokolenia F1	Zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy oraz zmiany histopatologiczne w budowie kanalików nasiennych i komórek Leydiga; zmniejszenie odległości anogenitalnej u samców pokolenia F2

Ftalan dibutyli (DBP)	Inhalacja, przez skórę	Zaburzenia procesów różnicowania i rozwoju tkanek androgenozależnych; niedorozwój lub opóźniony rozwój gonad, zmniejszenie masy jąder i najądrzy; zmiany patologiczne i biochemiczne w jądrach, martwica nabłonka kanalików nasiennych; obniżenie zdolności rozrodczych; zmiany w strukturze i funkcji najądrzy; hypospermia; zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej budowie	Zaburzenia w ekspresji genów wpływających na rozwój organów androgenozależnych, prowadzące do nieprawidłowego rozwoju organów reprodukcyjnych; redukcja liczby zarodkowych komórek płciowych oraz ograniczenie ich różnicowania; zmiany teratogenne; redukcja ciężaru ciała i organów reprodukcyjnych; zaburzenia organogenezy jąder; wnetrostwo; spodziectwo; zmniejszenie liczebności plemników, ich żywotności i ruchliwości oraz zwiększenie liczby gamet o nieprawidłowej budowie i produkcji testosteronu u potomstwa; zaburzenia metabolizmu hormonów steroidowych w pokoleniu F1; opóźnienie w osiągnięciu dojrzałości płciowej; zmniejszenie odległości anogenitalnej u samców pokolenia F1; opóźnienie we wzroście młodych oraz zaburzenie stosunku płci u potomstwa	Opóźnienie we wzroście i rozwoju młodych; zaburzenie stosunku płci u potomstwa; opóźnienie w otwarciu pochwy u samic pokolenia F1; zwiększenie częstości występowania plemników o nieprawidłowej morfologii w pokoleniu F1
Ftalan di-2-etyloheksylu (DEHP)	Droga pokarmowa, inhalacja, poprzez krew	Zaburzenia ekspresji genów związanych z rozwojem jąder i syntezą hormonów sterydowych; dysfunkcja i zmiany morfologiczne komórek Sertoliego; zaburzenia w rozwoju i różnicowaniu kolejnych stadiów rozwojowych gamet męskich; progresywna degeneracja spermatocytów i spermatyd; nekroza spermatogoniów oraz usuwanie spermatocytów i spermatyd ze światła kanalików nasiennych; zanik spermatogenezy; atrofia jąder; zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy oraz produkcji testosteronu i nasienia; zmiany histopatologiczne w jądrach; zmniejszenie ruchliwości i zmiany w budowie gamet; mutacje DNA komórek gonady; w przypadku narażania zwierząt niedojrzałych płciowo, opóźnienie w osiągnięciu dojrzałości płciowej oraz zmniejszenie ciężaru tkanek androgenozależnych	Redukcja wielkości miotów; zmniejszenie liczby żywych płodów; zwiększona śmiertelność postnatalna potomstwa; zmniejszenie ciężaru jąder; redukcja liczby plemników i pogorszenie ich jakości (zmniejszona ruchliwość, zwiększony odsetek gamet o nieprawidłowej budowie) w pokoleniach F1–F4; zwiększenie częstości występowania wad w układzie rozrodczym oraz nieprawidłowości w rozwoju seksualnym samców; wnetrostwo u potomstwa; zmniejszenie odległości anogenitalnej	Redukcja wielkości miotów; zwiększenie częstości braku ciąży u samic kojarzonych z samcami narażanymi; zwiększenie częstości występowania płodów martwych oraz zmniejszenie liczby płodów żywych w miotach; zwiększona śmiertelność postnatalna u potomstwa; występowanie zewnętrznych wad rozwojowych oraz wad w budowie szkieletu; opóźnienie w zstąpieniu jąder samców pokolenia F1
Nonylofenol (NP)	Droga pokarmowa, inhalacja, przez skórę	Toksyczne działanie na gonady męskie, zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy, zmniejszona produkcja komórek płciowych, zmniejszona żywotność gamet oraz pogorszenie ich jakości (zmniejszona ruchliwość i zwiększona częstość występowania plemników o nieprawidłowej morfologii); uszkodzenie akrosomów; opóźnienie reakcji akrosomalnej; apoptoza gamet męskich i komórek Sertoliego; zwiększona częstość pęknięcia nici DNA w haploidalnych komórkach płciowych; zmniejszona produkcja testosteronu; w przypadku narażania zwierząt niedojrzałych płciowo, opóźnienie w osiągnięciu przez nie dojrzałości płciowej; zaburzenia w funkcjonowaniu jąder i w procesie spermatogenezy, zmniejszona liczebność gamet i zmiany histopatologiczne w jądrach	Zmniejszenie liczby żywych płodów w miotach; zwiększona śmiertelność okołoporodowa płodów płci męskiej; zmniejszenie ciężaru jąder, najądrzy i prostaty, stężenia testosteronu w osoczu krwi oraz nasienia w najądrzach potomstwa; zmiany histopatologiczne w jądrach; zaburzenia przebiegu spermatogenezy	Zmniejszeniem częstości zachodzenia w ciążę przez samice kojarzone z narażanymi samcami; redukcja ciężaru narządów płciowych u potomstwa F1; zmniejszenie wielkości miotów w pokoleniu F2;
Bisfenol A (BPA)	Droga pokarmowa, inhalacja, przez skórę	Obniżenie ciężaru jąder i najądrzy; zmniejszenie liczebności gamet męskich; zwiększenie częstości występowania nieprawidłowości w budowie plemników, zmniejszenie ich ruchliwości; zwiększenie częstości pęknięcia nici DNA w haploidalnych komórkach płciowych samców; zmiany histopatologiczne w jądrach; większa wrażliwość zwierząt niedojrzałych płciowo	Zwiększenie odległości anogenitalnej, powiększenie prostaty; zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy, produkcji testosteronu, liczby plemników oraz obniżenie ich jakości (zmniejszenie ruchliwości gamet, i zwiększenie częstości występowania plemników o nieprawidłowej budowie); zmiany histopatologiczne w jądrach samców pokolenia F1; zmniejszona ekspresja genów związanych z funkcjonowaniem komórek Sertoliego; zwiększenie częstości występowania nowotworów u potomstwa po osiągnięciu dorosłości	Zmniejszona częstość zachodzenia w ciążę przez samice kojarzone z samcami narażanymi; zmniejszenie wielkości miotów, zmniejszenie liczby żywych płodów, zwiększona częstość dominujących mutacji letalnych; zwiększenie śmiertelności postnatalnej; wolniejsze przybieranie na wagę potomstwa; obniżona ruchliwość gamet w pokoleniu F1

Table 1: The effects of xenoestrogens exposure on laboratory animals

The name of compound	The routes of exposure	The effects in exposed males	The effects of exposure during pregnancy and lactation	The effects of preconceptional exposure of males
Benzylbutyl phthalate (BBP)	Inhalation, consumption	Reduction of testis, epididymis and prostate weights; diminished count and quality (mainly morphology) of spermatozoa	Toxic for embryos and fetuses (pre- and postimplantation deaths); reduced litter size and newborn body weight, decreased testis and epididymis weights, decreased anogenital distance; increased frequency of abnormality in genitals of the offspring, decrease in sperm cell count and sperm motility, increase in percentage of abnormal sperm cells; disorders in testosterone production of adult F1 males; histopathological changes in the structure of seminiferous tubules and Leydig cells; delayed sexual maturity of F1 generation	Reduced testis and epididymis weights; histopathological changes in the structure of seminal tubules and Leydig cells; decreased anogenital distance in males F2 generation
Di-n-butyl phthalate (DBP)	Inhalation, through the skin	Disturbances in processes of differentiation and development of androgen-dependent tissues; hypoplasia or delayed development of gonads, reduced testis and epididymis weights; pathological and biochemical changes in testis, necrosis of seminiferous tubules; decreased reproductive ability; changes of structure and function of epididymis; hypospermia; increased percent of abnormal spermatozoa	Disturbances in expression of genes, which affect the development of androgen-dependent tissues, leading to abnormal development of genitals; reduction of the number of embryos germ cells and limitation of their differentiation; teratogenic changes; reduction of body and sexual organs weights; disturbances in organogenesis of testis; cryptorchidism; hypospadias; decrease in sperm cell count, sperm viability and motility; increase in frequency of morphologically abnormal gametes, and testosterone production in the offspring; disturbances in the metabolism of steroid hormones in F1 generation; delayed sexual maturity; decreased anogenital distance in males of F1 generation; growth-retardation and disturbances in sex ratio of the offspring	Growth retardation and delayed development in the offspring; disturbances in sex ratio of the offspring; delayed vaginal opening in females of F1 generation; increase in frequency of abnormal spermatozoa in F1 generation

Di-(2-ethylheksyl) phtalate (DEHP)	Consumption, inhalation, through the blood	Disturbances in expression of genes connected with development of testis and steroid hormones synthesis; dysfunction and morphological changes of Sertoli cells; disturbances in the development and differentiation of consecutive stages of spermatogenesis; progressive degeneration of spermatocytes and spermatids; necrosis of spermatogonia, removal of spermatocytes and spermatids from lumen of seminal tubules; atrophy of spermatogenesis and testis; decrease of testis and epididymis weights, and testosterone and semen production; histopathological changes in testes; decrease in motility and changes in morphology of gametes; DNA mutations in cells of gonads; in case of exposure of sexual immature animals, delayed sexual maturity and reduced weight of androgen-dependent tissues	Reduced litter size and number of live fetuses; increased postnatal mortality of the offspring; reduced testis weight; diminished sperm count and quality (reduced mobility and increased percent of morphologically abnormal spermatozoa) in F1-F4 generations; increase in frequency of defects of reproductive system and abnormality in sexual development of males; cryptorchidism in the offspring; decreased anogenital distance	Reduced litter size; increased frequency of unpregnant females among mated with exposed males; increase in frequency of dead fetuses and decreased number of live fetuses in litters; increased postnatal mortality of the offspring; enhanced frequency of gross and skeletal malformations; delayed testes descent in males of F1 generation
Nonylphenol (NP)	Consumption, inhalation, through the skin	Toxic effects in males, reduction of testis and epididymis weights, decrease in sperm production, reduced viability of gametes and their deteriorated quality (reduced motility and increase in frequency of morphologically abnormal spermatozoa); damages of acrosomes; delayed acrosomal reaction; apoptosis of male gametes and Sertoli cells; increase in frequency of breakage of DNA strands in haploid germ cells; reduced production of testosterone; in case of exposure of sexual immature animals, delayed sexual maturity, disorders of testis function and in process of spermatogenesis, reduced number of gametes and histopathological changes in testes	Reduced number of live fetuses in litters; increased perinatal mortality of male fetuses; reduction of testis, epididymis and prostate weights, decreased concentration of testosterone in plasma and semen in epididymis of the offspring; histopathological changes in testes; disorders in course of spermatogenesis	Reduced frequency of pregnant females mated to exposed males; reduced weight of genitals of F1 generation; reduced litter size in F2 generation
Bisfenol A	Consumption, inhalation, through the skin	Reduction of testis and epididymis weights; decrease in male gamete count; increase in frequency of abnormal spermatozoa, reduced sperm motility; enhanced frequency of DNA strand breaks in haploid male germ cells; histopathological changes in testes; enhanced sensitivity of sexual immature animals	Increased anogenital distance and size of prostate; decreased testis and epididymis weights, and testosterone production, diminished semen concentration and quality (reduced motility and increase in frequency of morphologically abnormal spermatozoa); histopathological changes in testes of F1 males; reduced expression of genes connected with Sertoli cell function; increase in frequency of cancers in the offspring during adulthood	Reduced frequency of pregnant females mated to exposed males; reduced litters size, decrease in number of live fetuses, increase in frequency of dominant lethal mutations; increased postnatal deaths; slower increase of body weight of the newborn offspring; reduced motility of gametes F1 generation



Ryc. 1. Budowa chemiczna ftalanu butylobenzylu

Fig. 1. Chemical structure of benzylbutyl phthalate

może wchodzić w skład takich wyrobów jak winylowe wykładziny podłogowe, pokrycia dachowe, obicia tapicerskie, przylepce i uszczelniacze, skóra syntetyczna, plastikowe opakowania do żywności, zabawki, rozpuszczalniki przemysłowe, artykuły pielęgnacyjne i kosmetyki (Hauser i Calafat, 2005).

Narażenie na BBP podczas pracy zawodowej związane jest przede wszystkim z inhalacją ftalanu. Oszacowane, że stężenie BBP w powietrzu podczas produkcji ftalanów wynosi 1 mg/m^3 , a podczas produkcji PCW 2 mg/m^3 , co odpowiada narażeniu pracownika odpowiednio na dawki $143 \text{ } \mu\text{g/kg/masy ciała/dzień}$ (produkcja ftalanów) i $286 \text{ } \mu\text{g/kg/masy ciała/dzień}$ (produkcja PCW) (RAR, 2004). Narażenie populacji generalnej, związane z występowaniem BBP w produktach codziennego użytku, następuje głównie za pośrednictwem wody do picia, żywności i kurzu domowego. Badania Federalnego Urzędu Ochrony Środowiska wykazały średnią obecność $48 \text{ mg BBP na kg kurzu domowego}$ (Nagorka i wsp., 2010). Dzielne narażenie osób dorosłych na BBP szacowane jest na $2 \text{ } \mu\text{g/kg masy ciała}$, a narażenie

dzieci może być nawet 3-krotnie wyższe (Kavlock i wsp., 2002). Badania przeprowadzone na populacji Hong-Kongu wykazały $0,82\text{--}1,97 \text{ ng}$ (średnio $1,30 \text{ ng}$) BBP w mL surowicy krwi, przy czym poziomy te były wyższe u osób poniżej 40. r.ż. (Wan i wsp., 2013). Stężenie metabolitów BBP w moczu ciężarnych kobiet z Tajwanu wynosiło od poniżej $0,25\text{--}55 \text{ } \mu\text{g/L}$ (średnia $1,23 \text{ } \mu\text{g/L}$), u ich 2-letnich dzieci średnio $3,86 \text{ } \mu\text{g/L}$, a u dzieci 5-letnich $3,66 \text{ } \mu\text{g/L}$ (Lin i wsp., 2011).

Podawanie dorosłym szczurom w diecie 2,5% (v/v) lub 5% (v/v) BBP przez 14 dni wpływa na zmniejszenie masy ich jąder i najądrzy (Agarwal i wsp., 1985). Długotrwałe narażenie (4–25 tygodni) szczurów powoduje zmniejszenie masy jąder, najądrzy i prostaty oraz zmniejszenie liczby plemników (Li i wsp., 2004; NTP, 1997). Narażanie samców myszy na BBP przez jeden pełny cykl spermatogenezy przyczynia się do nieznaczniejszego zmniejszenia liczebności oraz istotnego pogorszenia jakości gamet, przejawiającego się znacznym zwiększeniem odsetka plemników o nieprawidłowej budowie (Tyrkiel i wsp., 2007).

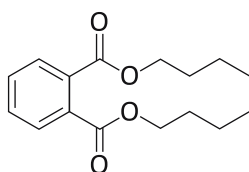
Podawanie BBP ciężarnym samicom szczura wpływa toksycznie na zarodki i płody, prowadząc do ich śmierci przed implantacją lub po niej. Obserwowano także zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy oraz odległości anogenitalnej (odległość odbytu od narządów płciowych), jak również zwiększenie częstości występowania nieprawidłowości w budowie narządów rozrodczych (Ahmad i wsp., 2014; Ema i Miyawaki, 2002; Ema i wsp., 1998; Nagao i wsp., 2000). Narażanie samic szczura Wistar na BBP w dawkach 500 i 1000 mg/kg/dzień od 15. do 17. dnia

ciężar powoduje zmniejszenie wielkości miotów oraz wpływa niekorzystnie na rozwój układu rozrodczego samców potomnych, powodując wnetrostwo i zmniejszenie odległości anogenitalnej u samców pokolenia F1 (*Ema i Miyawaki*, 2002). Ekspozycja samic szczurów na BBP od 14. dnia do końca ciąży indukuje zmniejszenie ciężaru ciała płodów bezpośrednio po urodzeniu oraz w 21. dniu życia. Ponadto, po zastosowaniu *in utero* BBP w dawce 100 mg/kg odnotowano zmniejszenie ciężaru organów reprodukcyjnych, liczby plemników i ich ruchliwości oraz zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej morfologii oraz wzmożoną produkcję testosteronu u dojrzałych płciowo samców pokolenia F1 (*Ahmad i wsp.*, 2014).

Ftalan butylobenzylu podawany samicom gryzoni podczas ciąży i laktacji może działać jako antyandrogen, powodując zmniejszenie produkcji testosteronu u płodów płci męskiej, co prowadzi do deformacji zewnętrznych narządów płciowych, degeneracji kanalików nasiennych i zmniejszenia produkcji nasienia (*Gray i wsp.*, 2000; *Sharpe*, 2001). U potomstwa F1 szczurów, którym podawano BBP przed kojarzeniem oraz podczas ciąży, stwierdzono zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy oraz zmiany histopatologiczne w budowie kanalików nasiennych i komórek Leydiga, szczególnie po zastosowaniu najwyższej dawki – 400 mg/kg mc/dzień, natomiast u samców pokolenia F2 obserwowano zmniejszenie odległości anogenitalnej (*Aso i wsp.*, 2005). Z kolei narażenie na BBP w okresie perinatalnym powoduje także zmniejszenie masy jąder i liczby plemników, jak również opóźnienie dojrzałości płciowej samców (*Ashby i wsp.*, 1997; *Nagao i wsp.*, 2000; *Piersma i wsp.*, 2000; *Tyl i wsp.*, 2004).

