



e-ISSN 2353-8791

ICV (2021) = 68,56

Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego  
Journal of Polish Society of Andrology

Tom 12 • Numer 1 • Czerwiec 2025  
Volumin 12 • Number 1 • June 2025

# Postępy Andrologii *Online*

Advances in Andrology *Online*





Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

**Postępy Andrologii Online**

**Advances in Andrology Online**

<http://www.postepyandrologii.pl>



## KOMITET REDAKCYJNY EDITORIAL COMMITTEE

### Redaktor naczelny / Editor in Chief:

prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. **Małgorzata Piasecka**, Szczecin

### Zastępca redaktora naczelnego / Vice editor in Chief:

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

### Redaktor pomocniczy / Associate editor:

dr n. med. **Kamil Gill**, Szczecin

### Sekretarz redakcji / Secretary of the editorial:

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

### Skarbnik redakcji / Treasurer of the editorial:

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

### Członkowie komitetu redakcyjnego / Editorial board:

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 / Editorial office:

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](mailto:mpiasecka@ipartner.com.pl)

### Projekt graficzny / Graphic design:

**Waldemar Jachimczak**

**Małgorzata Piasecka**

**Kamil Gill**

### Skład i łamanie / Publishing services:

**Waldemar Jachimczak**



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

**Postępy Andrologii Online**

**Advances in Andrology Online**

<http://www.postepyandrologii.pl>



# KONFERENCJA POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO – 26. DZIEŃ ANDROLOGICZNY

SYMPOSIUM OF SCIENTIFIC TRAINING  
OF THE POLISH SOCIETY OF ANDROLOGY –  
26<sup>th</sup> DAY OF ANDROLOGY

Kraków, 21–22.11.2025; [www.pta2025.pl](http://www.pta2025.pl)

## Komitet organizacyjny/Organizing committee

Przewodniczący/Executive Chair: *prof. Anna Hejmej*  
Wiceprzewodniczący/Vice-Executive Chair: *prof. Barbara Bilińska, dr Szymon Bakalczuk*  
Członkowie/ Members: *dr Leszek Bergier*  
*dr Alicja Kamińska*  
*dr Wojciech Kolawa*  
*dr Laura Pardyak*  
*mgr Julia Wajda*

## Komitet naukowy/Scientific committee

Przewodniczący/Executive Chair: *dr Szymon Bakalczuk*  
Wiceprzewodniczący/Vice-Executive Chair: *prof. Anna Hejmej*  
Członkowie/Members: *prof. Barbara Bilińska*  
*prof. Grzegorz Jakiel*  
*prof. Piotr Jędrzejczak*  
*prof. Małgorzata Kotwicka*  
*prof. Roman Kotzbach*  
*prof. Maria Laszczyńska*  
*prof. Grzegorz Ludwikowski*  
*prof. Mariola Marchlewicz*  
*prof. Marek Mędraś*  
*prof. Małgorzata Piasecka*  
*prof. Jolanta Słowikowska-Hilczner*  
*dr hab. Renata Walczak-Jędrzejowska*  
*prof. Artur Wdowiak*  
*lek. med. Jan Karol Wolski*

# PROGRAM SZCZEGÓŁOWY

## SCIENTIFIC PROGRAM

### 20.11.2025 czwartek/thursday

|             |                                                                                                                                                                           |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 16.00–17.30 | Egzamin Polskiego Towarzystwa Andrologicznego do certyfikatu z andrologii klinicznej<br>Polish Society of Andrology Examination for the Certificate in Clinical Andrology |
| 18.00–19.30 | Zebranie Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Andrologicznego<br>Meeting of the Governing Board of the Polish Society of Andrology                                      |

### 21.11.2025 piątek/friday

|                                  |                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 9.00–09.20                       | Otwarcie konferencji / Opening ceremony<br>Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego – <i>Anna Hejmej</i><br>Przewodniczący Polskiego Towarzystwa Andrologicznego – <i>Szymon Bakalczuk</i>                                                                  |
| 9.20–9.30                        | Wręczenie Naukowej Nagrody Młodych PTA im. Profesora Michała Bokińca<br>PTA Young Award ceremony<br><i>Szymon Bakalczuk, Anna Hejmej</i>                                                                                                                   |
| 9.30–9.40                        | Wystąpienie Laureata Naukowej Nagrody Młodych PTA/PTA Young Award lecture<br><i>Alicja Kamińska</i><br>19-cis-retinoic acid signaling in Sertoli cells regulates their immunomodulatory function to control lymphocyte physiology and Treg differentiation |
| SESJA 1/SESSION 1<br>9.45–11.00  | Przewodniczący/Moderators: <i>Jolanta Słowikowska-Hilczner, Grzegorz Jakiel, Marek Mędraś</i><br>(W czas każdego wykładu wliczona jest 5-minutowa dyskusja<br>Each lecture includes 5 minutes for discussion)                                              |
| 9.45–10.10                       | <i>Aleksander Giwercman</i><br>ReproUnion Biobank and Infertility Cohort: new insights into male subfertility and its consequences                                                                                                                         |
| 10.10–10.35                      | <i>Gerhard van der Horst</i><br>Sperm competition is the rule in the animal kingdom: What about human sperm?                                                                                                                                               |
| 10.35–11.00                      | <i>Monika Fijak</i><br>Exploring the role of immune cells in testicular inflammation and fibrosis                                                                                                                                                          |
| 11.00–11.15                      | Przerwa kawowa/Coffee break                                                                                                                                                                                                                                |
| SESJA 2/SESSION 2<br>11.15–12.40 | Przewodniczący/Moderators: <i>Piotr Jędrzejczak, Grzegorz Ludwikowski, Artur Wdowiak</i><br>(W czas każdego wykładu wliczona jest 5-minutowa dyskusja)                                                                                                     |
| 11.15–11.40                      | <i>Artur Wdowiak</i><br>Co nowego w ART?                                                                                                                                                                                                                   |
| 11.40–12.05                      | <i>Agnieszka Malcher</i><br>Genetyka - od diagnostyki do terapii                                                                                                                                                                                           |
| 12.05–12.15                      | <i>Marta Olszewska</i><br>Cytogenomika i epigenomika męskiej niepłodności                                                                                                                                                                                  |
| 12.15–12.40                      | <i>Piotr Jędrzejczak</i> (prowadzenie)<br>Aktualności męskiego rozrodu – panel dyskusyjny                                                                                                                                                                  |
| 12.40–13.30                      | Przerwa lunchowa/Lunch                                                                                                                                                                                                                                     |

|                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 13.20–13.50                             | <b>SESJA POSTEROWA/POSTER SESSION</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                         | <i>Zuzanna Graczyk, Jagoda Kostyk, Julia Pospieszna, Zuzanna Myślicka, Marzena Kamieniczna, Monika Frączek, Marta Olszewska, Maciej Kurpisz</i><br><b>POPRAWA POZIOMÓW ZNACZNIKÓW EPIGENETYCZNYCH I INTEGRALNOŚCI CHROMATYNY W PLEMNIKACH LUDZKICH PO FRAKCYJOWANIU</b>                                                                                                     |
|                                         | <i>Marzena Kamieniczna, Ewa Stachowska, Dmytro Gots, Amelia Danielewska, Agnieszka Malcher, Monika Frączek, Marta Olszewska, Maciej Krzysztof Kurpisz</i><br><b>WSPOMAGANIE BADAŃ RUCHLIWOŚCI PLEMNIKÓW</b>                                                                                                                                                                 |
|                                         | <i>Aleksandra Leśniewska, Marta Olszewska</i><br><b>NOSICIELE DODATKOWEGO CHROMOSOMU Y – CECHY KLINICZNE I ASPEKTY ROZRODCZE</b>                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                         | <i>Laura Pardyak, Ewa Liszewska, Sylwia Judycka, Sylwia Machcińska-Zielińska, Halina Karol, Mariola A. Dietrich, Ewa Gojło, Zbigniew Arent, Barbara Bilińska, Klaudia Dubniewicz, Giusy Rusco, Nicolaia Iaffaldano, Andrzej Ciereszko, Mariola Słowińska</i><br><b>MECHANIZMY MOLEKULARNE I KOMÓRKOWE USZKODZEŃ KRIOGENICZNYCH W NASIENIU INDORA – ANALIZA PROTEOMICZNA</b> |
|                                         | <i>Julia Wajda, Alicja Kamińska, Anna Hejmej</i><br><b>ROLA SYGNALIZACJI ANDROGENOWEJ W REGULACJI EKSPRESJI RECEPTORÓW AKTYWOWANYCH PROLIFERATORAMI PEROKSYKOMÓW (PPAR) W KOMÓRKACH SERTOLIEGO GRYZONI IN VITRO</b>                                                                                                                                                         |
| <b>SESJA 3/SESSION 3</b><br>13.50–15.40 | <b>Przewodniczący/Moderators: Maria Laszczyńska, Roman Kotzbach, Leszek Bergier</b><br>(W czas każdego wykładu wliczona jest 5-minutowa dyskusja)                                                                                                                                                                                                                           |
| 13.50–14.15                             | <i>Katarzyna Końska</i><br><b>Nowoczesne badania genetyczne w andrologii – wykład sponsorowany – DIAGNOSTYKA</b>                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 14.15–14.40                             | <i>Monika Frączek</i><br><b>Wpływ witamin antyoksydacyjnych na czynność plemników i zdrowie reprodukcyjne mężczyzn</b>                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 14.40–15.05                             | <i>Jan Karol Wolski</i><br><b>Rezonans magnetyczny w diagnostyce andrologicznej</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 15.05–15.30                             | <i>Piotr Świniarski</i><br><b>Konsekwencje andrologiczne uzależnienia od palenia tytoniu – nowoczesne podejście do leczenia i redukcji szkód – wykład sponsorowany</b>                                                                                                                                                                                                      |
| 15.30–15.40                             | <i>Weronika Ratajczak-Zacharko, Maria Laszczyńska</i><br><b>Oś jelito–mikrobiota–prostata, co nowego w badaniach?</b>                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 15.40–15.55                             | <b>Przerwa kawowa/Coffee break</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>SESJA 4/SESSION 4</b><br>15.55–17.35 | <b>Przewodniczący/Moderators: Piotr Chłosta, Andrzej Depko, Jan Karol Wolski</b><br>(W czas każdego wykładu wliczona jest 5-minutowa dyskusja)                                                                                                                                                                                                                              |
| 15.55–16.20                             | <i>Andrzej Depko</i><br><b>Choroba otyłościowa u mężczyzn okiem seksuologa</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 16.20–16.45                             | <i>Piotr Chłosta</i><br><b>RPLND – limfadenektomia u chorych na raka jądra</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 16.45–17.10                             | <i>Katarzyna Gronostaj</i><br><b>Leczenie systemowe nowotworów zarodkowych jąder</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 17.10–17.35                             | <i>Jan Karol Wolski</i><br><b>Szanse na pozyskanie plemników w biopsji jąder TESA i m-TESE u mężczyzn z azoospermia po leczeniu onkologicznym</b>                                                                                                                                                                                                                           |
| 20.00–01.00                             | <b>KOKTAJL – SPOTKANIE TOWARZYSKIE (niesponsorowane)/Congress Dinner</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

## 22.11.2025 sobota/saturday

|                                         |                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SESJA 5/SESSION 5</b><br>9.00–10.45  | <b>Przewodniczący/Moderators:</b> <b>Barbara Bilińska, Małgorzata Kotwicka, Małgorzata Piasecka</b><br>(W czas każdego wykładu wliczona jest 5-minutowa dyskusja)            |
| 9.00–9.25                               | <i>Małgorzata Kotwicka</i><br>Czy możliwe, że eksosomy pochodzące z astrocytów regulują poziom miRNA w plemnikach?                                                           |
| 9.25–9.50                               | <i>Małgorzata Kotula-Balak</i><br>Molekularno-biochemiczny profil nowotworu komórek Leydiga: w poszukiwaniu nowych biomarkerów                                               |
| 9.50–10.15                              | <i>Kamil Gill, Małgorzata Piasecka</i><br>Krótki czas abstynencji seksualnej a wybrane parametry seminologiczne                                                              |
| 10.15–10.25                             | <i>Daria Adamczewska</i><br>Wpływ parabenów na wybrane nieprawidłowości morfologiczne plemników mężczyzn z populacji ogólnej                                                 |
| 10.25–10.35                             | <i>Marzena Kamieniczna</i><br>Przeciwciała przeciwplemnikowe i cytokiny w hipertermii jąder                                                                                  |
| 10.35–10.45                             | <i>Rim Ibrahim</i><br>Asthenozoospermia and consanguinity: a genomic exploration of novel variants                                                                           |
| 10.45–11.05                             | Przerwa kawowa/Coffee break                                                                                                                                                  |
| <b>SESJA 6/SESSION 6</b><br>11.05–12.55 | <b>Przewodniczący/Moderators:</b><br><b>Mariola Marchlewicz, Renata Walczak-Jędrzejowska, Szymon Bakalczuk</b><br>(W czas każdego wykładu wliczona jest 5-minutowa dyskusja) |
| 11.05–11.30                             | <i>Jolanta Słowikowska-Hilczner</i><br>Hormonoterapia u osób z niezgodnością płci                                                                                            |
| 11.30–11.55                             | <i>Marek Mędraś</i><br>Transpłciowość, zaburzenia rozwoju płci oraz stężenie testosteronu jako ciągle nierozwiązalne problemy sportu wyczynowego                             |
| 11.55–12.20                             | <i>Michał Rabijewski</i><br>Testosteron a rak gruczołu krokowego – state of the art                                                                                          |
| 12.20–12.45                             | <i>Dariusz Kałka</i><br>Testosteron, erekcja, libido, otyłość – z perspektywy androloga                                                                                      |
| 12.45–12.55                             | <i>Marta Zarzycka</i><br>Molekularne mechanizmy androgeno-zależnej regulacji procesu nowotworzenia pęcherza moczowego                                                        |
| 12.55–13.15                             | Zakończenie konferencji/Closing ceremony                                                                                                                                     |
| 13.15–14.30                             | Lunch                                                                                                                                                                        |

# NAGRODA MŁODYCH POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO IM. PROFESORA MICHAŁA BOKIŃCA ZA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE, PRZYZNANA W 2025 R.

AWARD OF POLISH SOCIETY OF ANDROLOGY  
FOR YOUNG SCIENTISTS NAMED BY PROF. MICHAŁ BOKINIEC,  
FOR SCIENTIFIC ACHIEVEMENTS, AWARDED IN 2025



**Alicja Kamińska** – dr n. biol., absolwentka Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Od 2020 r. adiunkt w Zakładzie Endokrynologii Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Autorka i współautorka publikacji naukowych oraz doniesień na zjazdach krajowych i międzynarodowych, dotyczących molekularnych aspektów hormonalnej regulacji komórek męskiego układu rozrodczego oraz roli komórek somatycznych w utrzymaniu przywileju immunologicznego jąder. Wykonawca oraz kierownik projektów Narodowego Centrum Nauki oraz Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Członek Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, Towarzystwa Biologii Rozrodu oraz grupy badawczej sieci Andronet (Europejski Program Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych).

**Alicja Kamińska** – PhD in biological sciences, graduated from the Jagiellonian University in Cracow. From 2020, assistant professor at the Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research at the Faculty of Biology of the Jagiellonian University in Kraków. Author and co-author of scientific publications as well as presentations on national and international congresses on molecular aspects of hormonal regulation of the male reproductive system and the role of somatic testicular cells in maintaining testis immune privilege. Principal Investigator and Investigator of projects funded by the National Science Centre and the Faculty of Biology at the Jagiellonian University. Member of the Polish Society of Andrology, the Society for Reproductive Biology and the Andronet network research group (European Cooperation in Science and Technology).

## STRESZCZENIE NAGRODZONEJ PUBLIKACJI NAUKOWEJ ABSTRACT OF THE AWARDED SCIENTIFIC PUBLICATION

**Kamińska A., Pardyak L., Lustofin S., Gielata K., Arent Z., Pietsch-Fulbiszewska A., Hejmej A.:**

### **9-CIS-RETINOIC ACID SIGNALING IN SERTOLI CELLS REGULATES THEIR IMMUNOMODULATORY FUNCTION TO CONTROL LYMPHOCYTE PHYSIOLOGY AND TREG DIFFERENTIATION**

Reprod Biol Endocrinol. 2024, 22, 75. doi: [10.1186/s12958-024-01246-2](https://doi.org/10.1186/s12958-024-01246-2). PMID: 38926848.

Jądro jest narządem uprzywilejowanym immunologicznie, który zapobiega odpowiedzi immunologicznej przeciwko antygenom plemników i rozwojowi stanów zapalnych. Komórki jąder odpowiedzialne za tolerancję immunologiczną to głównie komórki Sertoliego, które utrzymują stan tolerancji poprzez hamowanie proliferacji i indukowanie apoptozy limfocytów. Wcześniejsze badania wykazały, że kwas 9-cis-retinowy (9cRA) blokuje ex vivo apoptozę limfocytów krwi obwodowej i promuje różnicowanie komórek Treg w jelicie. Rola sygnalizacji retinoidowej w regulacji przywileju immunologicznego jąder pozostaje natomiast nieznana. Celem niniejszego badania było określenie, czy 9cRA, działając poprzez receptory kwasu retinowego (RAR) i receptory retinoidowe X (RXR), kontroluje funkcje immunomodulacyjne komórek Sertoliego, wpływając na wydzielanie czynników przeciwzapalnych oraz prozapalnych, fizjologię limfocytów i różnicowanie komórek Treg. Uzyskane wyniki wykazały, że 9cRA hamuje ekspresję genów immunosupresyjnych i nasila ekspresję czynników prozapalnych w komórkach Sertoliego i limfocytach, zwiększa żywotność limfocytów i obniża tempo apoptozy. Dowiedziono ponadto, że 9cRA blokuje apoptozę limfocytów, działając zarówno poprzez receptory RAR, jak i RXR oraz hamując szlaki FasL/Fas/kaspaza 8 i Bax/Bcl-2/kaspaza 9. Wykazano, że sygnalizacja 9cRA w komórkach Sertoliego hamuje różnicowanie limfocytów Treg. Podsumowując, uzyskane przez nas wyniki wskazują, że sygnalizacja retinoidowa negatywnie reguluje funkcje immunosupresyjne komórek Sertoliego, kluczowe dla zapewnienia męskiej płodności. 9cRA hamuje apoptozę limfocytów, co może potencjalnie prowadzić do rozwoju autoimmunizacji i stanu zapalnego, negatywnie wpływających na płodność.

