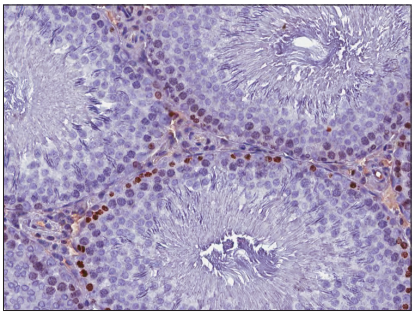
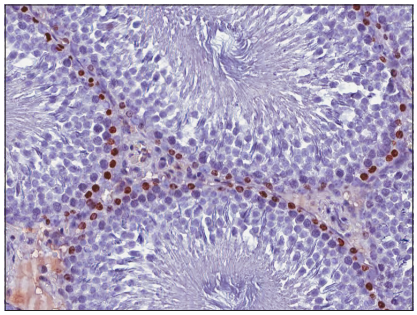
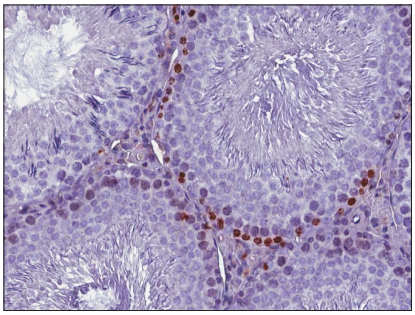
e-ISSN 2353-8791
ICV = 69,63

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology

Tom 8 • Numer 2 • Grudzień 2021
Volumin 8 • Number 2 • December 2021

Postępy Andrologii *Online*

Advances in Andrology *Online*

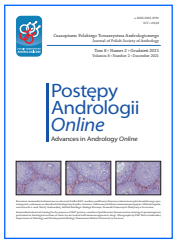
Barwienie immunohistochemiczne na obecność białka Ki67, markera proliferacji (brązowe zabarwienie jądra komórkowego spermatogonii), wykonane na skrawkach histologicznych jąder szczurów traktowanych lekami immunosupresyjnymi. Mikrofotografie autorstwa dr n. med. Marty Grabowskiej, Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie.

Immunohistochemical staining for the presence of Ki67 protein, a marker of proliferation (brown nucleus staining of spermatogonia), performed on histological sections of testis in rats treated with immunosuppressive drugs. Micrographs by PhD Marta Grabowska, Department of Histology and Developmental Biology, Pomeranian Medical University in Szczecin.

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology

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-Wołosiuk*, Szczecin

Skarbnik redakcji:
prof. dr hab. n. med. *Artur Wdowiak*, Lublin

Członkowie komitetu redakcyjnego:
dr n. med. **Szymon Bakalczuk**, Lublin
dr n. med. **Leszek Bergier**, Kraków
prof. dr hab. n. biol. **Barbara Bilińska**, Kraków
prof. dr hab. n. med. **Barbara Darewicz**, Białystok
Prof., MD, PhD **Aleksander Giwercman**, Malmö, Sweden
PhD **Yvonne Lundberg Giwercman**, Malmö, Sweden
Prof., PhD (UPE/NMMU) and PhD (US) **Gerhard Van der Horst**, Republika Południowej Afryki (Bellville, Republic of South Africa)
prof. dr hab. n. med. **Grzegorz Jakiel**, Warszawa
prof. dr hab. n. med. **Piotr Jędrzejczak**, Poznań
prof. dr hab. n. med. **Małgorzata Kotwicka**, Poznań
dr hab. n. med., prof. UMK **Roman Kotzbach**, Bydgoszcz
prof. dr hab. n. med. **Krzysztof Kula**, Łódź
prof. dr hab. n. med. **Maria Laszczyńska**, Szczecin
dr hab. n. med., prof. UMK **Grzegorz Ludwikowski**, Bydgoszcz
prof. dr hab. n. med. **Marek Mędraś**, Wrocław
MD, PhD, DMSc **Ewa Rajpert-De Meyts**, Kopenhaga, Dania (Copenhagen, Denmark)
dr n. med. **Aleksandra Robacha**, Łódź
dr n. med. **Maria Szarras-Czapnik**, Warszawa
dr n. med. **Renata Walczak-Jędrzejowska**, Łódź
lek. **Jan Karol Wolski**, Warszawa

Adres redakcji:
Zakład Histologii i Biologii Rozwoju
Wydział Nauk o Zdrowiu
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
71-210 Szczecin ul. Żołnierska 48
tel. 91 48 00 917, 91 48 00 908
e-mail: mpiasecka@ipartner.com.pl

Projekt graficzny:
Waldemar Jachimczak
Małgorzata Piasecka
Kamil Gill

Korekta języka polskiego:
Wojciech Markowski

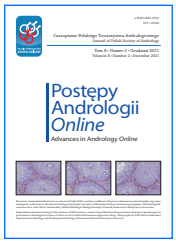
Korekta języka angielskiego:
Małgorzata Piasecka
Kamil Gill

Skład i łamanie:
Waldemar Jachimczak

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology

Postępy Andrologii *Online*
Advances in Andrology *Online*

http://www.postepyandrologii.pl



SPIS TREŚCI
CONTENTS

Tom 8
Volumin 8
Strony 1–28
Pages 1–28
Grudzień 2021
December 2021

O czasopiśmie / About Journal 4

Artykuły poglądowe / Review

Marzena Skrzypczak-Zielinska, Monika Fraczek
Next-generation sequencing analysis in male infertility diagnostics 6

Sylwia Szpak-Ulczok
Hiperprolaktynemia u mężczyzn – diagnostyka i leczenie
Hyperprolactinemia in men – diagnostics and treatment 16

Instrukcje dla autorów / Instructions for authors 23

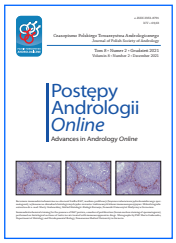
Recenzenci prac opublikowanych w 2021 r. / Reviewers in 2021 27

Reklama TENfertil™ ON 28

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology

Postępy Andrologii *Online*
Advances in Andrology *Online*

http://www.postepyandrologii.pl



Wersja elektroniczna czasopisma jest wersją pierwotną. Informacje zawarte w czasopiśmie są udostępniane na zasadzie *Open Access* – dostęp do informacji naukowej jest bezpłatny i nieograniczony.
The electronic version of the journal is a original version. Access to scientific information published in the journal is free and unlimited (Open Access).

O CZASOPIŚMIE
ABOUT THE JOURNAL

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

Celem czasopisma jest: 1) dostarczenie istotnych informacji na temat fizjologii i patologii męskiego układu płciowego, 2) propagowanie praktycznej wiedzy andrologicznej kierowanej do szerokich kręgów odbiorców, 3) wymiana poglądów i opinii na temat zagadnień klinicznych oraz wyników badań doświadczalnych oraz 4) przekazywanie informacji dotyczących konferencji i kursów o tematyce andrologicznej.

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

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

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

Małgorzata Piasecka
redaktor naczelny
Jolanta Słowikowska-Hilczer
wiceprzewodnicząca
Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Disorders of the male reproductive system relate to people of different ages and in most cases lead to infertility, which has already acquired a rank of a disease associated with the progress of civilization. The most frequently identified irregularities are hypogonadism, sexual dysfunction, genital malformations, testicular or prostate cancer. Due to the specific and increasingly polluted anthropogenic environment they concern mainly developed societies, including Poland, and are an important and growing medical, social, demographic and public health problem. A science that deals with the physiology and with disorders of the male reproductive system in terms of the basic and clinical science is andrology. As this is a young field of science, until recently an unsatisfactory state of knowledge limited the possibilities of the diagnostics and treatment of the disorders of the male reproductive system. However, in recent years there has been a very dynamic development of andrology, especially in the molecular aspect, due to the introduction of new methods of research in the field of biochemistry, biology and molecular genetics. Andrology is becoming an interdisciplinary field which integrates knowledge from various medical and scientific disciplines. Information related to these issues reach doctors and interested people in our country with difficulty, because there is few publications in Polish. Lectures given during conferences also do not always fully explain the doubts concerning diagnostic and therapeutic proceedings, recommendations or proposed algorithms. Hence, the need for a journal presenting the knowledge of andrology to the doctors of various specialties, laboratory diagnosticians and representatives of the basic science. The journal „Progress in Andrology *Online*" is an initiative of the Polish Society of Andrology, which is interested in the integration of people involved in different aspects of the male reproductive system, supplement and broadening their knowledge, as well as the improvement of health care for men in our country.

The aim of the journal is: 1) to provide relevant information about the physiology and pathology of the male reproductive system, 2) the promotion of practical andrological knowledge directed to broad audiences, 3) to exchange views and opinions on issues of clinical and experimental results, and 4) to provide information on conferences and courses on the subject of andrology.

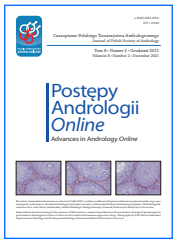
The proposed themes of the journal are: 1) clinical andrology including etiopathogenesis, diagnostics and treatment of developmental disorders, infertility and men's aging, 2) innovative diagnostic methods, 3) experimental andrology developing on the basis of the basic sciences and 4) other interdisciplinary topics related to the field of andrology.

The journal is directed to physicians with specialty directly or indirectly related to andrology, including urologists, endocrinologists, gynecologists, pediatricians, but also to family doctors facing the increasingly common problem of couple infertility and problems of aging men. Moreover, our intention is to get the interest of laboratory diagnosticians playing an important role in keeping the correct therapeutic proceedings, based on a broad panel of tests and studies. Their implementation still requires proper and comprehensive training in andrological diagnostics, including seminological one.

We hope that our magazine will also raise the interest of biologists dealing with the functions of the male reproductive system in the framework of basic sciences, as well as veterinarians and others who will find information expanding their knowledge and shaping opinion in the range of broad sciences of andrology. We encourage you to publish original papers, case reports and short announcements, as well as review papers, worked out in the concentrated, didactic and accessible form. In these articles authors should present the current state of the global knowledge as well as their own opinions. We want the journal to act as an informer and a guide in the field of andrology and become a forum for discussion. In addition, we invite you to publish articles that are translations of publications appearing in the English language, which present significant progress in andrology.

Małgorzata Piasecka
Editor in chief
Jolanta Słowikowska-Hilczer
Vice-president
of Polish Society of Andrology

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology
Postępy Andrologii *Online*
Advances in Andrology *Online*
http://www.postepyandrologii.pl



NEXT-GENERATION SEQUENCING ANALYSIS IN MALE INFERTILITY DIAGNOSTICS

Marzena Skrzypczak-Zielinska*, Monika Fraczek*

Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland

*Corresponding authors:
Marzena Skrzypczak-Zielinska, Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences,
str. Strzeszynska 32, 60–479 Poznan, Poland
tel.: +48 61 65 79 201, e-mail: marzena.skrzypczak-zielinska@igcz.poznan.pl

Monika Fraczek, Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences,
str. Strzeszynska 32, 60–479 Poznan, Poland
tel.: +48 61 6579 231, e-mail: monika.fraczek@igcz.poznan.pl

Otrzymano/received: 22.12.2021 r. • Zaakceptowano/accepted: 31.01.2022 r.

DOI: 10.26404/PAO_2353-8791.2021.06

Marzena Skrzypczak-Zielinska – PhD, DSc, graduated from Biotechnology at the University of Life Sciences in Poznan, Poland. After graduating, she was internship within the Leonardo da Vinci Programme at the Institute of Human Genetics of the Leipzig University, where she also finished her PhD study and received the doctor title of medical sciences. Since 2010, she has been an assistant professor at the Institute of Human Genetics Polish Academy of Sciences in Poznan, Poland. She authored and co-authored over 40 international scientific publications. Her research focuses on human molecular genetics, pharmacogenetics, and microbiota analysis. Membership in organizations: Polish Society of Human Genetics, Polish College of Laboratory Medicine, and National Chamber of Laboratory Diagnosticians.

Abstract

Genetic analyses are essential in determining the causes of reproductive failure in couples. Currently, hereditary factors are considered responsible for at least 15% of male infertility cases. Karyotype analysis, along with Y-chromosome microdeletion screening and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene mutation testing, has become the standard. Chromosome aberrations occur in 7% of infertile men, 30 times more frequently than in the general population. The cause of male infertility is also microdeletions of the Y chromosome or aberrations and mutations of genes responsible for male sexual development, e.g., located in the Yp11.2 region, and *CFTR* gene mutations analysis is performed by patients with bilateral absence or obstruction of the vas deferens. However,

Access to articles is based on the License Creative Commons BY NC ND 3.0 Polska:
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.pl

in recent years, modern technologies have significantly increased the possibilities of genetics in diagnosing male infertility. Next-generation sequencing (NGS) is one of them. It has many applications depending on the size and type of the analyzed sequence of genetic material. In this article, we provide an overview of different next-generation sequencing applications, i.e., whole-genome sequencing (WGS), whole exome sequencing (WES), gene panel (targeted) sequencing, RNA sequencing (RNA-Seq), epigenome sequencing as well as metagenomic analysis of semen microbiota, in male infertility research and diagnostics. Through NGS studies, increased diagnostic efficiency is observed, especially in men with nonobstructive azoospermia and idiopathic infertility, where the cause of the disorder is a rare gene variant. Currently, the barrier to introducing next-generation sequencing into the routine diagnosis of male infertility is primarily the amount of data generated and problems with their interpretation, and the indication of clinically relevant gene mutations. An obstacle to developing the next-generation sequencing gene panel is the many genes involved and the participation of rare variants in spermatogenesis. Nevertheless, we expect next-generation sequencing analyses to be the future of broadly understood molecular and genetic diagnostics in infertility research. Shortly, they will probably completely replace the existing standard tools.
Keywords: male infertility, next generation sequencing (NGS), genetics, semen, microbiota

Skróty / Abbreviations

AR – androgen receptor gene; *AURKC* – aurora kinase C gene; AZF – azoospermia factor; CBAVD – congenital bilateral absence of the vas deferens; CF – cystic fibrosis; *CFTR* – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene; CNVs – copy number variations; *DMRT1* – doublesex and mab-3 related transcription factor-1; *DPY19L2* – Dpy-19 like 2; *FSHB* – follicle-stimulating hormone subunit beta gene; *FSHR* – follicle-stimulating hormone receptor gene; GWAS – genome-wide association studies; *KAL1* – Kallmann syndrome 1 gene; *KLHL10* – kelch-like family member 10 gene; lncRNA – long non-coding RNA; miRNAs – microRNA; mRNA – messenger RNA; *NANOS1* – nanos C2HC-type zinc finger 1 gene; NGS – next-generation sequencing; *NR5A1* – nuclear receptor subfamily 5 group A member 1 gene; PCR – polymerase chain reaction; PGD – preimplantation genetic diagnostics; piRNA – piwi-interacting RNA; rRNA – ribosomal RNA; *SEPT12* – septin 12 gene; siRNA – small-interfering RNA; SNVs – single nucleotide variants; SRY – sex determining region Y; *SYCP3* – synaptonemal complex protein 3 gene; *TEX11* – testis expressed 11 gene; tRNA – transfer RNA; VUS – variants of uncertain significance; WES – whole exome sequencing; WGS – whole genome sequencing

Introduction

In about half of the cases, the reproductive failure of couples is of male origin. Male subfertility/infertility is due to abnormalities in spermatogenesis leading to one or a combination of low sperm count, poor sperm motility, or abnormal morphology. The etiology of these various pathological semen phenotypes is multifactorial and still not fully understood. Currently, genetic factors are detected in approximately 10-15% of male infertile patients (*Ambulkar et al.*, 2014). However, it can be seen, as molecular biology advances, and new techniques are developed, that genetic analysis becomes more and more important in explaining the causes of male infertility. Modern technologies open up new fields of research in diagnostics. Next-generation sequencing (NGS) is one such technology, which has revolutionized nearly every area of biotechnology and medicine. NGS supports detection and understanding of genomics variations, disease mechanisms, and immunity through numerous applications and the resulting data, which helps develop better diagnostics and therapy. What are the benefits of NGS in the diagnosis of male infertility? What applications of the NGS technique are used in this field? What was the genetic diagnostic of male infertility before the NGS era, and what can we expect soon? This paper aims to answer the above questions and provide an overview of NGS analysis in male infertility research.