Ftalan dibutyłu

Ftalan dibutyłu (ester butylowy kwasu ftalowego) to bezbarwna lub biaława ciecz o słabym zapachu przypominającym eter oraz wyrazistym gorzkim smaku. Budowę chemiczną DBP przedstawiono na rycinie 2. Używany jest jako plastyfikator PCW, do impregnacji tekstyliów oraz jako rozpuszczalnik do farb i jako środek przeciwpieniący. Obecność DBP można stwierdzić w wyrobach plastikowych, kontenerach do przechowywania żywności, tuszach drukarskich, klejach, tkaninach impregnowanych, w produktach higieny osobistej, kosmetykach i środkach do pielęgnacji paznokci (*CIRC*, 1985). Obecność DBP w ilości 444,567– 1671,139 µg/mL stwierdzono



Ryc. 2. Budowa chemiczna ftalanu dibutyłu
Fig. 2. Chemical structure of di-n-butyl phthalate

w 19 z 21 lakierów do paznokci oraz 11 z 42 próbek perfum (*Koo i Lee*, 2004).

Stężenie DBP w wodach powierzchniowych Stanów Zjednoczonych Ameryki oraz Europy wynosi 0,01–622,9 µg/dm³ (*Wypych*, 2004). Na podstawie badań przeprowadzonych w różnych europejskich zakładach pracy wykazano, że stężenie DBP na większości stanowisk pracy przy produkcji tego ftalanu nie przekracza 0,5 mg/m³, jakkolwiek na niektórych było nawet 10-krotnie wyższe. Stężenia DBP podczas wytwarzania produktów zawierających ten związek wnosilo 0,19–0,75 mg/m³ przy produkcji; < 0,008 mg/m³ przy produkcji polimerów; < 0,03 mg/m³ przy produkcji polimerów dla przemysłu dekarckiego (*RAR*, 2004). Obecność DBP w ilości 36–50 mg/kg wykazano także w kurzu domowym (*Heudorf i wsp.*, 2007; *Nagorka i wsp.*, 2010). Narażenie zawodowe (przede wszystkim inhalacja oraz w mniejszym stopniu kontakt ze skórą) oszacowano na ok. 143 µg/kg masy ciała/dzień, a narażenie populacji generalnej (przede wszystkim droga pokarmowa) na 2–10 µg/kg masy ciała/dzień (*NTP-CERHR*, 2003).

W badaniu Światowego Funduszu na Rzecz Przyrody (WWF, ang. *World Wide Fund for Nature*) średnie stężenie DBP we krwi polskich uczestników wynosiło 23,4 ng/g (*Struciński i wsp.*, 2006). Z kolei w surowicy krwi mieszkańców Hong-Kongu stwierdzono 0,77–12,50 ng (średnio 4,19 ng) DBP w mL (*Wan i wsp.*, 2013). Badania chińskie wykazały średnio 7,67 mg/L DBP we krwi matek oraz 5,71 mg/L w krwi pępowinowej (*Lin i wsp.*, 2008). W innych badaniach przeprowadzonych w Chinach stwierdzono u kobiet po odbytych porodach DBP w stężeniu średnio 84,75 µg/mL we krwi żyłnej, 52,23 µg/mL we krwi pępowinowej, 57,78 µg/mL w mleku oraz 24,93 µg/mL w moczu (*Chen i wsp.*, 2008). Stężenie metabolitów DBP w moczu ciężarnych kobiet z Tajwanu wynosiło 1,02–269 µg/L, u dzieci 2-letnich 3,31–252,69 µg/L, a u 5-letnich 4,16–165 µg/L (*Lin i wsp.*, 2011).

W badaniach na zwierzętach wykazano, że DBP wpływa szczególnie toksycznie na reprodukcję samców, ponieważ powoduje zaburzenia procesów różnicowania i rozwoju tkanek androgenozależnych, prowadząc do niedorozwoju gonad męskich, martwicy nabłonka kanalików nasiennych, a w konsekwencji do obniżenia zdolności rozrodczych (*Barlow i wsp.*, 2004; *Gray i wsp.*, 2000; *Kavlock i wsp.*, 2002; *Mylchreest i wsp.*, 1998). Podawanie DBP dorosłym gryzoniom powoduje występowanie zmian patologicznych i biochemicznych w jądrach, zmniejszenie masy jąder i najądrzy oraz hypospermię (*Boekelheide i wsp.*, 2004; *Marsman*, 1995; *Sharpe i wsp.*, 1995). Wykazano, że potencjalnym celem ftalanów, szczególnie DBP, są komórki Sertoliego. Komórki te nie namnażają się po osiągnięciu dojrzałości płciowej, dlatego ich uszkodzenie może w sposób istotny wpływać na zaburzenie procesu spermatogenezy (*Fukuoto i wsp.*, 1989; *Heindel i Chapin*, 1989; *Heindel i Powell*, 1992; *Jobling i wsp.*, 1995). W następstwie podawania DBP samcom myszy przez 8 tygodni obserwowano także pogorszenie jakości

gamet, a w szczególności zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej budowie (Dobrzyńska i wsp., 2009). Jednorazowe podanie DBP 3-tygodniowym szczurom powoduje opóźnienie w dojrzewaniu gamet męskich (Alam i wsp., 2010). Ponadto stwierdzono, że ftalan dibutyłu podawany szczurom indukuje stres oksydacyjny prowadzący do zmian w strukturze i funkcjonowaniu najądrzy (Zhou i wsp., 2011).

Ekspozycja na DBP *in utero* może indukować zaburzenie w ekspresji genów wpływających na rozwój organów androgenozależnych, czego rezultatem jest nieprawidłowy rozwój organów reprodukcyjnych (Kim i wsp., 2010). W badaniach na zwierzętach laboratoryjnych stwierdzono, że DBP działa toksycznie na rozwój gryzoni powodując zmiany teratogenne po zastosowaniu wyższych dawek, przy braku równoczesnego efektu u narażanych samic (Ema i wsp., 1993; Shiota i Nishimura, 1982). Narażenie płodów na DBP za pośrednictwem ciężarnych samic indukuje zaburzenia organogenezy jąder, wnętrstwo, spodziectwo, zmniejszenie liczebności plemników i produkcji testosteronu oraz niepłodność u 60% potomstwa płci męskiej (Fisher i wsp., 2003; McKinnell i wsp., 2005; Mylchreest i wsp., 1998, 2002). Narażanie płodów od 7. do 14. dnia ciąży powoduje u dorosłych zwierząt znaczne zmniejszenie liczebności plemników, ich żywotności i ruchliwości oraz zwiększenie liczby gamet o nieprawidłowej budowie (Giribabu i wsp., 2014). Ftalan dibutyłu powoduje także zmniejszenie produkcji testosteronu oraz zaburzenia metabolizmu hormonów steroidowych w pokoleniu F1 (Ahmad i wsp., 2014; Giribabu i wsp., 2014; Hirosawa i wsp., 2006; Kim i wsp., 2010; Lehmann i wsp., 2004; Xiao-feng i wsp., 2009). U potomstwa samic szczurów, którym podawano DBP od 14. dnia do końca ciąży, obserwowano w okresie postnatalnym zmniejszenie ciężaru ciała. W dawce co najmniej DBP 50 mg/kg indukuje zmniejszenie ciężaru organów reprodukcyjnych, liczby plemników i ich ruchliwości oraz zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej budowie u dojrzałych płciowo samców pokolenia F1 (Ahmad i wsp., 2014). Podawanie ciężarnym samicom szczura DBP w okresie bezpośrednio poprzedzającym różnicowanie się jąder wpływa na znaczną redukcję liczby zarodkowych komórek płciowych oraz ograniczenie ich różnicowania (Jobling i wsp., 2011).

Narażenie płodów *in utero* lub noworodków zwierząt laboratoryjnych na DBP powoduje nieprawidłowy rozwój układu rozrodczego oraz zmniejszenie produkcji i ruchliwości gamet, a także zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej morfologii u dorosłych zwierząt (Ahmad i wsp., 2014; Auharek i wsp., 2010; Jeng i Yu, 2008; Kim i wsp., 2004; Kleymentova i wsp., 2005; Mahood i wsp., 2007; Wang i wsp., 2005; Working i wsp., 1985; Zhang i wsp., 2004). Badania Colborn i Clement (1992) oraz Wine i wsp. (1997) wykazały, że DBP może w większym stopniu wpływać na niepłodność i pogorszenie jakości gamet u potomstwa niż u zwierząt, którym podawano ftalan. Niższa liczebność plemników oraz ich obniżona jakość może być

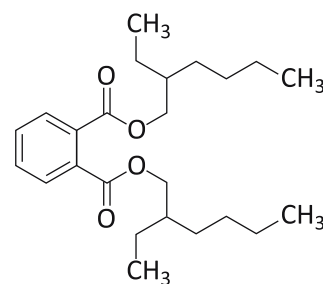
spowodowana zaburzeniami w przebiegu procesu spermatogenezy indukowanymi przez ftalany (Ahmad i wsp., 2014).

Lee i wsp. (2004) wykazali niewielkie opóźnienie w osiąganiu dojrzałości płciowej u szczurów narażanych na DBP podczas ciąży i laktacji. Podawanie DBP samicom szczura w ostatnim trymestrze ciąży powoduje opóźnienia zstąpienia jąder u samców pokolenia F1 (Ema i wsp., 2000). Z kolei narażenie na DBP w dawkach 250–500 mg/kg m.c. podczas ciąży i laktacji powoduje zmniejszenie odległości anogenitalnej u samców pokolenia F1 (Zhang i wsp., 2004). Podawanie DBP w dawce 500 mg/kg m.c. przez 8 tygodni samcom myszy pokolenia F0 nie wpływa na obniżenie ich płodności, powodując jednocześnie opóźnienie we wzroście młodych oraz zaburzenie stosunku płci u potomstwa (rodziło się dwukrotnie więcej samców niż samic). Ponadto, narażenie samców przed kojarzeniem z samicami indukuje 2,5-dniowe opóźnienie w otwarciu pochwy u samic pokolenia F1. Ftalan dibutyłu podawany samcom pokolenia F0 w dawce 2000 mg/kg m.c. wpływa na zwiększenie częstości występowania plemników o nieprawidłowej morfologii w pokoleniu ich synów (Dobrzyńska i wsp., 2011).

W badaniach nasienia mężczyzn z par bezpłodnych stwierdzono zależność pomiędzy stężeniem w moczu metabolitu DBP, ftalanu monobutyłowego a liczbą i jakością plemników (Duty i wsp., 2003a, 2003b; Hauser i wsp., 2007). W badaniach *in vitro* nasienia ludzkiego stwierdzono zmniejszenie żywotności i ruchliwości gamet pod wpływem działania DBP (Pant i wsp., 2011).

Ftalan di-2-etyloheksylu

Ftalan di-2-etyloheksylu (ftalan dwu-2-etyloheksylu, ester dwuoktylewowy kwasu 1,2-benzenodwukarboksylowego) jest oleistą cieczą stosowaną w przemyśle chemicznym. Budowę chemiczną DEHP przedstawiono na rycinie 3. Ftalan di-2-etyloheksylu jest najczęściej stosowanym plastyfikatorem (ok. 50% zużycia ftalanów) dla tworzyw sztucznych (PCW, polipropylen, polietylen), farb, mieszanek gumowych, kabli. Stosowany jest również jako modyfikator dla żywic epoksydowych oraz w płynach dielektrycznych i hydraulicznych używanych w kondensatorach. Ftalan ten może wchodzić w skład różnych



Ryc. 3. Budowa chemiczna ftalanu di-2-etyloheksylu
Fig. 3. Chemical structure of di(2-ethylhexyl)phthalate

wyrobów takich jak podłogi, pokrycia dachowe, produkty ze sztucznej skóry, meble i dodatki tapicerskie, plastikowe węże, rury i kabli, obrusy i zasłony prysznicowe, płaszcze i obuwie przeciwdeszczowe, detergenty, kleje, lakiery oraz farby (ATSDR, 2002). Jednym z najważniejszych źródeł narażenia na DEHP są wyroby medyczne (plastikowe zestawy do transfuzji, woreczki do przechowywania krwi, zestawy do intubacji, dializ, maseczki tlenowe, itp.). Ftalan di-2-etyloheksylu jest też istotnym składnikiem opakowań do przechowywania żywności i zabawek dla dzieci (Fauozi i wsp., 1999; Parks i wsp., 2000; U.S. EPA, 1999).

Wartości stężenia DEHP w wodach powierzchniowych wynoszą 0–97,8 µg/L, a w wodach gruntowych 0–5,661 µg/L. W ściekach stwierdzono obecność DEHP w ilości 0,716–400 µg/L, a w glebie 1–264 mg/kg suchej masy (Zolfaghari i wsp., 2014). Stężenie DEHP w powietrzu pomieszczeń mieszkalnych wynosi od poniżej 0,002 µg/L do 5 ng/m³ (Fromme i wsp., 2004), a w halach produkcyjnych ok. 60 ng/m³ (Kim i wsp., 2003). Zawartość DEHP w wodzie do picia, która jest istotnym źródłem tego ftalanu, jest różna w różnych krajach świata, przykładowo w Polsce i Niemczech wynosi 0,05–0,06 µg/L, w Grecji 0,93 µg/L, w USA 0,95 µg/L, a w Chinach 3,47 µg/L (Zolfaghari i wsp., 2014). Dzienną dawkę DEHP pobieraną przez człowieka z żywnością szacuje się na 25 µg (Nakamiya i wsp., 2005). Przykładowo w rybach stężenie DEHP wynosi 129,5–253,9 mg/kg suchej masy (Huang i wsp., 2008). Badania przeprowadzone w krajach europejskich wykazały, że średnie stężenie DEHP w mleku wynosi 12 mg/L, a w serze 2000 mg/L (Sharman i wsp., 1994). Na tej podstawie oszacowano dawkę DEHP przyjmowaną przez niemowlęta z mlekiem matki oraz krowim na 1–10 µg/kg/dzień (Kamrin, 2009). Produkty higieny osobistej, kosmetyki i zabawki powodują narażenie na dawkę 8,2–25,8 µg/kg dziennie (Kavlock i wsp., 2006).

Pozostałości DEHP są wykrywane we krwi i innych tkankach pacjentów poddawanych wielokrotnym transfuzjom krwi lub innym zabiegom medycznym (Fauozi i wsp., 1999; Sjöberg i wsp., 1985). Osoby te mogą otrzymywać znacznie większe dawki DEHP niż populacja generalna, na przykład pacjenci poddawani dializom mogą być narażeni na dawkę 12 g DEHP w ciągu roku (Fauozi i wsp., 1999). Podkreślić należy zagrożenie związane z ekspozycją dzieci na DEHP uwalniający się z zabawek oraz narażenie ciężarnych pacjentek poddawanych dializom i transfuzjom krwi na DEHP będący składnikiem wyrobów medycznych stosowanych w tych procedurach (Parks i wsp., 2000).

Średnie stężenie DEHP w krwi polskich uczestników badania WWF wynosiło 181,1 ng/g krwi (Struciński i wsp., 2006). W surowicy krwi mieszkańców Hong-Kongu stwierdzono 3,15–28,45 ng (średnio 11,13 ng) DEHP w mL (Wan i wsp., 2013). Badania przeprowadzone w Chinach wykazały średnio 8,84 mg/L DEHP w krwi matek oraz 5,20 mg/L w krwi pępowinowej (Lin i wsp., 2008). Stężenie metabolitów DEHP w moczu

ciężarnych kobiet z Tajwanu wynosiło 0,09–859 µg/L, u ich 2-letnich dzieci 1,25–8,81 µg/L, a u dzieci w wieku 5 lat 1,04–1390 µg/L (Lin i wsp., 2011).

Ftalan di-2-etyloheksylu zaburza ekspresję genów związanych z rozwojem jąder i syntezą hormonów steroidowych (Shultz i wsp., 2001; Wong i Gill, 2002). Podobnie jak w przypadku innych ftalanów, głównym celem toksycznego działania DEHP są komórki Sertoliego, których dysfunkcja może prowadzić do zaburzeń w rozwoju i różnicowaniu kolejnych stadiów rozwojowych gamet męskich, a w szczególności do progresywnej degeneracji spermatocytów i spermatyd (Sjöberg i wsp., 1985). Ftalan ten indukuje zmiany morfologiczne komórek Sertoliego, czego rezultatem jest nekroza spermatogoniów oraz usuwanie spermatocytów i spermatyd ze światła kanalików nasiennych (Jones i wsp., 1993; Poon i wsp., 1997). U dorosłych samców szczurów, którym podawano przez 5 dni DEHP w dawkach 1000 mg/kg i 2000 mg/kg/dzień, stwierdzono całkowity zanik spermatogoniów i spermatocytów (Dostal i wsp., 1988).

