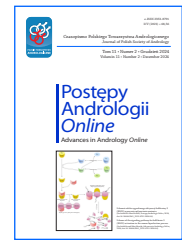




Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego
Journal of Polish Society of Andrology

Postępy Andrologii Online
Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>



ETIOLOGIA I SKUTKI KLINICZNE PODWYŻSZONEJ LEPKOŚCI NASIENIA W KONTEKŚCIE ZDROWIA REPRODUKCYJNEGO MĘŻCZYZN

THE ETIOLOGY AND CLINICAL CONSEQUENCES OF INCREASED SEMEN VISCOSITY IN THE CONTEXT OF MALE REPRODUCTIVE HEALTH

Anna Suchodolska , Katarzyna Marchlewska *

Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Department of Reproductive Endocrinology, Chair of Andrology and Reproductive Endocrinology, Medical University of Lodz

*Autor do korespondencji/corresponding author: Katarzyna Marchlewska, Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

tel.: +48 42 2014142

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

Otrzymano / Received: 20.12.2024 r. Zaakceptowano / Accepted: 15.01.2025 r.

DOI: [10.26404/PAO_2353-8791.2024.04](https://doi.org/10.26404/PAO_2353-8791.2024.04)



Katarzyna Marchlewska – dr hab. n. med., absolwentka Uniwersytetu Łódzkiego, biolog, specjalność biochemia, oraz Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, diagnosta laboratoryjny. Nauczyciel akademicki w Zakładzie Endokrynologii Płodności Katedry Andrologii i Endokrynologii Płodności Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Współwykonawca polskich i europejskich projektów badawczych. Pierwszy autor i współautor licznych publikacji naukowych. Członek Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, członek Międzynarodowego Towarzystwa Andrologicznego. Praca zawodowa i naukowa autorki związana jest z badaniami nad czynnością męskiego układu płciowego i jego zaburzeniami oraz diagnostyką seminologiczną.

Katarzyna Marchlewska – assistant professor, graduate of the University of Lodz, biologist, specializing in biochemistry, and the Medical University of Lublin, laboratory diagnostician. Academic teacher at the Division of Reproductive Endocrinology, Department of Andrology and Reproductive Endocrinology, Medical University of Lodz. Co-investigator of Polish and European research projects. First author and co-author of numerous scientific publications. Member of the Polish Andrological Society, member of the International Andrological Society. The author's professional and scientific work is related to research on the function of the male reproductive system and its disorders, as well as seminological diagnostics.



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>

Streszczenie

Lepkość nasienia to istotny parametr w ocenie jakości ejakulatu, który wpływa na m.in. zdolność plemników do poruszania się i penetracji wydzieliny żeńskich dróg rodnych, co jest kluczowe dla zapłodnienia. Wykazano, że zwiększona lepkość ejakulatu występuje częściej u mężczyzn, u których stwierdzono występowanie problemów z płodnością. Ponadto wiąże się ona z gorszymi wynikami zapłodnienia *in vitro* i słabszą skutecznością transferu zarodków. Oceny lepkości dokonuje się po upłynięciu nasienia. Jest to proces zachodzący po ejakulacji, będący wynikiem proteolizy seminogeliny przez kalikreinę 3, który regulowany jest poprzez jony cynku. Podwyższona lepkość nasienia może mieć związek z różnymi zaburzeniami, w tym dysfunkcją gruczołów dodatkowych męskiego układu płciowego, infekcjami i zapaleniami układu moczowo-płciowego, stresem oksydacyjnym, odwodnieniem, mukowiscydozą, czy obecnością przeciwciał przeciwplemnikowych. Nadmierna lepkość nasienia może prowadzić do problemów z płodnością poprzez ograniczenie czynności plemników oraz pośrednio powodując uszkodzenia DNA.

Słowa kluczowe: podwyższona lepkość nasienia, reologia nasienia, upłynięcie nasienia

Abstract

Semen viscosity is an important parameter in the assessment of ejaculate quality, affecting the motility of sperm and their ability to penetrate female reproductive secretions, which is crucial for fertilization. Increased ejaculate viscosity is more common in men with fertility issues and is associated with poorer *in vitro* fertilization outcomes and reduced embryo transfer efficacy. Viscosity assessment is performed following semen liquefaction, a process that occurs post-ejaculation due to the proteolysis of seminogelin by kallikrein-3, regulated by zinc ions. Elevated semen viscosity may be associated with various disorders, including dysfunction of the male accessory glands, infections and inflammations of the urogenital tract, oxidative stress, dehydration, cystic fibrosis, and the presence of sperm antibodies. Excessive semen viscosity can lead to fertility issues by impairing sperm function and potentially causing DNA damage.

Key words: increased semen viscosity, semen rheology, semen liquefaction

Skróty / Abbreviations

KLK2 – ludzka peptydaza 2 związana z kalikreina, kalikreina 2 (ang. *kallikrein related peptidase 2*); KLK3 – ludzka peptydaza 3 związana z kalikreina, kalikreina 3 (ang. *kallikrein related peptidase 3*); KLK5 – ludzka peptydaza 5 związana z kalikreina, kalikreina 5 (ang. *kallikrein related peptidase 5*); MAGI – zapalenie męskich gruczołów dodatkowych (ang. *male accessory gland infection/inflammation*); PSA – antygen specyficzny dla prostaty, antygen sterczowy (ang. *prostate-specific antigen*); RFT – *reaktywne formy tlenu* (ang. *reactive oxygen species – ROS*); SEMG – seminogelina (ang. *semenogelin*); SPMI – inhibitor ruchliwości plazmy nasiennej (ang. *seminal plasma motility inhibitor*), SHV – zwiększona lepkość nasienia (ang. *semen hyperviscosity*); WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

Czas upłynięcia oraz lepkość nasienia stanowią jeden z parametrów, który zgodnie z zaleceniami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*), należy ocenić, przeprowadzając wstępne badanie makroskopowe nasienia. Reologia nasienia może dać wiele informacji na temat zdolności prokreacyjnej mężczyzn, ponieważ lepkość ma fundamentalną rolę w procesie zapłodnienia i jest niezwykle istotna dla poprawnego działania plemników (*Barbagallo i wsp., 2021*). Prawidłowa lepkość ułatwia plemnikom wnikanie do śluzu szyjkowego, pomaga w utrzymaniu ich prawidłowej ruchliwości, która umożliwi im przepływ przez wydzielinę dróg rodnych u kobiety. Ponadto lepkość ma swój udział w zapewnieniu integralności chromatyny plemnika, przeciwdziałaniu peroksydacji lipidów oraz regulacji rozmieszczenia ładunków powierzchniowych na błonie plemnika w czasie uzyskiwania przez niego dojrzałości (*Harchegani i wsp., 2019*).

Jednak, analizując piśmiennictwo dotyczące tego zagadnienia, trudno jest precyzyjnie zdefiniować

World Health Organization (*WHO, 2021*) guidelines recommend that preliminary macroscopic semen analysis should include the liquefaction time and viscosity of semen. Semen rheology can provide significant insights into male reproductive capabilities, as viscosity plays a fundamental role in fertilization and is crucial for sperm functioning (*Barbagallo et al., 2021*). Optimal viscosity facilitates more effective penetration of sperm into the cervical mucus, helping maintain their motility, and enabling their navigation through female reproductive secretions. Furthermore, viscosity influences sperm chromatin integrity, prevents lipid peroxidation and regulates surface charge distribution on the sperm membrane during maturation (*Harchegani et al., 2019*).

However, the precise nature of the phenomenon remains unclear, as some authors consider increased semen viscosity (SHV, semen hyperviscosity) to result from impaired liquefaction, while others view it as a distinct phenomenon. The (*WHO, 2021*) differentiates

to zjawisko, ponieważ niektórzy autorzy uważają podwyższoną lepkość nasienia (SHV, ang. *semen hyperviscosity*) za efekt braku upłynnienia (zaburzenia upłynnienia), a inni za zjawiska odrębne. W podręczniku (WHO, 2021) zróżnicowano te zjawiska cyt. „W przeciwieństwie do częściowo nieupłynnionej próbki, ejakulat o podwyższonej lepkości wykazuje jednorodną lepkość, a jego konsystencja nie zmienia się z czasem”.

Celem niniejszego opracowania będzie próba podsumowania współczesnych poglądów na ten temat. Zagadnienia związane z badaniem lepkości nasienia ludzkiego są przedmiotem badań prowadzonych przez autorów. Wstępne wyniki badań empirycznych zostały zaprezentowane i uzyskały nagrodę Europejskiej Akademii Andrologii na 13 Europejskim Kongresie Andrologicznym (Sztokholm, 2024).