Male infertility genetic diagnostics before the NGS era

So far, routinely applied genetic tests for diagnostic purposes of male infertility include primarily karyotyping, Y-chromosome microdeletion screening, and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene mutation testing. Detailed genetic diagnostic scheme in male infertility is presented in Figure 1. Procedures for those tests are officially approved and unified in guidelines of the European Association of Urology, American Urologic Association, and American Society of Reproductive Medicine (*Jungwirth et al.*, 2019; *Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine*, 2015; *Schlegel et al.*, 2021).

Karyotyping

In infertile men, the assessment of karyotype aberrations was started in 1966 and after G-banding modification remains a standard to date (*Van Assche et al.*, 1996) (Figure 2). A survey of pooled data from eleven publications, including 9,766 infertile men, demonstrated the presence of chromosome aberrations in 5.8% (*Johnson*, 1998). Some results indicate those karyotype aberrations occur with an even higher frequency of about 7–8% among infertile men, which is 20–30-times more

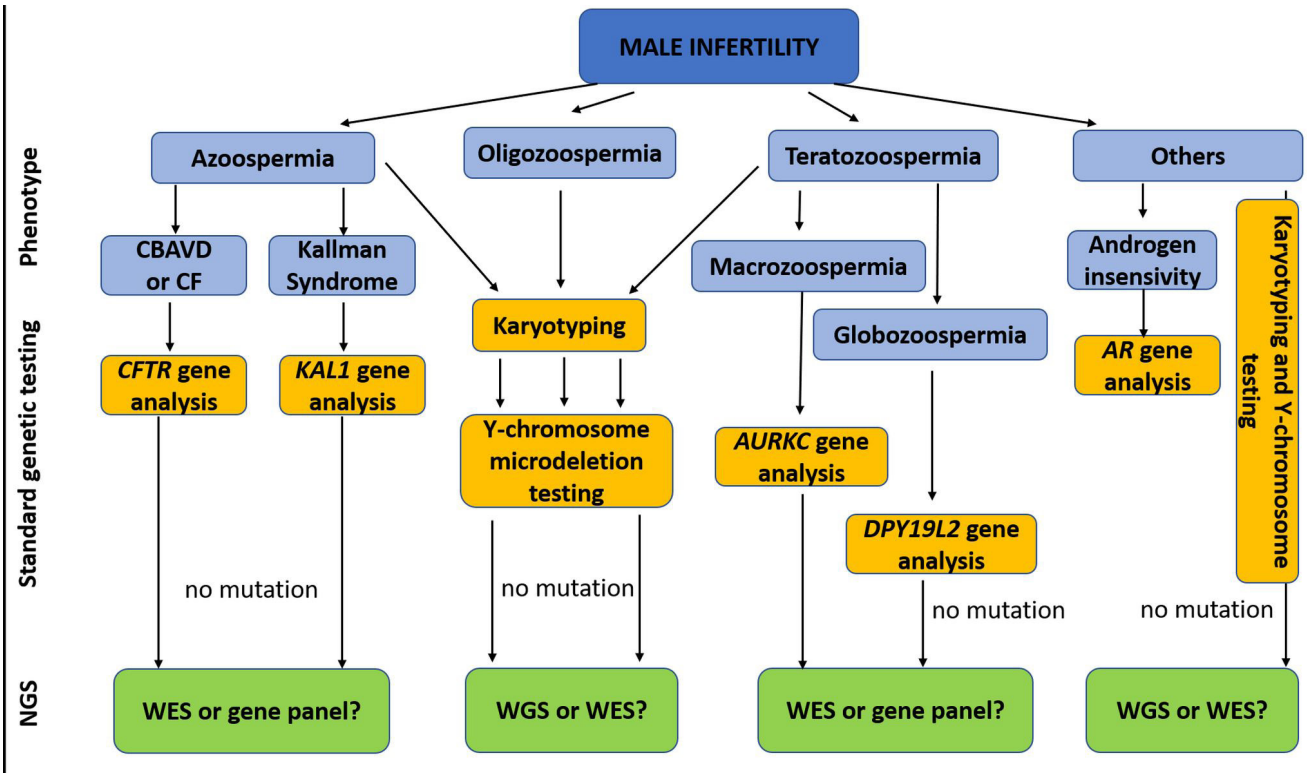


Fig. 1. Male infertility genetic diagnostics scheme in pre- and NGS time. *AR* – androgen receptor gene; *AURKC* – aurora kinase C gene; CBAVD – congenital bilateral absence of the vas deferens; CF – cystic fibrosis; *CFTR* – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene; *DPY19L2* – Dpy-19 like 2; *KAL1* - Kallmann syndrome 1 gene; NGS – next-generation sequencing; WES – whole exome sequencing; WGS – whole genome sequencing (details in the text)

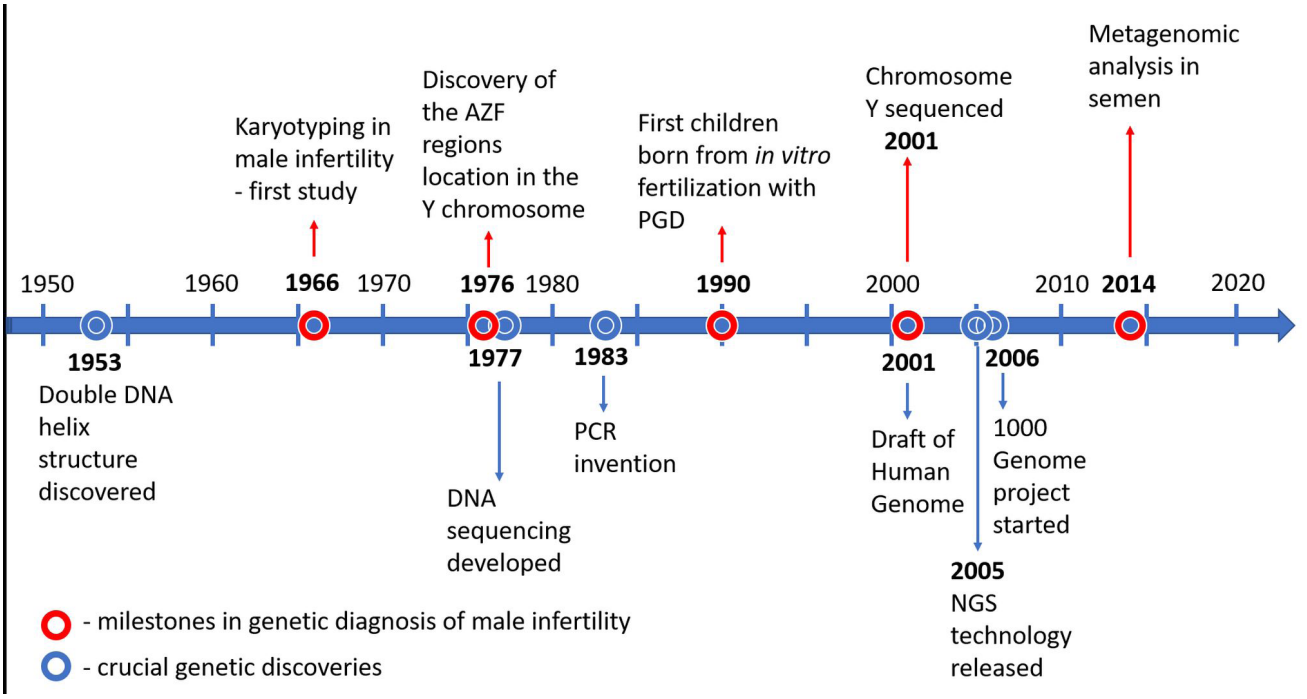


Fig. 2. The main discoveries over time influencing the improvement of genetic diagnosis of male infertility. AZF – azoospermia factor; NGS – next-generation sequencing; PCR – polymerase chain reaction; PGD – preimplantation genetic diagnostics

frequently than in the general population (*Ravel et al.*, 2006). Chromosome abnormalities are divided into numerical or structural and can affect both autosomes (accounted for 4.2%) and sex chromosomes (for 1.5%) (*Krausz et al.*, 2015). The most commonly detected chromosomal defect in infertile men with nonobstructive azoospermia is Klinefelter syndrome, which contains an aberrant supernumerary X chromosome 47,XXY in the karyotype 80–90% of cases and its variants like mosaic 47,XXY/46,XY. The remaining Klinefelter syndrome patients have karyotype 48,XXXY, 48,XXYY (*Bojesen et al.*, 2003). Another sex chromosome aberration

is 46,XX male syndrome, known as de la Chappelle syndrome, occurring when Y chromosomal material with the sex-determining region Y (*SRY*) gene is translocated onto another, usually autosomal, chromosome. Karyotyping also enables the detection of balanced or unbalanced translocations, insertions, deletions, and inversions. It is worth emphasizing that balanced structural chromosomal aberrations (inversions and translocations) are more common in infertile men with oligozoospermia (*Krausz* and *Riera-Escamilla*, 2018). On the other hand, the conventional karyotyping is very laborious and has a significant limitation, relatively poor resolution, which enables the detection of aberration larger than five megabases (Mb) (*Van Assche et al.*, 1996; *Pelzman* and *Hwang*, 2021).

Y-chromosome microdeletion testing

The discovery of the polymerase chain reaction (PCR) technique in 1983 and location of factors controlling spermatogenesis allowed the extension of genetic diagnostics in male infertility by Y chromosome microdeletions analysis (Figure 2). The defect in azoospermia factor (CBAVD – congenital bilateral absence of the vas deferens) regions containing three *loci*: AZFa, AZFb, and AZFc occurs in 3% to 15% of men with non-obstructive azoospermia and in 6% to 8% of severely oligozoospermic men depending on the patient selection criteria and technique used, where heterogeneous AZFc region deletions are the most common (*Abur et al.*, 2019; *Gunes* and *Esteves*, 2021). Y chromosome microdeletions rate in the general population is 0.025%. According to the European Academy of Andrology and European Molecular Genetics Quality Network guidelines, the screening of Y-chromosome microdeletions should include multiplex PCR to analyze two sequence-tagged sites *loci* in each region of the AZFa, AZFb, and AZFc regions (*Krausz et al.*, 2014). The recommended primer sets contain sY14 (SRY), ZFX/ZFY, sY84 and sY86 (AZFa), sY127 and sY134 (AZFb), and sY254 and sY255 (AZFc). The molecular diagnosis using these methodology enables the detection of over 95% of the deletions sufficient for routine screening (*Krausz et al.*, 2014).

CFTR gene mutation testing

The third part of standard genetics tests in male infertility refers to patients with bilateral absence or obstruction of the vas deferens and checking for mutations in the *CFTR* gene located in chromosome 7 (7q31.2). CBAVD accounts for 2–6% of male infertility individuals and up to 25% of patients of obstructive azoospermia (*Cui et al.*, 2020). *CFTR* gene variants also lead to the onset of cystic fibrosis (CF). The most common mutation of this gene is p.F508del which results in impaired folding and trafficking of the encoded protein. The frequency of deletion p.F508 in patients with CBAVD in Europe ranges from 35 to 74.6%, depending on the population (*Cui et al.*, 2020). The *CFTR* gene is relatively large, consisting of 24 exons (OMIM 602421); hence sequence analysis is often performed in stages or using screening methods. A faster alternative is to use targeted sequencing with NGS technology, as described in a separate section of this manuscript.

From the observations so far it appears that complete diagnostic work-up (including also genetic testing) provides an explanation of the causes of male infertility in about 60% up to 72% of primary testicular failure cases (*Krausz et al.*, 2015; *Kothandaraman et al.*, 2016; *Cannarella et al.*, 2019). In other words, in the rest 40% of the patients, the etiology remains unknown and is referred to as idiopathic infertility. Therefore, numerous patients do not know the underlying cause of their disease. According to the data described below, the detection of genetic factors can be increased using high-throughput techniques for DNA and RNA analysis. Such techniques include NGS and are most relevant to patients with severe azoospermia possessing rare gene mutations.

Next generation sequencing (NGS)

The first available NGS technology was released in 2005 and is based on the pyrosequencing method. Four other NGS methodologies were developed within the next five years that took over the market (*Van Dijk et al.*, 2014). NGS-based approaches have also quickly gained broad applicability in medicine, from genetic diagnosis and disease networks to drug discovery and pharmacogenomics (*Chaitankar et al.*, 2016).