Badania na zwierzętach laboratoryjnych wykazały, że DEHP działa toksycznie na reprodukcję i rozwój ssaków (DFG, 2002; Kavlock i wsp., 2002). Podawanie DEHP gryzoniom w skrajnych przypadkach prowadzi do zaniku spermatogenezy i atrofii jąder (Ablake i wsp., 2004; Ishihara i wsp., 2000). Narażanie samców dojrzewających płciowo lub dorosłych gryzoni na ten ftalan powoduje zmniejszenie produkcji testosteronu i nasienia oraz ciężaru jąder i najądrzy, indukuje też zmiany patologiczne w jądrach (Agarwal i wsp., 1986; Arcadi i wsp., 1998; ATSDR, 2002; Dobrzyńska i wsp., 2007, 2012; Ishihara i wsp., 2000; Kavlock i wsp., 2002; Kwack i wsp., 2009; Moore i wsp., 2001; Parmar i wsp., 1986; Siddiqui i Srivatsava, 1992). Może powodować również zmniejszenie ruchliwości plemników i zmiany w budowie gamet (Agarwal i wsp., 1986; Dobrzyńska i wsp., 2007, 2012). Myszy, którym podawano DEHP (500 mg/kg/dzień) przez 4 tygodnie, wykazywały 3-krotnie więcej mutacji w DNA komórek gonady niż zwierzęta kontrolne (Huang i wsp., 2012).

Podawanie samcom myszy DEHP od 7. dnia życia prowadzi w 60. dniu życia do pogorszenia jakości i zmniejszenia liczby gamet oraz do zmian histopatologicznych w jądrach. Według Zhang i wsp. (2013) przyczyną tych zjawisk jest spowodowana przez DEHP zmniejszona ekspresja genów *DDx3Y*, *Usp9Y*, *RBM*, *E1F1AY*, *EGF*, *FSHR*, *EGFR*. Redukcję wielkości miotów u gryzoni obserwowano w wyniku podawania DEHP samcom przed kojarzeniem z samicami (Agarwal i wsp., 1986; Dobrzyńska i wsp., 2012), ciężarnym samicom (Moore i wsp., 2001) oraz rodzicom obu płci (Lamb i wsp., 1987).

Prekoncepcyjne narażanie samców niedojrzałych płciowo na DEHP przez 8 tygodni powoduje znaczne zwiększenie częstości braku ciąży u samic kojarzonych z tymi samcami oraz zwiększenie częstości występowania martwych płodów w miotach (Dobrzyńska i wsp., 2012). Z kolei w przypadku ekspozycji samców dorosłych na dawkę 8000 mg/kg m.c./dzień obserwowano

zmniejszenie liczby płodów żywych w miotach (Dobrzyńska i wsp., 2007). Podobnie redukcję liczby płodów żywych w pokoleniu F1 notowano w następstwie podawania DEHP w paszy samcom i samicom myszy (Lamb i wsp., 1987). Inne badania wykazały, że narażenie na DEHP *in utero* i w okresie laktacji indukuje zwiększającą się zależnie od dawki śmiertelność postnatalną potomstwa (Moore i wsp., 2001). Podobne efekty odnotowano w następstwie narażania samców na DEHP w dawkach 2000 i 8000 mg/kg m.c./dzień przez 8 tygodni poprzedzających zapłodnienie (Dobrzyńska i wsp., 2007).

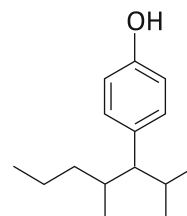
Prenatalne narażenie na DEHP indukuje u płodów widoczne wady rozwojowe oraz wady w budowie szkieletu (Dobrzyńska i wsp., 2012; Gray i wsp., 2000; Hellwig i wsp., 1997; Shiota i wsp., 2005). Podawanie ciężarnym samicom szczura DEHP w dawce co najmniej 1000 mg/kg m.c./dzień powoduje zmniejszenie liczby żywych płodów w miotach, ich ciężaru ciała oraz zwiększenie liczby ww. wad (Gray i wsp., 2000; Hellwig i wsp., 1997; Moore i wsp., 2001). Ponadto u potomstwa myszy narażanych na DEHP od 7. do 14. dnia ciąży stwierdzono w pokoleniach od F1 do F4 redukcję liczby plemników i pogorszenie ich jakości (Doyle i wsp., 2013).

Prekonceptyjne 8-tygodniowe podawanie DEHP dorosłym samcom myszy powoduje znaczne opóźnienie w zstąpieniu jąder samców pokolenia F1 (Dobrzyńska i wsp., 2007). Podobnie, u szczurów narażanych na DEHP podczas ciąży i laktacji obserwowano znaczne zwiększenie częstości występowania wad w układzie rozrodczym oraz nieprawidłowości w rozwoju seksualnym samców (Borch i wsp., 2004; Gray i wsp., 2000; Moore i wsp., 2001; Parks i wsp., 2000). Podawanie ciężarnym samicom metabolitu DEHP i ftalanu monobenzyli może być przyczyną zwiększenia liczby przypadków wnetrostwa u potomstwa (Ema i wsp., 2003). U potomstwa F1 szczurzy narażanych na DEHP podczas ciąży i podczas laktacji stwierdzono zmniejszenie odległości anogenitalnej i liczby plemników oraz pogorszenie ich jakości (Andrade i wsp., 2006; Dalsenter i wsp., 2006; Gray i wsp., 2000; Vo i wsp., 2009). U myszy DEHP redukuje ciężar jąder potomstwa samic narażanych podczas ciąży (Song i wsp., 2009) oraz zmniejsza ruchliwość gamet u potomstwa samców narażanych przez cały okres spermatogenezy (Dobrzyńska i wsp., 2012). Niektóre badania wykazały, że układ rozrodczy samców jest najbardziej wrażliwy na działanie DEHP we wczesnych etapach rozwoju (Gray i Beamand, 1984; Gray i Butterworth, 1980; Moore i wsp., 2001). Noriega i wsp. (2009) wykazali, że podawanie DEHP dojrzewającym samcom szczura Long-Evans i Sprague-Dawley powoduje opóźnienie w osiąganiu dojrzałości płciowej oraz zmniejszenie ciężaru tkanek androgenozależnych. Gonady młodych niedojrzałych płciowo gryzoni są bardziej wrażliwe na uszkodzenia indukowane przez DEHP, a zmiany te mogą być obserwowane po krótszym okresie ekspozycji niż w przypadku dorosłych zwierząt (Dobrzyńska i wsp., 2012; Sjöberg i wsp., 1985). Podobnie jak w badaniach *in vivo*, mysie plemniki, które *in vitro* podawano

działaniu DEHP (1 µg/mL), wykazywały znacznie mniejszą zdolność reprodukcyjną (Huang i wsp., 2012).

Nonylofenol

Nonylofenol jest oleistą bezbarwną cieczą o charakterystycznym zapachu. Jest mieszaniną izomerów zawierających głównie p-nonylfenol. Budowę chemiczną NP przedstawiono na rycinie 4. Nonylofenol używany jest głównie do produkcji niejonowych środków powierzchniowo czynnych oraz żywic epoksydowych i fenolowych. Stosowany jest także jako dodatek do smarów oraz w produkcji chemikaliów rolniczych i w przemyśle oponiarskim. Ponadto, występuje w wielu produktach codziennego użytku, szczególnie w wyrobach zawierających PCW, takich jak opakowania do żywności, zabawki, folie, rury plastikowe oraz detergenty, środki dezynfekujące i owadobójcze, farby, pestycydy (Soares i wsp., 2008). Pojawiały się też informacje o wykryciu nonylofenolu i jego etoksylatu w odzieży produkowanej w Azji.



Ryc. 4. Budowa chemiczna nonylofenolu

Fig. 4. Chemical structure of nonylphenol

Obecność NP stwierdzono w próbach środowiskowych z różnych krajów. Wyniki opisano szczegółowo w pracy poglądowej (Careghini i wsp., 2015). Wykazano obecność NP w glebie w ilości 0,01–0,95 µg/kg suchej masy, w osadach dennych od 3,6 µg/kg do 72 mg/kg suchej masy. Stężenie NP w wodach gruntowych wynosiło 0,001–3,85 mg/m³, a w wodach powierzchniowych od 3×10⁻⁴ do 37,3 mg/m³ (Careghini i wsp., 2015). W wodach ściekowych stężenie tego związku wynosiło 0,05 µg/dm³, a w ściekach przemysłowych w USA 0,1–253 µg/dm³ (Diaz i Ventura, 2002; Kuch i Ballshmiter, 2000; Lee i wsp., 2000).

Narażenie ludzi na NP związane jest głównie z jego migracją z rur plastikowych do wody wodociągowej oraz do żywności z pojemników używanych podczas jej produkcji i przechowywania (Soto i wsp., 1991). Woda przechowywana w pojemnikach z PCW może zawierać 300 ng/L nonylofenolu (Guenther i wsp., 2002; Soto i wsp., 1991), a w plastikowych butelkach 15–300 µg/m³ (Loyo-Rosales i wsp., 2004). Znaczne stężenie NP stwierdzono w produktach spożywczych (0,1–100 µg/kg świeżej masy) oraz w napojach (< 7,7 µg/m³ do 0,30 mg/m³) z różnych krajów Europy. Najwyższe stężenie tego związku wykazano w marchwi (10,4 µg/kg świeżej masy), dyni (11,3 µg/kg świeżej masy), jabłkach (17,1 µg/kg świeżej

masy) oraz w owocach cytrusowych (29,5 µg/kg świeżej masy) (*Careghini i wsp.*, 2015). Dzienna dawka NP przyjmowana przez człowieka szacowana jest na 0,6 µg/kg (*EC Report*, 2002), 0,67–0,370 µg/kg może pochodzić z żywności (*Careghini i wsp.*, 2015), a 0,36–0,60 µg/kg z wody butelkowanej (*Loyo-Rosales i wsp.*, 2004). Obecność NP stwierdzono także w płynach ciała człowieka. Związek ten obecny był m.in. we krwi matek (4,5–33,4 ng/mL) we krwi pępowinowej (4,4–57,6 ng/mL), w łożysku (5,4–54,4 ng/g), a także w mleku ludzkim od < 1,87 do 160,1 ng/mL w 1 miesiącu oraz 27,2–104,8 ng/mL w 3. miesiącu po porodzie (*Huang i wsp.*, 2014).

Nonylofenol powoduje zaburzenia w funkcjonowaniu męskiego układu rozrodczego ryb, gadów i ssaków (*Cardinali i wsp.*, 2004; *Lee*, 1998; *Weber i wsp.*, 2002). Działa toksycznie na gonady męskie, powodując zmniejszenie ciężaru jąder i najądrzy, co często jest związane ze zmniejszoną produkcją komórek płciowych (*Aly i wsp.*, 2012; *Chitra i wsp.*, 2002; *Dobrzyńska*, 2012; *El-Dakdoky i Helal*, 2007; *Han i wsp.*, 2004). Nonylofenol redukuje żywotność i liczebność gamet męskich różnych gatunków ssaków (*Aly i wsp.*, 2012; *Chapin i wsp.*, 1999; *de Jager i wsp.*, 1999a; *Dobrzyńska*, 2011, 2012; *El-Dakdoky i Helal*, 2007; *Han i wsp.*, 2004; *Kimura i wsp.*, 2006; *Tiwari i Vanage*, 2013). Równocześnie ze zmniejszoną liczebnością plemników obserwowano także pogorszenie jakości gamet, m.in. zmniejszenie ich ruchliwości i zwiększenie częstości występowania plemników o nieprawidłowej morfologii (*Chapin i wsp.*, 1999; *de Jager i wsp.*, 1999b; *Dobrzyńska*, 2011, 2012; *Tiwari i Vanage*, 2013; *Zhang i wsp.*, 2003). Badania *Han i wsp.* (2004) wykazały, że NP uszkadza akrosomy plemników mysich. Inne badania wykazały opóźnienie reakcji akrosomalnej plemników mysich *in vitro* (*Shao i wsp.*, 2011). Wyniki kolejnych badań wskazują, że obecność NP zaburza równowagę pomiędzy utleniaczami i przeciwutleniaczami, powodując stres oksydacyjny w nasieniu szczurów (*Aly i wsp.*, 2012; *Chitra i wsp.*, 2002). Stres oksydacyjny może być odpowiedzialny za wystąpienie niekorzystnych zmian w gametach (*Chitra i Mathur*, 2004; *El-Dakdoky i Helal*, 2007; *Gong i Han* 2006). Nonylofenol indukuje apoptozę w męskich komórkach płciowych oraz w komórkach Sertoliego (*Chitra i wsp.*, 2002; *Gong i Han*, 2006). Indukuje również pęknięcie nici DNA w haploidalnych komórkach płciowych myszy (*Dobrzyńska*, 2011). Z kolei u szczurów NP wpływa na zmniejszoną produkcję testosteronu (*Laurenzana i wsp.*, 2002; *Ying i wsp.*, 2012).

Narażanie niedojrzałych płciowo szczurów laboratoryjnych przez 30 dni na NP w dawce 100 mg/kg dziennie powoduje opóźnienie w osiąganiu przez nie dojrzałości płciowej, zaburzenia w funkcjonowaniu jąder i w procesie spermatogenezy, prowadzące do zmniejszonej produkcji gamet oraz indukuje zmiany histopatologiczne w jądrach (*Tan i wsp.*, 2003). Podobnie w przypadku podawania młodym zwierzętom NP w niższych dawkach przez 2 tygodnie notowano zmniejszenie liczebności gamet (*Herath i wsp.*, 2004). W badaniach *in vitro* obserwowano

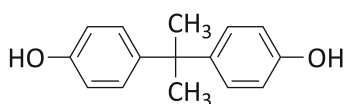
zwiększoną częstość występowania apoptozy w komórkach Sertoliego po 72-godzinnej hodowli w obecności NP (*Wang i wsp.*, 2003) oraz zmniejszenie produkcji testosteronu (*Murano i wsp.*, 1999; *Wu i wsp.*, 2010). W próbach nasienia pobranych od szczurów po 1–4-godzinnej inkubacji w obecności NP stwierdzono zmniejszenie ruchliwości gamet oraz integralności akrosomalnej (*Uguz i wsp.*, 2009).

Nonylofenol podawany w czasie ciąży i laktacji wpływa na stan zdrowia potomstwa ze szczególnym uwzględnieniem występowania zmian w męskim układzie rozrodczym. Narażanie ciężarnych samic szczura na NP w dawkach 80–200 mg/kg/dzień powoduje znaczne zmniejszenie liczby żywych płodów w miotach. U potomstwa w wieku 90 dni obserwowano zmniejszenie ciężaru jąder i prostaty, stężenia testosteronu w osoczu krwi i nasienia w najądrzach oraz zmiany histopatologiczne w jądrach. Ponadto stwierdzono zahamowanie procesów spermatogenezy i spermiogenezy (*Jie i wsp.*, 2010). Zaburzenia przebiegu spermatogenezy w następstwie narażania potomstwa za pośrednictwem ciężarnych i karmiących matek oraz młodych od urodzenia do 30. dnia życia obserwowali *McClusky i wsp.* (2007). U potomstwa myszy narażanych na NP od 5. do 20. dnia ciąży obserwowano większą śmiertelność okołoporodową płodów płci męskiej oraz zmniejszenie ciężaru ich jąder i najądrzy (*Kimura i wsp.*, 2006). Podawanie samicom szczura NP w dawkach 15–17 mg/kg przez 8 dni ciąży wpływa na zmniejszenie ciężaru najądrzy u męskiego potomstwa (*Hossaini i wsp.*, 2001).

Prekoncepcyjne narażanie samców myszy pokolenia F0 na NP w dawce 50 mg/kg/dzień przez 8 tygodni skutkuje znacznym zmniejszeniem częstości zachodzenia w ciążę przez kojarzone z nimi samice, co może być spowodowane nieprawidłowościami w budowie plemników oraz zwiększoną częstością pęknięć nici DNA w haploidalnych komórkach płciowych (*Dobrzyńska*, 2012). Z kolei w doświadczeniach obejmujących narażenie na NP 3 pokoleń szczurów, wykazano zmniejszenie liczebności gamet w pokoleniu F2, chociaż nie notowano takiego efektu w pokoleniach F0 i F1 (*Chapin i wsp.*, 1999). Z kolei, *Kyselova i wsp.* (2003) wykazali redukcję ciężaru narządów płciowych, zarówno w pokoleniu F0, jak i F1 oraz zmniejszenie wielkości miotów w pokoleniu F2. Ponadto, badania *in vitro* wykazały znaczną wrażliwość nasienia ludzkiego na działanie nonylfenolu, który indukował fragmentację nici DNA już po zastosowaniu w dawce 1 µmol/L (*Anderson i wsp.*, 1997).

■ Bisfenol A

Bisfenol A (dian, 2,2-bis(p-hydroksyfenilo)propan) jest białym lub jasnobrązowym proszkiem, słabo rozpuszczalnym w wodzie. Budowę chemiczną BPA przedstawiono na rycinie 5. Bisfenol A stosowany jest głównie do produkcji tworzyw sztucznych; poliestrów (głównie



Ryc. 5. Budowa chemiczna bisfenolu A

Fig. 5. Chemical structure of bisphenol A

poliwęglanów, które są wykorzystywane m.in. do wytwarzania butelek dla niemowląt, polieterów, polisulfonów, żywic epoksydowych (m.in. wyściełających wewnętrzne powierzchnie puszek). Ponadto stosowany jest jako przeciwutleniacz w środkach spożywczych i kosmetycznych. Obecność BPA wykryto w takich produktach jak pojemniki do przechowywania żywności, wykonane z przezroczystych plastików butelki do karmienia niemowląt i do napojów, wewnętrzne powłoki metalowych puszek do napojów i żywności, cystern do przechowywania wody, mleka i wina, zabawki, papier termiczny, płyty kompaktowe, farby, kaski ochronne, części samochodowe, okna plastikowe, materiały do wypełnień dentystrycznych, soczewki i plastry opatrunkowe (Lyons, 2000; Markey i wsp., 2003).

