



e-ISSN 2353-8791

ICV = 69,63

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology

Tom 8 • Numer 1 (Suplement 1) • Czerwiec 2021
Volumin 8 • Number 1 (Supplement 1) • June 2021

Postępy Andrologii *Online*

Advances in Andrology *Online*

KONFERENCJA PTA 2021
22. DZIEŃ ANDROLOGICZNY
14-15 / 05 / 2021

KONFERENCJA
HYBRYDOWA

Hotel Radisson Collection
ul. Grzybowska 24 Warszawa

 Online



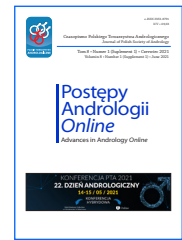


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny:

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

Zastępca redaktora naczelnego:

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

Redaktor pomocniczy:

dr n. med. *Kamil Gill*, Szczecin

Sekretarz redakcji:

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

Skarbnik redakcji:

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

Członkowie komitetu redakcyjnego:

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

dr n. med. **Leszek Bergier**, Kraków

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

lek. **Jan Karol Wolski**, Warszawa

Adres redakcji:

Zakład Histologii i Biologii Rozwoju

Wydział Nauk o Zdrowiu

Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

71-210 Szczecin ul. Żołnierska 48

tel. 91 48 00 917, 91 48 00 908

e-mail: mpiasecka@ipartner.com.pl

Projekt graficzny:

Waldemar Jachimczak

Małgorzata Piasecka

Kamil Gill

Korekta języka polskiego:

Małgorzata Piasecka

Kamil Gill

Korekta języka angielskiego:

Małgorzata Piasecka

Kamil Gill

Skład i łamanie:

Waldemar Jachimczak

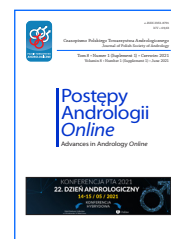


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



KONFERENCJA POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO – 22. DZIEŃ ANDROLOGICZNY

Konferencja hybrydowa

SYMPOSIUM OF SCIENTIFIC TRAINING
OF THE POLISH SOCIETY OF ANDROLOGY –
22nd DAY OF ANDROLOGY

Hybrid Conference

Warszawa/Warsaw, 14–15.05.2021; www.pta2020.pl

Komitet organizacyjny/Organizing committee

Przewodniczący: **prof. Grzegorz Jakiel**

Członkowie: **dr Szymon Bakalczuk,**
dr Kornelia Zaręba

Współorganizator/Co-organizer

Sekcja Andrologii PTGiP

Komitet naukowy/Scientific committee

Przewodniczący: **prof. Grzegorz Jakiel**

Członkowie: **prof. Michał Rabijewski**
dr Szymon Bakalczuk

Miejsce obrad/Symposium venue

Radisson Collection Hotel, ul. Grzybowska 24, 00-863 Warszawa

Biuro obsługi sympozjum/Symposium organization



Batumi Conference & Event Agency Sp. z o.o.

ul. Sielanki 9a, 02-946 Warszawa

tel.: 22 885 89 47

e-mail: biuro@batumi-agency.pl

PROGRAM

14.05.2021 Piątek

11.00–12.00	Zebranie Zarządu Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
13.15–13.30	Rozpoczęcie XXII Dnia Andrologicznego <i>dr Szymon Bakalczuk – Przewodniczący PTA</i>
13.30–13.45	Wręczenie Nagrody im. Prof. Michała Bokińca <i>dr Szymon Bakalczuk, prof. Grzegorz Jakiel</i>
13.45–14.05	Wykład Laureata Age-related changes in human sperm DNA integrity (Aging. 2019, 11(15), 5399–5411) <i>dr Aleksandra Rosiak-Gill</i>
14.05–14.45	Wykład Inauguracyjny <i>Przewodniczący: dr Szymon Bakalczuk, prof. Grzegorz Jakiel</i> Rekomendacje EAA dotyczące postępowania w zespole Klinefeltera <i>prof. Jolanta Słowikowska-Hilczler</i>
14.45–16:25	Sesja Plenarna I – Hipogonadyzm <i>Przewodniczący: prof. Marek Mędraś, prof. Michał Rabijewski</i>
14.45–15.05	Late Onset Hypogonadism – aktualne poglądy na rozpoznawanie i leczenie <i>prof. Michał Rabijewski</i>
15.05–15.25	Niepłodność w hipogonadyzmie – współczesne poglądy na leczenie gonadotropinami <i>prof. Stanisław Horak</i>
15.25–15.45	Receptor androgenowy i zespoły niewrażliwości na androgeny <i>prof. Michał Rabijewski</i>
15.45–16.05	Problemy internistyczne mężczyzn hipogonadalnych <i>prof. Jolanta Małyszko</i>
16.05–16.25	Życie seksualne mężczyzn hipogonadalnych <i>dr Kornelia Zaręba</i>
16.25–16.40	Przerwa kawowa
16.40–17.25	Wykład Plenarny I <i>Przewodniczący: prof. Grzegorz Jakiel</i> Była płeć, a pozostało stężenie testosteronu <i>prof. Marek Mędraś</i>
17.25–20.15	Sesja Plenarna II – Andrologia podstawowa i doświadczalna <i>Przewodniczący: dr hab. Małgorzata Piasecka, dr hab., prof. IGC PAN Monika Frączek</i>
17.25–17.50	Wpływ zakażeń wirusem SARS-CoV-2 (COVID-19) na zdrowie reprodukcyjne mężczyzn <i>prof. Maciej Kurpisz, dr hab., prof. IGC PAN Monika Frączek</i>
17.50–18.15	Łysienie androgenowe a zdrowie mężczyzn <i>prof. Mariola Marchlewicz, dr Ewa Duchnik</i>
18.15–18.40	Niekodujące RNA plazmy nasiennej jako diagnostyczny i prognostyczny biomarker niepłodności męskiej <i>prof. Małgorzata Kotwicka, mgr Weronika Tomaszewska</i>

18.40–19.00	Hormon antymüllerowski i inhibina B – znaczenie w diagnostyce andrologicznej <i>dr hab. Renata Walczak-Jędrzejowska</i>
19.00–19.20	Prognostyczne znaczenie testów czynnościowych w rozrodzie <i>dr hab. Katarzyna Marchlewska</i>
19.20–19.40	Analiza NGS (sekwencjonowanie nowej generacji) w diagnostyce niepłodności męskiej <i>dr hab. Marzena Skrzypczak-Zielińska, dr hab., prof. IGC PAN Monika Frączek</i>
19.40–20.00	Znaczenie uszkodzeń chromatyny plemników ludzkich w warunkach zapłodnienia pozaustrojowego <i>dr Kamil Gill, dr Aleksandra Rosiak-Gill, dr hab. Małgorzata Piasecka</i>
20.00–20.15	Mikroflora jelitowa i choroby jelit a rak i rozrost gruczołu krokowego <i>mgr Weronika Ratajczak, dr hab., prof. PUM Olimpia Sipak, prof. Maria Laszczyńska</i>
20.30	Welcome Reception

15.05.2021 Sobota

9.00–10.20	Sesja Plenarna III – Niepłodność męska I <i>Przewodniczący: prof. Piotr Jędrzejczak, prof. Artur Wdowiak</i>
9.00–9.20	Planowanie postępowania z mężczyzną niepłodnym <i>prof. Grzegorz Jakiel</i>
9.20–9.40	Empiryczne metody leczenia męskiej niepłodności <i>dr Szymon Bakalczuk, dr Grzegorz Bakalczuk</i>
9.40–10.00	Azoospermia, diagnostyka i planowanie postępowania <i>prof. Piotr Jędrzejczak</i>
10.00–10.20	Mikrochirurgiczne pozyskiwanie plemników <i>lek. Jan K. Wolski</i>
10.20–10.40	Przerwa kawowa
10.40–13.05	Sesja Plenarna IV – Niepłodność męska II <i>Przewodniczący: prof. Stanisław Horak, prof. Roman Kotzbach</i>
10.40–11.00	Immunologiczne aspekty niepłodności męskiej <i>dr Katarzyna Jankowska</i>
11.00–11.20	OAT – nowe rekomendacje Europejskiej Akademii Andrologii <i>prof. Artur Wdowiak</i>
11.20–11.40	Fragmentacja DNA plemników – diagnostyka i postępowanie <i>prof. Krzysztof Łukaszuk</i>
11.40–12.00	Badania obrazowe w niepłodności męskiej <i>prof. Paweł Wieczorek</i>
12.00–12.20	Skuteczność synergicznego połączenia L-karnityny i acetyl-L-karnityny w leczeniu niepłodności męskiej <i>prof. Grzegorz Jakiel</i>
12.20–13.05	Żyłki powrózka nasiennego (debata) – złoty standard to: Embolizacja <i>prof. Radziław Pietura</i> Mikrochirurgia <i>dr Łukasz Kupis</i> <i>Moderator: prof. Grzegorz Jakiel</i>
13.05–13.35	Przerwa lunchowa

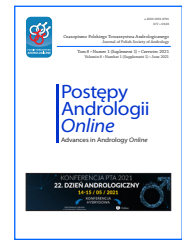
13.35–14.55	Sesja Plenarna V Urologia i Andrologia <i>Przewodniczący: prof. Barbara Darewicz, lek. Jan Karol Wolski</i>
13.35–13.55	Choroby prącia diagnostyka i postępowanie <i>prof. Barbara Darewicz</i>
13.55–14.15	Choroby nienowotworowe gruczołu krokowego leczenie farmakologiczne i operacyjne <i>dr Marek Zawadzki</i>
14.15–14.35	Rak gruczołu krokowego – diagnostyka i planowanie leczenia <i>prof. Jakub Dobruch</i>
14.35–14.55	Substytucja testosteronu po leczeniu gruczołu krokowego <i>prof. Tomasz Demkow</i>
14.55–15.10	Przerwa kawowa
15.10–17.00	Sesja specjalna – Benefis naukowy Prof. Barbary Bilińskiej <i>Przewodniczący: prof. Jolanta Słowikowska-Hilczner, prof. Grzegorz Jakiel, dr Szymon Bakalczuk</i>
15.10–15.20	Wprowadzenie do sesji <i>prof. Barbara Bilińska</i>
15.20–15.40	Nieklasyczna sygnalizacja estrogenowa w tkance interstycjalnej jądra <i>dr hab., prof. UR Małgorzata Kotula-Balak, dr Agnieszka Miłoś, dr Piotr Pawlicki, dr Ewelina Górowska-Wójtowicz, mgr Michał Duliban, prof. Barbara Bilińska</i>
15.40–15.50	Aktywność steroidogenna komórek Leydiga a ultrastruktura ich mitochondriów po ekspozycji szczurów na flutamid <i>mgr Małgorzata Brzoskwinia, dr Laura Pardyak, dr Alicja Kamińska, dr hab., prof. UJ Wacław Tworzydło, dr hab., prof. UJ Anna Hejmej, mgr Sylwia Marek, prof. Barbara Bilińska</i>
15.50–16.05	Bezpośrednia komunikacja międzykomórkowa w nabłonku plemnikotwórczym i jej funkcjonowanie w warunkach ograniczonego dostępu androgenów <i>dr hab., prof. UJ Anna Hejmej, dr Alicja Kamińska, mgr Sylwia Marek, prof. Barbara Bilińska</i>
16.05–16.15	Rola i regulacja hormonalna białek z rodziny Jagged i Delta-like w komórkach Sertolego gryzoni <i>dr Alicja Kamińska, mgr Sylwia Marek, mgr Małgorzata Brzoskwinia, dr Laura Pardyak, dr hab., prof. UJ Anna Hejmej, prof. Barbara Bilińska</i>
16.15–16.25	Hormon folikulotropowy (FSH) reguluje sygnalizację Notch w jądrze szczura w okresie dojrzewania płciowego <i>mgr Sylwia Marek, dr Alicja Kamińska, mgr Małgorzata Brzoskwinia, dr Laura Pardyak, dr hab., prof. UJ Anna Hejmej, prof. Barbara Bilińska</i>
16.25–16.35	Znaczenie równowagi hormonalnej w tkankach reprodukcyjnych indora z syndromem żółtego nasienia <i>dr Laura Pardyak, dr Alicja Kamińska, mgr Małgorzata Brzoskwinia, dr hab., prof. UJ Anna Hejmej, dr hab., prof. UR Małgorzata Kotula-Balak, prof. Jan Jankowski, dr hab. Mariola Słowińska, prof. Andrzej Cierieszko, prof. Barbara Bilińska</i>
16.35–16.50	Genetyczna kontrola funkcjonowania komórek jądra w stanie zdrowia i choroby <i>mgr Michał Duliban, dr Piotr Pawlicki, dr Agnieszka Miłoś, dr Ewelina Górowska-Wójtowicz, prof. Barbara Bilińska, dr hab., prof. UR Małgorzata Kotula-Balak</i>
16.50–17.00	Zakończenie 22. Dnia Andrologicznego <i>dr Szymon Bakalczuk</i>



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

KONFERENCJA POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO – 22. DZIEŃ ANDROLOGICZNY

Konferencja hybrydowa

Warszawa, 14–15.05.2021; www.pta2020.pl

DOI: 10.26404/PAO_2353-8791.2021.01

Streszczenia wykładów

Szymon Bakalczuk¹, Grzegorz Bakalczuk²

EMPIRYCZNE METODY LECZENIA MĘSKIEJ NIEPŁODNOŚCI

¹Ovum Rozrodczość i Andrologia, Lublin, ²Zakład Położnictwa, Ginekologii i Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
e-mail: szymonbakalczuk@o2.pl

Wiele obecnych badań wykazało, że niedobór w organizmie mężczyzny mikroelementów, antyoksydantów czy witamin wyraźnie wpływa na obniżenie parametrów nasienia takich jak ruchliwość czy liczba plemników, co może powodować obniżenie płodności u mężczyzn, u których występują niedobory tych elementów. W związku z tym wydaje się zasadne podawanie suplementów diety zawierających brakujące elementy takie jak cynk, miedź, selen, L-karnityna, koenzym Q10, kwas foliowy (Ali i wsp.: *Andrologia*. 2021, 53 (1), e13644; Busetto i wsp.: *Andrologia* 2020, 52(3), e13523; Busetto i wsp.: *Andrologia*. 2018, 50(3), e12927)). Badania przeprowadzone przez wielu autorów na mężczyznach, u których stwierdzono problemy z płodnością spowodowane obniżonymi parametrami nasienia potwierdziły, że stosowanie suplementów diety może wyraźnie poprawić jakość nasienia tych mężczyzn i przyczynić się do uzyskania przez nich upragnionego potomstwa. Obecnie na polskim

rynku dostępnych jest kilka suplementów diety proponowanych mężczyznom starającym się o potomstwo, które poprawiają ruchliwość, liczbę plemników, ich morfologię oraz objętość niesienia. Preparaty te nie są jednoskładnikowe, ale zawierają wiele składników, wzajemnie uzupełniających się i wzmagających swoje działanie. Dostępne na rynku preparaty różnią się od siebie nie tylko składem, ale także ilością zawartych w nich elementów.

Małgorzata Brzoskwinia¹, Laura Paradyk²,
Alicja Kamińska¹, Waław Tworzydło³, Anna Hejmej¹,
Sylvia Marek¹, Barbara Bilińska¹

AKTYWNOŚĆ STEROIDOGENNA KOMÓREK LEYDIGA A ULTRASTRUKTURA ICH MITOCHONDRIOW

¹Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, ²Ośrodek Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ³Zakład Biologii Rozwoju i Morfologii Bezkręgowców, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
e-mail: m.brzoskwinia@doctoral.uj.edu.pl

Androgeny, w tym testosteron, odgrywają kluczową rolę w regulacji męskich funkcji reprodukcyjnych, wywołując



Opublikowane treści są udostępniane na podstawie Licencji Creative Commons BY NC ND 3.0 Polska:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.pl>

biologiczne efekty dzięki wiązaniu z receptorami androgenowymi (AR, ang. *androgen receptor*). Głównym źródłem wewnątrzjądrowego testosteronu są komórki Leydiga, które, tak jak inne komórki steroidogenne, syntetyzują testosteron z cholesterolu. Transport cholesterolu do mitochondriów i kolejne konwersje steroidów do testosteronu wymagają obecności specyficznych białek i enzymów (Haider: *Int Rev Cytol.* 2004, 233, 181–241). Należy podkreślić, że prawidłowa produkcja androgenów jest uwarunkowana stanem strukturalnym komórek Leydiga, a każde zaburzenie dostępu tych hormonów może wpływać na aktywność sekrecyjną tych komórek.

W naszych badaniach stosowano flutamid – czysty niesteroidowy anty-androgen, który blokuje wiązanie androgenów z AR, zaburzając działanie testosteronu (Labrie: *Cancer.* 1993, 72, 3816–3827). Pomimo licznych badań dotyczących długotrwałych skutków podania flutamidu, niewiele jest danych dotyczących krótkoterminowego ograniczenia sygnalizacji androgenowej. Wieloletnie badania Zespołu Profesor Bilińskiej wykazały, iż krótkotrwała ekspozycja dojrzałych płciowo samców szczurów na flutamid, skutkuje nieprawidłowym stanem czynnościowym bariery krew-jądro (Zarzycka i wsp.: *Andrology.* 2015, 3, 569–581; Chojnacka i wsp.: *Reprod Biol Endocrinol.* 2016, 14, 14). Wyniki pracy Sarabaya i wsp. (Sarabay i wsp.: *Toxicol Appl Pharmacol.* 2015, 289, 515–524) wskazują, iż zablokowanie AR prowadzi do zahamowania ujemnego sprzężenia zwrotnego w osi podwzgórze-przysadka-jądro i do wzmocnienia aktywności komórek Leydiga. W tym kontekście, pogłębienie wiedzy na temat wpływu flutamidu na przedział interstycjalny gonady męskiej, aktywność steroidogenną komórek Leydiga i ich potencjalną autoregulację wydaje się ważne poznawczo.

Rezultaty ostatnich badań autorskich (Brzoskwinia i wsp.: *J Mol Sci.* 2020, 21, 4439) pokazują, iż zaburzenie sygnalizacji androgenowej przez flutamid prowadzi do podniesienia stężeń hormonu luteinizującego, cholesterolu i testosteronu w osoczu krwi szczurów. Co istotne, zanotowano również zwiększony poziom wewnątrzjądrowego testosteronu, wyraźnie korelujący ze zwiększoną ekspresją białek mitochondriach zaangażowanych w przebieg pierwszego etapu steroidogenezy. Analiza morfometryczna półcienkich skrawków jąder uwidoczniła znamienne zwiększenie powierzchni komórek Leydiga, natomiast analiza ultrastrukturalna pozwoliła na obserwację zróżnicowanych zmian w budowie i rozmieszczeniu mitochondriów. Wzajemne relacje między organellami komórkowymi, wizualizowane dzięki komputerowym rekonstrukcjom 3D komórek Leydiga, uwidoczniły tworzenie lokalnych sieci mitochondrialnych. Ponadto, analiza morfometryczna mitochondriów potwierdziła znaczące zwiększenie zajmowanej przez nie powierzchni w komórce. Podsumowując, zwiększona aktywność komórek Leydiga może być związana ze zwiększoną ilością i dynamiką mitochondriów. Wzrost ekspresji białka biorącego udział w podziale tych

organelli (Drp1, ang. *dynamamin related protein 1*) wydaje się potwierdzać tę sugestię. Wyniki naszych badań wskazują zatem, że zablokowanie AR indukuje mechanizm kompensacyjny, prowadzący do nasilenia steroidogennej funkcji komórek Leydiga.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, grant OPUS12 2016/23/B/NZ4/01788.

Michał Duliban¹, Piotr Pawlicki², Agnieszka Miloń¹, Ewelina Górowska-Wójtowicz¹, Barbara Bilińska¹, Małgorzata Kotula-Balak²

GENETYCZNA KONTROLA FUNKCJONOWANIA KOMÓREK JĄDRA W STANIE ZDROWIA I CHOROBY

¹Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, ²Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
e-mail: michal.duliban@doctoral.uj.edu.pl

W gonadzie męskiej estrogeny na drodze parakrynej i autokrynej regulują funkcję spermatogeniczną i steroidogenną. Obecnie wiadomo, że w komórkach Leydiga estrogeny działają przez różne typy receptorów estrogenowych (Pardyak i wsp.: *Tissue Cell.* 2016, 48, 432–441; Chimento i wsp.: *Cells.* 2020, 9, 2115). Patologiczne komórki Leydiga mogą produkować nieprawidłową ilość estrogenów np. ludzkie nowotworowe komórki Leydiga charakteryzują się często nadprodukcją estrogenów i ich metabolitów (Van Der Gucht i wsp.: *Clin. Nuclear Med.* 2018, 43, 41–43).

Nasze badania wykazały istotne różnice w ekspresji genów w zdrowych i nowotworowych komórkach Leydiga człowieka (Kotula-Balak i wsp.: nieopublikowane). Szczegółowe opracowanie otrzymanych wyników ujawniło w komórkach nowotworowych zaburzenia ekspresji genów związanych z takimi procesami jak: apoptoza, rozwój naczyń krwionośnych czy stres komórkowy. Mutacja genu *TP53*, prowadząca do osłabionej apoptozy, została opisana również u pacjentów z guzami jąder (Stecher i wsp.: *Pediatr Blood Cancer.* 2008, 50, 701–703). Ponadto, zaobserwowano obniżenie poziomu ekspresji genów kodujących białka szoku cieplnego. W oparciu o wyniki analizy sekwencjonowania nowej generacji (NGS, ang. *next generation sequencing*) (nowoczesna metoda pozwalająca na szybką i dokładną analizę całego materiału genetycznego komórki, tkanki lub organu), przeprowadzonej w gonadach myszy z zakłóconą nieklasyczną sygnalizacją estrogenową (przez receptory pokrewne receptorom estrogenowym i błonowy receptor estrogenowy) stwierdzono zmiany ekspresji genów zaangażowanych w procesy istotne dla funkcjonowania poszczególnych komórek gonady, takie jak odpowiedź immunologiczna czy potranslacyjne modyfikacje białek (Duliban i wsp.: *Reprod Fertil Dev* 2020, 32, 903–913). Załamanie równowagi immunologicznej jądra

może przyczyniać się do zaburzeń płodności, a nieprawidłowości potranslacyjnych modyfikacji białek mogą sprzyjać rozwojowi procesów patologicznych, takich jak nowotworzenie (*Han i wsp.*: *Int. J Oncol.* 2018, 52, 1081–1094.). Potwierdzają to istotne zmiany ekspresji kilku genów takich jak *Bmi1* (ang. *polycomb ring finger oncogene*), *Npm1* (ang. *nucleophosmin 1*), które aktywnie uczestniczą w przyspieszonym rozwoju nowotworów.

Dzięki zastosowaniu techniki NGS, uzyskane kompleksowe dane dostarczają przekrojowych informacji o aktywności transkryptomu jądra lub poszczególnych typów komórek i mogą posłużyć do zainicjowania dalszych badań na poziomie proteomu, epigenomu oraz opracowania nowych testów diagnostycznych.

Badania finansowane przez Narodowego Centrum Nauki, grant SONATA BIS5. 2015/18/E/NZ4/00519 oraz OPUS12 2016/23/B/NZ4/01788.

Kamil Gill¹, Aleksandra Rosiak-Gill^{1,2},
Małgorzata Piasecka¹

ZNACZENIE USZKODZEŃ CHROMATYNY PLEMNIKÓW LUDZKICH W WARUNKACH ZAPŁODNIENIA POZAUSTROJOWEGO

¹Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie; ²Vitrolive Centrum Ginekologii i Leczenia Niepłodności, Szczecin
e-mail: kamil.gill@pum.edu.pl

Na przestrzeni ostatnich dekad niepłodność partnerska stała się jednym z istotnych problemów współczesnej medycyny, czego wyrazem jest zaliczenie jej przez Światową Organizację Zdrowia do chorób cywilizacyjnych. (*Agarwal i wsp.*: *World J Mens Health.* 2019, 37 (3), 296–312). Odpowiedzią na ten problem stał się rozwój technik wspomaganego rozrodu, szczególnie zapłodnienia pozaustrojowego (łac. *in vitro*), które dla wielu par jest jedyną szansą na posiadanie biologicznego potomstwa. Mimo, że kliniczne znaczenie standardowej oceny seminologicznej w przypadku procedury *in vitro* zostało mocne ograniczone, wpływ męskiego czynnika na sukces reprodukcyjny nie został całkowicie wyeliminowany. Potwierdzają to wyniki badań, w których nie uzyskano ciąży przy braku czynnika żeńskiego jako przyczyny niepłodności partnerskiej. Dlatego też, wielu autorów podkreśla, konieczność wdrożenia oceny molekularnych biomarkerów męskiej niepłodności (*Agarwal i wsp.*: *Int J Mol Sci.* 2020, 21(11), 3882; *Jerre i wsp.*: *Fertil Steril.* 2019, 112(1), 46–53; *Tang i wsp.*: *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2020, 10, 101868). Celem tych procedur jest umożliwienie prognozowania szans na uzyskanie ciąży w warunkach zapłodnienia *in vitro*. W tym aspekcie szczególne znaczenie przypisuje się jakości chromatyny plemników. Jej wpływ obserwowany może być na etapie zapłodnienia, tworzenia się przedjądrzy i wczesnego rozwoju zarodka, przed pełną aktywacją ojcowskiego

genomu (zarodek 4-blastomerowy) – wczesny wpływ czynnika męskiego (ang. *early paternal effect*). Ponadto, ujawnia się późny wpływ czynnika męskiego (ang. *late paternal effect*), który ma miejsce na etapie 4–8-blastomerowego zarodka, gdy dochodzi do pełnej aktywacji ojcowskiego genomu i trwa aż do osiągnięcia przez zarodek stadium blastocysty. Stąd też, liczni badacze wskazują, że nieprawidłowości w integralności/dojrzałości chromatyny męskich komórek rozrodczych mogą być przyczyną: 1) spadku odsetka prawidłowo zapłodnionych oocytów i zarodków morfologicznie prawidłowych, 2) spadku odsetka uzyskiwanych ciąży oraz 3) wzrostu częstości poronień a nawet częstości wad wrodzonych i zaburzeń epigenetycznych u potomstwa (*Okada i Yamaguchi*: *Cell. Mol. Life Sci.* 2017, 74, 1957–1967; *Tesarik*: *Reprod Biomed Online.* 2005, 10(3), 370–375). Jednak nie wszyscy badacze jednoznacznie potwierdzają negatywny wpływ uszkodzeń chromatyny plemników na sukces rozrodczy w warunkach *in vitro* (*Green i wsp.*: *J Assist Reprod Genet.* 2020, 37(1), 71–76; *Yang i wsp.*: *Transl Androl Urol.* 2019, 8(4), 356–365). Może być to związane z wykorzystaniem różnych metod selekcji męskich gamet, procedur zapłodnienia *in vitro* i testów oceny statusu chromatyny plemników oraz odmiennych narzędzi statystycznych. Co więcej, obserwuje się dużą heterogenność grup objętych badaniami. Nie można również pominąć faktu, że oocyt wyposażony jest w systemy naprawy DNA. Przede wszystkim naprawiane są pojedyncze nacięcia jądrowego DNA plemników. Proces ten może rozpocząć się na etapie przedjądrzy i trwać do osiągnięcia przez zarodek stadium blastocysty. Jeśli skala uszkodzeń DNA męskich komórek rozrodczych nie przekracza zdolności naprawczych oocytu, wpływ tych uszkodzeń może zostać ograniczony (*Ribas-Maynou i Benet*: *Genes (Basel).* 2019, 10(2), 105). Niejednoznaczność tych danych, skłania do wciąż toczącej się dyskusji na temat klinicznej wartości testów weryfikujących jakość jądrowego DNA plemników w prognozowaniu sukcesu reprodukcyjnego w warunkach *in vitro*.