Recent reports based on studies using the NGS method showed that the human genome is 200 000 base pairs longer than the first human genome sequencing data 20 years ago. This achievement was possible due to the current technological possibilities, which fill gaps in the genome reading containing challenged sequences, such as repeat-rich telomeres. The Telomere-to-Telomere (T2T) Consortium comprising 30 institutions indicated that the human genome is just over 3.2 billion base pairs, and they discovered about 115 new genes (*Reardon*, 2021). The most extensive NGS equipment can sequence this amount of DNA in about one day instead of 13 years as it was the case in the first human genome sequencing (started on October 1, 1990, and completed in April 2003; Figure 2). Also, the cost has sharply decreased over the 20 years from about $ 100 million to just about $ 1,000 (data from the *National Human Genome Research Institute*, https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data). However, diagnostics will certainly not be used for a long time from genome-wide analysis due to the amount of data generated and the requirement of enormous computing power resources

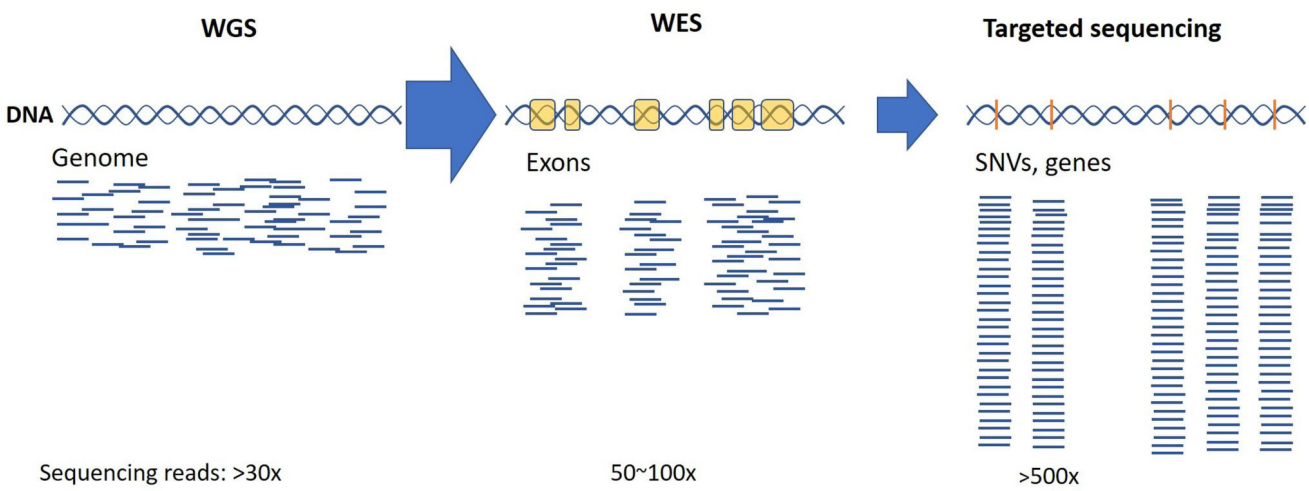


Fig. 3. Next-generation sequencing main applications. SNVs – single nucleotide variants; WES – whole exome sequencing; WGS – whole genome sequencing (details in the text)

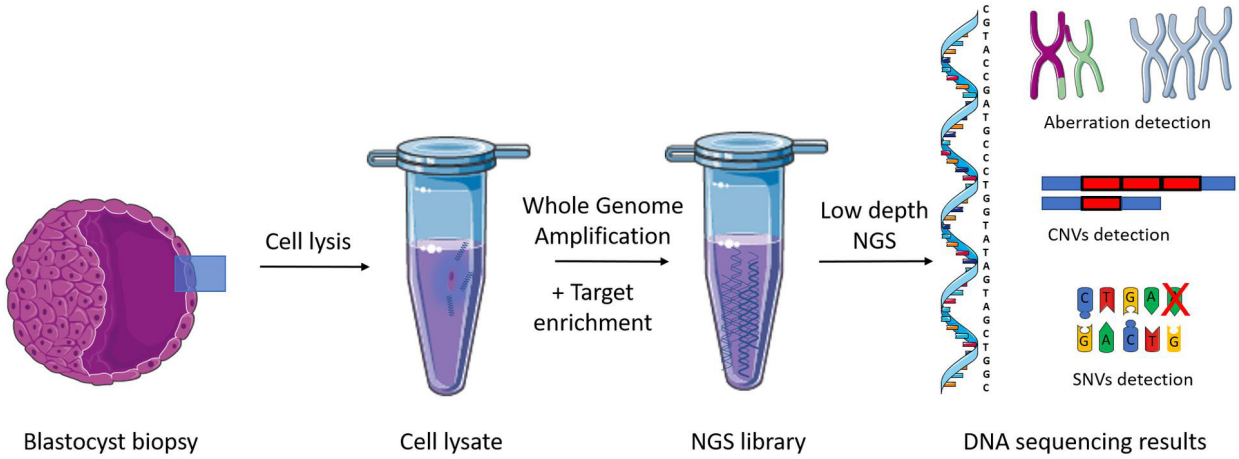


Fig. 4. Preimplantation genetic testing using NGS. CNVs – copy number variations; NGS – next-generation sequencing; SNVs – single nucleotide variants (details in the text)

for their analysis and interpretation. Genetic diagnostics with the use of NGS is limited to selected more functionally informative elements of the human genome like protein-coding regions (exome), which is called whole exome sequencing (WES), or sequences of selected genes (targeted sequencing). Narrowing down the sequencing target allows for more readings exclusively for regions of interest (*loci*) (Figure 3).

Whole genome sequencing in male infertility

Currently, the sequencing of entire genomes is most often used in scientific research for genome-wide association studies (GWAS) to select genes and single nucleotide variants (SNVs) that significantly differentiate a group of patients from healthy people. This NGS application has enormous clinical potential to indicate the possible genetic cause of the occurrence of a given phenotype, in this case, male fertility disorder, without a prior hypothesis of genomic location (*Aston*, 2014). From a genetic point of view, it can be concluded that NGS, due to its high potential to discover unknown gene variants, its flexibility, and no need for reference material, is replacing the earlier microarray technique. Microarrays are based on the DNA hybridization property and have been used in male infertility research since 2009 (*Aston* and *Carrell*, 2009, *Aston et al.*, 2010, *Hu et al.*, 2012) whereas the GWAS in male infertility with NGS was first published in 2013 (*Xu et al.*, 2013). It is challenging to discuss the obtained results in detail because of a large amount and diversity of the observed correlations. However, overall, the data obtained in the GWAS studies mentioned above indicated an association from several (*Xu et al.*, 2013, *Hu et al.*, 2012) to over 170 *loci* connected with azoospermia or oligospermia (*Aston et al.*, 2010); and in all the studies, there is an indication to verify these results in further investigations on large groups of patients. For this purpose, e.g., targeted sequencing can be used by constructing a panel of genes at a pre-diagnostic stage.

Another essential aspect of whole-genome sequencing (WGS) is its use for karyotyping. NGS could combine the reading of the entire nucleotide sequence with a resolution of 1 base pair with quantification of DNA material, i.e., numerical aberration of chromosomes. The research shows that the low-coverage WGS can also reliably detect balanced translocations and precisely map breakpoints compared with conventional procedures. Therefore, WGS and other NGS applications can replace cytogenetic methods in analyzing chromosomal aberrations, including the diagnosis of clinically balanced translocation carriers (*Liang et al.*, 2017). An example of a karyotype assessment with the use of NGS in terms of infertility is preimplantation genetic diagnostics (PGD) as part of the *in vitro* procedure to reduce the risk of severe chromosomal defects in the embryo (before a transfer) and in the detection of monogenic diseases and disorders related to the occurrence of translocation in the offspring (*Łukaszuk et al.*, 2015; *Fiorentino et al.*, 2014) (Figure 4). Currently, PGD research aims to validate the sensitivity of the NGS methodology concerning cytogenic methods, like the detection of chromosomal aneuploidies and mosaicism degree in preimplantation embryos. *García-Pascual* and co-workers (*García-Pascual et al.*, 2020) demonstrated that specificity and sensitivity for preimplantation genetic testing for aneuploidy were both 100% for whole chromosomes, segments (≥10 Mb), small rearrangements (del/dup ≥a6 Mb), and mosaicism degree, wherein the thresholds established for mosaicism were: euploid embryos (<30% aneuploidy), low mosaic (from 30% to <50%), high mosaic (50–70%) or aneuploid (>70%). In the future, NGS can be also promising approach towards a non-invasive preimplantation genetic testing of aneuploidy in the embryonic cell free DNA released to the culture media at blastocyst stage (*Rubio et al.*, 2019).

Whole exome sequencing in male infertility

Whole-exome sequencing is a widely used NGS method for genetic studies, primarily for disease gene identification and clinical diagnosis that involves capturing and sequencing only the protein-coding regions (the exomes) of the genome. The human exome represents less than 2% of the genome but contains about 85% of known disease-related variants, making this application more economical compared to whole-genome sequencing (*Choi et al.*, 2009). Therefore, WES enables the effective identification of coding variants and splice site variants.

This analysis is especially justified in nonobstructive azoospermia or severe oligozoospermia patients who have undergone numerous laboratory tests and are still idiopathic. *Fakhro* and co-workers (*Fakhro et al.*, 2018) observed that the WES analysis explains the genetic etiology in a significant part of these patients (>50% in the family and >10% sporadic). The results of WES research on a large cohort of 285 males with severe oligospermia and nonobstructive azoospermia, in 10.5% (n = 30) confirmed chromosomal aberrations while 24.2% (n = 69) of the cases had a potential monogenic form of male infertility. Therefore, the authors concluded, that the standard approach to male infertility using cytogenetic karyotyping and chromosome Y microdeletion testing overlooked the significant contribution of monogenic causes of male infertility. Moreover, they added 33 novel candidate genes to the list of about 400 plausible causal genes of male infertility (*Alhathal et al.*, 2020). It is worth emphasizing that the WES, like the WGS, provides an opportunity to simultaneously detect SNVs, copy number variations (CNVs) and chromosomal aberration. The identification of rare variants in various genes underlying male infertility, on the one hand, presents problems in the development of an effective diagnostic scheme, and on the other hand, proves the benefits and effectiveness of WES. On the contrary, the disadvantage of this NGS application is the possibility of finding additional gene defects unrelated to infertility, such as cancer predisposition or early-onset neurodegenerative disease. Hence, very importantly, the implementation of WES and WGS also should always be prudent and preceded by genetic counseling (*Ghieh et al.*, 2021).

Panel gene (targeted) sequencing in male infertility

Next generation sequencing, apart from extensive genomic analyses, also offers applications for the analysis of selected DNA fragments, e.g. important genes or gene regions associated or probably associated with a disease or phenotype. Panel gene sequencing (called targeted sequencing) is dedicated especially to the diagnostic purposes or to the second stage (after WGS or WES) of research on various diseases. In the laboratory procedure for the preparation of genetic material for sequencing, a sample enrichment step is required, in which the PCR amplification of the target gene sequences is performed. The scheme of the procedure is shown in Figure 5, which in practice takes an average of a few days in a laboratory, depending on the number of targeted genes and the number of analyzed samples.

Nearly 2,300 genes are believed to be involved in spermatogenesis (*Krausz* and *Riera-Escamilla*, 2018). Knowledge in this area is constantly expanding. *Cannarella* and co-authors presented a broad list of the most critical genes responsible for spermatogenic failure with their detailed descriptions. They also proposed a phenotype-based approach taking into account flagella abnormalities, macrozoospermia, acephalic spermatozoa, globozoospermia, oligozoospermia, oligoasthenozoospermia, asthenozoospermia, nonobstructive azoospermia, and oligoasthenoteratozoospermia

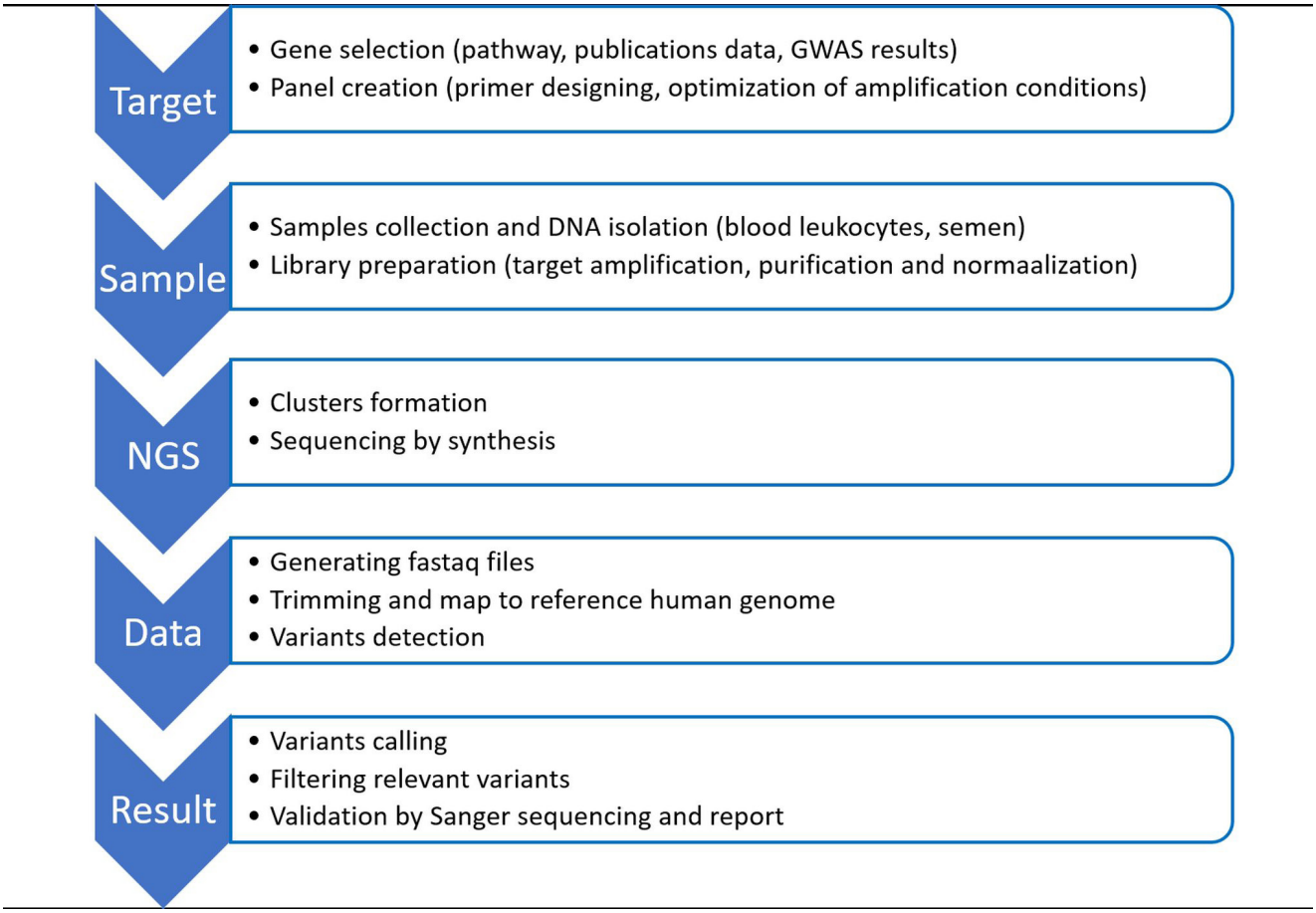


Fig. 5. Targeted sequencing workflow and bioinformatic pipeline. GWAS – genome-wide association studies; NGS – next-generation sequencing (details in the text)

to identify targeted genes (*Cannarella et al.*, 2019). After careful analysis of the data in the literature, the authors argue that only part of this enormous group of genes, numbering about 60, is responsible for spermatogenesis failures. These are their proposals for a panel that needs to be tested on a large group of azoospermia and severe oligozoospermia patients to verify this choice (*Cannarella et al.*, 2019). In contrast, recently, in another review, a list of 38 candidate genes involved in monogenic causes of human nonobstructive azoospermia was compiled. The authors classified and described these genes according to the related testicular histology underlying the non-obstructive azoospermic phenotype (*Cioppi et al.*, 2021). Based on the list presented in the review by *Cannarella* and co-workers (*Cannarella et al.*, 2019), the pre-diagnostic gene panel was constructed in practice and contained 65 genes (*Precone et al.*, 2021). In this research, variants of potential causative importance (two pathogenic, three variants of uncertain significance (VUS), and three variants with high impact) were identified in 10 out of 12 infertile patients (83%). Interestingly, almost half of those variants belong to the cytoplasmic dynein genes. However, this study has serious limitations due to a very small group of patients (*Precone et al.*, 2021).