Obecność BPA wykryto w środowisku naturalnym, w glebie w stężeniu 0,55–147 µg/kg suchej masy, w osadach dennych od <0,24 do 492 µg/kg suchej masy, w wodach gruntowych 0,001–20 mg/m³, w wodach powierzchniowych od <0,001 do 92 mg/m³ (Careghini i wsp., 2015). Stężenie BPA w powietrzu wynosiło 2–208 µg/m³ (Rudel i wsp., 2001).

Bisfenol A dostaje się do organizmu człowieka głównie drogą pokarmową oraz przez układ oddechowy i skórę. Może być uwalniany z tworzyw sztucznych, w skład których wchodzi do żywności, napojów i odżywek dla niemowląt, szczególnie jeżeli opakowanie jest podgrzewane, myte detergentem lub poddane zmianom mechanicznym (gniecenie, rozciąganie). Najbardziej narażoną grupą są niemowlęta i małe dzieci ze względu na stosunkowo niski ciężar ciała oraz powszechne użycie butelek, kubeczków, talerzyków, łyżeczek itp. wykonanych z tworzyw zawierających BPA. Związek ten może być również wmywany do śliny pacjentów po założeniu wypełnień dentystrycznych (Markey i wsp., 2003; Tyl i wsp., 2002). Obecność BPA wykazano w żywności w ilości 4–23 µg/puszka, w napojach 7–58 µg/g, w ślinie pacjentów stomatologicznych 90–913 µg po 1 godz. od założenia wypełnienia (Akingbemi i wsp., 2004). Stężenia BPA w produktach spożywczych pochodzących z różnych krajów wynosiły 0,1–790 µg/kg suchej masy, a w wodzie do picia i napojach 0,0073–0,86 µg/m³ (Careghini i wsp., 2015). Przykładowo, badania szwedzkie wykazały obecność BPA w rybach (2,5–29 µg/kg świeżej masy), mięsie (6,9–13 µg/kg), ziemniakach (2,2 µg/kg), w produktach mleczarskich (2,4 µg/kg) (Gyllenhammer i wsp., 2012). Basheer i wsp. (2004) oznaczali stężenie BPA w owocach morza (13,3–213,1 µg/kg świeżej masy), a Sun i wsp. (2006) w konserwach (32,8–164,5 µg/kg świeżej masy). Interesujące jest, że migracja BPA z nowych naczyń

stołowych dla niemowląt wynosiła 1–1,9 µg/kg roztworu, podczas gdy z wielokrotnie używanych 1,8–7,9 µg/kg (Lyons, 2000). Z kolei Brede i wsp. (2003) wykazali, że stężenie BPA w napoju z nowych butelek dla niemowląt wynosiło 0,2 µg/L, w używanych 51 dni – 8,4 µg/L, a w używanych 169 dni – 6,7 µg/L. Na podstawie wyników najnowszych badań dzienną dawkę BPA przyjmowaną przez ludzi oszacowano na 0,02–0,181 µg/kg dla dorosłych oraz na 0,22–0,33 µg/kg dla niemowląt (Careghini i wsp., 2015).

Obecność BPA wykryto także w płynach ciała człowieka. Badania przeprowadzone przez Calafat i wsp. (2005) wykazały w moczu średnio 1,28 µg/L BPA. Obecność BPA stwierdzono także w krwi matek, noworodków i w łóżysku w stężeniach odpowiednio 3,1; 2,3 oraz 12,7 mg/mL (Schonfelder i wsp., 2002). W badaniach przeprowadzonych w różnych krajach, opisanych w pracy poglądowej Dash i wsp. (2006) wykazano obecność BPA w moczu kobiet niebędących w ciąży w stężeniu 0,2–586,14 µg/L, podczas gdy w przypadku ciężarnych 0,05–29,43 µg/L, natomiast w moczu mężczyzn od < 0,4 do > 8,02 µg/L. Stężenie BPA w krwi mężczyzn wynosiło 0,38–1,49 µg/L, a w krwi kobiet niebędących w ciąży 0–2,9 µg/L. Ponadto, w nasieniu mężczyzn stwierdzono obecność BPA w ilości 0–12 µg/L.

Badania na zwierzętach laboratoryjnych, które narażano w okresie neonatalnym, młodzieńczym i po osiągnięciu dojrzałości płciowej, oraz badania *in vitro* wykazały, że bisfenol A działa toksycznie na jądra. Genotoksyczne działanie BPA związane jest z indukcją stresu oksydacyjnego oraz osłabieniem enzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych (Anjum i wsp., 2011; Chitra i wsp., 2003a; Meeker i wsp., 2010). Aydogan i wsp. (2010) wykazali, że BPA indukuje powstawanie reaktywnych form tlenu, które powodują powstawanie stresu oksydacyjnego w jądrach szczurów.

Narażanie różnych gatunków ssaków na BPA w różnych dawkach i w różnych okresach życia powoduje zmniejszenie liczebności gamet męskich (Al-Hiyasat i wsp., 2002; Chitra i wsp., 2003a, 2003b; Dobrzyńska i Radzikowska, 2013; Dobrzyńska i wsp., 2014; Herath i wsp., 2004; Pacchierotti i wsp., 2008; Park i wsp., 2004; Sakue i wsp., 2001; vom Saal i wsp., 1998). W wyniku podawania gryzoniom BPA obserwowano także zwiększenie częstości występowania nieprawidłowości w budowie plemników (Aikawa i wsp., 2004; Dobrzyńska i Radzikowska, 2013; Dobrzyńska i wsp., 2014; Park i wsp., 2004; Toyama i wsp., 2004; Toyama i Yuasa, 2004), zmniejszenie ich ruchliwości (Aikawa i wsp., 2004; Chitra i wsp., 2003a, b; Park i wsp., 2004) oraz obniżenie ciężaru jąder i najądrzy (Akingbemi i wsp., 2004; Al-Hiyasat i wsp., 2002; Chitra i wsp., 2003a). Bisfenol A indukuje pęknięcia nici DNA w haploidalnych komórkach płciowych samców myszy (Dobrzyńska i Radzikowska, 2013). Pod wpływem działania BPA obserwowano występowanie zmian histopatologicznych w kanalikach nasiennych zwierząt laboratoryjnych (Dobrzyńska i wsp., 2014; Takao i wsp., 1999;

Tan i wsp., 2003; Toyama i wsp., 2004; Toyama i Yuasa, 2004). Zmiany powyższe występują nawet po zastosowaniu dawek BPA niższych niż 50 mg/kg dziennie, tj. najniższej dawki, po której zastosowaniu spodziewane jest wystąpienie jakiegokolwiek efektu (ang. *lowest observed adverse effect level*, LOAEL) (Richter i wsp., 2007).

Badania niektórych autorów wskazują na większą wrażliwość gamet zwierząt niedojrzałych płciowo. Zhang i wsp. (2013) podawali BPA myszom od 3. dnia życia przez okres od 19 do 47 dni. Liczebność i jakość gamet oceniano u zwierząt w wieku 7 tygodni i stwierdzono znaczne obniżenie powyższych parametrów. Herath i wsp. (2004) obserwowali, że podawanie BPA dojrzewającym płciowo szczurom przez 5 tygodni znacznie redukuje liczbę plemników oraz poziom testosteronu w osoczu krwi. W innych badaniach zanotowano mniejszą liczebność gamet u myszy, którym rozpoczęto 8-tygodniowe podawanie BPA w dawce 20 mg/kg/dzień w wieku 4,5 tygodni w porównaniu ze zwierzętami dojrzałymi płciowo. Równocześnie u zwierząt tych obserwowano znaczną degenerację spermatogoniów i spermatocytów oraz występowanie gigantycznych wielojądrzastych komórek w kanalikach nasiennych (Dobrzyńska i wsp., 2014). Podobne rezultaty uzyskali Toyama i Yuasa (2004) w wyniku narażania szczurów od 1. do 11. dnia życia. Zmiany histopatologiczne w jądrach samców pokolenia F1 obserwowali także Gamez i wsp. (2014) oraz Liu i wsp. (2013) w następstwie narażania szczurów podczas ciąży i laktacji. Ekspozycja na BPA podczas ciąży i laktacji wpływa również na obniżenie jakości nasienia w pokoleniu F1 poprzez zmniejszenie ruchliwości gamet i zwiększenie częstości występowania plemników o nieprawidłowej budowie (Viela i wsp., 2014).

Narażenie na BPA w okresie pre- lub neonatalnym może indukować anomalie męskiego układu rozrodczego, takie jak zwiększenie odległości anogenitalnej, powiększenie prostaty, zmniejszenie ciężaru najądrzy, produkcji testosteronu, liczby plemników oraz obniżenie ich jakości (Timms i wsp., 2005; Vandenberg i wsp., 2009; vom Saal i Hughes, 2005; Welshons i wsp., 2006). Ponadto, w następstwie ekspozycji na BPA w tym okresie mogą nastąpić komplikacje w przebiegu ciąży (Berger i wsp., 2008) oraz zwiększenie częstości występowania nowotworów po osiągnięciu dorosłości (Ho i wsp., 2006; Soto i wsp., 2008). Podawanie BPA myszom w okresie prenatalnym za pośrednictwem ciężarnych samic powoduje zmniejszoną ekspresję genów związanych z funkcjonowaniem komórek Sertoliego, a w konsekwencji oddziałuje na funkcje reprodukcyjne potomstwa męskiego (Tainaka i wsp., 2012). Podawanie BPA samicom szczurów w różnych okresach ciąży wpływa na zmniejszenie ciężaru jąder samców potomnych (Kim i wsp., 2003; Kubo i wsp., 2003). Inni autorzy obserwowali zmniejszenie ciężaru jąder u potomstwa myszy, którym podawano BPA podczas ciąży i laktacji (Kawai i wsp., 2003; Kobuto i wsp., 2004).

Al-Hiyasat i wsp. (2002) obserwowali zmniejszoną częstość zachodzenia w ciążę przez samice kojarzone

z samcami narażanymi uprzednio przez 30 dni na BPA. Podobne wyniki uzyskano w następstwie prekonceptyjnego 8-tygodniowego narażania samców myszy na BPA. Ponadto, obserwowano istotne zmniejszenie wielkości miotów, zmniejszenie liczby żywych płodów oraz zwiększoną śmiertelność postnatalną i obniżoną ruchliwość gamet w pokoleniu F1 (Dobrzyńska i wsp., submitted). Zhang i wsp. (2013) wykazali wolniejsze przybieranie na wadze potomstwa myszy narażanych na BPA od 3. do 47. dnia życia. Prekonceptyjne narażanie samców szczurów przez 6 dni na BPA indukuje występowanie dominujących mutacji letalnych, szczególnie w przypadku ekspozycji spermatyd i spermatocytów (Tiwari i Vanage, 2013). Narażanie zarówno samców, jak i samic myszy na BPA przed kojarzeniem może być przyczyną zwiększonej resorpcji płodów (Al-Hiyasat i wsp., 2002, 2004). Z kolei badania Peknicova i wsp. (2002), w których podawano BPA w małych dawkach trzem pokoleniom myszy, wykazały zmniejszenie wielkości miotów w pokoleniu drugim i trzecim oraz zmiany histopatologiczne w kanalikach nasiennych w pierwszej i drugiej generacji. Należy podkreślić, że badania epidemiologiczne dzieci z rodzin, w których co najmniej jedno z rodziców było narażone na BPA w okresie ciąży, wykazały związek takiej ekspozycji z niską wagą urodzinową w oraz skróconą odległością anogenitalną u noworodków (Miao i wsp., 2011).

■ Podsumowanie

Ksenoestrogeny (ftalany: BBP, DEHP, DBP oraz BPA i NP) powodują zmniejszenie liczebności gamet męskich, zwiększenie częstości występowania zmian morfologicznych oraz uszkodzeń DNA plemników. Szczególnie niebezpieczne może być długotrwałe narażanie ssaków na ksenoestrogeny oraz rozpoczęcie ich narażania przed osiągnięciem dojrzałości płciowej. Zmiany indukowane w gametach męskich mogą powodować mutacje prowadzące do zwiększonej śmiertelności pre- i postnatalnej potomstwa. W następstwie narażania na ksenoestrogeny pokolenia F0 u potomstwa w linii męskiej mogą wystąpić wady rozwojowe, opóźnienia w rozwoju i osiąganiu dojrzałości płciowej, zaburzenie stosunku płci, a także obniżenie jakości nasienia w pokoleniu F1. Duże rozpowszechnienie w środowisku ftalanów, nonylofenolu, bisfenolu A, może więc wpływać negatywnie na zdrowie reprodukcyjne. Aby tym skutkom zapobiec, należy w miarę możliwości ograniczyć kontakt z ksenoestrogenami osób dorosłych, a przede wszystkim dzieci. Szczególnie ważne jest unikanie podgrzewania żywności i napojów w puszkach i w pojemnikach plastikowych. Należy zwrócić uwagę na obecność ksenoestrogenów w zabawkach, artykułach pielęgnacyjnych, butelkach dla niemowląt i małych dzieci, a także w kosmetykach, detergentach i artykułach codziennego użytku. Dyrektywy Unii Europejskiej wprowadziły szereg ograniczeń, szczególnie dotyczących wprowadzania do obrotu

zabawek i artykułów dla dzieci zawierających ftalany i bisfenol A. Regulacje dotyczą szczególnie zabawek, które mają kontakt z buzią dziecka. Mimo to na rynek wciąż trafia wiele zabawek wyprodukowanych w Azji, które nie spełniają tych wymogów.

■ Piśmiennictwo

- Ablake M., Itoh M., Terayama H., Hayashi S., Shoji S., Naito M. i wsp.: Di-(2-ethylhexyl) phthalate induces severe aspermatogenesis in mice, however, subsequent antioxidant vitamins supplementation accelerates regeneration of the seminiferous epithelium. *Int J Androl.* 2004, 27 (5), 274–281.
- Agarwal D.K., Eustis S., Lamb J.C., Reel J.R., Kluwe W.M.: Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on the gonadal pathophysiology, sperm morphology, and reproductive performance of male rats. *Environ Health Perspect.* 1986, 65, 343–350.
- Agarwal D.K., Moroonpot R.R., Lamb J.J., Kluwe W.M.: Adverse effects of butyl benzyl phthalate on the reproductive and hematopoietic systems in male rats. *Toxicology.* 1985, 35 (3), 189–206.
- Ahmad R., Gautam A.K., Verma V., Sedha S., Kumar S.: Effects of in utero di-butyl phthalate and butyl benzyl phthalate exposure on offspring development and male reproduction of rat. *Environ Sci Pollut Res.* 2014, 21, 3156–3165.
- Aikawa H., Koyama S., Matsuda M., Nakahashi K., Akazome Y., Mori T.: Relief effect of vitamin A on the decreased motility of sperm and increased incidence of malformed sperm in mice exposed to bisphenol A. *Cell Tissue Res.* 2004, 315, 1119–1124.
- Akingbemi B.T., Sottas C.M., Koulouva A.I., Klinefelter G.R., Harddy M.P.: Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *Endocrinology.* 2004, 145, 592–603.
- Alam M.S., Andrina B.B., Tay T.W., Tsunekawa N.: Single administration of di(n-butyl) phthalate spermatogenesis in prepubertal rats. *Tissue Cells.* 2010, 142, 129–135.
- Al-Hiyasat A.S., Darmani H., Elbeticha A.M.: Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. *Eu. J Oral Sci.* 2002, 110, 163–167.
- Al-Hiyasat A.S., Darmani H., Elbeticha A.M.: Leached components from dental composites and their effects on fertility of female mice. *Eur J Oral Sci.* 2004, 112, 267–272.
- Aly H.A., Domenech O., Banjar Z.M.: Effect of nonylphenol on male reproduction: analysis of rat epididymal biochemical markers and antioxidant defense enzymes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012, 261 (2), 134–141.
- Anderson D., Dobrzyńska M.M., Basaran N.: Effects of various genotoxins and reproductive toxins in human lymphocytes and sperm in the Comet assay. *Teratog Carcinog Mutagen.* 1997, 17, 29–43.
- Andrade A.J., Grande S.W., Talsness C.E., Gericke C., Grote K., Golembiewski A. i wsp.: A dose response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): reproductive effects on adult male offspring rats. *Toxicology.* 2006, 228, 85–97.
- Anjum S., Rahman S., Kaur M., Ahmad F., Rashid H., Ansari R.A. i wsp.: Melatonin ameliorates bisphenol A-induced biochemical toxicity in testicular mitochondria of mouse. *Food Chem Toxicol.* 2011, 49, 2849–2854.
- Arcadi F.A., Costa C., Imperatore C., Marchese A., Rapisardi A., Salemi M. i wsp.: Oral toxicity of bis(2-ethylhexyl)phthalate during pregnancy and suckling in the Long-Evans rat. *Food Chem Toxicol.* 1998, 35, 963–970.
- Ashby J., Timwell H., Lefevre P.A., Odum J., Patson D., Millward S.W. i wsp.: Normal sexual development rats exposed to butyl benzyl phthalate from conception to weaning. *Regular Toxicol Pharmacol.* 1997, 26, 102–118.
- Aso S., Ehara H., Miyata K., Hosyuyama S., Shiraishi K., Umamo T.I. i wsp.: A two-generation reproductive toxicity study of butyl benzyl phthalate in rats. *J Toxicol Sci.* 2005, 30, 39–58.
- ATSDR. Toxicological profile for di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). Agency for Toxic Substances and Disease Registry, United States Public Health Service, Atlanta GA 2002.
- Auharek S.A., Franca L.R., McKinell C., Jobling M.S., Scott H.M., Sharpe R.M.: Prenatal plus postnatal exposure to di(n-butyl) phthalate and/or flutamide markedly reduces final Sertoli cell number in the rat. *Endocrinology.* 2010, 151, 2868–2875.
- Axelsson J., Rylander L., Rignell-Hydbom A., Giwercman A.: No secular trend over the last decade in sperm counts among Swedish men from the general population. *Human Reprod.* 2011, 26 (5), 1012–1016.
- Aydogan M., Korkmaz A., Barlas N., Kolankaya D.: Pro-oxidant effect of vitamin C coadministration with bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol on the reproductive tract of male rats. *Drug Chem Toxicol.* 2010, 33, 193–203.
- Barlow N.J., McIntyre B.S., Foster P.M.: Male reproductive tract lesions at 6, 12, and 18 months of age following in utero exposure to di(n-butyl) phthalate. *Toxicol Pathol.* 2004, 32, 79–90.
- Basheer C., Lee H.K., Tan K.S.: Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol-A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore. *Mar Pollute Bull.* 2004, 48, 1145–1167.
- Berger R.G., Shaw J., deCatanzaro D.: Impact of acute bisphenol-A exposure upon intrauterine implantation of fertilized ova and urinary levels of progesterone and 17 β -estradiol. *Reprod Toxicol.* 2008, 26, 94–99.
- Bilińska B., Schmalz-Frączek B., Kotula M., Carreau S.: Photoperiod-dependent capability of androgen aromatization and the role of estrogens in the bank vole testis visualized by means of immunohistochemistry. *Mol Cell Endocrinol.* 2001, 178, 189–198.
- Bilińska B., Wiszniewska B., Kosiniak-Kamysz K., Kotula-Balak M., Gancarczyk M., Hejmej A. i wsp.: Hormonal status of male reproductive system: androgens and estrogens in the testis and epididymis. In vivo and in vitro approaches. *Reprod Biol.* 2006, 6 (Suppl 1), 43–58.
- Boekelheide K., Johnson K.J., Richburg J.H.: Sertoli cell toxicants, In: Skinner M.K., Griswold M.D. (Eds.), Sertoli cell biology. Elsevier Academic Press, San Diego, 2004.
- Bonde J.P., Giwercman A.: Occupational hazard to male fecundity. *Reprod Med Rev.* 1995, 4, 59–73.
- Borch J., Ladefoged O., Hass U., Vinggaard A.M.: Steroidogenesis in fetal male rats is reduced by DEHP and DINP, but endocrine effects of DEHP are not modulated by DEHA in fetal, prepubertal and adult male rats. *Reprod Toxicol.* 2004, 18 (1), 53–61.
- Boyle P., Kaye S., Robertson A.G.: Changes in testicular cancer in Scotland. *Eur J Canc Clin Oncol.* 1987, 23, 827–830.
- Brede C., Fjeldal P., Skjevrak I., Herikstad H.: Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Addit Contam.* 2003, 20, 684–689.
- Calafat A.M., Kuklenyik Z., Reidy J.A., Caudill S.P., Ekong J., Needham L.L.: Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environ Health Perspect.* 2005, 113, 391–395.
- Cardinali M., Maradonna F., Olivetto I., Bortoluzzi G., Mosconi G., Polzonetti-Magni A.M. i wsp.: Temporary impairment of reproduction in freshwater teleost exposed to nonylphenol. *Reprod Toxicol.* 2004, 18 (4), 597–604.
- Careghini A., Mastorgio A.F., Saponaro S., Sezenne E.: Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soil, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environ Sci Pollut Res.* 2015, 22, 5711–5741.
- Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.E.: Evidence for decreasing quality of semen during past. *Br Med J.* 1992, 305, 609–613.