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

Anna Hejmej, Alicja Kamińska, Sylwia Marek,
Barbara Bilińska

BEZPOŚREDNIA KOMUNIKACJA MIĘDZYKOMÓRKOWA W NABŁONKU PLEMNIKOTWÓRCZYM I JEJ FUNKCJONOWANIE W WARUNKACH OGRANICZONEGO DOSTĘPU ANDROGENÓW

Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych,
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
e-mail: anna.hejmej@uj.edu.pl

Komunikacja między komórkami gonady męskiej jest przedmiotem szczególnego zainteresowania badaczy

z uwagi na kluczową rolę tych oddziaływań w utrzymaniu prawidłowego przebiegu spermatogenezy. Pierwotnie badania koncentrowały się na komunikacji parakrynowej (*Bilińska i wsp.*: Biol Cell. 1997, 89, 435–442), lecz w kolejnych latach wykazano, że równie istotne są interakcje oparte na bezpośrednim kontakcie komórek. Komunikacja taka polega na międzykomórkowym transporcie substancji drobnocząsteczkowych poprzez połączenia szczelinowe lub na oddziaływaniach pomiędzy cząsteczkami zlokalizowanymi w błonach sąsiadujących komórek (sygnalizacja jukstakrynowa).

Połączenia szczelinowe zbudowane są z białek – koneksyn, które tworzą kanały łączące cytoplazmy kontaktujących się ze sobą komórek. W jądrze ssaków połączenia te buduje głównie koneksyna 43 (Cx43, ang. *connexin 43*). Badania z wykorzystaniem myszy z nokautem genu kodującego Cx43 w komórkach Sertolego ujawniły krytyczne znaczenie tego białka w różnicowaniu komórek Sertolego i inicjacji spermatogenezy (*Brehm i wsp.*: Am J Pathol. 2007, 171, 19–31; *Chojnacka i wsp.*: Reprod Biol. 2012, 12, 341–346). W jądrze mężczyzny oraz gryzoni z upośledzoną spermatogenezą wykazano zaburzenia ekspresji Cx43 (*Kotula-Balak i wsp.*: Eur J Histochem. 2007, 51, 261–268).

Doświadczenia na szczurach poddanych działaniu anty-androgenu flutamidu dowiodły, że zablokowanie sygnalizacji androgenowej skutkuje obniżoną immunoekspresją oraz delokalizacją Cx43 w rejonie bariery krew-jądro, czemu towarzyszy zmieniona dystrybucja białka połączeń ścisłych ZO-1 (ang. *zonula occludens 1*) oraz nieprawidłowości strukturalne bazalnych specjalizacji powierzchniowych. Wyniki te wskazują, że prawidłowa komunikacja między komórkami Sertolego z udziałem Cx43 jest uwarunkowana dostępnością androgenów (*Chojnacka i wsp.*: Reprod Biol Endocrinol. 2016, 31, 14, 14).

Drugi, wspomniany wcześniej, mechanizm bezpośredniej komunikacji międzykomórkowej w gonadzie męskiej – komunikacja jukstakrynowa – obejmuje działanie szlaku sygnałowego Notch. Aktywacja tego szlaku następuje w wyniku związania błonowego receptora Notch ze specyficznymi ligandami zlokalizowanymi w błonie sąsiadującej komórki. Skutkuje to proteolizą receptora i translokacją jego wewnątrzkomórkowej domeny do jądra komórkowego, gdzie reguluje ona transkrypcję genów z rodziny *Hes* (ang. *hairy/enhancer of split*) i *Hey* (ang. *Hes-related with YRPW motif*). Optymalna aktywność tego szlaku warunkuje prawidłowy przebieg różnicowania spermatogonialnych komórek macierzystych oraz wpływa na dalsze etapy spermatogenezy, a w konsekwencji na płodność (*Garcia i wsp.*: Development. 2014, 141, 4468–4478; *Murta i wsp.*: PLoS One. 2014, 9, e113365). Zaburzony poziom ekspresji białek szlaku Notch stwierdzono w raku jądra oraz u mężczyzn azospermia nieobturacyjną (*Hayashi i wsp.*: J Androl. 2001, 22, 999–1011; *Hayashi i wsp.*: Tumour Biol, 2004, 25, 99–105).

Nasze ostatnie badania wskazują, że w warunkach ograniczonego dostępu androgenów w wyniku zablokowania receptora androgenowego lub selektywnej eliminacji komórek Leydiga, w nabłonku plemnikotwórczym szczeni następują zmiany ekspresji receptorów Notch1 i Notch2, a także ich aktywowanych form. Stwierdzono ponadto zmiany ekspresji genów efektorowych *Hey1*, *Hes1* i *Hes5*, co świadczy o zaburzeniu aktywności szlaku Notch. Androgeny można zatem uważać za regulatory sygnalizacji Notch (*Kamińska i wsp.*: Reprod Biol Endocrinol. 2020, 18, 30). Prezentowane badania dowodzą, że kontrola bezpośredniej komunikacji międzykomórkowej w nabłonku plemnikotwórczym stanowi jeden z istotnych aspektów działania androgenów w przebiegu spermatogenezy. Tym samym nieprawidłowości zarówno w komunikacji z udziałem złącz szczelinowych, jak i sygnalizacji jukstakrynowej mogą leżeć u podłoża zakłóceń plemnikotwórczej funkcji jądra w warunkach ograniczonego dostępu tych hormonów.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, granty HARMONIA3 2012/06/M/NZ4/00146 i OPUS13 2017/25/B/NZ4/01037.

Stanisław Horák^{1,2}

NIEPŁODNOŚĆ W HIPOGONADYZMIE – WSPÓŁCZESNE POGLĄDY NA LECZENIE GONADOTROPINAMI

¹ Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, Bytom;

² Centrum Medyczne Antrum, Bytom

e-mail: horak@poczta.fm

Przyczyny powodujące niedostateczną liczbę plemników w ejakulacie można podzielić na cztery grupy: 1) trudne do ustalenia (niepłodność idiopatyczna), 2) pozajądrowe (obstrukcyjna), 3) pierwotne jądrowe (defekt komórek Sertolego i/lub Leydiga) i 4) wtórne (nieprawidłowa funkcja podwzgórza i/lub przysadki) (Trussell. *Semin Reprod Med.* 2013, 31(4), 237–244). Dwie ostatnie grupy i część pierwszej odpowiadają pojęciu hipogonadyzmu, tj. obniżonej funkcji gonad w zakresie wytwarzania plemników i/lub hormonów steroidowych. Z kolei przypadki te można w uproszczeniu podzielić na hipogonadyzm hipogonadotropowy, hipergonadotropowy i normogonadotropowy, gdzie występują zaburzenia pulsacji wydzielania gonadotropin (*Simoni i Santi*: Andrology. 2020, 8(3), 535–544).

Hipogonadyzm hipogonadotropowy (którego klasycznym przykładem jest zespół Kallmana, jednakże w zdecydowanej większości przypadków idiopatyczny) można podzielić na przedpokwitaniowy i popokwitaniowy. Opóźnione dojrzewanie płciowe może być wariantem prawidłowego rozwoju. Szczególną postacią jest hipogonadyzm wywołany nadużywaniem testosteronu. Dotychczas nie przeprowadzono odpowiednich

badan randomizowanych celem ustalenia najlepszego sposobu leczenia. Kiedy pacjentowi zależy na płodności w leczeniu hipogonadyzmu hipogonadotropowego nie należy podawać testosteronu lub natychmiast go odstawić. Sama ludzka gonadotropina kosmówkowa (hCG, ang. *human chorionic gonadotropin*) jest zdolna do stymulacji spermatogenezy, jednak dodanie hormonu folikulotropowego (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*) zwiększa finalną produkcję plemników u większości mężczyzn z hipogonadyzmem hipogonadotropowym (69–81%) w ciągu 3 do 19 miesięcy (dawkowanie: hCG 1000 do 2500j. 2-krotnie/tydzień i FSH 75 do 225j. 3-krotnie/tydzień). Obecnie uważa się, że dawki FSH powinny być wyższe, niż substytucyjne (Simoni i Santi: *Andrology*. 2020, 8(3), 535–544). Leczenie to jest obciążone uciążliwością częstego podawania iniekcji FSH lub ludzkiej menopauzalnej gonadotropiny (HMG, ang. *human menopausal gonadotrophin*) krótko działających (Bemfola, Puregon, Menopur, Ovaleap, Fostimon i inne). Interesującą alternatywą jest podawanie koryfolitropiny α w dawce 150 μ g co dwa tygodnie. Uzyskano znamienne zwiększenie objętości jąder i przywrócenie spermatogenezy u >75% mężczyzn z hipogonadyzmem hipogonadotropowym (Nieschlag i wsp.: *Reprod Biol Endocrinol*. 2017,15(1), 17. doi: 10.1186/s12958-017-0232-y). W przypadku wrodzonego hipogonadyzmu hipogonadotropowego z brakiem „minipokwitania” i bardzo małymi jądrami wskazane jest wstępne stosowanie preparatów FSH celem indukcji spermatogenezy (Thurston i wsp.: *J Clin Pathol*. 2019, 72(9), 579–587).

Częstość uzyskanych ciąż może sięgać 50–80% przy koncentracji plemników 5 mln/mL. Czynniki korzystnie rokującymi są: większa objętość jąder, brak wnetrostwa w wywiadzie, zaznaczone dojrzewanie płciowe i nie stosowanie uprzedniej terapii testosteronem. Konieczna jest cierpliwość (nawet 2 lata). W około 10% przypadków po całkowitym odstawieniu leczenia nadal obecne plemniki w nasieniu i prawidłowe stężenie testosteronu. Jest to tzw. ang. *hypogonadotropic hypogonadism reversal* prawdopodobnie spowodowany plastycznością neuronalną komórek wydzielających gonadoliberyny (GnRH, ang. *gonadotropin-releasing hormone*) (Fraietta i wsp.: *Clinics (Sao Paulo)*. 2013, 68 (Suppl 1), 81–88). Poznanie genetycznego tła warunkującego działanie FSH wydaje się bardzo pożyteczne dla zindywidualizowanego leczenia idiopatycznej niepłodności męskiej przy pomocy FSH (Simoni i Santi: *Andrology*. 2020, 8(3), 535–544).

Odrębnym zagadnieniem jest leczenie hipogonadyzmu spowodowanego nadużywaniem androgenów. Brak konsensusu odnośnie optymalnego leczenia. Zalecane jest podawanie 3000j. hCG co drugi dzień, uzupełnienie kłomifenu, tamoksyfenem, anastrozolem, lub rFSH (ang. *recombinant FSH*) według preferencji lekarza i sytuacji klinicznej (endo- lub egzogeny FSH jest niezbędny), badania seminologiczne i hormonalne co miesiąc póki nie ustabilizują się parametry nasienia lub nie uzyska się ciąży. Odsetek powodzeń wynosi 98%. (Wenker i wsp.:

J Sex Med. 2015, 12(6), 1334–1337). Alternatywą jest leczenie kłomifenem (Habous i wsp.: *BJU Int*. 2018, 122(5), 889–897; Rodriguez i wsp.: *Expert Opin Pharmacother*. 2016, 17(11), 1561–1567).

Najczęstszą postacią hipogonadyzmu hipergonadotropowego jest postać idiopatyczna. Znacznie rzadszy jest zespół Klinefeltera. Przy leczeniu obowiązuje zasada: „im wcześniej, tym lepiej!” (Deebel i wsp.: *Hum Reprod Update*. 2020, 26(1), 58–72; Plotton i wsp.: *J Clin Endocrinol Metab*. 2015, 100(3), 961–967). Najnowszy algorytm dla zachowania płodności młodocianych z zespołem Klinefeltera przedstawił Masterson i wsp., który obejmuje 1) zaprzestanie leczenia testosteronem, 2) badania hormonalne i ew. nasienia, 3) w przypadku niskiego stężenia testosteronu leczenie inhibitorami aromatazy, selektywnymi modulatorami receptora estrogenowego (SERM, ang. *selective estrogen receptor modulators*) i/lub HCG celem zwiększenia endogennej produkcji testosteronu, 4) po normalizacji stężenia testosteronu badanie nasienia i krioprezewacja plemników jeżeli są obecne w ejakulacie, 5) jeżeli brak plemników w ejakulacie można pozyskać je z jądra (TESE, ang. *testicular sperm extraction*) (skuteczność 43–45%) (Masterson i wsp.: *Curr Opin Urol*. 2020, 30(3), 324–327).

Kolejną sytuacją, kiedy można rozważać leczenie gonadotropinami jest idiopatyczna nieobstrukcyjna azoospermia (NOA, ang. *non-obstructive azoospermia*). Pierwsze obiecujące wyniki połączonego stosowania kłomifenu i gonadotropin podali Hussein i wsp. uzyskując obecność plemników nawet w ejakulacie (Hussein i wsp.: *BJU Int*. 2013, 111(3 Pt B), E110–114). Pierwsze próby leczenia gonadotropinami zwane „ang. *salvage hormonal therapy*” (hCG 5000 j. 3-krotnie/tydzień, rFSH przez następne 3 miesiące 150j. 3-krotnie/tydzień przy skuteczności 19%) u mężczyzn, u których nie uzyskano plemników w czasie mikrochirurgicznego pobrania plemników z jądra (m-TESE, ang. *microsurgical testicular sperm extraction*) omówili szeroko Shiraishi i Matsuyama (Shiraishi i Matsuyama: *Endocr J*. 2017, 64(2), 123–131). Z kolei, Amer i wsp. (2019) na podstawie analizy 1395 pacjentów nie wykazali związku pomiędzy różnymi terapiami hormonalnymi poprzedzającymi m-TESE a pozytywnym wynikiem m-TESE (Amer i wsp.: *Andrologia*. 2019, 51(2), e13176. doi: 10.1111/and.13176). Stwierdzili jednak pozytywny związek pomiędzy zespołem samych komórek Sertolego (SCO, ang. *Sertoli cell only syndrome*), wysokim stężeniem FSH a uzyskaniem plemników, co wskazuje na przydatność biopsji jąder przy prognozowaniu wyniku m-TESE w przypadkach NOA. W kolejnej pracy Amer i wsp. wykazali jednak przydatność podawania testosteronu przez miesiąc a następnie w połączeniu z gonadotropinami przez 3 miesiące poprzedzające zabieg (Amer i wsp.: *Urologia*. 2020, 87(4), 185–190).

Skuteczność leczenia gonadotropinami oligoasthenoteratozoospermii (OAT, ang. *oligoasthenoteratozoospermia*) jest kontrowersyjna. Skorzystać mogą z niej mężczyźni z OAT z prawidłowymi stężeniami FSH i mężczyźni

z fenotypem receptora FSH z przynajmniej jedną seryną w pozycji 680 w białku receptorowym. Proponowane są wysokie dawki rFSH (300 IU co drugi dzień przez 4–5 miesięcy) (*Ding i wsp.*: Clin Endocrinol (Oxf). 2015, 83(6), 866–871; *Paradisi i wsp.*: Andrologia. 2014, 46(9), 1067–1672). Jednakże, stwierdzono brak skuteczności tej terapii w przypadkach z niskim stężeniem inhibiny B w surowicy (*Zhao i wsp.*: Andrologia. 2019, 51(6):e13271. doi: 10.1111/and.13271).

Katarzyna Jankowska

IMMUNOLOGICZNE ASPEKTY NIEPŁODNOŚCI MĘSKIEJ

Klinika Endokrynologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Szpital Bielański, Warszawa
e-mail: katarzynakamilajankowska@gmail.com

Niepłodność męska może być spowodowana zaburzeniami immunologicznymi. Niepłodność immunologiczną u mężczyzn definiuje się jako obecność u jednego lub obydwójga partnerów reakcji immunologicznej przeciw nasieniu (*Dondero i wsp.*: W: Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes, Oxford University Press, 2011, DOI: 10.1093/med/9780199235292.003.9100). Wytyczne Światowej Organizacji Zdrowie (WHO, ang. *World Health Organization*) podają czynniki immunologiczne jako jedną z przyczyn niepłodności męskiej (WHO: Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge University Press, 2000). Szacuje się, że ok. 15% męskiej niepłodności ma podłoże immunologiczne, albo z powodu powtarzających się infekcji, albo nieprawidłowej odpowiedzi autoimmunologicznej dotyczącej najądrzy, prostaty lub jąder. Wskaźnik ten prawdopodobnie jest niedoszacowany, ponieważ podaje się, że 30% przypadków niepłodności u mężczyzn ma charakter idiopatyczny.

W przeciwieństwie do zapalenia jąder, zapalenie najądrzy jest częstym schorzeniem. Jego przyczyną są częste infekcje bakteryjne, szczególnie istotne znaczenie mają przenoszone drogą płciową *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* u młodych mężczyzn oraz jelitowe *Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis* u starszych mężczyzn. Wykazano, że infekcje te, nawet jeśli są skutecznie leczone, mogą wywoływać zwężenie przewodu najądrza, zmniejszenie liczby plemników i azospermie nawet u 40% pacjentów. Dane kliniczne wskazują na potrzebę skutecznej i precyzyjnie kontrolowanej odpowiedzi immunologicznej na patogeny w najądrzu.

Przeciwciała przeciwplemnikowe (ASA, ang. *anti-sperm antibodies*) mogą interferować ze zdolnością zapładniająca nasienia: obniżać ruchliwość plemników, obniżać zdolność do przejścia przez wydzielinę dróg rodnych u kobiety, obniżać zdolność penetracji oocytu, powodować aglutynację plemników. Przeciwciała przeciwplemnikowe powodują zmniejszoną ruchliwość plemników

czyli astenozoospermii. Niepłodność immunologiczną należy jednak wziąć pod uwagę także przy normozoospermii, zwłaszcza kiedy testy czynnościowe plemników nie są prawidłowe. Rekomendacje Europejskiego Towarzystwa Urologicznego zalecają rozważenie diagnostyki w kierunku zaburzeń immunologicznych, kiedy wynik badania nasienia nie mieści się w zakresie referencyjnym w dwóch kolejnych analizach. Weryfikację tę wykonuje się, gdy wykluczono inne przyczyny nieprawidłowego seminogramu (np. infekcję dróg moczowo-płciowych).

Obecnie zaleca się wykonywanie mieszanego testu antyglobulinowego (MAR, ang. *mixed antiglobulin reaction*) lub testu wiązania immunologicznego (ang. *immunobead test*) z nasienia (*Jungwirth i wsp.*: Male Infertility W: EAU Guidelines, <http://uroweb.org/guideline/male-infertility>). Test MAR służy do wykrywania przeciwciał przeciwplemnikowych w nasieniu. Wykonanie testu warto rozważyć, gdy w badaniu nasienia stwierdza się małą ruchliwość plemników lub aglutynację plemników. Uprzednio należy wykluczyć infekcję dróg moczowo-płciowych, ponieważ może ona indukować obecność przeciwciał. Jeśli mimo braku infekcji czy po wyleczeniu infekcji, nadal stwierdza się astenozoospermie czy aglutynację plemników, należy wykluczyć niepłodność o podłożu immunologicznym. Test MAR polega na tym, że do próbki nasienia dodaje się kuleczki lateksu pokryte przeciwciałami IgA lub IgG oraz mieszaninę przeciwciał anti-IgA lub anti-IgG. Jeżeli na plemnikach występują przeciwciała IgA lub IgG – dochodzi do połączenia plemników z kuleczkami, co obserwuje się w mikroskopie. Wynik powyżej 50% plemników związanych z kuleczkami traktuje się jako pozytywny i oznacza on obecność przeciwciał przeciwplemnikowych w ilości zaburzającej funkcję plemników (możliwość przenikania przez śluz szyjki macicy, a także zdolność do zapłodnienia). Test ten można wykonywać jedynie wtedy, gdy w nasieniu znajdują się plemniki wykazujące ruch. Podobne znaczenie ma test wiązania immunologicznego. Jest on dokładniejszy niż test MAR, ale wykonanie jest bardziej pracochłonne. Test ten nie jest wykonywany ze świeżej próbki nasienia ale z nasienia, z którego wcześniej usunięto elementy mogące maskować obecność przeciwciał. Zasada działania testu jest podobna jak testu MAR (połączenie plemników z kuleczkami lateksu obserwuje się w mikroskopie). Ocena wyniku testu wiązania immunologicznego także jest podobna: $\geq 50\%$ plemników związanych z kuleczkami oznacza wynik pozytywny, wskazujący na występowanie przeciwciał przeciwplemnikowych w ilości zaburzającej funkcję plemników. Analizę tę można wykonywać jedynie wtedy, gdy w nasieniu znajdują się plemniki wykazujące ruch.

W regulacji odpowiedzi immunologicznej podkreśla się rolę najądrzy (*Voisin i wsp.*: Asian J Androl. 2019, 21(6), 531–539). Komórki nabłonka najądrzy rozwinięły mechanizmy, które zwalczają patogeny, w tym

ekspresję różnych receptorów TLR (ang. *toll-like receptors*), cząsteczek przeciwbakteryjnych (tlenek azotu,IDO, β -defensyny itp.) oraz cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6 itp.). Śródmiażdżowe limfocyty B w najądrzach mogą być odpowiedzialne za wydzielanie lokalnych IgA lub mogą fagocytozować bakterie opłaszczone przeciwciałami i ograniczać ich rozprzestrzenianie się w tkance oraz indukować specyficzne efektorowe limfocyty T. Aktywowane komórki B aktywują pomocnicze komórki T. W zależności od populacji komórek prezentujących antygen (APC, ang. *antigen-presenting cell*), niektóre komórki mogą migrować do drenującego węzła chłonnego, aby wywołać rekrutację komórek efektorowych do zakażonych najądrzy. W przypadku uszkodzenia nabłonka spowodowanego infekcją, niektóre monocyty CX3CR1+ CD11c+ mogą uczestniczyć w eliminacji rozpadłych komórek lub patogenów. Nowo zidentyfikowane limfocyty T w najądrzu mogą być aktywowane przez APC lub bezpośrednio przez zakażone komórki. Po aktywacji mogą stać się cytotoksyczne, uczestnicząc w usuwaniu bakterii. Prawdopodobnie najądrze jest potencjalnym rezerwuarem odpornościowym komórek cytotoksycznych podczas infekcji.

Niepłodność immunologiczną stwierdza się u 8–20% niepłodnych mężczyzn. Przeciwciała przeciwplemnikowe pojawiają się w wyniku urazu, infekcji jądra lub najądrza, które prowadzą do przerwania bariery krew-jądro (np. operacje, infekcje, żyłaki powrózka nasennego). Nie wszystkie przeciwciała przeciwplemnikowe powodują niepłodność. Istotne jest czy przeciwciała te wiążą epitopy antygenów niezbędnych do zapłodnienia komórki jajowej. Obecnie rekomenduje się wykonywanie testów wykrywających przeciwciała przeciwplemnikowe: test MAR lub test wiązania immunologicznego. W zależności od wywiadu (łuszczyca, bielactwo, choroby tarczycy, choroby zapalne jelit, choroby reumatologiczne) do rozważenia pozostaje skrining w kierunku innych chorób autoimmunizacyjnych (ANA, anty-TPO, anty-Tg, anty-CCP, celiakia). W wielu chorobach o podłożu autoimmunizacyjnym możliwe jest leczenie przyczynowe (np. leki biologiczne).

W ostatnim czasie zwraca się większą uwagę na związek między stanem układu odpornościowego a płodnością. W 2018 r. *Brubaker i wsp.* (*Brubaker i wsp.*: *Andrology*. 2018, 6(1), 94–98) wykazali, że u niepłodnych mężczyzn występuje wyższa częstość zachorowań na choroby autoimmunizacyjne: reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane, łuszczyce, zapalenie tarczycy i chorobę Graves'a-Basedowa. Hipogonadyzm może być jedną ze składowych zespołu autoimmunizacyjnej poliendokrynopatii. Z drugiej strony inne publikacje (*Mouvis i wsp.*: *Semin Arthritis Rheum*. 2019, 48(5), 911–920) wykazują, że u mężczyzn z chorobami reumatologicznymi, u których stosuje się np. leki z grupy anty-TNF (ang. *anti-tumor necrosis factor*), obserwuje się poprawę parametrów nasienia i zwiększenie odsetka cięż u partnerek. Potwierdzałyby to znaczenie procesów

autoimmunizacyjnych w niepłodności u mężczyzn. Te bardzo ciekawe informacje wymagają dalszych badań naukowych i obserwacji klinicznych.

Piotr Jędrzejczak

AZOOSPERMIA, DIAGNOSTYKA I PLANOWANIE POSTĘPOWANIA

Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu
e-mail: piotrjdrzejczak@gmail.com

Azoospermia dotyczy około 1% mężczyzn. Stanowi poważne wyzwanie dla lekarzy zajmujących się medycyną rozrodu. Podczas prezentacji przedstawione zostaną przyczyny występowania, oraz metody diagnostyczne istotne w wykryciu poszczególnych form tego schorzenia. Szczególna uwaga poświęcona zostanie aktualnym możliwościom terapeutycznym u mężczyzn z całkowitym brakiem plemników w ejakulacji. Na koniec zaprezentowany zostanie algorytm postępowania u pacjenta z azoospermią według współczesnych rekomendacji.