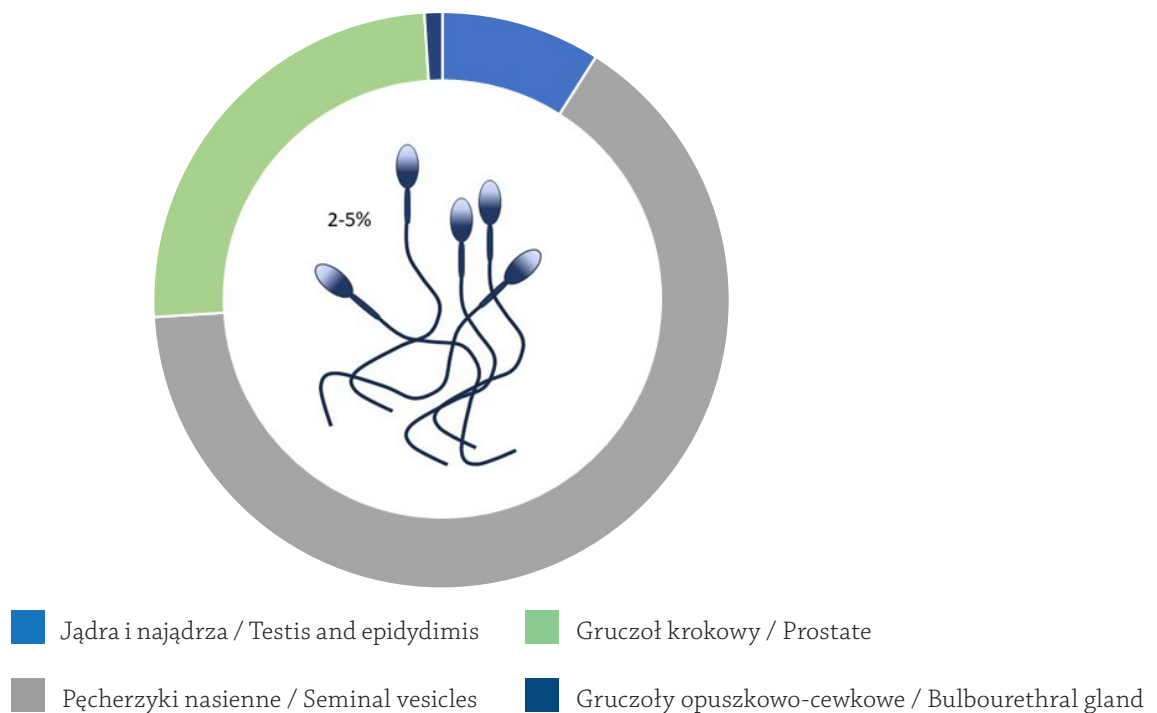
between these phenomena thus: “In contrast to a partially unliquified sample, a viscous ejaculate specimen exhibits homogeneous stickiness, and its consistency will not change with time”.

The aim of this paper is to present a summary of current views on this topic. Issues related to the study of human semen viscosity are the subject of research conducted by the authors. Initial results of empirical studies were presented and received the 1st prize of the European Academy of Andrology at the 13th European Congress of Andrology (Stockholm, 2024).

Skład ludzkiego nasienia / Composition of human semen

Nasienie ludzkie jest płynną strukturą, na którą składają się: frakcja komórkowa (plemniki, niedojrzałe oraz degenerujące komórki płciowe, leukocyty i komórki nabłonkowe) oraz plazma nasienna, będąca mieszaniną wydzielin z pęcherzyków nasiennych, gruczołu krokowego, najądrzy, jąder oraz gruczołów opuszkowocewkowych. (Rycina 1) (Anamthathmakula i Winuthayanon, 2020). Ludzkie nasienie składa się w przybliżeniu z 2–5% plemników i 98–95% plazmy nasiennej, jego objętość

Human semen is a fluid structure comprising a cellular fraction, consisting of sperm, immature or degenerating germ cells, leukocytes, and epithelial cells, and a seminal plasma fraction, this being a mixture of secretions from the seminal vesicles, prostate, testes, and bulbourethral glands (Figure 1) (Anamthathmakula and Winuthayanon, 2020). Human semen is composed of approximately 2–5% sperm and 95–98% seminal plasma, and the volume of a single ejaculation can vary



Ryc. 1. Składniki plazmy w ejakulacie ludzkim. Większość nasienia składa się z wydzieliny pęcherzyków nasiennych (~65%; zawierającego seminalgeliny I i II oraz fibronektynę) oraz wydzieliny gruczołu krokowego (~25%; zawierającego enzymy pro-kalikreiny [Pro-KLK] i Zn^{2+}). Wydzieliny najądrza i jądra stanowią do ~10% nasienia, podczas gdy gruczoł opuszkowo-cewkowy (wydzielający głównie białka śluzowe) stanowi tylko 1% i stanowi nawilżenie dróg wyprowadzających nasienie

Fig. 1. Plasma components of human ejaculate. The majority of semen volume consists of seminal vesicle secretion (~65%; containing semenogelins I and II and fibronectin) and prostate secretion (~25%; containing pro-kallikrein (Pro-KLK) enzymes and Zn^{2+}). Epididymal and testicular secretions account for up to ~10% of semen, while the bulbourethral gland (secreting mainly mucus proteins) accounts for only 1% and lubricates the seminal tracts

może się bardzo różnić i u zdrowego mężczyzny waha się od 1 do 7 mL (*WHO, 2021*), natomiast w przypadku pacjentów leczących się z powodu niepłodności może przyjmować wartości poza tym zakresem.

Plazma nasienna jest bogata w cukry, glikany, lipidy, jony nieorganiczne, metabolity, DNA pozakomórkowe, mikroRNA, peptydy i białka (*Drabovich i wsp., 2014*), jak również w zasadowe poliaminy, takie jak spermina, spermidyna i putrescyna, które neutralizują kwasowość pochwy i są istotne dla przeżycia plemników. Pęcherzyki nasienne wydzielają seminogeliny (SEMG, ang. *seminogelin*), fibronektynę, prostaglandyny, cytokiny i fruktozę, podczas gdy gruczoł krokowy jest odpowiedzialny za sekrecję enzymów proteolitycznych, cytrynianu i lipidów, a także jest podstawowym źródłem jonów Zn^{2+} i Ca^{2+} .

■ Koagulacja i upłynnienie nasienia / Coagulation and liquefaction of semen

Podczas ejakulacji wydzieliny łączą się i dochodzi do koagulacji nasienia w formę żelową, a następnie stopniowo zachodzi proces upłynnienia by po około 20 minutach uzyskało ono płynną homogenną konsystencję. Proces koagulacji i upłynniania wymaga białek obecnych we frakcji płynnej nasienia. Wydzielina pęcherzyków nasiennych, zawiera seminogelinę, która występuje w dwóch wariantach (SEMG I i SEMG II), i stanowi aż 20–40% białek plazmy nasienia (*Anamthathmakula i Winuthayanon, 2020*). Proteiny SEMG I i SEMG II są kodowane przez dwa różne geny (*SEMG1* i *SEMG2*) zlokalizowane na długim ramieniu chromosomu 20 (*Ulvback i wsp., 1992*). Białka te mają 80% homogenności w sekwencji aminokwasowej i zawierają podobne powtórzenia 60 reszt aminokwasowych. Dominującym białkiem jest SEMG I o masie cząsteczkowej 52 kDa, które ma sześć takich powtórzeń, a SEMG II występuje jako białko nieglikozylowane 71 kDa i glikozylowane 76 kDa, i zawiera osiem takich powtórzeń (*Lilja i Lundwall, 1992; Robert i Gagnon, 1999*). Białko SEMG I zawiera pojedynczą resztę cysteiny w pozycji 239 (Cys239) i tworzy międzycząsteczkowe mostki disiarczkowe z mniej liczny SEMG II w pozycjach Cys159 i Cys360, co skutkuje powstaniem kompleksów SEMG o dużej masie cząsteczkowej (*Mitra i wsp., 2010*). Dodatkowo SEMG łączy się z fibronektyną, co w konsekwencji tworzy gęste usieciowanie, pozwalające na uwięzienie plemników tak by mogły być bezpiecznie dostarczone do miejsca ejakulacji czyli w warunkach *in vivo* do sklepienia pochwy.

Upłynnienie nasienia jest to proces, w którym SEMG rozpada się stopniowo do polipeptydów o mniejszej masie cząsteczkowej. Proces ten zapewnia nie tylko prawidłowe środowisko, w którym plemniki mogą się swobodnie poruszać, ale również poprawność przebiegu kolejnych etapów związanych z zapłodnieniem. Peptydy powstające z SEMG pełnią istotne funkcje biologiczne, takie jak zwiększanie aktywności hialuronidazy plemnikowej

significantly, ranging from 1 to 7 ml in healthy men (*WHO, 2021*), with other values noted for patients undergoing infertility treatment.