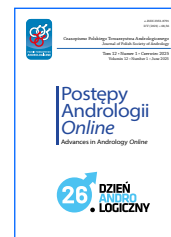
Testis is an immune privileged organ, which prevents the immune response against sperm antigens and inflammation. Testicular cells responsible for immune tolerance are mainly Sertoli cells, which maintain immune tolerance by inhibiting proliferation and inducing lymphocyte apoptosis. It has been shown that 9-cis-retinoic acid (9cRA) blocks ex vivo apoptosis of peripheral blood lymphocytes and promotes the differentiation of Treg cells in the gut. However, the role of retinoid signaling in regulating the immune privilege of the testes remains unknown. The aim of this study was to determine whether 9cRA, acting via the retinoic acid receptors (RAR) and the retinoic X receptors (RXR), controls the immunomodulatory functions of Sertoli cells by regulating the secretion of anti-inflammatory or pro-inflammatory factors, lymphocyte physiology and Treg cell differentiation. Our results have provided evidence that 9cRA inhibits the expression of immunosuppressive genes and enhances the expression of pro-inflammatory factors in Sertoli cells and lymphocytes, increases lymphocyte viability and decreases apoptosis rate. Moreover, we have found that 9cRA blocks lymphocyte apoptosis acting through both RAR and RXR and inhibiting FasL/Fas/Caspase 8 and Bax/Bcl-2/Caspase 9 pathways. Finally, we have shown that 9cRA signaling in Sertoli cells inhibits Treg differentiation. Collectively, our results indicate that retinoid signaling negatively regulates immunosuppressive functions of Sertoli cells, crucial for ensuring male fertility. 9cRA inhibits lymphocyte apoptosis, which may contribute to the development of autoimmunity and inflammation, ultimately leading to impaired fertility.



Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.postepyandrologii.pl>

# KONFERENCJA POLSKIEGO TOWARZYSTWA ANDROLOGICZNEGO – 26. DZIEŃ ANDROLOGICZNY

Kraków, 21–22.11.2025; [www.pta2025.pl](http://www.pta2025.pl)

DOI: 10.26404/PAO\_2353-8791.2025.01



## Streszczenia wykładów

Daria Adamczewska<sup>1</sup>, Joanna Jurewicz<sup>2</sup>,  
Wojciech Hanke<sup>3</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>4</sup>,  
Katarzyna Marchlewska<sup>1</sup>, Jolanta Słowikowska-Hilczar<sup>1</sup>,  
Renata Walczak-Jędrzejowska<sup>1</sup>

### WPŁYW PARABENÓW NA WYBRANE NIEPRAWIDŁOWOŚCI MORFOLOGICZNE PLEMNİKÓW MĘŻCZYZN Z POPULACJI OGÓLNEJ

<sup>1</sup>Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Zakład Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi; <sup>2</sup>Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego, Instytut Medycyny Pracy im. Prof. J. Nofera, Łódź; <sup>3</sup>Zakład Epidemiologii Środowiskowej, Instytut Medycyny Pracy im. Prof. J. Nofera, Łódź; <sup>4</sup>Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk  
e-mail: [daria.adamczewska@umed.lodz.pl](mailto:daria.adamczewska@umed.lodz.pl)

Parabeny, klasa konserwantów występujących w wielu produktach codziennego użytku, w tym kosmetykach, lekach czy produktach spożywczych, zostały powiązane z niekorzystnym wpływem na morfologię plemników (Jurewicz i wsp.: *J Occup Environ Med.* 2017, 59 (11), 1034–1040; Okonofua i wsp.: *Int J Gen Med.* 2024, 17, 2767–2779). Badania wykazały, że wyższe poziomy parabenów w moczu są powiązane z większym odsetkiem plemników o nieprawidłowej morfologii, co może potencjalnie mieć wpływ na męską płodność. Celem niniejszego badania była ocena związku pomiędzy stężeniem wybranych parabenów w moczu a szczegółową morfologią plemników u młodych mężczyzn z populacji ogólnej.

Badaniem objęto 234 młodych mężczyzn w wieku 19–33 lata. W dniu wizyty uczestnicy oddali próbki porannego moczu oraz nasienia, wypełnili

kwestionariusze dotyczące danych demograficznych, zdrowotnych oraz stosowania używek, a także poddani zostali pomiarom antropometrycznym. Do oznaczenia stężeń czterech parabenów: metyloparabenu (MeP, ang. *methylparaben*), etyloparabenu (EtP, ang. *ethylparaben*), propyloparabenu (PrP, ang. *propylparaben*) oraz butyloparabenu (BuP, ang. *butylparaben*) w próbkach moczu zastosowano metodę chromatografii gazowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas. Limit detekcji (LOD, ang. *limit of detection*) dla wszystkich analizowanych związków wynosił 1 ng/mL. Morfologię plemników oceniano zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) z 2021 r., stosując ścisłe kryteria Krugera. Oprócz standardowej analizy wykonano szczegółową ocenę obecności określonych nieprawidłowości morfologicznych poszczególnych elementów budowy plemnika. Rejestrowano: (1) nieprawidłowości główki (okrągła, gruszkowata, amorficzna, wydłużona/wąska, z małym akrosomem lub nieprawidłową wakuolizacją), (2) nieprawidłową wstawkę, (3) nieprawidłową wtkę oraz (4) obecność resztkowej cytoplazmy. Na podstawie wyników wyliczono wskaźnik teratozoospermii (TZI, ang. *teratozoospermia index*). Analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu modeli regresji liniowej jednoczynnikowej i wielorakiej, uwzględniając takie czynniki zakłócające, jak wiek, BMI, sezon pobrania próbki, spożycie alkoholu, palenie papierosów, leukocytospermia, gorączka w ostatnich 3 miesiącach, żylaki powrózka nasiennego oraz wnętrostwo w wywiadzie. Ze względu na częstość wyników poniżej granicy wykrywalności (>50%) dla EtP, PrP i BuP, dane skategoryzowano na  $\geq$ LOD i <LOD.



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

W przypadku MeP wykorzystano podział na kwartyle (IQR, ang. *interquartile range*).

Mediana wieku uczestników wynosiła 24 lata (IQR: 22–26), a mediana wskaźnika masy ciała (BMI) 23,9 kg/m<sup>2</sup> (IQR: 21,8–25,4). Około 79% uczestników wzięło udział w badaniu w miesiącach jesienno-zimowych, a pozostałe 21% – w okresie wiosenno-letnim. U 11% uczestników odnotowano epizod gorączki (>39°C) w ciągu ostatnich trzech miesięcy przed wizytą. Alkohol spożywało ponad 90% badanych. Częste spożycie, rozumiane jako co najmniej raz w tygodniu, zadeklarowało 52% badanych. Kolejne 40% piło alkohol okazjonalnie – od kilku razy w miesiącu do sporadycznych sytuacji. Tylko 8% uczestników badania wskazało na całkowitą abstynencję. Papierosy paliło 17% uczestników. Leukocytozpermie stwierdzono u około 3% badanych. U 8% wykryto żylaki powrózków nasiennych, natomiast wnętrostwo w wywiadzie występowało u 3% mężczyzn. W zakresie narażenia na parabeny, MeP wykryto w 75% próbek moczu, EtP w 39%, a PrP i BuP w 25%. Średnie geometryczne stężenia tych związków, skorygowane o ciężar właściwy moczu, wyniosły odpowiednio: 6,72 ng/mL dla MeP, 1,35 ng/mL dla EtP, 0,99 ng/mL dla PrP oraz 0,83 ng/mL dla BuP. W analizie regresji jednoczynnikowej stwierdzono, że ekspozycja na BuP była istotnie związana z obecnością nieprawidłowej wstawki plemników oraz ze wzrostem wskaźnika TZI. Dodatkowo, ekspozycja na EtP wiązała się z częstszym występowaniem nieprawidłowej wakuolizacji główki plemnika. W analizie wieloczynnikowej, z uwzględnieniem zmiennych zakłócających, utrzymała się dodatnia zależność pomiędzy BuP a wskaźnikiem TZI. Dodatkowo, PrP okazał się istotnie związany z wyższym odsetkiem plemników o okrągłej główce, co może świadczyć o zaburzeniach procesu dojrzewania plemników.

Wyniki badania wskazują, że ekspozycja na butyloparaben i propyloparaben może negatywnie wpływać na morfologię plemników u młodych mężczyzn. Butyloparaben był związany ze wzrostem wskaźnika teratozoospermii i obecnością nieprawidłowej wstawki, natomiast propyloparaben – z większym odsetkiem plemników o okrągłej główce. Uzyskane wyniki sugerują, że parabeny mogą negatywnie oddziaływać na spermiogenezę – końcowy etap procesu dojrzewania plemników.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki grant nr 2014/13/B/NZ7/02223, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, grant nr 503/1-089-03/503-11-001.

Piotr Chłosta

## RPLND – LIMFADENEKTOMIA U CHORYCH NA RAKA JĄDRA

Katedra i Klinika Urologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; Klinika Urologii, Uniwersytet Medyczny w Wiedniu  
e-mail: piotr.chlosta@uj.edu.pl

Limfadenektomia zaotrzewnowa w raku jądra (RPLND, ang. *retroperitoneal lymph node dissection*) polega na

chirurgicznym usunięciu węzłów chłonnych z przestrzeni zaotrzewnowej, które są najczęstszym miejscem przerzutów raka jądra. Zabieg ten jest wykonywany głównie w przypadku nienasieniakowych guzów germinalnych (NSGCT, ang. *non-seminomatous germ cell tumors*) w stadium I lub II, gdy występuje ograniczona choroba w węzłach chłonnych zaotrzewnowych, a także jako leczenie po chemioterapii w przypadku utrzymujących się mas w tej okolicy. Procedura polega na otwarciu jamy brzusznej (lub techniką laparoskopową lub laparoskopową z asystą robota) i usunięciu węzłów chłonnych wzdłuż naczyń głównych (aorta, żyła główna dolna) oraz w okolicach naczyń biodrowych. W nowoczesnych technikach stosuje się podejście oszczędzające nerwy, aby zminimalizować ryzyko powikłań takich jak anejakulacja. Technika RPLND umożliwia dokładną ocenę stopnia zaawansowania choroby, usunięcie przerzutów opornych na chemioterapię (np. teratoma) oraz może być leczeniem radykalnym, pozwalającym uniknąć chemioterapii u wybranych pacjentów.

Według wytycznych *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), RPLND jest zalecana jako opcja leczenia w stadium II NSGCT z nieobciążonymi markerami nowotworowymi i niską objętością przerzutów (węzły ≤3 cm), a także w wybranych przypadkach nasieniaka z ograniczoną chorobą w węzłach chłonnych (Dougławi i wsp.: *J Urol.* 2020, 204 (1), 96–103; Daneshmand i wsp.: *J Clin Oncol.* 2023, 41 (16), 3009–3018). Zabieg powinien być wykonywany w ośrodkach o dużym doświadczeniu ze względu na ryzyko powikłań okołoperacyjnych, takich jak niedrożność jelit, uszkodzenie naczyń, zatorowość płucna czy *chylous ascites*, choć ryzyko to jest niskie przy odpowiedniej technice.

Dane dotyczące długoterminowych (ponad 5 lat) wyników onkologicznych i jakości życia po minimalnie inwazyjnej RPLND w wyższych stadiach raka jądra wskazują, że metoda ta zapewnia bardzo wysoką przeżywalność, niskie ryzyko powikłań i lepszą jakość życia w porównaniu z chemioterapią lub radioterapią, szczególnie w wyselekcjonowanych grupach pacjentów (Dougławi i wsp.: *J Urol.* 2020, 204 (1), 96–103; Heinzelbecker i wsp.: *J Cancer Surviv.* 2024; Mousa i wsp.: *BJU Int.* 2024, 134 (4), 622–629; Calpin i wsp.: *Int J Urol.* 2025, 32 (9), 1129–1136). W przypadku chorych z NSGCT w stadium II, 5-letnie przeżycie całkowite po RPLND wynosi 98–100%, a większość pacjentów (do 81%) unika chemioterapii, która jest stosowana jedynie w przypadku nawrotu lub wysokiego ryzyka (Dougławi i wsp.: *J Urol.* 2020, 204 (1), 96–103; Tachibana i wsp.: *J Clin Oncol.* 2022, 40 (32), 3762–3769; Mousa i wsp.: *BJU Int.* 2024, 134 (4), 622–629). W grupie z seminoma o niskiej objętości przerzutów, RPLND daje 2-letnie przeżycie wolne od nawrotu na poziomie 81% i 100% przeżycia całkowitego, a nawroty są skutecznie leczone chemioterapią lub kolejną operacją (Daneshmand i wsp.: *J Clin Oncol.* 2023, 41 (16), 3009–3018; Stephenson i wsp.: *J Urol.* 2024, 211 (1), 20–25; Singla i wsp.: *JAMA.* 2025, 333 (9), 793–803).

W porównaniu, chemioterapia i radioterapia w stadium II zapewniają 5-letnie przeżycie wolne od progresji 87–95%, ale wiążą się z istotnym ryzykiem długoterminowych powikłań, takich jak neuropatia, ototoksyczność, zaburzenia płodności, wtórne nowotwory i choroby sercowo-naczyniowe (Chovanec i wsp.: *Nat Rev Urol.* 2021, 18 (4), 227–245; Stephenson i wsp.: *J Urol.* 2024, 211 (1), 20–25; Singla i wsp.: *JAMA.* 2025, 333 (9), 793–803).

Andrzej Depko

## **CHOROBA OTYŁOŚCIOWA U MĘŻCZYZN OKIEM SEKSUOLOGA**

Poradnia Seksuologiczna i Patologii Współżycia, Samodzielny Wojewódzki Zespół Publicznych Zakładów Psychiatrycznej Opieki Zdrowotnej, Warszawa  
e-mail andrzej@depko.pl

Otyłość stanowi istotny problem epidemiologiczny zarówno w Polsce, jak i na świecie, a jej rozpowszechnienie wykazuje tendencję wzrostową. W Europie problem nadwagi i otyłości dotyczy już 60% dorosłych, przy czym w wielu krajach odsetek mężczyzn z nadmierną masą ciała przekracza 63%, a w niektórych sięga nawet 70%. Zaburzenia seksualne u mężczyzn z chorobą otyłościową stanowią wieloczynnikowy problem zdrowotny o charakterze przewlekłym, wynikający z przyczyn hormonalnych, metabolicznych, immunologicznych, naczyniowych, neurologicznych oraz psychospołecznych. Coraz więcej danych wskazuje również na istotny związek pomiędzy nadmierną masą ciała a zaburzeniami funkcji seksualnych u mężczyzn, zwłaszcza zaburzeniami erekcji. Częstość występowania zaburzeń erekcji (ED, ang. *erectile dysfunction*) wśród mężczyzn z otyłością waha się od 36% do 82%, a ryzyko jej wystąpienia jest nawet dwukrotnie wyższe w porównaniu do mężczyzn o prawidłowej masie ciała. Dodatkowo, podwyższone wartości indeksu masy ciała (BMI, ang. *body mass index*) korelują ze zwiększonym ryzykiem umiarkowanych i ciężkich postaci ED. Badania przekrojowe wykazały, że otyłość jest niezależnym czynnikiem ryzyka ED – nawet po uwzględnieniu takich czynników zakłócających jak wiek, choroby współistniejące czy styl życia. Leczenie zaburzeń seksualnych u mężczyzn z otyłością wymaga kompleksowego podejścia terapeutycznego, obejmującego modyfikację stylu życia, interwencje endokrynologiczne, metaboliczne i wsparcie psychologiczne.

Monika Frączek<sup>1</sup>, Jolanta Guz<sup>2</sup>, Ewelina Zarakowska<sup>2</sup>, Marek Foksiński<sup>2</sup>

## **WPŁYW WITAMIN ANTYOKSYDACYJNYCH NA CZYNNOŚĆ PLEMNİKÓW I ZDROWIE REPRODUKCYJNE MĘŻCZYZN**

<sup>1</sup>Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań;

<sup>2</sup>Katedra Biochemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium

Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu  
e-mail: monika.fraczek@igcz.poznan.pl

Wielu stanom patologicznym prowadzącym do niepłodności męskiej towarzyszy wzrost stresu oksydacyjnego. Skuteczna ochrona przed peroksydacyjnymi uszkodzeniami plemników wywoływanymi przez reaktywne formy tlenu i azotu jest silnie wspierana przez nieenzymatyczne związki niskocząsteczkowe o charakterze przeciwutleniaczy, takie jak np. kwas askorbinowy (witamina C), tokoferole (witamina E), retinoidy (witamina A). Niedobór tych związków obserwowano między innymi u pacjentów z żylakami powrózka nasiennego, zakażeniami w układzie moczowo-płciowym, dotkniętych niepłodnością idiopatyczną, czy też u mężczyzn narażonych na różnorodne czynniki środowiskowe. Wielokierunkowe działanie witamin antyoksydacyjnych w gonadzie męskiej obejmuje ich udział w kontroli wydajności procesu spermatogenezy poprzez zapewnienie specyficznego mikros środowiska chroniącego komórki rozrodcze przed stresem oksydacyjnym (witaminy C, E), regulację podziałów mejozycznych i różnicowania komórek rozrodczych (witamina A), czy regulację ekspresji genów i białek oraz szlaków sygnałowych na różnych etapach spermatogenezy (witaminy A, C, E). W licznych badaniach prospektywnych poziomy witamin o działaniu antyoksydacyjnym pozytywnie korelowano z prawidłowymi parametrami nasienia, takimi jak objętość, liczba i ruchliwość plemników, czy stopień fragmentacji ich DNA.