Alicja Kamińska, Sylwia Marek, Małgorzata Brzoskwina, Laura Pardyak, Anna Hejmej, Barbara Bilińska

ROLA I REGULACJA HORMONALNA BIAŁEK Z RODZINY JAGGED I DELTA-LIKE W KOMÓRKACH SERTOŁEGO GRYZONI

Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; 2Ośrodek Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
e-mail: ala.kaminska@uj.edu.pl

Proces spermatogenezy u ssaków jest kontrolowany przez komórki Sertolego, uważane za kluczowe mediatory działania androgenów w nabłonku nasiennym. Główną drogą działania androgenów jest aktywacja klasycznego wewnątrzkomórkowego receptora androgenowego (AR, ang. *androgen receptor*). Obecnie wiadomo, że prawidłowa sygnalizacja AR w komórkach Sertolego jest niezbędna do utrzymania bariery krew-jądro oraz przebiegu mejozy i procesu spermiacji (*O'Hara i Smith: Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015, 29, 595–605). Androgeny wpływają na proces spermatogenezy również poprzez nieklasyczne ścieżki sygnałowe, związane z indukcją receptorów błonowych. W 2014 r. zidentyfikowano błonowy receptor androgenowy ZIP9 (ang. *Zrt- and Irt-like protein 9*) – białko należące do rodziny błonowych transporterów cynku (*Berg i wsp.: Endocrinology*. 2014, 155, 4237–4249). Wykazano, że w szczurzych komórkach Sertolego testosteron działając przez ZIP9 bierze udział w regulacji białek bariery krew-jądro (*Bulldan i wsp.: Cell Signal*. 2016, 28, 1075–1085). Ostatnie badania potwierdziły, że ZIP9 jest

zlokalizowany w komórkach Sertolego myszy i nornicy rudej (*Kamińska i wsp.*: *Andrology*. 2020, 8, 457–472; *Profaska-Szymik i wsp.*: *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 6888).

Białka Delta-like (DLL) i Jagged (JAG) są błonowymi ligandami aktywującymi szlak sygnałowy Notch, uczestniczący w bezpośredniej komunikacji międzykomórkowej w nabłonku plemnikotwórczym. W jądrach myszy oraz szczura wykazano obecność ligandów DLL1, DLL4 oraz JAG1 zarówno w komórkach Sertolego, jak i komórkach plemnikotwórczych (*Kamińska i wsp.*: *Reprod Biol Endocrinol*. 2020, 18, 30; *Murta i wsp.*: *PLoS One*. 2013, 8, e72767).

Wyniki analiz z wykorzystaniem linii komórek Sertolego dowiodły, że aktywacja szlaku Notch przez poszczególne ligandy w specyficzny sposób moduluje odpowiedź tych komórek na androgeny, wpływając na ekspresję AR i ZIP9. Stwierdzono ponadto, że zaburzenia aktywności szlaku Notch prowadzą do deregulacji ekspresji androgenozależnych białek bariery krew jądro – kładyn (*Kamińska i wsp.*: *Andrology*. 2020, 8, 457–472). Szlak Notch może być zatem uważany za ważny czynnik wpływający na funkcjonowanie sygnalizacji androgenowej w komórkach Sertolego. Dalsze analizy wykazały, że ekspresja ligandów szlaku Notch (DLL1, DLL4 i JAG1) w gonadzie męskiej jest regulowana przez androgeny. Badania na modelach *in vitro* przyczyniły się do wyjaśnienia mechanizmu tej regulacji, dowodząc, że uczestniczą w niej zarówno AR, jak i ZIP9. Wyniki te wskazują na udział klasycznej i nieklasycznej sygnalizacji androgenowej w kontroli szlaku Notch.

Przedstawione badania świadczą o dwukierunkowej interakcji między białkami Delta-like i Jagged a sygnalizacją androgenową w kanalikach nasiennych gryzoni. Współdziałanie tych mechanizmów stanowi istotny czynnik regulujący fizjologię komórek Sertolego, a jego zaburzenia mogą skutkować zakłóceniem procesów kluczowych dla przebiegu spermatogenezy, takich jak funkcja bariery krew-jądro.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, granty MINIATURA1 2017/01/X/NZ4/00285 oraz OPUS13 2017/25/B/NZ4/01037.

Małgorzata Kotula-Balak¹, Agnieszka Miłoś¹,
Piotr Pawlicki¹, Ewelina Górowska-Wójtowicz²,
Michał Duliban², Barbara Bilińska²

NIEKLASYCZNA SYGNALIZACJA ESTROGENOWA W TKANCE INTERSTYCJALNEJ JĄDRA

¹Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ²Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
e-mail: malgorzata.kotula-balak@urk.edu.pl

Na podstawie wieloletnich badań epidemiologicznych i eksperymentalnych wiadomo, że sygnalizacja

estrogenowa z udziałem klasycznych i nieklasycznych receptorów estrogenowych jest konieczna dla prawidłowego funkcjonowania męskiego układu płciowego. Pod koniec XX w. zidentyfikowano oraz określono rolę klasycznych receptorów estrogenowych α i β (ER α i ER β , ang. *estrogen receptor α and β*) w funkcji różnych typów komórek jądra przy wykorzystaniu zwierzęcych modeli eksperymentalnych i badań *in vitro* (*Bilińska i wsp.*: *Mol Cell Endocrinol*. 2001, 10, 189–198; *Hess.*: *Reprod Biol Endocrinol*. 2003, 9, 52). W jądrze człowieka, w tym także patologicznym, wykazano ekspresję genów ER α i ER β , jednak badania zmierzające do określenia wzoru lokalizacji białek tych receptorów wciąż są prowadzone.

Obecnie prace badawcze skoncentrowane są na wyjaśnianiu roli nieklasycznych receptorów estrogenowych tj. receptorów pokrewnych receptorom estrogenowym (ERR α , ERR β i ERR γ , ang. *estrogen-related receptor α , β and γ*), których sekwencje DNA wykazują wysoką homologię do sekwencji ER, oraz błonowego receptora estrogenowego (GPER, ang. *G-protein coupled estrogen receptor*). W ostatnich latach po raz pierwszy stwierdzono ekspresję ERR w komórkach Leydiga myszy warunkach *in vitro* oraz *in vivo*. W nowotworowych komórkach Leydiga pozbawionych aktywności ER α , ERR β lub ERR γ obserwowano zmiany w ich proliferacji, apoptozie i migracji (*Kotula-Balak i wsp.*: *Tissue Cell*. 2018, 52, 78–91). Gatunkowo-specyficzną ekspresję GPER wykazano we wszystkich typach komórek jądra ssaków, w tym także u człowieka (*Fietz i wsp.*: *Methods Mol Biol*. 2016, 1366, 189–205; *Kotula-Balak i wsp.*: *Cell Tissue Res*. 2018, 374, 389–412). Wzrost ekspresji GPER oraz zmiany stężenia estrogenów notowano w nowotworze komórek Leydiga gryzoni i człowieka (*Górowska-Wójtowicz i wsp.*: *Tissue Cell*. 2019, 61, 51–60). Inaktywacja zarówno ERR jak i GPER w gonadach myszy skutkowała zwiększeniem objętości tkanki interstycjalnej/śródmiaższowej oraz wzrostem ekspresji genów ER α , ER β lub ERR γ . Równocześnie stwierdzono wzrost liczby telocytów – nowoodkrytych regulatorowych komórek tkanki interstycjalnej (*Pawlicki i wsp.*: *Protoplasma*. 2019, 256, 393–408). Dzięki unikalnej budowie i dystrybucji telocytów w tkance śródmiaższowej, komórki te tworzą sieci strukturalno-komunikacyjne, regulując funkcję steroidogenną komórek Leydiga pod kontrolą ERR i GPER. Zatem rozrost tkanki interstycjalnej w stanach patologicznych gonady może być wynikiem zakłóceń w liczbie i/lub funkcji telocytów oraz ich regulacji przez sygnały hormonalne odbierane przez wymienione receptory.

W świetle powyżej przedstawionych wyników badań wydaje się, że nieklasyczne receptory estrogenowe są obok ER istotnym ogniwem sygnalizacji estrogenowej w gonadzie męskiej. Poprzez kontrolę komórek Leydiga i telocytów ERR i GPER regulują produkcję hormonów płciowych, co wpływa na spermatogenezę. Receptory te mogą być jednocześnie dodatkowymi markerami stanów

patologicznych tkanki interstycjalnej jądra, szczególnie tych związanych ze zmianami produkcji i stężenia estrogenów.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, granty SONATA BIS5 2015/18/E/NZ4/00519 i OPUS12 2016/23/B/NZ4/01788.

Małgorzata Kotwicka, Weronika Tomaszewska

NIEKODUJĄCE RNA PLAZMY NASIENNEJ JAKO DIAGNOSTYCZNY I PROGNOSTYCZNY BIOMARKER NIEPŁODNOŚCI MĘSKIEJ

Katedra i Zakład Biologii Komórki, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
e-mail: mkotwic@ump.edu.pl

U około 60–75% mężczyzn diagnozowanych z powodu niepłodności nie udaje się ustalić wyraźnego czynnika przyczynowego co sprawia, że stwierdza się u nich niepłodność idiopatyczną. Poszukiwania nowych biomarkerów, które będą wykazywały wysoką specyficzność i czułość w stosunku do niepłodności męskiej oraz dostarczą dodatkowych informacji na temat molekularnych mechanizmów leżący u podstaw tej patologii są więc uzasadnione. Ponieważ nasienie jest materiałem biologicznym stosunkowo łatwym do pozyskania, w sposób naturalny staje się obiektem tych badań.

W wielu płynach ustrojowych, takich jak osocze, surowica, ślina, łzy, płyn mózgowo-rdzeniowy, popłuczyny drzewa oskrzelowego, mleko czy mocz obecne są cząsteczki wolnych od komórek, niekodujących RNA (ncRNA, ang. *non-coding RNA*). Ze względu na wielkość cząsteczki wyróżniono trzy główne klasy ncRNA: krótkie niekodujące RNA (sncRNA, ang. *small non-coding RNA*), długie niekodujące RNA (lncRNA, ang. *long non-coding RNA*) i bardzo długie niekodujące RNA (vlncRNA, ang. *very long ncRNA*). Niekodujące RNA nie ulegają translacji do białek, mogą jednak modulować komórkowe matrycowe RNA (mRNA, ang. *messenger RNA*) i poziomy białek powodując degradację mRNA lub hamowanie translacji. Ze względu na mechanizm ich powstawania i współpracującego z nimi białka sncRNA zostały podzielone na trzy główne klasy: mikroRNA (miRNA, ang. *micro RNA*), małe interferencyjne RNA (siRNA, ang. *small interfering RNA*) oraz RNA oddziałujące z białkami PIWI (piRNA, ang. *piwi-interacting RNA*). Przyjmuje się, że zewnątrzkomórkowe sncRNA mogą odzwierciedlać zmiany molekularne zachodzące w komórkach, z których pochodzą. Oznacza to, że profilowanie ich ekspresji mogło by się stać dobrym narzędziem diagnostycznym i prognostycznym. Znaczna liczba cząsteczek ncRNA zaangażowana w poszczególne procesy komórkowe sprawia jednak, że badania te są nie łatwe i bardzo rozległe.

W plazmie nasiennej wykazano obecność wolnych od komórek zarówno miRNA jak i piRNA. Należy jednak pamiętać, że miRNA mogą być wydzielane przez wielu

typów komórek i tkanek, a plazmę nasienia tworzy wydzielina, na którą składają się produkty jąder, najądrzy, pęcherzyków nasiennych, gruczołów opuszkowo-cewkowych czy gruczołu krokowego. Zatem miRNA plazmy nasienia mogą nie dostarczać w jednoznaczny sposób informacji o rodzaju i miejscu patologii. Mimo tego zmiana we wzorcach ekspresji miRNA (np. miR-34b/c, miR-334a/b/c, miR-449a, miR-19a, miR-31-5p, miR-539-5p i miR-941) została powiązana z różnymi histopatologicznymi obrazami ludzkich jąder (np. zespołem samych komórek Sertolego, zatrzymaniem dojrzewania komórek spermatogenezy) czy nasieniem z cechami astenozoospermii, oligozoospermii, oligoastenozoospermii i azoospermii (*Abu-Halima i wsp.*: *Fertil Steril*. 2013, 99, 1249–1255; *Barcelo i wsp.*: *Hum Reprod*. 2018, 33, 1087–1098; *Hu i wsp.*: *Clin Biochem*. 2014, 47, 967–72; *Tian i wsp.*: *Forensic Sci Int Genet*. 2018, 33, 161–167).

Z kolei piRNA wykazują szczególnie wysoką ekspresję w spermatocytach pachytenu i okrągłych spermatydach. Wydają się odgrywać bezpośrednią rolę w spermatogenezie, na co wskazują badania, w których wyciszenie ekspresji białek PIWI, powodowało zahamowanie powstawania i dojrzewania plemników. Wśród obecnych w plazmie nasiennej piRNA, których ekspresja wiązana jest z obniżoną wartością biologiczną nasienia, wymienia się między innymi piR-31068, piR-31925, piR-43771, piR-43773 i piR-30198 (*Hong i wsp.*: *Scientific Reports*. 2016, 6: 224–229). W najnowszych badaniach wskazuje się również na długie niekodujących RNA oraz krążące DNA (cfs-DNA, ang. *cell-free seminal DNA*) jako na potencjalny marker w diagnostyce niepłodności.

Analiza dostępnego piśmiennictwa wskazuje, że ncRNA stanowią obiecujące uzupełnienie dla tradycyjnych biomarkerów niepłodności męskiej.

Maciej Kurpisz, Monika Frączek

WPŁYW ZAKAŻEŃ WIRUSEM SARS-COV-2 (COVID-19) NA ZDROWIE REPRODUKCYJNE MĘŻCZYZNY

Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań
e-mail: maciej.kurpisz@igcz.poznan.pl

Koronawirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego 2 (SARS-Cov-2, ang. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) jest rozpowszechnionym pandemicznie wirusem mającym niekorzystne oddziaływanie na funkcjonowanie wielu narządów, w tym i męskiego układu rozrodczego. Jego powszechność oddziaływania wiąże się z dużą liczbą receptorów, za pośrednictwem których wnika on do układu gospodarza-żywiciele. Jednym z nich jest enzym konwertujący angiotensynę, ACE-2 (ang. *angiotensin-converting enzyme 2*), obecny na wszystkich komórkach gonady męskiej. Innym enzymem, ulegającym ekspresji na komórkach spermatogonialnych jest transbłonowy enzym proteazy serynowej (TMPRSS2,

ang. *transmembrane serine protease 2 enzyme*), który rozszczepia kapsyd S wirusa SARS-Cov-2. Innymi asystującymi we wnikaniu wirusa receptorami są: BSG (ang. *basigin*), który jest induktorem metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, obecny na oolemmie i trofektodermie (przez co przeszkadza w procesie wczesnego rozwoju zarodkowego), aminopeptydaza alanylowa (ANPEP, ang. *alanyl aminopeptidase N*) ulegająca nadekspresji w chorobie Parkinsona, jak również poprzez mechanizmy epigenetyczne powodująca kancerogenezę w obrębie gruczołu krokowego (jest także obecna w endometrium). Z kolei receptor, peptydaza dipeptydylowa-4 (DPP4/CD26, ang. *dipeptidyl peptidase-4*) ulega ekspresji na komórkach epitelialnych i endotelialnych, przez co może powodować zmiany w naczyniach licznych narządów, tj. płuc, nerek, jelita czy serca i powodować tzw. sztorm cytokinowy i/lub pobudzenie procesów zatorowo-zakrzepowych. Oddziaływanie wirusa SARS-Cov-2 poprzez receptor ACE-2 prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu osi podwzgórze-przysadka-gonada męska, w pierwszej mierze poprzez dysfunkcję (spowodowaną wirusem) komórek Sertolego, wtórnie zakłócając spermatogenezę. Zatem wirus SARS-Cov-2 zwykle nie wywołuje zapalenia jądra na tle autoimmunologicznym, ale powoduje dysregulację endokrynową, zapalną i immunologiczną na terenie gonady męskiej – przekształcające się w zjawiska wtórne wobec indukowanej nadprodukcji rodników tlenowych i towarzyszącej zwykle takiej nadprodukcji reakcji zapalnej. Wtórne zespoły naruszające integralność męskiego układu rozrodczego spowodowane są bardziej procesem terapeutycznym niż obecnością wirusa *per se*. Prym w tym dziedzinie nie-specyficzne leki antywirusowe, sterydy lub mało specyficzne przeciwciała poliklonalne (możliwość reakcji krzyżowych). Według powszechnie znanych mechanizmów leki antywirusowe uszkadzają komórki aktywnie dzielące się, przez co można wnosić, że mają faktyczny potencjał do uszkadzania spermatogenezy, podobnie jak glikokortykosteroidy, które dodatkowo uszkadzają połączenia ścisłe naruszając barierę krew-jądro, jak i samą spermatogenezę. Przykładowo, Ribawirin zawierający rybawirynę, obniża dodatkowo stężenie testosteronu. Naciekające do gonady męskiej leukocyty (w wyniku stanu zapalnego wywołanego wirusem SARS-Cov-2) produkują cytokiny i wolne rodniki tlenowe oraz nasilają produkcję cytokin, ulegających syntezie w samej gonadzie, przez co stworzone zostają warunki do lokalnego sztormu cytokinowego. Wskutek tych wszystkich wydarzeń może dojść do przejściowego obniżenia parametrów nasienia, które należy wówczas skrupulatnie monitorować w kierunku wskaźników stresu oksydacyjnego, odpowiednio poszukując algorytmów leczniczych z użyciem antyoksydantów. Można rozważyć suplementację testosteronu i przede wszystkim nakazać kilkumiesięczną karencję w staraniu się o potomstwo, o ile wdrożona została kuracja lekami antywirusowymi (zjawiska epigenetyczne, uszkodzenie plemnikowego

DNA). Niepłodność głównie może być zaindukowana dysfunkcją komórek Sertolego, natomiast realnym problemem mogą się stać asymptomatyczne infekcje u dzieci przed pokwitaniem i długoterminowe efekty spowodowane nosicielstwem wirusa SARS-Cov-2 w immunologicznie uprzywilejowanym narządzie.

Krzysztof Łukaszuk^{1,2}

FRAGMENTACJA DNA PLEMNİKÓW – DIAGNOSTYKA I POSTĘPOWANIE

¹INVICTA Klinika Leczenia Niepłodności, Gdańsk, Warszawa, Wrocław, Bydgoszcz; ²Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Nauk o Zdrowiu, Zakład Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego, Gdańsk
e-mail: krzysztof.lukaszuk@invicta.pl

W skali światowej około 140 mln osób (13–15% par) nie uzyskuje ciąży po roku starań. Z nich tylko niewielka część podejmuje się leczenia. Czynnikiem męskim to najbardziej niepoznany aspekt diagnostyki przyczyn niepłodności. Dotychczas brakuje jasno określonych wartości granicznych dla identyfikacji potencjału rozrodczego plemników na podstawie standardowych analiz nasienia. Wartość stworzonych przez Światową Organizację Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) norm analizy nasienia wciąż jest kwestionowana. Najczęstsze odchylenia od normy badania – liczebność plemników, ich ruchliwość oraz prawidłowość morfologii plemników nie wytrzymują szczegółowej analizy ich związku przyczynowego z uzyskaniem ciąży. W świetle obecnych badań nawet trudno określić czy standardowe analizy nasienia zawierają parametry mające jednoznaczny związek z przyczyną niepłodności. Stąd poszukiwanie analiz ułatwiających diagnostykę i postępowanie z parą niepłodną. Wśród nich najbardziej przekonującą jest analiza fragmentacji DNA plemników oraz inne nieprawidłowości związane z materiałem genetycznym zawartym w plemniku. Prawidłowo przebudowana chromatyna (zamiana histonów na protaminy) w jądrze dojrzałych plemników pełni funkcję ochronną DNA. Integralność chromatyny plemników jest niezbędna do prawidłowych funkcji rozrodczych. Jej zaburzenia powodują: niepłodność, gorszą jakość zarodka, niższy wskaźnik implantacji oraz zwiększone ryzyko poronienia i zwiększone ryzyko urodzenia chorego dziecka. Komórka jajowa może skutecznie naprawiać uszkodzenia chromatyny plemników w pewnym zakresie, jednak skuteczność mechanizmów naprawczych w komórkach jajowych zmniejsza się z wiekiem kobiety.

Poznane dotychczas mechanizmy uszkodzeń DNA plemników to apoptoza lub anomalie powstałe podczas procesu spermatogenezy, pęknięcia nici DNA podczas przebudowy chromatyny w procesie spermiogenezy, pozajądrowe uszkodzenia DNA głównie przez wolne rodniki tlenowe podczas transportu przez kanaliki nasienne

i w najądrzach, fragmentacja DNA indukowana przez endogenne kaspazy i endonukleazy, uszkadzający wpływ radio- i chemioterapii oraz toksyn środowiskowych. Za główny z nich uważa się stres oksydacyjny. Może on być związany z czynnikami wewnętrznymi (jak na przykład niedobór protaminy i wady upakowania DNA) co może dotyczyć nawet 15 % niepełnych mężczyzn. Powinniśmy brać pod uwagę również czynniki zewnętrzne – stany zapalne narządów płciowych, ciepło, promieniowanie, chemioterapia, palenia papierosów. Palenie generuje wysokie poziomy stresu oksydacyjnego i zmniejsza stężenie antyoksydantów w osoczu nasienia.

Fragmentacja DNA plemników nie koreluje niestety z podstawowymi parametrami nasienia. Podwyższony poziom uszkodzeń DNA plemników obserwowano u około 5% niepełnych mężczyzn z prawidłowymi parametrami nasienia w porównaniu z 25% w grupie pacjentów z nieprawidłowymi parametrami nasienia. Podwyższony indeks fragmentacji DNA plemników wskazuje na zmniejszoną płodność męską niezależnie od ilości, ruchliwości i morfologii plemników. Wyniki oceny struktury chromatyny plemnikowej (test SCSA, ang. *sperm chromatin structure assay*), pozwalały na najlepszą ocenę szans na pomyślny przebieg ciąży w przypadku planowania pierwszej ciąży, również u par poddawanych inseminacji wewnątrzmacicznej (IUI, ang. *intrauterine insemination*).

Dlatego tak ważnym jest używanie diagnostyki fragmentacji DNA plemników w algorytmie postępowania z parą niepełną. Żeby móc skutecznie diagnozować przyczynę niepełności należy posiadać odpowiednie narzędzie diagnostyczne. Obecnie mamy przynajmniej kilka metod oznaczania uszkodzeń DNA plemników. Jednak chęć upowszechnienia badania wraz z komercjalizacją testu wprowadziła na rynek również badania niewiarygodne lecz proste w wykonaniu i tanie w zakupie. Powoduje to, że grupa klinik pobiera od nieświadomych tego pacjentów opłaty porównywalne z wiarygodnymi testami za testy niewiarygodne uzyskując 1000% marże z badania. Wśród badań o potwierdzonej wiarygodności i jakości należy wymienić SCSA, TUNEL (ang. *TdT-mediated dUTP nick-end labelling*) oraz test kometowy (ang. *comet assay*). Wśród testów o niepotwierdzonej przez niezależne badania należy wymienić hit komercyjny – test dyspersji plemnikowej chromatyny (SCD, ang. *sperm chromatin dispersion*) fałszywie nazywanym testem fragmentacji DNA plemników.

Dotychczas nie zostało jednoznacznie ustalone miejsce fragmentacji DNA plemników w algorytmie postępowania – czy we wstępnej diagnostyce, diagnostyce poszerzonej, przed zapłodnieniem pozaustrojowych, czy może po jego niepowodzeniu. Ponieważ obecnie posiadamy narzędzie do, przynajmniej częściowej, separacji plemników z wysoką fragmentacją DNA, powstaje pytanie, czy nie powinniśmy również stosować tych oznaczeń po przeprowadzeniu selekcji plemników do zapłodnienia pozaustrojowego.

Mariola Marchlewicz¹, Ewa Duchnik²

ŁYSIENIE ANDROGENOWE A ZDROWIE MĘŻCZYZNY

¹Katedra i Klinika Chorób Skórnych i Wenerologicznych, ²Zakład Dermatologii Estetycznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

e-mail: mariola.marchlewicz@pum.edu.pl

Obecność zdrowych, prawidłowo rosnących włosów jest bardzo ważna dla dobrego samopoczucia mężczyzn. Procesy wzrostu i wymiany włosów podlegają regulacji m.in. przez androgeny. W niektórych miejscach androgeny nie wywierają żadnego wpływu, w innych pobudzają lub hamują wzrost włosów. U mężczyzn, wysokie stężenie androgenów, stymuluje wzrost włosów na twarzy, w okolicy nadłonowej i na klatce piersiowej. Natomiast w obrębie skóry głowy androgeny mogą wywoływać łysienie. Mieszki włosowe są wrażliwe na androgeny dzięki ekspresji receptorów androgenowych (AR, ang. *androgen receptor*) w komórkach brodawki włosa (DPC, ang. *dermal papilla cells*). Ekspresja AR jest znacznie wyższa w DPC brody oraz okolic podlegających łysieniu androgenowemu, niż w komórkach niełysiejącej skóry okolicy potylicznej.

Łysienie androgenowe (AGA, ang. *androgenetic alopecia*) dotyczy ok. 50% dorosłych mężczyzn poniżej 50. r.ż. i ponad 70% powyżej 70. r.ż. Obraz kliniczny polega na utracie włosów początkowo w okolicy czołowej, a następnie w obrębie szczytu głowy. Nasilenie choroby ocenia się w skali Hamiltona-Norwooda. Podstawowym procesem patogenetycznym w AGA jest, mediowana przez dihydrotestosteron (DHT, ang. *dihydrotestosterone*), miniaturyzacja mieszków włosowych, w okolicach androgenozależnych. Istotne znaczenie w patogenezie AGA mają czynniki genetyczne (polimorfizm pojedynczego nukleotydu w eksonie 1 genu AR zlokalizowanego na długim ramieniu chromosomu X), hormonalne (testosteron, DHT) i środowiskowe.