- Chapin R.F., Delaney J., Wang Y., Lanning L., Davis B., Collins B. i wsp.: The effect of 4-nonylphenol in rats: A multigeneration reproductive study. *Toxicol Sci.* 1999, 52, 80–91.
- Chen J.A., Liu H., Shu W.: Analysis of di-n-butyl phthalate and other organic pollutants in Chongqing women undergoing parturition. *Environ Pollut.* 2008, 156 (3), 849–853.
- Chitra K.C., Latchoumycandane C., Mathur P.P.: Effect of nonylphenol on the antioxidant system in epididymal sperm of rats. *Arch Toxicol.* 2002, 76, 545–551.
- Chitra K.C., Latchoumycandane C., Mathur P.P.: Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology.* 2003a, 185, 119–127.
- Chitra K.C., Mathur P.P.: Vitamin E prevents nonylphenol induced oxidative stress in testes of rats. *Ind J Exp Biol.* 2004, 42, 220–223.
- Chitra K.C., Rao K.R., Mathur P.P.: Effect of bisphenol A and vitamin C on epididymis of adult rats: a histopathological and biochemical study. *Asian J Androl.* 2003b, 5, 203–208.
- CIRC (Cosmetic Ingredient Review Committee). Final report on the safety assessment of dibutyl phthalate, dimethyl phthalate and diethyl phthalate. *J Am Coll Toxicol.* 1985, 4, 267–303.
- Colborn T., Clement C.: Advances in modern environmental toxicology. Vol. XXI. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection. Princeton Scientific Publishing Co. Inc, Princeton 1992.
- Dalsenter P.R., Santana G.M., Grande S.W., Andrade A.J., Araujo S.L.: Phthalate affect the reproductive function and sexual behavior of male Wistar rats. *Human Exp Toxicol.* 2006, 25, 297–303.
- Dash C., Marcus M., Terry P.D.: Bisphenol A: Do recent studies of health effects among human inform the long-standing debate? *Mutat Res.* 2006, 613, 68–75.
- De Jager C., Bornman M.S., Oosthuizen J.M.: The effect of p-nonylphenol on the fertility potential of male rats after gestational, lactational and direct exposure. *Andrologia.* 1999a, 31, 107–113.
- De Jager C., Bornman M.S., van der Horst G.: The effect of p-nonylphenol, an environmental toxicant with oestrogenic properties, on fertility potential in adult male rats. *Andrologia.* 1999b, 31, 99–106.
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). W: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe-Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten. 35. Red. H. Greim H, Ergänzungslieferung, Wiley-VCH, 2002.
- Diaz A., Ventura F.: Simultaneous Determination of Estrogenic Short Ethoxy Chain Nonylphenols and Their Acidic Metabolites in Water by an In-Sample Derivatization/Solid-Phase Microextraction Method. *Anal Chem.* 2002, 74 (15), 3869–3876.
- Diel P.: Tissue-specific estrogenic response and molecular mechanisms. *Toxicol Lett.* 2002, 127, 217–224.
- Dobrzyńska M.M.: Male-mediated effects in mice exposed to nonylphenol or to a combination of X-rays and nonylphenol. *Drug Chem Toxicol.* 2012, 35 (1), 36–42.
- Dobrzyńska M.M., Czajka U., Tyrkiel E.J.: Male-mediated F1 effects in mice exposed to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). W: Male-mediated developmental toxicity. Red. D. Anderson, M.H. Brinkworth. RSC Publishing 2007.
- Dobrzyńska M.M., Gajowik A., Radzikowska J., Tyrkiel E.J., Jankowska-Steifer E.A.: Male-mediated F1 effects in mice exposed to bisphenol A alone or in combination with irradiation. *Mutat Res.* 2015 (submitted).
- Dobrzyńska M.M., Jankowska-Steifer E.A., Tyrkiel E.J., Gajowik A., Radzikowska J., Pachocki K.A.: Comparison of the effects of bisphenol A alone and in a combination with X-irradiation on sperm count and quality in male adult and pubescent mice. *Environ Toxicol.* 2014, 29 (11), 1301–1313.
- Dobrzyńska M.M., Radzikowska J.: Genotoxicity and reproductive toxicity of bisphenol A and X-rays-bisphenol A combination in male mice. *Drug Chem Toxicol.* 2013, 36 (1), 10–26.
- Dobrzyńska M.M., Tyrkiel E.J., Derezińska E., Pachocki K.A., Ludwicki J.K.: Two generation reproductive and developmental toxicity following subchronic exposure of pubescent male mice to di(2-ethylhexyl)phthalate. *Ann Agric Environ Med.* 2012, 19 (1), 31–37.
- Dobrzyńska M.M., Tyrkiel E.J., Hernik A., Derezińska E., Góralczyk K., Ludwicki J.K.: The effects of di-n-butyl phthalate on the germ cells of laboratory mice. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2009, 60 (4), 317–324.
- Dobrzyńska M.M., Tyrkiel E.J., Pachocki K.A.: Developmental toxicity in mice following paternal exposure to Di-N-butyl-phthalate. *Biomed Environ Sci.* 2011, 24 (5), 569–578.
- Dobrzyńska M.M.: Combined action of X-rays and nonylphenol on mouse sperm. *Cent Eur J Biol.* 2011, 6 (3), 320–329.
- Dostal L.A., Chapin R.E., Stefanski S.A., Harris M.W., Schwetz B.A.: Testicular toxicity and reduced Sertoli cell numbers in neonatal rats by di(2-ethylhexyl)phthalate and the recovery of fertility as adults. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1988, 95, 104–121.
- Doyle T.J., Bowman J.L., Windell V.L., McLean D.J., Kim K.H.: Transgenerational effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on testicular germ cell associations and spermatogonial stem cells in mice. *Biol Reprod.* 2013, 88 (5), 112, 1–15.
- Duty S.M., Silva M.J., Barr D.B., Brock J., Ryan L., Chen Z. i wsp.: Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology.* 2003a, 14, 269–277.
- Duty S.M., Singh N.P., Silva M.J., Barr D.B., Brock J.W., Ryan L. i wsp.: The relationship between environmental exposure to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay, *Environ Health Perspect.* 2003b, 1119, 1164–1169.
- EC Report. 4-Nonylphenol (Branched) and Nonylphenol. Summary risk assessment report. European Communities. 2002.
- El-Dakdoky M.E., Helal M.A.: Reproductive toxicity of male mice after exposure to nonylphenol. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2007, 79, 188–191.
- Ema M., Amano H., Itami T., Kawasaki H.: Teratogenic evaluation of di-n-butyl phthalate in rats. *Toxicol Lett.* 1993, 69, 197–203.
- Ema M., Miyawaki E., Kawashima K.: Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod Toxicol.* 2000, 14, 13–19.
- Ema M., Miyawaki E., Kawashima K.: Further evaluation of developmental toxicity of di-n-butyl phthalate following administration during late pregnancy in rats. *Toxicol Lett.* 1998, 98 (1-2), 87–93.
- Ema M., Miyawaki E.: Effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzyl phthalate during late pregnancy. *Reprod Toxicol.* 2002, 16 (1), 71–76.
- Ema M., Miyawaki N.E., Hirose A., Kamata E.: Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobenzyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate. *Reprod Toxicol.* 2003, 17, 407–412.
- Faouzi A., Dine T., Gressier B., Kambia K., Lucky M., Pagniez D. i wsp.: Exposure of hemodialysis patients to di-2-ethylhexyl phthalate. *Int J Pharmacol.* 1999, 180, 113–121.
- Filipiak E., Suliborska D., Leszczyńska M., Walczak-Jędrzejowska R., Oszukowska E., Marchlewska K. i wsp.: Estrogen receptor alpha localization in the testis of men normal spermatogenesis. *Folia Histochem Cytobiol.* 2012, 50 (3), 340–345.

- Fisher J.S., Macpherson S., Marchetti N., Sharpe R.M.: Human "testicular dysgenesis syndrome": a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Human Reprod.* 2003, 18, 1383–1394.
- Fromme H., Lahrz T., Piloty M., Gebhart H., Oddoy A., Rüdén H.: Occurrence of phthalates and musk fragrances in indoor air and dust from apartments and kindergartens in Berlin (Germany). *Indoor Air* 2004, 14, 188–195.
- Fukuoto H., Tanimoto T., Zhou Y., Hayakawa T.: Mechanism of testicular atrophy induced by di-n-butyl phthalate in rats. *J Appl Toxicol.* 1989, 9, 277–289.
- Gamez J.M., Penalba R., Cardoso N., Ponzo O., Carbone S., Pandolfi M. *i wsp.*: Low dose of bisphenol A impairs the reproductive axis of prepubertal male rats. *J Physiol Biochem.* 2014, 70 (1), 239–246.
- Giribabu N., Sainath S.B., Sreenivasula Reddy P.: Perinatal di-n-butyl phthalate exposure alters reproductive function at adulthood in male rats. *Environ Toxicol.* 2014, 29 (5), 534–544.
- Gong Y., Han X.: Nonylphenol induced oxidative stress and cytotoxicity in testicular Sertoli cells. *Reprod Toxicol.* 2006, 22, 623–630.
- Gray L.E. Jr., Satby J., Furr J., Price M., Veeramachaneni D.N., Parks L.: Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci.* 2000, 58, 350–365.
- Gray T.J., Beamand J.A.: Effect of some phthalates esters and other testicular toxins on primary cultures of testicular cells. *Food Chem Toxicol.* 1984, 22, 123–131.
- Gray T.J., Butterworth K.R.: Testicular atrophy produced by phthalate esters. *Arch Toxicol Suppl.* 1980, 4, 432–455.
- Guenther K., Heinke V., Thiele B., Kleist E., Prast H., Raecker T.: Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food. *Environ Sci Technol.* 2002, 36, 1676–1680.
- Gyllenhammer I., Glynn A., Darnerud P.O., Lignell S., van Delft R., Aune M.: 4-Nonylphenol and bisphenol A in Swedish nursing women. *Environ Int.* 2012, 43, 21–28.
- Han X.D., Tu Z.G., Gong Y., Shen S.N., Wang X.Y., Kang L.N. *i wsp.*: The toxic effects of nonylphenol on the reproductive system of male rats. *Reprod Toxicol.* 2004, 19, 215–221.
- Hauser R., Calafat A.M.: Phthalates and human health. *Occupat Environ Med.* 2005, 62, 806–818.
- Hauser R., Meeker J.D., Singh N.P., Silva M.J., Ryan L., Duty S *i wsp.*: DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Hum Reprod.* 2007, 22, 88–95.
- Heindel J.J., Chapin R.E.: Inhibition of FSH-stimulated c-AMP accumulation by mono(2-ethylhexyl)phthalate in primary rat Sertoli-cell cultures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1989, 97, 372–385.
- Heindel J.J., Powell C.J.: Phthalate esters effects on rat Sertoli cell function in vitro, effects of phthalatic side chain and age of animal. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1992, 115, 116–123.
- Hejmej A., Kotula-Balak M., Galas J., Bilińska B.: Effects of 4-tert-octylphenol on the testes and seminal vesicles in adult male bank voles. *Reprod Tox.* 2011, 31 (1), 95–105.
- Hejmej A., Kotula-Balak M., Górowska E., Bilińska B.: Badania nad rolą estrogenów w gonadzie męskiej. W: Układ płciowy męski – badania kliniczne i doświadczalne. Red. M. Piasecka. Wyd. Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego, Szczecin 2013, 282–291.
- Hellwig J., Freudenberger J., Jackh. R.: Differential prenatal toxicity of branched phthalate esters in rats. *Food Chem Toxicol.* 1997, 35, 501–512.
- Herath C.B., Jin W., Watanabe G., Arai K., Suzuki A.K., Taya K.: Adverse effects of environmental toxicants, octylphenol and bisphenol A, on male reproductive function in pubertal rats. *Endocrine.* 2004, 25, 163–172.
- Heudorf U., Mersch-Sudermann V., Angerer J.: Phthalates: Toxicology and exposure. *Int J Hyg Environ Health.* 2007, 210 (5), 623–634.
- Hirosawa N., Yano K., Suzuki Y., Sakamoto Y.: Endocrine disrupting effect of di-(2-ethylhexyl) phthalate on female rats and proteome analysis of their pituitaries. *Proteomics.* 2006, 6, 958–971.
- Ho S.M., Tang W.Y., Belmonte de Frausto J., Prins G.S.: Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Res.* 2006, 66, 5624–5632.
- Hossaini A., Dalgaard M., Vinggaard A.M., Frandsen H., Larsen J.J.: In utero reproductive study in rats exposed to nonylphenol. *Reprod Toxicol.* 2001, 15, 537–543.
- Huang P.C., Tien C.J., Sun Y.M., Hsieh C.Y., Lee C.C.: Occurrence of phthalates in sediment and biota: relationship to aquatic factors and the biota sediment accumulation factor, *Chemosphere.* 2008, 73, 539–544.
- Huang X.F., Li Y., Gu Y.H., Liu M., Xu Y., Sun F. *i wsp.*: The effects of di-(2-ethylhexyl)-phthalate exposure on fertilization and embryonic development in vitro and testicular genomic mutation in vivo. *PLoS One.* 2012, 7 (11), 1–7.
- Huang Y.F., Wang P.W., Huang L.W., Yang W., Yu C.J., Yang S.H. *i wsp.*: Nonylphenol in pregnant women and their matching fetuses: Placental transfer and potential risks of infants. *Environ Res.* 2014, 134, 143–49.
- Ishihara M., Itoh M., Miyamoto K., Suna S., Takeuchi Y., Takenaka I. *i wsp.*: Spermatogenic disturbance induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate is significantly prevented by treatment with antioxidant vitamins in the rat. *Int J Androl.* 2000, 23 (2), 85–94.
- Jeng H.A., Yu L.: Alterations in sperm quality and hormone levels by polycyclic aromatic hydrocarbons on airborne particulae. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2008, 43, 675–681.
- Jie X., Yang W., Jie Y., Hashim J.H., Liu X.Y., Fan Q.Y. *i wsp.*: Toxic effect of gestational exposure to nonylphenol on F male rats. *Birth Defects Res B.* 2010, 89 (5), 418–428.
- Jobling M.S., Hutchinson G.R., van den Driesche S., Sharpe R.M.: Effects of di(n-butyl) phthalate exposure on foetal rat germ-cell number and differentiation: identification of age-specific windows of vulnerability. *Int J Androl.* 2011, 34, 886–896.
- Jobling S., Reynolds T., White R., Parker M.G., Sumpter J.P.: A variety of environmentally persistent chemicals including some phthalate plasticizers, are weekly estrogenic. *Environ Health Perspect.* 1995, 103, 582–587.
- Jones H.B., Garside D.A., Liu R., Roberts J.C.: The influence of phthalate esters on Leydig cell structure and function in vitro and in vivo. *Exp Mol Pathol.* 1993, 58 (3), 179–193.
- Jorgensen N., Joensen U.N., Jensen T.K., Jensen M.B., Almstrup K., Olesen I.A. *i wsp.*: Human semen quality in the new millennium: a prospective cross-sectional population-based study of 4867 men. *BMJ.* 2012, 2, 1–13.
- Kamrin M.A.: Phthalate risks, phthalate regulation and public health: A review. *J Toxicol Environ Health Part B.* 2009, 12, 157–174.
- Kavlock R., Barr D., Boekelheide K., Breslin W., Breyse P., Chapin R. *i wsp.*: NTP-CERHR expert panel update on the reproductive and developmental toxicity on di-(2-ethylhexyl) phthalate. *Reprod Toxicol.* 2006, 22, 291–399.
- Kavlock R., Boekelheide K., Chapin R., Cunningham M., Faustman E., Foster P. *i wsp.*: NTP Center for Evaluation of Risks to Human Reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di-n-butyl phthalate. *Reprod Toxicol.* 2002, 16, 453–487.
- Kawai K., Nozaki T., Nishikata H., Aou S., Takii M., Kubo C.: Aggressive behavior and serum testosterone concentration during the maturation process of male mice. The effects of fetal exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect.* 2003, 111 (2), 175–178.
- Kim H.S., Kim T.S., Shin J.H., Moon H.J., Kang I.H., Kim I.Y. *i wsp.*: Neonatal exposure to di(n-butyl) phthalate (DBP) alters male reproductive-tract development. *J Toxicol Environ Health A.* 2004, 67 (23-24), 2045–2060.