In research, in a cohort of 241 infertile idiopathic males with a negative result in standard genetic testing, a panel of the following nine genes were analyzed: androgen receptor (*AR*), follicle-stimulating hormone receptor (*FSHR*), follicle-stimulating hormone subunit beta (*FSHB*), kelch-like family member 10 (*KLHL10*), nuclear receptor subfamily 5 group A member 1 (*NR5A1*), nanos C2HC-type zinc finger 1 (*NANOS1*), septin 12 (*SEPT12*), synaptonemal complex protein 3 (*SYCP3*) and testis expressed 11 (*TEX11*). The authors identified 19 missense variants in 23 patients, constituting nearly 10% of the study group. Five identified variants (26.3%, 5/19) were classified as likely benign, two (10.5%, 2/19) as benign, eleven (57.9%, 11/19) as VUS, and one variant (5.3%, 1/19) as pathogenic (*Rocca et al.*, 2020). The results are deliberately referred to as potential variants of male infertility due to the difficulty in interpreting new genetic changes. The causal mutation ratio in earlier studies of *NR5A1*, doublesex and mab-3 related transcription factor-1 (*DMRT1*), and *TEX11* genes sequencing in 80 azoospermic patients increased from 5% in standard diagnostics testing up to 25% (*Tüttelmann et al.*, 2018). The data obtained justify the utility of applying panel gene sequencing for infertility diagnosis to find new genetic variants potentially linked to male infertility.

It is difficult to predict how much the yield of genetic testing will increase for the different male infertility phenotypes. However, it is realistic to expect the overall

diagnostic efficiency, independently of subtypes of male infertility, will rise from the current 4% (*Tüttelmann et al.*, 2018) to more than 10% in the coming few years, as *Oud* and co-authors announced (*Oud et al.*, 2019). The consensus of European Society of Human Genetics and the European Society for Human Reproduction and Embryology includes an opinion that NGS gene panels may soon become a useful tool for the identification of additional causes of male infertility, and thus improve genetic- and reproductive counselling, facilitate patient stratification and therefore enable more precise assisted reproductive technology approaches (*Harper et al.*, 2018). It should be borne in mind that knowledge in this field is still at the stage of discovery and verification, which genes can actually be the source of frequent mutations and constitute a potential marker of male infertility.

At the end of this subsection, it is worth noting that targeted sequencing also provides a valuable tool to uncover the structural variability of highly dynamic regions of the human genome, such as the Y chromosome. According to recent research on semen samples from 222 infertile patients with abnormal semen parameters, after standard diagnosis, the Y chromosome structural variations in 31.88% of the cases have been overlooked (*Liu et al.*, 2021). The NGS method can replace the standard Y chromosome testing and enables the detection of new CNVs; nevertheless, its clinical significance remains often unknown.

RNA sequencing and epigenetics analysis in male infertility

RNA-sequencing (RNA-Seq) with NGS is becoming a common tool for transcriptome profiling. A transcriptome is a complete set of transcripts at a given time in analyzed cells, containing the messenger RNA (mRNA), long non-coding RNAs (lncRNA), and small RNAs including microRNA (miRNA), small-interfering RNA (siRNA), transfer RNA (tRNA), ribosomal RNA (rRNA) and piwi-interacting RNA (piRNA). The RNA-Seq provides comprehensive information on the quantitative level of individual genes and structural changes in the transcriptome, including the gene fusions and alternative splicing (*Wang et al.*, 2009). MiRNA molecules are profusely abundant in the seminal plasma of men and participate in the control of each stage of male germ cell differentiation during spermatogenesis (*Kotaja*, 2014). Therefore, the expression of various RNA molecules could be helpful as potential biomarkers of male infertility (*Barceló et al.*, 2018).

Previous scientific results of broad studies using RNA-Seq demonstrated significant differences in spermatic miRNA expression profiles correlated with sperm DNA fragmentation index (*Li et al.*, 2020) or the occurrence of azoospermia (*Tang et al.*, 2018; *Cheung et al.*, 2019). A very advanced study of the transcriptome with the co-expression analysis of various types of RNA particles conducted on 25 patients with asthenozoospermia and 25 male normal healthy individuals indicated lncRNA-mRNA-miRNA regulation networks that may be involved in the pathological mechanisms of asthenozoospermia (*Lu et al.*, 2020). However, relatively few of these experiments in male infertility research have been described.

It is worth noting that the regulation of transcription belongs to important epigenetic mechanisms after DNA methylation, remodeling of chromatin, and histone tail modifications. Epigenetic biomarkers, which can incorporate information from the genetic background, lifestyle, and environmental factors, are extremely interesting and potentially crucial in elucidating the cause of idiopathic male infertility (*Gunes* and *Esteves*, 2021). Available epigenetic studies in male infertility mainly concern human sperm DNA methylome analysis because DNA methylation is a heritable epigenetic modification of cytosine residues within CpG dinucleotides and less frequently of adenine residues in non-CpG sites. This pattern is determined using bisulfite conversion sequencing, which can be done as target enrichment or whole-genome bisulfite sequencing. This approach makes it possible to evaluate, e.g., the DNA methylation profile of human sperm during aging. *Cao* and co-authors observed thousands of age-related and sperm-specific epigenetic alterations in their investigation. These findings show massive human sperm DNA methylation dynamics during paternal aging, which can subsequently affect genes potentially related to diseases in offspring (*Cao et al.*, 2020). From a laboratory perspective, global analysis of methylation profile in sperm is challenging, as many external factors can distort the results. However, it may help identify modifiable risk causes of male infertility in the future.

Semen microbiota in male infertility

The diagnosis of infertility uses the NGS also for the characteristics of the microbiome of the reproductive system. As the human body contains more microbes than human cells, the microbiome (the 'second human genome') has a vast potential to influence human physiology (*Tsonis et al.*, 2021). To date, the use of NGS supports the explanation of the functional, quantitative, and mechanical aspects of the complex microorganism-host interactions, particularly those concerning the gut microbiome. Bacterial identification methods performed in previous studies were either PCR-based or culture methods. NGS metagenomic analysis based on bacterial 16S rRNA gene sequencing revolutionized microbiome research. A significant advantage of NGS over traditional methods is that it enables the detection and classification of all microorganisms according to taxa down to the species level. This technology has changed the knowledge of the percentage of microbiota, as it also detects and characterizes taxa that are uncultured

in vitro (they do not survive outside the host organism). It is particularly surprising that quantitatively as many as 97% of the microorganisms of the semen microbiota are uncultured or unknown species (unpublished own research). 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 (*Chen et al.*, 2018; *Baud et al.*, 2019, *Altmäe et al.*, 2019).

The first analysis approach using NGS technology to investigate the associations between bacterial communities and semen quality was performed in 2014 for 96 semen samples (*Weng et al.*, 2014). The results showed that the most abundant genera among all the samples were *Lactobacillus* (19.9%), *Pseudomonas* (9.85%), *Prevotella* (8.51%), and *Gardnerella* (4.21%). The proportion of *Lactobacillus* and *Gardnerella* was significantly higher in the normal samples. At the same time, *Prevotella* abundance was significantly higher in the low-quality semen samples. An indication of a particular species of bacteria impacting sperm function may facilitate the development of new therapies (e.g., probiotics). However, the current data are often not repetitive, inconclusive, and concern small groups of patients. Therefore more research is needed (*Farahani et al.*, 2021).

Final remarks

The implementation of NGS analysis in male infertility diagnostics is currently the subject of intense debate. This technology offers many benefits, opens up new possibilities, and makes diagnostics more effective, but on the other hand, there are barriers to its introduction into everyday practice. This technology, through improvements, enables not only reading the sequence of genetic material and the detection of SNVs but also quantification to detect CNVs and chromosomal aberrations, including balanced translocations. The standard approach to male infertility using classical karyotyping and chromosome Y microdeletion testing overlooks the monogenic causes of male infertility. WGS and other NGS applications will probably soon replace cytogenetic methods in analyzing chromosomal aberrations by raising the resolution and enriching diagnostics to detect rare point variants underlying male infertility. A barrier against this breakthrough is generating a lot of data in NGS, which needs enormous computing power resources and experienced bioinformatics staff. NGS panel genes seem to be a solution to this problem; however, there are no selected genes that can be used diagnostically. The clinical significance of many detected variants often remains unknown. In approximately 40% of male patients, the etiology of reproduction failure remains undetermined. NGS research also in sperm epigenetics and microbiota may significantly contribute to explaining the cause of idiopathic male infertility.

References

Abur U., Gunes S., Ascı R., Altundag E., Akar O.S., Ayas B. et al.: Chromosomal and Y-chromosome microdeletion analysis in 1,300 infertile males and the fertility outcome of patients with AZFc microdeletions. Andrologia. 2019, 51, e13402. doi: 10.1111/and.13402. PMID: 31650616.

Alhathal N., Maddirevula S., Coskun S., Alali H., Assoum M., Morris T. et al.: A genomics approach to male infertility. Genet Med. 2020, 22, 1967–1975. doi.org/10.1038/s41436-020-0916-0. PMID: 32719396.

Ambulkar P.S., Sigh R., Reddy M., Varma P.S., Gupta D.O., Shende M.R. et al.: Genetic risk of azoospermia factor (AZF) microdeletions in idiopathic cases of azoospermia and oligozoospermia in central indian population. J Clin Diagn Res. 2014, 8, 88–91. doi:10.7860/JCDR/2014/7680.4116. PMID: 24783090.

Altmäe S., Franasiak J.M., Mändar R.: The seminal microbiome in health and disease. Nat Rev Urol. 2019, 16, 703–721. doi: 10.1038/s41585-019-0250-y. PMID: 31732723.

Aston K.I.: Genetic susceptibility to male infertility: news from genome-wide association studies. Andrology. 2014, 2, 315–321. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00188.x. PMID: 24574159.

Aston K.I., Carrell D.T.: Genome-wide study of single-nucleotide polymorphisms associated with azoospermia and severe oligozoospermia. J Androl. 2009, 30, 711–725. doi: 10.2164/jandrol.109.007971. PMID: 19478329.

Aston K.I., Krausz C., Laface I., Ruiz-Castane E., Carrell D.T.: Evaluation of 172 candidate polymorphisms for association with oligozoospermia or azoospermia in a large cohort of men of European descent. Hum Reprod. 2010, 25, 1383–1397. doi: 10.1093/humrep/deq081. PMID: 20378615

Barceló M., Mata A., Bassas L., Larriba S.: Exosomal microRNAs in seminal plasma are markers of the origin of azoospermia and can predict the presence of sperm in testicular tissue. Hum Reprod. 2018, 33, 1087–1098. doi: 10.1093/humrep/dey072. PMID: 29635626.

Baud D., Pattaroni C., Vulliemoz N., Castella V., Marsland B.J., Stojanov M.: Sperm microbiota and its impact on semen parameters. Front Microbiol. 2019, 10, e234. doi: 10.3389/fmicb.2019.00234. PMID: 30809218.

Bojesen A., Juul S., Gravholt C.H.: Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome: a national registry study. J Clin Endocrinol Metab. 2003, 88, 622–626. doi: 10.1210/jc.2002-021491. PMID: 12574191.

Cao M., Shao X., Chan P., Cheung W., Kwan T., Pastinen T.B. et al.: High-resolution analyses of human sperm dynamic methylome reveal thousands of novel age-related epigenetic alterations. Clin Epigenetics. 2020, 12, 192. doi: 10.1186/s13148-020-00988-1. PMID: 3331763.

Cannarella R., Condorelli R.A., Duca Y., La Vignera S., Calogero A.E.: New insights into the genetics of spermatogenic failure: a review of the literature. Hum Genet. 2019, 138, 125–140. doi: 10.1007/s00439-019-01974-1. PMID: 30656449.

Chaitankar V., Karakülah G., Ratnapriya R., Giuste F.O., Brooks M.J., Swaroop A.: Next generation sequencing technology and genome wide data analysis: Perspectives for retinal research. Prog Retin Eye Res. 2016, 55, 1–31. doi: 10.1016/j.preteyeres.2016.06.001. PMID: 27297499.

Chen H., Luo T., Chen T., Wang G.: Seminal bacterial composition in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia. Exp Ther Med. 2018, 15, 2884–2890. doi: 10.3892/etm.2018.5778. PMID: 29456693.

Cheung S., Parrella A., Rosenwaks Z., Palermo G.D.: Genetic and epigenetic profiling of the infertile male. PLoS ONE. 2019 14, e0214275. doi.org/10.1371/journal.pone.0214275. PMID: 30897172.

Cioppi F., Rosta V., Krausz C.: Genetics of azoospermia. Int J Mol Sci. 2021, 22, 3264. doi: 10.3390/ijms22063264. PMID: 33806855.

Choi M., Scholl U.I., Ji W., Liu T., Tikhonova I.R., Zumbo P. et al.: Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. Proc Natl Acad Sci USA. 2009, 106, 19096–19101. doi: 10.1073/pnas.0910672106. PMID: 19861545.

Cui X., Wu X., Li Q., Jing X.: Mutations of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in males with congenital bilateral absence of the vas deferens: Reproductive implications and genetic counseling (Review). Mol Med Rep. 2020, 22, 3587–3596. doi: 10.3892/mmr.2020.11456. PMID: 33000223.

Fakhro K.A., Elbardisi H., Arafa M., Robay A., Rodriguez-Flores J.L., Al-Shakaki A. et al.: Point-of-care whole-exome sequencing of idiopathic male infertility. Genet Med. 2018, 20, 1365–1373. doi: 10.1038/gim.2018.10. PMID: 29790874.

Farahani L., Tharakan T., Yap T., Ramsay J.W., Jayasena C.N., Minhas S.: The semen microbiome and its impact on sperm function and male fertility: A systematic review and meta-analysis. Andrology. 2021, 9, 115–144. doi: 10.1111/andr.12886. PMID: 32794312.

Fiorentino F., Bono S., Biricik A., Nuccitelli A., Cotroneo E., Cottone G. et al.: Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles. Hum Reprod. 2014, 29, 2802–2813. doi: 10.1093/humrep/deu277. PMID: 25336713.

García-Pascual C.M., Navarro-Sánchez L., Navarro R., Martínez L., Jiménez J., Rodrigo L. et al.: Optimized NGS Approach for Detection of Aneuploidies and Mosaicism in PGT-A and Imbalances in PGT-SR. Genes (Basel). 2020, 11(7), 724. doi: 10.3390/genes11070724. PMID: 32610655.

Ghieh F., Barbotin A.L., Leroy C., Marcelli F., Swierkowsky-Blanchard N., Serazin V. et al.: Will whole-genome sequencing become the first-line genetic analysis for male infertility in the near future? Basic Clin Androl. 2021, 31, 21. doi: 10.1186/s12610-021-00138-4. PMID: 34407766.

Gunes S., Esteves S.C.: Role of genetics and epigenetics in male infertility. Andrologia. 2021, 53, e13586. doi: 10.1111/and.13586. PMID: 32314821.