Uważa się, że w AGA dochodzi, w obrębie mieszka włosowego, do zmiany interakcji między DPC a keratynocytami. Kompleks androgeny/AR ma wpływ na syntezę w DPC czynników, które regulują zarówno funkcję tych komórek autokrynnie, jak i funkcję komórek nabłonkowych mieszków na drodze parakrynowej np. poprzez insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1, ang. *insulin-like growth factor 1*), w obrębie komórek brodawek skórnych, w okolicach skóry objętej procesem łysienia, poziom wydzielania tej cytokiny jest aż 6 razy niższe niż w skórze nie objętej łysieniem, co potwierdza istotną rolę IGF-1 w hamowaniu procesu łysienia i może stać się podłożem do stworzenia nowych opcji terapeutycznych tego schorzenia.

Androgeny wpływają też na zmianę transkrypcji genów w DPC regulujących cykl wzrostu włosów. Odpowiadają za zmniejszenie liczby komórek w mieszku włosa, gdyż wysokie poziomy testosteronu i DHT indukują apoptozę DPC oraz utratę ich właściwości proliferacyjnych. W konsekwencji następuje skrócenie fazy

anagenu i zmniejszenie wielkości mieszków. Zmienia się aktywność DPC, keratynocytów oraz melanocytów, co prowadzi do przekształcenia mieszków włosów ostatecznych do mieszkowych i tworzenia włosów krótszych, cieńszych i odbarwionych (Marchlewicz i wsp.: Post Androl Online. 2014, 1(2), 14–24).

Poza negatywnym wpływem AGA na jakość życia coraz więcej badań wskazuje na jego związek ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. U osób z AGA częściej stwierdza się zespół metaboliczny, otyłość, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemię, insulinooporność i przyspieszony rozwój miażdżycy. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego spełnia 20–57% pacjentów z AGA. Patomechanizm współwystępowania łysienia androgenowego i chorób sercowo-naczyniowych jest złożony i obejmuje czynniki genetyczne (zwiększona wrażliwość na androgeny i zwiększona aktywność 5 α -reduktazy), hormonalne (zwiększone stężenie insuliny, aldosteronu, leptyny) oraz zapalne (cytokiny, reaktywne formy tlenu). U pacjentów z AGA wokół mieszków włosowych stwierdza się odczyn zapalny, a w surowicy pacjentów z AGA o wczesnym początku stwierdzono zwiększone stężenia markerów stresu oksydacyjnego. Metaanaliza danych literaturowych wykazuje związek AGA ze zwiększonymi poziomami cholesterolu i trójglicerydów w surowicy krwi oraz wyższymi wartościami ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi u tych mężczyzn (Wernicka i wsp.: Przegl Dermatol. 2018, 105, 716–725).

Katarzyna Marchlewska

PROGNOSTYCZNE ZNACZENIE TESTÓW CZYNNOSCIOWYCH W ROZRODZIE

Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

e-mail: katarzyna.marchlewska@umed.lodz.pl

W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się badaniom dotyczącym jakości plemników. Obserwuje się znaczący postęp wiedzy na temat znaczenia integralności chromatyny plemnikowej, szczególnie fragmentacji DNA czy prawidłowej protaminacji. Szczególna uwaga zwrócona jest na ocenę stresu oksydacyjnego i konsekwencje tego zjawiska. Jednak nie mniej ważnym zagadnieniem wydaje się ocena czynności plemników.

Podstawowym parametrem opisującym czynność plemników w badaniu ogólnym nasienia jest ruchliwość. Często dla celów prognostycznych oblicza się również wskaźnik określany jako całkowita liczba ruchliwych plemników (TMSC, ang. *total motile sperm count*), wartości referencyjne dla tego parametru są wciąż tematem dyskusji. Część autorów przyjmuje wartość prawidłową powyżej 10 mln, a część powyżej 5 mln, ale są prace wskazujące, że wartość minimalna powinna wynosić 1 mln. Wskaźnik ten wykorzystuje się zwykle przy kwalifikowaniu pary do inseminacji domacicznej (IUI, ang.

intrauterine insemination), ale również przy ocenie szans na naturalne zapłodnienie. Wiele badań wskazuje, że sama zdolność do ruchu nie zapewnia plemnikowi udziału w procesie rozrodu. W naturalnych warunkach około 1% plemników zdeponowanych podczas stosunku płciowego przenika do macicy, a liczba ta jest stale redukowana wraz z pokonywaniem przez nie kolejnych odcinków żeńskiego układu płciowego. Dlatego tak istotnym parametrem jest ocena ich zdolności do migracji. Proces ten wiąże się ze zdolnością męskich gamet do hiperaktywacji, chemo- i termotaksji.

Zdolność plemników do migracji ocenia się przy użyciu czynnościowego testu, jakim jest test migracyjny (ang. *swim up*). Wynik testu wskazuje na liczbę plemników, które migrują w ciągu 1 godziny z 1 mL natywnej próbki nasienia do 1,2 mL medium o składzie przypominającym płyn jajowodowy, i wyrażony jest jako koncentracja ruchliwych plemników (mln/mL) po preparatyce. Test wykorzystuje się przy ocenie szans na naturalne zapłodnienie, IUI oraz klasyczne zapłodnienie pozaustrojowe (IVF, ang. *in vitro fertilization*). Test nie ma wartości odcięcia, ponieważ przy interpretacji należy pamiętać, że wynik testu nie uwzględnia całej objętości ejakulatu i tę należy przy ocenie testu uwzględnić indywidualnie. Jeśli ocenimy skuteczność zapłodnienia metodą IUI w zależności od liczby ruchliwych plemników, które zostaną podane do macicy w literaturze wartość graniczna dla tego parametru waha się od 0,8 nawet do 20 mln plemników. Choć na uwagę zasługuje stanowisko *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM), gdzie wykazano, że skuteczność inseminacji rośnie wraz z liczbą plemników transferowanych do macicy, ale tylko do 9 mln, a potem utrzymuje się na stałym poziomie. Jeśli natomiast rozważana jest kwalifikacja do procedury IVF, optymalne warunki daje wynik 70–100 tysięcy plemników na każdy oocyt.

Zapłodnienie jest wieloetapowym i skomplikowanym procesem i nie opracowano jeszcze diagnostycznych metod, które na każdym etapie sprawdzałyby czynność męskich gamet, ale dostępny jest test, który wskazuje na dojrzałość plemników i ocenia ich zdolność do wiązania z kwasem hialuronowym (HBA, ang. *hyaluronan binding assay*). Fizjologicznie kwas hialuronowy znajduje się w wieńcu promienistym oocytu i jest rozpraszany dzięki hialuronidazie zlokalizowanej na główkach plemników. Zgodnie z zaleceniami producenta testu wartość $\geq 80\%$ ruchliwych plemników reagujących w teście uznano za prawidłową. Jednak badania sugerują, że wartość HBA $< 60\%$ znacząco wskazuje na obniżoną dojrzałość plemników (Huszar i wsp., *Reprod Biomed*, 2007, 14, 650–663), podczas gdy pacjenci z wynikiem wiązania $\leq 65\%$ mają zmniejszoną szansę na posiadanie dojrzałego plemnika losowo wybranego do ICSI (Worriłow i wsp., *Hum Reprod*, 2013, 28, 306–314). Na przykładzie badań własnych przedstawiona zostanie częstość występowania zaburzeń związanych z czynnością męskich gamet w populacji mężczyzn zgłaszających się na badanie nasienia w aglomeracji łódzkiej.

Sylwia Marek¹, Alicja Kamińska¹,
Małgorzata Brzoskwinią¹, Laura Pardyak²,
Anna Hejmej¹, Barbara Bilińska¹

HORMON FOLIKULOTROPOWY (FSH) REGULUJE SYGNALIZACJĘ NOTCH W JĄDRZE SZCZURA W OKRESIE DOJRZEWANIA PŁCIOWEGO

¹Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, ²Ośrodek Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie;
e-mail: s.marek@doctoral.uj.edu.pl

Funkcja gonady męskiej ssaków jest utrzymywana przez oś podwzgórzowo-przysadkową, której aktywność w okresie dojrzewania płciowego związana jest z pulsacyjnym wydzielaniem gonadoliberyny (GnRH, ang. *gonadotropin-releasing hormone*) z podwzgórza. Hormon folikulotropowy (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*), uwalniany w odpowiedzi na ten sygnał, bierze wraz z androgenami udział w kontroli spermatogenezy. Badania z wykorzystaniem gryzoni dowiodły, że FSH, regulując funkcje komórek Sertolego, ogranicza apoptozę komórek płciowych podczas pierwszej fali spermatogenezy, a także wpływa na proliferację i różnicowanie spermatogoniów (*O'Shaughnessy: Semin Cell Dev Biol.* 2014, 29, 55–65).

Komórki Sertolego kontrolują spermatogenezę poprzez wzajemne interakcje oraz komunikację z komórkami płciowymi. Jednym z typów bezpośrednich oddziaływań międzykomórkowych w nabłonku plemnikotwórczym jest komunikacja z udziałem szlaku sygnałowego Notch (*Murta i wsp.: PLoS One.* 2013, 8, e72767). Chociaż rola sygnalizacji Notch w przebiegu spermatogenezy jest w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań, regulacja funkcjonowania tego szlaku w nabłonku plemnikotwórczym jest wciąż słabo poznana.

Badania autorskie z wykorzystaniem szczurów poddanych działaniu antagonisty GnRH, a następnie suplementacji FSH, wskazują, że funkcjonowanie szlaku Notch w jądrach w okresie dojrzewania płciowego podlega działaniu FSH. Przeprowadzone analizy wykazały zmiany w ekspresji receptorów Notch1, Notch2 oraz Notch3, a także aktywnych form tych receptorów w nabłonku plemnikotwórczym, zarówno w komórkach Sertolego, jak i w komórkach płciowych szczurów po ekspozycji na FSH. Ocenie poddano także ekspresję genów efektorowe *Hes1* i *Hey1* kontrolowanych przez szlak Notch, a lokalizację białek HES1 i HEY1 w kanalikule plemnikotwórczym potwierdzono za pomocą analizy immunohistochemicznej. Po podaniu FSH stwierdzono spadek ekspresji *Hes1*, co może świadczyć o ograniczeniu aktywności tego szlaku w nabłonku plemnikotwórczym.

Uzyskane wyniki wskazują, że FSH reguluje bezpośrednio, opartą na szlaku Notch, komunikację pomiędzy komórkami nabłonka plemnikotwórczego. Wzajemne oddziaływanie między FSH i szlakiem Notch mogą stanowić molekularny mechanizm odpowiedzialny za

wpływ FSH na zdolność komórek Sertolego do wspierania rozwoju komórek rozrodczych. Obserwacje te mogą przyczynić się do wyjaśnienia podłoża zaburzeń rozwoju komórek płciowych związanych z zakłóconym działaniem FSH.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, grant OPUS13 2017/25/B/NZ4/01037.

Marek Mędras

BYŁA PŁEĆ A POZOSTAŁO STĘŻENIE TESTOSTERONU

Zakład Medycyny Sportu i Dietetyki, Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu, Polskie Laboratorium Antydopingowe – POLADA
e-mail: m.medras@gmail.com

W wykładzie zostaną przedstawione informacje dotyczące różnicowania płci a następnie problem weryfikacji płci w sporcie wyczynowym w ujęciu historycznym. W dalszej części analizowane będą zagadnienia stężenia testosteronu u kobiet zdrowych oraz z hiperandrogenizmem. Dane te będą konfrontowane z zaleceniami organizacji sportowych dotyczących akceptowalnego stężenia testosteronu u sportsmenek. W końcowej części prezentowane będą przypadki zaburzeń rozwoju płci (46,XY DSD, ang. *disorders of sex development*) spotykane w sporcie wyczynowym (zespół niewrażliwości na androgeny, niedobór 5 α -reduktazy, niedobór dehydrogenazy 17- β hydroksysteroidowej, wrodzony przerost kory nadnerczy, hipoplazja komórek Leydiga).

Laura Pardyak¹, Alicja Kamińska²,
Małgorzata Brzoskwinią², Anna Hejmej²,
Małgorzata Kotula-Balak³, Jan Jankowski⁴,
Mariola Słowińska⁵, Andrzej Ciereszko⁵, Barbara Bilińska²

ZNACZENIE RÓWNOWAGI HORMONALNEJ W TKANKACH REPRODUKCYJNYCH INDORA Z SYNDROMEM ŻÓŁTEGO NASIENIA

¹Centrum Medycyny Eksperymentalnej i Innowacyjnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ²Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, ³Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ⁴Katedra Drobiarstwa, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ⁵Zakład Biologii Gamet i Zarodka, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie
e-mail: laura.pardyak@urk.edu.pl

Powszechnie wiadomo, że niektóre samce indyków produkują nasienie żółte, zamiast prawidłowego nasienia białego (WNS, ang. *white normal semen*). Syndrom żółtego nasienia (YSS, ang. *yellow semen syndrome*) u indora domowego (*Meleagris gallopavo*) wykryto w latach 80-tych ubiegłego wieku identyfikując plazmę nasienia o żółtym

kolorze i wysokiej koncentracji białka (*Thurston i wsp.*: Poult Sci. 1982, 61, 1905–1911). Co więcej, w zaburzeniu tym obserwuje się nieprawidłowo wykształcone spermatydy i plemniki oraz zmniejszoną zdolność zapłodnienia i wylegania w porównaniu z indorami charakteryzującymi się białym nasieniem (WNS). W ostatnich latach przedstawiono pełną charakterystykę białego i żółtego nasienia wskazując na obniżenie ruchliwości plemników u osobników z syndromem YSS (*Słowińska i wsp.*: Poult Sci, 2011, 90, 181–190). Chociaż specyficzne parametry jakości nasienia zostały szczegółowo opisane, przyczyna występowania YSS pozostaje wciąż niewyjaśniona. Warto zaznaczyć, że indory produkujące nasienie żółte są szczególnie interesujące jako model zwierzęcy do badań zmian reprodukcyjnych związanych z niewyjaśnioną niską jakością nasienia.

U wielu gatunków ssaków równowaga pomiędzy testosteronem, a estradiolem ma kluczowe znaczenie dla przebiegu spermatogenezy, prawidłowego dojrzewania plemników w najądrzu oraz prawidłowego funkcjonowania nasieniowodów. W porównaniu do licznych badań prowadzonych na ssakach, niewiele wiadomo na temat znaczenia metabolizmu testosteronu i stosunku androgenów do estrogenów w tkankach rozrodczych ptaków domowych. Zatem, celem niniejszych badań było poznanie i wyjaśnienie związku pomiędzy poziomem steroidów płciowych, a występowaniem obniżonej jakości nasienia u indorów z YSS.

W naszych badaniach wykorzystano skrawki tkanek rozrodczych (jąder, najądrzy i nasieniowodów) oraz izolowane plemniki indorów z YSS i osobników produkujących nasienie prawidłowe (WNS), które analizowano z użyciem technik biologii komórkowej i molekularnej, takich jak: immunohistochemia, Western blotting i łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym (qRT-PCR, ang. *quantitative real-time polymerase chain reaction*) (*Pardyak i wsp.*: Br Poult Sci, 2018, 59, 591–603; *Pardyak i wsp.*: Poult Sci, 2020, 99, 555–566).

Wykazano niejednorodny rozmieszczenie sygnału aromatazy oraz znacznie wyższy poziom jej ekspresji w tkankach rozrodczych i plemnikach indorów YSS w porównaniu do osobników WNS, co może odzwierciedlać wyższą endogenną syntezę estrogenów u samców z nieprawidłowym żółtym nasieniem. Sugestia ta znalazła poparcie w znamiennie wyższym poziomie estradiolu w jądrach indorów YSS vs. WNS. Ponadto, wykazano dodatnią korelację pomiędzy wzrostem stężenia estradiolu, a zwiększoną ekspresją receptorów estrogenowych α (ER α , ang. *estrogen receptor α*) i β (ER β , ang. *estrogen receptor β*) w jądrach i najądrzach indorów YSS. Zmiany ekspresji badanych białek notowane *in vivo* pozostawały w zgodności z uzyskanymi w doświadczeniach *ex vivo* po inkubacji eksplantów jąder z estradiolem. Co więcej, obserwacje w transmisyjnym mikroskopie elektronowym pozwoliły na wykazanie różnic w osłonce włóknistej plemników YSS, manifestujących się jej zmniejszoną grubością w stosunku do plemników WNS, co

może skutkować zaburzoną ruchliwością plemników u indorów z syndromem.

Podsumowując, dominacja estrogenów w środowisku hormonalnym wydaje się stanowić jedną z przyczyn różnic pomiędzy indorami z białym i żółtym nasieniem. Z niniejszych badań wynika potencjalna zależność między brakiem równowagi hormonalnej, a niższą jakością nasienia u indorów z YSS, na co wskazują zaburzenia strukturalne proksymalnej części witki plemników indorów YSS.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, projekt PRELUDIUM 13, 2017/25/N/NZ9/00585 (L.P.).

Michał Rabijewski

LATE ONSET HYPOGONADISM – AKTUALNE POGŁĄDY NA ROZPOZNAWANIE I LECZENIE

Zakład Zdrowia Prokreacyjnego Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
e-mail: mirab@cmkp.edu.pl

Późno ujawniający się hipogonadyzm (LOH, ang. *late-onset hypogonadism*) jest zespołem klinicznym występującym u mężczyzn w starszym wieku charakteryzującym się objawami hipogonadyzmu oraz obniżonym stężeniem testosteronu (T, ang. *testosterone*) i będącym następstwem procesu starzenia. LOH wynika z zaburzeń czynności osi podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalnej. Współistniejące zaburzenia metaboliczne wydają się mieć większe znaczenie niż proces starzenia, który powoduje obniżoną jakość życia, pogorszenie nastroju i sprawności seksualnej a także wzrost chorobowości i śmiertelności. Z drugiej strony, niedobór T jest czynnikiem ryzyka zaburzeń metabolicznych, cukrzycy i miażdżycy („błędne koło”). Terapia zastępcza testosteronem (TRT, ang. *testosterone replacement therapy*) jest szeroko stosowana w celu podniesienia stężeń T do wartości fizjologicznych oraz zmniejszenia objawów niedoboru T, takich jak obniżone libido, zaburzenia wzrodu, obniżony nastrój oraz zmniejszenie masy i siły mięśni. Opracowano wiele zaleceń dotyczących TRT, ale obok oczywistych ustaleń, nadal różnią się one istotnie głównie wartościami stężeń całkowitego i wolnego T pozwalającymi rozpoznać LOH oraz docelowymi stężeniami T w trakcie TRT. Opracowano wiele preparatów testosteronu o różnych parametrach farmakokinetycznych i należy stosować preparaty odpowiednie i bezpieczne dla danego pacjenta. Długofalowa TRT u mężczyzn z LOH jest bezpieczna, także w odniesieniu do ryzyka chorób układu krążenia oraz gruczołu krokowego. Wprawdzie wpływ TRT na układ krążenia jest złożony i raczej korzystny ale badania kliniczne wskazują też na brak wpływu lub nawet działania niekorzystne przy istnieniu dodatkowych czynników. Obecnie wydaje się, że TRT jest bezpieczna pod warunkiem skutecznego leczenia chorób towarzyszących.

Michał Rabijewski

RECEPTOR ANDROGENOWY I ZESPOŁY NIEWRAŻLIWOŚCI NA ANDROGENY

Zakład Zdrowia Prokreacyjnego Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
e-mail: mirab@cmkp.edu.pl

Receptor androgenowy (AR, ang. *androgen receptor*) odgrywa istotną rolę w różnicowaniu płciowym oraz rozwoju i funkcjonowaniu męskich organów płciowych. AR jest bardzo zróżnicowany a jego nieprawidłowości mają istotne konsekwencje. Zespół niewrażliwości na androgeny (AIS, ang. *androgen insensitivity syndrome*) jest chorobą genetyczną, w której występowanie kariotypu męskiego i gonad współistnieje z feminizacją zewnętrznych narządów płciowych. AIS jest wynikiem mutacji w genie kodującym AR zlokalizowanym na długim ramieniu chromosomu X (Xq11-q12) i związany jest z prawidłowym chromosomem Y oraz nieprawidłowościami chromosomu X. AIS dzielimy na: całkowitą niewrażliwość na androgeny (CAIS, ang. *complete androgen insensitivity syndrome*) z zewnętrznymi narządami płciowymi kobiecymi i brakiem żeńskich wewnętrznych narządów płciowych, częściową niewrażliwość na androgeny różnego stopnia (PAIS, ang. *partial androgen insensitivity syndrome*) z zewnętrznymi narządami o spektrum od kobiecych do męskich oraz łagodną niewrażliwość na androgeny (MAIS, ang. *mild androgen insensitivity syndrome*) z upośledzoną spermatogenezą i/lub obniżoną androgenizacją. MAIS jest najczęstszą przyczyną łagodnego hipogonadyzmu przy podwyższonych stężeniach testosteronu (T, ang. *testosterone*). U niektórych mężczyzn obserwuje się polimorfizm genu AR powodujący łagodne ale istotne zmniejszenie działania T z objawami hipogonadyzmu i prawidłowymi stężeniami T. Wykazano negatywny wpływ polimorfizmu genu AR na gęstość mineralną kości, lipidy oraz nastrój oraz pozytywny wpływ na objętość gruczołu krokowego. Należy uwzględnić możliwość polimorfizmu genu AR w diagnostyce pacjentów z objawami niedoboru T ale prawidłowymi stężeniami T oraz jego wpływ na ryzyko efektów ubocznych terapii zastępczej testosteronem.

Weronika Ratajczak^{1,2}, Olimpia Sipak³, Maria Laszczyńska²

MIKROFLORA JELITOWA I CHOROBY JELIT A RAK I ROZROST GRUCZOŁU KROKOWEGO

¹Zakład Farmakologii Ogólnej i Farmakoeconomiki, ²Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, ³Zakład Położnictwa i Patologii Cięży, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
e-mail: veronica.ratajczak@gmail.com

Łagodny rozrost gruczołu krokowego (BPH, ang. *benign prostatic hyperplasia*) jest jednym z najczęściej diagnozowanych schorzeń urologicznych u mężczyzn po 50 r.ż. BPH jest charakteryzowany poprzez rozrost

komórek zrębu prostaty, co prowadzi do przeszkody podpecherzowej (BOO, ang. *prostatic bladder obstruction*) i objawów ze strony dolnych dróg moczowych (LUTS, ang. *lower urinary tract symptoms*), co razem wpływa na obniżenie wskaźnika jakości życia (QoL, ang. *quality of life*). Rozwój BPH bardzo często jest związany z istnieniem chorób współtowarzyszących takich jak cukrzyca, choroby układu sercowo-naczyniowego, a nawet choroby neurologiczne (*Cho i wsp.*: *Curr Bladder Dysfunct Rep.* 2020, 15, 60–65). Wiele badań wskazuje również na związek zespołu metabolicznego (MetS, ang. *metabolic syndrome*) z ryzykiem wystąpienia LUTS i BPH (*Zhao i wsp.*: *Urol J.* 2016, 13, 2717–2726). Czynnikiem, który również wpływa na zapoczątkowanie zmian patologicznych w prostatie, czego konsekwencją będzie jej łagodny rozrost, jest przewlekły stan zapalny wynikający m.in z zaburzeń o podłożu metabolicznym (*Gacci i wsp.*: *BMC Urol.* 2017, 17:22). Ponadto, dodatkowym czynnikiem, który wpływa na wystąpienie stanu zapalnego w organizmie, są zaburzenia mikroflory jelitowej.

Mikroflora jelitowa jest jednym z elementów bakterijskiego ekosystemu w organizmach ssaków. Mikroorganizmy, które zasiedlają jelito, są jednym z kluczowych elementów biorących udział w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej już od momentu narodzin. Obecnie przeprowadza się coraz więcej badań dotyczących wpływu metabolitów bakterijskich, w tym krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA, ang. *short-chain fatty acids*), na homeostazę, nie tylko w mikrośrodowisku jelita, ale również komórek i tkanek innych narządów. SCFA są grupą związków zbudowanych z sześciu atomów węgla (C1-C6), a kwasami, które stanowią większość są: kwas masłowy (C4), kwas propionowy (C3) i kwas octowy (C2) (*Tramontano i wsp.*: *Nat Microbiol.* 2018, 3, 514–522).

Jak dotąd zaburzenia mikroflory jelitowej i jej wpływu na stan zapalny oraz choroby prostaty nie zostały jeszcze dokładnie przeanalizowane. Nie badano także wpływu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych na rozwój łagodnego rozrostu gruczołu krokowego. W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć tylko nieliczne publikacje związane z wpływem mikroflory jelitowej na prostatę. Dotyczą one głównie, oddziaływania bakterii jelitowych na syntezę metabolitów oraz androgenów, które mogą przyczyniać się do rozwoju raka prostaty u ludzi (*Liss i wsp.*: *Eur Urol.* 2018, 74, 575–582). Z kolei w badaniu prowadzonym na myszach, wykazano, że patogenne bakterie jelitowe mogą promować rozwój raka prostaty poprzez aktywację komórek immunologicznych (*Poutahidis i wsp.*: *PLoS One.* 2013; 8, e73933). Istnieją również doniesienia mówiące o wpływie stanu zapalnego jelita grubego (IBD, ang. *inflammatory bowel disease*) na ryzyko wystąpienia raka prostaty (*Burns i wsp.*: *Eur Urol.* 2019, 75, 846–852). Jak dotąd, różnice w składzie mikroflory jelitowej, potwierdzono tylko w badaniu pilotażowym, gdzie porównano skład mikroflory jelitowej

u pacjentów z rakiem prostaty i łagodnym rozrostem tego gruczołu. (*Golombos i wsp.*: *Urology*. 2018, 111, 122–128). Wyniki badań *Liss i wsp.* inflammation wskazują, że u mężczyzn ze zdiagnozowanym rakiem prostaty (PCa, ang. *prostate cancer*) przeważały bakterie z rodzaju *Bacteroides* i *Streptococcus spp.* Jednak dokładny mechanizm, w jaki mikroflora jelitowa oddziałuje na gruczoł krokowy nie został jeszcze w pełni poznany. Bardzo prawdopodobne wydaje się jednak, że zaburzona mikroflora jelitowa nie oddziałuje na gruczoł krokowy w sposób bezpośredni, ale wpływa na wytworzenie ogólnoustrojowego przewlekłego stanu zapalnego. Komórki i czynniki zapalne, m.in. cytokiny, ze środowiska jelit wraz z krążeniem mogą przedostawać się do gruczołu i tam wywoływać „lokalny” stan zapalny oraz pobudzać czynniki wzrostu zrębu prostaty, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju chorób prostaty.