Nasienie ludzkie identyfikowane jest jako szczególnie bogate źródło witaminy C, a jej głównym rezerwuarem w układzie płciowym męskim jest prostata. Badania ostatnich lat wskazują, że witamina C oprócz wpływu na potencjał oksydoredukcyjny komórek pełni również rolę w regulacji procesów epigenetycznych w jądrze komórkowym poprzez wpływ na aktywność enzymów uczestniczących w aktywnej demetylacji DNA. Udowodniono, że plemniki ludzkie wykazują ekspresję transporterów witaminy C – białek SVCT1 i SVCT2, co sugeruje, że aktywne systemy transportowe mogą być zaangażowane w wychwyt witaminy C przez te komórki. Ostatnie doniesienia wskazują, że wewnątrzkomórkowe stężenie witaminy C i poziom modyfikacji epigenetycznych w komórkach prostaty odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu tego gruczołu i mogą być potencjalnymi markerami płodności i zdrowia reprodukcyjnego mężczyzn. Wykazano również korzystny wpływ witaminy C na żywotność oraz zmniejszenie poziomu uszkodzeń DNA w plemnikach ludzkich poddanych kriokonserwacji.

W związku z wysoką podatnością plemników na uszkodzenia oksydacyjne, komórki te są silnie zależne od właściwości antyoksydacyjnych plazmy nasiennej, a suplementowanie egzogennych przeciwutleniaczy o niskiej masie cząsteczkowej, w tym witamin, jest bardzo powszechną praktyką kliniczną, chętnie stosowaną w celu zmniejszenia stresu oksydacyjnego w nasieniu o różnej etiologii i dla poprawy potencjału zapładniającego

plemników. Analiza badań i artykułów klinicznych z ostatnich 20 lat ujawniła, że terapia antyoksydacyjna nie zawsze wiązała się z poprawą standardowych parametrów plemników i integralności plemnikowego DNA, co wywołuje ożywione dyskusje wśród naukowców i klinicystów zajmujących się płodnością u mężczyzn. Należy jednak zauważyć, że autorzy tych publikacji nie opierali swoich wniosków na parametrach molekularnych plemników, jak również nie badali stężeń zastosowanych antyoksydantów w nasieniu. Dalsze badania eksperymentalne i kliniczne są niezbędne i pilnie potrzebne do ustalenia optymalnych schematów leczenia męskiej niepłodności z wykorzystaniem witamin antyoksydacyjnych.

Wsparcie finansowe: Narodowe Centrum Nauki; projekt badawczy OPUS nr 2024/55/B/NZ7/03175.

Kamil Gill<sup>1</sup>, Mariusz Łukaszuk<sup>2</sup>, Małgorzata Piasecka<sup>1</sup>

### KRÓTKI CZAS ABSTYNENCJI SEKSUALNEJ A WYBRANE PARAMETRY SEMINOLOGICZNE

<sup>1</sup>Zakład Histologii i Biologii Rozwoju, Wydział Nauk o Zdrowiu, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie; <sup>2</sup>Novique Medycyna Estetyczna i Anti-Aging, Gdańsk  
e-mail: kamil.gill@pum.edu.pl

Problem niepłodności partnerskiej dotyczy 15–20% par w wieku reprodukcyjnym, w których partnerki nie zachodzą w ciążę mimo regularnego współżycia i braku stosowania metod antykoncepcyjnych w czasie 12 miesięcy. Udział czynnika męskiego w niepłodności partnerskiej obserwowany jest w 30–50% przypadków (Black i wsp.: *Uro* 2025, 5, 2. doi: 10.3390/uro5010002). Ponadto, często diagnozowaną przyczyną zaburzeń męskiej płodności jest niepłodność idiopatyczna (30% przypadków) o nieznanej etiologii, w której dochodzi do obniżenia podstawowych parametrów seminologicznych, co zdecydowanie może utrudniać postępowanie terapeutyczne (Minhas i wsp.: *Eur Urol.* 2025, 87(5), 601–616). W ostatnich latach pojawiły się doniesienia naukowe wskazujące, że czas abstynencji seksualnej jest istotnym i łatwo modyfikowalnym czynnikiem mogącym mieć wpływ na jakość nasienia. Zmiana czasu abstynencji seksualnej wydaje się bezpieczna, bowiem nie niesie ze sobą ryzyka jakie może pojawiać się w przypadku terapii farmakologicznej, np. antyoksydacyjnej, która w nieobecności stresu oksydacyjnego zwiększa ryzyko stresu redukcyjnego (Karavani i wsp.: *Transl Androl Urol.* 2023, 12(10), 1487–1496; Poopaibool i wsp.: *Clin Exp Reprod Med.* 2023, 50(4), 262–269; Du i wsp.: *Andrology.* 2024, 12(6), 1224–1235; Raditya i wsp.: *World J Mens Health.* 2024, doi: 10.5534/wjmh.240035; Yao i wsp.: 2025. doi: 10.3389/fendo.2025.1472333). Stąd też, celem niniejszych badań była weryfikacja wpływu krótkiego czasu abstynencji seksualnej na standardowe parametry seminologiczne oraz integralność i dojrzałość chromatyny męskich gamet.

Badanie przeprowadzono na próbkach nasienia uzyskanych od pełnoletnich mężczyzn (n = 95, mediana

wieku: 33,00 r.ż.; zakres: 23,00–48,00 r.ż.), którzy zgłaszali się do Pracowni Andrologicznej Zakładu Histologii i Biologii Rozwoju (Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie). Mężczyźni oddawali dwie próbki nasienia tego samego dnia. Pierwszą po 2–7 dniach abstynencji seksualnej, drugą po upływie 1 godziny. Uczestnikami badań byli mężczyźni pochodzący z par z rozpoznaną niepłodnością. Jako kryterium wykluczenia przyjęto kryptozoospermie i azoospermie.

Porównanie (test Wilcoxon dla grup zależnych) podstawowych parametrów seminologicznych (WHO 2010 i 2021) wykazało, że godzinna abstynencja seksualna zmniejszała objętość ejakulatu i całkowitą liczbę plemników (odpowiednio mediana: 3,50 mL vs. 1,50 mL, oraz mediana:  $78,30 \times 10^6$  plemników vs.  $29,00 \times 10^6$  plemników). W przypadku pozostałych standardowych parametrów seminologicznych nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie.

W kolejnym etapie badań zweryfikowano wpływ krótkiego czasu abstynencji seksualnej na 1) fragmentację jądrowego DNA plemników (SDF, ang. *sperm DNA fragmentation*) – test dyspersji chromatyny (SCDt, ang. *sperm chromatin dispersion test*), 2) obecność przetrwałych histonów jądrowych – test z błękitem aniliny (AB, ang. *aniline blue*), oraz 3) kondensację chromatyny – test z błękitem toluidyny (TB, ang. *toluidine blue*). Wykazano istotny wpływ krótkiego czasu abstynencji seksualnej na wartość indeksu SDF (mediana: 19,00% vs. 16,50%). Co więcej, istotnemu zmniejszeniu uległa liczba badanych z indeksem SDF >20%, który ma istotne znaczenie kliniczne w ocenie męskiej płodności (44,18% vs. 24,46%). Konsekwentnie, istotnemu zmniejszeniu uległ iloraz szans (OR, ang. *odds ratio*) na wystąpienie indeksu SDF >20%. Był on ponad 2-krotnie mniejszy po godzinnej abstynencji seksualnej (OR = 0,4568). Natomiast nie zaobserwowano istotnego wpływu czasu abstynencji seksualnej na wyniki testów AB i TB.

Uzyskane dane wskazują, że z jednej strony krótki czas abstynencji seksualnej negatywnie wpływa na objętość ejakulatu i całkowitą liczbę plemników, z drugiej zaś pozytywnie na integralność chromatyny plemników. Wydaje się zatem, że w przypadkach wysokiego odsetka plemników z pofragmentowanym DNA krótki czas abstynencji seksualnej jest uzasadniony.

Zuzanna Graczyk<sup>1</sup>, Jagoda Kostyk<sup>1</sup>, Julia Pospieszna<sup>1,2</sup>,  
Zuzanna Myślička<sup>1</sup>, Marzena Kamieniczna<sup>1</sup>,  
Monika Frączek<sup>1</sup>, Marta Olszewska<sup>1</sup>, Maciej Kurpisz<sup>1</sup>

### POPRAWA POZIOMÓW ZNACZNIKÓW EPIGENETYCZNYCH I INTEGRALNOŚCI CHROMATYNY W PLEMNIKACH LUDZKICH PO FRAKCJONOWANIU

<sup>1</sup>Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań;

<sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Zakład Toksykologii, Collegium Pharmaceuticum, Poznań  
e-mail: zuzanna.graczyk@igcz.poznan.pl  
e-mail: marta.olszewska@igcz.poznan.pl

Fracjonowanie plemników jest rutynowo wykorzystywane w klinikach leczenia niepłodności w technikach wspomaganego rozrodu (ART, ang. *assisted reproductive technologies*), takich jak: zapłodnienie *in vitro* (IVF, ang. *in vitro fertilization*) czy docytoplazmatyczne wstrzyknięcie plemnika (ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm injection*). Do najczęściej stosowanych metod selekcji plemników dobrych jakościowo należą: test migracji plemników (swim-up) oraz wirowanie w gradiencie gęstości (Yu i wsp.: PLOS ONE. 2015, 10(12), e0145585). Metoda swim-up umożliwia oddzielenie plemników o prawidłowym ruchu od plazmy nasiennej, natomiast wirowanie w gradiencie gęstości (np. z wykorzystaniem gradientu perkolu) pozwala na uzyskanie plemników o prawidłowym ruchu i morfologii, wolnych od reszt błon komórkowych, martwych komórek oraz komórek nierozrodczych (WHO, 2021). Plemniki uzyskane obiema metodami prowadzą do zbliżonego skumulowanego odsetka żywych urodzeń (Rao i wsp.: Reprod Biol Endocrinol. 2022, 20(1), 60). Wykazano, że wybór plemnika przed wstrzyknięciem do oocyta ma istotny wpływ na skuteczność procedury ICSI (Baldini i wsp.: Cells. 2021, 10(12), 3566). Odpowiednia selekcja plemników pozostaje kluczowym etapem, który wpływa na proces zapłodnienia i wczesny rozwój zarodka. Celem niniejszego badania była ocena integralności chromatyny i modyfikacji epigenetycznych w plemnikach po zastosowaniu technik frakcjonowania, na podstawie takich parametrów jak: protaminacja chromatyny, fragmentacja DNA, poziomy 5-metylocytozyny (5mC, ang. *5-methylcytosine*) i 5-hydroksymetylocytozyny (5hmC, ang. *5-hydroxymethylcytosine*) w DNA oraz organizacja przestrzenna chromatyny i chromosomów.

Próbki nasienia pobrano od 5 mężczyzn z normozoospermia oraz 5 nosicieli translokacji chromosomowych wzajemnych (RCT, ang. *reciprocal chromosome translocation*). Następnie poddawano je frakcjonowaniu metodą swim-up (w celu selekcji żywych plemników o prawidłowym ruchu) oraz za pomocą wirowania w gradiencie perkolu (90/47%; w celu selekcji plemników o prawidłowym ruchu i morfologii). Protaminację chromatyny oceniano za pomocą barwienia kwaśnym błękitem aniliny (AB, ang. *aniline blue*), a fragmentację DNA przy użyciu oranżu akrydyny (AO, ang. *acridine orange*) lub testu TUNEL. Do analizy lokalizacji chromosomów 4, 7, 8, 9, 18, X i Y wykorzystano fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* (FISH, ang. *fluorescence in situ hybridization*). Poziomy 5mC/5hmC w DNA plemników oceniano metodą barwienia immunofluorescencyjnego (IF, ang. *immunofluorescence*).

Wstępne wyniki uzyskane w grupie kontrolnej mężczyzn z normozoospermia wykazały, że selekcja wysokiej jakości plemników prowadziła do istotnego wzrostu poziomu protaminacji chromatyny (+24–26%) oraz wzrostu poziomów 5mC i 5hmC (+7–12%), a także do redukcji poziomu fragmentacji ssDNA (-60–70%). Plemniki o prawidłowym ruchu i morfologii wykazywały zmianę lokalizacji chromosomów, przy czym chromosomy

płciowe przemieszczały się ku peryferium jądra komórkowego stanowiącego obszar kluczowy dla pierwszego kontaktu z ooplazmą w trakcie procesu zapłodnienia. Badane chromosomy autosomalne wykazywały różne wzorce przemieszczania. Wyniki te wskazują na potencjalne znaczenie selekcji wysokiej jakości plemników w technikach wspomaganego rozrodu – zarówno na poziomie chromatyny, jak i organizacji chromosomów – oraz podkreślają wagę frakcjonowania plemników jako etapu umożliwiającego wybór gamet o optymalnych cechach. Analizy są nadal kontynuowane o próbki kliniczne.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki (NCN): 2020/38/E/NZ2/00134 (MO)

Katarzyna Gronostaj

## LECZENIE SYSTEMOWE NOWOTWORÓW ZARODKOWYCH JĄDER

Katedra i Klinika Urologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie  
e-mail: katarzynagronostaj@gmail.com

Nowotwory zarodkowe jąder są najczęstszymi guzami litymi u młodych mężczyzn. Stanowią one przykład sukcesu współczesnej medycyny w zakresie leczenia młodych pacjentów ze wskaźnikiem 5-letniego przeżycia wynoszącym około 95%. Guzy zarodkowe jądra klasycznie dzielą się na dwa główne podtypy: nasieniaki i nienasieniaki. Do nienasieniaków należą cztery typy nowotworów: rak zarodkowy, kosmówczak, guz pęcherzyka żółtkowego i potworniak. Są one zazwyczaj bardziej agresywne klinicznie, a obecność któregośkolwiek z czterech podtypów histologicznych definiuje guz jako nienasieniaka. W przypadku większości nowotworów zarodkowych jądra istnieje ugruntowany standard leczenia, który zapewnia wysokie odsetki wyleczeń. Celem wystąpienia jest przedstawienie obecnego standardu leczenia systemowego nowotworów zarodkowych jądra

Dariusz Kałka

## TESTOSTERON, EREKCJA, LIBIDO, OTYŁOŚĆ – Z PERSPEKTYWY ANDROLOGA

Wydział Fizjoterapii, Akademia Wychowania Fizycznego im. Polskich Olimpijczyków we Wrocławiu  
e-mail: dariusz.kalka@gmail.com

Testosteron reguluje wiele procesów fizjologicznych na poziomie ogólnoustrojowym, tkankowym, komórkowym i molekularnym. Obniżone stężenie testosteronu prowadzi do rozwoju hipogonadyzmu definiowanego jako niskie stężenie testosteronu w surowicy krwi i współwystępowanie objawów, w tym objawów osiowych pochodzących ze sfery seksualnej takich jak zmniejszona częstotliwość porannych erekcji, osłabienie myśli seksualnych oraz zaburzenia erekcji. Częstość występowania hipogonadyzmu w populacji ogólnej wynosi 2,1–12,8%

i wzrasta u pacjentów z chorobą otyłościową do 15–78,8%. Międzynarodowe wytyczne rekomendują, aby wszyscy mężczyźni ze zwiększonym obwodem pasa lub chorobą otyłościową byli oceniani pod kątem hipogonadyzmu a pacjenci z rozpoznaniem hipogonadyzmem powinni być badani pod kątem występowania otyłości. Ze względu na bardzo częste występowanie zaburzeń seksualnych takich jak zaburzenia libido i zaburzenia erekcji u mężczyzn z chorobą otyłościową pacjenci ci wg standardów, jeśli nie planują prokreacji i nie występują u nich klasyczne p/wskazania, powinni być poddani testosteronowej terapii zastępczej (TRT, ang. testosterone replacement therapy). W przypadku hipogonadyzmu czynnościowego, którego jedną z głównych przyczyn jest choroba otyłościowa wg zaleceń Europejskiej Akademii Andrologii terapię powinno zaczynać się od preparatów transdermalnych. Leczenie testosteronem, który bierze udział praktycznie w każdej fazie reakcji seksualnej, poza poprawą funkcji seksualnych ma za zadanie w tych grupach pacjentów poprzez zmianę składu ciała poprawić wrażliwość na insulinę. Należy pamiętać, że długotrwałe narażenie pacjenta na hipogonadyzm może trwale uszkodzić aparat erekcyjny mężczyzny, w skład którego wchodzi ciało jamiste oraz mięśnie – opuszkowo-gąbczasty i kulzowo-jamisty. Istotnym argumentem za TRT są także dane na temat bezpieczeństwa sercowo-naczyniowego terapii testosteronem stosowanej u mężczyzn w średnim i starszym wieku z potwierdzonym hipogonadyzmem i wysokim ryzykiem sercowo-naczyniowym, które dostarczyło badanie TRAVERS przeprowadzone na testosteronie w żelu o stężeniu 1,62%.