Harper J.C., Aittomäki K., Borry P., Cornel M.C., de Wert G., Dondorp W., on behalf of the European Society of Human Reproduction and Embryology and European Society of Human Genetics: Recent developments in genetics and medically assisted reproduction: from research to clinical applications. Eur J Hum Genet. 2018, 26, 12-33. doi: 10.1038/s41431-017-0016-z. PMID: 29199274.

Hu Z., Xia Y., Guo X., Dai J., Li H., Jiang Y. et al.: A genome-wide association study in Chinese men identifies three risk loci for non-obstructive azoospermia. Nat Genet. 2012, 44, 183-186. doi: 10.1038/ng.1040. PMID: 22197933.

Johnson M.D.: Genetic risks of intracytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility: recommendations for genetic counseling and screening. Fertil Steril. 1998, 70, 397. doi: 10.1016/s0015-0282(98)00209-x. PMID: 9757865.

Jungwirth A., Diemer T., Kopa Z., Krausz C., Minhas S., Tournaye H.: EAU Guidelines on Male Infertility. European Association of Urology. 2019, 1–48. [viewed: 20.12.202]. Available in: https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Male-Infertility-2019.pdf

Kotaja N.: MicroRNAs and spermatogenesis. Fertil Steril. 2014, 101, 1552–1562. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.025. PMID: 24882619.

Kothandaraman N., Agarwal A., Abu-Elmagd M., Al-Qahtani M.H.: Pathogenic landscape of idiopathic male infertility: new insight towards its regulatory networks. NPJ Genom Med. 2016, 1, 16023. doi: 10.1038/npjgenmed.2016.23. PMID: 29263816.

Krausz C., Escamilla A.R., Chianese C.: Genetics of male infertility: from research to clinic. Reproduction. 2015, 150, R159-174. doi: 10.1530/REP-15-0261. PMID: 26447148.

Krausz C., Riera-Escamilla A.: Genetics of male infertility. Nat Rev Urol. 2018, 15, 369-384. doi: 10.1038/s41585-018-0003-3. PMID: 29622783.

Krausz C., Hoefsloot L., Simoni M., Tüttelmann F., *European Academy of Andrology, European Molecular Genetics Quality Network*: EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. Andrology. 2014, 2, 5–19. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x. PMID: 24357628.

Liang D., Wang Y., Ji X., Hu H., Zhang J., Meng L. et al.: Clinical application of whole-genome low-coverage next-generation sequencing to detect and characterize balanced chromosomal translocations. Clin Genet. 2017, 91, 605–610. doi: 10.1111/cge.12844. PMID: 27491356.

Li L., Li H., *Tian Y., Hu M., Le F., Wang L. et al.*: Differential microRNAs expression in seminal plasma of normospermic patients with different sperm DNA fragmentation indexes. Reprod Toxicol. 2020, 94, 8–12. doi: 10.1016/j.reprotox.2020.03.007. PMID: 32259568.

Liu X., Zhang H., Zhang X., Zhang H., Jiang Y., Liu R. et al.: Y chromosome structural variation in infertile men detected by targeted next-generation sequencing. J Assist Reprod Genet. 2021, 38, 941–948. doi: 10.1007/s10815-020-02031-x. PMID: 33454900.

Lu H., Xu D., Wang P., Sun W., Xue X., Hu Y. et al.: RNA-sequencing and bioinformatics analysis of long noncoding RNAs and mRNAs in the asthenozoospermia. Biosci Rep. 2020, 40, BSR20194041. doi: 10.1042/BSR20194041. PMID: 32614449.

Łukaszuk K., Pukszta S., Wells D., Cybulska C., Liss J., Płóciennik Ł., *et al.*: Routine use of next-generation sequencing for preimplantation genetic diagnosis of blastomeres obtained from embryos on day 3 in fresh in vitro fertilization cycles. Fertil Steril. 2015, 10, 1031–1036. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.123. PMID: 25624194.

National Human Genome Research Institute https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data, entry date: 20.12.2021

Oud M.S., Volozonoka L., Smits R.M., Vissers L., Ramos L., Veltman J.A.: A systematic review and standardized clinical validity assessment of male infertility genes. Hum Reprod. 2019, 34, 932–941. doi.org/10.1093/humrep/dez022. PMID: 30865283.

Pelzman D.L., Hwang K.: Genetic testing for men with infertility: techniques and indications. Transl Androl Urol. 2021, 10, 1354–1364. doi: 10.21037/tau-19-725. PMID: 33850771.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine: Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. Fertil Steril. 2015, 103, e18–25. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.103. PMID: 25597249.

Precone V., Cannarella R., Paolacci S., Busetto G.M., Beccari T., Stuppia L. et al.: Male infertility diagnosis: Improvement of genetic analysis performance by the introduction of pre-diagnostic genes in a Next-Generation Sequencing custom-made panel. Front Endocrinol. 2021, 11, 605237. doi: 10.3389/fendo.2020.605237. PMID: 33574797.

Ravel C., Berthaut I., Bresson J.L., Siffroi J.P.: Genetics Commission of the French Federation of CECOS. Prevalence of chromosomal abnormalities in phenotypically normal and fertile adult males: large-scale survey of over 10,000 sperm donor karyotypes. Hum Reprod. 2006, 21, 1484–1489. doi: 10.1093/humrep/del024. PMID: 16484311.

Reardon S.: A complete human genome sequence is close: how scientists filled in the gaps. Nature. 2021, 594, 158–159. doi: 10.1038/d41586-021-01506-w. PMID: 34089035.

Rocca M.S., Msaki A., Ghezzi M., Cosci I., Pilichou K., Celeghin R., et al.: Development of a novel next-generation sequencing panel for diagnosis of quantitative spermatogenic impairment. J Assist Reprod Genet. 2020, 37, 753–762. doi: 10.1007/s10815-020-01747-0. PMID: 32242295.

Rubio C., Rodrigo L., Garcia-Pascual C., Peinado V., Campos-Galindo I., Garcia-Herrero S, et al.: Clinical application of embryo aneuploidy testing by next-generation sequencing. Biol Reprod. 2019, 101, 1083–1090. doi: 10.1093/biolre/ioz019. PMID: 30721942.

Schlegel P.N., Sigman M., Collura B., De Jonge C.J., Eisenberg ML, Lamb DJ, et al.: Diagnosis and treatment of infertility in men: AUA/ASRM Guideline Part I. J Urol. 2021, 205, 36–43. PMID: 33295257. doi: 10.1097/JU.0000000000001521.

Tang D., Huang Z., He X., Wu H., Peng D., Zhang L., et al.: Altered miRNA profile in testis of post-cryptorchidopexy patients with non-obstructive azoospermia. Reprod Biol Endocrinol. 2018, 16, 78. doi: 10.1186/s12958-018-0393-3. PMID: 30103742.

Tsonis O., Gkrozou F., Paschopoulos M.: Microbiome affecting reproductive outcome in ARTs. J Gynecol Obstet Hum Reprod. 2021, 50, 102036. doi: 10.1016/j.jogoh.2020.102036. PMID: 33307241.

Tüttelmann F., Ruckert C., Röpke A.: Disorders of spermatogenesis. Medgen. 2018, 30, 12–20. doi.org/10.1007/s11825-018-0181-7. PMID: 29527098.

Van Assche E., Bonduelle M., Tournaye H., Joris H., Verheyen G., Devroey P., et al.: Cytogenetics of infertile men. Hum Reprod. 1996, 11, 1–26. doi: 10.1093/humrep/11.suppl_4.1. PMID: 9147109.

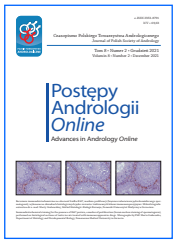
Van Dijk E.L., Auger H., Jaszczyszyn Y., Thermes C.: Ten years of next-generation sequencing technology. Trends Genet. 2014, 30. 418–426. doi: 10.1016/j.tig.2014.07.001. PMID: 25108476.

Wang Z., Gerstein M., Snyder M.: RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. Nat Rev Genet. 2009, 10, 57–63. doi: 10.1038/nrg2484. PMID: 19015660.

Weng S.-L., Chiu C.-M., Lin F.-M., Huang, W.C., Liang, C., Yang, et al.: Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. PLoS One. 2014, 9, e110152. doi.org/10.1371/journal.pone.0110152. PMID: 25340531.

Xu M., Qin Y., Qu J., Lu C., Wang Y., Wu W., et al.: Evaluation of five candidate genes from GWAS for association with oligozoospermia in a Han Chinese population. PloS one. 2013, 8, e80374. doi.org/10.1371/journal.pone.0080374. PMID: 24303009.

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology
Postępy Andrologii *Online*
Advances in Andrology *Online*
http://www.postepyandrologii.pl



HIPERPROLAKTYNEMIA U MĘŻCZYZN – DIAGNOSTYKA I LECZENIE

HYPERPROLACTINEMIA IN MEN – DIAGNOSTICS AND TREATMENT

Sylwia Szpak-Ulczok

Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach
sylwia.ulczok@gmail.com, tel. 32 278 93 01

*Autor do korespondencji/corresponding author: Sylwia Szpak-Ulczok, Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach, 44-100 Gliwice, Wybrzeże Armii Krajowej 15
tel. 32 278 93 01, e-mail: sylwia.ulczok@gmail.com

Otrzymano/received: 16.06.2021 r. Zaakceptowano/accepted: 06.01.2022 r.

DOI: 10.26404/PAO_2353-8791.2021.07

Sylwia Szpak-Ulczok – dr n. med., absolwentka Wydziału Lekarskiego Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, specjalista chorób wewnętrznych i endokrynolog, androlog kliniczny certyfikowany przez Europejską Akademię Andrologiczną (EAA, ang. *European Academy of Andrology*) i Polskie Towarzystwo Andrologiczne. Asystent w Zakładzie Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Oddziale w Gliwicach. Wykładowca akademicki. Członek Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, Polskiego i Europejskiego Towarzystwa Endokrynologicznego. Autor i współautor publikacji i podręczników akademickich z zakresu endokrynologii.

Sylwia Szpak-Ulczok – PhD, MD, graduated from the Medical University of Silesia (Katowice, Poland), faculty of medicine. She is clinical andrologist certified by the European Academy of Andrology (EAA) and Polish Society of Andrology (PTA), internist and endocrinologist. She works as an assistant in Department of Nuclear Medicine and Endocrine Oncology, Maria Sklodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology (Gliwice, Poland). Academic lecturer. Member of PTA and European Society of Endocrinology (ESE). Author and co-author of scientific publication and academic books in the field of endocrinology.

Streszczenie

W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat przyczyn, procesu diagnozowania, diagnostyki różnicowej i sposobu leczenia u mężczyzn z rozpoznaniem hiperprolaktynemii. Wskazano, w jaki sposób diagnozować laboratoryjnie hiperprolaktynemię i jak unikać ewentualnych pułapek związanych z pobieraniem krwi i metodami wykonywania oznaczeń stężenia prolaktyny. Wskazano, jakie przypadki hiperprolaktynemii należy leczyć, a kiedy hiperprolaktynemię uznać za nieistotną klinicznie.

Słowa kluczowe: hiperprolaktynemia, niepłodność męska, leczenie

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

Abstract

The paper presents the current knowledge on the causes, diagnostic process, differential diagnosis, and treatment in men diagnosed with hyperprolactinemia. It shows how to carry out laboratory diagnostics of hyperprolactinemia and avoid possible pitfalls related to blood sampling and methods of prolactin determinations. It is indicated which cases of hyperprolactinemia should be treated and when hyperprolactinemia should be considered clinically insignificant.
Key words: hyperprolactinemia, male infertility, treatment

Skróty / Abbreviations

ABP – białko wiążące androgeny (ang. *androgen binding protein*); BMD – gęstość mineralna kości (ang. *body mass density*); EGF – naskórkowy czynnik wzrostu (ang. *epidermal growth factor*); FSH – hormon folikulotropowy (ang. *follicle-stimulating hormone*); GnRH – gonadoliberyna (ang. *gonadotropin releasing hormone*); IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (ang. *insulin-like growth factor 1*) IgG – immunoglobulina G (ang. *immunoglobulin G*); LH – hormon luteinizujący (ang. *luteinizing hormone*); MR – rezonans magnetyczny (ang. *magnetic resonance*); PEG – glikol polietylenowy (ang. *polyethylene glycol*); SHBG – białko wiążące hormony płciowe (ang. *sex hormone binding globulin*); TRH – hormon uwalniający tyreotropinę (ang. *thyrotropin-releasing hormone*); VIP – wazoaktywny peptyd jelitowy (ang. *vasoactive intestinal peptide*).

Hiperprolaktynemia u mężczyzn jest coraz częściej stwierdzanym problemem klinicznym, co jest konsekwencją poszerzania diagnostyki hormonalnej w przypadku zaburzeń erekcji czy podejrzenia męskich przyczyn niepłodności. Powszechność dostępu do badań laboratoryjnych sprawia, że pacjenci coraz częściej z własnej inicjatywy oznaczają stężenie prolaktyny w surowicy krwi i nierzadko jest ono podwyższone, czasami znamiennie, czasami tylko nieznacznie. Nieprawidłowy wynik oznaczenia stężenia prolaktyny wiąże się z koniecznością ustalenia przyczyny i ewentualnego rozszerzenia diagnostyki.

Fizjologia prolaktyny

Prolaktyna jest hormonem polipeptydowym wytwarzanym w przednim płacie przysadki w komórkach laktotropowych. Jej wydzielanie ma charakter pulsacyjny (cykl trwa ok. półtorej godziny), a wartości w szczycie wydzielania mogą być o 30% wyższe niż wartości podstawowe (*Milewicz*, 2012).

Typowa cząsteczka prolaktyny jest monomerem o masie 23 kDa i stanowi ok. 90% prolaktyny krążącej we krwi. Cząsteczki prolaktyny mogą podlegać agregacji i tworzyć większe izoformy (ang. *big prolactin*) o masie 45–60 kDa oraz makroprolaktynę (ang. *big-big prolactin*) o masie 150–170 kDa (*Sinha*, 1995). Przyczyną procesu agregacji cząsteczek jest najprawdopodobniej tworzenie autoprzeciwciał klasy IgG (ang. *immunoglobulin G*) skierowanych przeciwko prolaktynie (Hattori *i wsp.*, 2005).

Za górną wartość referencyjną dla prawidłowego stężenia prolaktyny u mężczyzn uznaje się zwykle wartość 15 ng/mL. Jednak, niektórzy autorzy za klinicznie istotną hiperprolaktynemię u mężczyzn uważają wartość stężenia prolaktyny w krwi >35 ng/mL (*Buvat*, 2003).