- Kim P., Lee N., Hwang S.: The bisphenol A modulator of pregnancy in rats. *Kor J Environ Health Soc.* 2003, 29 (4), 27–34.
- Kim T.S., Jung K.K., Kang I.H., Back J.H., Nam H.S., Hong S.K. *i wsp.*: Effects of in utero exposure to di(n-butyl) phthalate on development of male reproductive tracts in Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A.* 2010, 73 (21-22), 1544–1559.
- Kim Y.H., Lee J., Moon S.H.: Degradation of an endocrine disrupting chemical, DEHP [di-(2-ethylhexyl)phthalate] by *Fusarium oxysporium* f. sp. *pisi* cutinase. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2003, 63, 75–80.
- Kimura N., Kimura T., Suzuki M., Totsukawa K.: Effect of gestational exposure to nonylphenol on the development and fertility of mouse offspring. *J. Reprod Dev.* 2006, 52 (6), 789–795.
- Kleymenova E., Swanson C., Boekelheide K., Gaido K.W.: Exposure in utero to di(n-butyl) phthalate alters the vimentin cytoskeleton of fetal rat Sertoli cells and disrupts Sertoli cell-gonocyte contact. *Biol Reprod.* 2005, 73, 482–490.
- Kobuto H., Amakawa M., Shishibori T.: Exposure to bisphenol A during embryonic/fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. *Life Sci.* 2004, 74, 2931–2940.
- Koo H.J., Lee B.M.: Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment. *J Toxicol Environ Health Part A.* 2004, 67, 1901–1914.
- Kotula-Balak M., Chojnacka K., Hejmej A., Galas J., Satola M., Bilinska B.: Does 4-tert-octylphenol affect estrogen signaling pathways in bank vole Leydig cells and tumor mouse Leydig cells in vitro? *Reprod Toxicol.* 2013, 39, 6–16.
- Kotula-Balak M., Grzmil P., Chojnacka K., Andryka K., Bilinska B.: Do photoperiod and endocrine disruptor 4-tert-octylphenol effect on spermatozoa of bank vole (*Clethrionomys glareolus*)? *Gen Comp Endocrinol.* 2014, 201, 21–29.
- Kotula-Balak M., Pocheć E., Hejmej A., Duda M., Bilinska B.: Octylphenol affects morphology and steroidogenesis in mouse tumor Leydig cells. *Toxicol in Vitro.* 2011, 25 (5), 1018–1026.
- Kubo K., Arai O., Omura M., Watanabe R., Ogata R., Aou S.: Low dose effects of bisphenol A on sexual differentiation of the brain and behaviour in rats. *Neurosci Res.* 2003, 45 (3), 345–356.
- Kuch H.M., Ballschmiter K.: Determination of endogenous and exogenous estrogens in effluents from sewage treatment plants at the ng/L-level. *Fresenius J Anal Chem.* 2000, 366 (4), 392–395.
- Kula K., Słowikowska-Hilczek J., Walczak-Jędrzejowska R., Kula P., Oszukowska E., Marchlewska K. *i wsp.*: Znaczenie fizjologiczne estrogenów u mężczyzn – przełom w endokrynologii. Materiały Zjazdowe IV Konferencja Sekcji Endokrynologii Molekularnej PTE, Poznań, 2–3.10.2004
- Kula K., Walczak-Jędrzejowska R., Słowikowska-Hilczek J., Oszukowska E.: Estradiol enhances the stimulatory effect of FSH on testicular maturation and contributes to precocious initiation of spermatogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2001, 178 (1-2), 89–97.
- Kwack S.J., Kim K.B., Kim H.S., Lee B.M.: Comparative toxicological evaluation of phthalate diesters and metabolites in Sprague-Dawley male rats for risk assessment. *J Toxicol Environ Health A.* 2009, 72, 1446–1454.
- Kyselova V., Peknicova J., Buckiova D., Bouelik M.: Effect of nonylphenol and resveratrol on body and organ weight and in vivo fertility of outbred CD-1 mice. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003, 1, 30.
- Lamb J.C. 4th, Chapin R.E., Teaque J., Lawton A.D., Reel J.R.: Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1987, 88, 255–269.
- Langauer-Lewowicka H. I Pawlas K.: Związki endokrynnie czynne – prawdopodobieństwo niepożądanego działania środowiskowego. Endocrine disrupting chemicals – probability of adverse environmental effect. *Med. Środ. – Environ Med.* 2015, 15(1), 7–11.
- Latini G., De Felice C., Verrotti A.: Plasticizers, infant nutrition and reproductive health. *Reprod Toxicol.* 2004, 19, 27–33.
- Laurenzana E.M., Balasubramanian G., Weis C., Blaydes B., Newbold R.R., Delclos K.B.: Effect of nonylphenol on serum testosterone levels and testicular steroidogenic enzyme activity in neonatal, pubertal, and adult rats. *Chem Biol Interact.* 2002, 139 (1), 23–41.
- Lee H-B., Peart T.E., Gris G., Chan J.: Endocrine-disrupting chemical in industrial wastewater samples in Toronto, Ontario. *Water Qual Res J Canada.* 2000, 37(2), 459–472.
- Lee K.Y., Shibutani M., Takagi H., Kato N., Takigami S., Uneyama C. *i wsp.*: Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from gestation through lactation. *Toxicology.* 2004, 203, 221–238.
- Lee P.C.: Disruption of male reproductive tract development by administration of the xenoestrogen, nonylphenol, to male newborn rats. *Endocrine.* 1998, 9 (1), 105–111.
- Lehmann K.P., Philips S., Sar M., Foster P.M., Gaido K.W.: Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male exposed to di(n-butyl)phthalate. *Toxicol Sci.* 2004, 81, 60–68.
- Li W.L., Ji Y.B., Yang Y.N., Yang B.: Reproductive toxicity and functional mechanism the environmental hormone butyl benzyl phthalate. *Huan Jing Ke Xue.* 2004, 25 (1), 1–6.
- Lin L., Zheng L.X., Gu Y.P., Wang J.Y., Zhang Y.H., Song W.M.: Levels of environmental endocrine disruptors in umbilical cord blood and maternal blood of low-birth-weight infants. *Zhonghua Yu Fang Ti Xue Za Zhi.* 2008, 42 (3), 177–180.
- Lin S., Ku H.S., Su P.H., Chen J.W., Huang P.C., Angerer J. *i wsp.*: Phthalate exposure in pregnant women and their children in central Taiwan. *Chemosphere.* 2011, 82, 947–955.
- Liu X.L., Chen X.Y., Wang Z.G., Shen T., Zhao H.: Effects of exposure to bisphenol A during pregnancy and lactation on the testicular morphology and caspase-3 protein expression of ICR pups. *Biomed Rep.* 2013, 1 (3), 420–424.
- Loyo-Rosales J.F., Rosales-Rivera G.C., Lynch A.M., Rice C.P., Torrents A.: Migration of nonylphenol from plastic containers to water and a milk surrogate. *J Agr Food Chem.* 2004, 52, 2016–2020.
- Lyons G.: Bisphenol A. A known endocrine disruptor. A WWF European Toxics programme Report. WWF-UK 2000.
- Mahood I.K., Scott H.M., Brown R., Hallmark N., Walker M., Sharpe R.M.: In utero exposure to di (n-butyl) phthalate and testicular dysgenesis. Comparison of fetal and adult endpoints and their dose sensitivity. *Environ Health Perspect.* 2007, 115, 55–61.
- Markey C.M., Coombs M.A., Sonnenschien C., Soto A.M.: Mammalian development in a changing environment. Exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity and steroid hormone target organs. *Evol Dev.* 2003, 5 (1), 67–75.
- Markey C.M., Rubin B.S., Soto A.M., Sonnenschien C.: Endocrine disruptors: from Wingspread to environmental developmental biology. *J Steroid Biochem.* 2002, 83, 235–244.
- Marsman D.: NTP technical report on the toxicity studies of dibutyl phthalate (CAS No. 84-74-2) administered in feed to F344/N rats and B6C3F1 Mice. *Toxic Rep Ser.* 1995, 30, 1–65.
- McClusky L.M., de Jager C., Bornman M.S.: Stage-related increase in the proportion of apoptotic germ cells and altered frequencies of stages in the spermatogenic cycle following gestational, lactational, and direct exposure of male rats to p-nonylphenol. *Toxicol Sci.* 2007, 95 (1), 249–256.
- McKinnell C., Sharpe R.M., Mahood K., Hallmark N., Scott H., Ivell L. *i wsp.*: Expression of insulin-like factor 3 protein in the rat testis during fetal and postnatal development and in relation to cryptorchidism induced by in utero exposure to di(n-butyl) phthalate. *Endocrinology.* 2005, 146, 4536–4544.

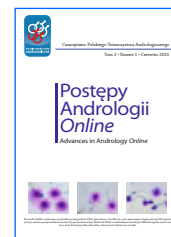
- Meeker J.D., Shelley E., Toth T.L., Wright D.L., Calafat A.M., Trisini A.T. i wsp.: Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from infertility clinic. *Reprod Toxicol.* 2010, 30, 532–539.
- Miao M., Yuan W., He Y., Zhou Z., Wang J., Gao E. i wsp.: In utero exposure to bisphenol A and angiogenital distance of male offspring, *Birth Def. (Part A)*. 2011, 91, 867–872.
- Moore R.W., Rudy T.A., Lin T.M., Ko K., Peterson R.E.: Abnormalities of sexual development in male rats with in utero and lactational exposure to the antiandrogenic plasticizer Di(2-ethylhexyl)phthalate. *Environ Health Perspect.* 2001, 109, 229–237.
- Murano E.P., Derk R.C., de Leon J.H.: Biphasic effects of octylophenol on testosterone biosynthesis by cultured Leydig cells from neonatal rats. *Reprod Toxicol.* 1999, 13, 451–462.
- Mylchreest E., Cattley R.C., Foster P.M.D.: Male reproductive tract malformations in rat following gestational and lactational exposure to di(n-butyl) phthalate; an antiandrogenic mechanism? *Toxicol Sci.* 1998, 43, 47–60.
- Mylchreest E., Sar M., Wallace D.C., Cattley R.C., Foster P.M.: Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di(n-butyl) phthalate. *Reprod Toxicol.* 2002, 16, 19–28.
- Nagao T., Ohta R., Marumo H., Shindo T., Yoshimura S., Otto H.: Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two generation reproductive study. *Rep Toxicol.* 2000, 14, 513–532.
- Nagorka R., Conrad A., Scheller C., Süßenbach B., Moriske H.J.: Weichmacher und Flammschutzmittel im Hausstaub – Teil 1: Phthalate. *Gefahrstoffe-Reinhaltung der Luft.* 2010, 70 (3), 70–76.
- Nakamiya K., Hashimoto S., Ito H., Edmonds J.S., Yasuhara A., Morita M.: Microbial treatment of bis(2-ethylhexyl) phthalate in polyvinyl chloride with isolated bacteria. *J Biosci Bioeng.* 2005, 99, 115–119.
- Noriega N.C., Howdeshell K.L., Furr J., Lambright C.R., Wilson V.S., Gray L.E. Jr.: Pubertal administration of DEHP delays puberty, suppresses testosterone production, and inhibits reproductive tract development in male Sprague-Dawley and Long-Evans rats. *Toxicol Sci.* 2009, 111, 163–178.
- NTP – National Toxicology Program NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies on butyl benzyl phthalate (CAS No 85-68-7) in rats (Feed Studies). *Nat Toxicol Program Tech Rep Ser.* 1997, 458, 1–195.
- NTP-CERHR: Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of di-n-butyl phthalate (DBP). *NIH Publ. No 03-4486*, 2003.
- O'Donnell L., Robertson K.M., Jones M.E., Simpson E.R.: Estrogen and spermatogenesis. *Endocrin Rev.* 2001, 22, 289–318.
- Pacchierotti F., Ranaldi R., Eichenlaub-Ritter U., Attia S., Adler I.D.: Evaluation of aneugenic effects of bisphenol A in somatic and germ cells of the mouse. *Mutat Res.* 2008, 651, 64–70.
- Pant N., Pant A., Shukla M., Mathur N., Gupta Y., Saxena D.: Environmental and experimental exposure of phthalate esters: the toxicological consequence on human sperm. *Hum Exp Toxicol.* 2011, 6, 507–514.
- Park D.H., Jang H.Y., Park C.K., Cheong H.T., Kim C.I., Yank B.H.: Effect of bisphenol A administration on reproductive characteristic and blood metabolite in mice. *J Anim Sci Technol.* 2004, 46, 957–966.
- Parks L.G., Ostby J.S., Lambright C.R., Abbott B.D., Klinefelter G.R., Barlow N.J. i wsp.: The plasticizer diethylhexyl phthalate induced malformations be decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat. *Toxicol Sci.* 2000, 58, 339–349.
- Parmar D., Srivastava S.P., Seth P.K.: Effect of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) on spermatogenesis in adult rats. *Toxicology.* 1986, 42, 47–55.
- Peknicová J., Kyselová V., Buckiová D., Boubelík M.: Effect of an endocrine disruptor on mammalian fertility. Application of monoclonal antibodies against sperm proteins as markers for testing sperm damage. *Am J Reprod Immunol.* 2002, 47(5), 311–318.
- Pflieger-Bruss S., Scuipe H.C., Schill W.: The male reproductive system and its susceptibility to endocrine disrupting chemicals. *Andrologia.* 2004, 36337–36345.
- Piersma A.H., Verkoef A., Biesebeek J.B., Pieters M.N., Slab W.: Developmental toxicity of butyl benzyl phthalate in the rat urinary, a multiple dose study design. *Reprod Toxicol.* 2000, 14, 417–425.
- Poon R., Lecavalier P., Mueller R., Valli V.E., Procter B.G., Chu I.: Subchronic oral toxicity of di-n-octyl phthalate and di(2-Ethylhexyl) phthalate in the rat. *Food Chem Toxicol.* 1997, 35 (2), 225–239.
- Rajpert-DeMeyts E.: Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update.* 2006, 12, 303–323.
- RAR, Risk Assessment Report (2004) Benzyl butyl phthalate, Draft March (<http://ecb.jrc.it/>).
- Richter C.A., Birnbaum L.S., Farabolini F., Newbold R.R., Rubin B.S., Talsness C.E. i wsp.: In vivo effects of Bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod Toxicol.* 2007, 24, 199–224.
- Rudel R.A., Brody J.G., Spengler J.D., Vallarino J., Geno P.W., Sun G. i wsp.: Identification of selected hormonally active agents and animal mammary carcinogens in commercial and residential air and dust samples. *J Air Waste Manage Assoc.* 2001, 51, 499–513.
- Sakue M., Ohsaho S., Ishimura R., Kurosawa S., Kurohmaru M., Hayashi Y. i wsp.: Bisphenol A affects spermatogenesis in the adult rat even at low dose. *J Occupat Health.* 2001, 5–90.
- Schonfelder G., Wittfoht W., Hopp H., Talsness C.E., Paul M., Chahoud I.: Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect.* 2002, 110, A703-7.
- Shao Z.X., Jiang H.T., Liang F., Zhu B.C.: Effects of nonylphenol and cadmium on sperm acrosome reaction in vitro in mice. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2011, 14 (4), 318–321.
- Sharman M., Read W.A., Castle L., Gilbert J.: Levels of di(2-ethylhexyl)phthalate and totl phthalate esters in milk, cream, butter and cheese. *Food Addit Contam.* 1994, 11, 375–385.
- Sharpe R.M., Fisher J.S., Millar M.M., Jobling S., Sumpter J.P.: Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environ Health Perspect.* 1995, 103, 1136–1143.
- Sharpe R.M.: Hormones and testis development and the possible adverse effects of environmental chemical. *Toxicol Lett.* 2001, 120 (1-3), 221–232.
- Sharpe R.M.: Pathways of endocrine disruption during male sexual differentiation and masculinization. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2006, 20 (1), 91–110.
- Shiota K., Nishimura H.: Teratogenicity of di(2-ethylhexyl)phthalate and di-n-butyl phthalate (DBP) in mice. *Environ Health Perspect.* 1982, 45, 65–70.
- Shirota M., Saito Y., Imai K., Horiuchi S., Yoshimura S., Sato M. i wsp.: Influence of di(2-ethylhexyl) phthalate on fetal testicular development by oral administration to pregnant rats. *J Toxicol Sci.* 2005, 30, 175–194.
- Shultz V.D., Philips S., Sar M., Foster P.M., Gaido K.W.: Altered gene profiles and fetal rats testes after in utero exposure to di(n-butyl)phthalate. *Toxicol Sci.* 2001, 64, 235–242.
- Siddiqui A., Srivastava S.P.: Effect of di(2-ethylhexyl)phthalate administration on rat sperm count and on sperm metabolic enzymes. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1992, 48, 115–119.
- Sjöberg P., Lindquist N.G., Montin G., Ploen L.: Effects of repeated intravenous infusions of the plasticizer di-(2-ethylhexyl) phthalate in young male rats. *Arch Toxicol.* 1985, 58, 78–83.