W badaniach własnych porównano profil SCFA pomiędzy zdrowymi pacjentami (grupa kontrolna), a pacjentami ze zdiagnozowanym BPH (grupa badana) z dodatkowym uwzględnieniem MetS, jako czynnika predysponującego do rozwoju łagodnego rozrostu prostaty. Przeprowadzone badania, są pierwszymi, które wykazują zmiany w badanych stężeniach SCFA pomiędzy pacjentami w badanych grupach. Jednak, aby stwierdzić, czy istnieje „oś mikroflora jelitowa – prostata” oraz czy mikroflora jelitowa oraz jej metabolity przyczyniają się do rozwoju BPH, potrzebne są jeszcze dalsze badania.

Badania finansowane przez Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie (nr badań: WNoZ-322-03/S/16/2020).

Marzena Skrzypczak-Zielińska, Monika Frączek

ANALIZA NGS (SEKWENCJONOWANIE NOWEJ GENERACJI) W DIAGNOSTYCE NIEPŁODNOŚCI MĘSKIEJ

Institut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań
e-mail: mskrzypczakzielinska@gmail.com; framon@man.poznan.pl

Analizy genetyczne odgrywają istotną rolę w ustalaniu przyczyn niepowodzeń rozrodu par. Uważa się, że za co najmniej 10–15% przypadków niepłodności męskiej odpowiadają czynniki genetyczne (*Ambulkar i wsp.*: *J. Clin. Diagn. Res.* 2014, 8, 88–91). Standardem stała się analiza kariotypu. Aberracje chromosomowe występują u 7% niepłodnych mężczyzn, czyli 30 razy częściej niż w populacji ogólnej. Inną przyczyną niepłodności męskiej są mikrodelecje chromosomu Y lub aberracje i mutacje genów odpowiedzialnych za rozwój męskich cech płciowych, np. zlokalizowane w ramieniu krótkim chromosomu Y w regionie Yp11.2. Natomiast pacjentom z obustronnym lub jednostronnym brakiem lub niedrożnością nasieniowodów należy zlecić badania w kierunku obecności mutacji genu *CFTR* (ang. *cystic fibrosis*

transmembrane conductance regulator) kodującego białko kanału chlorkowego błony komórkowej (Łukaszuk i wsp.: *Gin Perinat Prakt.* 2018, 3, 112–140; *Kaminski i wsp.* *Int J Mol Sci.* 2020, 21, 5274). Na tym jednak nie kończą się możliwości genetyki.

Nowoczesne technologie otwierają kolejne obszary badań w diagnostyce niepłodności. Taką technologią jest sekwencjonowanie następnej generacji (NGS, ang. *next generation sequencing*), którą wykorzystuje się np. w genetycznej diagnostyce preimplantacyjnej (PDG, ang. *genetic preimplantation diagnostics*) w ramach procedury *in vitro* w celu ograniczenia ryzyka występowania poważnych wad chromosomowych u zarodka jeszcze zanim kobieta zajdzie w ciążę oraz w przypadku detekcji chorób jednogennowych i zaburzeń związanych z występowaniem translokacji u potomstwa. Przeprowadzenie analizy NGS jest szczególnie wskazane w przypadku osób z pozytywnym wywiadem genetycznym, par, które doświadczyły nawracających poronień lub u których potomstwa stwierdzono zaburzenia genetyczne, a także kobiet decydujących się na ciążę po 35 r.ż. (Łukaszuk i wsp.: *Gin Perinat Prakt.* 2018, 3, 112–140). Dzięki diagnostyce PGD znacznie wzrasta odsetek implantacji zarodków i narodzin zdrowych dzieci.

Warto zwrócić uwagę na jeszcze inny istotny aspekt zastosowania NGS w diagnostyce niepłodności, mianowicie związany z charakterystyką mikrobiomu układu rozrodczego. Biorąc pod uwagę fakt, że w organizmie człowieka jest więcej drobnoustrojów niż ludzkich komórek, mikrobiom (określany jako „drugi ludzki genom”) ma ogromny potencjał, aby wpływać na fizjologię człowieka, zarówno w kontekście utrzymania stanu zdrowia, jak i wywoływania chorób (*Tsonis i wsp.*: *Ann Transl Med.* 2020, 8, 1707). Do tej pory zastosowanie NGS pomogło w wyjaśnieniu funkcjonalnych, ilościowych i mechanistycznych aspektów złożonych interakcji mikroorganizm-gospodarz, które leżą u podstaw fizjologii i patofizjologii człowieka, szczególnie w odniesieniu do mikrobiomu jelitowego. Tymczasem mikrobiom nasienia jest obszarem o rosnącym zainteresowaniu naukowym. Pojawiające się badania zaczynają wskazywać, że mikrobiom nasienia ma ważne konsekwencje dla zdrowia reprodukcyjnego mężczyzn, zdrowia par i nawet zdrowia potomstwa dzięki przenoszeniu mikroorganizmów na partnera i potomstwo (*Baud i wsp.*: *Front Microbiol.* 2019, 10, 234; *Chen i wsp.*: *Exp Ther Med.* 2018, 15, 2884–2890;). Wskazanie konkretnych gatunków bakterii mających wpływ na funkcje plemników i płodność mężczyzn mogą ułatwić opracowanie nowych terapii (np. probiotyków). Obecnie jednak dowody dotyczące wpływu mikrobiomu nasienia na płodność są niejednoznaczne i potrzebne są dalsze badania w tym obszarze (*Farahani i wsp.*: *Andrology.* 2021, 9, 115–144). Nie mniej jednak należy spodziewać się, że analizy NGS stanowią przyszłość szeroko pojętej diagnostyki molekularno-genetycznej także w badaniach niepłodności.

Jolanta Słowikowska-Hilczler

REKOMENDACJE EAA DOTYCZĄCE POSTĘPOWANIA W ZESPOLE KLINEFELTERA

Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
e-mail: jolanta.slowikowska-hilczler@umed.lodz.pl

Zespół Klinefeltera jest najpowszechniejszą (0,1–0,2% noworodków płci męskiej), uwarunkowaną genetycznie przyczyną niepłodności oraz hipogonadyzmu hipergonadotropowego u mężczyzn. Rozwija się na skutek aberracji liczbowej chromosomów X (najczęściej 47,XXY). W dzieciństwie i we wczesnym okresie dojrzewania płciowego czynność układu podwzgórze-przysadka-jądra jest zwykle prawidłowa. Od środkowego okresu dojrzewania (stadium G III wg klasyfikacji Tannera) rozwija się obraz kliniczny hipogonadyzmu hipergonadotropowego na skutek postępującej degeneracji struktury i upośledzenia czynności jąder (*Wikström i Dunkel: Horm Res.* 2008, 69, 317–326). Fenotyp jest zróżnicowany, począwszy od niemalże prawidłowego do znacznie odbiegającego od normy, u noworodków z zespołem Klinefeltera jest z reguły prawidłowy męski. Często jedyną kliniczną cechą są małe jądra, które najczęściej są identyfikowane dopiero po okresie dojrzewania płciowego. Pacjenci z tym zespołem są najczęściej niepłodni, jednakże w około połowie przypadków możliwe jest znalezienie plemników w jądrach (*Rohayem i wsp.: Andrology.* 2015, 3, 868–875), a także mają większe ryzyko zachorowania m.in. na raka piersi, zespół metaboliczny, choroby układu krążenia, osteopenię/osteoporozę, choroby autoimmunologiczne. Dodatkowo występują w zróżnicowanym stopniu zaburzenia poznawcze, społeczne, behawioralne oraz trudności w nauce. Rekomendowana jest wczesna diagnostyka w kierunku tego zespołu, aby odpowiednio wcześniej wdrożyć postępowanie terapeutyczne i prewencyjne przeciwko chorobom towarzyszącym (*Zitzmann i wsp.: Andrology.* 2021, 9, 145–167).

Renata Walczak-Jędrzejowska

HORMON ANTYMÜLLEROWSKI I INHIBINA B – ZNACZENIE W DIAGNOSTYCE ANDROLOGICZNEJ

Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
e-mail: renata.walczak-jedrzejowska@umed.lodz.pl

Hormon antymüllerowski (AMH, ang. *anti-Müllerian hormone*), nazywany także czynnikiem hamującym rozwój przewodów Müllera (MIF, ang. *Müllerian inhibiting factor*) i inhibina B (INHB, ang. *inhibin B*) są glikoproteinami należącymi do rodziny transformujących czynników wzrostu typu β (TGF β , ang. *transforming growth factor β*). Główną fizjologiczną rolą AMH jest regresja

przewodów Müllera w okresie płodowym, z kolei INHB reguluje wydzielanie FSH z przysadki na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego. U płci męskiej produkowane są one przez komórki Sertolego kanalików plemnikotwórczych jądra począwszy od okresu płodowego i uważane są za markery ich czynności (*Iliadou i wsp.: Hormones.* 2015, 14(4), 504–514). Dynamika wydzielania obu hormonów ulega zmianom w ciągu życia mężczyzny, co determinuje możliwości wykorzystania oznaczeń ich stężenia w diagnostyce andrologicznej.

Pomiary stężeń AMH, jak i INHB w surowicy krwi, znalazły zastosowanie u pacjentów pediatrycznych. W okresie przeddojrzewaniowym stężenia obu hormonów utrzymują się na relatywnie stałym poziomie. W okresie tzw. „*minipuberty*”, czyli czasowego uaktywnienia osi podwzgórze-przysadka-gonada, ocena ich stężenia stanowi dodatkowy wskaźnik prawidłowego rozwoju jąder i czynności komórek Sertolego. Z kolei po jego zakończeniu, czyli w tzw. okresie „*ciszy hormonalnej*”, AMH i INHB stają się jednymi z hormonalnych wskaźników czynności jąder. Obecnie oba hormony wykorzystuje się np. w diagnostyce różnicowej braku jąder, wrodzonego hipogonadyzmu hipogonadotropowego czy zaburzeń różnicowania płciowego (*Rey: Adv Lab Med.* 2020, doi.org/10.1515/almed-2020-0024). Ostatnio pojawiają się opinie dotyczące możliwości wykorzystania oceny stężenia AMH i INHB u chłopców w okresie przeddojrzewaniowym i pokwitania w celu wczesnego diagnozowania izolowanej dysfunkcji komórek Sertolego (*LaVignera i wsp.: J Clin Med.* 2019, 8(5), 636–342).

Wraz z rozpoczęciem okresu dojrzewania i uruchomieniem aktywności osi podwzgórze-przysadka-jądro dochodzi do zmian w wydzielaniu AMH i INHB. Stężenie AMH obniża się do wartości odpowiadających wartościom stężenia u dziewcząt w okresie przeddojrzewaniowym, z kolei INHB wzrasta do wartości obserwowanych w okresie dojrzałości płciowej mężczyzn.

Pomiar stężenia INHB wraz z pomiarem stężenia hormonu folikulotropowego (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*) w okresie dojrzałości płciowej od lat jest wykorzystywany jako marker prawidłowej aktywności komórek Sertolego, a co za tym idzie także czynności plemnikotwórczej jąder. Jednakże, pomimo wielu prób, do tej pory nie udało się określić wartości odcięcia jednoznacznie wskazującej na zaburzenie spermatogenezy i obniżenie jakości nasienia. Ostatnie badania poddają także w wątpliwość wcześniejsze doniesienia wskazujące na wyższą wartość predykcyjną stężenia INHB we krwi, w porównaniu z innymi hormonami płciowymi, w kontekście prognozowania szansy na uzyskanie plemników z biopsji jądra u mężczyzn z azoospermia obturacyjną (NOA, ang. *non obstructive azoospermia*) (*Arshad i wsp.: Int Urol Nephrol.* 2020, 52(11), 2015–2038). Chociaż próby zastosowania oznaczeń stężenia AMH w surowicy krwi w okresie dojrzałości płciowej, jako dodatkowego markera czynności komórek Sertolego i spermatogenezy, nie odniosły oczekiwanych rezultatów to jednak udało

się wykazać związek między jakością nasienia a stężeniem AMH w plazmie nasienia (*Vitku i wsp.*: Basic Clinl Androl, 2017, 27, 19). Z kolei, jeśli chodzi o wykorzystanie pomiaru stężenia AMH jako predyktora uzyskania plemników z biopsji u mężczyzn z NOA, to wyniki są niejednoznaczne (*Alfano i wsp.*: Sci Rep. 2017, 7(1), 17638; *La Marca i wsp.*: Hum Reprod Update. 2010, 16(2), 113–130).

Artur Wdowiak

OAT – NOWE REKOMENDACJE EUROPEJSKIEJ AKADEMII ANDROLOGII

Pracownia Technik Diagnostycznych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
e-mail: wdowiakartur@gmail.com

Oligoastenoteratozoospermia (OAT, ang. *oligoasthenoteratozoospermia*) to obniżenie liczby, ruchliwości postępowej i prawidłowej morfologii plemników stwierdzone na podstawie dwóch badań nasienia. Etiologia OAT jest różnorodna i najczęściej wieloczynnikowa. Nieprawidłowości parametrów nasienia w OAT tłumaczy się najczęściej koncepcją stresu oksydacyjnego. Rekomendacje Europejskiej Akademii Andrologii zalecają po rozpoznaniu OAT, zebranie szczegółowego wywiadu, badanie fizykalne, diagnostykę USG oraz hormonalną (*Colpi i wsp.*: Andrology. 2018, 6, 513–524). Odpowiednio przeprowadzona diagnostyka, pozwala na wybór właściwej metody leczniczej. W terapii OAT zastosowanie mają gonadotropiny, antyestrogeny, inhibitory aromatazy oraz antyoksydanty (*Majzoub i wsp.*: Arab Jour Urol. 2018, 2, 16(1), 113–124). Podjętemu leczeniu powinna towarzyszyć ewentualna zmiana stylu życia. Postępowanie z pacjentem z OAT powinno uwzględniać też zdolności rozrodcze partnerki, które determinuje przede wszystkim jej wiek. Brak poprawy parametrów nasienia lub brak ciąży po leczeniu oraz niski potencjał rozrodczy partnerki, są wskazaniem do możliwie najszybszego zastosowania technik rozrodu wspomaganego. Najskuteczniejszą metodą leczniczą w chwili obecnej jest docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm injection*) (*Janicka i wsp.*: Gin Pol. 2021, 92(1), 7–15).

Jan Karol Wolski^{1,2}

MIKROCHIRURGICZNE POZYSKIWANIE PLEMNİKÓW

¹Przychodnia Lekarska „nOvum”, Warszawa, ²Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Narodowy Instytut Onkologii – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa
e-mail: jkwolski@op.pl

W 1998 r. Peter Schlegel opisał po raz pierwszy zastosowanie mikroskopu operacyjnego w biopsji jąder

u mężczyzny z azoospermią (*Schlegel*: Hum Reprod. 1999, 14(1), 131–135). Metoda mikrochirurgicznego pozyskania tkanki gonadalnej m-TESE (ang. *microsurgical testicular sperm extraction*) umożliwia znalezienie grup obiecujących kanalików w obrębie uszkodzonych gonad, w których może zachodzić spermatogeneza, co daje przewagę nad klasyczną biopsją chirurgiczną (otwartą) oraz przezskórną igłową. Według wytycznych Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (ang. EAU, *European Association of Urology Guidelines on Sexual and Reproductive Health*, 2020), m-TESE jest szczególnie przydatną w przypadku nieobstrukcyjnej azoospermii. Powiększenie 20–25-krotne skutkuje co najmniej 1,5-krotnie większą skutecznością w pozyskiwaniu plemników w porównaniu do klasycznej biopsji. Wskaźnik SRR (ang. *sperm retrieval rate*) wynosi 52% (*Bernie i wsp.*: Fertil Steril, 2015, 104, 1099–1103).

W okresie od 06.10.2012 do 05.03.2021 w Przychodni Lekarskiej „nOvum” wykonano 396 biopsji m-TESE w grupie niehomogennej mężczyzn z azoospermią: średnia wieku 34 lat (zakres: 17–44 r.ż.). M-TESE jako pierwszą procedurę przeprowadzono u 55/396 (14%) pacjentów. Grupa z zespołem Klinefeltera liczyła 47/396 (12%). Większość pacjentów przed zabiegiem poddano stymulacji spermatogenezy: androgen + antyestrogen (*Adamopoulos i wsp.*: Fertil Steril. 1997, 67(4), 756–762), lub gonadotropiny (hormon luteinizujący, hormon folikulotropowy) albo kłomifen. Dodatkowo włączano antyoksydanty. Zabiegi przeprowadzono w znieczuleniu ogólnym, jako chirurgia-1-dnia. Stosowano powiększenie 25-krotne – typ mikroskopu Seiler Evolution XR6 (94), Carl Zeiss S7 (6), Leica M860 2 × 2 (296). Dostęp do jąder – cięcie w linii pośrodkowej przez szew moszny (łac. *raphe scrotum*). Po zabiegu profilaktycznie zastosowano antybiotykoterapię (cefalosporyna) przez 5 dni.

Uzyskano SRR: w latach 2012–2018 – 30,5%; w roku 2019 – 36,7% i w roku 2020 – 42%. W grupie z zespołem Klinefeltera plemniki stwierdzono u 8/47 pacjentów (17%). Powikłania: 3/396 (0,76%) krwiaki moszny wymagające interwencji chirurgicznej, 5/396 (1,26%) rozległe zasinienia moszny i prącia, 3/396 (0,76%) gojenie rany *per secundam*. Plemniki zastosowano w 132 procedurach IVF/ICSI. Uzyskano 19 ciąż po świeżej mTESE i 23 z plemników mrożonych (42/132 – 31,8%). Urodziło się 27 dzieci (w tym jedna ciąża bliźniacza). Poronienia po transferze zarodków (ET ang. *embryo transfer*): 5 poronień po ET niemrożonych zarodków i 6 poronień po ET mrożonych zarodków. Cztery ciążę nadal rozwijające się.

M-TESE, biopsja jąder z użyciem mikroskopu operacyjnego, zwiększa szansę na znalezienie plemników u mężczyzn z azoospermią nieobstrukcyjną, uprzednio zdyskwalifikowanych z rozrodu, finalnie pozwala na włączenie ich do protokołu wspomaganego – IVF/ICSI.

Kornelia Zaręba

ŻYCIE SEKSUALNE MĘŻCZYŹN HIPOGONADALNYCH

Klinika Położnictwa i Ginekologii Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
e-mail: kornelia3@poczta.onet.pl

W dorosłym życiu prawidłowy poziom testosteronu wpływa na większość aspektów życia seksualnego mężczyzny: marzenia i fantazje seksualne, pożądanie, podniecenie, spontaniczne erekcje, erekcje w mechanizmie stymulacji czuciowej oraz prawidłową odpowiedź na leki stosowane w seksuologii. Erekcje pochodzenia psychogenne także są częściowo zależne od poziomu testosteronu.

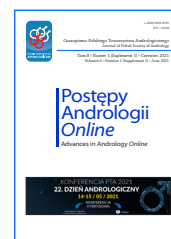
Hipogonadyzm poza postaciami klasycznymi wynikającymi z nieprawidłowego funkcjonowania jąder lub podwzgórza i przysadki występuje zdecydowanie częściej w mechanizmie starzenia się organizmu (LOH, ang. *late onset hypogonadism*). Wymaga on leczenia nie tylko ze względu na pogarszającą się jakość życia, ale także ze względu na wysoką śmiertelność (wzrost blisko 5,5-krotny) w dłuższej perspektywie prowadzą do osteoporozy, zespołu metabolicznego, insulinooporności, zaburzeń funkcji poznawczych, niepłodności oraz anemii. Seksuolog spotyka się także z hipogonadyzmem wynikającym ze wzrostu masy ciała i długiej ekspozycji na stres. Najczęściej zgłaszane przez mężczyzn z hipogonadyzmem objawy stanowią: obniżenie libido (91%), utrata energii (89%), zaburzenia wzdru (79%), senność w godzinach popołudniowych (77%), spadek wytrzymałości fizycznej (66%).

Leczenie zaburzeń seksualnych u hipogonadalnego mężczyzny jest zadaniem złożonym i dostosowanym indywidualnie. Obejmuje zmianę stylu życia

(ograniczenie spożycia alkoholu, rzucenie palenia, dietę oraz aktywność fizyczna wpływające na stan naczyń), psychoterapię oraz leczenie farmakologiczne. Pierwszą formę interwencji powinna stanowić korekcja przyczyn potencjalnie odwracalnych. Leczenie farmakologiczne polega zarówno na substytucji testosteronu jak i stymulacji jąder do produkcji testosteronu stanowiącą metodę preferowaną u mężczyzn starających się o potomstwo. Prawidłowe stężenie testosteronu osiągamy po 2–3 tygodniach terapii. Efekt jego działania na funkcje seksualne jest zależny od dawki i różni się u różnych osób od 2 do 4,5 ng/mL. U pacjentów zgłaszających zaburzenia wzdru lekiem pierwszego rzutu pozostają inhibitory fosfodiesterazy typu 5 (iPDE5, ang. *phosphodiesterase type-5 inhibitor*). Terapię drugiego rzutu stanowi terapia prostaglandynami E1 (PGE1, ang. *prostaglandin E1*) (alprostadił) podawanymi miejscowo. Istnieje wiele prac dowodzących skuteczności łączonej terapii iPDE5 z testosteronem u pacjentów u których monoterapia zawiodła (przy minimalnym stosowaniu przez 3 miesiące). Innym, ważnym aspektem, zwłaszcza u mężczyzn ze stwierdzonym LOH są choroby towarzyszące, które mogą stanowić przeciwwskazanie do stosowania testosteronu i wymagają alternatywnych form terapii. Niejednokrotnie zaburzenia seksualne mogą także wynikać z zaburzeń depresyjnych i depresji do których predysponuje hipogonadyzm. W terapii należy stosować leki przeciwdepresyjne o znikomym wpływie na libido takie jak bupropion wpływający na receptor dopaminergiczny, stosowany w dawce 150 mg/dzień. W przypadku dużej komponenty lękowej zaleca się stosowanie takich leków jak agomelatyna, bupropion, moklobemid. W wielu przypadkach niezbędna jest także psychoterapia, głównie w nurcie behawioralno-poznawczym.



Journal of Polish Society of Andrology
Advances in Andrology Online
<http://www.postepyandrologii.pl>



SYMPOSIUM OF SCIENTIFIC TRAINING OF THE POLISH SOCIETY OF ANDROLOGY – 22nd DAY OF ANDROLOGY

Hybrid Conference

Warsaw, 14–15.05.2021; www.pta2020.pl

DOI: 10.26404/PAO_2353-8791.2021.02

Abstracts of lectures



Szymon Bakalczuk¹, Grzegorz Bakalczuk²

EMPIRICAL METHODS OF TREATING MALE INFERTILITY

¹Ovum Reproduction and Andrology, Lublin, Poland, ²Department of Obstetrics, Gynaecology and Obstetric - Gynaecological Nursing, Medical University of Lublin, Poland
 e-mail: szymonbakalczuk@o2.pl

Many current studies have shown that the deficiency of micronutrients, antioxidants and vitamins in the male body significantly reduces sperm parameters such as motility or the sperm count, and thus may reduce fertility in men with deficiencies of these elements. Therefore, it seems justified to administer dietary supplements containing the missing elements such as zinc, copper, selenium, L-carnitine, coenzyme Q10, folic acid (*Ali et al.*: *Andrologia*. 2021, 53 (1), e13644; *Busetto et al.*: *Andrologia* 2020, 52(3), e13523; *Busetto et al.*: *Andrologia*. 2018, 50(3), e12927). Studies carried out by many authors on men with fertility problems caused by reduced sperm parameters confirmed that the use of dietary supplements can significantly improve the quality of sperm in these men and thus contribute to obtaining the desired offspring. Currently, there are several dietary supplements available on the Polish market, offered to men trying for a child, which improve motility, sperm count,

morphology and the semen volume. These preparations are not one-component but contain many complementary and enhancing ingredients. The preparations available on the market differ from each other not only in their composition, but also in the number of elements they contain.

Małgorzata Brzoskwinia¹, Laura Pardyak²,
 Alicja Kamińska¹, Wacław Tworzydło³, Anna Hejmej¹,
 Sylwia Marek¹, Barbara Bilińska¹

STEROIDOGENIC ACTIVITY OF LEYDIG CELLS AND ULTRASTRUCTURE OF THEIR MITOCHONDRIA

¹Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University in Krakow, Poland; ²Center of Experimental and Innovative Medicine, University of Agriculture in Krakow, Poland; ³Developmental Biology and Invertebrate Morphology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University in Krakow, Poland
 e-mail: m.brzoskwinia@doctoral.uj.edu.pl

Androgens, including testosterone, play a vital role in the regulation of male reproduction mediating their biological effects through binding to the androgen receptors (ARs). Leydig cells are the main source of intratesticular testosterone, which is synthesized, like in other



steroid-producing cells, from a common substrate cholesterol. Transport of cholesterol into the mitochondria and its conversion to testosterone require the presence of carrier proteins and steroidogenic enzymes (*Haider: Int Rev Cytol.* 2004, 233, 181–241). It should be emphasized that correct synthesis of androgens depends on the structural condition of Leydig cells, and any disturbance in the biosynthesis and availability of steroids may affect the secretory activity of these cells.

In our studies we used flutamide – a pure non-steroidal anti-androgen that blocks receptor binding of androgen, disturbing the action of endogenous testosterone (*Labrie: Cancer.* 1993, 72, 3816–3827). Although the long-term effects of this anti-androgen on male reproduction are well characterized, its short-term effects on the male gonad are still elusive. Recent findings by Bilinska demonstrated that short-term exposure to flutamide applied to adult rats, alters the blood-testis barrier integrity (*Zarzycka et al.: Andrology.* 2015, 3, 569–581; *Chojnacka et al.: Reprod Biol Endocrinol.* 2016, 14, 14). Experiments by Sarabay and coworkers (*Sarrabay et al.: Toxicol Appl Pharmacol.* 2015, 289, 515–524) showed that blockage of AR leads to inhibition of the negative feedback in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and enhancement of Leydig cell steroidogenic activity. In this context, direct effects of flutamide at the gonadal level, specifically on the steroidogenic function of Leydig cells and its potential autoregulation is of interest.