Do znanych czynników stymulujących wydzielanie prolaktyny należą: hormon uwalniający tyreotropinę (TRH, ang. *thyrotropin-releasing hormone*), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF, ang. *epidermal growth factor*), wazoaktywny peptyd jelitowy (VIP, ang. *vasoactive intestinal peptide*), serotonina czy też estrogeny (*Milewicz*, 2012). Z kolei najsilniejszym czynnikiem hamującym wydzielanie prolaktyny jest produkowana w podwzgórzu dopamina. Przerwanie drogi doprowadzającej dopaminę do przysadki skutkuje wzrostem stężenia prolaktyny. Dzieje się tak np. wskutek urazu czy obecności guza okolicy podwzgórza lub poprzez przerwanie ciągłości, czy też ucisk na lejek przysadki przez guz tej okolicy. Do obniżenia stężenia dopaminy dochodzi również w przypadku blokowania receptorów dopaminergicznych D2 poprzez np. metoklopramid czy fenotiazyny, albo też poprzez podwzgórzowe hamowanie wydzielania dopaminy (np. przez rezerpinę lub metyldopę).

Objawy nadmiaru prolaktyny u mężczyzn

Hiperprolaktynemia wpływa na oś podwzgórze–przysadka–gonady i może prowadzić do hipogonadyzmu i zaburzeń płodności (*Green* i *Amadi*, 2020). Wysokie stężenie prolaktyny wpływa hamująco na pulsacyjną sekrecję hormonu luteinizującego (LH, ang. *luteinizing hormone*), a także w mniejszym stopniu hormonu folikulotropowego (FSH, ang. *follicle stimulating hormone*) i gonadoliberyny (GnRH, ang. *gonadotropin-releasing hormone*) (*Buvat*, 2003). Konsekwencją obniżenia stężenia hormonów gonadotropowych jest upośledzenie procesu spermatogenezy oraz niedobór testosteronu. Komórkami docelowymi dla FSH są komórki Sertolego, które są stymulowane do syntezy szeregu czynników regulujących spermatogenezę (*Słowikowska-Hilczer*, 2021). Komórki Sertolego produkują m.in. białko wiążące androgeny (ABP, ang. *androgen binding protein*), które jest odpowiedzialne za utrzymanie wysokiego stężenia testosteronu w jądrach. LH stymuluje komórki Leydiga do syntezy testosteronu (*Kula i Słowikowska-Hilczer*, 2021). Znamienna hiperprolaktynemia zmniejsza liczebność

i ruchliwość plemników, a także zmniejsza objętość ejakulatu (*Singh i wsp.*, 2011). Hiperprolaktynemia odpowiada za 11% zdiagnozowanych przypadków oligozoospermii (*de Rosa i wsp.*, 2003).

Mężczyźni z nadmiarem prolaktyny skarżą się na dysfunkcje w sferze seksualnej. Zaburzenia wzwodu obserwuje się u blisko 90% pacjentów z hiperprolaktynemią (*Buvat*, 2003). Zaburzeniom tym często towarzyszy obniżone libido. Obserwuje się również brak orgazmu, opóźniony wytrysk, czy nawet wytrysk wsteczny (*Buvat*, 2003).

U niektórych pacjentów z hiperprolaktynemią mimo obniżonego stężenia testosteronu całkowitego nie obserwuje się zaburzenia wzwodu. Może to wynikać z faktu, iż u pacjentów z nadmiarem prolaktyny dochodzi do obniżenia stężenia białka wiążącego hormony płciowe (SHBG, ang. *sex hormone binding globulin*), co powoduje, iż mimo obniżonego stężenia testosteronu całkowitego może być zachowane prawidłowe stężenie testosteronu wolnego (*Buvat*, 2003). Oprócz objawów ze sfery seksualnej hiperprolaktynemia może dawać objawy w postaci ginekomastii (21% chorych), mlekotoku (13%) czy też utraty włosów na ciele (40%) (*Buvat*, 2003).

Obrazowi klinicznemu hiperprolaktynemii mogą dodatkowo towarzyszyć objawy spowodowane obecnością guza przysadki. Makrogruczolaki, uciskając okoliczne tkanki, mogą powodować bóle głowy, ubytki pola widzenia (ucisk na skrzyżowanie nerwów wzrokowych) oraz niedoczynność przysadki (niedobory hormonów kontrolujących pracę obwodowych gruczołów dokrewnych: tarczycy i nadnerczy).

Przyczyny wzrostu stężenia prolaktyny

Najczęściej za wzrost stężenia prolaktyny w surowicy krwi (zwłaszcza nieznaczny) odpowiadają przyczyny fizjologiczne np. wysiłek fizyczny, stosunek płciowy, drażnienie brodawek sutkowych, sen i stres. Stężenie prolaktyny może być również podwyższone w przypadku niedoczynności tarczycy, niewydolności nerek czy marskości wątroby.

Inną przyczyną hiperprolaktynemii, często spotykaną w praktyce klinicznej, jest stosowanie leków, głównie przeciwdepresyjnych, neuroleptycznych i blokerów receptora dopaminergicznego. Podwyższone stężenie prolaktyny może wynikać z obecności guzów podwzgórza i/lub przysadki czy też uszkodzenia drogi podwzgórzowo–przysadkowej. Zestawienie przyczyn hiperprolaktynemii zamieszczono w tabeli 1.

Tabela 1. Przyczyny podwyższonego stężenia prolaktyny w surowicy krwi mężczyzn (na podstawie: *Milewicz*, 2012, zmodyfikowane)

Grupa przyczyn	Przykłady
Fizjologiczne	– stosunek płciowy – wysiłek fizyczny – sen – stres – posiłek
Patologia okolicy podwzgórzowo–przysadkowej	– guzy okolicy podwzgórzowej (czaszkogardlaki, rozrodczaki, oponiaki, guzy przerzutowe) – ziarniniaki – torbiele kieszonki Rathkego – pourazowe przerwanie ciągłości szypuły przysadki – guzy prolaktynowe – inne guzy przysadki – zespół pustego siodła – limfocytarne zapalenie przysadki – radioterapia okolicy podwzgórzowo-przysadkowej – pozabiegowe i urazowe uszkodzenie przysadki
Towarzysząca innym chorobom układowym	– uraz i zabieg ścian klatki piersiowej – niewydolność nerek – marskość wątroby – padaczka – niedoczynność tarczycy
Leki	– znieczulające – przeciwpadaczkowe – przeciwdepresyjne: trójcykliczne przeciwdepresyjne, selektywne inhibitory wychwytu serotoniny – antyhistaminowe: cymetydyna, ranitydyna – hipotensyjne: labetalol, rezerpina, werapamil – agoniści receptora cholinergicznego: fizostygmina – blokery receptora dopaminergicznego: pochodne butyrofenonu, pochodne fenotiazyny, tioksantyny, metoklopramid – inhibitory syntezy dopaminy: alfa-metyldopa – estrogeny – neuroleptyki: chlorpromazyna, flufenazyna, haloperidol, perfenazyna, prometazyna, tietylperazyna, tiorydazyna, tiotyksen, trifluoperazyna – opiaty: heroina, morfina

Table 1. The factors resulting in elevation of serum prolactin levels in men (based on: *Milewicz*, 2012, modified)

Factors	Examples
Physiological	– intercourse – physical exercise – sleep – stress – meal
Pathology of the hypothalamic–pituitary region	– tumours in the hypothalamus (craniopharyngioma, germinoma, meningiomas, metastatic tumours) – coccus – Rathke's pouch cyst – post-trauma transection of the pituitary stalk – prolactinoma – other tumours of the pituitary gland – empty stella syndrome – lymphocytic hypophysitis – radiotherapy of the hypothalamic-pituitary area – post-operative and traumatic pituitary injury
Associated with other systemic diseases	– trauma and surgery of the chest walls – kidney failure – cirrhosis – epilepsy – hypothyroidism
Medicaments	– anaesthetics – antiepileptic – antidepressants: tricyclic antidepressants, selective serotonin reuptake inhibitors – antihistamines: cimetidine, ranitidine – hypotensive: labetalol, reserpine, verapamil – cholinergic receptor agonists: physostigmine – dopaminergic receptor blockers: buphedrone derivatives, phenothiazine derivatives, thioxanthene derivatives, metoclopramide – dopamine synthesis inhibitors: alpha-methyldopa – estrogens – neuroleptics: chlorpromazine, fluphenazine, haloperidol, perphenazine, promethazine, thiethylperazine, thioridazine, tiotixene, trifluoperazine – opiates: heroin, morphine

Rozpoznanie hiperprolaktynemii

The Endocrine Society (https://www.endocrine.org/) rekomenduje jako wystarczające do rozpoznania hiperprolaktynemii jednokrotne wykazanie stężenia prolaktyny powyżej górnej granicy normy, stawiając tylko jeden warunek – wyeliminowanie nadmiernego stresu związanego z nakłuciem podczas pobierania krwi. W przypadkach wątpliwych wyników warto powtórzyć kilkakrotnie oznaczenie stężenia prolaktyny w odstępach co 15–20 minut, aby wyeliminować wpływ pulsacyjnego wydzielania prolaktyny (*Melmed i wsp.*, 2011). Z dodatkowych czynników, które proponuje się uwzględnić przy pobieraniu krwi wymienia się: bycie na czczo, odczekanie przed pobraniem ok. 20 minut w spokojnym miejscu, czy pobranie krwi przez wenflon założony 20 minut wcześniej (*Buvat*, 2003).

The Endocrine Society (https://www.endocrine.org/) nie rekomenduje testów dynamicznych w ocenie sekrecji prolaktyny (z zastosowaniem takich substancji, jak: TRH, L-dopa, nomifenzyna czy domperidon) (*Melmed i wsp.*, 2011). Polska praktyka lekarska wskazują na użyteczność testu z metoklopramidem (*Zgliczyński*, 2020). Metoklopramid działając antagonistycznie na receptory D2 w podwzgórzu hamuje działanie endogennej dopaminy na przysadkę. Stężenie prolaktyny w teście z metoklopramidem ocenia się w warunkach podstawowych oraz po 60 i 120 minutach po doustnym podaniu 10 mg metoklopramidu. W warunkach fizjologicznych dochodzi do wzrostu stężenia prolaktyny w surowicy krwi. Wynik jest prawidłowy, jeśli stężenie prolaktyny wzrasta 2–6-krotnie. Jeśli wzrost stężenia prolaktyny jest większy niż 6-krotny, rozpoznaje się hiperprolaktynemię czynnościową. Natomiast przy wydzielaniu autonomicznym w guzie prolaktynowym lub przy uszkodzeniu podwzgórza lub lejka przysadki nie dochodzi do znamiennego wzrostu stężenia prolaktyny (wzrost mniejszy niż 2-krotny).

W przypadku uzyskania wysokich wartości stężenia prolaktyny >500 ng/mL należy z dużym prawdopodobieństwem podejrzewać gruczolaka wydzielającego prolaktynę. Wartości w przedziale 200–500 ng/mL można obserwować nie tylko w przypadku guza prolaktynowego, ale także u pacjentów stosujących niektóre leki, takie jak rysperydon czy metoklopramid (*Melmed i wsp.*, 2011).

Przeważnie obserwuje się zależność między stężeniem prolaktyny a masą guza prolaktynowego. Większość guzów prolaktynowych to zmiany małe o średnicy poniżej 1 cm (tzw. mikrogruczolaki). Zmiany o średnicy powyżej 1 cm są określane mianem makrogruczolaków. W praktyce klinicznej można spotkać sytuację współistnienia dużego guza przysadki ze stosunkowo niewielkim podwyższeniem stężenia prolaktyny. Może mieć to miejsce w przypadku guzów przysadki innych niż guzy prolaktynowe, gdzie hiperprolaktynemia wynika z ucisku na lejek przysadki.

Możliwe jest występowanie tzw. efektu haka, czyli zaniżenia wyniku w przypadku bardzo wysokich stężeń prolaktyny (przy dużych guzach prolaktynowych) z uwagi na wadę immunometrycznej metody oznaczeń. Dlatego też w przypadku dużych guzów przysadki przy stosunkowo niewielkiej hiperprolaktynemii, a nawet normoprolaktynemii, warto oznaczyć stężenie prolaktyny w 100-krotnym rozcieńczeniu dla wyeliminowania efektu haka. Efekt ten zgłaszano przy stężeniach >800 ng/mL (*Jeske*, 2008).

W przypadku hiperprolaktynemii, zwłaszcza bezobjawowej, warto oznaczyć makroprolaktynę, która odpowiada za 10–40% przypadków podwyższonego stężenia prolaktyny. Wiele komercyjnych zestawów nie rozróżnia makroprolaktyny, często dając rozbieżne wyniki. Dla wykazania obecności dużych polimerycznych molekuł prolaktyny najczęściej wykorzystuje się metodę z precypitacją glikolem polietylenowym (PEG, ang. *polyethylene glycol*). Makroprolaktyna jest formą mniej aktywną biologicznie, gdyż trudniej wiąże się z receptorem, ale czasem może dawać objawy kliniczne (np. mlekotok).

Różnicowanie przyczyn hiperprolaktynemii

Przeprowadzając wywiad z pacjentem, należy zapytać o możliwe fizjologiczne przyczyny wzrostu stężenia prolaktyny w krwi, takie jak stres (w tym związany z procedurą pobierania krwi), sen, stosunek seksualny, drażnienie brodawek sutkowych, wysiłek fizyczny, hipoglikemia, posiłek wysokobiałkowy. Jedną z częstych przyczyn hiperprolaktynemii jest niedoczynność tarczycy (w mechanizmie stymulacji przysadki przez TRH), stąd należy sprawdzić funkcję tego gruczołu. Hiperprolaktynemię obserwuje się też u chorych z niewydolnością nerek. Dzieje się tak z powodu upośledzonego klirensu nerkowego i zaburzenia centralnej regulacji syntezy prolaktyny. Również pacjenci z niewydolnością/marskością wątroby mogą mieć podwyższone stężenia prolaktyny. Kolejnymi przyczynami wzrostu stężenia prolaktyny mogą być niektóre leki oraz guzy przysadki (*Banskota* i *Adamson*, 2021). W przypadku guzów prolaktynowych należy również oznaczać stężenie insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1, ang. *insulin-like growth factor 1*) dla wykluczenia mieszanego charakteru guza, który oprócz prolaktyny wydziela również hormon wzrostu.

Po wyeliminowaniu wszystkich znanych przyczyn hiperprolaktynemii pozostaje postawienie rozpoznania tzw. hiperprolaktynemii idiopatycznej. Okazuje się, że w tej grupie >10% pacjentów ma nierozpoznanego mikrogruczolaka przysadki, a w 30% dochodzi do samoistnej normalizacji stężenia prolaktyny (*Melmed i wsp.*, 2011).

Hiperprolaktynemia w przebiegu guza prolaktynowego

Gruczolaki przysadki wydzielające prolaktynę (*prolactinoma*) są najczęstszymi guzami przysadki (40–66%), częściej występującymi u kobiet (*Vroonen i wsp.*, 2019). W porównaniu z kobietami guzy prolaktynowe u mężczyzn częściej osiągają większe rozmiary (częstsze występowanie tzw. *macroprolactinoma*), a stężenie prolaktyny jest wyższe. Można domniemywać, że większe rozmiary guzów prolaktynowych u mężczyzn wynikają z faktu opóźnienia postawienia rozpoznania. Opisy grup chorych wskazują różną częstość objawów klinicznych w zależności od płci: mlekotok, bóle głowy i wzrost masy ciała był obserwowany rzadziej u mężczyzn niż u kobiet (*de Rosa i wsp.*, 2003).