Marzena Kamieniczna<sup>1</sup>, Lukasz Wojnar<sup>2</sup>,  
Jozef Nakonechnyy<sup>3</sup>, Andrij Nakonechnyy<sup>4</sup>,  
Laura Grzeskowiak<sup>5</sup>, Michal Kups<sup>6,7</sup>, Kamil Gill<sup>8</sup>,  
Tomasz Woźniak<sup>1</sup>, Anna Havrylyuk<sup>9</sup>,  
Malgorzata Piasecka<sup>8</sup>, Valentina Chopyak<sup>9</sup>, Monika  
Fraczek<sup>1</sup>, Maciej Krzysztof Kurpisz<sup>1</sup>

## PRZECIWCIAŁA PRZECIWPŁEMNIKOWE I CYTOKINY W HIPERTERMII JĄDER

<sup>1</sup>Institut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu,

<sup>2</sup>Klinika Urologii i Urologii Onkologicznej Poznańskiego Uniwersytetu Medycznego, <sup>3</sup>Katedra Urologii Lwowskiego Narodowego Uniwersytetu Medycznego, <sup>4</sup>Katedra Chirurgii Dziecięcej Lwowskiego Narodowego Uniwersytetu Medycznego,

<sup>5</sup>Certus Szpital Prywatny w Poznaniu; <sup>6</sup>Samodzielny Publiczny Wojewódzki Szpital Zespolony w Szczecinie; <sup>7</sup>TFP Fertility Vitrolive Szczecin, <sup>8</sup>Zakład Histologii and Biologii Rozwoju, Wydział Nauk o Zdrowiu Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, <sup>9</sup>Katedra Immunologii i Alergologii Lwowskiego Narodowego Uniwersytetu Medycznego,

e-mail: monika.fraczek@igcz.poznan.pl

e-mail: maciej.kurpisz@igcz.poznan.pl

e-mail: marzena.kamieniczna@igcz.poznan.pl

Podwyższona temperatura w okolicy jąder lub moszny może prowadzić do obniżenia płodności mężczyzn.

Niezależnie, czy mamy do czynienia ze źródłami egzoczy endogennymi hipertermii, rola stresu oksydacyjnego oraz nasilonych reakcji ze strony układu odpornościowego może być w tych przypadkach kluczowa. Badania cytokin i obecności przeciwciał przeciwpłemnikowych (ang. *antisperm antibodies*) wpisują się w trend poszukiwań przydatnych wskaźników do diagnostyki niepłodności męskiej wywołanej hipertermią i badań nad rolą interakcji pomiędzy stresem oksydacyjnym a odpowiedzią immunologiczną w patogenezie męskiej niepłodności. Celem niniejszego badania było określenie związku pomiędzy obecnością przeciwciał przeciwpłemnikowych a markerami stresu oksydacyjnego i odpowiedzią ze strony wybranych cytokin, chemokin i czynników wzrostu u mężczyzn narażonych na podwyższoną temperaturę jąder i/lub moszny (Politch i wsp.: *Hum Reprod.* 2007, 22(11), 2928–2935; Fraczek i wsp.: *Int J Mol Sci.* 2020, 21(17), 6427; Fraczek i wsp.: *Int J Environ Res Public Health.* 2022, 19(5), 2713; Fomichova i wsp.: *FEBS J.* 2025, 292(13), 3321–3349).

Badana grupa mężczyzn (n = 311) została podzielona na następujące podgrupy: osoby płodne – kontrola (n = 23), mężczyźni z niepłodnością idiopatyczną (n = 34), zawodowi kierowcy (n = 51), mężczyźni z żylakami powrózka nasiennego (n = 95), mężczyźni z przebytych w dzieciństwie wnetrostwie (n = 60) i mężczyźni z infekcjami bakteryjnymi nasienia (n = 39) i niepłodnością immunologiczną (n = 9). Materiał do badań stanowiła plazma nasienne. Pośredni mieszany test antyglobulinowy (MAR ang. *mixed antiglobulin reaction*) i metodę z wykorzystaniem cytometrii przepływowej zastosowano do oznaczania AsA w plazmie nasiennej. Dodatkowo, test bezpośredni MAR użyto do badania AsA na powierzchni żywych plemników. Parametry stresu oksydacyjnego takie jak: całkowita pojemność antyoksydacyjna (TAC, ang. *total antioxidant capacity*), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, ang. *superoxide dismutase*), katalazy (CAT, ang. *catalase*), czy poziom dialdehydu malonowego (MDA, ang. *malondialdehyde*) były badane w plazmie nasiennej z wykorzystaniem czytnika spektrofotometrycznego. Stężenia cytokin, chemokin i wybranych czynników wzrostu (G-CSF, IL-1β, IL-6, IL-12 p70, IL-18, TRAIL, IFN-γ, IL-2, IL-8, IL-13, MIF, IL-1 α, IL-4, IL-10, IL-17, TNF-α) mierzono za pomocą multipleksowych fluorescencyjnych testów immunologicznych opartych na kulkach paramagnetycznych (Luminex Corporation, Austin, TX, USA) przy użyciu zestawu R&D Human Premixed Multi-Analyte Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

W badanych grupach mężczyzn zaobserwowano niskie poziomy przeciwciał przeciwpłemnikowych. Statystycznie istotne różnice poziomów przeciwciał przeciwpłemnikowych występowały jedynie w porównaniach z grupą mężczyzn z niepłodnością immunologiczną. Zaobserwowano istotnie niższe wartości dla TAC w grupie kierowców zawodowych w porównaniu z grupą osób płodnych. Aktywność CAT różniła

się jedynie pomiędzy grupą zawodowych kierowców i grupą mężczyzn z niepłodnością immunologiczną, w której była ona statystycznie niższa. Podobnie badania poziomów cytokin, chemokin i czynników wzrostu nie wykazały statystycznych różnic pomiędzy badanymi grupami. Analiza licznych korelacji przy pomocy map ciepła wykazała znaczące różnice pomiędzy badanymi grupami. W pracy wykazano m.in. ujemne korelacje TAC z MIF w grupie mężczyzn niepłodnych ( $R = -0,616935$ ), z żyłakami powróżka ( $R = -0,36660$ ) oraz z wnętrstwem ( $R = -0,492003$ ). Korelacje dodatnie TAC z IFN $\gamma$  zaobserwowano w grupie mężczyzn niepłodnych ( $R = 0,378907$ ), żyłakami powróżka ( $R = 0,342585$ ), z wnętrstwem ( $R = 0,411533$ ) oraz z infekcjami ( $R = 0,402467$ ). W grupie z wnętrstwem ( $R = 0,305615$ ), niepłodnych ( $R = 0,468089$ ) oraz z zakażeniami ( $R = 0,330013$ ) i z niepłodnością immunologiczną ( $R = 0,754505$ ) wraz ze wzrostem poziomu IL-1 $\beta$  wzrastała również aktywność katalazy. W grupie z infekcjami zaobserwowano pozytywną korelację pomiędzy katalazą i białkiem TRAIL ( $R = 0,384091$ ). Podsumowując analizowane korelacje w grupie osób płodnych utrzymywana była homeostaza redoks dzięki mechanizmom przeciwzapalnym. Regulatorowe cytokiny IL-10 i TGF- $\beta$ 1 wykazywały przy tym najwyższe korelacje. Większość badanych korelacji miało niskie wartości – co może potwierdzać, że fizjologiczna równowaga oksydacyjno-antyoksydacyjna wiąże się z płodnością. W grupach osób niepłodnych i grupie osób z infekcjami bakteryjnymi zaobserwowano aktywację adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej. TAC był silnie powiązany z odpowiedzią zapalną w grupie niepłodnych, a także w grupie osób z żyłakami powróżka. Analiza korelacji cytokin we wnętrstwie wskazywała na możliwe zaburzenia w funkcji plemników i stres oksydacyjny. Podobnie w grupie kierowców obserwowany był nasilony stres oksydacyjny – co odzwierciedlały korelacje większości badanych czynników z MDA (markerem peroksydacji lipidów). Dodatnia korelacja SOD z TNF- $\alpha$  w grupie z przeciwciałami przeciwpłomnikowymi może świadczyć o wspólnej aktywacji ścieżek oksydacyjnych i reakcji zapalnych w immunologicznej niepłodności.

Hipertermia nie wpływała istotnie znamienne na występowanie AsA. Wyniki badania potwierdziły, że u mężczyzn z różnorodnymi zaburzeniami płodności, jak również w specyficznych stanach klinicznych, zachodzi istotna interakcja pomiędzy mechanizmami antyoksydacyjnymi a układem immunologicznym. Zarówno ujemne, jak i dodatnie korelacje wskazują na złożony charakter tej zależności, gdzie stres oksydacyjny może modulować odpowiedź zapalną, a immunologiczne procesy zapalne wpływają na równowagę antyoksydacyjną. Wyniki te sugerują, że obecność AsA wiąże się z rozregulowanym środowiskiem immunologicznym, charakteryzującym się zwiększonym stresem oksydacyjnym, aktywnością cytokin prozapalnych (zwłaszcza TNF- $\alpha$ , IL-17 i IFN- $\gamma$ )

oraz względnym niedoborem czynników immunoregulacyjnych, takich jak IL-10 i TGF- $\beta$ 1.

Finansowanie badań: Narodowe Centrum Nauki, nr projektu: 2015/19/B/NZ5/02241.

Marzena Kamieniczna<sup>1</sup>, Ewa Stachowska<sup>2</sup>,  
Dmytro Gots<sup>1,3</sup>, Amelia Danielewska<sup>4</sup>,  
Agnieszka Malcher<sup>1</sup>, Monika Frączek<sup>1</sup>, Marta Olszewska<sup>1</sup>,  
Maciej Krzysztof Kurpisz<sup>1</sup>

## WSPOMAGANIE BADAŃ RUCHLIWOŚCI PLEMNİKÓW

<sup>1</sup>Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu,  
<sup>2</sup>Zakład Metrologii i Systemów Pomiarowych Instytutu Technologii  
Mechanicznej Politechniki Poznańskiej, <sup>3</sup>Wydział Biologii,  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, <sup>4</sup>Wydział  
Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy  
w Poznaniu

e-mail: marta.olszewska@igcz.poznan.pl

e-mail: maciej.kurpisz@igcz.poznan.pl

e-mail: marzena.kamieniczna@igcz.poznan.pl

Ruchliwość plemników to cecha, która nie jest jedynie wynikiem skomplikowanej interakcji wielu genów, ale także znacznej ilości czynników epigenetycznych i środowiskowych. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) w 2021 r., systematyzując andrologiczne wskazówki diagnostyczne, zaleciła rozróżnienie między szybkim i wolnym ruchem postępującym, wskazując obecność (lub brak) plemników z szybkim ruchem jako cechę istotną klinicznie ([World Health Organization.WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 6th ed.;WHO Press: Geneva, Switzerland, 2021](#)). Organizacja ta podkreśliła też biologiczne znaczenie wyliczonej całkowitej liczby plemników o ruchu postępowym (TMPC, ang. *total progressive motile sperm count*) jako lepszego prognostyka uzyskania ciąży, czy też oszacowania czasu do uzyskania ciąży, niż pojedyncze parametry nasienia. WHO dopuszcza badanie manualne ruchliwości plemników przy użyciu klasycznego mikroskopu świetlnego. Autorzy podręcznika podkreślają, że przedstawione wartości 5. centyla powinny stanowić tylko wskazówkę (wartość odniesienia) przy interpretacji wyników badania nasienia konkretnego pacjenta i zalecają rezygnację z tzw. „wartości referencyjnych” przy interpretacji wyniku badania. Wskazują także na możliwość wykorzystywania komputerowo wspomaganą analizy nasienia (CASA, ang. *computer-assisted sperm analysis*) jako narzędzia do dodatkowych analiz, przede wszystkim związanych z kinematyką ruchu (czyli parametrów, których ocena nie jest możliwa dla ludzkiego oka), ale także z oceną morfologii plemników, w celu zwiększenia obiektywności przeprowadzonej analizy. Badania naukowe wskazują, że w przyszłości badania ruchliwości plemników będą mogły być kompilacją badań morfologii plemników z jednoczesną charakterystyką

ruchu plemników, obrazowaniem w czasie rzeczywistym w połączeniu z sztuczną inteligencją (AI, ang. *artificial intelligence*). Celem badań było dostosowanie dostępnych metod mikroskopowych do jednoczesnego oznaczenia aktywności mitochondriów/lub ruchliwości plemników i oceny budowy wstawek.

Analizę morfologii wstawek plemników z równoczesną oceną typu ruchu wykonano wykorzystując mikroskop holograficzny. Zastosowano także test z fluorochromem JC-1, który należy do grupy testów wspomagających ocenę przyczyn obniżonych parametrów ruchu plemników. Materiał stanowili płodni dawcy i pacjenci z rozpoznaniem niepłodności. W badanej grupie osób niepłodnych, nie wykazano występowania zjawiska delekcji egzonu 17 genu *SPEF2*. Dodatkowo w genie *PARK7* nie wykazano mutacji u żadnego pacjenta z grupy badanej.

Cyfrowa mikroskopia holograficzna (DHM, ang. *digital holographic microscopy*) została zastosowana do oceny morfologicznej żywych plemników od płodnych i niepłodnych mężczyzn. Metoda ta umożliwiła badanie populacji plemników bezpośrednio z natywnej kropli, a nie tylko z płaszczyzny ogniskowanej przez mikroskop, jak w klasycznej mikroskopii optycznej (Coppola i wsp.: *Zygote*. 2014, 22(4), 446–454; Di Caprio i wsp.: *Biomed Opt Express*. 2014, 5(3), 690–700). Nowe trójwymiarowe parametry morfologiczne plemników w tym parametr: wysokość główka/wstawa (*h<sub>mh</sub>*, ang. *head/midpiece height*), zostały uwzględnione w ocenie morfologicznej próbek nasienia. Obliczone średnie wartości *h<sub>mh</sub>* dla płodnych wynosił 0,57 μm a dla niepłodnych mężczyzn 0,61 μm ( $p < 0.001$ ). Średnie wartości wszystkich badanych parametrów 3D w tym *h<sub>mh</sub>* dla płodnych mężczyzn były bardziej zagęszczone, niż te u niepłodnych mężczyzn. Tendencja ta była mniej widoczna w przypadku parametrów morfologicznych 2-D np. długości wstawki (*ml*, ang. *midpiece length*). Ocena funkcji mitochondriów testem JC-1 najczęściej wykonywana jest z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Badanie manualne wykorzystujące mikroskop fluorescencyjny wniosło dodatkowe informacje o stanie mitochondriów i budowie wstawki plemników. Zaproponowano nowy schemat badania: jednoczesną ocenę aktywności mitochondriów i budowy wstawek plemników z wykorzystaniem fluorochromu JC-1 i mikroskopu fluorescencyjnego.

Metoda DHM umożliwia dokładniejsze, ilościowe i obiektywne pomiary morfologiczne żywych, natywnych plemników z jednoczesną oceną ich ruchliwości. Rozszerzenie liczby parametrów morfologicznych o nowe parametry 3D z jednoczesną oceną ruchliwości plemników może być cennym uzupełnieniem badania nasienia. Główną zaletą DHM jest możliwość badania całej populacji plemników w określonej objętości próbki, a nie tylko plemników, które zostały zarejestrowane w płaszczyźnie ostrości mikroskopu. Wykazano, że średnie wartości parametru 3D *h<sub>mh</sub>* wstawek dla płodnych mężczyzn są bardziej zagęszczone niż te obserwowane dla niepłodnych mężczyzn. Badanie potencjału mitochondrialnego

(z wykorzystaniem mikroskopu fluorescencyjnego i fluorochromu JC-1) umożliwia przyżyciową ocenę budowy morfologicznej wstawek plemnika. Pozwoli to na wykrywanie rzadkich wad anatomicznych wstawek (np. wydłużone wstawki). Prawidłowa budowa wstawki plemnikowej korelowała pozytywnie z ruchliwością plemników.

Finansowanie: Projekt nr NdS-II/SP/0288/2024/01 dofinansowany ze środków budżetu państwa, przyznanych przez Ministra Edukacji i Nauki w ramach Programu „Nauka dla Społeczeństwa II”.