Seminal plasma is rich in sugars, glycans, lipids, inorganic ions, metabolites, extracellular DNA, microRNAs, peptides, and proteins (*Drabovich et al., 2014*), as well as basic polyamines such as spermine, spermidine, and putrescine, which neutralize the acidity of the vagina and are essential for sperm survival. Seminal vesicles secrete seminogelins (SEMGs), fibronectin, prostaglandins, cytokines, and fructose, while the prostate contributes proteolytic enzymes, citrate, lipids, and is the primary source of Zn^{2+} and Ca^{2+} ions.

During ejaculation, secretions combine to form a gel-like coagulum, which gradually undergoes liquefaction, achieving a homogeneous liquid consistency after approximately 20 minutes. The coagulation and liquefaction processes are performed with proteins present in the liquid fraction of semen. Seminal vesicle secretions contain two variants of seminogelin, which constitute 20-40% of seminal plasma proteins (*Anamthathmakula and Winuthayanon, 2020*). Proteins SEMG I and SEMG II are encoded by two different genes (*SEMG1* and *SEMG2*) located on the long arm of chromosome 20 (*Ulvback et al., 1992*). These proteins exhibit 80% amino acid homology and contain similar repeats of 60 amino acid residues: six such repeats are present in SEMG I, the predominant protein with (52 kDa), and eight in SEMG II, which is present as non-glycosylated 71 kDa and glycosylated 76 kDa forms (*Lilja and Lundwall, 1992; Robert and Gagnon, 1999*). Protein SEMG I has a single cysteine residue at position 239 (Cys239) and forms intermolecular disulfide bridges with the less abundant SEMG II at positions Cys159 and Cys360, resulting in the formation of high-molecular-weight SEMGs complexes (*Mitra et al., 2010*). Additionally, SEMG associates with fibronectin, creating a dense network that allows for the safe entrapment of sperm, facilitating their delivery to the site of ejaculation, specifically to the vaginal fornix *in vivo*.

Semen liquefaction is the process by which SEMG gradually breaks down into smaller molecular weight polypeptides. This process not only ensures an appropriate environment for sperm to swim freely but also facilitates subsequent stages related to fertilization. Peptides derived from SEMG perform vital biological functions, as they are known to increase sperm hyaluronidase activity (*Mandal and Bhattacharyya, 1995*), bestow antibacterial properties (*Edstrom et al., 2008*),

(Mandal i Bhattacharyya, 1995), czynność przeciwbakteryjna (Edstrom i wsp., 2008), mają wpływ na hiperpolaryzację i przepuszczalność błony komórkowej plemników (Yoshida i wsp., 2009).

Rozkład SEMG zachodzi w obecności sterczowego białka – kalikreiny 3 (KLK3, ang. *kallikrein related peptidase 3*), bardziej znanej jako swoisty antygen gruczołu krokowego (PSA, ang. *prostate-specific antigen*) (Rycina 2). Kalikreina 3 powstaje jako nieaktywna preproforma, która w dalszych etapach jest modyfikowana i wydzielana w postaci nieaktywnej proformy (pro-KLK3). W procesie upłynnienia nasienia, dzięki obecności innych kalikrein, następuje aktywacja pro-KLK3 poprzez usunięcie jej N-końcowego propeptydu (Sotiropoulou i wsp., 2009).

Funkcje regulatorowe w tym procesie pełnią jony Zn^{2+} oraz region N-końcowy Sg zwany inhibitorem ruchliwości plazmy nasiennej (SPMI, ang. *seminal plasma motility inhibitor*) (Terai i wsp., 2010). Inhibitor ten chroni SEMG przed proteolizą, natomiast jony Zn^{2+} hamują aktywność KLK3. Jest to jednak proces odwracalny. Ze względu na to, że SEMG posiada większe powinowactwo do Zn^{2+} niż kalikreiny, wychwytuje on jony Zn^{2+} i aktywuje tym samym KLK3, co umożliwia zapoczątkowanie kaskady proteolitycznej. Hydroliza KLK3 zachodzi niemal wyłącznie na resztach leucyny lub tyrozyny, wykazując aktywność podobną do chymotrypsyny na fizjologicznym podłożu (He i wsp., 2022).

and influence the hyperpolarization and membrane permeability of sperm (Yoshida et al., 2009).

Seminogelin breakdown occurs in the presence of the prostate-specific protein kallikrein-3 (KLK3), known as prostate-specific antigen (PSA) (Figure 2). Kallikrein-3 is synthesized as an inactive preproform, which is later modified and released as an inactive proform (pro-KLK3). During semen liquefaction, pro-KLK3 is activated in the presence of other kallikreins by removing its N-terminal propeptide (Sotiropoulou et al., 2009).

The process is regulated by Zn^{2+} ions and the N-terminal region of SEMG, known as the seminal plasma motility inhibitor (SPMI) (Terai et al., 2010). This inhibitor protects SEMG from proteolysis, while Zn^{2+} ions inhibit KLK3 activity. However, this is a reversible process. As SEMG has higher affinity for Zn^{2+} than for kallikreins, it captures Zn^{2+} ions; it thereby activates KLK3, which initiates the proteolytic cascade. The hydrolysis by KLK3 occurs almost exclusively at leucine or tyrosine residues, displaying activity similar to that of chymotrypsin under physiological conditions (He et al., 2022).

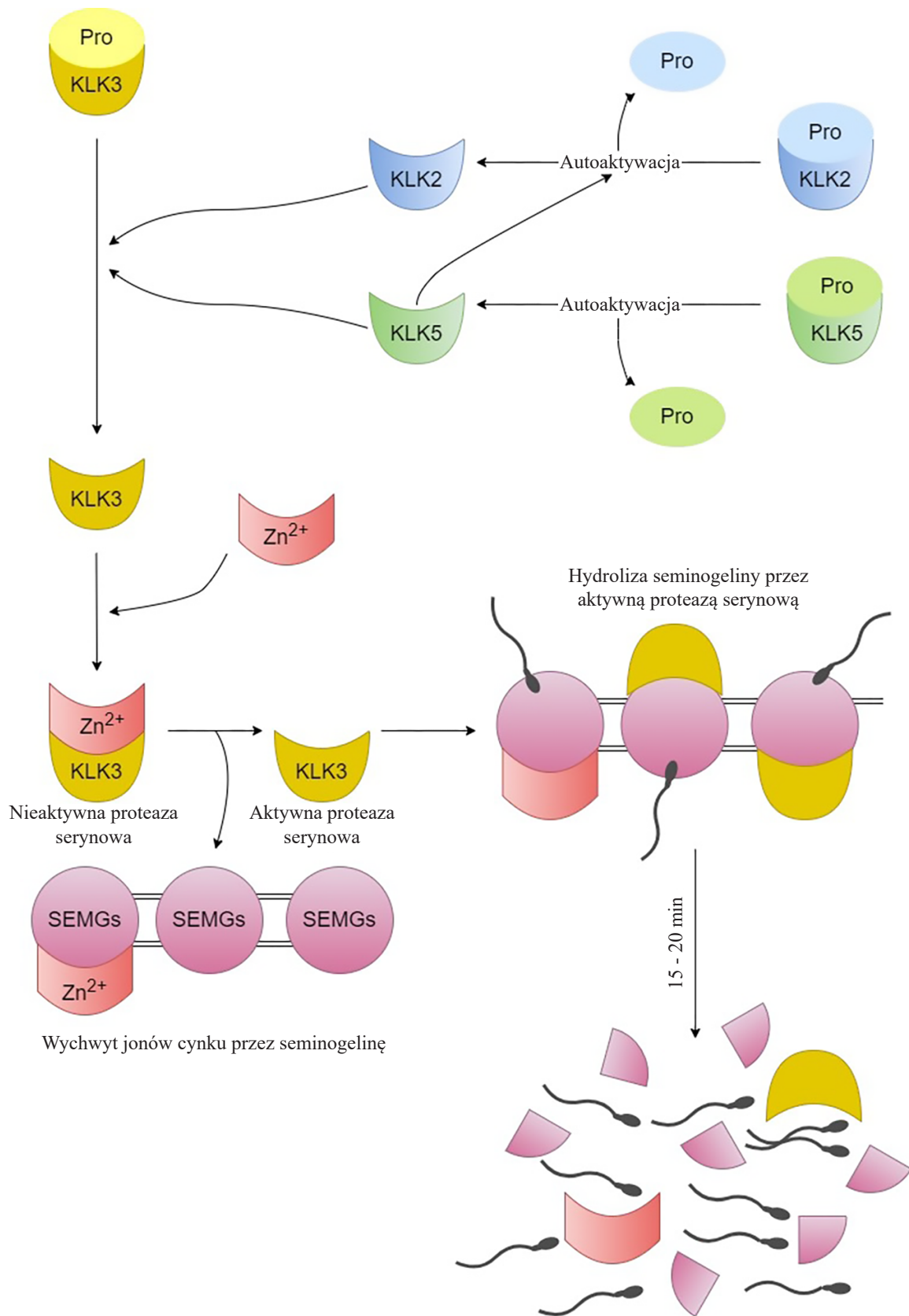
Rola śluzu w męskim układzie moczowo-płciowym Role of mucus in the male urogenital system

Śluz jest złożoną, lepkosprężystą, wydzieliną, która jest syntetyzowana i wydzielana przez wyspecjalizowane komórki gruczołowe. Należą do nich komórki kubkowe i śluzowe w jednowarstwowym nabłonku walcowatym, który wyściela światło narządów i gruczołów. Narażone są one na działanie środowiska zewnętrznego, z którym się komunikują (Corfield, 2015). Dotyczy to wewnętrznych wyściółek narządów układu oddechowego, przewodu pokarmowego, i co istotne układu płciowego (Bansil i Turner, 2018).