Leczeniem z wyboru guzów prolaktynowych jest farmakoterapia agonistą dopaminy, a jej celem jest doprowadzenie do obniżenia stężenia prolaktyny i zmniejszenie masy guza oraz zachowanie funkcji gonad (*Colao i wsp.*, 2002). Należy podkreślić, że leczenie agonistą dopaminy można włączyć po wykluczeniu niedoczynności tarczycy. Na polskim rynku dostępne są trzy preparaty agonistów dopaminy: bromokryptyna, chinagolid i kabergolina. Farmakoterapia u mężczyzn z guzami prolaktynowymi doprowadza do normalizacji stężenia prolaktyny u ok. 80% pacjentów (*Pinzone i wsp.*, 2000). W innym badaniu po 6 miesiącach farmakoterapii kabergoliną uzyskano powrót spontanicznych nocnych erekcji (*Verhelst i wsp.*, 1999) oraz normalizację parametrów nasienia (*Colao i wsp.*, 2004; *de Rosa i wsp.*, 2006). U pacjentów z zaburzeniami erekcji leczenie agonistą dopaminy poprawia funkcje seksualne i ta poprawa lepiej koreluje z obniżeniem stężenia prolaktyny niż ze wzrostem stężenia testosteronu. Do powrotu erekcji może dochodzić wcześniej niż do normalizacji stężenia testosteronu (*Buvat i wsp.*, 1985).

Warto zwrócić uwagę na obserwację, że hiperprolaktynemia jest odpowiedzialna za nie więcej niż 5% przyczyn zaburzeń wzwodu (*Buvat*, 2003). U części chorych z zaburzeniami wzwodu obserwowano niewielką hiperprolaktynemię rzędu: 20–35 ng/mL i w tej grupie włączenie leczenia agonistą dopaminy przyniosło poprawę kliniczną u 40% chorych i było porównywalne z efektem placebo (*Ambrosi i wsp.*, 1977).

Towarzystwo Endokrynologiczne rekomenduje kabergolinę jako lek pierwszego rzutu w leczeniu guzów

prolaktynowych z uwagi na udokumentowany wpływ na zmniejszenie guza i normalizację stężenia prolaktyny (*Melmed i wsp.*, 2011). Pacjenci najczęściej wymagają dawek między 0,25 a 3 mg/tydzień, a w wyjątkowych przypadkach do 11 mg/tydzień (*Ono i wsp.*, 2008). Uważa się, że kabergolina spośród stosowanych agonistów prolaktyny ma największe powinowactwo do receptora dopaminergicznego, a jej dobra tolerancja sprzyja współpracy chorego w leczeniu (*Verhelst i wsp.*, 1999). Jednak najczęściej stosowanym lekiem ze względu na niską cenę i refundację jest bromokryptyna. Zwykle rozpoczyna się leczenie od dawki 2,5–5 mg. Lek ten działa do 12 godzin. Jeśli stężenie prolaktyny jest duże, konieczne jest podawanie leku 2-krotnie/dzień. Bromokryptyna może nieznacznie obniżyć ciśnienie tętnicze, powodować senność, nudności, stąd zalecenie jej podawania wieczorem.

Monitorowanie terapii agonistami dopaminy powinno obejmować:

- okresową kontrolę stężenia prolaktyny dla oceny jej normalizacji wraz z oceną odwracalności klinicznych objawów hipogonadyzmu,
- rezonans magnetyczny (MR, ang. *magnetic resonance*) przysadki mózgowej po roku czasu w przypadku mikrogruczolaków, a po 3 miesiącach przy makrogruczolakach oraz gdy stężenie prolaktyny nadal wzrasta lub obserwuje się nowe objawy kliniczne, takie jak zaburzenia widzenia, bóle głowy, mlekotok, inne zaburzenia hormonalne,
- leczenie współistniejących zaburzeń, jak np. niskiej gęstości mineralnej kości (BMD, ang. *body mass density*) związanej z hipogonadyzmem.

Terapię agonistami dopaminy w guzach prolaktynowych można zakończyć u pacjentów leczonych przynajmniej 2 lata, którzy uzyskali normalizację stężenia prolaktyny w krwi i nie mają guza przysadki widocznego w badaniu MR (*Melmed i wsp.*, 2011). U objawowych pacjentów, u których nie uzyskuje się normalizacji stężenia prolaktyny, ani znamiennej redukcji wymiarów guza podczas przyjmowania standardowych dawek agonisty dopaminy, rekomenduje się zwiększenie dawki leku do najwyższej tolerowanej. W przypadku kabergoliny w wyższych dawkach (≥3 mg dziennie) należy pamiętać o ryzyku zwłóknienia zastawek serca (*Schade i wsp.*, 2007).

Odpowiedź na leczenie agonistami dopaminy, choć jest zróżnicowana, to jednak u większości chorych przynosi redukcję masy guza i normalizację stężenia prolaktyny. Za przypadki oporne na leczenie uważa się takie, gdy przy stosowaniu najwyższej tolerowanej dawki agonisty dopaminy nie uzyskano normalizacji stężenia prolaktyny i redukcji wymiarów guza o 50%. Za niepowodzenie leczenia można też uznać niemożność przywrócenia płodności (*Melmed i wsp.*, 2011). Obserwowano, że mężczyźni są częściej oporni na leczenie agonistami dopaminy niż kobiety (*Delgrange i wsp.*, 2009).

W przypadku utrzymywania się objawów klinicznych u chorych, którzy nie tolerują dużych dawek kabergoliny lub nie odpowiadają na terapię, należy zaproponować leczenie operacyjne guza przysadki. W sytuacji niepowodzenia leczenia operacyjnego lub w przypadkach agresywnego guza prolaktynowego należy rozważyć radioterapię (*Melmed i wsp.*, 2011).

W niektórych przypadkach hipogonadyzm utrzymuje się pomimo normalizacji stężenia prolaktyny. Dzieje się tak z powodu zaburzeń wydzielania GnRH i gonadotropin. Tacy pacjenci oprócz terapii agonistą dopaminy wymagają substytucji testosteronem. Jednak podawanie testosteronu może stymulować wzrost guza przysadki poprzez jego aromatyzację do estradiolu, jeśli hiperprolaktynemia nie jest dobrze kontrolowana agonistą dopaminy (*Buvat*, 2003).

Hiperprolaktynemia wywołana lekami

Farmakoterapia należy do najczęstszych przyczyn hiperprolaktynemii niewynikającej z obecności guza przysadki (*Alosaimi i wsp.*, 2018). W przypadku niektórych leków antypsychotycznych (np. fenotiazyna, butyferon) działających m.in. poprzez receptor D2, hiperprolaktynemię stwierdza się u 40–90% chorych, a w grupie stosującej rysperydon do 50–100%. Stężenia prolaktyny, jakie obserwuje się w takich przypadkach najczęściej zawierają się w zakresie: 25–100 ng/mL, choć w niektórych sytuacjach mogą sięgać do 200 ng/mL (w przypadku metoklopramidu, rysperydonu, fenotiazyn) (*Melmed i wsp.*, 2011).

Do normalizacji stężenia prolaktyny po odstawieniu powyższych leków dochodzi po ok. 3 dniach. W przypadku pacjentów z objawami klinicznymi hiperprolaktynemii należy rozważyć przerwę w leczeniu na 3 dni lub zamianę stosowanego leku na inny niewywołujący hiperprolaktynemii (*Melmed i wsp.*, 2011) i ponowne oznaczenie stężenia prolaktyny w surowicy krwi. Jeśli jest to niemożliwe, można rozważyć włączenie agonisty dopaminy do terapii. Ostrożność we włączaniu agonisty dopaminy wynika z doniesień, iż mimo leczenia nie u wszystkich chorych udaje się uzyskać normalizację stężenia prolaktyny, a u niektórych dochodzi do zaostrzenia objawów psychotycznych.

Decyzja o przerwaniu lub zmianie leczenia nie powinna być podejmowana bez konsultacji z lekarzem prowadzącym terapię lekiem, który wywołał hiperprolaktynemię. Jeśli nie nastąpi normalizacja stężenia prolaktyny, albo jeśli leczenie nie może zostać przerwane, a nie ma dowodów, że hiperprolaktynemia jest skutkiem stosowania danego leku, rekomenduje się wykonanie obrazowania układu podwzgórzowo–przysadkowego za pomocą MR (*Melmed i wsp.*, 2011).

Warto zaznaczyć, że *The Endocrine Society* (https://www.endocrine.org/) nie rekomenduje leczenia bezobjawowej hiperprolaktynemii indukowanej lekami, natomiast sugeruje substytucję testosteronem w przypadku długotrwałego hipogonadyzmu (*Melmed i wsp.*, 2011).

Podsumowanie

Lekarze diagnozujący hipogonadyzm, zaburzenia seksualne, czy niepłodność u mężczyzn coraz częściej będą się spotykać ze zjawiskiem hiperprolaktynemii. U dużego odsetka badanych stężenie prolaktyny będzie nieznacznie podwyższone, co najczęściej będzie powodowane czynnikami fizjologicznymi, stresem, stosowanymi lekami, i nie wymaga leczenia. Rzadziej spotykane są przypadki istotnej hiperprolaktynemii, które będą wymagały poszerzenia diagnostyki i włączenia leczenia przyczynowego.

Piśmiennictwo

Alosaimi F.D., Fallata E.O., Abalhassan M., Alhabbad A., Alzain N., Alhaddad B., Alassiry M.Z.: Prevalence and risk factors of hyperprolactinemia among patients with various psychiatric diagnoses and medications. Int J Psychiatry Clin Pract. 2018, 22(4), 274–281. doi: 10.1080/13651501.2018.1425459. PMID: 29334291.

Ambrosi B., Bara R., Travaglini R.P., Weber G., Beck Peccoz P., Rondena M. i wsp.: Study of the effects of bromocriptine on sexual impotence. Clin Endocrinol (Oxf). 1977, 7(5), 417–421. doi: 10.1111/j.1365-2265.1977.tb03351.x. PMID: 338206.

Banskota S., Adamson D.C.: Pituitary adenomas: from diagnosis to therapeutics. Biomedicines. 2021, 9(5), 494. doi: 10.3390/biomedicines9050494. PMID: 33946142

Buvat J., Lemaire A., Buvat-Herbaut M., Fourlinnie J.C., Racadot A., Fossati P.: Hyperprolactinemia and sexual function in men. Hormone Res. 1985, 22(3), 196–203. doi: 10.1159/000180094. PMID: 4054839.

Buvat J.: Hyperprolactinemia and sexual function in men: short review. Int J Impot Res. 2003, 15(5), 373–377. doi: 10.1038/sj.ijir.3901043. PMID: 14562140.

Colao A., di Sarno A., Pivonello R., di Somma C., Lombardi G.: Dopamine receptor agonists for treating prolactinomas. Expert Opin. Investig. Drugs 2002, 11, 787–800. doi: 10.1517/13543784.11.6.787. PMID: 12036422.

Colao A., Vitale G., Cappabianca P., Briganti F., Ciccarelli A., De Rosa M. i wsp.: Outcome of cabergoline treatment in men with prolactinoma: effects of a 24-month treatment on prolactin levels, tumor mass, recovery of pituitary function, and semen analysis. J Clin Endocrinol Metab. 2004, 89(4), 1704–171. doi: 10.1210/jc.2003-030979. PMID: 15070934.

De Rosa M., Ciccarelli A., Zarrilli S., Guerra E., Gaccione M., Di Sarno A. i wsp.: The treatment with cabergoline for 24 month normalizes the quality of seminal fluid in hyperprolactinaemic males. Clin Endocrinol (Oxf). 2006, 64(3), 307–313. doi: 10.1111/j.1365-2265.2006.02461.x. PMID: 16487441.

De Rosa M., Zarrilli S., di Sarno A., Milano N., Boggia B., Lombardi G. i wsp.: Hyperprolactinemia in men. Endocrine 2003, 20(1-2), 75–82. doi: 10.1385/ENDO:20:1-2:75. PMID: 12668871.

Delgrange E., Daems T., Verhelst J., Abs R., Maiter D.: Characterization of resistance to the prolactin-lowering effects of cabergoline in macroprolactinomas: a study in 122 patients. Eur J Endocrinol. 2009; 160(5), 747–752. doi: 10.1530/EJE-09-0012. PMID: 19223454.

Green K.I., Amadi C.: Status of serum prolactin levels among male cohort in infertile couples. Int J Appl Basic Med Res. 2020, 10(4), 245–251. doi: 10.4103/ijabmr.IJABMR_323_19. PMID: 33376697

Hattori N., Ikekubo K., Nakaya Y., Kitagawa K., Inagaki C.: Immunoglobulin G subclasses and prolactin (PRL) isoforms in macroprolactinemia due to anti-PRL autoantibodies. J Clin Endocrinol Metab. 2005, 90(5), 3036–3044. doi: 10.1210/jc.2004-1600. PMID: 15687336.

Jeske W.: Przyczyny rozbieżności wyników oznaczeń prolaktyny i powody prawdziwej albo pozornej niezgodności ze stanem klinicznym. Endokrynol Pol. 2008, 59(1), 30–32. PMID: 18335398.

Kula K., Słowikowska-Hilczer J.: Choroby jąder. W: Interna Szczeklika. Podręcznik chorób wewnętrznych 2021. Gajewski P. (red.). Medycyna Praktyczna, Kraków 2021.

Melmed S., Casanueva F.F., Hoffman A.R., Kleinberg D.L., Montori V.M., Schlechte J.A. i wsp.: Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2011, 96(2), 273–288. doi: 10.1210/jc.2010-1692. PMID: 21296991.

Milewicz A. (red.).: Endokrynologia kliniczna. Wyd. Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne, Wrocław 2012.

Ono M., Miki N., Kawamata T., Makino R., Amano K., Seki T. i wsp.: Prospective study of high-dose cabergoline treatment of prolactinomas in 150 patients. J Clin Endocrinol Metab. 2008, 93, 4721–4727. doi: 10.1210/jc.2007-2758. PMID: 18812485.

Pinzone J.J., Katznelson L., Danila D.C., Pauler D.K., Miller C.S., Klibanski A.: Primary medical therapy of micro- and macroprolactinomas in men. J Clin Endocrinol Metab. 2000, 85(9), 3053–3057. doi: 10.1210/jcem.85.9.6798. PMID: 10999785.

Schade R., Andersohn F., Suissa S., Haverkamp W., Garbe E.: Dopamine agonist and the risk of cardiac-valve regurgitation. N Engl J Med. 2007, 356(1), 29–38. doi: 10.1056/NEJMoa062222. PMID: 17202453.

Singh P., Singh M., Cugati G., Singh A.K.: Hyperprolactinemia: An often missed cause of male infertility. J Hum Reprod Sci. 2011, 4, 102–103. doi: 10.4103/0974-1208.86094. PMID: 22065670

Sinha Y.N.: Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. Endocr Rev. 1995, 16(3), 354–369. doi: 10.1210/edrv-16-3-354. PMID: 7671851.