The results of our latest studies (*Brzoskwinia et al.: J Mol Sci.* 2020, 21, 4439) showed that disruption of androgen signaling by flutamide leads to an increase in plasma luteinizing hormone, cholesterol, and testosterone concentrations. Moreover, we demonstrated increase in the intratesticular levels of testosterone that correspond well to increase in the expression level of several mitochondrial proteins required for the first step of steroidogenesis. Morphometric analysis of semithin testis sections revealed Leydig cells' hypertrophy, while ultrastructural analysis showed additionally changes in the distribution and morphology of their mitochondria. Mutual relationships between cell organelles, visualized due to a computer aided 3D reconstruction of serial ultrathin sections, revealed that mitochondria fuse forming local mitochondrial networks. Moreover, morphometric analysis confirmed that percentage of the cell area occupied by mitochondria was substantially higher after flutamide exposure. In the light of this, we postulate that enhanced steroidogenic activity of Leydig cells involves multiplication of Leydig cell' mitochondria and consequent formation of highly active mitochondrial networks. Upregulation of dynamin-related protein 1 (Drp1) expression in Leydig cells supports this assumption. Our results confirm the idea that blockage of AR, initiates a compensatory mechanism that causes enhancement of the steroidogenic activity of Leydig cells.

Supported by a grant OPUS12 2016/23/B/NZ4/01788 from National Science Centre.

*Michał Duliban*¹, *Piotr Pawlicki*², *Agnieszka Milon*¹, *Ewelina Górowska-Wójtowicz*¹, *Barbara Bilińska*¹, *Małgorzata Kotula-Balak*²

GENETIC CONTROL OF TESTICULAR CELL FUNCTION IN HEALTH AND DISEASE

¹Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University in Krakow, Poland, ²University Centre of Veterinary Medicine UJ-UR, University of Agriculture in Krakow, Krakow, Poland
e-mail: michal.duliban@doctoral.uj.edu.pl

In the male gonad, estrogens act in paracrine and autocrine way to regulate spermatogenesis and steroidogenesis. Nowadays it is known that in Leydig cells estrogen signaling is mediated by various types of estrogen receptors (*Pardiyak et al.: Tissue Cell.* 2016, 48, 432–41; *Chimento et al.: Cells.* 2020, 9, 2115). Pathological Leydig cells may produce an abnormal amount of estrogens, e.g. human tumor Leydig cells are characterized by an overproduction of estrogens and their metabolites (*Van Der Gucht et al.: Clin. Nuclear Med.* 2018, 43, 41–43).

Our research has demonstrated differences in gene expression in healthy and tumor human Leydig cells (*Kotula-Balak et al.: unpublished*). Detailed analysis revealed disrupted expression of genes associated with such processes as: apoptosis, blood vessel development or cell stress in tumor Leydig cells. A mutation in the *TP53* gene, leading to impaired apoptosis, has also been described in patients with testicular tumors (*Stecher et al.: Pediatr Blood Cancer.* 2008, 50, 701–703). In addition, downregulated expression of genes encoding heat shock proteins was noted. On the basis of next generation sequencing (NGS) analysis (novel research technique that allows for quick and accurate analysis of the entire cell, tissue or organ genome) carried out in mouse testes with disturbed non-classical estrogen signaling (*via* estrogen-related receptors and membrane estrogen receptors) changes in the expression of genes involved in processes important for individual testicular cell type function e.g. immune response or post-translational protein modifications were revealed (*Duliban et al.: Reprod Fertil Dev* 2020, 32, 903–913). The breakdown of testis immune balance may contribute to fertility disorders, and disruption of post-translational protein modification that may lead to tumorigenesis (*Han et al.: Int. J Oncol.* 2018, 52, 1081–1094). It is confirmed by significant changes in the expression of several genes e.g. *Bmi1* (polycomb ring finger oncogene) and *Npm1* (*nucleophosmin 1*), which actively participate in acceleration of tumor growth.

The application of NGS technique allows to obtain comprehensive data that provide cross-sectional information on the activity of testicular transcriptome and can be used to initiate further studies at the proteome or epigenome levels, including the designing of new diagnostic tests.

Supported by grants SONATA BIS5 2015/18/E/NZ4/ 00519 and OPUS12 2016/23/B/NZ4/01788 from National Science Centre, Poland.

Kamil Gill¹, Aleksandra Rosiak-Gill^{1,2},
Małgorzata Piasecka¹

THE SIGNIFICANCE OF HUMAN SPERM CHROMATIN DAMAGE IN IN VITRO PROCEDURES

¹Department of Histology and Developmental Biology, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland; ²VitroLive Fertility Clinic in Szczecin, Poland
e-mail: kamil.gill@pum.edu.pl

Over the last decades, couple infertility has become one of the emerging global public health issue and classified by the World Health Organization as a one of the civilization disease (Agarwal *et al.*: World J Mens Health. 2019, 37 (3), 296–312). In response to this problem development of the assisted reproductive techniques, especially *in vitro* fertilization is observed and for many couples this treatment is the only chance to have biological offspring. Although the clinical relevance of basic semen analysis during the *in vitro* procedure is limited, the influence of the male factor on reproductive success is not completely eliminated. This thesis is confirmed by outcomes of *in vitro* fertilization procedures in which pregnancy was not achieved despite the lack known female factor. Therefore, many authors underline the need to develop and introduce molecular biomarkers of male infertility assessment Agawrwal *i et al.*: Int J Mol Sci. 2020, 21(11), 3882; Jerre *et al.*: Fertil Steril. 2019, 112(1), 46–53; Tang *et al.*: J Gynecol Obstet Hum Reprod. 2020, 10, 101868). The goal of these methods is to enable the prognosis of the chances of getting pregnant in *in vitro* procedures. In this aspect, the quality of sperm chromatin is of particular importance. Its structural abnormalities can affects fertilization process, creation and development of the pronuclei as well as early embryo development observed before activation of paternal genome (4-cell embryo) – early paternal effect. Moreover, the late paternal effect at the 4–8-cell stage of the embryo (when the paternal genome is fully activated) up to blastocyst stage is found. For that, many researchers indicate that low quality of sperm chromatin may result in: 1) a decrease in the percentage of normal fertilized oocytes and percentage of morphologically normal embryos, 2) a decrease in the percentage of achieved pregnancies, and 3) an increase in proportion of miscarriages or even birth defects and epigenetic disorders in the offspring (Okada and Yamaguchi: Cell. Mol. Life Sci. 2017, 74, 1957–1967; Tesarik: Reprod Biomed Online. 2005, 10(3), 370–375). However, not all researchers confirmed a negative impact of sperm chromatin damages on the reproductive success after *in vitro* fertilization (Green *et al.*: J Assist Reprod Genet. 2020, 37(1), 71–76; Yang *et al.*: Transl Androl Urol. 2019, 8(4), 356–365). This inconsistency may results from different methods of male gametes selection, application of diverse sperm chromatin tests and the use of various statistical tools. Moreover, a large heterogeneity of the groups enrolled to the studies is observed. Also, it cannot

be ignored fact that the oocyte is equipped with DNA repair mechanism. First of all, DNA single strand breaks are repaired. This process may begin at the pronuclei stage of zygote and be continued until the blastocyst stage. If the sperm DNA damage does not exceed the repair capacity of the oocyte, the impact of this damage may be limited (Ribas-Maynou and Benet: Genes (Basel). 2019, 10(2), 105). Therefore, the ambiguity of the influence of sperm chromatin abnormalities on reproductive success initiates a discussion about clinical value of sperm nuclear DNA tests.

Study supported by the Pomeranian Medical University (no. WN0Z-322-01/S/19/2021).

Anna Hejmej, Alicja Kamińska, Sylwia Marek,
Barbara Bilińska

DIRECT INTERCELLULAR COMMUNICATION IN SEMINIFEROUS EPITHELIUM AND ITS FUNCTION AFTER ANDROGEN WITHDRAWAL

Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University, Krakow, Poland
e-mail: anna.hejmej@uj.edu.pl

Intercellular communication in the male gonads is of particular interest due to its key role in maintaining the proper course of spermatogenesis. Initially, research focused on paracrine communication (Bilińska *et al.*: Biol Cell. 1997, 89, 435–442), but further studies revealed that direct cell-cell interactions are equally important. Direct communication is based on the transport of small molecules through gap junctions or on interactions between molecules located in the membranes of neighboring cells (juxtacrine signaling).

Gap junctions consist of proteins connexins, that form channels connecting the cytoplasm of adjacent cells. In the mammalian testis, connexin 43 (Cx43) is the main component of gap junctions. Studies using Sertoli cell-specific Cx43 knockout mice revealed the critical role of this protein in Sertoli cell differentiation and initiation of spermatogenesis (Brehm *et al.*: Am J Pathol. 2007, 171, 19–31; Chojnacka *et al.*: Reprod Biol. 2012, 12, 341–346). In human and rodent testes with impaired spermatogenesis, disturbances in Cx43 expression were demonstrated (Kotula-Balak *et al.*: Eur J Histochem. 2007, 51, 261–268).

In rats, androgen signaling inhibition with antiandrogen flutamide resulted in decreased expression and delocalization of Cx43 at the blood-testis barrier. It was accompanied by altered distribution of zonula occludens-1 (ZO-1) and structural abnormalities of basal ectoplasmic specialization. This indicates that Cx43-based communication between Sertoli cells depends on the availability of androgens (Chojnacka *et al.*: Reprod Biol Endocrinol. 2016, 31, 14, 14).

Juxtacrine communication, another mechanism of direct intercellular communication in the testis, involves

the Notch signaling pathway. Activation of this pathway is triggered by binding of the membrane receptor Notch to specific ligands located in the membranes of the neighboring cell. This leads to receptor proteolysis and translocation of its intracellular domain into the nucleus where it regulates the transcription of *Hes* (hairy/enhancer of split) and *Hey* (Hes-related with YRPW motif) genes. The optimal activity of Notch pathway determines spermatogonial stem cell differentiation, influences further steps of spermatogenesis, and impacts fertility (Garcia *et al.*: *Development*. 2014, 141, 4468–4478; Murta *et al.*: *PLoS One*. 2014, 9, e113365). Disturbed expression of Notch pathway factors was found in testicular cancer and in men with non-obstructive azoospermia (Hayashi *et al.*: *J Androl*. 2001, 22, 999–1011; Hayashi *et al.*: *Tumour Biol*. 2004, 25: 99–105).

Our recent studies indicate that androgen withdrawal, induced by androgen receptor blockade or selective elimination of Leydig cells, altered the expression of Notch1 and Notch2 receptors, as well as their activated forms in rat testes. Moreover, the expression of the effector genes *Hey1*, *Hes1*, and *Hes5* was changed following androgen withdrawal, which indicates disturbed activity of Notch pathway. Androgens can therefore be considered as regulators of Notch signaling (Kamińska *et al.*: *Reprod Biol Endocrinol*. 2020, 18, 30). Taken together, the control of direct intercellular communication in the seminiferous epithelium is an important aspect of androgen activity during spermatogenesis. Thus, abnormalities in both gap junction communication and juxtacrine signaling may underlie the disturbance of spermatogenic function under conditions of limited availability of androgens.

Supported by grants HARMONIA3 2012/06/M/NZ4/00146 and OPUS13 2017/25/B/NZ4/01037 (National Science Centre, Poland).

Stanisław Horák^{1,2}

INFERTILITY IN HYPOGONADISM – CONTEMPORARY VIEWS ON GONADOTROPIN TREATMENT

¹ Department of Gynecology, Obstetrics and Gynecological Oncology, Medical University of Silesia, Bytom, Poland; ² Antrum – Medical Center, Bytom, Poland
e-mail address: horak@poczta.fm

The causes of an insufficient sperm count in the ejaculate can be divided into four groups: 1) difficult to determine (idiopathic infertility), 2) post-testicular (obstructive), 3) primary testicular (Sertoli and/or Leydig cell defect) and 4) secondary (abnormal hypothalamus and/or pituitary gland function) (Trussell: *Semin Reprod Med*. 2013, 31(4), 237–244). The last two groups and a part of the first group correspond to the concept of hypogonadism, i.e. decreased gonadal function in the production of sperm and/or steroid hormones. In turn, these cases can be

simplified into hypogonadotropic, hypergonadotropic and normogonadotropic hypogonadism, characterized by the disturbed pulsation of gonadotropin secretion (Simoni and Santi: *Andrology*. 2020, 8(3), 535–544).

Hypogonadotropic hypogonadism (its classic example is Kallman's syndrome, however it is idiopathic in the vast majority of cases) can be divided into pre-pubertal and post-pubertal. Delayed puberty can be a variant of normal development. A special form is testosterone-induced hypogonadism. To date, no adequate randomized trials have been conducted to determine the best treatment option. When the patient is concerned about fertility, testosterone should not be administered or should be discontinued immediately in the treatment of hypogonadotropic hypogonadism. Human chorionic gonadotropin (hCG) itself is capable of stimulating spermatogenesis, however the addition of follicle-stimulating hormone (FSH) increases final sperm production in most men with hypogonadotropic hypogonadism (69–81%) within 3 to 19 months (dosage: hCG 1000 to 2500 IU 2 times a week, and FSH 75 to 225 IU 3 times a week). It is currently believed that the doses of FSH should be higher than the substitution doses (Simoni and Santi: *Andrology*. 2020, 8(3), 535–544). This treatment is fraught with the inconvenience of frequent short-acting FSH or human menopausal gonadotropin (HMG) injections (Bemfola, Puregon, Menopur, Ovaleap, Fostimon and others). An interesting alternative is the administration of corifolliclitropin α at a dose of 150 μ g every two weeks. A significant increase in testicular volume and restoration of spermatogenesis were achieved in more than 75% of men with hypogonadotropic hypogonadism (Nieschlag *et al.*: *Reprod Biol Endocrinol*. 2017,15(1), 17. doi: 10.1186/s12958-017-0232-y). In the case of congenital hypogonadotropic hypogonadism with the absence of “minipuberty” and very small testes, pretreatment with FSH is recommended to induce spermatogenesis (Thurston *et al.*: *J Clin Pathol*. 2019, 72(9), 579–587).

The pregnancy rate with a sperm concentration of 5 million/mL can reach 50–80%. The prognostic factors are: greater testicular volume, no history of cryptorchidism, marked sexual maturation and no prior testosterone therapy. Patience is required (up to two years). In about 10% of cases, sperm cells in the semen and normal testosterone levels are still present after complete discontinuation of treatment. This is the so called hypogonadotropic hypogonadism reversal probably caused by neuronal plasticity of cells secreting gonadoliberin (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) (Fραιetta *et al.*: *Clinics* (Sao Paulo). 2013, 68 (Suppl. 1), 81–88). The understanding of the genetic background behind FSH action seems very useful for personalized treatment of idiopathic male infertility with FSH (Simoni and Santi: *Andrology*. 2020, 8(3), 535–544).

A separate issue is the treatment of hypogonadism caused by androgen abuse. There is no consensus on optimal treatment. It is recommended to administer

3000 units of hCG every other day, to use supplementation with clomiphene, tamoxifen, anastrozole, or recombinant FSH (rFSH) according to the physician's preference and clinical situation (endo- or exogenous FSH is necessary), as well as to perform semen analysis and hormonal tests every month until semen parameters stabilize or pregnancy is achieved. The success rate is 98% (Wenker *et al.*: J Sex Med. 2015, 12(6), 1334–1337). An alternative is treatment with clomiphene (Habous *et al.*: BJU Int. 2018, 122(5), 889–897; Rodriguez *et al.*: Expert Opin Pharmacother. 2016, 17(11), 1561–1567).

The most common type of hypergonadotropic hypogonadism is the idiopathic form. Klinefelter's syndrome is much rarer. When it comes to treatment, the rule of thumb is: "the sooner the better!" (Deebel *et al.*: Hum Reprod Update. 2020, 26(1), 58–72; Plotton *et al.*: J Clin Endocrinol Metab. 2015, 100(3), 961–967). The latest algorithm for preserving the fertility of adolescents with Klinefelter's syndrome was presented by Masterson *et al.* It includes: 1) cessation of testosterone treatment, 2) hormonal tests and possibly semen analysis, 3) in cases of low testosterone levels, treatment with aromatase inhibitors, selective estrogen receptor modulators (SERMs) and/or HCG to increase endogenous testosterone production, 4) after normalization of the testosterone level, semen analysis and cryopreservation of sperm if it is present in the ejaculate, 5) if there is no sperm in the ejaculate, it can be obtained by testicular sperm extraction (TESE) (43–45% efficiency) (Masterson *et al.*: Curr Opin Urol. 2020, 30(3), 324–327).

Another situation when treatment with gonadotropins may be considered is idiopathic non-obstructive azoospermia (NOA). The first promising results of the combined use of clomiphene and gonadotropins were reported by Hussein *et al.*, who obtained the presence of sperm even in the ejaculate (Hussein *et al.*: BJU Int. 2013, 111(3 Pt B), E110–114). The first attempts of treatment with gonadotropins called "salvage hormonal therapy" (5000 units of hCG 3 times a week, 150 units of rFSH 3 times a week for the next 3 months with a success rate of 19%) in men who did not obtain sperm during microsurgical testicular sperm extraction (m-TESE) was widely discussed by Shiraishi and Matsuyama (Shiraishi and Matsuyama: Endocr J. 2017, 64(2), 123–131). Amer *et al.* (2019) on the other hand, based on an analysis of 1,395 patients, showed no association between different hormone therapies preceding m-TESE and a positive m-TESE result (Amer *et al.*: Andrologia. 2019, 51(2), e13176. doi: 10.1111/and.13176). However, they found a positive relationship between the Sertoli cell-only syndrome (SCO), a high level of FSH, and obtaining sperm, which indicates the usefulness of testicular biopsy in predicting the m-TESE result in cases of NOA. However in their another work, Amer *et al.* demonstrated the usefulness of administering testosterone for a month and then in combination with gonadotropins for the three

months preceding the procedure (Amer *et al.*: Urologia. 2020, 87(4), 185–190).

The effectiveness of treating oligoasthenoteratozoospermia (OAT) with gonadotropins is controversial. OAT men with normal FSH levels and men with an FSH receptor phenotype with at least one serine at position 680 in the receptor protein may benefit. High doses of rFSH are suggested (300 IU every other day for 4–5 months) (Ding *et al.*: Clin Endocrinol (Oxf). 2015, 83(6), 866–871; Paradisi *et al.*: Andrologia. 2014, 46(9), 1067–1072). However, this therapy was found to be ineffective in cases of low serum inhibin B levels (Zhao *et al.*: Andrologia. 2019, 51(6):e13271. doi: 10.1111/and.13271).

Katarzyna Jankowska

IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF MALE INFERTILITY

The Department of Endocrinology, Center of Postgraduate Medical Education, Bielanski Hospital, Warsaw, Poland
e-mail: katarzynakamilajankowska@gmail.com

Male infertility can be caused by an immune disorder. Immune infertility in men is defined as the presence of one or both partners of an immune response against semen (Dondero *et al.*: In: Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes, Oxford University Press, 2011, DOI: 10.1093/med/9780199235292.003.9100). WHO guidelines list immunological factors as one of the causes of male infertility (WHO: Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge University Press, 2000). It is estimated that about 15% of male infertility is immune-related, either due to recurring infections or an abnormal autoimmune response involving the epididymis, prostate, or testes. This ratio is likely to be underestimated as 30% of male infertility cases are reported to be idiopathic.

Unlike orchitis, epididymitis is a common condition. The cause of epididymitis is often bacterial infections, of particular importance are the sexually transmitted Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in young men and the intestinal Escherichia coli and Enterococcus faecalis in older men. It has been shown that these infections, even if successfully treated, can cause narrowing of the epididymal duct, decreased sperm count and azoospermia in up to 40% of patients. Clinical data demonstrate the need for an effective and precisely controlled immune response to pathogens in the epididymis.

Antisperm antibodies (ASA) may interfere with the fertilizing ability of the sperm: reduce sperm motility, reduce the ability to pass through the secretion of the genital tract in a woman, reduce the ability to penetrate the oocyte, cause sperm agglutination. ASA lead to reduced sperm motility, i.e. asthenozoospermia. However,

immunological infertility should also be taken into account in normozoospermia, especially when sperm functional tests are not normal. The guideline of the European Association of Urology (EAU) recommend that diagnostics for immunological disorders should be considered when the semen test result is twice outside the reference range. This examination is performed when other causes of the abnormal seminogram have been excluded (e.g. urogenital infection).

It is currently recommended to perform a mixed antiglobulin reaction (MAR test) or an immunobead semen test (*Jungwirth et al.*: Male Infertility In: EAU Guidelines, <http://uroweb.org/guideline/male-infertility>). The MAR test is used to detect sperm antibodies in semen. The test should be considered when the examination of semen shows poor sperm motility or agglutination of sperm. Genitourinary tract infection must be ruled out before hand, as it may induce the presence of antibodies. If asthenozoospermia or sperm agglutination are still present, despite the lack of infection or after the infection has healed, immune-mediated infertility should be excluded. The MAR test involves adding latex beads coated with IgA or IgG antibodies and a mixture of anti-IgA or anti-IgG antibodies to the semen sample. If there are IgA or IgG antibodies on the sperm cells, the spermatozoa are joined with the beads, which can be seen in the microscope. A result of more than 50% of sperm associated with the beads is considered positive and indicates the presence of ASA in an amount that interferes with the function of the sperm (possibility of penetration through the cervical mucus and also the ability to fertilize). This test can only be performed when there are sperm cells in the semen that show movement. The immunobead test has a similar meaning. It is more accurate than the MAR test, but the execution is more laborious. The immunobead test is not performed with a fresh sample of semen, but with semen from which elements that may mask the presence of antibodies have been removed. The principle of the test is similar to the MAR test (the connection of sperm with latex beads is observed in a microscope). The evaluation of the immunobead test result is also similar: $\geq 50\%$ of sperm associated with the beads are positive, indicating the presence of ASA in an amount that interferes with sperm function. This test can only be performed when there are sperm cells in the semen that show movement.

The role of epididymides is emphasized in the regulation of the immune response (*Voisin et al.*: Asian J Androl. 2019, 21(6), 531–539). Epididymal epithelial cells have developed mechanisms that combat pathogens, including the expression of various TLRs (*toll-like receptors*), antimicrobial molecules (nitric oxide,IDO, β -defensin, etc.), and pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, etc.). Interstitial lymphocytes B in the epididymides may be responsible for the secretion of local IgA or they may phagocytose bacteria coated with antibodies and limit their spread in the tissue and induce specific effector

lymphocytes T. Activated B cells activate helper T cells. Some an antigen presenting cells (APCs) may migrate to the draining lymph node to trigger the recruitment of effector cells to infected epididymides. When the epithelium is damaged by infection, some CX3CR1+ CD11c+ monocytes may be involved in the elimination of disrupted cells or pathogens. Newly identified lymphocytes T in the epididymis can be activated by APCs or directly by infected cells. Once activated, they can become cytotoxic, contributing to the clearance of bacteria. Probably the epididymis is a potential immune reservoir of cytotoxic cells during infection.

Immune infertility is found in 8–20% of infertile men. Sperm antibodies appear as a result of trauma, infection of the testicle or the epididymis that breaks the blood-testicle barrier (e.g. surgery, infections, varicocele). Not all sperm antibodies cause infertility. It is important whether these antibodies bind to antigen epitopes necessary for the fertilization of the egg. Currently, it is recommended to perform tests detecting anti-sperm antibodies: MAR test or immunobead test. Depending on the history (psoriasis, vitiligo, thyroid diseases, inflammatory bowel diseases, rheumatic diseases), screening for other autoimmune diseases (ANA, anti-TPO, anti-Tg, anti-CCP, celiac disease) may be considered. In many autoimmune diseases, causal treatment (e.g. biological treatment) is possible.

Recently, more attention has been paid to the relationship between the state of the immune system and fertility. In 2018 *Brubaker et al.* (*Brubaker et al.*: Andrology. 2018, 6(1), 94–98), showed that men with infertility had a significantly higher incidence of autoimmune diseases: rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, psoriasis, thyroiditis and Graves' disease. Hypogonadism may be one of the components of the autoimmune pol-yendocrine syndrome. On the other hand, other publications (*Mouvis et al.*: Semin Arthritis Rheum. 2019, 48(5), 911–920) show that in men with rheumatological diseases who are treated with, for example, anti-TNF (anti-tumor necrosis factor) drugs, an improvement in sperm parameters and an increase in the pregnancy rate in partners are observed. This would confirm the importance of autoimmune processes in male infertility. This very interesting information requires further research and clinical observations.

Piotr Jędrzejczak

AZOOSPERMIA DIAGNOSTICS AND THERAPEUTIC PLANNING

Division of Infertility and Reproductive Endocrinology, Poznan University of Medical Sciences, Poland
e-mail: piotrjdrzejczak@gmail.com

Azoospermia affects about 1% of men. It is a serious challenge for doctors involved in reproductive medicine.

During the presentation, the causes of the azoospermia will be presented, as well as diagnostic methods important in detecting the various forms of this disease. Particular attention will be paid to the current therapeutic options in men with a complete absence of sperm in the ejaculate. Finally, an algorithm for the management of patients with azoospermia according to modern recommendations will be presented.

Alicja Kamińska¹, Sylwia Marek¹,
Małgorzata Brzoskwinia¹, Laura Paradyk²,
Anna Hejmej¹, Barbara Bilińska¹

ROLE AND HORMONAL REGULATION OF JAGGED AND DELTA-LIKE PROTEINS IN RODENT SERTOLI CELLS

¹Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University, Krakow, Poland,

²Center of Experimental and Innovative Medicine, University of Agriculture in Krakow, Poland
e-mail: ala.kaminska@uj.edu.pl

Mammalian spermatogenesis is a process controlled by Sertoli cells, considered the key mediators of androgen action in the seminiferous epithelium. Androgens act predominantly by activating the classical intracellular androgen receptor (AR). It is now well established that the proper AR signaling in Sertoli cells is required for maintenance of the blood-testis barrier, completion of meiosis and spermiation (O'Hara and Smith: Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 2015, 29, 595–605). In addition, androgens regulate the process of spermatogenesis through non-classical signaling pathways related to the induction of membrane receptors. In 2014, a member of the zinc transporter family, Zrt- and Irt-like protein 9 (ZIP9), was identified as a novel membrane androgen receptor (Berg *et al.*: Endocrinology. 2014, 155, 4237–4249). It has been shown that testosterone, acting through ZIP9, is involved in the regulation of the blood-testis barrier proteins in Sertoli cells (Bulldan *et al.*: Cell Signal. 2016, 28, 1075–1085). Recent studies have confirmed that ZIP9 is localized in Sertoli cells of mouse and bank vole seminiferous epithelium (Kamińska *et al.*: Andrology. 2020, 8, 457–472; Profaska-Szymik *et al.*: Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 6888).