Głównym składnikiem śluzu są mucyny oraz glikoproteiny śluzu. Właściwości lepkosprężyste, reologiczne i chemiczne tej grupy cząsteczek są dostosowane do wymagań fizjologicznych dyktowanych przez miejsce ekspresji w organizmie. Na powierzchniach błon śluzowych mogą przyjmować formę sieci monomerów w strukturach homooligomerycznych jako żele lepkosprężyste, podczas gdy mucyny związane z błonami są typowymi monomerycznymi glikoproteinami zakotwiczonymi w błonie, które nie tworzą żeli (Bansil i Turner, 2018). Chociaż glikoproteiny mucynowe stanowią główny składnik śluzu, jednak to nieśluzowe, pomocnicze białka odgrywają kluczową rolę w ochronnych funkcjach śluzu. Wiele z nich to białka pochodzące z nabłonkowego przesączania surowicy. Można je ogólnie zaliczyć do białek

Mucus is a complex, viscoelastic secretion synthesized and secreted by specialized goblet and mucous cells; these are present in the columnar epithelium lining the lumina of all organs and glands exposed to the external environment (Corfield, 2015). This includes the internal linings of the respiratory and gastrointestinal tracts, and notably, the urogenital system (Bansil and Turner, 2018).

Its primary components are mucins and mucous glycoproteins. Their viscoelastic, rheological, and chemical properties are tailored to the physiological requirements of their site of expression. On the surfaces of mucosal membranes, they can take the form of networks of monomers in homooligomeric structures like viscoelastic gels, while membrane-bound mucins are typical monomeric membrane-anchored glycoproteins that do not form gels (Bansil and Turner, 2018). Although mucin glycoproteins are the major component of mucus, it is the nonmucus accessory proteins that play a key role in its protective function. Many of the latter are derived from epithelial serum filtration, and can be broadly classified as defence proteins, growth factors, and structural proteins (Bej and Haag, 2022).



Ryc. 2. Schemat szlaku sygnałowego aktywacji kalikreiny 3 (KLK3) w procesie upłynnienia nasienia. Proformy kalikrein są składnikami wydzieliny gruczołu krokowego. Właśnie tam pro-KLK5 podlega autoaktywacji, a autoaktywność katalityczna powoduje odszczepienie sekwencji propeptydowej. Aktywna kalikreina 5 (KLK5) aktywuje pro-KLK2, które ulega także rozpadowi na część propeptydową, która jest nieaktywna, oraz aktywny enzym. Kalikreiny 5 oraz 2 stanowią aktywatory dla pro-KLK3. Jednak do uwolnionej części enzymu przyłączają się obecne w wydzielinie stercza jony Zn²⁺, które powodują inaktywację KLK3. W chwili zajścia wytrysku jony cynku zostają wychwycone i przyłączone przez seminogeliny (SEMGs), którą znajduje się w płynie pęcherzyków nasiennych i w momencie wytrysku miesza się z wydzieliną gruczołu krokowego. Związanie jonów Zn²⁺ sprawia, że KLK3 staje się aktywna i może rozpocząć hydrolizę SEMG na mniejsze frakcje. Skutkiem rozkładu SEMG jest upłynnienie nasienia, co sprawia, że plemniki mogą się prawidłowo poruszać i łatwiej przemieszczać w drogach rodnych kobiety (Anamthathmakula i Winuthayanon, 2020)

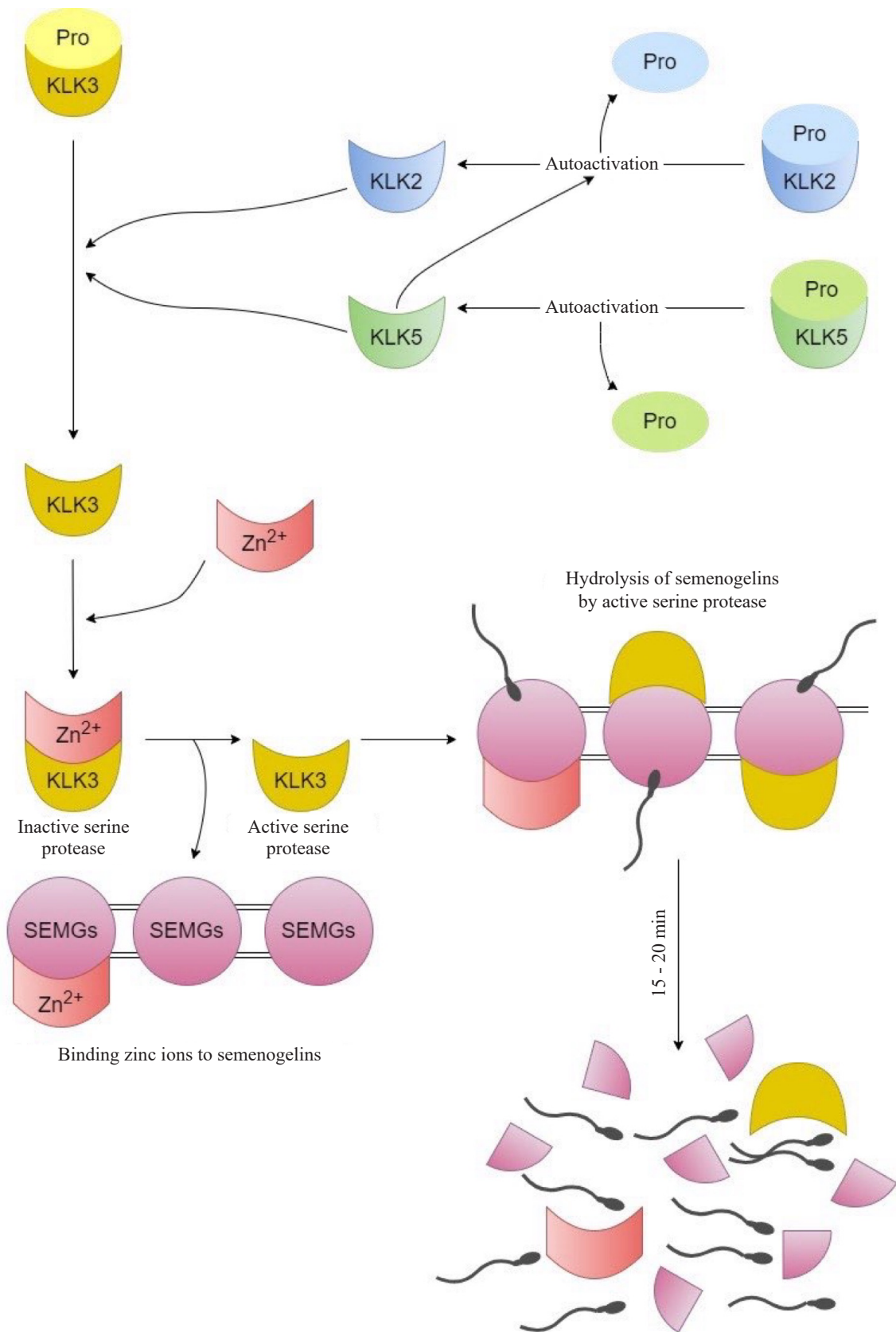


Fig. 2. Scheme of the signaling pathway for kallikrein 3 (KLK3) activation in the semen liquefaction process. Kallikrein proforms are also found in prostate secretions. It is here that pro-KLK5 undergoes autoactivation, and catalytic autoactivation leads to the cleavage of the propeptide sequence. The active kallikrein 5 (KLK5) activates pro-KLK2, which also breaks down into an inactive propeptide and the active enzyme. Kallikreins 5 and 2 serve as activators for pro-KLK3. However, the released portion of the enzyme binds to Zn^{2+} ions present in the prostatic secretion, thus inactivating KLK3. At the moment of ejaculation, zinc ions are captured and bound by SEMGs, which are present in the seminal vesicle fluid, and mix with the prostatic secretion. The zinc ion binding activates KLK3, enabling it to initiate the hydrolysis of semenogelin into smaller fractions. The result of semenogelin breakdown is semen liquefaction, allowing sperm to move properly and facilitating their transport within the female reproductive tract (Anamthatmakula and Winuthayanon, 2020)

obronnych, czynników wzrostu i białek strukturalnych (Bej i Haag, 2022).