Małgorzata Kotula-Balak<sup>1</sup>, Michał Duliban<sup>2</sup>, Marta Zarzycka<sup>3</sup>, Ümmü Gulsum Boztepe<sup>1</sup>, Jan K. Wolski<sup>4</sup>

### **MOLEKULARNO-BIOCHEMICZNY PROFIL NOWOTWORU KOMÓREK LEYDIGA: W POSZUKIWANIU NOWYCH BIOMARKERÓW**

<sup>1</sup>Katedra Nauk Podstawowych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie; <sup>2</sup>Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; <sup>3</sup>Katedra Biochemii Medycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; <sup>4</sup>Klinika Leczenia Niepłodności nOvum, Warszawa  
e-mail: malgorzata.kotula-balak@urk.edu.pl

Guzki komórek Leydiga są najczęściej występującym nowotworem podścieliska sznurów płciowych u mężczyzn. Zmiany te są na ogół łagodne, tylko 5–10% to guzki złośliwe. Szczyt zachorowań występuje w grupie przedpokwitaniowej i między 30 a 60 r.ż. (Kapoor i Leslie: *Testicular Sex Cord–Stromal Tumors In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing* 2025). Ze względu na hormonalnie aktywne komórki Leydiga (wydzielające głównie duże ilości estrogenów) guzki mogą objawiać się poprzez przedwczesne dojrzewanie, tkliwość piersi lub ginekomastię (Suardi i wsp.: *BJU Int*. 2009, 103, 197–200). Do tej pory nie stwierdzono żadnych czynników ryzyka wystąpienia tego nowotworu. Przedstawione tutaj badania zostały przeprowadzone w celu głębszego poznania molekularnego i biochemicznego statusu guzka komórek Leydiga, a rezultaty mogą służyć zaprojektowaniu dalszych podejść do wczesnego leczenia i/lub terapii. Pozostałe fragmenty tkanki jądrowej pobrane z wykorzystaniem mikrochirurgicznej ekstrakcji plemników z jąder (mTESE, ang. *microsurgical testicular sperm extraction*) od pacjentów w wieku 38–47 lat ( $n = 52$ ) ze zdiagnozowaną azoospermią i poddanych dalszej szczegółowej diagnostyce zostały wykorzystane m.in. do analizy morfologii komórek Leydiga guzka, globalnej ekspresji genów, ekspresji białek steroidogennych, pomiaru poziomu i sygnalizacji hormonów płciowych oraz poziomu jonów. Ponadto, jako dodatkowe modele badawcze wykorzystano: zaprojektowane przez nas myszy z eksperymentalnie wywołanymi guzami komórek Leydiga, komercyjnie dostępną linię nowotworu komórek Leydiga myszy (MA-10) oraz pobrane od psów mieszańców

pacjentów Uniwersyteckiej Polikliniki Małych Zwierząt (Uniwersytet Rolniczy w Krakowie) komórki Leydiga guzków aby lepiej zrozumieć różne aspekty biologii tego guzka u mężczyzn. Główne wyniki analizy ludzkich guzków komórek Leydiga są następujące: 1) w masie guzka obecne są cztery typy komórek Leydiga bogatych w krople lipidowe oraz komórki przypominające adipocyty, 2) 219 transkryptów wykazuje zmienioną ekspresję, 3) białka działające w metabolizmie lipidów, w tym steroidogenne, wykazują różnorodne zmiany w ekspresji i sygnalizacji, 4) występuje zwiększona produkcja estradiolu i zmieniona sygnalizacja estrogenowa obejmująca możliwy wpływ ksenoestrogenów oraz 5) zmniejszona jest dystrybucja i poziom związków organicznych oraz zwiększony poziom jonów miedzi ( $\text{Cu}^{2+}$ ) (Gorowska-Wojtowicz i wsp.: *Tissue Cell.* 2019, 61, 51–60; Duliban i wsp.: *Int J Mol Sci.* 2020, 21, 21(10), 3649; Kotula-Balak i wsp.: *Protoplasma.* 2020, 257(4), 1149–1163; Kotula-Balak i wsp.: *Andrologia* 2021, 53(11), e14222; Wolski i wsp.: *Reprod Biol.* 2024, 24(2), 100890). Powyższe badania wskazują, że wykryte tutaj pewne unikalne cechy guzka komórek Leydiga, np. wyraźnie zwiększona ekspresja genów białek szoku cieplnego i zwiększony poziom  $\text{Cu}^{2+}$ , mogą być nowymi celami molekularnymi/ biochemicznymi efektywnie przeniesionymi na działania diagnostyczne i terapeutyczne.

Finansowanie: projekty z Narodowego Centrum Nauki: SONATA BIS 5 (2015/18/E/NZ4/00519), OPUS 12 (2016/23/B/NZ4/01788) i OPUS 26 (2023/51/B/NZ4/00889).

Małgorzata Kotwicka

### **CZY EKSOSOMY POCHODZĄCE Z ASTROCYTÓW REGULUJĄ POZIOM MIRNA W PLEMNIKACH?**

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

Transgeneracyjne dziedziczenie epigenetyczne, w którym cechy nabyte w wyniku ekspozycji środowiskowej są przekazywane kolejnym pokoleniom poprzez modyfikacje epigenetyczne w komórkach rozrodczych, zostało stosunkowo dobrze udokumentowane u zwierząt. Badania na zwierzętach wskazują, że wywołane czynnikami środowiskowymi zmiany epigenetyczne w plemnikach, w tym zmiany poziomu miRNA, mogą być związane z zaburzeniami w dostarczaniu miRNA do plemników podczas ich transferu przez najądrze.

Coraz więcej dowodów wskazuje, że miRNA plemników odgrywają istotną rolę w rozwoju zarodka i dziedziczeniu epigenetycznym. Oznacza to, że część dziedzicznej podatności na choroby może wynikać z doświadczeń rodziców przekazywanych im poprzez zmiany epigenetyczne w komórkach rozrodczych rodziców. Badania na mysich modelach przewlekłego

stresu, sugerują, że specyficzne dla stresu zmiany w zawartości miRNA plemników prowadzą do odpowiadających im zmian w fenotypach potomstwa. Mechanizmy, za pomocą których określone czynniki stresogenne mogą zmieniać zawartość miRNA plemników, pozostają niejasne. Eksperymenty opisane przez Champroux i wsp. (Champroux i wsp.: *Epigenetics.* 2025, 20(1): 2457176) sugerują, że przewlekły stres zmniejsza w plemnikach mysich poziom miR-34c. Autorzy postulują, że źródłem tego miRNA są eksosomy pochodzące z astrocytów (A-Exos) zlokalizowanych w korze przedczołowej i ciele migdałowatym. Przewlekły stres tłumiał poziom miR-34c A-Exos zarówno w tych obszarach mózgu jak i ich poziom we krwi. Poziom miR-34c A-Exos w tych obszarach mózgu był znamienne zmniejszony nie tylko u samców narażonych na stres, ale także u ich potomstwa płci męskiej. Autorzy zaobserwowali, że przywrócenie we krwi (przez iniekcję dożylną) prawidłowego poziomu miR-34c w A-Exos, przywracało jednocześnie właściwy poziom miR-34c w ich plemnikach.

Obserwacje te otwierają z pewnością nowe, intrygujące obszary badań. Wiele nowych badań pokazuje, że większość komórek ma możliwość wydzielania eksosomów, które mogą służyć jako alternatywny sposób komunikacji. Aktualna wiedza na temat A-Exos podkreśla nie tylko ich rolę w komunikacji między astrocytami, a innymi komórkami ośrodkowego układu nerwowego ale również innymi do komórkami zlokalizowanych w odległych narządach.

Aleksandra Leśniewska, Marta Olszewska

### **NOSICIELE DODATKOWEGO CHROMOSOMU Y – CECHY KLINICZNE I ASPEKTY ROZRODCZE**

Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań  
e-mail: aleksandra.lesniewska.igcz@poznan.pl  
e-mail: marta.olszewska@igcz.poznan.pl

Celem niniejszego badania była analiza cech klinicznych, hormonalnych oraz rozrodczych mężczyzn będących nosicielami dodatkowego chromosomu Y, ze szczególnym uwzględnieniem różnic pomiędzy nosicielami niemozajkowego kariotypu 47,YYY a wariantami mozaikowymi. Na podstawie analizy 120 przypadków opisanych w bazie PubMed pod kątem aspektów rozrodczych, zidentyfikowano istotne różnice między tymi grupami kariotypowymi w zakresie parametrów nasienia, płodności oraz profilu hormonalnego.

Mężczyźni z niemozajkowym kariotypem 47,YYY częściej wykazywali nieprawidłowe parametry nasienia (azoospermia: 24%, oligozoospermia: 64%) w porównaniu do grupy mozaikowej, w której azoospermia występowała u 37% pacjentów, ale oligozoospermia jedynie u 27%. Ponadto w grupie niemozajkowej odnotowano wyższy poziom aneuploidii w plemnikach (średnio 5,01%) w porównaniu do grupy mozaikowej (1,66%). Płodność

była istotnie zaburzona w grupie nosicieli 47,XY, podczas gdy nosiciele kariotypu mozaikowego częściej zachowywali zdolność rozrodczą — zarówno w sposób naturalny (29% vs. 28%, 47,XY vs. k. mozaikowy), jak i z wykorzystaniem technik wspomaganego rozrodu (44% vs. 57%, 47,XY vs. k. mozaikowy). Analiza hormonalna wykazała obniżony poziom testosteronu (T, ang. *testosterone*) u wielu pacjentów, często w połączeniu z podwyższonym stężeniem hormonu luteinizującego (LH, ang. *luteinizing hormone*) oraz folikulotropowego (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*), co sugeruje pierwotną niewydolność jąder (hipogonadyzm hipergonadotropowy). W kilku przypadkach stwierdzono również podwyższony poziom prolaktyny (P), który może dodatkowo zaburzać funkcjonowanie osi podwzgórze–przysadka–gonada. Większość mężczyzn z kariotypem 47,XY wykazywała typowy fenotyp męski, jednak u niektórych obserwowano subtelne różnice somatyczne, takie jak: wysoki wzrost, wydłużone rysy twarzy, czy łagodne cechy dysmorficzne. U części pacjentów występowały również zaburzenia zachowania, trudności w uczeniu się oraz współistniejące zaburzenia neuropsychiatryczne. Dodatkowo, wśród nosicieli kariotypów zarówno 47,XY jak i mozaikowych odnotowano takie objawy kliniczne jak: obustronne żyłaki powrózka nasienne, otyłość, obniżone libido, mikrogruczołak przysadki mózgowej, ginekomastia oraz obturacyjny bezdech senny. W niektórych przypadkach mozaikowego kariotypu opisano również współwystępowanie rzadkich zespołów, takich jak Zespół Leoparda ([Writzl i wsp.: Am J Med Genet A. 2007, 143A\(21\), 2612–261](#)) oraz zespół Morning Glory ([Chew i Visvaraja: J AAPOS. 2009, 13\(4\), 406–407](#)).

Uzyskane wyniki podkreślają konieczność przeprowadzania kompleksowej diagnostyki andrologicznej i endokrynologicznej u mężczyzn z kariotypem 47,XY, zwłaszcza w kontekście niepłodności. Kluczowe pozostaje także rozróżnienie pomiędzy postacią mozaikową a niemozaikową kariotypu ze względu na ich współwystępowanie odmiennego fenotypu klinicznego.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki (NCN): 2020/38/E/NZ2/00134 (MO)

Agnieszka Malcher<sup>1</sup>, Hermann Bauer<sup>2</sup>, Andrea Berman<sup>3</sup>, Tomasz Stokowy<sup>4</sup>, Zuzanna Graczyk<sup>1</sup>, Patyk Alicja<sup>1</sup>, Mikołaj Smolibowski<sup>1</sup>, Rim Ibrahim<sup>1</sup>, Piotr Jedrzejczak<sup>5,6</sup>, Anna Berger<sup>5</sup>, Katarzyna Bednarek-Rajewska<sup>7</sup>, Alexander N Yatsenko<sup>8</sup>, Maciej Kurpisz<sup>1</sup>

## GENETYKA – OD DIAGNOSTYKI DO TERAPII

<sup>1</sup>Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań,

<sup>2</sup>Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Niemcy;

<sup>3</sup>Department of Biological Sciences, Dietrich School of Arts and Sciences, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA; <sup>4</sup>IT Division, University of Bergen, Bergen, Norway; <sup>5</sup>Centrum Ginekologii,

Położnictwa i Leczenia Niepłodności, Klinika Pastelova, Poznań, Polska; <sup>6</sup>Katedra i Zakład Biologii Komórki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego, Poznań, Polska; <sup>7</sup>Katedra i Zakład

Patomorfologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny, Poznań, Polska; <sup>8</sup>Department of OB/GYN and Reproductive Sciences, School of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA  
e-mail: agnieszka.malcher@igcz.poznan.pl

Azoospermia nieobstrukcyjna (NOA, ang. *non-obstructive azoospermia*) jest najcięższym typem niepłodności męskiej prowadzący do braku plemników w ejakulacie na skutek zaburzenia procesu spermatogenezy na różnym etapie podziału komórek gametogenicznym. Ostatnie postępy w zakresie sekwencjonowania nowej generacji (NGS, ang. *next-generation sequencing*) doprowadziły do identyfikacji coraz większej liczby nowych genów kandydujących, związanych z azoospermią nieobstrukcyjną. Różnorodne podejścia genomowe, takie jak sekwencjonowanie całego egzomu (WES, ang. *whole-exome sequencing*) oraz całego genomu (WGS, ang. *whole-genome sequencing*), zostały zastosowane w celu poznania genetycznego podłoża fenotypu NOA. W naszym badaniu wykorzystaliśmy WGS do identyfikacji potencjalnych wariantów przyczynowych u 39 pacjentów z rozpoznaną NOA, w tym u sześciu osób, u których wcześniejsze badania WES nie wykazały patogennych mutacji. Sekwencjonowanie WGS przeprowadzono przy użyciu platformy Illumina HiSeq X. Adnotacje wariantów wykonano za pomocą narzędzia Ensembl Variant Effect Predictor, uwzględniając dane z baz gnomAD, ClinVar, współczynniki konserwacji ewolucyjnej phyloP oraz predykcje patogeniczności *in silico* (np. MutationTaster). Przeprowadzono także modelowanie strukturalne wybranych białek w celu oceny potencjalnego wpływu wykrytych wariantów na ich funkcję.

W analizie zidentyfikowano kilka potencjalnie patogennych wariantów pojedynczego nukleotydu (SNV) w genach takich jak *TKTL1* (ang. *transketolase-like 1*) oraz *ESX1* (ang. *ESX homeobox 1*), które mogą stanowić nowe czynniki związane z fenotypem NOA. Odkrycia te, w połączeniu z rozwojem technologii edycji genomu, takich jak CRISPR – umożliwiającej precyzyjne korygowanie defektów genetycznych, w tym delecji, insercji i mutacji punktowych – otwierają nowe możliwości zarówno w badaniach funkcjonalnych, jak i w przyszłych zastosowaniach terapeutycznych.

NGS nie tylko umożliwia identyfikację wcześniej nierozpoznanych genetycznych przyczyn NOA, ale także – w połączeniu z narzędziami opartymi na edycji genomu – znacząco pogłębia naszą wiedzę na temat jej uwarunkowań genomowych. Biorąc pod uwagę obecne ograniczenia w diagnostyce genetycznej NOA, istnieje silna potrzeba opracowania dedykowanego algorytmu diagnostycznego, który pozwoli na wykrywanie wariantów przyczynowych u pacjentów z tym schorzeniem. Tego typu narzędzie byłoby niezwykle cenne dla andrologów i urologów wspierając podejmowanie trafnych decyzji klinicznych w leczeniu niepłodności męskiej.

Wsparcie finansowe: Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w Polsce, grant nr 2017/26/D/NZ5/00789 (AM) and 2020/37/B/NZ5/00549 (MK).

Marek Mędras

## **TRANSPŁCIOWOŚĆ, ZABURZENIA ROZWOJU PŁCI ORAZ STĘŻENIE TESTOSTERONU JAKO CIĄGŁE NIEROZWIĄZANE PROBLEMY SPORTU WYCZYNOWEGO**

Emerytowany profesor Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu oraz Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu im. Polskich Olimpijczyków  
e-mail: m.medras@gmail.com

Od blisko 100 lat występuje wśród zawodniczek w sporcie wyczynowym problem określenia płci. Zgodnie w rozwojem nauki stosowano różne „markery” płci co nie zdało jednak egzaminu. Szczególny kłopot przysporzyło pojawienie się w sporcie transpłciowych kobiet, jak i kobiet z zaburzeniami rozwoju płci. Wprowadzenie w procesie określania płci kryterium stężenia testosteronu także nie rozwiązało problemu. Proponowane leczenie (farmakologiczne czy chirurgiczne) nie zrównało zdolności wysiłkowych omawianych kobiet w porównaniu do kobiet cis płciowych. Wydaje się, iż istnieją racjonalne, naukowe, podstawy do wykluczenia transpłciowych kobiet oraz niektórych z zaburzeniami rozwoju płci z grona osób uprawiających sport wyczynowy.