Delta-like (DLL) and Jagged (JAG) proteins are membrane ligands activating the Notch signaling pathway involved in juxtacrine communication in the seminiferous epithelium. In mouse and rat testes, the presence of DLL1, DLL4, and JAG1 ligands has been demonstrated in both Sertoli cells and germ cells (Kaminska *et al.*: Reprod Biol Endocrinol. 2020, 18, 30; Murta *et al.*: PLoS One. 2013, 8, e72767). Activation of the Notch pathway by these ligands specifically modulates the response of Sertoli cells to androgens, influencing AR and ZIP9 expression. Moreover, it has been found that disturbances in the activity of the Notch pathway led

to deregulation of the expression of blood-testis barrier proteins – claudins (Kamińska *et al.*: Andrology. 2020, 8, 457–472). Therefore, the Notch pathway can be considered as an important factor influencing androgen signaling in Sertoli cells. Further analysis showed that the expression of Notch pathway ligands (DLL1, DLL4, and JAG1) in the male gonad is regulated by androgens. In vitro studies have clarified the mechanism of this regulation, providing evidence for the involvement of both AR and ZIP9 in this process. These results indicate a role of classical and non-classical androgen signaling in the control of the Notch pathway.

Summing up, our results demonstrated a bidirectional interaction between Delta-like and Jagged proteins and androgen signaling in rodent seminiferous tubules. The crosstalk between these mechanisms regulates the physiology of Sertoli cells, and its disruption may affect key processes in the seminiferous epithelium, such as the function of blood-testis barrier.

Supported by grants MINIATURA1 2017/01/X/NZ4/00285 and OPUS13 2017/25/B/NZ4/01037 (National Science Centre, Poland).

Małgorzata Kotula-Balak¹, Agnieszka Miłoś¹,
Piotr Pawlicki¹, Ewelina Górowska-Wójtowicz²,
Michał Duliban², Barbara Bilińska²

NON-CLASSIC ESTROGEN SIGNALING IN THE TESTICULAR INTERSTITIUM

¹University Centre of Veterinary Medicine JU-UA, University of Agriculture in Kraków, Poland, ²Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University in Kraków, Poland
e-mail: malgorzata.kotula-balak@urk.edu.pl

Based on numerous epidemiological and experimental studies, it is known that estrogen signaling through classical and non-classical estrogen receptors is necessary for the proper function of the male reproductive system. At the end of the 20th century, canonical estrogen receptors α and β (ER α and ER β ; *estrogen receptor α and β*) have been identified and their role in various types of testicular cells was determined using animal experimental models and *in vitro* studies (Bilińska *et al.*: Mol Cell Endocrinol. 2001, 10, 189–198; Hess.: Reprod Biol Endocrinol. 2003, 9, 52). The expression of ER α and ER β genes has been demonstrated in human testis, including pathological conditions, but research aimed at determining the pattern of protein localization of these receptors is still ongoing.

Currently, research work is focused on explaining the role of non-classical estrogen receptors, e.g. estrogen-related receptors (ERR α , ERR β and ERR γ – estrogen-related receptor α , β and γ) and membrane estrogen receptor (GPER; *G-protein coupled estrogen receptor*).

In recent years, for the first time, the expression of ERR in mouse Leydig cells *in vitro* and *in vivo* conditions

has been confirmed. Changes in proliferation, apoptosis and migration were observed in tumor Leydig cells with modulated $ERR\alpha$, $ERR\beta$ or $ERR\gamma$ activity (Kotula-Balak *et al.*: Tissue Cell. 2018, 52, 78–91). Species-specific expression of GPER has been demonstrated in all types of mammalian testicular cells, including human ones (Fietz *et al.*: Methods Mol Biol. 2016, 1366, 189–205; Kotula-Balak *et al.*: Cell Tissue Res. 2018, 374, 389–412). An increase in GPER expression and changes in estrogen levels were noted in rodent and human tumor Leydig cells (Górowska-Wójtowicz *et al.*: Tissue Cell. 2019, 61, 51–60). Inactivation of both ERR and GPER in mouse testes resulted in increased volume of interstitial tissue and enhanced expression of $ERR\alpha$, $ERR\beta$ or $ERR\gamma$ genes. Concomitantly, there was an increase in the number of telocytes – newly discovered regulatory cells of interstitial tissue (Pawlicki *et al.*: Protoplasma. 2019, 256, 393–408). Due to the unique structure and distribution of telocytes in the interstitial tissue, these cells create structure-communication networks, regulating the steroidogenic function of Leydig cells under the control of ERR and GPER. Thus, overgrowth of the interstitial tissue in pathological testis may result from disturbances in the number and/or function of telocytes and their regulation *via* ERR and GPER.

In the light of presented data, it seems that apart from the ERs, non-classical estrogen receptors are an important components of estrogen signaling in the male gonad. By controlling Leydig cells and telocytes, ERR and GPER regulate the production of sex hormones, which influences spermatogenesis. These receptors can also serve as additional markers of pathological states of the testicular interstitial tissue, especially those associated with changes in the production and concentration of estrogens.

Supported by grants 2015/18/E/NZ4/00519 (SONATA BIS5) and 2016/23/B/NZ4/01788 (OPUS12) from the National Science Centre.

Małgorzata Kotwicka, Weronika Tomaszewska

NON-CODING RNA OF SEMINAL PLASMA AS A DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC BIOMARKER OF MALE INFERTILITY

Department of Cell Biology, Poznan University of Medical Sciences, Poland
e-mail: mkotwic@ump.edu.pl

In about 60–75% of men diagnosed for infertility, it is impossible to establish a clear causal factor, which means that subjects are diagnosed with idiopathic infertility. The exploration for new biomarkers shows high specificity and sensitivity towards male infertility and provides additional information on the molecular mechanisms underlying this condition, and is therefore necessary. Since semen is a biological material relatively easy to

obtain in a non-invasive way, it naturally becomes the object of this research.

Numerous body fluids, such as plasma, serum, saliva, tears, cerebrospinal fluid, bronchoalveolar lavage fluid, milk, and urine contain cell-free, non-coding RNA (ncRNA) molecules. Due to the size of the molecule, three main classes of ncRNAs have been distinguished: short non-coding RNA (sncRNA), long non-coding RNA (lncRNA) and very long non-coding RNA (vlncRNA). NcRNAs are not translated into proteins but can modulate cellular messenger RNAs (mRNAs) and protein levels causing mRNA degradation or translation inhibition. Due to the biogenesis and type of proteins interacting with them, sncRNA have been divided into three main classes: microRNA (miRNA), small interference RNA (siRNA) and PIWI-interacting RNA (piRNA). Extracellular sncRNAs may reflect the molecular changes taking place in the cells. This means that profiling their expression can be a good diagnostic and prognostic tool. However, the great number of ncRNA molecules involved in cellular processes make this analysis difficult and time-consuming.

Cell-free miRNA and piRNA were found in the seminal plasma. It should be noted that miRNAs can be secreted by many cells and tissues, and the seminal plasma contains fluids secreted by testis, epididymides, seminal vesicles, bulbourethral glands, or the prostate. Thus, seminal plasma miRNAs may not provide unambiguous information about the type and location of the pathological condition. Nevertheless, a change in miRNA expression patterns (e.g., miR-34b/c, miR 334a/b/c, miR-449a, miR-19a, miR-31-5p, miR-539-5p, and miR-941) has been linked to various histopathological images of the testes (e.g. Sertoli cell-only syndrome, arrest of maturation of spermatogenesis cells) or semen with the signs of asthenozoospermia, oligozoospermia, oligoasthenozoospermia and azoospermia (Abu-Halima *et al.*: Fertil Steril. 2013, 99, 1249–1255; Barcelo *et al.*: Hum Reprod. 2018, 33, 1087–1098; Hu *et al.*: Clin Biochem. 2014, 47, 967–72; Tian *et al.*: Forensic Sci Int Genet. 2018, 33, 161–167).

On the other hand, piRNA are upregulated especially in pachytene spermatocytes and round spermatids. They seem to play a preliminary role in spermatogenesis, studies showed that silencing of PIWI protein expression inhibited sperm formation and maturation. piRNAs, includes piR-31068, piR-31925, piR-43771, piR-43773 and piR-30198, were present in the seminal plasma and their expression is associated with the reduced biological value of the semen (Hong *et al.*: Scientific Reports. 2016, 6: 224–229). Recent studies also pointed out that long non-coding RNA and circulating DNA (cfs-DNA) as a potential markers in the diagnosis of infertility.

An analysis of the available literature shows that ncRNAs represent a promising complement to traditional male infertility biomarkers.

Maciej Kurpisz, Monika Frączek

THE INFLUENCE OF SRAS-COV2- (COVID-19) VIRUS INFECTION ON MALE REPRODUCTIVE HEALTH

Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland
e-mail: maciej.kurpisz@igcz.poznan.pl

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-Cov-2) can be now presented as a common pandemic microbial agent with adverse multi-organ effects directed, among the others, to male reproductive system. Its promiscuity within organism can be linked to numerous receptors mediating its harmful actions to the host. One of them and seemingly a prominent player appears to be, ACE-2, (angiotensin-converting enzyme 2) which is expressed almost on the all morphotic elements of the male gonad. Another enzyme, expressed on adult testis spermatogonia is TMPRSS2 (transmembrane serine protease 2 enzyme) which cleaves capsid S of the virus. The other assisting receptors for Cov-2 are BSG (basigin) inducing metalloproteases of extracellular matrix, expressed on oolemma and trophectoderm membranes which presents opportunity for early embryonal damage, ANPEP (alanyl aminopeptidase N) is overexpressed in Parkinson disease as well through epigenetic mechanisms may induce cancerogenesis in a prostate gland (it is also expressed in endometrium). In turn, receptor DPP4/CD26 (dipeptidyl peptidase-4) has been expressed on epithelial and endothelial cells of vasculature belonging to circulatory system of lung, kidneys, intestine and heart – thus could potentially induce cytokine storm or thrombotic process. Interaction of SARS-Cov-2 with ACE-2 receptor may lead to dysfunction in hypothalamus-pituitary-testis axis. Principally it is due to primary dysfunction of Sertoli cells – secondarily it involves germ cells. SARS-Cov-2 does not primarily trigger autoimmune orchitis but it acts altering endocrine, inflammatory and innate immunity within male gonad – often exaggerated through release of reactive oxygen species (ROS) associated with pro-inflammatory stage. Other, visible disturbing syndromes in male reproductive ability are associated rather with therapeutic process than virus presence *per se*. Adverse effects may be caused by antiviral drugs and glucocorticosteroids. They both may exert cytotoxic actions towards actively dividing cells thus impairing spermatogenesis. Also polyclonal antibodies occasionally applied may be harmful due to possible cross reactivity. Additionally, glucocorticosteroids destroy cell junctions in spermatogenic epithelium affecting blood-testis barrier. Infiltrating leucocytes (due to inflammatory state invoked by SARS-Cov-2) may produce reactive oxygen species and cytokines as well as may augment cytokine secretion and synthesis in male gonad itself giving a ground for initiation of local cytokine storm. Due to all these circumstances

the classical sperm parameters (sperm quality) may deteriorate which makes necessity of careful semen oxidative stress monitoring as well as application of antioxidants. Testosterone supplementation should be also considered. Particularly when applying antiviral drugs a grace period in trying for offspring should be considered for at least few month (epigenetic phenomena or sperm DNA damage should be considered which strictly speaking is a prerequisite to abandon procreative activities during that time. Infertility may be induced primarily due to Sertoli cells dysfunction. Another problem could be asymptomatic infections in children of pre-pubertal or early reproductive age. Long-term carriership of the SARS-Cov-2 in semi-privileged site should be taken into attention.

Krzysztof Łukaszuk^{1,2}

SPERM DNA FRAGMENTATION – DIAGNOSTICS AND TREATMENT

¹INVICTA Fertility and Reproductive Center, Gdansk, Warsaw, Wroclaw, Bydgoszcz, Poland; ²Medical University of Gdansk, Faculty of Health Sciences Department of Obstetrics and Gynecological Nursing, Gdansk, Poland
e-mail: krzysztof.lukaszuk@invicta.pl

Globally, about 140 million people (13–15% of couples) remain childless after a year of trying. Only a small minority seeks any treatment. The male factor is the least known aspect of the diagnosis of the causes of infertility. So far, there are no clearly defined cut off values for identifying sperm reproductive potential based on standard semen analysis. The value of the World Health Organization (WHO) standards for semen analysis is still being questioned. The most common deviations from the test standard – in terms of sperm count, motility and morphology do not withstand a detailed analysis of their causal relationship with pregnancy. Based on current research, it is even difficult to determine whether standard semen analysis parameters are clearly related to the cause of infertility. Thus the search continues for tests that would facilitate diagnostics and treatment management of an infertile couple. The most convincing is the analysis of sperm DNA fragmentation and other abnormalities related to the genetic material contained in the sperm. Properly chromatin remodeling, from histones to protamines, in the nucleus of mature spermatozoa has a protective function for DNA. Sperm chromatin integrity is essential for normal reproductive function. Its disorders cause: infertility, poorer embryo quality, lower implantation rate and an increased risk of miscarriage or having a sick child. The oocyte can effectively repair sperm chromatin damage to some extent, but the effectiveness of the repair mechanisms in the oocytes declines with age.

The mechanisms of sperm DNA damage known so far include: apoptosis or anomalies arising during the

spermatogenesis process, DNA strand breaks during chromatin remodeling in the process of spermiogenesis, non-nuclear DNA damage mainly by oxygen free radicals during transport through the seminal tubules and in the epididymis, DNA fragmentation induced by endogenous caspases and endonuclease, damaging effects of radio- and chemotherapy and environmental toxins. The main one appears to be the oxidative stress. It can be related to internal factors (such as protamine deficiency and DNA packaging defects) affecting up to 15% of infertile men. We should also take into account external factors – inflammation of the genital organs, heat, radiation, chemotherapy, smoking. Smoking generates high levels of oxidative stress and reduces the concentration of antioxidants in semen plasma.

Unfortunately, sperm DNA fragmentation does not correlate with the basic sperm parameters. Increased sperm DNA damage was observed in approximately 5% of infertile men with normal sperm parameters compared with 25% in the group of patients with abnormal sperm parameters. Increased sperm DNA fragmentation index indicates reduced male fertility regardless of sperm count, motility and morphology. The results of the assessment of the sperm chromatin structure assay (SCSA) allowed for the best assessment of the chances of a successful pregnancy in the case of planning the first pregnancy, also in couples undergoing intrauterine insemination (IUI).

That shows why it is so important to use sperm DNA fragmentation analysis in the evaluation of an infertile couple. In order to be able to effectively diagnose the cause of infertility, one must have an appropriate diagnostic tool. We currently have several methods for determining sperm DNA damage. Unfortunately, the increased popularity of such test and their commercialization lead to introduction of unreliable tests to the market, that easy to perform and inexpensive to buy. As a result, a group of clinics charges unaware patients for the unreliable tests the fees comparable to reliable tests for, obtaining a 1000% margin. The tests that have proven reliability and quality include SCSA, TUNEL (TdT-mediated dUTP nick-end labeling) and comet assay. Among the tests not confirmed by independent studies, one should mention the commercial hit – sperm chromatin dispersion (SCD) test– falsely called the sperm DNA fragmentation test.

So far, it has not been clearly established where to place the sperm DNA fragmentation in the treatment algorithm – does it belong in the initial diagnosis, extended diagnosis, before in vitro fertilization or after its failure. We currently have a tool for at least partial separation of sperm with high fragmentation of sperm DNA, so the question arises whether we should use it also after sperm separation for in vitro fertilization.

Mariola Marchlewicz¹, Ewa Duchnik²

ANDROGENETIC ALOPECIA AND MEN'S HEALTH

¹Department of Dermatology and Venereology, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland, ²Department of Aesthetic Dermatology, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland
e-mail: mariola.marchlewicz@pum.edu.pl

The presence of healthy, properly growing hair is very important for the well-being of men. The processes of hair growth and replacement are regulated, among other factors by androgens, in some places androgens have no effect, in other stimulate or inhibit hair growth. In men, high levels of androgens stimulate the growth of facial, suprapubic and chest hair. However, in the scalp androgens can cause baldness. Hair follicles are androgen-sensitive due to the expression of Androgen Receptor (AR) in dermal papilla cells (DPCs). The AR expression is significantly higher in DPCs of the chin and areas subject to androgenetic alopecia than in non-balding skin of the occipital region.

Androgenetic Alopecia (AGA) affects approximately 50% of adult men under the age of 50 and over 70% over the age of 70. The clinical presentation of AGA is that hair lost is initially in the frontal area and then in the top of the head. The severity of the disease is assessed on the Hamilton – Norwood scale. The primary pathogenetic process in AGA, is mediated by dihydrotestosterone (DHT), hair follicle miniaturization in androgen-dependent areas. Genetic (single nucleotide polymorphism in exon 1 of the AR gene within the long arm of X chromosome), hormonal (testosterone, DHT) and environmental factors are important in the pathogenesis of AGA.

It is thought that in AGA there is, within the hair follicle, an altered interaction between DPCs and keratinocytes. In the DPCs the androgen/AR complex influences the synthesis of factors that regulate both the function of these cells autocrinally and the function of follicular epithelial cells paracrinally, e.g. through IGF-1 (insulin-like growth factor 1), within DPCs, in areas of baldness skin, the level of secretion of this cytokine is as much as 6 times lower than in non-baldness skin, what confirms the important role of IGF-1 in inhibiting baldness.

Androgens also alter the transcription of genes, in DPCs, regulating the hair growth cycle. They are responsible for reducing the number of cells in the hair follicle, as high levels of DHT induce apoptosis of DPCs and loss of their proliferative properties.

As a consequence, there is a shortening of the anagen phase and a reduction in the size of the follicles. The activity of DPCs, keratinocytes and melanocytes changes, which leads to the transformation of the final hair follicles into the follicle in which shorter, thinner and discolored hair are formed (*Marchlewicz et al.*: Post Androl Online. 2014, 1(2), 14–24).

In addition to the negative impact of AGA on quality of life, a growing number of studies have shown its

association with increased cardiovascular risk. Men with AGA are more common to have metabolic syndrome, obesity, hypertension, dyslipidemia, insulin resistance and accelerated atherosclerosis. The criteria for diagnosing the metabolic syndrome are met by 20-57% of patients with AGA. The pathomechanism of the coexistence of AGA and cardiovascular diseases is complex and includes genetic factors (increased sensitivity to androgens and increased 5 α -reductase activity), hormonal (increased insulin, aldosterone, leptin) and inflammatory factors (cytokines, reactive oxygen species). Patients with AGA have an inflammatory reaction around the hair follicles, and serum levels of oxidative stress markers have been found to be increased in patients with early onset AGA. Studies show an association of AGA with increased levels of cholesterol and triglycerides in the blood serum and higher values of systolic and diastolic blood pressure in these men (Wernicka *et al.*: *Przeegl Dermatol.* 2018, 105, 716–725).

Katarzyna Marchlewska

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF FUNCTIONAL TESTS IN REPRODUCTION

Department of Andrology and Reproductive Endocrinology, Medical University of Lodz, Poland
e-mail: katarzyna.marchlewska@umed.lodz.pl

In recent years, a lot of attention has been paid to study the sperm quality. A significant progress has been made in understanding the importance of sperm chromatin integrity as well as the impact of oxidative stress on male fertility. However, the assessment of sperm function seems to be no less important.

One of parameters describing sperm function in the basic semen analysis is motility. Often, for prognostic purposes, an index called total motile sperm count (TMSC) is also calculated. The reference values for this parameter are still under discussion. Some authors suggest the cut-off value above 10, others above 5 or even above 1 million. This index is usually used when qualifying a couple for intrauterine insemination (IUI), but also to predict the chances of natural fertilization. Many studies has shown that the motility does not ensure that the sperm is involved in the reproductive process. Under natural conditions, about 1% of spermatozoa deposited during sexual intercourse enter the uterus. This number is constantly reduced as sperm migrate through subsequent sections of the female reproductive system. That is why the assessment of their migration ability is such an important parameter related to male gametes hyperactivation, chemo- and thermotaxis.

The capability of sperm to migration is assessed using a functional test such as the migration test, often called the “swim up” test. The result of the test indicates the number of sperm that migrate in

1 hour from 1 mL of native semen sample to 1.2 mL of human tubal fluid-like medium and is expressed as the motile sperm concentration (million/mL) after the preparation. The test is used to predict the chances of natural fertilization, IUI and classic in vitro fertilization (IVF). It has no cut-off value because during interpretation it should be remembered that result does not take into account the total ejaculate volume so it should be considered individually. In the literature the limit values for number of motile sperms that will be transfer into the uterus during evaluation of fertilization effectiveness using IUI method ranges from 0.8 to 20 million sperm. However, the American Society for Reproductive Medicine (ASRM) published data showing that the effectiveness of insemination increases with the number of sperm transferred to the uterus, but only to 9 million and then remains constant. On the other hand, if qualification for the IVF procedure is considered, the sperm number of 70–100 thousand per each oocyte ensure the optimal conditions.

Fertilization is a multistep and complex process and there is a paucity of diagnostic methods that are dedicated to evaluate the function of male gametes at each stage. One of these tests indicates sperm maturity and assesses their ability to bind to hyaluronic acid (hyaluronan binding assay – HBA). Physiologically, hyaluronic acid is found in the corona radiata of the oocyte and is degraded by an enzyme hyaluronidase located on the sperm heads. As recommended by the test manufacturer, a value of $\geq 80\%$ of the motile sperm responding to the test was considered normal. However, other studies suggest that HBA value of $< 60\%$ significantly indicates decreased sperm maturity (Huszar *et al.*, *Reprod Biomed.* 2007, 14, 650–663), while patients with a binding score $\leq 65\%$ have a reduced chance of having mature sperm randomly selected for ICSI (Worriow *et al.*, *Hum Reprod.* 2013, 28, 306–314). The data of our own studies concerning the frequency of impairment of sperm function in the population of men referred for semen analysis in the Lodz agglomeration will be presented.

Sylwia Marek¹, Alicja Kamińska¹,
Małgorzata Brzoskwini¹, Laura Paradyak²,
Anna Hejmej¹, Barbara Bilińska¹

FOLLICLE-STIMULATING HORMONE (FSH) REGULATES NOTCH SIGNALING IN RAT TESTIS DURING PUBERTY

¹Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University in Krakow, Poland; ²Center of Experimental and Innovative Medicine, University of Agriculture in Krakow, Poland
e-mail: s.marek@doctoral.uj.edu.pl

The function of the mammalian male gonad is maintained by the hypothalamic-pituitary axis, whose activation during puberty is associated with pulsatile secretion

of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) from hypothalamus. Follicle-stimulating hormone (FSH) released in response to this signal, is involved (along with androgens) in the control of spermatogenesis. Studies on rodent models have shown that FSH, by regulating Sertoli cell function, reduces apoptosis of germ cells during the first wave of spermatogenesis, and influences the proliferation and differentiation of spermatogonia (*O'Shaughnessy: Semin Cell Dev Biol.* 2014, 29, 55–65).

Sertoli cells support spermatogenesis through mutual interactions and communication with germ cells. One type of direct intercellular interactions in the seminiferous epithelium is communication *via* the Notch signaling pathway (*Murta et al.: PLoS One.* 2013, 8, e72767). Although in recent years the role of Notch signaling in spermatogenesis has been the subject of in-depth research, the regulation of this pathway in the seminiferous epithelium is still poorly understood.

Our recent studies using pubertal rats exposed to GnRH antagonist followed by FSH supplementation, have shown that the function of Notch pathway in the testes is modulated by FSH. The expression of Notch1, Notch2, and Notch3 receptors, as well as the levels of their active forms, were altered in the seminiferous epithelium, both in Sertoli cells and in germ cells, of FSH-treated rats. The expression of Notch pathway effector genes *Hes1* and *Hey1* was also investigated, and the localization of HES1 and HEY1 proteins in the seminiferous tubule was confirmed by immunohistochemical analysis. Decreased *Hes1* expression was found after FSH signaling activation, which may indicate a reduction in the Notch pathway activity in the seminiferous epithelium.

The results presented herein demonstrate that in seminiferous epithelium FSH regulates direct intercellular communication based on the Notch pathway. The interplay between FSH and Notch pathways may be a molecular mechanism responsible for the effect of FSH on the ability of Sertoli cells to support germ cells. These observations may therefore contribute to elucidating the basis of impaired germ cell development associated with disturbed FSH action.

Supported by a grant OPUS13 2017/25/B/NZ4/01037 (National Science Centre, Poland).

Marek Mędras

THERE WAS SEX AND TESTOSTERONE REMAINED

Department of Sports Medicine and Dietetics, University School of Physical Education, Wrocław, Poland, Polish Anti-Doping Laboratory, POLADA
e-mail: m.medras@gmail.com

During the lecture, the information on sex differentiation and then into the problem of gender verification in competitive sport from a historical perspective will be presented. Moreover, the issue of testosterone levels in healthy women

and with hyperandrogenism will be analyzed. These data will be confronted with recommendations of sports organizations regarding acceptable testosterone levels in female athletes. Finally, the cases of sex development disorders (46,XY DSD) encountered in competitive sports (androgen insensitivity syndrome, 5 α -reductase deficiency, 17- β hydroxysteroid dehydrogenase deficiency, congenital adrenal hyperplasia, Leydig cell hypoplasia) will be presented.

Laura Pardyak¹, Alicja Kaminska²,
Malgorzata Brzoskwinia², Anna Hejmej²,
Malgorzata Kotula-Balak³, Jan Jankowski⁴,
Mariola Slowinska⁵, Andrzej Ciereszko⁴, Barbara Bilinska²

THE IMPORTANCE OF HORMONAL BALANCE IN THE REPRODUCTIVE TISSUES OF THE TURKEY WITH YELLOW SEMEN SYNDROME

¹Center of Experimental and Innovative Medicine, University of Agriculture in Krakow, Poland, ²Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University in Krakow, Poland, ³University Centre of Veterinary Medicine JU-UA, University of Agriculture in Krakow, Poland, ⁴Department of Poultry Science, Faculty of Animal Bioengineering, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland, ⁵Department of Gamete and Embryo Biology, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Poland
e-mail: laura.pardyak@urk.edu.pl

It is well established that some male turkeys produce yellow semen instead of the normal white semen (WNS). Yellow semen syndrome (YSS) in domestic turkey (*Meleagris gallopavo*) was detected over thirty years ago by identifying seminal plasma having both a yellow color and a high protein concentration (*Thurston et al.: Poult Sci.* 1982, 61, 1905–1911). Moreover, the YSS has been characterized as containing abnormal sperm, spermatids and causes reduced fertilizing capacity and hatchability compared to the WNS produced by most turkeys. More recently, spermatozoa motility characteristics has been disturbed in YSS turkeys as demonstrated by a computer-assisted sperm analysis (*Slowinska et al.: Poult Sci.* 2011, 90, 181–190). Although semen quality parameters have been presented in detail, the cause of YSS still remains unclear. It is noteworthy that male turkeys producing yellow semen are of special interest as an animal model for the investigation of reproductive changes associated with unexplained low sperm quality. In many mammalian species the balance between testosterone and estradiol is crucial for spermatogenesis, normal sperm maturation within the epididymis, and proper functioning of the ductus deferens. Compared with extensive studies on mammals, very little is known about the importance of testosterone metabolism and the androgen:estrogen ratio within the reproductive tissues of domestic birds. Thus, the aim of the present study was placed on understanding a connection between the hormone levels and the lower quality of sperm occurring in YSS male.