Właściwości fizykochemiczne śluzu to główny czynnik kontrolujący transport cząstek, substancji odżywczych i mikroorganizmów zakaźnych. Śluz odgrywa też bardzo ważną rolę w transporcie plemników. Właściwości lepkośćowe mucyn zależą od pH, siły jonowej i stopnia nawodnienia, co jest szczególnie istotne w przypadku transportu żywych gamet. Mucyny podlegają kondensacji podczas magazynowania w granulach wydzielniczych. Podczas egzocytocy ulegają dekonkondensacji, która polega na przejściu fazowym żelu polimerowego pod wpływem wymiany jonów Na^+ na jony Ca^{2+} , w wyniku czego matryca polimerowa mucyny ulega maszynemu pęcznieniu i tym samym zmienia się z fazy skondensowanej w uwodnioną (Verdugo, 1991).

Interakcja plemników ze śluzem szyjki macicy, którego właściwości reologiczne mają istotne znaczenie dla skutecznej migracji plemników, była od bardzo dawna przedmiotem wielu badań (Fordney-Settlage, 1981; Hafez, 1979; Katz i Overstreet, 1982). Niestety trudno znaleźć w literaturze analizy dotyczące wpływu śluzu, pochodzącego z męskiego układu płciowego, na czynność plemników. Jeśli uwzględnimy, jak może zmienić się czynność wydzielnicza komórek produkujących śluz pod wpływem różnych czynników, przede wszystkim infekcyjnych, to może to być istotny mechanizm odpowiadający za podwyższoną lepkość nasienia niezależny od procesu upłynnienia. Wydaje się zatem, że obecność śluzu w ejakulacie wpływa na jego właściwości fizykochemiczne zarówno w stanie fizjologicznym, ale również w przypadku zaburzenia równowagi wydzielniczej śluzu.

While mucus physicochemical properties is a major factor controlling the transport of particles, nutrients, and infectious microorganisms, it also plays a very important role in sperm transport: the transport of live gametes is particularly dependent on the viscoelastic properties of mucins, which in turn is influenced by the pH, ionic strength, and hydration status of the medium. Mucins condense during storage in secretory granules and decondense during exocytosis. This change involves the polymer gel undergoing phase transition by the exchange of Na^+ ions for Ca^{2+} ions; as a result, the polymeric mucin matrix undergoes massive swelling and changes from a condensed to a hydrated phase (Verdugo, 1991).

While a number of studies have examined the interaction of sperm with cervical mucus, the rheological properties of which are essential for effective sperm migration (Hafez, 1979; Fordney-Settlage, 1981; Katz and Overstreet, 1982), it is difficult to find any analyses on the influence of mucus from the male reproductive system on sperm function. Considering that the secretory function of mucus-producing cells can change under the influence of various factors, primarily infectious factors, this may be an important mechanism responsible for increased semen viscosity, independent of the liquefaction process. It therefore appears that the presence of mucus may affect the physicochemical properties of ejaculate, both in its physiological state and where the secretory balance of mucus has been disturbed.

Przyczyny i konsekwencje podwyższonej lepkości nasienia Causes and consequences of increased semen viscosity

Za SHV uważa się stan, w którym podczas badania makroskopowego upłynnionego nasienia kropla opadająca z pipety tworzy nić dłuższą niż 2 cm (WHO, 2021). Całkowite lub częściowe zaburzenie procesu upłynnienia prawdopodobnie może być związane z tym, co uważa się za nadmierną lepkość nasienia (Tomaiuolo i wsp., 2022). Są jednak badania, które wskazują, że rozkład cząsteczek seminogeliny w procesie upłynnienia nie ma związku z podwyższoną lepkością (Esfandiari i wsp., 2014). Należy podkreślić, że w żadnej analizie dotyczącej SHV nie wykazano całkowitego braku ruchliwych plemników u wszystkich badanych z podwyższoną lepkością, co może wskazywać na różne patomechanizmy związane z tym zjawiskiem. Elzanaty i wsp. (2004) wykazali statystyczną różnicę w odsetku plemników o ruchliwości typu postępowego u mężczyzn z SHV w porównaniu do mężczyzn z prawidłową lepkością (mediana odpowiednio 43% i 50%), ale odsetki te w obu grupach były w granicach wartości referencyjnych. Wśród mężczyzn, u których stwierdzono występowanie problemów z płodnością,

Semen hyperviscosity (SHV) is characterised by a drop of liquefied semen forming a thread longer than 2 cm when falling from a pipette during macroscopic examination (WHO, 2021). Excessive semen viscosity is thought to be associated with complete or partial disruption of the liquefaction process (Tomaiuolo et al., 2022). However, some studies suggest that the distribution of seminogelin molecules during liquefaction is not correlated with increased viscosity (Esfandiari et al., 2014). It is important to emphasize that no study on SHV has demonstrated a complete absence of motile spermatozoa in all individuals with increased viscosity, which may indicate that the condition derives from various pathomechanisms. Elzanaty et al. (2004) report a significant difference in the percentage of progressively motile sperm between men with SHV compared to those with normal viscosity (medians of 43% and 50%, respectively), but these percentages were within the reference ranges. Among men diagnosed with infertility problems, increased semen

zwiększona lepkość ejakulatu występowała u 12–32% (Du Plessis i wsp., 2013). Zwiększona lepkość nasienia wiąże się gorszymi wynikami zapłodnienia *in vitro* i słabszą skutecznością transferu zarodków (Esfandiari i wsp., 2008).

Brak jest jak dotąd konsensusu co do wszystkich możliwych przyczyn i skutków SHV. Czynniki, mogące mieć swój udział w patogenezie SHV, to m.in.: infekcje układu moczowo-płciowego i zapalenia, stres oksydacyjny, odwodnienie, mukowiscydoza (Du Plessis i wsp., 2013; Mahran i Saleh, 2014; Marchlewska i Walczak-Jędrzejowska, 2020; Rossi i wsp., 2004). Ponadto istnieją hipotezy wiążące SHV ze zmniejszoną zawartością fruktozy, fosforu i cynku w ejakulacie oraz z obecnością przeciwciał przeciwpłomnikowych (Barbagallo i wsp., 2021; Du Plessis i wsp., 2013; Elzanaty i wsp., 2004; Lampiao i Chisaka, 2020).

Jednym z analizowanych mechanizmów SHV jest tzw. „efekt uwięzienia”, który polega na zahamowaniu ruchu postępowego plemników poprzez zatrzymanie ich w skoagulowanej masie, czego bezpośrednim skutkiem jest zakłócenie migracji plemników w kobiecych drogach rodnych i w konsekwencji znaczące obniżenie potencjału rozrodczego mężczyzny (Harchegani i wsp., 2019; Mitra i wsp., 2010). Efekt ten łączono z zaburzoną czynnością gruczołu krokowego, co w konsekwencji miało prowadzić do braku pełnego upłynnienia nasienia (Lilja, 1985), jednak nie potwierdzono tej tezy w innych pracach (Aafjes i wsp., 1985; Dube i wsp., 1989). Należy zatem rozważyć czy mechanizm obniżenia ruchliwości plemników w SHV jest bezpośrednim efektem podwyższonej lepkości, wynikającej z nieprawidłowego upłynnienia (w tzw. „mechanizmie uwięzienia”), czy jest zjawiskiem odrębnym, nie mającym związku z procesem upłynnienia a efektem innego zaburzenia.

Autorzy licznych prac doszukują się przyczyn SHV w zaburzeniach czynności męskich gruczołów dodatkowych, co wpływa na skład plazmy nasienia (Du Plessis i wsp., 2013; La Vignera i wsp., 2012). Problem jednak zdaje się być szerszy, gdyż podwyższona lepkość występuje także u mężczyzn, u których nie stwierdzono zaburzenia czynności gruczołów dodatkowych, a mimo to oceniono ich potencjał do zapłodnienia *in vitro* jako słabszy (Esfandiari i wsp., 2008). Ponadto zaburzenie czynności gruczołów dodatkowych często jest efektem ich infekcji (MAGI, ang. *male accessory gland infection/inflammation*), co dodatkowo komplikuje wyciąganie wniosków, ponieważ infekcje i stany zapalne mogą wpływać na jakość gamet bezpośrednio, poprzez działanie bakterii, interleukin, leukocytów, czy w wyniku stresu oksydacyjnego (Castiglione i wsp., 2014; La Vignera i wsp., 2014; Layali i wsp., 2015; Vicari, 1999), a więc podwyższona lepkość może być skutkiem a nie przyczyną problemu.

Ostatnie badania wskazują, że sama bakteriospermia nie musi zawsze wiązać się z SHV, mimo istotnego obniżenia odsetka ruchliwości i morfologii plemników (Shash i wsp., 2023). Zapewne wpływ na zmiany związane z lepkością ma lokalizacja i przebieg infekcji. Podwyższona lepkość może być efektem odpowiedzi komórek

viscosity occurred in 12–32% of cases (Du Plessis et al., 2013). SHV is associated with worse outcomes in *in vitro* fertilization (IVF) and lower embryo transfer success rates (Esfandiari et al., 2008).