- Słowikowska-Hilcz J., Szarras-Czapnik M., Marchlewska K., Filipiak E., Oszkowska E., Walczak-Jędrzejowska R. i wsp.: Zespół dysgenetycznych jąder: patologia i konsekwencje kliniczne. *Endokrynol Ped.* 2013, 1 (42), 67–76.
- Słowikowska-Hilcz J.: Xenobiotics with estrogen or antiandrogen action – disruptors of the male reproductive system. *Centr Europ J Med.* 2006, 3, 205–227.
- Soares A., Guieysse B., Jefferson B., Cartmell E., Lester J.N.: Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environ Int.* 2008, 34 (7), 1033–1049.
- Song X.F., Deng Y.J., Zhang D.Y., Liu X., Wu S.D., Wei G.H.: Effects of Di(2-ethylhexyl) phthalate on the testis and testicular gubernaculum of fetal KM mice (Abstr). *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2009, 15, 195–199.
- Soto A.M., Justice H., Wray J.W., Sonnenschein C.: p-Nonylphenol an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene. *Environ Health Perspect.* 1991, 92, 167–173.
- Soto A.M., Sonnenschein C., Chung K.L., Fernandez M.F., Olea N., Serrano O.: The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ Health Perspect.* 1995, 103(7), 113–122.
- Soto A.M., Vandenberg L.N., Muffini M.V., Sonnenschein C.: Does breast cancer start in the womb?, *Basic Clinical Pharmacol Toxicol.* 2008, 102, 25–33.
- Struciński P., Goralczyk K., Ludwicki J.K., Czaja K., Hernik A., Korcz W.: Poziomy wybranych insektycydów, polichlorowanych bifenili, ftalanów i perfluorowanych związków alifatycznych we krwi – badanie WWF Polska. *Rocz Panstw Zakł Hig* 2006, 57, 99–112.
- Sun C., Leon L.P., Barlow P.J., Chan S.H., Bloodworth B.C.: Single laboratory validation of method for the determination bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether and its derivatives in canned foods by reserved-phase liquid chromatography. *J Chromatogr A.* 2006, 1129, 145–148.
- Swan S.H., Elkin E.P., Fenster L.: The question of declining sperm density revisited: An analysis of 101 studies published 1934–1996. *Environ Health Perspect.* 2000, 108 (10), 961–966.
- Swan S.H., Main K.M., Liu F., Stewart S.L., Kruse R.L., Calafat A.M. i wsp.: Study for future families research team: decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ. Health Perspect.* 2005, 113, 1056–1061.
- Szychowski K.A. i Wójtowicz A.K.: Składniki tworzyw sztucznych zaburzające funkcje układu nerwowego. *Postępy Hig Med. Dosw. (online)* 2013, 67, 499–506.
- Świtalska M., Strządąta L.: Niegenomowe działanie estrogenów. Non-genomic action of estrogens. *Postępy Hig Med Dosw. (online).* 2007, 61, 541–547.
- Tainaka H., Takahashi M., Umezawa H., Tanaka Y., Nishimune S., Oshio S. i wsp.: Evaluation of the testicular toxicity of prenatal exposure to bisphenol A based on microarray analysis combined with MeSH annotation. *J Toxicol Sci.* 2012, 37, 539–548.
- Takao T., Nanamiya T., Nagano I., Asaba K., Kawabata K., Hashimoto K.: Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *Life Sci.* 1999, 65, 2351–2357.
- Tan B.L.L., Kassim N.M., Mohd M.A.: Assessment of pubertal development of juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. *Toxicol Lett.* 2003, 143, 261–270.
- Timms B.G., Howdeshell K.L., Barton L., Bradley S., Richter C.A., vom Saal F.S.: Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra, *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005, 102, 7014–7019.
- Tiwari D., Vanage G.: Mutagenic effect of bisphenol A on adult rat male germ cells and their fertility. *Reprod Toxicol.* 2013, 40, 60–68.
- Toft G., Hagmar L., Giwerman A., Bonde J.P.: Epidemiological evidence on reproductive effects of persistent organochlorines in humans. *Reprod Toxicol.* 2004, 19, 5–26.
- Toyama Y., Suzuki-Toyoata F., Maekawa M., Ito C., Toshimori K.: Adverse effects of bisphenol A to spermatogenesis in mice and rats. *Arch Histol Cytol.* 2004, 67, 373–381.
- Toyama Y., Yuasa S.: Effects of neonatal administration of 17-β-estradiol 3-benzoate or bisphenol A on mouse and rat spermatogenesis. *Reprod Toxicol.* 2004, 19, 181–188.
- Tyl R.W., Myers C.B., Marr M.C., Fail P.A., Seely J.C., Brine D.R. i wsp.: Reproductive toxicity evaluation of dietary butyl benzyl phthalate (BBP) in rats. *Reprod Toxicol.* 2004, 18, 241–264.
- Tyl R.W., Myers C.B., Marr M.C., Thomas B.F., Keimowitz A.R., Brine D.R. i wsp.: Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *Toxicol Sci.* 2002, 68, 121–146.
- Tyrkiel E.J., Dobrzyńska M.M., Derezińska E., Ludwicki J.K.: Badanie wpływu ftalanu butylobenzylu (BBP) na ilość i jakość gamet męskich przy subchronicznym narażeniu myszy laboratoryjnych. *Rocz Panstw Zakł Hig.* 2007, 58 (4), 677–686.
- U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). Office of Ground Water and Drinking Water. *Drinking Water and Health* 1999.
- Uguz C., Varisli O., Agca C., Agca Y.: Effects of nonylphenol on motility and subcellular elements of epididymal rat sperm. *Reprod Toxicol.* 2009, 28 (4), 542–549.
- Vandenberg L.N., Maffini M.V., Sonnenschein C., Rubin B.S., Soto A.M.: Bisphenol A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrinol Rev.* 2009, 30, 75–95.
- Vielä J., Hartmann A., Silva E.F., Cardoso T., Corcini C.D., Varela-Junior A.S. i wsp.: Sperm impairments in adult vesper mice (*Calomys laucha*) caused by in utero exposure to bisphenol A. *Andrologia.* 2014, 46 (9), 971–978.
- Vo T.T., Jung E.M., Dang V.H., Jung R., Baek J., Choi K.C. i wsp.: Differential effects of flutamide and di-(2-ethylhexyl) phthalate on male reproductive organs in rat model. *J Reprod Develop.* 2009, 55, 400–411.
- vom Saal F.S., Cooke P.S., Buchanan D.L., Palanza P., Thayer K.A., Nagel S.C. i wsp.: A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicol Ind Health.* 1998, 14, 239–260.
- vom Saal F.S., Hughes C.: An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environ Health Perspect.* 2005, 113, 926–933.
- Walczak-Jędrzejowska R., Kula K.: Rola steroidowych hormonów płciowych jądra i ich interakcji przy wywołaniu dojrzewania kanalików plemnikotwórczych. W: *Układ płciowy meski – badania kliniczne i doświadczalne*. Red. M. Piasecka. Wyd. Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego, Szczecin 2013, 282–291.
- Wan H.T., Leung P.Y., Zhao Y.G., Wei X., Wong M.H., Wong C.K.: Blood plasma concentrations of endocrine disrupting chemicals in Hong Kong populations. *J Hazard Mat.* 2013, 261, 763–769.
- Wang X., Han X., Hou Y., Yao G., Wang Y.: Effects of nonylphenol on apoptosis of Sertoli cells in vitro. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2003, 70, 898–904.
- Wang Y.B., Song L., Zhou Z.P., Chen J.F., Wang X.R.: Effects of dibutyl phthalate on Sertoli cells of rat testis. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2005, 39, 179–181.
- Weber L.P., Kiparissis Y., Hwang G.S., Niimi A.J., Janz D.M., Metcalfe C.D.: Increased cellular apoptosis after chronic aqueous exposure to nonylphenol and quercetin in adult medaka (*Oryzias latipes*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2002, 131 (1), 51–59.

- Welshons W.V., Nagel S.C., vom Saal F.S.: Large effects from small exposures. III Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinol.* 2006, 146, 156–169.
- Wine R.N., Li L.H., Barries L.H., Gulati D.K., Chapin J.P.: A variety of environmental peristant chemicals, including some phthalate plasticizers are weakly estrogenic. *Environ Health Perspect.* 1997, 107, 102–107.
- Wong J.S., Gill S.S.: Gene expression changes induced in mouse liver by di(2-ethylhexyl)phthalate. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002, 185, 180–196.
- Wozniak M., i Murias M.: Ksenostrojeny: substancje zakłócające funkcjonowanie układu hormonalnego. *Ginecol Pol.* 2008, 79, 785–790.
- Working P.K., Bus J.S., Hamm T.E. Jr.: Reproductive effects of inhaled methyl chloride in the male Fisher 344 rat. II. Spermatogonial toxicity and sperm quality. *Toxicol Appl Pharm.* 1985, 77, 144–157.
- Wu J.J., Wang K.L., Wang S.W., Hwang G.S., Mao I.F., Chen M.L. i wsp.: Differential effects of nonylphenol on testosterone secretion in rat Leydig cells. *Toxicology.* 2010, 268, 1–7.
- Wyppych G.: Handbook of Plasticizers. ChemTec Publishing, Ontario, Canada, 2004.
- Xiao-feng Z., NaQiang Q., Jing Z., Zi L., Yang Z.: Di (n-butyl) phthalate inhibits testosterone synthesis through a glucocorticoid-mediated pathways in rats. *Int J Toxicol.* 2009, 28, 448–456.
- Ying F., Ding C., Ge R., Wang X., Li F., Zhang Y. i wsp.: Comparative evaluation of nonylphenol isomers on steroidogenesis of rat Leydig Cells. *Toxicol In Vitro.* 2012, 26 (7), 1114–1121.
- Zhang G.L., Zhang X.F., Feng Y.M., Li L., Huynh E., Sun X.F. i wsp.: Exposure to bisphenol A results in decline in mouse spermatogenesis. *Reprod Fertil Dev.* 2013, 25 (6), 847–859.
- Hang H., Zeng Y., Cheng W., Wu D.: Adverse effects of nonylphenol on the reproductive function of adult male SD rats. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2003, 34, 292–297.
- Zhang X.F., Zhang T., Wang L., Zhang H.Y., Chen Y.D., Qin X.S. i wsp.: Effect of diethylhexyl phthalate (DEHP) given neonatally on spermatogenesis of mice. *Mol Biol Rep.* 2013, 40, 6509–6517.
- Zhang Y., Jiang X., Chen B.: Reproductive and developmental toxicity in F1 Sprague-Dawley male rats exposed to di-n-butyl phthalate in utero and during lactation and determination of its NOAEL. *Reprod Toxicol.* 2004, 18, 669–676.
- Zhou D., Wang H., Zhang J.: Di-n-butyl phthalate (DBP) exposure induces oxidative stress in epididymis of adult rats. *Toxicol Ind Health.* 2011, 27 (1), 65–71.
- Zolfaghari M., Drogui P., Seyhi B., Brar S.K., Bueina G., Dube R.: Occurrence fate and effects of Di (2-ethylhexyl) phthalate in wastewater treatment plants: A review. *Environ Pollut.* 2014, 194, 281–292.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.andrologia-pta.com.pl>

ANDROLOGIA KLINICZNA – sprawozdanie z przebiegu szkolenia, egzaminu oraz konferencji w ramach Europejskiej Akademii Andrologii

Lek. med. Marta Sochaj, androlog kliniczny Europejskiej Akademii Andrologii

I Klinika Urologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. Wojskowej Akademii Medycznej – Centralny Szpital Weteranów; Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Marek Sosnowski

Andrologia (gr. *andros* – mężczyzna) jest dziedziną medycyny zajmującą się męskim zdrowiem reprodukcyjnym, w szczególności schorzeniami takimi jak niepłodność oraz dysfunkcje seksualne. Dosłownie oznacza naukę o mężczyznach i jest odpowiednikiem ginekologii – nauki o żeńskim układzie płciowym. W praktyce wyodrębniła się na pograniczu endokrynologii, urologii, seksuologii oraz pediatrii. Ta relatywnie młoda dziedzina jest wyzwaniem dla lekarzy ze względu na swoją wielokierunkowość. Pacjenci z problemami andrologicznymi zgłaszają się do poradni i oddziałów urologicznych, jak również do poradni i klinik leczenia niepłodności, gdzie nierzadko jedynym lekarzem, z jakim się spotykają, jest specjalista ginekologii i położnictwa, którego działanie sprowadza się do oceny wyniku badania nasienia. Część chorych nie zgłasza się w ogóle ze względu na zawstydzenie, niewiedzę lub brak ośrodków, do których mogą się zgłosić – dla wielu mężczyzn problemy andrologiczne wciąż stanowią temat tabu.

Pomimo informacji, że są w Polsce androlodzy, taka specjalność lekarska oficjalnie nie istnieje. Jedyną

możliwością zdobycia certyfikatu androloga klinicznego jest specjalizacja europejska. W Polsce lekarzy różnych specjalności zainteresowanych andrologią integruje Polskie Towarzystwo Andrologiczne (PTA), które kładzie nacisk zarówno na rozwój kliniczny, jak i naukowy w zakresie fizjologii i patologii męskiego układu płciowego. Towarzystwo to powstało w 1994 r. Założycielem i pierwszym przewodniczącym był prof. dr hab. n. med. Krzysztof Kula z Katedry Andrologii i Endokrynologii Płodności Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Funkcję przewodniczącej PTA pełni w obecnej kadencji prof. dr hab. n. med. Jolanta Słowikowska-Hilczner z Łodzi, sekretarza – prof. dr hab. n. med. Maria Laszczyńska ze Szczecina, skarbnika – dr n. med. Renata Walczak-Jędrzejowska. Członkowie PTA są równocześnie członkami Międzynarodowego Towarzystwa Andrologicznego (ang. *International Society of Andrology*, www.andrology.org). Polskie Towarzystwo Andrologiczne organizuje coroczne konferencje o charakterze naukowo-szkoleniowym, którym towarzyszą praktyczne warsztaty m.in. metod badania nasienia. Więcej informacji



Kandydaci tuż po egzaminie z andrologii klinicznej w 2014 r. wraz z członkami komisji egzaminacyjnej



Prof. E. Nieschlag podczas wykładu pt.: „Abuse of Androgens”

o działalności PTA można znaleźć na stronie internetowej www.andrologia-pta.com.pl.

Od 1992 r. istnieje Europejska Akademia Andrologii (EAA, ang. *European Academy of Andrology*) zrzeszająca osoby zainteresowane tą dziedziną oraz aktywne zawodowo w jej obrębie. Jest to organizacja non-profit, która ma na celu promowanie badań naukowych w dziedzinie andrologii oraz edukację lekarzy i społeczeństwa, aby przybliżyć problem zdrowia reprodukcyjnego mężczyźni. Naukowy zakres działania EAA ma zasięg światowy, jednak głównym terenem działań organizacyjnych jest Europa. Założycielem i pierwszym prezesem był prof. Eberhard Nieschlag z Instytutu Medycyny Rozrodu Westfalskiego Uniwersytetu Wilhelma w Münster (niem. *Westfälische Wilhelms-Universität Münster*). Obecnie prezesem EAA jest prof. Csilla Krausz z Włoch, sekretarzem prof. Dimitrios Goulis z Grecji, skarbnikiem prof. Herman M. Behre z Niemiec. Więcej informacji można znaleźć na stronie www.andrologyacademy.net.