Marta Olszewska

## **CYTOGENOMIKA I EPIGENOMIKA MĘSKIEJ NIEPŁODNOŚCI**

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

Szacuje się, że niepłodność dotyczy obecnie około 15% par w wieku rozrodczym ([World Health Organization.WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 6th ed.;WHO Press: Geneva, Switzerland, 2021](#)). Problem ten obejmuje około 7% mężczyzn i 12% kobiet. Czynniki męskie odpowiada za 20-30% wszystkich przypadków niepłodności na świecie. Istnieje wiele przyczyn niepłodności męskiej, w tym: czynniki genetyczne, aberracje chromosomowe, mutacje epigenetyczne, zaburzenia hormonalne, infekcje lub nieprawidłowości układu rozrodczego. Czynniki genetyczne odpowiedzialne są za ~10–15% wszystkich przypadków niepłodności męskiej. Szacuje się, że w proces spermatogenezy zaangażowanych jest blisko 2000 genów, przy czym jedynie w ok. 250 genach potwierdzono ok. 950 wariantów sprawczych, ściśle określających obserwowany fenotyp niepłodnościowy. Istotnym czynnikiem w niepłodności męskiej są aberracje chromosomowe, których częstość w populacji niepłodnych mężczyzn osiąga wartości kilkukrotnie wyższe w porównaniu do populacji ogólnej (średnio: 3,5%, do 20% w azoospermii). Jednakże nadal w około 25% przypadków etiologia niepłodności pozostaje idiopatyczna. Badania ostatnich lat pokazują, że to właśnie w tej grupie pojawia się coraz więcej danych,

wskazujących na zmiany epigenomu zarówno w przebiegu spermatogenezy, jak i w samych już plemnikach, w każdym z aspektów: nici DNA, potranslacyjnych modyfikacji histonów, obecności niekodującego RNA. W prezentacji przedstawione zostanie podsumowanie roli czynników chromosomowych oraz zmian wzorców epigenomowych istotnych dla niepłodności męskiej.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki, 2020/38/E/NZ2/00134

Laura Pardyak<sup>1</sup>, Ewa Liszewska<sup>2</sup>, Sylwia Judycka<sup>2</sup>, Sylwia Machcińska-Zielińska<sup>2</sup>, Halina Karol<sup>2</sup>, Mariola A. Dietrich<sup>2</sup>, Ewa Gojło<sup>3</sup>, Zbigniew Arent<sup>1</sup>, Barbara Bilińska<sup>4</sup>, Klaudia Dubniewicz<sup>1</sup>, Giusy Rusco<sup>5</sup>, Nicolaia Iaffaldano<sup>5</sup>, Andrzej Ciereszko<sup>2</sup>, Mariola Słowińska<sup>2</sup>

## **MECHANIZMY MOLEKULARNE I KOMÓRKOWE USZKODZEŃ KRIOGENICZNYCH W NASIENIU INDORA – ANALIZA PROTEOMICZNA**

<sup>1</sup>Katedra Chorób Zakaźnych, Inwazyjnych i Ochrony Zdrowia Publicznego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie; <sup>2</sup>Zakładu Biologii Gamet i Zarodka, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie; <sup>3</sup>Katedra Fizjologii Roślin, Genetyki i Biotechnologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie; <sup>4</sup>Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; <sup>5</sup>Katedra Nauk Rolniczych, Środowiskowych i Żywnościowych, Uniwersytet w Molise, Włochy  
e-mail: laura.pardyak@urk.edu.pl

Powszechnie wiadomo, że wśród gatunków ptaków plemniki indora (*Meleagris gallopavo*) wykazują wysoką wrażliwość na proces zamrażania i rozmrażania, a nasienie poddane kriokonserwacji cechuje się niską zdolnością zapładniającą ([Long i wsp.: Poult Sci. 2006, 85, 232–236](#); [Iaffaldano i wsp.: Theriogenology. 2011, 76, 794–801](#)). Molekularne mechanizmy odpowiedzialne za pogorszenie jakości kriokonserwowanego nasienia na poziomie białkowym pozostają jednak w dużej mierze nieznane. W związku z tym zastosowano dwuwymiarową elektroforezę różnicową (2D-DIGE, ang. *two-dimensional difference gel electrophoresis*) w połączeniu ze spektrometrem mas MALDI (desorpcja/ionizacja laserowa wspomagana matrycą, ang. *matrix-assisted laser desorption/ionization*), w celu zbadania zmian proteomicznych indukowanych przez procesy zamrażania i rozmrażania — zarówno w plemnikach, jak i w płynie zewnątrzkomórkowym (ECF, ang. *extracellular fluid*) nasienia indora.

Zidentyfikowano łącznie 146 białek różniących się ekspresją (DEPs, ang. *differentially expressed proteins*) pomiędzy świeżymi a zamrożonymi/rozmrzonymi plemnikami oraz 27 DEPs w próbkach świeżego i kriokonserwowanego ECF. Barwienie immunofluorescencyjne wykazało osłabienie sygnału pochodzącego od białek

mitochondrialnych, takich jak hydratasa akonitanowa,  $\alpha$ -enolaza, dehydrogenaza glicerolo-3-fosforanowa oraz izomeraza triozofosforanowa w części środkowej plemników, a także zmniejszony sygnał białka akrosomalnego — akrozyny. Wyniki te sugerują, że proces zamrażania i rozmrażania może prowadzić do zaburzeń w mitochondrialnym metabolizmie energetycznym, w szczególności w cyklu kwasu trikarboksylowego (TCA, ang. *tricarboxylic acid cycle*) oraz fosforylacji oksydacyjnej. Utrzymanie odpowiedniego poziomu acetylo-CoA, niezbędnego do prawidłowego przebiegu cyklu TCA w kriokonserwowanych plemnikach, może być utrudnione w wyniku zakłóceń  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych i/lub glikolizy tlenowej, z których ta ostatnia okazuje się szczególnie wrażliwa na proces kriokonserwacji. Zmiany obserwowane w ECF odzwierciedlają głównie wyciek enzymów glikolitycznych z plemników. Proces kriokonserwacji wpływa również na strukturę wstawki, przede wszystkim zaburzając organizację aksonemy i zewnętrznych włókien gęstych. Wstępny etap zapłodnienia może ulec zakłóceniu wskutek zmian w białkach uczestniczących w wiązaniu plemnika z komórką jajową.

Uzyskane wyniki poszerzają wiedzę na temat molekularnych i komórkowych mechanizmów uszkodzeń kriogenicznych w nasieniu indora. Zaobserwowano, że poziomy ekspresji niektórych proteoform mogą wzrastać lub obniżyć się w wyniku kriokonserwacji, co sugeruje ich potencjalną przydatność jako biomarkerów uszkodzeń kriogenicznych. Wiedza ta może stanowić podstawę do udoskonalania metod przechowywania nasienia, które ograniczałyby uszkodzenia plemników i zwiększały skuteczność zapłodnienia przy użyciu nasienia zamrożonego.

Finansowanie: Badania finansowane ze środków Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, [10/FBW/2022], przyznanych A.C.

Michał Rabijewski

## TESTOSTERON A GRUCZOŁ KROKOWY – STATE OF THE ART

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

Testosteron (T, ang. *testosterone*) jest istotny w różnicowaniu komórek nabłonkowych starcza i działa za pośrednictwem receptorów androgenowych (AR, ang. *androgen receptor*). W prostaty T jest przekształcany w 5 $\alpha$ -dihydrotestosteron (DHT, ang. *5 $\alpha$ -dihydrotestosterone*), który stymuluje proliferację komórek prostaty, co teoretycznie może przyczyniać się do rozrostu (BPH, ang. *benign prostatic hyperplasia*) i rozwoju raka prostaty, a także może prowadzić do wzrostu produkcji swoistego antygenu sterczowego (PSA, ang. *prostate-specific antigen*). Pojawiły się więc obawy dotyczące wpływu terapii zastępczej testosteronem (TRT, ang. *testosterone replacement therapy*) na gruczoł krokowy

ze względu na jego istotną rolę w proliferacji stercza, jednak wiele danych wskazuje, że TRT może nie mieć negatywnego wpływu na prostatę, a nawet może mieć wpływ korzystny. Ponieważ T jest stosowany od wielu lat w leczeniu mężczyzn z hipogonadyzmem to mamy doświadczenie i wiedzę na temat potencjalnych skutków ubocznych, w tym na prostatę. Decyzja o rozpoczęciu TRT, niezależnie od wskazań do jej stosowania, musi być podjęta po ocenie potencjalnych korzyści i ryzyka terapii. Zasady stosowania T i monitorowania objawów niepożądanych są zawarte w zaleceniach Amerykańskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (Bhasin i wsp.: *J Clin Endocrinol Metab.* 2018, 103(5), 1715–1744) Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (Salonia i wsp.: *Eur Urol.* 2021, 80(3), 333–357). Nasza troska dotyczy w szczególności wpływu na ryzyko raka prostaty i chorób układu krążenia. Ponieważ większość mężczyzn stosujących TRT jest w średnim i starszym wieku, potencjalny wpływ na ryzyko raka i łagodnego przerostu prostaty oraz objawów z dolnych dróg moczowych jest istotny.

Obecne zalecenia dotyczące bezpieczeństwa TRT zostały opublikowane kilka lat temu i nie zawsze opierają się na wysokiej jakości badaniach klinicznych. Jednak ostatnio opublikowano 3 duże badania kliniczne – Testosterone trials – Ttrials (Cunningham i wsp.: *J Clin Endocrinol Metab.* 2019, 104(12), 6238–6246), Testosterone for Diabetes Mellitus (T4DM) trial (Wittert i wsp.: *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021, 9(1), 32–45) i Testosterone Replacement therapy for Assessment of long-term Vascular Events and effectiveness ResponSE in hypogonadal men (TRAVERSE) trial (Bhasin i wsp.: *JAMA Netw Open.* 2023, 6(12): e2348692), które ze względu na największą grupę badanych i długi czas trwania dostarczają pełniejszej wiedzy na temat wpływu TRT na bezpieczeństwo prostaty.

Wśród mężczyzn z hipogonadyzmem, starannie przebadanych w celu wykluczenia osób z wysokim ryzykiem raka prostaty, częstość występowania raka starcza o wysokim stopniu zaawansowania lub jakiegokolwiek innego raka prostaty, ostrego zatrzymania moczu, zabiegu chirurgicznego z powodu BPH, biopsji lub nowej terapii farmakologicznej objawów dolnych dróg moczowych była niska i nie różniła się między grupą TRT i placebo. T nie pogorszyło też objawów z dolnych dróg moczowych. TRT wiązało się z większym wzrostem stężenia PSA niż placebo w pierwszym roku leczenia. Na podstawie wyników możemy wnioskować, że TRT u mężczyzn z hipogonadyzmem, przebadanych w celu wykluczenia osób z wysokim ryzykiem raka prostaty, wiąże się z niskim ryzykiem niepożądanych zdarzeń ze strony prostaty. Ocena ryzyka raka prostaty i monitorowanie leczenia mogą zminimalizować ryzyko niepotrzebnej biopsji prostaty, umożliwiając jednocześnie wykrywanie raka prostaty o wysokim stopniu zaawansowania u mężczyzn otrzymujących TRT. Wnioski z przedstawionych badań zostały uwzględnione w obecnych zaleceniach Europejskiej Akademii Urologii (EAU, ang.

*Europerian Association of Urology*) dotyczących TRT u mężczyzn (Salonia i wsp.: *EAU Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health*: 2025).

Weronika Ratajczak-Zacharko<sup>1</sup>, Maria Laszczyńska<sup>2</sup>,  
Olimpia Sipak<sup>3</sup>, Anna Lubkowska<sup>1</sup>

### **OŚ JELITO-MIKROBIOTA-PROSTATA, CO NOWEGO W BADANIACH?**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Diagnostyki Funkcjonalnej i Medycyny Fizykalnej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie; <sup>2</sup>Zakład Pielęgniarstwa, Instytut Pielęgniarstwa i Ratownictwa Medycznego, Państwowa Akademia Nauk Stosowanych, Koszalin, Polska; <sup>3</sup>Zakład Położnictwa i Patologii Ciąży, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Wydział Nauk o Zdrowiu, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
e-mail: weronika.ratajczak@pum.edu.pl

Mikrobiota jelitowa to termin określający zbiór ponad  $10^{14}$  bakterii, archeonów i eukariontów, które kolonizują przewód pokarmowy i oddziałują w sposób symbiotyczny na organizm gospodarza. Funkcje fizjologiczne wspomagane działaniem mikrobioty obejmują m.in. wzmacnianie integralności nabłonka jelitowego, ochronę przed patogenami oraz modulowanie odpowiedzi immunologicznej. Jednak w momencie niekorzystnych zmian składu i funkcjonowania mikrobioty (dysbiozy), fizjologiczne mechanizmy mogą zostać zakłócone, co jest obserwowane m.in. przy przewlekłych chorobach układu pokarmowego, chorobach metabolicznych, chorobach układu krążenia i układu nerwowego (Thursby i Juge: *Biochem J.* 2017, 474(11), 1823–1836). Obecnie, coraz więcej nowych badań pojawia się również w kontekście stanu mikrobioty jelitowej i jej związku z układem moczowo-płciowym, w tym z chorobami prostaty.

Dokładny mechanizm oddziaływania mikrobioty jelitowej na prostatę nie został do tej pory w pełni wyjaśniony, jednak istnieje kilka koncepcji rozwoju osi jelito-prostata (ang. *gut-prostate axis*). Jedną z nich jest wpływ na stan zapalny, który jest inicjowany w jelitach. Komórki i czynniki zapalne, m.in. prozapalne cytokiny (IL-17, IL-23, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), mogą migrować wraz z krążeniem ze środowiska jelit do gruczołu krokowego i tam wywoływać „lokalny” stan zapalny oraz pobudzać czynniki wzrostu, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju chorób prostaty – łagodnego rozrostu (BPH, ang. *benign prostatic hyperplasia*) i raka (PCa, ang. *prostate cancer*) (Ferrari i wsp.: *Foods.* 2024, 13, 3647). Najnowsze badania łączą również zmiany w mikrobiocie jelit ze stopniem agresywności raka prostaty, co potencjalnie odbywa się w wyniku działania mikrobioty na podtrzymywanie produkcji androgenów (Fujita i wsp.: *Cancers (Basel)*, 2023, 15(5), 1375).

Z drugiej strony, niektóre mikroorganizmy jelitowe i ich metabolity mogą chronić przed inicjowaniem procesów patofizjologicznych w prostacie np. przez modulację szlaków immunologicznych i hormonalnych, które

wpływają na odpowiedź terapeutyczną, w tym terapię redukcji androgenów (ADT, ang. *androgen deprivation therapy*). Należy jednak mieć na uwadze, że terapie przeciwnowotworowe, m.in. ADT, mogą zmieniać mikrobiotę jelitową i potencjalnie wpływać na wyniki leczenia (Laaraj i wsp.: *Trends Mol Med.* 2025, 31(9):778–800).

Obecnie, coraz więcej badań dotyczy nie tylko składu mikrobioty jelitowej, ale jej funkcjonowania, czyli zdolności do produkcji metabolitów swoistych dla danych szczepów bakterii. Metabolity pochodzące z jelit, powstające z udziałem mikrobioty, takie jak m.in. maślan oraz androgeny, znacząco wpływają na rozwój PCa (Molina i wsp.: *Front. Immunol.* 2024, 15, 1372837). Dodatkowo, dysbioza związana z dietą wysokotłuszczową (ang. HFD, high fat diet), może nasilać stan zapalny i wzrost guza (Liu i wsp.: *Front. Oncol.* 2021, 11, 679712). Z kolei suplementacja długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi omega-3 (PUFA, ang. *long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids*) okazała się obiecująca w modulowaniu interakcji między mikrobiotą jelitową, a rozwojem PCa, potencjalnie przyczyniając się do poprawy wyników, takich jak obniżenie stopnia jego zaawansowania (Amaro i wsp.: *Prostate.* 2022, 1491–1504).

Pomimo znaczącego rozwoju badań nad wpływem bakterii jelitowych na udział w rozwoju osi jelito-prostata, nadal nie ustalono dokładnych mechanizmów jej działania. W wielu pracach podkreśla się, że w przyszłych badaniach priorytetem powinno być szukanie biomarkerów opartych na mikrobiomie oraz związanych z nimi strategii interwencyjnych. Działania na rzecz ich identyfikacji mogą umożliwić opracowanie solidnych narzędzi do przewidywania rozwoju, progresji i reakcji na leczenie zarówno łagodnego rozrostu jak i raka prostaty.

Jolanta Słowikowska-Hilczner

### **HORMONOTERAPIA U OSÓB Z NIEZGODNOŚCIĄ PŁCI**

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

Celem opieki afirmującej płeć jest zapewnienie bezpiecznych i skutecznych metod, dzięki którym osoby transpłciowe i różnorodne płciowo (ang. *transgender and gender-diverse* - TGD) mogą czuć się komfortowo, żyjąc w zgodzie ze swoją tożsamością (identyfikacją) płciową. Opieka afirmująca płeć zmienia cechy fizyczne ciała, ale także poprawia stan psychiczny. Wykazano, że GAHT redukuje ogólne objawy psychopatologiczne, objawy depresji oraz subiektywną dysfориę płciową (Fisher i wsp.: *J Clin Endocrinol Metab.* 2016, 101(11), 4260–4269).

Celem terapii hormonalnej afirmującej płeć (GAHT, ang. *gender-affirming hormone therap*) jest osiągnięcie poziomów estradiolu i testosteronu we krwi mieszczących się w zakresie referencyjnym (czyli fizjologicznym)

odpowiednim dla tożsamości płciowej danej osoby. Nie zaleca się osiągnięcia poziomów suprafizjologicznych, ponieważ może to prowadzić do działań niepożądanych (Coleman i wsp.: *Int J Transgender Health*. 2022, S1, 1–259). Z kolei poziomy subfizjologiczne mogą negatywnie wpływać na samopoczucie i utrzymanie cech płciowych zgodnych z tożsamością płciową. Po ok. 2 latach odpowiedniego prowadzenia GAHT zwykle uzyskuje się pełne objawy androgenizacji lub estrogenizacji (Fisher i wsp.: *J Endo Invest*. 2022, 45, 657–667).

Chociaż wcześniejsze badania potwierdziły bezpieczeństwo GAHT (Safer i Tangpricha: *Ann Intern Med*. 2019, 171(1), 1–16), konieczny pozostaje nadzór medyczny w czasie trwania terapii, ponieważ GAHT może wiązać się z potencjalnym długoterminowym ryzykiem działań niepożądanych. GAHT, stosowana pod nadzorem lekarzy (endokrynologów, andrologów, ginekologów), jest bezpieczna i skuteczna, lecz wymaga regularnego monitorowania. Obecnie zalecana jest kontynuacja GAHT przez całe życie, chociaż różni się to od sytuacji osób cispłciowych, u których występuje menopauza lub z wiekiem dochodzi do obniżenia poziomu testosteronu (Rothman i Iwamoto: [w]: *A Case-Based Guide to Clinical Endocrinology*. Davies TF (red.), Springer, 2022, 513–523).