There is currently no consensus on the potential causes and effects of SHV. Some of the factors contributing to the pathogenesis of SHV include urinary tract infections, inflammation, oxidative stress, dehydration, and cystic fibrosis (Du Plessis et al., 2013; Mahran and Saleh, 2014; Marchlewska and Walczak-Jędrzejowska, 2020; Rossi et al., 2004). Other authors have proposed that SHV may be associated with reduced levels of fructose, phosphorus, and zinc in semen, as well as the presence of antisperm antibodies (Barbagallo et al., 2021; Du Plessis et al., 2013; Elzanaty et al., 2004; Lampiao and Chisaka, 2020).

One of the mechanisms under investigation for SHV is the so-called “trapping effect,” indicating that progressive sperm motility may be inhibited by their entrapment in a coagulated mass. This directly affects the migration of sperm through the female reproductive tract, leading to a significant reduction in male fertility potential (Harchegani et al., 2019; Mitra et al., 2010). This effect has been linked to impaired prostate gland function, which can lead to incomplete semen liquefaction (Lilja, 1985). However, this hypothesis has not been confirmed in other studies (Aafjes et al., 1985; Dube et al., 1989). Thus, it is important to consider whether the reduced motility of sperm in SHV is a direct result of increased viscosity caused by abnormal liquefaction (the “trapping mechanism”) or whether it is a separate phenomenon indicative of another disorder.

Many studies have identified male accessory gland dysfunction as a potential cause of SHV, which affects the composition of seminal plasma (Du Plessis et al., 2013; La Vignera et al., 2012). However, the problem appears to be more complex, as increased viscosity is also observed in men with no apparent accessory gland dysfunction, but weaker IVF fertilization potential (Esfandiari et al., 2008). Moreover, this interpretation is complicated by the fact that accessory gland dysfunction often occurs as a consequence of infection (MAGI – male accessory gland infection/inflammation), with infections and inflammatory conditions directly affecting gamete quality through the action of bacteria, interleukins, leukocytes, or oxidative stress (Castiglione et al., 2014; La Vignera et al., 2014; Layali et al., 2015; Vicari, 1999). Thus, increased viscosity may be a result rather than a cause of the problem.

Recent studies suggest that despite resulting in a significant decrease in sperm motility and morphology, bacteriospermia does not always correlate with SHV (Shash et al., 2023). The changes in viscosity are most likely influenced by the location and course of the infection, and the increase in viscosity may result from the response of the mucosal cells to the

śluzowych na obecność bakterii. Wykazano, że wiele gatunków bakterii tworzy skupiska na powierzchni tkanki znane jako biofilm. Zabezpiecza on kolonie bakterijne przed działaniem czynników dla nich szkodliwych. Intensywne wydzielanie śluzu chroni tkanki, uniemożliwiając bakteriom tworzenie agregatów i kolonizacji tkanek gospodarza (*Caldara i wsp., 2012*). Wyjaśniałoby to również obecność widocznych pod mikroskopem pasm śluzu często towarzyszących obecności bakterii lub leukocytów.

U pacjentów z SHV częściej stwierdzano obecność leukocytów peroksydazo-pozytywnych, a ponadto ich koncentracja zależała od nasilenia lepkości (*Flint i wsp., 2014*). W trakcie procesu zapalnego zwiększa się koncentracja leukocytów w plazmie nasienia, co powoduje wzrost produkcji reaktywnych form tlenu (RFT, ang. *reactive oxygen species*) i może zaburzyć równowagę oksydacyjno-redukcyjną. Wydzielane cytokiny prozapalne są mediatorami odpowiedzi gospodarza na infekcję i modulują aktywność układów prooksydacyjnych i antyoksydacyjnych na korzyść RFT (*Lanzafame i wsp., 2009*). Pomimo iż obecność RFT jest niezbędna do zajścia takich procesów, jak chociażby kapacytacja, czy reakcja akrosomalna, to ich nadmierne ilości, których organizm nie jest w stanie wyrównać, stają się przyczyną uszkodzeń oksydacyjnych – mogą powodować utlenianie DNA, białek, czy lipidów. Stres oksydacyjny traktowany jest jako jedna z kluczowych przyczyn niepłodności. Według badań zwiększony poziom RFT może występować nawet u 30–40% mężczyzn z problemami z płodnością (*Harchegani i wsp., 2019; Layali i wsp., 2015*). Nie ma jednak konsensusu co do roli stresu oksydacyjnego przy SHV. Jedni autorzy uważają, że jest on konsekwencją SHV (*Harchegani i wsp., 2019*), a inni że przyczyną tego zjawiska (*Du Plessis i wsp., 2013; Tomaiuolo i wsp., 2014*). Niezależnie jednak od mechanizmu działania stresu oksydacyjnego na lepkość, nie da się ignorować jego bezpośredniego wpływu na jakość i czynność gamet.

Wykazano, że przeciwciała przeciwplemnikowe częściej wykrywane są u mężczyzn z podwyższoną lepkością plazmy nasienia (*Moulik i wsp., 1989*). Ryzyko wytworzenia przeciwciał przeciwplemnikowych wzrasta w przypadku uszkodzenia bariery krew–jądro, np. po urazie chirurgicznym, zakażeniach, guzie jądra i żylakach powrózka nasiennego (*Vickram i wsp., 2019*). Odpowiedź autoimmunologiczna tego typu może być efektem MAGI, ale również wpływu toksyn środowiskowych lub zaburzeń genetycznych (*Archana i wsp., 2019; Bohring i Krause, 2003; Comhaire i wsp., 1999*). Przeciwciała przeciwplemnikowe mogą bezpośrednio lub pośrednio zakłócać różne etapy zapłodnienia u człowieka, takie jak reakcja akrosomalna, kapacytacja, zapłodnienie i implantacja (*Chiu i Chamley, 2004*). Jest to kolejny czynnik, który ma związek z SHV i może negatywnie wpływać na płodność.

Kolejną konsekwencją SHV są zaburzenia integralności chromatyny plemników, związane ze zmniejszonym wychwytem cynku. Niedoczynność pęcherzyków

presence of bacteria. It has been shown that many bacterial species form structures known as biofilms, which involve colonizing tissue surfaces and protect bacterial colonies from harmful factors. Such bacterial aggregation and tissue colonization is prevented by intense mucus secretion (*Caldara et al., 2012*). This may also explain the presence of mucus strands, often visible under the microscope, frequently associated with bacteria or leukocytes.

It has been observed that patients with SHV more commonly have peroxidase-positive leukocytes, with their concentration depending on the degree of viscosity (*Flint et al., 2014*). During the inflammatory process, an increase in leukocyte concentrations in seminal plasma leads to elevated reactive oxygen species (ROS) production, which may disrupt the redox balance. Pro-inflammatory cytokines mediate the host response to infection, and bias the oxidative balance towards ROS (*Lanzafame et al., 2009*). Although ROS are essential for processes such as capacitation and the acrosomal reaction, excessive ROS levels that cannot be neutralized lead to oxidative damage, including DNA, protein, and lipid oxidation. Oxidative stress is considered one of the key causes of infertility, with studies indicating the presence of increased ROS levels in 30-40% of men with fertility problems (*Harchegani et al., 2019; Layali et al., 2015*). However, there is no consensus on the role of oxidative stress in SHV. Some authors consider it a consequence of SHV (*Harchegani et al., 2019*), while others view it as a causative factor (*Du Plessis et al., 2013; Tomaiuolo et al., 2014*). Regardless of the mechanism, the direct impact of oxidative stress on gamete quality and function cannot be ignored.

Men with increased seminal plasma viscosity also are more likely to present antisperm antibodies (*Moulik et al., 1989*). This risk increases when the blood-testis barrier is damaged, for example, following surgical trauma, infections, testicular tumors, or varicocele (*Vickram et al., 2019*). Also, in addition to MAGI, autoimmune response may result from environmental toxins or genetic disorders (*Archana et al., 2019; Bohring and Krause, 2003; Comhaire et al., 1999*). Antisperm antibodies can directly or indirectly interfere with various stages of human fertilization, such as the acrosomal reaction, capacitation, fertilization, and implantation (*Chiu and Chamley, 2004*). This is another factor associated with SHV that may negatively impact fertility.