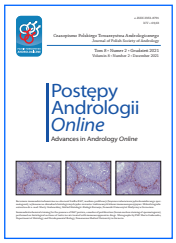
Słowikowska-Hilczer J. (red).: Andrologia. Zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii. PZWL, Warszawa 2021.

Verhelst J., Abs R., Maiter D., van den Bruel A., Vandeweghe M., Velkeniers B. i wsp.: Cabergoline in the treatment of hyperprolactinemia: a study in 455 patients. J Clin Endocrinol Metab. 1999, 84(7), 2518–2522. doi: 10.1210/jcem.84.7.5810. PMID: 10404830.

Vroonen L., Daly A.F., Beckers, A.: Epidemiology and management challenges in prolactinomas. Neuroendocrinology 2019, 109, 20–27. doi: 10.1159/000497746. PMID: 30731464

Zgliczyński W. (red.).: Wielka Interna. Endokrynologia. Wyd. Medical Tribune Polska, Warszawa 2020.

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology
Postępy Andrologii *Online*
Advances in Andrology *Online*
http://www.postepyandrologii.pl



INSTRUKCJE DLA AUTORÓW
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Informacje ogólne

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

Opłaty związane z publikacją artykułów

Czasopismo nie pobiera żadnych opłat za przygotowanie, opublikowanie i rozpowszechnianie artykułów za wyjątkiem komercyjnych reklam.

Odpowiedzialność etyczna autorów

Procedury etyczne stosowane w Postępach Andrologii *Online* zostały stworzone w oparciu o wytyczne *Committe on Publication Ethics* (COPE), *European Associated of Science Editors* (EASE), *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE) i *World Association of Medical Editors* (WAME), które mają na celu utrzymanie integralności badań i ich prezentacji. Manuskrypt zgłoszony do Redakcji musi spełniać następujące kryteria:

- Praca nie była wcześniej publikowana w części lub całości (autoplagiat), z wyjątkiem materiałów zjazdowych, chyba że nowa praca dotyczy rozszerzenia wcześniejszych opublikowanych danych.
- Praca nie została równocześnie skierowana do publikacji w innym czasopiśmie.
- Uzyskane dane z badań oryginalnych nie powinny być publikowane w częściach w celu zwiększenia liczby publikacji („*salami*" *publications*), ale w całości. Takie postępowanie jest nieetyczne i nie do przyjęcia. Jednakże, dopuszczalne jest prezentowanie danych w częściach, jeśli ma to na celu uzyskanie przejrzystej interpretacji wyników oraz analizę konkretnych wyników w różnych manuskryptach.
- Żadne dane zamieszczone w manuskrypcie nie zostały sfabrykowane i/lub zmanipulowane.
- Autorzy powinni być przygotowani na przesłanie odpowiedniej dokumentacji lub danych w celu weryfikacji wyników.
- Publikacja nie narusza praw autorskich innych osób. Prezentowane dane, teksty i teorie nie są plagiatem. Autorzy powinni cytować publikacje innych autorów oraz własnej grupy badawczej, które są niezbędne dla analizy i interpretacji prezentowanych danych.
- Wszyscy autorzy powinni wnieść znaczący wkład naukowy w badania, a także uczestniczyć w pisaniu i rewizji manuskryptu. Autorzy dzielą się zbiorową odpowiedzialnością i odpowiedzialnością za wyniki. Wypełnili i podpisali oświadczenie autorów (http://www.postepyandrologii.pl/pdf/Oswiadczenie autorow.pdf), akceptując skierowanie pracy do druku.
- Honorowe autorstwo jest niedozwolone.
- Dodawanie i/lub usuwanie autorów i/lub zmiana kolejności autorów na etapie rewizji może być dopuszczalna i wymaga pisemnego uzasadnienia oraz zgody wszystkich autorów. Zmiany w autorstwie i/ lub kolejności autorów nie są akceptowane po zatwierdzeniu manuskryptu do druku.
- Autorzy zobowiązani są do podania w manuskrypcie wszelkich źródeł finansowania badań.

Jeżeli zgłoszony do Redakcji manuskrypt nie będzie spełniał powyższych kryteriów Redaktor Naczelny ma prawo odrzucić artykuł i zwrócić Autorowi.

Badania z udziałem ludzi i/lub zwierząt

Badania przeprowadzone na ludziach powinny być zgodne z ogólnie przyjętymi standardami etycznymi określonymi w Deklaracji Helsińskiej z 1964 r. i późniejszymi

poprawkami lub porównywalnymi standardami etycznymi. Z kolei, badania prowadzone na zwierzętach powinny być zgodne z międzynarodowymi, krajowymi i/lub instytucjonalnymi wytycznymi dotyczącymi opieki i wykorzystania zwierząt. Informacja o zgodzie właściwej Komisji Etycznej na przeprowadzenie badania i świadomej zgodzie pacjentów na udział w badaniu powinna znaleźć się w rozdziale „Materiał i metody". W przypadku badań retrospektywnych taka zgoda nie jest wymagana. Autorzy opisów przypadków są zobowiązani do nieujawniania personaliów opisywanych pacjentów, a w przypadku fotografii umożliwiających identyfikację pacjenta zawsze należy uzyskać pisemną zgodę pacjenta.

Konflikt interesów

W pracy powinny być ujawnione wszelkie finansowe i osobiste relacje autorów z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby niewłaściwie wpłynąć na ich pracę. Ewentualny konflikt interesów powinien być opisany w oświadczeniu autorów (http://www.postepyandrologii.pl/pdf/Oswiadczenie autorow.pdf). Informacje te nie będą ujawniane recenzentom.

Informacje o prawach autorskich

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

Ochrona danych osobowych

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

Zasady recenzowania prac

Nadsyłane manuskrypty wstępnie ocenia Komitet Redakcyjny czasopisma. Manuskrypty niekompletne lub przygotowane w stylu niezgodnym z zasadami podanymi poniżej Redakcja odsyła Autorom bez oceny merytorycznej. Pozostałe artykuły zostają zarejestrowane i są następnie przekazywane do oceny dwóm niezależnym recenzentom będącym ekspertami w danej dziedzinie, z zachowaniem anonimowości autorów pracy i recenzentów (*double-blind peer review process*). Recenzenci są odpowiedzialni za obiektywną ocenę manuskryptu, deklarują brak konfliktu interesów podpisując oświadczenie (http://www.postepyandrologii.pl/pdf/Formularz recenzenta Postepy Andrologii Online_19-05-2016.pdf). Przyjęcie pracy odbywa się na podstawie pozytywnych opinii obydwóch recenzentów. W przypadku rozbieżnych opinii Redakcja prosi o opinię trzeciego recenzenta. Autorzy zobowiązani są odnieść się do uwag recenzentów w ciągu 3 tygodni od daty otrzymania recenzji. Wszelka korespondencja z Autorami odbywa się drogą e-mailową.

Sposób przygotowania manuskryptu

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

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

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

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

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

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

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

Streszczenie powinno zawierać najistotniejsze informacje wprowadzające czytelnika w publikowaną tematykę oraz wnioski końcowe (do 400 wyrazów). Nie należy używać skrótów.

Tekst podstawowy

Artykuł poglądowy powinien zawierać przegląd informacji z danej tematyki. Zaleca się uwzględnienie prac publikowanych w ostatnich 5–10 latach (ok. 60%) oraz w latach wcześniejszych (ok. 40%). Dopuszczalna liczba pozycji piśmiennictwa to 100. W manuskrypcie autorzy powinni zawrzeć własne przemyślenia, opinie i wnioski, a istotne informacje przedstawić w postaci schematów, tabel i rycin. Ponadto, artykuł mogą wzbogacić wyniki badań autorskich. Liczba stron manuskryptu łącznie z tabelami i rycinami nie powinna być większa niż 20.

Artykuł oryginalny powinien zawierać opis własnych badań klinicznych lub doświadczalnych Autorów. Powinien składać się z takich podrozdziałów jak: Wstęp, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie. Dopuszczalna liczba pozycji piśmiennictwa to 100. Liczba stron manuskryptu łącznie z tabelami i rycinami nie powinna być większa niż 20.

Praca kazuistyczna to krótka forma publikacji prezentująca ciekawe przypadki kliniczne i ich omówienie oparte na własnych doświadczeniach praktyka klinicysty i doświadczeniach innych autorów. Streszczenie nie powinno przekraczać 150 wyrazów, Wstęp powinien zawierać nie więcej niż dwa krótkie akapity, Materiał i Metody nie powinny być podzielone na podrozdziały, a Wyniki, Dyskusja i Podsumowanie powinny stanowić jeden rozdział. Liczba rycin i tabel ograniczona do 2–3, piśmiennictwa do 10. Liczba stron manuskryptu nie powinna być większa niż 10.

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

Artykuł będący tłumaczeniem publikacji z języka angielskiego powinien dotyczyć najnowszych i istotnych pozycji piśmiennictwa anglojęzycznego. Należy dołączyć zgodę redaktora naczelnego czasopisma, w którym artykuł został opublikowany i autora na tłumaczenie artykułu. Streszczenie artykułu powinno zawierać treść istotną do przekazania dla czytelników polskich (do 400 wyrazów).

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

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

Oto przykłady, jak należy cytować książkę: 1) w całości, 2) fragment konkretnego rozdziału wraz z podaniem numerów stron, 3) oryginalną pracę naukową, 4) oryginalną pracę naukową w czasopiśmie elektronicznymi (data przeglądania i adres URL) i 5) stronę internetową (nazwa strony – materiału źródłowego, adres URL i datę wejścia na stronę):

1. *Semczuk M., Kurpisz M.* (red.): Andrologia. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2006.
2. *Woźniak W., Bruska M., Kromer P.*: Pęcherzyki nasienne, gruczoł krokowy i gruczoły cewkowo-opuszkowe. W: Andrologia. Red. M. Semczuk, M. Kurpisz. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2006, 94–89.
3. *Kobori Y., Suzuki K., Iwahata T., Shin T., Sadaoka Y., Sato R. i wsp.*: Improvement of seminal quality and sexual function of men with oligoasthenoteratozoospermia syndrome following supplementation with L-arginine and Pycnogenol®. Arch Ital Urol Androl. 2015, 87, 190–193. doi: 10.4081/aiua.2015.3.190. PMID: 26428638
4. *Walczak-Jędrzejowska R.*: Stres oksydacyjny a niepłodność męska. Część I: czynniki wywołujące stres oksydacyjny w nasieniu / Oxidative stress and male infertility. Part I: factors causing oxidative stress in semen. Post Androl Online. 2015, 2, 5–15. [przeglądany: 07.10.2015 r.]. Dostępny w: http://www.postepyandrologii.pl
5. Wiley Online Library http://onlinelibrary.wiley.com/enhanced/doi/10.1111/andr.12051/, data wejścia 07.10.2015 r.

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

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

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

Piśmiennictwo powinno zawierać publikacje innych autorów oraz własnej grupy badawczej, które są istotne dla badań.

Materiał ilustracyjny obejmuje ryciny (wykresy, diagramy, zdjęcia, schematy) oraz tabele opatrzone tytułami i podpisami. W przypadku rycin zarówno tytuł, jak i opis powinny być umieszczone pod rycinami, a w przypadku tabel nad tabelami. Tytuł tabeli należy wytłuścić. Podpisy rycin i tabel oraz ich tytuły, a także informacje wewnętrzne na rycinach i w tabelach

należy podać w języku polskim i angielskim (dotyczy prac w języku polskim). Ryciny i tabele powinny być opatrzone numerami zgodnie z kolejnością odniesień w tekście. Osobną numerację posiadają ryciny i osobną tabele (numery arabskie). Skrót Ryc. (pisany kursywą) wprowadzamy w podpisie pod rycinami, natomiast w tytule tabeli nie stosujemy skrótu Tab., lecz Tabela. Nie stosujemy w tekście podstawowym skrótów ryc. lub tab., lecz rycina lub tabela.

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

Stosowane oznaczenia i skróty na rycinach i w tabelach powinny być wyjaśnione w opisie rycin i tabel, niezależnie do ich rozwinięcia w tekście podstawowym.
Uwaga: pojedyncze ryciny bądź ryciny złożone z kilku zdjęć, wykresów, diagramów lub schematów należy zintegrować z wewnętrznymi oznaczeniami.

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

Przesyłanie prac do Redakcji

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

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

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

Publikowanie prac

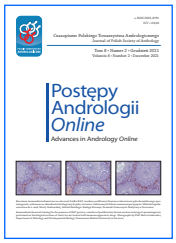
Prace będą publikowane w kolejności otrzymywania, jednak redakcja zastrzega sobie prawo zmian uzasadnionych treścią drukowanego numeru. Ponadto zastrzega sobie prawo wprowadzenia poprawek stylistycznych i dotyczących mianownictwa oraz stosowanych skrótów bez uzgodnienia z autorem.

Po zaakceptowaniu pracy do publikacji autorzy otrzymują korektę drukarską. Celem korekty drukarskiej jest sprawdzenie błędów składu lub konwersji oraz kompletności i dokładności tekstu, tabel i rycin. Autorzy są zobowiązani w ciągu trzech dni od otrzymania korekty drukarskiej przesłać ewentualne poprawki. Zmiana tytułu i/lub autorstwa oraz wprowadzanie nowych wartości jest niedozwolone.

Zasady udostępniania informacji naukowych zawartych w czasopiśmie

Informacje zawarte w czasopiśmie są udostępniane na zasadzie Open Access - dostęp do informacji naukowej jest bezpłatny i nieograniczony. Użytkownicy mogą czytać, pobierać, kopiować, rozpowszechniać, drukować, wyszukiwać, łączyć informacje z pełnymi tekstami artykułów lub wykorzystywać je do jakichkolwiek innych celów zgodnych z obowiązującą licencją CC BY NC ND 3.0 Polska (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/pl/legalcode). Licencja ta obliguje do uznania autorstwa, zezwala na rozpowszechnianie, przedstawianie i wykonywanie utworu jedynie w celach niekomercyjnych oraz pod warunkiem zachowania go w oryginalnej postaci (bez tworzenia utworów zależnych).

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology
Postępy Andrologii *Online*
Advances in Andrology *Online*
http://www.postepyandrologii.pl

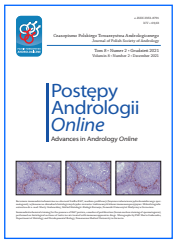


RECENZENCI PRAC OPUBLIKOWANYCH W 2021 R.

REVIEWERS IN 2021

Mirosław Andrusiewicz
Jolanta Słowikowska-Hilczer
Maciej Kurpisz
Rafał Kurzawa
Katarzyna Marchlewska
Marcin Słojewski
Michał Rabijewski
Jan Karol Wolski

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology
Postępy Andrologii *Online*
Advances in Andrology *Online*
http://www.postepyandrologii.pl



REKLAMA

SUPLEMENT DIETY

TENfertil™ ON

OPTYMALNE WSPARCIE PŁODNOŚCI

10 składników

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

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

www.tenfertil.pl www.nhinstitute.pl