Julia Wajda<sup>1,2</sup>, Alicja Kamińska<sup>2</sup>, Anna Hejmej<sup>2</sup>

## **ROLA SYGNALIZACJI ANDROGENOWEJ W REGULACJI EKSPRESJI RECEPTORÓW AKTYWOWANYCH PROLIFERATORAMI PEROKSYSOMÓW (PPAR) W KOMÓRKACH SERTOLIEGO GRYZONI IN VITRO**

<sup>1</sup>Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; <sup>2</sup>Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie  
e-mail: julia.wajda@uj.edu.pl

Jedną z kluczowych dla męskiej płodności funkcji komórek Sertoliego jest utrzymanie homeostazy energetycznej nabłonka plemnikotwórczego. Komórki Sertoliego przekształcają większość glukozy do mleczanów, które stanowią substraty energetyczne niezbędne do rozwoju komórek płciowych; preferowanym źródłem energii dla dojrzałych komórek Sertoliego są natomiast lipidy (Sousa i wsp.: *Int J Mol Sci*. 2022, 11, 23(6), 3046). Wiadomo, iż w regulacji metabolizmu komórek Sertoliego istotną rolę odrywa testosteron, a jego niedobór upośledza przemianę glukozy i prowadzi do akumulacji glikogenu (Rato i wsp.: *Int J Biochem Cell Biol*. 2015, 66, 1–10), jednak molekularne mechanizmy zaangażowane w zależną od androgenów kontrolę tych procesów pozostają niejasne. Istotną rolę w kontroli metabolizmu lipidów i glukozy w komórkach wielu tkanek odgrywiają receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPARs, ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*) (Hong i wsp.:

*Molecules*. 2019, 24(14), 2545). PPARs należą do nadrodziny receptorów jądrowych i są czynnikami transkrypcyjnymi aktywowanymi przez wolne kwasy tłuszczowe oraz ich pochodne, takie jak eikozanoidy (Berger i Moller.: *Annu Rev Med*. 2002, 53, 409–435). W komórkach Sertoliego gryzoni wykazano ekspresję wszystkich trzech PPARs: *Ppara* /PPAR $\alpha$ , *Pparb* /PPAR $\beta$  i *Pparg* /PPAR $\gamma$  (Thomas i wsp.: *Front Biosci*. 2011, 3, 1209–1220; Kimura i wsp.: *Physiol Rev* 2020, 100(1), 171–210) i potwierdzono ich rolę w regulacji metabolizmu lipidów oraz transportu glukozy i produkcji mleczanów (Boussouar i wsp.: *Trends Endocrinol Metab*. 2004, 15, 345–350; Regueira i wsp.: *Mol Cell Endocrinol*. 2014, 382, 271–281; Gorga i wsp.: *Cell Tissue Res*. 2017, 369, 611–624). Do tej pory nie wyjaśniono jednak istnienia i znaczenia interakcji między sygnalizacją androgenową a PPARs w komórkach Sertoliego. Celem niniejszych badań było wykazanie udziału testosteronu i jego receptora AR (ang. *androgen receptor*) w kontroli ekspresji receptorów PPAR w komórkach Sertoliego w warunkach *in vitro*. Doświadczenia przeprowadzono na mysiej linii komórek Sertoliego TM4, w której ekspresję AR wyciszono z wykorzystaniem specyficznego siRNA. Analiza ekspresji receptorów i białek została przeprowadzona z wykorzystaniem metod RT-qPCR, Western Blot oraz immunofluorescencji. Uzyskane wyniki sugerują udział sygnalizacji androgenowej w kontroli ekspresji mRNA i/lub białek PPARs w komórkach Sertoliego gryzoni, jednak oddziaływanie testosteronu na ekspresję *Pparg* wydaje się być niezależne od AR. Wyniki te wskazują na potrzebę dalszych badań zależności między sygnalizacją androgenową a funkcją PPARs w regulacji metabolizmu komórek Sertoliego, co pozwoli na poszerzenie wiedzy z zakresu mechanizmów molekularnych wpływających na prawidłowy przebieg spermatogenezy.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, grant Preludium 21, projekt nr 2022/45/N/NZ3/02882. (J.W.)

Artur Wdowiak

## **CO NOWEGO W ART?**

Zakład Położnictwa i Ginekologii, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Lublinie; Klinika Lecznia Niepłodności OVUM, Lublin  
e-mail: wdowiakartur@gmail.com

Problem z uzyskaniem potomstwa dotyka prawie co piątą parę w wieku rozrodczym. Dla znacznej części z nich jedyną szansą na uzyskanie ciąży są techniki rozrodu wspomaganego (ART, ang. *assisted reproductive technology*). Rozrodu wspomagany obejmuje szereg metod, które pomijają lub zmieniają jeden lub kilka etapów rozrodu naturalnego. Do najczęściej stosowanych metod rozrodu wspomaganego należą zapłodnienie pozaustrojowe (IVF, ang. *in vitro fertilization*) i inseminacja domaciczna (IUI, ang. *intrauterine insemination*). Metody te znane są od

dziesięcioleci, ale wciąż ulegają udoskonaleniu, dzięki zastosowaniu nowych technologii.

Znaczące postępy widoczne są zwłaszcza w przypadku zapłodnienia pozaustrojowego. Do nowo wprowadzonych metod ART należą: piezo-ICSI (ang. *piezo-intracytoplasmic sperm injection*), algorytm głębokiego uczenia się w selekcji plemników, implikacje obecności strun cytoplazmatycznych (Cyt-S, ang. *cytoplasmic strings*) w blastocystach, cyfrowo sterowany, zdalnie obsługiwany system ICSI, sztuczna aktywacja oocyty i plemnika (Itoi F i wsp.: *Zygote*. 2022, 30(1), 9–16; Mendizabal-Ruiz i wsp.: *Reprod Biomed Online*. 2022, 45(4), 703–711; Targosz i wsp.: *Biomed Eng Online*. 2023, 22(1), 92; Marconetto i wsp.: *Hum Reprod*. 2024, 39(11), 2453–2465; Leung i wsp.: *Hum Reprod Open*. 2025, 2025(3): hoaf024; Mendizabal-Ruiz i wsp.: *Reprod Biomed Online*. 2025, 50(5), 104943). Metody te opierają się między innymi na osiągnięciach sztucznej inteligencji oraz na robotyzacji.

W chwili obecnej nowe udoskonalenia ART są jeszcze na etapie eksperymentalnym i wymagają dalszych badań na większej ilości przypadków. Prowadzone badania w tym zakresie wskazują, że medycyna rozrodu podąża obecnie w kierunku wdrażania sztucznej inteligencji oraz nowych technologii dla zwiększenia sukcesu reprodukcyjnego, ale także obniżenia kosztów pracy laboratoriów zajmujących się ART.

Jan Karol Wolski<sup>1,2</sup>, Magdalena Zagrodzka<sup>2</sup>

## REZONANS MAGNETYCZNY W DIAGNOSTYCE ANDROLOGICZNEJ

<sup>1</sup>Przychodnia Lekarska nOvum, Warszawa; <sup>2</sup>Pracownia Rezonansu Magnetycznego QUADIA, Piaseczno  
e-mail: jkwolski@op.pl

Zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU, ang. *European Association of Urology*), diagnostyka niepłodnego mężczyzny powinna zawierać obrazowanie gonad oraz miednicy mniejszej (Salonia i wsp.: *EAU Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health*. 2025). Badanie to jest obligatoryjne, ponieważ udowodniono znamienne korelacje pomiędzy płodnością, a nowotworami gonad. Podobną opinię prezentują Europejska Akademia Andrologii oraz Amerykańskie Towarzystwo Urologiczne i Amerykańskie Towarzystwo Medycyny Rozrodu.

Złotym standardem diagnostycznym układu rozrodczego mężczyzny jest ultrasonografia (USG, ang. *ultrasonography*) ponieważ fala ultradźwiękowa nie uszkadza komórek generatywnych (Lottii i wsp.: *Eur Radiol*. 2025, 35(2), 752–766). Badanie USG moczny może oceniać cechy związane z uszkodzeniem jąder, sugerujące nieobturacyjną azoospermie (NOA, ang. *nonobstructive azoospermia*) lub nieprawidłowości na poziomie najądrza i/lub nasieniowodu, sugerujące obturacyjną azoospermie (OA, ang. *obstructive azoospermia*). Ponadto może wykazywać cechy

sugerujące stan zapalny oraz zmiany nowotworowe jąder lub najądrzy. W obrazowaniu struktur miednicy, kanałów pachwinowych USG ma swoje techniczne ograniczenia. W przeszłości wykonywano badania radiologiczne (np. klasyczna vasografia RTG), jednak z uwagi na udowodnione uszkodzenia komórek generatywnych przez promieniowanie przenikliwe, co stwierdzano u pacjentów onkologicznych leczonych radioterapią (Słowikowska-Hilczer i Wolski: [w] *Oncofertility w praktyce klinicznej*. Jach R i Słabuszewska-Józwiak A (red.), Wydawnictwo Echokompendium, 2023, 39–57), obecnie te metody nie mają zastosowania. W związku z wprowadzeniem do medycyny diagnostyki opartej na statycznym polu elektromagnetycznym – rezonansu magnetycznego (MRI, ang. *magnetic resonance imaging*) – sprawdzono jego oddziaływanie na komórki generatywne. Stwierdzono, że MRI nie wywiera szkodliwego wpływu układ męski rozrodczy (Zhang i wsp.: *Curr Issues Mol Biol*. 2025, 47(2), 116).

Ustalono konsensus, że nadal złotym standardem w obrazowaniu męskiego układu rozrodczego jest USG, ale pojawiły się klarowne wskazania do szerszego włączenia w andrologii rezonansu magnetycznego. Rezonans magnetyczny znajduje zastosowanie w przypadkach niejednoznacznego wyniku USG, trudności we wstępnym różnicowaniu guzów jąder, różnicowania zmian wewnątrz i okołogonadalnych, diagnostyki kanałów pachwinowych oraz miednicy mniejszej (Lottii i wsp.: *Eur Radiol*. 2025, 35(2), 752–766). W oparciu rekomendacje ESUR-SPIWG, Pracownia Rezonansu Magnetycznego QUADIA przeprowadziła pionierską procedurę połączenia wielopłaszczyznowego rezonansu magnetycznego o wysokiej rozdzielczości z funkcjonalną oceną drożności nasieniowodu (wazografia klasyczna) u pacjenta z azoospermia obstrukcyjną przed kwalifikacją do operacji rekonstrukcyjnej (Rzymkowski i wsp.: *Cent European J Urol*. 2024, 77(3), 566–569).

Jan Karol Wolski<sup>1</sup>, Grzegorz Kapuściński<sup>1</sup>, Katarzyna Koziol<sup>1</sup>, Dariusz Starczewski<sup>1</sup>, Bogdan Biarda<sup>1</sup>, Marcin Kołacz<sup>1</sup>, Karina Gawron<sup>1</sup>, Karolina Korczyńska<sup>1</sup>, Adriana Strzałkowska<sup>1</sup>, Bartosz Sierakowski<sup>1</sup>, Mateusz Wideński<sup>1</sup>, Jacek Judycki<sup>1</sup>, Joanna Ostrowska<sup>2</sup>, Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska<sup>3</sup>, Jan Lewandowski<sup>1</sup>, Piotr Lewandowski<sup>1</sup>

## SZANSA NA POZYSKANIE PLEMNIKÓW W BIOPSJI JĄDER TESA I M-TESE U MĘŻCZYZN Z AZOOSPERMIĄ PO LECZENIU ONKOLOGICZNYM

<sup>1</sup>Przychodnia Lekarska nOvum, Warszawa; <sup>2</sup>Centrum Diagnostyki Patomorfologicznej, Warszawa; <sup>3</sup>Centrum Medyczne MED-GEN, Warszawa  
e-mail: jkwolski@op.pl

Choroba nowotworowa oraz terapie chirurgiczne, chemioterapia czy radioterapia znacząco uszkadzają spermatogenezę, prowadząc do azoospermii włącznie. Poprawa

skuteczności leczenia onkologicznego umożliwia włączenie pacjenta do leczenia z zastosowaniem technik zapłodnienia pozaustrojowego (IVF, ang. *in vitro fertilization*; ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm injection*). Zwiększa się zatem liczba pacjentów objętych tym leczeniem z wywiadem onkologicznym i z azoospermią. Ponieważ u wielu z nich nie zabezpieczano płodności przed terapią nowotworu, szansa jest w zabiegowym pozyskaniu plemników z gonad. Przeanalizowano skuteczność biopsji jąder: gruboigłowej przezskórnej (TESA, ang. *testicular sperm aspiration*) i z zastosowaniem mikroskopu operacyjnego (m-TESE, ang. *microdissection testicular sperm extraction*).

W latach 2018–2025 wykonano 934 biopsji jąder (TESA zastosowana u 438 pacjentów, m-TESE zastosowana u 411 pacjentów), w tym 54 biopsje (5,78%) zostały przeprowadzone w niehomogennej grupie mężczyzn po leczeniu onkologicznym. W grupie tej biopsja metodą TESA wykonana była u 16/438 pacjentów (3,37% wszystkich procedur TESA), z kolei m-TESE u 38/411 pacjentów (8,28% wszystkich procedur m-TESE). Zakres wieku mężczyzn wynosił 17–75 lat. U pacjentów tych zdiagnozowano następujące nowotwory: ziarnica złośliwa (n = 6), chłoniak (n = 5), chłoniak ziarniczny (n = 2), chłoniak nieziarniczny (n = 2), chłoniak anaplastyczny (n = 2), ostra białaczka szpikowa (n = 1), przewlekła białaczka szpikowa (n = 1), neuroblastoma (n = 1), *mesenchymoma malignum* (n = 2), mięśniakomięsak prążkowanokomórkowy (RMS, ang. *rhabdomyosarcoma*) (n = 1), kostniakomięsak kończyny dolnej (n = 2), nasieniak jądra (n = 11), nienasieniak jądra (n = 4), kosmówczak jądra (n = 1), GCNIS (ang. *germ cell neoplasia in situ*) (4), pozagonadalny guz germinalny (n = 2), astrocytoma podwzgórza (n = 2), astrocytoma III komory (n = 2), ependymoma (n = 1), tłuszczakomięsak (n = 1), rak prostaty (n = 1). Kwalifikacja do biopsji jąder w przypadkach azoospermii odbywała się wg wytycznych Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU, ang. *European Association of Urology*). Przebieg procedury TESA: procedura ambulatoryjna, znieczulenie krótkie dożylnie (czas zabiegu 15–30 minut), przezskórne nakłucie gonady igłą biopsyjną typu Menghini. Przebieg procedury m-TESE: chirurgia jednego dnia, znieczulenie ogólne, maska krtaniową (60–90 minut), pobranie chirurgiczne obszarów obiecujących kanalików, mikroskop Leica M8602x2, powiększenie 25-krotne. Zastosowana profilaktyka infekcji: cefalosporyna 1 dawka (w przypadku TESA), 5 dni (w przypadku m-TESE). Wycinki utrwalano w płynie Bouina do badania histopatologicznego oraz zabezpieczono w ciekłym azocie (–196°C) na poczet przyszłej procedury zapłodnienia pozaustrojowego.

Obie biopsje TESA / m-TESE były dobrze tolerowane. Powikłania Clavien-Dindo II\* wystąpiły u jednego pacjenta po procedurze TESA – krwiak osłonek, zastosowano postępowanie zachowawcze. Plemniki znaleziono u 19/54 (35,19%) pacjentów. Efektywność metody TESA wynosiła 6/16 (37,5%). Plemniki uzyskano w przypadku pacjentów z następującymi nowotworami: nasieniak jądra

(n = 1), nienasieniak jądra (n = 1), kosmówczak jądra (n = 1), przewlekła białaczka szpikowa (n = 1), ependymoma (n = 1), rak prostaty (n = 1). Efektywność metody m-TESE wynosiła 13/38 (34,21%). Plemniki uzyskano w przypadku pacjentów z następującymi nowotworami: nasieniak jądra (n = 3), GCNIS (n = 3), nienasieniak jądra (n = 2), chłoniak ziarniczny (n = 1), chłoniak anaplastyczny (n = 1), chłoniak nieziarniczny (n = 1), ziarnica (n = 1), tłuszczakomięsak (n = 1).

Procedury biopsji jąder TESA/m-TESE umożliwiając pozyskanie plemników u 1/3 mężczyzn z azoospermią po leczeniu onkologicznym. Finalnie, dzięki protokołowi IVF-ICSI pacjenci mają szansę na ojcostwo.

Marta Zarzycka<sup>1</sup>, Małgorzata Kotula-Balak<sup>2</sup>, Dorota Gil<sup>1</sup>

### **MOLEKULARNE MECHANIZMY ANDROGENO-ZALEŻNEJ REGULACJI PROCESU NOWOTWORZENIA PĘCHERZA MOCZOWEGO**

<sup>1</sup>Katedra Biochemii Lekarskiej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; <sup>2</sup>Katedra Nauk Podstawowych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie  
e-mail: marta.zarzycka@uj.edu.pl

Mężczyźni są bardziej narażeni na rozwój nowotworu pęcherza moczowego niż kobiety. Chociaż pęcherz moczowy nie jest narządem płciowym, to jednak ze względu na obecność receptora androgenowego (AR, ang. *androgen receptor*) znajduje się pod wpływem regulacji zależnej od androgenów. Mechanizmy, które odpowiadają za różnice płciowe pozostają jednak wciąż niewyjaśnione (Dobrush i wsp.: *Eur Urol.* 2016, 69, 300–310). Celem niniejszego badania było wyjaśnienie czy progresja nowotworu pęcherza moczowego u mężczyzn jest zależna od sygnalizacji androgenowej/AR.

Badania przeprowadzono na ludzkich liniach komórkowych nowotworu pęcherza moczowego: HCV29, T24, HT1376 i HTB9. Komórki nowotworu pęcherza traktowano przez 48 godzin dihydrotestosteronem (DHT, ang. *dihydrotestosterone*). Komórki kontrolne traktowano nośnikiem. Ekspresję oraz fosforylację badanych białek i mRNA analizowano odpowiednio za pomocą Western Blot i RT-PCR. Subkomórkową lokalizację białka badano za pomocą zestawu ProteoExtract Subcellular Proteome Extraction Kit lub zestawu Subcellular Protein Fractionation Kit for Cultured Cells.