Patients with SHV can also demonstrate disrupted chromatin integrity due to reduced zinc uptake. Hypofunction of seminal vesicles can disrupt the balance between seminal fluid and prostate gland secretions resulting in an increase in zinc concentration, and a shortage of ligands to bind the Zn²⁺ ions. Excess levels of unbound zinc ions have been found to lower the stability of sperm chromatin by

nasieniach jest przyczyną zmniejszenia ilości ich wydzieliny, co zaburza równowagę pomiędzy płynem pęcherzyków a wydzieliną gruczołu krokowego. Skutkiem tego jest zwiększenie stężenia cynku i niedobór ligandów, które związałyby takie ilości jonów Zn^{2+} . Niezwiązane kationy cynku w dużych ilościach powodują zahamowanie dekondensacji chromatyny plemników, co może się przyczynić do jej niestabilności (Esfandiari i wsp., 2008). Jednak nowsze badania sugerują, że SHV nie zwiększa ryzyka fragmentacji DNA (Esfandiari i wsp., 2014). Badania dotyczące fragmentacji DNA plemnikowego są skomplikowane ze względu na bardzo dużą ilość czynników, które mogą wpływać na integralność genomu gamet męskich (Szabo i wsp., 2023).

Na uwagę zasługują również zaburzenia genetyczne, czego przykładem są mutacje genu *CFTR* (regulator transbłonowy mukowiscydozy), które powodują mukowiscydozę. U podłoża patomechanizmu tej choroby leży zaburzona regulacja wymiany jonów chlorkowych i sodowych przez błony, co z kolei wpływa na nadprodukcję śluzu oraz zmienia właściwości mucyny i prowadzi do niedrożności dróg wyprowadzających nasienie. Skutkiem tych zmian jest często diagnozowana u pacjentów z mukowiscydozą azoospermia obturacyjna (Kreda i wsp., 2012; Tomaiuolo i wsp., 2014).

Podsumowując to zagadnienie trudno oprzeć się wrażeniu, że SHV jest parametrem analizowanym od dawna przez liczne grupy naukowe, ale mechanizmy leżące u jej przyczyn nadal wymagają wyjaśnienia. Należy podkreślić konieczność precyzyjnego różnicowania przypadków klinicznych, gdzie brak lub niecałkowite upłynnienie nasienia unieruchamia plemniki (całkowity brak ruchliwości typu postępowego) od podwyższonej lepkości, ale bez usieciowania typowego dla braku upłynnienia, które pozwala na ruch postępowy plemników. Zjawisko to jest prawdopodobnie wywoływane przez różne czynniki takie jak infekcje, odwodnienie, czynniki genetyczne czy zaburzenia dotyczące czynności gruczołów dodatkowych męskiego układu płciowego. Wydaje się zatem logiczne, żeby nie oceniać bezpośredniego wpływu SHV na jakość męskich gamet, a zatem i płodność męczyzny. Należy raczej przyjąć, że jest to objaw patologii związanej z męskim układem moczowo-płciowym. Taki sposób myślenia może pomóc w przyczynowym leczeniu obniżonej płodności.

Finansowanie / Funding

Badania te zostały sfinansowane ze środków grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503/1-089-03/50311-002

Piśmiennictwo / References

Aafjes J.H., Blijenberg B.G., Wolffensperger-van Oort H.J., Schenck P.E.: Enzyme activity of human ejaculates, relation with abnormal liquefaction. *Andrologia*. 1985, 17, 87–91. doi: 10.1111/j.1439-0272.1985.tb00964.x. PMID: 2859813

inhibiting its decondensation (Esfandiari et al., 2008); however, newer studies suggest that SHV does not increase the risk of DNA fragmentation (Esfandiari et al., 2014). Nevertheless, due to the numerous factors influencing male gamete genome integrity, the data regarding sperm DNA fragmentation are complex (Szabo et al., 2023).

It is also important to consider the effects of genetic disorders. For example, mutations in the *CFTR* gene (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) result in cystic fibrosis. This disorder affects chloride and sodium ion exchange across membranes, leading to mucus overproduction, altered mucin properties, and obstruction of the semen excretory ducts, ultimately resulting in azoospermia (Kreda et al., 2012; Tomaiuolo et al., 2014).

In summary, while SHV has been extensively studied by various research groups, its causative mechanisms still require further elucidation. It is crucial to precisely differentiate clinical cases where sperm is immobilised by the absence of semen or its incomplete liquefaction (complete absence of progressive motility) from cases characterised by increased viscosity without the typical network formation seen in liquefaction failure; in the latter, progressive sperm motility is still possible. This phenomenon can be triggered by various factors, such as infections, dehydration, genetic factors, or disorders of the male accessory sex glands. Therefore, studies should not directly assess the impact of SHV on male gamete quality and fertility, but rather consider it as a symptom of pathology related to the male genitourinary system. This approach may facilitate causal treatment for reduced fertility.

This research was funded by Medical University of Lodz grant No 503/1-089-03/50311-002

Anamthathmakula P., Winuthayanon W.: Mechanism of semen liquefaction and its potential for a novel non-hormonal contraception dagger. *Biol Reprod*. 2020, 103, 411–426. doi: 10.1093/biolre/iaaa075. PMID: 32529252