The study was performed on testicular, epididymal, ductal and semen samples collected from adult YSS and WNS turkeys using several techniques such as immunohistochemistry, Western blotting, qRT-PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction), and electron microscopy (Pardyak *et al.*: Br Poult Sci, 2018, 59, 591–603; Pardyak *et al.*: Poult Sci, 2020, 99, 555–566).

The results revealed a non-homogeneous distribution of aromatase and its markedly enhanced expression levels in all reproductive tissues and sperm of YSS males compared to WNS ones, what may reflect a higher endogenous synthesis of estrogens in the males with abnormal yellow semen. This suggestion was confirmed by increased estradiol concentration measured in YSS testes compared to the value of WNS testis samples. Additionally, a positive correlation between increased estradiol concentration and elevated expression of estrogen receptor alpha (ER α) and estrogen receptor beta (ER β) in YSS testes and epididymis was observed. The *in vivo* results were in line with *ex vivo* experiments where YSS and WNS testis explants were incubated with estradiol. Moreover, transmission electron microscopy observations revealed that YSS spermatozoa have a reduced fibrous sheath thickness compared with WNS spermatozoa, which may suggest impaired sperm motility in turkeys with the yellow semen syndrome.

Taken together, our data suggest that the androgen:estrogen ratio provides a mechanistic basis for amplification of differences between turkeys with white and yellow semen. It may indicate a potential relationship between hormonal imbalance and lower semen quality in turkeys with YSS as indicated by structural disorders of the proximal part of the YSS spermatozoa tail.

Supported by a grant 2017/25/N/NZ9/00585 (PRELUDIUM 13) from the National Science Centre to L.P.

Michał Rabijewski

LATE ONSET HYPOGONADISM – CURRENT OPINIONS ON DIAGNOSIS AND TREATMENT

Department of Reproductive Health, Centre for Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland
e-mail: mirab@cmkp.edu.pl

Late-onset hypogonadism (LOH) is a syndrome characterized by clinical and biochemical evidence of low testosterone (T) levels with advancing age, and is promoted by senescence. LOH affects the hypothalamic-pituitary-testis axis. Additionally, metabolic disorders can have a greater impact on causing hypogonadism than tissue senescence, which is reflected in decreased male quality of life, mood, sexual performance as well as increased morbidity and mortality. On the other hand, T deficiency is a risk factor for the metabolic disorders, diabetes, and atherosclerosis (vicious cycle). Testosterone replacement therapy (TRT) is widely used to restore T levels and can improve symptoms and signs of T deficiency including

decreased libido, erectile dysfunction, depressed mood, loss of muscle and bone mass, by increasing serum T levels to physiologic range. In recent years, several guidelines for TRT have been developed, but despite similar principles, there are still important differences both for the diagnostic workup and follow-up. Discrepancies were reported both for total and free T levels for diagnosis and for total testosterone for monitoring. Numerous preparations of T have been developed to improve pharmacokinetics and patient compliance. It is important to use the appropriate and safe preparation for each patient. Long-term TRT in patients with LOH is safe in terms of its impact on heart disease and the risk of prostate diseases. Although, the effects of TRT on the cardiovascular system are complex and rather positive, but several clinical observations reveal neutral or occasionally detrimental effects, mostly due to confounding factors. It appears, that TRT is safe once other comorbidities are addressed.

Michał Rabijewski

ANDROGEN RECEPTOR AND ANDROGENS INSENSITIVITY SYNDROMES

Department of Reproductive Health, Centre for Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland
e-mail: mirab@cmkp.edu.pl

The androgen receptor (AR) play a significant role in male sexual differentiation and the development and function of male reproductive and organs. Because of AR's widely varied and important roles, its abnormalities have been identified in various diseases. Androgen insensitivity syndrome (AIS) is a genetic condition where affected people have male chromosomes and male gonads with complete or partial feminization of the external genitals. AIS results from mutations in the androgen receptor gene, located on the long arm of the X chromosome (Xq11-q12) which is associated with functioning Y sex chromosome and abnormality on X sex chromosome. AIS is divided into CAIS (complete androgen insensitivity syndrome) with external female genitalia and lacking female internal organs, PAIS (partial androgen insensitivity syndrome) with external genitalia appearance on a spectrum (male to female), and MAIS (mild androgen insensitivity syndrome) with impaired sperm development and/or impaired masculinization. MAIS is the most common cause of mild hypogonadism at elevated testosterone (T) levels. In some men we observe the AR gene polymorphism leading to a slight but clinically significant decrease in T action, which causes clinical symptoms of hypogonadism at normal T levels. The negative influence of AR gene polymorphism on bone mineral density, lipids and mood was demonstrated but positive

influence on prostate volume. *AR* gene polymorphism should be taken into account in patients with symptoms of hypogonadism and the normal T levels, and may also modulate the risk of side effects during testosterone replacement therapy.

Weronika Ratajczak^{1,2}, Olimpia Sipak³,
Maria Laszczyńska²

INTESTIN MICROFLORA, DISEASES OF THE INTESTINES AND CANCER AND BENIGN HYPERPLASIA OF THE PROSTATE GLAND

¹Department of General Pharmacology and Pharmacoeconomics, ²Department of Histology and Development Biology, ³Department of Obstetrics and Pathology of Pregnancy, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland
e-mail: veronica.ratajczak@gmail.com

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is one of the most commonly diagnosed urological diseases in men over 50 years of age. BPH is characterized by prostatic stromal cell proliferation, leading to prostatic bladder obstruction (BOO) and lower urinary tract symptoms (LUTS), which together reduce quality of life (QoL). The development of BPH is very often associated with the existence of comorbidities, such as diabetes, cardiovascular diseases, and even neurological diseases (Cho *et al.*: *Curr Bladder Dysfunct Rep.* 2020, 15, 60–65). Many studies also indicate a relationship between the metabolic syndrome (MetS) and the risk of LUTS and BPH (Zhao *et al.*: *Urol J.* 2016, 13, 2717–2726). The factor that contributes to the initiation of pathological changes in the prostate, and consequently its benign hyperplasia, is chronic inflammation resulting, among others, from metabolic disorders (Gacci *et al.*: *BMC Urol.* 2017, 17:22). Moreover, an additional factor that influences the occurrence of inflammation in the body is disturbances in the intestinal microflora.

The intestinal microflora is one of the elements of the bacterial ecosystem in mammals. The microorganisms that inhabit the gut are one of the key elements involved in modulating the immune response from the moment of birth. More and more research is currently being carried out on the effect of bacterial metabolites, including short-chain fatty acids (SCFA), on homeostasis, not only in the intestinal microenvironment, but also in cells and tissues of other organs. SCFAs are a group of compounds made up of six carbon atoms (C1 - C6), with the majority of acids being: butyric acid (C4), propionic acid (C3), and acetic acid (C2) (Tramontano *et al.*: *Nat Microbiol.* 2018, 3, 514–522).

So far, disturbances in the intestinal microflora and its impact on inflammation and prostate diseases have not yet been thoroughly analyzed. The influence of SCFAs on the development of BPH has also not been

studied. Only a few publications on the impact of the intestinal microflora on the prostate are available in scientific data bases. They mainly concern the influence of intestinal bacteria on the synthesis of metabolites and androgens, which may be associated with the development of prostate cancer in humans (Liss *et al.*: *Eur Urol.* 2018, 74, 575–582). A study conducted in mice, on the other hand, revealed that pathogenic intestinal bacteria can promote the development of prostate cancer by activating systemic immune cells (Poutahidis *et al.*: *PLoS One.* 2013; 8:e73933). There are also reports of the impact of inflammatory bowel disease (IBD) on the risk of prostate cancer (Burns *et al.*: *Eur Urol.* 2019, 75, 846–852). So far, differences in the composition of the intestinal microflora have only been confirmed in a pilot study, in which the composition of the intestinal microflora was analyzed in patients with prostate cancer, and with BPH (Golombos *et al.*: *Urology.* 2018, 111, 122–128). The results of the research by Liss *et al.* indicate that bacteria predominating in men diagnosed with prostate cancer (PCa) were *Bacteroides* and *Streptococcus spp.* The exact mechanism by which the intestinal microflora affects the prostate gland has not so far been fully elucidated. It seems very likely, however, that disturbed intestinal microflora does not directly affect the prostate gland, but contributes to the development of chronic systemic inflammation. Inflammatory Cells and inflammatory factors (including cytokines) from the intestinal environment, along with the circulation, can get into the gland and there cause 'local' inflammation and stimulate the growth factors of the prostate stroma, which in turn may lead to prostatic diseases.

The own study compared the SCFAs profile between healthy patients and patients diagnosed with BPH, with regard to MetS as a factor predisposing to the development of prostate hyperplasia. The conducted study is the first to show changes in the tested SCFA levels between these two groups. Nevertheless, further research is needed (including testing in animal models) to determine whether there is a 'microbiota-gut-prostate axis' and whether the intestinal microflora and its metabolites contribute to the development of BPH.

Study supported by the Pomeranian Medical University (no. WNoZ-322-03/S/16/2020).

Marzena Skrzypczak-Zielinska, Monika Frączek **NGS (NEXT GENERATION SEQUENCING) ANALYSIS IN FERTILITY DIAGNOSTICS**

Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland
e-mail: mskrzypczakzielinska@gmail.com; framon@man.poznan.pl

Genetic analyzes play an important role in determining the causes of reproductive failure in couples. Genetic factors are considered responsible in at least 10–15% of

cases of male infertility (*Ambulkar et al. J. Clin. Diagn. Res.* 2014, 8, 88–91). Karyotype analysis has become a standard. Chromosome aberrations occur in 7% of infertile men, which is 30 times more frequent than in the general population. Another cause of male infertility are microdeletions of the Y chromosome or aberrations and mutations of genes responsible for male sexual development, e.g. located in the Yp11.2 region. On the other hand, patients with bilateral or unilateral absence or obstruction of the vas deferens should be ordered to check for the presence of mutations in the *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) gene (*Łukaszuk et al. Gin Perinat Prakt.* 2018, 3, 112–140; *Kaminski et al. Int J Mol Sci.* 2020, 21, 5274). However, the possibilities of genetics do not end there.

Modern technologies open up new areas of research in the diagnosis of infertility. Next generation sequencing (NGS) is such a technology, which is used, e.g., in genetic preimplantation diagnostics (PDG) as part of the *in vitro* procedure in order to reduce the risk of serious chromosomal defects in the embryo (before a woman becomes pregnant), and in the detection of monogenic diseases and disorders related to the occurrence of translocation in the offspring. Performing the NGS analysis is especially recommended for individuals with a positive genetic history, couples who have experienced recurrent spontaneous abortions or whose offspring have been diagnosed with genetic disorders, as well as women deciding to become pregnant after 35 years of age (*Łukaszuk et al. Gin Perinat Prakt.* 2018, 3, 112–140). With PGD diagnosis significantly increases the percentage of embryo implantation and birth of healthy children.

Another crucial aspect of the use of NGS in the diagnosis of infertility is the characteristics of the microbiome of the reproductive system. Because the human body contains more microbes than human cells, the microbiome (being termed the ‘second human genome’) has a huge potential to influence human physiology (*Tsonis et al.: Ann Transl Med.* 2020, 8, 1707). To date, the use of NGS supports the explanation of the functional, quantitative and mechanistic aspects of the complex microorganism-host interactions, particularly in relation to the gut microbiome. Meanwhile, the sperm microbiome is an area of growing scientific interest due to important implications for male reproductive health, the health of couples, and even the health of the offspring by transmitting microorganisms to the partner and offspring (*Baud et al. Front Microbiol.* 2019, 10, 234; *Chen et al. Exp Ther Med.* 2018, 15, 2884–2890). An indication of a particular species of bacteria having an impact on sperm function may facilitate the development of new therapies (eg. probiotics). Currently, however, the data are inconclusive and more research is needed (*Farahani et al.: Andrology.* 2021, 9, 115–144). Nevertheless, it should be expected that NGS analyzes are the future of broadly understood molecular and genetic diagnostics also in infertility research.

Jolanta Słowikowska-Hilczer

EAA GUIDELINES ON KLINEFELTER SYNDROME

Department of Andrology and Reproductive Endocrinology, Medical University of Lodz, Poland
e-mail: jolanta.slowikowska-hilczer@umed.lodz.pl

Klinefelter’s syndrome is the most common (0.1–0.2% of male newborns) genetically determined cause of infertility and hypergonadotrophic hypogonadism in men. It develops as a result of numerical aberration of X chromosomes (most often 47,XXY). During childhood and early puberty, the hypothalamic-pituitary-testis axis is usually normal. The clinical picture of hypergonadotropic hypogonadism develops from mid-puberty (stage G III according to Tanner’s classification) due to progressive degeneration of the structure and impairment of testicular function (*Wikström and Dunkel: Horm Res.* 2008, 69, 317–326). The phenotype is varied, ranging from nearly normal to significantly abnormal. The phenotype in newborns with Klinefelter syndrome is usually normal male. Often the only clinical feature is small testes, which are most often not identified until puberty. Patients with this syndrome are most often infertile, but in about half of the cases it is possible to find spermatozoa in the testicles (*Rohayem et al.: Andrology.* 2015, 3, 868–875), and they also have a higher risk of developing, e.g. for breast cancer, metabolic syndrome, cardiovascular diseases, osteopenia / osteoporosis, autoimmune diseases. Additionally, there are various levels of cognitive, social and behavioral disorders as well as learning difficulties. Early diagnosis for this syndrome is recommended in order to implement early therapeutic and preventive treatment against comorbidities (*Zitzmann et al.: Andrology.* 2021, 9, 145–167).

Renata Walczak-Jędrzejowska

ANTI-MÜLLERIAN HORMON AND INHIBIN B – THEIR ROLE IN ANDROLOGICAL DIAGNOSTIC

Department in Andrology and Reproductive Endocrinology, Medical University of Lodz
e-mail: renata.walczak-jedrzejowska@umed.lodz.pl

Anti-Müllerian hormone (AMH), also called Müllerian inhibiting factor (MIF), and Inhibin B (INHB) are glycoproteins belonging to the transforming growth factor β (TGF β , transforming growth factor β). The main physiological role of AMH is the regression of the Müllerian ducts in the fetal period, while INHB regulates FSH secretion from the pituitary by negative feedback. In the male, they are produced by Sertoli cells in seminiferous tubules starting from the fetal period and are considered to be markers of their function (*Iliadou et al.: Hormones.* 2015, 14(4), 504–514). The dynamics of

secretion of both hormones changes throughout the life span of men, which determines the possibility of using their concentrations measurement in andrological diagnostic.

Measurements of AMH and INHB concentrations in blood serum is used in pediatric patients. In the pre-pubertal period, the concentrations of both hormones remain at relatively constant level. During so-called “minipuberty”, i.e. the temporary activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, the assessment of their concentration is an additional marker of the proper development of the testicles and function of Sertoli cells. In turn, after its completion, i.e. during so-called “hormonal silence” period, AMH and INHB become the only hormonal markers of testicular activity. Currently, both hormones are used, for example, in the differential diagnosis of testicular failure, congenital hypogonadotropic hypogonadism or sexual differentiation disorders (*Rey: Adv Lab Med.* 2020, doi.org/10.1515/almed-2020-0024). Recently, the possibility of using the assessment of AMH and INHB levels in boys in the pre-puberty and pubertal period in order to early diagnose isolated Sertoli cell dysfunction is suggested (*LaVignera et al.: J Clin Med.* 2019, 8(5), 636–342).

With the beginning of puberty and the activation the hypothalamic-pituitary-testicular axis, changes in the secretion of AMH and INHB occur. The AMH concentration decreases to the values corresponding to the concentration values in pre-pubertal girls, while INHB concentration increases to the values observed in adult men.

Measurement of the concentration of INHB along with the measurement of the concentration of follicle stimulating hormone (FSH) in adult men has been used for years as a marker of the proper function of Sertoli cells, and thus testicular spermatogenic activity. However, despite many attempts, so far it has not been possible to established the cut-off value clearly indicating an impairment in spermatogenesis or reduced sperm quality. Recent studies also question previous reports showing a higher predictive value of INHB concentration compared to other sex hormones in predicting the chance of obtaining sperm from testicular biopsy in men with obstructive azoospermia (NOA) (*Arshad et al.: Int Urol Nephrol.* 2020, 52(11), 2015–2038). Although attempts to use serum AMH measurements in adult men as an additional marker of Sertoli cell function and spermatogenesis did not bring expected results, it was possibly to demonstrate a relationship between semen quality and AMH concentrations in seminal plasma (*Vitku et al.: Basic Clinl Androl,* 2017, 27, 19). When it comes to the use of AMH concentration as a predictor of sperm biopsy in men with NOA, the results are inconclusive (*Alfano i et al.: Sci Rep.* 2017, 7(1), 17638; *La Marca et al.: Hum Reprod Update.* 2010, 16(2), 113–130).

Artur Wdowiak

OAT – NEW RECOMMENDATIONS BY THE EUROPEAN ACADEMY OF ANDROLOGY

Diagnostic Techniques Unit, Medical University of Lublin, Lublin, Poland
e-mail: wdowiakartur@gmail.com

Oligoasthenoteratozoospermia (OAT) is a decrease in the amount, progressive motility, and percentage of morphologically normal spermatozoa, diagnosed based on two semen analyses. The etiology of OAT varies and is most often multifactorial. Abnormalities of semen parameters in OAT are most frequently explained by the concept of oxidative stress. Recommendations of the European Academy of Andrology suggest, after making the diagnosis of OAT, conducting a thorough medical history, physical examination, as well as USG and hormonal diagnostics (*Colpi et al.: Andrology.* 2018, 6, 513–524). Appropriately performed diagnostics allows the selection of a proper treatment method. Gonadotropins, anti-estrogens, aromatase inhibitors, and antioxidants are used in the therapy of OAT (*Majzoub et al.: Arab Jour Urol.* 2018, 2; 16(1), 113–124). The treatment undertaken should be accompanied by the potential change of life style. Management of a patient with OAT should also include the reproductive capacity of the female partner, which is determined primarily by women age. The lack of improvement of semen parameters, or no pregnancy after treatment and low reproductive potential of the partner are an indication for applying the assisted reproductive technology as soon as possible. At present, the most effective treatment method is intracytoplasmic sperm injection (ICSI) (*Janicka et al.: Gin Pol.* 2021, 92(1), 7–15).

Jan Karol Wolski^{1,2}

MICROSCOPIC TESTICULAR SPERM EXTRACTION

¹Fertility Clinic “nOvum”, Warsaw, Poland, ²Department of Urological Cancer, The Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Warsaw, Poland
e-mail: jkwolski@op.pl

In 1998 Peter Schlegel described for the first time the use of an operating microscope testicular biopsy in a man with azoospermia (*Schlegel: Hum Reprod.* 1999;14(1), 131–135). The microscopic testicular sperm extraction (m-TESE), microsurgical method allows to find groups of promising tubules within damaged gonads where spermatogenesis may occur, giving an advantage over classical surgical (open) and percutaneous needle biopsy. According to guidelines from the European Association of Urology Guidelines on Sexual and Reproductive Health (EAU) 2020, m-TESE is particularly useful for non-obstructive azoospermia. An magnification of 20–25× results in at least 1.5-fold greater effectiveness in sperm obtains compared

to a classic biopsy. The Sperm Retrieval Rate (SSR) is 52% (Bernie *et al.*: Fertil Steril, , 2015, 104, 1099–1103).

Between 06.10.2012 and 05.03.2021, 396 m-TESE biopsies were performed in the non-homogeneous group of men with azoospermia: an average age of 34 years (range: 17–44 years). M-TESE was the first procedure performed in 55/396 (14%) patients. The Klinefelter Group consisted of 47/396 (12%). Most patients received stimulation of spermatogenesis before surgery: androgen + antiestrogen (Adamopoulos *et al.*: Fertil Steril. 1997. 67(4), 756–762), or gonadotropin (LH, FSH) or clomiphene. In addition, antioxidants were included. The procedures were carried out under general anesthesia, as the one-day-surgery. Type of microscope: Seiler Evolution XR6 (94), Carl Zeiss S7 (6), Leica M860 2 × 2 (296) and the magnification 25× were used. Access to the testes – cutting in the middle line through the scrotum seam (*lac. raphe scrotum*). After the procedure, prophylactic antibiotic therapy (cephalosporin) was administered for 5 days.

SSR achieved in the years 2012–2018 – 30.5%; 2019 – 36,7% and in the year 2020 – 42%. In the Klinefelter syndrome group sperm was found in 8/47 subjects (17%). Complications: 3/396 (0.76%) scrotum hematomas requiring surgical intervention, 5/396 (1,26%) massive scrotum and penile ecchymosis, 3/396 (0.76%) secondary wound healing. Until January 1, 2021, m-TESE sperm were used in 132 IVF/ICSI procedures, 19 pregnancies were obtained after fresh mTESE and 23 from frozen sperm (42/132 – 31.8%). 27 children were born (including one twin pregnancy). Embryo transfer (ET) miscarriages: 5 after fresh ET and 6 after frozen ET. Four pregnancies still developing.

M-TESE, testicular biopsy using the operating microscope, increases the chance to find sperm in men with nonobstructive azoospermia, finally allows incorporated them into the reproduction protocol IVF/ICSI.

Kornelia Zareba

SEX LIFE OF HYPOGONADAL MEN

Department of Obstetrics and Gynecology, Center of Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland
e-mail: konelia3@poczta.onet.pl

The appropriate level of testosterone in adulthood influences the majority of the sex life aspects in men: dreaming and fantasizing about sex, sex drive, arousal, spontaneous erections, erections in the mechanism of sensory stimulation and the appropriate response to drugs used in sexology. Psychogenic erections are also partially due to the level of testosterone.

Hypogonadism occurs considerably more commonly due to the mechanism of body aging (LOH, late-onset hypogonadism) apart from the classic forms which result from the abnormal function of the testes, hypothalamus and the pituitary gland. It requires treatment not only because of the deteriorating quality of life, but also due to high mortality (almost 5.5-fold increase). In the long-term perspective it leads to osteoporosis, metabolic syndrome, insulin resistance, cognitive disorders, infertility and anemia. Sexologists also meet patients with hypogonadism resulting from body weight increase and prolonged exposure to stress. The most common symptoms reported by men with hypoandrogenism include: decreased libido (91%), energy loss (89%), erectile dysfunction (79%), somnolence in the afternoon (77%), and reduced physical endurance (66%).

The treatment of sexual disorders in hypogonadal men is a complex and individually-tailored task. It involves the introduction of lifestyle changes (reduction in alcohol consumption, smoking cessation, diet and physical activity influencing the vascular status), psychotherapy and pharmacological treatment. The first-line intervention should involve the correction of potentially-reversible causes. Pharmacological treatment consists both in the substitution of testosterone and stimulating the male gonad to produce testosterone, which is preferred by men trying to get offspring. Normal testosterone concentrations are achieved after 2–3 weeks of therapy. Its effect on the sexual function depends on the dose and differs in various individuals from 2 to 4.5 ng/mL. Inhibitors of phosphodiesterase type-5 (iPDE5) remain first-line treatment in patients reporting erectile dysfunction. Second-line treatment involves the local administration of prostaglandin E1 (PGE1) (alprostadil). Numerous studies confirmed the effectiveness of iPDE5 combined with testosterone in patients in whom monotherapy was unsuccessful (with the minimal treatment duration of 3 months). Concomitant diseases are another important aspect, especially in men with the diagnosis of LOH, as they may be a contraindication for the use of testosterone and require alternative therapeutic solutions. Sexual disorders may frequently result from depressive disorders and depression which may also be due to hypogonadism. The treatment should then include anti-depressive drugs with a negligible effect on libido, e.g. bupropion which influences the dopaminergic receptor and is used at a dose of 150 mg/day. In case of a marked anxiety component it is recommended to use medications such as agomelatine, bupropion and moclobemide. In many cases it is necessary to include psychotherapy, predominantly cognitive behavioral therapy.

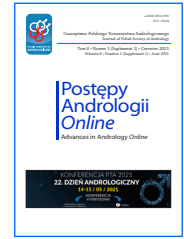


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



REKLAMA



VEGE



BEZ LAKTOZY



BEZ GLUTENU



SUPLEMENT DIETY

TENfertil™ ON

OPTYMALNE WSPARCIE PŁODNOŚCI



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

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

www.tenfertil.pl

www.nhinstitute.pl

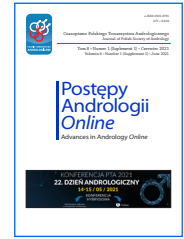


Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



Premiera!

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

RABAT

25%

Z KODEM
PZWL25



Patron medialny


ANDROLOGIA

ZDROWIE MĘŻCZYZNY
OD FIZJOLOGII DO PATOLOGII

redakcja naukowa
Jolanta Słowikowska-Hilczer



PZWL

 szukaj na pzwl.pl

Tu można złożyć zamówienie → PZWL Księgarnia Medyczna

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

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

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

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

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

Praktyczna księga postępowania diagnostycznego i terapeutycznego w zaburzeniach andrologicznych.

Ewa Rajpert-De Meyts, MD, PhD, DMSc

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

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

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

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

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

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

prof. Aleksander Giwercman

Uniwersytet w Lund, Malmö, Szwecja

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

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



SPIS TREŚCI

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

DIAGNOSTYKA ANDROLOGICZNA

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

NIEPŁODNOŚĆ

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

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

ZABURZENIA SEKSUALNE

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

INNE PROBLEMY ZDROWOTNE MĘŻCZYŹN W PRAKTYCE ANDROLOGICZNEJ

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

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

STARZENIE SIĘ MĘŻCZYZYN

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