Od 1995 r. istnieje Polskie Centrum Kształcenia Klinicznego Europejskiej Akademii Andrologii przy Katedrze Andrologii i Endokrynologii Płodności Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (kierownik prof. Krzysztof Kula). Działalność Centrum podlega zewnętrznej kontroli merytorycznej i jakości badań diagnostycznych przeprowadzanych przez Komisję Akredytacji Centrów EAA. Europejska Akademia Andrologii afiliowała już 23 swoje centra (L'Aquila, Ancona, Barcelona, Bonn, Budapeszt, Florencja, Münster, Malmö, Kopenhaga, Rotterdam, Łódź, Rzym, Gießen, Gent, Lipsk, Bruksela, Leuven, Katania, Sztokholm, Manchester, Tartu, Los Angeles, Halle), w których prowadzone są szkolenia z andrologii klinicznej, andrologicznej diagnostyki laboratoryjnej, a także nauk podstawowych w dziedzinie andrologii. W Łodzi prowadzone są cykliczne szkolenia dla lekarzy i diagnostów laboratoryjnych. Informacje znajdują się na stronie www.andrologia-eaa.umed.lodz.pl.

Europejska Akademia Andrologii przeprowadza co roku międzynarodowe egzaminy specjalizacyjne z andrologii klinicznej dla lekarzy, zwykle przy okazji kongresu o tematyce andrologicznej. Do egzaminu dopuszczani są kandydaci, którzy są urologami lub

endokrynologami (wyjątkowo z innymi specjalizacjami, ale pracujący w tej dziedzinie) i odbyli staż w jednym z centrów EAA oraz są przez to Centrum oficjalnie rekomendowani. Egzamin odbywa się w języku angielskim. Składa się z części pisemnej (od 2014 r. test jednokrotnego wyboru, 60 pytań) oraz ustnej (rozmowa na temat przypadków przedstawionych w formie opisu: diagnostyka, rozpoznanie, leczenie) i praktycznej (interpretacja obrazów histopatologicznych jąder i obrazów ultrasonograficznych męskiego układu płciowego). Egzamin jest płatny. W ubiegłym roku podczas 8. Europejskiego Kongresu Andrologicznego w Barcelonie tytuł zdobyli dr n. med. Michał Kupś ze Szczecina, dr n. med. Marta Sochaj z Łodzi oraz dr n. med. Tomasz Purwin z Giżycka. Dotychczas w Polsce specjalizację EAA z andrologii klinicznej uzyskało łącznie 8 osób: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Kula w 1994 r.; prof. dr hab. n. med. Jolanta Słowikowska-Hilcher w 1999 r.; dr n. med. Elżbieta Oszukowska (FEBU, *Fellow of European Board of Urology*) w 2000 r.; dr n. med. Marek Ciesielski w 2010 r.; dr n. med. Piotr Świniarski (FEBU) w 2012 r.

Szkolenie trwa obecnie 18 miesięcy i składa się z: 1) kursów szkoleniowych obejmujących zagadnienia andrologii klinicznej w Centrach EAA, 2) praktyki klinicznej w poradni andrologicznej i urologicznej (wskazana praktyka także w poradni endokrynologicznej, leczenia niepłodności, genetycznej), 3) kursów lub warsztatów z badania nasienia, 4) uczestnictwa w konferencjach o tematyce andrologicznej, 5) wskazane jest opublikowanie pracy naukowej. Należy zapoznać się z rekomendowanymi pozycjami piśmiennictwa.

Do przygotowania do egzaminu polecane są podręczniki: *Andrology. Male reproductive health and dysfunction*. Red. Nieschlag E., Behre H.M., Nieschlag S. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, 2010; *Clinical andrology. EAU/ESAU course guidelines*. Red. Bjorndahl L., Giwercman A., Tournaye H., Weidner W. Informa Health, 2010.

Polecane jest również zapoznanie się z czasopismami naukowymi o tematyce andrologicznej: *Andrology*, *Asian Journal of Andrology* i *Andrologia*.

Wiedza z zakresu andrologii jest wymagana także do specjalizacji z urologii i jest zawarta w wytycznych



Dr n. med. Renata Walczak-Jędrzejowska odbiera nagrodę z rąk prof. Csilla Krausz, Przewodniczącej EAA



Slajd z wykładu inauguracyjnego prof. Csilla Krausz obrazujący multidyscyplinarność andrologii

Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU, ang. *European Association of Urology*) dostępnych na stronie <http://www.uroweb.org/guidelines/online-guidelines/>. Informacje na tematy andrologiczne można znaleźć w rozdziałach: *Male Sexual Dysfunction*, *Male Infertility*, *Male Hypogonadism*, *Priapism*, *Penile Curvature*, *Testicular Cancer*, *Penile Cancer*, *Urological Infections* i *Pediatric Urology*.

Europejska Szkoła Urologii (ESU, ang. *European School of Urology*) pod postacią wykładów i kursów naucza o najnowszych doniesieniach i standardach postępowania podczas konferencji europejskich, jak i podczas corocznego kursu w Pradze (EUREP, ang. *European Urology Residents Education Programme*), przed egzaminem specjalizacyjnym z urologii (EBU, ang. *European Board of Urology*). W ramach kursów do specjalizacji z urologii również znajduje się tematyka andrologiczna.

W ubiegłym roku egzamin odbył się podczas 8. Europejskiego Kongresu Andrologicznego w Barcelonie w Hiszpanii w dniach 15–17 października 2014 r. Kongres składał się z czterech sesji plenarnych: 1) *Testicular cancer: fate or bad luck*; 2) *From the epididymis to the egg*; 3) *The bright side of the male gamete: the telomere length*; 4) *Spermatogonial stem cell preservation and transplantation anno 2014: what every clinician should know*. W programie znalazło się dziesięć sesji tematycznych: 1) *Sexual development and gender identity*; 2) *Male sexuality*; 3) *Prostate: news and views*; 4) *Bone testis cross talk*; 5) *Imaging in andrology*; 6) *From basic to clinical andrology*; 7) *Androgens and SARM (selective androgen receptor modulator)*; 8) *Session of the INYRMF (International Network of Young Researchers in Male Fertility)*; 9) *Infertility I: genetics and epigenetics*; 10) *Infertility II: Drugs and reproductive health*. Podczas kongresu odbyły się również kursy szkoły EAA/EAU, cieszące się bardzo dużym zainteresowaniem 1) *Sperm retrieval in non-obstructive azoospermia*; 2) *Peyronie's Disease*; 3) *Varicocele*. W konferencji wzięło udział ok. 500 uczestników, głównie z Europy, w tym 21 osób z Polski. Polskim sukcesem była nagroda dla dr n. med. Renaty Walczak-Jędrzejowskiej z Łodzi za najlepszą pracę w sesji posterowej („*Hormonal modulation of androgen receptor density in developing testis versus initiation of spermatogenesis*”). Konferencja obfitowała w najnowsze doniesienia z dziedziny andrologii i prowokowała do dyskusji. Kandydaci do egzaminu część czasu poświęcili na ostatnie powtórki. Egzamin zdawało



Plakat 8. Europejskiego Kongresu Andrologicznego

10 osób z różnych krajów europejskich. Wśród zdających byli endokrynolodzy i urolodzy. Podobnie, członkowie międzynarodowej komisji egzaminacyjnej reprezentowali te dziedziny. Ponieważ szkolenie odbywa się w akredytowanych ośrodkach EAA, poziom przygotowania merytorycznego, kandydatów z różnych ośrodków był równie wysoki, dzięki czemu wszyscy uzyskali certyfikat androloga klinicznego EAA. W Polsce ze względu na zmianę organizacji systemu specjalizacji pojawiają się nowe możliwości kształcenia lekarzy w różnych dziedzinach. Wierzymy, że dla urologów pojawi się możliwość szerszego kształcenia w dziedzinie andrologii. Byłaby to szansa na zdobycie wielokierunkowej wiedzy niezbędnej do holistycznego i nowoczesnego podejścia do pacjenta. W rękach urologów andrologia może stać się użytecznym narzędziem w opiece nad zdrowiem rodzczym i seksualnym mężczyzn.

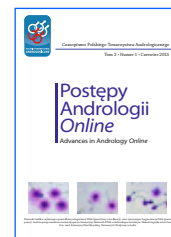


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.andrologia-pta.com.pl>



KONFERENCJA POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO 17. DZIEŃ ANDROLOGICZNY Poznań, 16–17.10.2015 www.pta2015.pl

Szanowni Państwo,
Drogie Koleżanki i Koledzy,

Z wielką radością chcielibyśmy zaprosić do udziału w Konferencji Polskiego Towarzystwa Andrologicznego – 17. Dniu Andrologicznym, która odbędzie się w dniach 16–17 października 2015 roku w stolicy Wielkopolski, w Poznaniu.

Tematyka sympozjum dotyczyć będzie aktualnych zagadnień andrologii klinicznej, postępów w diagnostyce andrologicznej oraz najnowszych odkryć z zakresu nauk podstawowych związanych z męskim układem płciowym. Szczególny nacisk położony zostanie na tematy interdyscyplinarne. Zaproszeni zostaną wykładowcy krajowi i zagraniczni o bogatym dorobku w zakresie prezentowanej

tematyki. Jesteśmy przekonani, że poruszane zagadnienia spotkają się z dużym zainteresowaniem wszystkich zajmujących się andrologią w zakresie nauk podstawowych, diagnostyki laboratoryjnej, jak i praktyków klinicznych.

Miejszem obrad będzie Hotel Poznański w Luboniu.

Prof. dr n. med. *Piotr Jędrzejczak*
Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego

Prof. dr n. med. *Jolanta Słowikowska-Hilczer*
Przewodnicząca Komitetu Naukowego



KONFERENCJA
POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO
POZNAŃ 16–17 PAŹDZIERNIKA 2015 R.

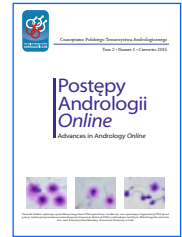


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.andrologia-pta.com.pl>



AKTUALNOŚCI SYMPOZJALNE

XLIX Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików
Współczesne techniki mikroskopowe i molekularne w biologii i medycynie
9-12 września 2015, Międzyzdroje
Organizatorzy przewidują sesję poświęconą biologii rozrodu
www.pthc2015.kongresy.com.pl

ASRM 2015 – 71st Annual Meeting of the ASRM
17-21 października 2016, Baltimore, USA

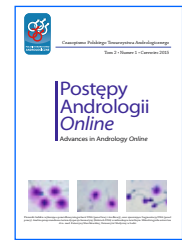
XXI Zjazd Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego
15-17 września 2016, Katowice

9th European Congress of Andrology
21-23 września 2016, Rotterdam, Holandia

11th International Congress of Andrology
Kopenhaga, 2017



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online**Advances in Andrology Online**<http://www.andrologia-pta.com.pl>

INSTRUKCJE DLA AUTORÓW

Informacje ogólne

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

Zasady recenzowania prac

Nadsyłane manuskrypty wstępnie ocenia Komitet Redakcyjny czasopisma. Manuskrypty niekompletne lub przygotowane w stylu niezgodnym z zasadami podanymi poniżej Redakcja odsyła Autorom bez oceny merytorycznej. Pozostałe artykuły zostają zarejestrowane i są następnie przekazywane do oceny dwóm niezależnym recenzentom, z zachowaniem anonimowości autorów pracy i recenzentów. Przyjęcie pracy odbywa się na podstawie pozytywnych opinii obydwóch recenzentów. W przypadku rozbieżnych opinii Redakcja prosi o opinię trzeciego recenzenta. Autorzy zobowiązani są odnieść się do uwag recenzentów w ciągu 3 tygodni od daty otrzymania recenzji. Wszelka korespondencja z Autorami odbywa się drogą e-mailową.

Konflikt interesów

W pracy powinny być ujawnione wszelkie zobowiązania finansowe między Autorami i firmą, której produkt ma istotne znaczenie w nadesłanej pracy. Informacje te nie będą ujawniane recenzentom i nie wpłyną na decyzję o opublikowaniu pracy. Po akceptacji manuskryptu

informacje o źródłach finansowania powinny być umieszczone w stopce na pierwszej stronie manuskryptu.

Informacje o prawach autorskich

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

Ochrona danych osobowych

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

Sposób przygotowania manuskryptu

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

Wszystkie prace odnoszące się do badań na ludziach lub zwierzętach muszą być zaakceptowane przez odpowiednią Komisję Etyczną. Informacja o zgodzie właściwej Komisji Etycznej na przeprowadzenie badania i świadomej zgodzie pacjentów na udział w badaniu powinna znaleźć się w rozdziale „Materiał i metody” w każdej pracy. Autorzy opisów przypadków są zobowiązani do nieujawniania personaliów opisywanych pacjentów, a w przypadku fotografii umożliwiających identyfikację pacjenta zawsze należy uzyskać pisemną zgodę pacjenta na publikację jego wizerunku.

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

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

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

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

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

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

Streszczenie powinno zawierać najistotniejsze informacje wprowadzające czytelnika w publikowaną tematykę oraz wnioski końcowe (do 250 wyrazów). Nie należy używać skrótów.

Tekst podstawowy

Artykuł poglądowy powinien zawierać przegląd informacji z danej tematyki publikowanych w ostatnich pięciu latach (80%) oraz w latach wcześniejszych (20%). Dopuszczalna liczba pozycji piśmiennictwa to 40. W manuskrypcie autorzy powinni zawrzeć własne przemyślenia, opinie i wnioski, a istotne informacje przedstawić w postaci schematów, tabel i rycin. Ponadto, artykuł mogą wzbogacić wyniki badań autorskich. Liczba stron manuskryptu łącznie z tabelami i rycinami nie powinna być większa niż 20.

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

Praca kazuistyczna to krótka forma publikacji prezentująca ciekawe przypadki kliniczne i ich omówienie

oparte na własnych doświadczeniach praktyka klinicyisty i doświadczeniach innych autorów. Streszczenie nie powinno przekraczać 150 wyrazów, Wstęp powinien zawierać nie więcej niż dwa krótkie akapity, Materiał i Metody nie powinny być podzielone na podrozdziały, a Wyniki, Dyskusja i Podsumowanie powinny stanowić jeden rozdział. Liczba rycin i tabel ograniczona do 2–3, piśmiennictwa do 10. Liczba stron manuskryptu nie powinna być większa niż 10.

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

Artykuł będący tłumaczeniem publikacji z języka angielskiego powinien dotyczyć najnowszych i istotnych pozycji piśmiennictwa anglojęzycznego. Należy dołączyć zgodę redaktora naczelnego czasopisma, w którym artykuł został opublikowany i autora na tłumaczenie artykułu. Streszczenie artykułu powinno zawierać treść istotną do przekazania dla czytelników polskich (do 250 wyrazów).

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

Piśmiennictwo należy podać w kolejności alfabetycznej, nie wprowadzając kolejnych numerów. Każdą pozycję piśmiennictwa należy zapisywać od nowej linii. Należy podać nazwisko autora (autorów) pisane kursywą z inicjałami imion, po których stawiana jest kropka. Jeśli jest do sześciu autorów, należy przytoczyć wszystkich. Powyżej tej liczby należy podać pierwszych sześciu autorów z dopiskiem i wsp. Tytuły periodyków powinny być skracane zgodnie ze sposobem przyjętym w Index Medicus (Medline).

Oto przykłady, jak należy cytować książkę: 1) w całości, 2) fragment konkretnego rozdziału wraz z podaniem numerów stron, 3) i 4) oryginalną pracę naukową:

1. Semczuk M., Kurpisz M. (red.): Andrologia. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2006.
2. Woźniak W., Bruska M., Kromer P.: Pęcherzyki nasienne, gruczoł krokowy i gruczoły cewkowo-opuszkowe. W: Andrologia. Red. M. Semczuk, M. Kurpisz. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2006, 94–89.
3. Bungum M., Bungum L., Giwercman A.: Sperm chromatin structure assay (SCSA): a tool in diagnosis and treatment of infertility. *Asian J Androl.* 2011, 13, 69–75.
4. Cheng C.Y., Wong E.W., Lie P.P., Li M.W., Su L., Siu E.R. i wsp.: Environmental toxicants and male reproductive function. *Spermatogenesis.* 2011, 1, 2–13.

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

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

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

Materiał ilustracyjny obejmuje ryciny (wykresy, diagramy, zdjęcia, schematy) oraz tabele opatrzone tytułami i podpisami. W przypadku rycin zarówno tytuł, jak i opis powinny być umieszczone pod rycinami, a w przypadku tabel nad tabelami. Tytuł tabeli należy wytłuszczyć. Podpisy rycin i tabel oraz ich tytuły, a także informacje wewnętrzne na rycinach i w tabelach należy podać w języku polskim i angielskim (dotyczy prac w języku polskim). Ryciny i tabele powinny być opatrzone numerami zgodnie z kolejnością odniesień w tekście. Osobną numerację posiadają ryciny i osobną tabele (numery arabskie). Skrót Ryc. (pisany kursywą) wprowadzamy w podpisie pod rycinami, natomiast w tytule tabeli nie stosujemy skrótu Tab., lecz Tabela. Nie stosujemy w tekście podstawowym skrótów ryc. lub tab., lecz rycina lub tabela.

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

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

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

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

■ Przesyłanie prac do Redakcji

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

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

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

■ Inne uwagi

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