- Archana SS, Selvaraju S, Binsila BK, Arangasamy A, Krawetz SA.: Immune regulatory molecules as modifiers of semen and fertility: A review. *Mol Reprod Dev.* 2019, 86, 1485-1504. doi: 10.1002/mrd.23263. PMID: 31518041
- Bansil R, Turner BS.: The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018, 124, 3-15. doi: 10.1016/j.addr.2017.09.023. PMID: 28970050
- Barbagallo F, La Vignera S, Cannarella R, Crafa A, Calogero AE, Condorelli RA.: The Relationship between Seminal Fluid Hyperviscosity and Oxidative Stress: A Systematic Review. *Antioxidants (Basel).* 2021, 10. doi: 10.3390/antiox10030356. PMID: 33673452
- Bej R, Haag R.: Mucus-Inspired Dynamic Hydrogels: Synthesis and Future Perspectives. *J Am Chem Soc.* 2022, 144, 20137-20152. doi: 10.1021/jacs.1c13547. PMID: 36074739
- Bohring C, Krause W.: Immune infertility: towards a better understanding of sperm (auto)-immunity. The value of proteomic analysis. *Hum Reprod.* 2003, 18, 915-924. doi: 10.1093/humrep/deg207. PMID: 12721162
- Caldara M, Friedlander RS, Kavanaugh NL, Aizenberg J, Foster KR, Ribbeck K.: Mucin biopolymers prevent bacterial aggregation by retaining cells in the free-swimming state. *Curr Biol.* 2012, 22, 2325-2330. doi: 10.1016/j.cub.2012.10.028. PMID: 23142047
- Castiglione R, Salemi M, Vicari LO, Vicari E.: Relationship of semen hyperviscosity with IL-6, TNF-alpha, IL-10 and ROS production in seminal plasma of infertile patients with prostatitis and prostatic vesiculitis. *Andrologia.* 2014, 46, 1148-1155. doi: 10.1111/and.12207. PMID: 24329571
- Chiu WW, Chamley LW.: Clinical associations and mechanisms of action of antisperm antibodies. *Fertil Steril.* 2004, 82, 529-535. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.084. PMID: 15374685
- Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE, Zalata AA, Christophe AB.: Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Hum Reprod Update.* 1999, 5, 393-398. doi: 10.1093/humupd/5.5.393. PMID: 10582779
- Corfield AP.: Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. *Biochim Biophys Acta.* 2015, 1850, 236-252. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.05.003. PMID: 24821013
- Drabovich AP, Saraon P, Jarvi K, Diamandis EP.: Seminal plasma as a diagnostic fluid for male reproductive system disorders. *Nat Rev Urol.* 2014, 11, 278-288. doi: 10.1038/nrurol.2014.74. PMID: 24709963
- Du Plessis SS, Gokul S, Agarwal A.: Semen hyperviscosity: causes, consequences, and cures. *Front Biosci (Elite Ed).* 2013, 5, 224-231. doi: 10.2741/e610. PMID: 23276984
- Dube JY, Gaudreault D, Tremblay RR. The concentration of immunoreactive prostate specific antigen is not decreased in viscous semen samples. *Andrologia.* 1989, 21, 136-139. PMID: 2469363
- Edstrom AM, Malm J, Frohm B, Martellini JA, Giwercman A, Morgelin M, Cole AM, Sorensen OE.: The major bactericidal activity of human seminal plasma is zinc-dependent and derived from fragmentation of the semenogelins. *J Immunol.* 2008, 181, 3413-3421. doi: 10.4049/jimmunol.181.5.3413. PMID: 18714013
- Elzanaty S, Malm J, Giwercman A.: Visco-elasticity of seminal fluid in relation to the epididymal and accessory sex gland function and its impact on sperm motility. *Int J Androl.* 2004, 27, 94-100. doi: 10.1046/j.1365-2605.2003.00455.x. PMID: 15149467
- Esfandiari N, Burjaq H, Gotlieb L, Casper RF.: Seminal hyperviscosity is associated with poor outcome of in vitro fertilization and embryo transfer: a prospective study. *Fertil Steril.* 2008, 90, 1739-1743. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.09.032. PMID: 18249373
- Esfandiari N, de Lamirande E, Gukturk A, San Gabriel MC, Nazemian Z, Burjaq H, Casper RF, Zini A.: Seminal hyperviscosity is not associated with semenogelin degradation or sperm deoxyribonucleic acid damage: a prospective study of infertile couples. *Fertil Steril.* 2014, 101, 1599-1603. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.045. PMID: 24680362
- Flint M, du Plessis SS, Menkveld R.: Revisiting the assessment of semen viscosity and its relationship to leucocytospermia. *Andrologia.* 2014, 46, 837-841. doi: 10.1111/and.12157. PMID: 24007306
- Fordney-Settlage D.: A review of cervical mucus and sperm interactions in humans. *Int J Fertil.* 1981, 26, 161-169. PMID: 6118336
- Hafez ES.: In vivo and in vitro sperm penetration in cervical mucus. *Acta Eur Fertil.* 1979, 10, 41-49. PMID: 397707
- Harchegani AB, Rahmani H, Tahmasbpour E, Shahriary A.: Hyperviscous Semen Causes Poor Sperm Quality and Male Infertility through Induction of Oxidative Stress. *Curr Urol.* 2019, 13, 1-6. doi: 10.1159/000499302. PMID: 31579215
- He C, Li J, Wu Z, Lu C, Huang Z, Luo N, Fan S, Shen J, Liu X, Zhao H.: The semenogelin I-derived peptide Sgl-52 in seminal plasma participates in sperm selection and clearance by macrophages. *Peptides.* 2022, 153, 170799. doi: 10.1016/j.peptides.2022.170799. PMID: 35427699
- Katz DF, Overstreet JW.: The mechanisms and analysis of sperm migration through cervical mucus. *Adv Exp Med Biol.* 1982, 144, 319-330. doi: 10.1007/978-1-4615-9254-9_51. PMID: 7044064
- Kreda SM, Davis CW, Rose MC.: Cold Spring Harb Perspect Med. 2012, 2, a009589. doi: 10.1101/cshperspect.a009589. PMID: 22951447
- La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, D'Agata R, Salemi M, Calogero AE.: Hyperviscosity of semen in patients with male accessory gland infection: direct measurement with quantitative viscosimeter. *Andrologia.* 2012, 44, Suppl 1, 556-559. doi: 10.1111/j.1439-0272.2011.01226.x. PMID: 21919943
- La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, Salmeri M, Morgia G, Favilla V, Cimino S, Calogero AE.: Microbiological investigation in male infertility: a practical overview. *J Med Microbiol.* 2014, 63, 1-14. doi: 10.1099/jmm.0.062968-0. PMID: 24072761
- Lampiao F, Chisaka J.: Incidence and impact of hyperviscosity on sperm parameters of Malawian men seeking assisted reproduction. *Afr Health Sci.* 2020, 20, 1-3. doi: 10.4314/ahs.v20i1.3. PMID: 33402886
- Lanzafame FM, La Vignera S, Vicari E, Calogero AE.: Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. *Reprod Biomed Online.* 2009, 19, 638-659. doi: 10.1016/j.rbmo.2009.09.014. PMID: 20021713
- Layali I, Tahmasbpour E, Joulaei M, Jorsaraei SG, Farzanegi P.: Total antioxidant capacity and lipid peroxidation in semen of patient with hyperviscosity. *Cell J.* 2015, 16, 554-559. doi: 10.22074/cellj.2015.500. PMID: 25685746
- Lilja H.: A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest.* 1985, 76, 1899-1903. doi: 10.1172/JCI112185. PMID: 3902893
- Lilja H, Lundwall A.: Molecular cloning of epididymal and seminal vesicular transcripts encoding a semenogelin-related protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992, 89, 4559-4563. doi: 10.1073/pnas.89.10.4559. PMID: 1584792
- Mahran Z, Saleh M.: Human semen hyperviscosity: prevalence and effects on physical and biochemical semen parameters in subfertile Egyptian men. *Egyptian Journal of Dermatology and Venerology* 2014, 34, 135-139. doi: 10.4103/1110-6530.150276.
- Mandal A, Bhattacharyya AK.: Sperm hyaluronidase activation by purified predominant and major basic human seminal coagulum proteins. *Hum Reprod.* 1995, 10, 1745-1750. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136167. PMID: 8582973
- Marchlewska K, Walczak-Jędrzejowska R.: Podstawowe badanie nasienia. W: *Andrologia. Zdrowie mężczyzny od fizjologii do patologii.* Red. Słowikowska-Hilczler J. Wyd. Lek. PZWL Warszawa 2020, 319-348
- Mitra A, Richardson RT, O'Rand MG.: Analysis of recombinant human semenogelin as an inhibitor of human sperm motility. *Biol Reprod.* 2010, 82, 489-496. doi: 10.1095/biolreprod.109.081331. PMID: 19889947
- Moulik S, Gopalkrishnan K, Hinduja I, Shahani SK.: Presence of sperm antibodies and association with viscosity of semen. *Hum Reprod.* 1989, 4, 290-291. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136890. PMID: 2715303
- Robert M, Gagnon C.: Semenogelin I: a coagulum forming, multifunctional seminal vesicle protein. *Cell Mol Life Sci.* 1999, 55, 944-960. doi: 10.1007/s000180050346. PMID: 1041273
- Rossi T, Grandoni F, Mazzilli F, Quattrucci S, Antonelli M, Strom R, Lucarelli M.: High frequency of (TG)mTn variant tracts in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in men with high semen viscosity. *Fertil Steril.* 2004, 82, 1316-1322. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.03.065. PMID: 15533353
- Shash RYM, Mohamed GAA, Shebl SE, Shokr M, Soliman SA.: The Impact of Bacteriospermia on Semen Parameters Among Infertile Egyptian Men:

- A Case-Control Study. *Am J Mens Health*. 2023, 17, 15579883231181861. doi: 10.1177/15579883231181861. PMID: 37341390
- Sotiropoulou G, Pampalakis G, Diamandis EP*: Functional roles of human kallikrein-related peptidases. *J Biol Chem*. 2009, 284, 32989-32994. doi: 10.1074/jbc.R109.027946. PMID: 19819870
- Szabo A, Vancsa S, Hegyi P, Varadi A, Forintos A, Filipov T, Acs J, Acs N, Szarvas T, Nyirady P, Kopa Z*: Lifestyle-, environmental-, and additional health factors associated with an increased sperm DNA fragmentation: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023, 21, 5. doi: 10.1186/s12958-023-01054-0. PMID: 36653793
- Terai K, Yoshida K, Yoshiike M, Fujime M, Iwamoto T*: Association of seminal plasma motility inhibitors/semenogelins with sperm in asthenozoospermia-infertile men. *Urol Int*. 2010, 85, 209-215. doi: 10.1159/000315976. PMID: 20720384
- Tomaiuolo G, Fellico F, Preziosi V, Guido S*: Semen rheology and its relation to male infertility. *Interface Focus*. 2022, 12, 20220048. doi: 10.1098/rsfs.2022.0048. PMID: 36330323
- Tomaiuolo G, Rusciano G, Caserta S, Carciati A, Carnovale V, Abete P, Sasso A, Guido S*: A new method to improve the clinical evaluation of cystic fibrosis patients by mucus viscoelastic properties. *PLoS One*. 2014, 9, e82297. doi: 10.1371/journal.pone.0082297. PMID: 24404129
- Ulvback M, Lazure C, Lilja H, Spurr NK, Rao VV, Loffler C, Hansmann I, Lundwall A*: Gene structure of semenogelin I and II. The predominant proteins in human semen are encoded by two homologous genes on chromosome 20. *J Biol Chem*. 1992, 267, 18080-18084. PMID: 1517240
- Verdugo P*: Mucin exocytosis. *Am Rev Respir Dis*. 1991, 144, S33-37. doi: 10.1164/ajrccm/144.3_pt_2.S33. PMID: 1892323
- Vicari E*: Seminal leukocyte concentration and related specific reactive oxygen species production in patients with male accessory gland infections. *Hum Reprod*. 1999, 14, 2025-2030. doi: 10.1093/humrep/14.8.2025. PMID: 10438421
- Vickram AS, Dhama KC, S., Samad HA, Latheef SK, Sharun K, Khurana SK, K A, Tiwari R, Bhatt P, K V, Chaicumpa W*: Role of Antisperm Antibodies in Infertility, Pregnancy, and Potential for Contraceptive and Antifertility Vaccine Designs: Research Progress and Pioneering Vision. *Vaccines (Basel)*. 2019, 7. doi: 10.3390/vaccines7030116. PMID: 31527552
- WHO. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization, HRP, editors., sixth ed. Geneva 2021
- Yoshida K, Krasznai ZT, Krasznai Z, Yoshiike M, Kawano N, Yoshida M, Morisawa M, Toth Z, Bazzane ZK, Marian T, Iwamoto T*: Functional implications of membrane modification with semenogelins for inhibition of sperm motility in humans. *Cell Motil Cytoskeleton*. 2009, 66, 99-108. doi: 10.1002/cm.20329. PMID: 19089943