W naszych badaniach wykazaliśmy, że traktowanie komórek pęcherza moczowego DHT znacząco zwiększyło ekspresję AR w liniach komórkowych: T24 i HCV29. Ponadto, w analizowanych liniach komórkowych stwierdzono aktywację szlaku sygnałowego AKT/GSK-3β, który odgrywa kluczową rolę w progresji nowotworu. Wykazano również, że DHT poprzez AR przyczynia się do wzrostu ekspresji N-kadheryny i spadku ekspresji E-kadheryny, będących najważniejszymi markerami

przejścia epitelialno–mezenchymalnego (EMT, ang. *epithelial–mesenchymal transition*). W trakcie tego procesu komórki nowotworowe stają się bardziej mobilne i zdolne do rozprzestrzeniania w organizmie, co może prowadzić do przerzutów. Nasze badania ujawniły również, iż ekspresja N-kadheryny koreluje z ekspresją cząsteczki adhezji międzykomórkowej 1 (ICAM-1, ang. *intercellular adhesion molecule 1*) w badanych liniach komórkowych pęcherza moczowego. Cząsteczka ICAM-1 jest silnie glikozylowanym receptorem adhezyjnym należącym do rodziny immunoglobulin (Lawson i Wolf: *Pharmacol Rep.* 2009, 61:22–32; Mruk i wsp.: *Semin Cell Dev Biol.* 2014, 29:43–54). Wzrost jej ekspresji koreluje z progresją choroby, niższymi wskaźnikami przeżycia i osłabioną odpowiedzią immunologiczną w komórkach nowotworowych (Usami i wsp.: *Int J Cancer.* 2013, 1(133), 568–578; Guo i wsp.: *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014, 14(111), 14710–14715). Dlatego w dalszych badaniach staraliśmy się wyjaśnić rolę ICAM-1 w regulacji przejścia EMT. W swoich badaniach wykazaliśmy, że DHT zwiększa ekspresję ICAM-1 w liniach komórkowych

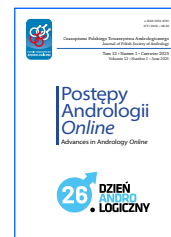
pęcherza moczowego T24 i HCV29, co wskazuje na jego rolę w progresji nowotworu pęcherza moczowego. Ponadto, wyciszenie ICAM-1 (siRNA – mały interferujący RNA) zmniejszyło ekspresję N-kadheryny, SNAIL i TWIST, głównych regulatorów EMT. Wykazano również, iż ICAM-1 wpływa na regulację migracji i proliferacji komórek nowotworu pęcherza moczowego poprzez aktywację osi sygnałowej N-kadheryna/SRC/AKT/GSK-3 $\beta$ /katenina. Można zatem wnioskować, iż ICAM-1 bierze udział w zależnej od N-kadheryny regulacji EMT.

Podsumowując, nasze dane wskazują, że AR odgrywa istotną rolę w progresji raka pęcherza moczowego u pacjentów płci męskiej. A co więcej, ICAM-1, którego ekspresja i regulacja zależą od szlaku sygnałowego AR, jest proponowany jako nowy marker przejścia EMT w nowotworze pęcherza moczowego.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki (NCN, Polska, grant nr 2020/04/X/NZ5/00724) oraz Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) – grant przyznany za pośrednictwem Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, nr N41/DBS/001391.



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



## SYMPOSIUM OF SCIENTIFIC TRAINING OF THE POLISH SOCIETY OF ANDROLOGY – 26<sup>th</sup> DAY OF ANDROLOGY

Kraków, 21–22.11.2025; [www.pta2025.pl](http://www.pta2025.pl)

DOI: 10.26404/PAO\_2353-8791.2025.02



### Abstracts of lectures

Daria Adamczewska<sup>1</sup>, Joanna Jurewicz<sup>2</sup>,  
 Wojciech Hanke<sup>3</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>4</sup>,  
 Katarzyna Marchlewska<sup>1</sup>, Jolanta Słowikowska-Hilczner<sup>1</sup>,  
 Renata Walczak-Jędrzejowska<sup>1</sup>

#### **ASSOCIATION BETWEEN URINARY PARABEN LEVELS AND SPERM MORPHOLOGY IN YOUNG MEN FROM THE GENERAL POPULATION**

<sup>1</sup>Department of Andrology and Reproductive Endocrinology, Medical University of Lodz, Poland; <sup>2</sup>Department of Chemical Safety, Prof. J. Nofer Institute of Occupational Medicine, Lodz, Poland; <sup>3</sup>Department of Environmental Epidemiology, Prof. J. Nofer Institute of Occupational Medicine, Lodz, Poland; <sup>4</sup>Department and Toxicology Department, Faculty of Pharmacy, Medical University of Gdansk, Poland  
 e-mail: [daria.adamczewska@umed.lodz.pl](mailto:daria.adamczewska@umed.lodz.pl)

Parabens, a class of preservatives found in many everyday products including cosmetics, pharmaceuticals, and food items, have been linked to adverse effects on sperm morphology (Jurewicz et al.: *J Occup Environ Med.* 2017; 59(11): 1034–1040; Okonofua et al.: *Int J Gen Med.* 2024; 17: 2767–2779). Studies have shown that higher urinary levels of parabens are associated with an increased proportion of morphologically abnormal sperm, which may potentially impact male fertility. The aim of this study was to assess the association between urinary concentrations of selected parabens and detailed sperm morphology in young men from the general population.

A total of 234 young men aged 19–33 years were included in the study. On the day of the visit, participants provided first-morning urine and semen samples,

completed questionnaires on demographic and health-related information as well as substance use, and underwent anthropometric measurements. To determine the concentrations of four parabens—methylparaben (MeP), ethylparaben (EtP), propylparaben (PrP), and butylparaben (BuP)—in urine samples, gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry was used. The limit of detection (LOD) for all analyzed compounds was 1 ng/mL. Sperm morphology was assessed according to the 2021 World Health Organization (WHO) guidelines using Kruger's strict criteria. In addition to standard analysis, a detailed evaluation of specific morphological abnormalities in individual sperm structures was performed. The following abnormalities were recorded: (1) head defects (round, pear-shaped, amorphous, elongated/slender, small acrosome, or abnormal vacuolization), (2) midpiece defects, (3) tail defects, and (4) presence of residual cytoplasm. Based on the results, the teratozoospermia index (TZI) was calculated. Statistical analyses were conducted using univariate and multivariate linear regression models, adjusting for potential confounding factors such as age, body mass index (BMI), season of sample collection, alcohol consumption, smoking, leukocytospermia, fever in the past three months, varicocele, and a history of cryptorchidism. Due to the high frequency of values below the limit of detection (>50%) for EtP, PrP, and BuP, data for these parabens were categorized as ≥LOD and <LOD. In the case of MeP, data were divided into quartiles (IQR).



Published materials are available under the Creative Commons License BY NC ND 3.0 Polska:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.pl>

The median age of participants was 24 years (IQR: 22–26), and the median BMI was 23.9 kg/m<sup>2</sup> (IQR: 21.8–25.4). Approximately 79% of participants were examined during the autumn-winter season, and 21% during the spring-summer season. A fever episode (>39°C) within the three months preceding the visit was reported by 11% of participants. Over 90% of men reported alcohol consumption: 52% reported frequent consumption (i.e., more than once a week), 40% reported occasional use (less than once a month), and 8% abstained. Cigarette smoking was reported by 17% of participants. Leukocytospermia was observed in about 3% of the samples. Varicocele was detected in 8% of participants, while 3% reported a history of cryptorchidism. In terms of paraben exposure, MeP was detected in 75% of urine samples, EtP in 39%, and PrP and BuP in 25%. The geometric mean concentrations of the compounds, adjusted for urine specific gravity, were as follows: 6.72 ng/mL for MeP, 1.35 ng/mL for EtP, 0.99 ng/mL for PrP, and 0.83 ng/mL for BuP. In univariate regression analysis, BuP exposure was significantly associated with midpiece abnormalities and increased TZI. In addition, EtP exposure was associated with a higher frequency of abnormal head vacuolization. In multivariate models adjusting for confounders, the positive association between BuP and TZI remained statistically significant. Furthermore, PrP was significantly associated with a higher percentage of sperm with round heads, suggesting potential disruption of sperm maturation.

The findings of this study suggest that exposure to butylparaben and propylparaben may negatively affect sperm morphology in young men. Butylparaben was associated with increased teratozoospermia index and midpiece abnormalities, while propylparaben was linked to a higher proportion of sperm with round heads. These results may indicate a harmful effect of parabens on the process of spermiogenesis – the final stage of sperm maturation.

Funding: National Science Centre of Poland (no 2014/13/B/NZ7/02223), Medical University of Lodz (Statute no. 503/1-089-03/503-11-001)

Piotr Chłosta

### **RETROPERITONEAL LYMPH NODE DISSECTION (RPLND) IN TESTICULAR CANCER**

Department and Chair of Urology, Jagiellonian University Medical College, Kraków, Poland; Department of Urology, Medical University of Vienna, Austria  
e-mail: piotr.chlosta@uj.edu.pl

Retroperitoneal lymph node dissection (RPLND) involves the surgical removal of lymph nodes from the retroperitoneal space, the most common site of metastasis in testicular cancer. This procedure is primarily performed in patients with non-seminomatous germ cell tumors

(NSGCT) at stage I or II, when disease is confined to the retroperitoneal lymph nodes, as well as following chemotherapy in cases of residual retroperitoneal masses. The procedure may be carried out via open laparotomy, conventional laparoscopy, or robot-assisted laparoscopy, and entails removal of lymph nodes along the great vessels (aorta and inferior vena cava) and the iliac vasculature. Modern techniques employ nerve-sparing approaches to minimize the risk of complications such as anejaculation. RPLND allows accurate staging, resection of chemotherapy-resistant metastases (e.g., teratoma), and can serve as definitive therapy, enabling some patients to avoid chemotherapy.

According to the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines, RPLND is recommended as a treatment option in stage II NSGCT with normalized tumor markers and low-volume retroperitoneal disease (lymph nodes ≤3 cm), and in selected seminoma cases with limited nodal involvement (Douglawi et al.: *J Urol.* 2020, 204 (1), 96–103; Daneshmand et al.: *J Clin Oncol.* 2023, 41 (16), 3009–3018). The procedure should be performed at high-volume centers due to potential perioperative risks, including bowel obstruction, vascular injury, pulmonary embolism, or chylous ascites, although complication rates are low when performed with appropriate technique.

Long-term data (≥5 years) on oncological outcomes and quality of life after minimally invasive RPLND in higher-stage testicular cancer demonstrate excellent survival, low complication rates, and improved quality of life compared with chemotherapy or radiotherapy, particularly in carefully selected patient populations (Douglawi et al.: *J Urol.* 2020, 204 (1), 96–103; Heinzelbecker et al.: *J Cancer Surviv.* 2024; Mousa et al.: *BJU Int.* 2024, 134 (4), 622–629; Calpin et al.: *Int J Urol.* 2025, 32 (9), 1129–1136). For patients with stage II NSGCT, 5-year overall survival following RPLND is 98–100%, with up to 81% of patients avoiding chemotherapy, which is reserved for relapse or high-risk disease (Douglawi et al.: *J Urol.* 2020, 204 (1), 96–103; Tachibana et al.: *J Clin Oncol.* 2022, 40 (32), 3762–3769; Mousa et al.: *BJU Int.* 2024, 134 (4), 622–629). In patients with low-volume seminoma, RPLND achieves 2-year relapse-free survival of 81% and 100% overall survival, with relapses successfully managed with chemotherapy or further surgery (Daneshmand et al.: *J Clin Oncol.* 2023, 41 (16), 3009–3018; Stephenson et al.: *J Urol.* 2024, 211 (1), 20–25; Singla et al.: *JAMA.* 2025, 333 (9), 793–803). In comparison, chemotherapy and radiotherapy in stage II disease achieve 5-year progression-free survival rates of 87–95%, but carry a significant burden of late toxicities, including neuropathy, ototoxicity, infertility, secondary malignancies, and cardiovascular disease (Chovanec et al.: *Nat Rev Urol.* 2021, 18 (4), 227–245; Stephenson et al.: *J Urol.* 2024, 211 (1), 20–25; Singla et al.: *JAMA.* 2025, 333 (9), 793–803).

Andrzej Depko

## OBESITY IN MEN FROM A SEXOLOGIST'S PERSPECTIVE

Sexology and Sexual Dysfunction Outpatient Clinic, Independent Regional Complex of Public Psychiatric Health Care Institutions, Warsaw, Poland  
e-mail [andrzej@depko.pl](mailto:andrzej@depko.pl)

Obesity is a significant epidemiological problem both in Poland and worldwide, and its prevalence is on the rise. In Europe, overweight and obesity already affect 60% of adults, with the percentage of men who are overweight exceeding 63% in many countries and reaching as high as 70% in some. Sexual dysfunction in men with obesity is a multifactorial chronic health problem resulting from hormonal, metabolic, immunological, vascular, neurological, and psychosocial causes. There is also growing evidence of a significant association between excess body weight and sexual dysfunction in men, particularly erectile dysfunction. The prevalence of erectile dysfunction (ED) among obese men ranges from 36% to 82%, and the risk of developing it is up to twice as high compared to men of normal weight. In addition, elevated body mass index (BMI) values correlate with an increased risk of moderate and severe forms of ED. Cross-sectional studies have shown that obesity is an independent risk factor for ED, even after adjusting for confounding factors such as age, comorbidities, and lifestyle. The treatment of sexual dysfunction in obese men requires a comprehensive therapeutic approach, including lifestyle modification, endocrine and metabolic interventions, and psychological support.

Monika Fijak

## EXPLORING THE ROLE OF IMMUNE CELLS IN TESTICULAR INFLAMMATION AND FIBROSIS

Institute of Anatomy and Cell Biology, Unit of Reproductive Biology, Hessian Centre of Reproductive Medicine, Justus – Liebig University Giessen, Germany  
e-mail: [monika.fijak@anatomie.med.uni-giessen.de](mailto:monika.fijak@anatomie.med.uni-giessen.de)

Infection and inflammation of the male reproductive tract are considered as important aetiologies of male infertility. Ascending infections by sexually transmitted pathogens or common uropathogens are the most frequent causes of these conditions, however asymptomatic non-infectious, sterile causes of inflammation induced by environmental factors or autoimmune reactions remain largely underestimated and need to be regarded as well. Therefore, the limited and restricted access to the human samples can be partially overcome by using animal models. Experimental autoimmune epididymo-orchitis (EAEO) is a rodent model of autoimmune-based chronic inflammation affecting testis,

epididymis and vas deferens. The disease is characterized by immune cell infiltration, damage of spermatogenesis, thickening of the lamina propria, disruption of the blood-testis barrier, extensive necrosis of seminiferous tubules and fibrosis likely contributing to loss of the adluminal compartment and subsequent aspermatogenesis. The invading immune cells such as macrophages, lymphocytes and neutrophils form clusters around the seminiferous tubules, secrete pro-inflammatory mediators (e.g. tumor necrosis factor, CC motif chemokine ligand [CCL] 2, interleukin 10, activin A) and support tissue remodeling ([Fijak et al.: Hum Reprod Update. 2018, 24\(4\), 416–441](#)).

Testicular macrophages (TM) are the most abundant immune cell type in the testis and play a critical role in organ homeostasis. Monocytes and macrophages are known to play an important role in tissue repair and are found in fibrotic stroma, however their exact role in testicular fibrotic remodeling is still unknown. CCL-2 and CC motif chemokine receptor (CCR) 2 play a critical role in the trafficking of immune cells to sites of injury. Under inflammatory circumstances testicular parenchyma is populated by circulating bone marrow-derived monocytes giving rise to inflammatory macrophages that promote tissue damage ([Wang et al.: Proc Natl Acad Sci U S A. 2021, 118\(1\), e2013686117](#)). In the murine EAEO testis the population of TM expressing activin A and fibronectin were strongly increased. Activin A and fibronectin expression correlated with EAEO severity as well as presence of inflammatory infiltrates and spermatogenic impairment in human testicular biopsies ([Nicolas et al.: Sci Rep. 2017, 7, 42391](#); [Nicolas et al.: Reproduction. 2017, 154\(3\), 293–305](#); [Kauerhof et al.: Hum Reprod. 2019, 34\(8\), 1536–1550](#); [Peng et al.: Cell Mol Life Sci. 2022, 79\(12\), 602](#)). Moreover, in human biopsies the expression of CCR2 and its ligand CCL2 genes correlated positively with the density of immune cell infiltrates and negatively with the mean spermatogenesis score ([Hasan et al.: Hum Reprod. 2024, doi: 10.1093/humrep/deae107](#)). In the absence of Ccr2 testicular inflammation and fibrosis were reduced as documented by lower numbers of TM expressing extracellular matrix proteins (ECM) and decreased production of pro-fibrotic and pro-inflammatory mediators (e.g. collagen, fibronectin, CCL-2, activin A). Furthermore, *in vitro* stimulation of macrophages with activin A, which is elevated in human and mouse inflamed testes and known to act as pro-fibrotic factor, demonstrated significant changes in the expression of genes and proteins, involved in ECM remodeling ([Peng et al.: Cell Mol Life Sci. 2022, 79\(12\), 602](#); [Hasan et al.: Hum Reprod. 2024, doi: 10.1093/humrep/deae107](#)). These findings point to a crucial pro-fibrotic function of monocytes/ macrophages in inflammation-associated fibrotic remodeling of EAEO testis and their contribution to infertility.

Monika Fraczek<sup>1</sup>, Jolanta Guz<sup>2</sup>, Ewelina Zarakowska<sup>2</sup>,  
Marek Foksinski<sup>2</sup>

## EFFECT OF ANTIOXIDANT VITAMINS ON SPERM FUNCTION AND MALE REPRODUCTIVE HEALTH

<sup>1</sup>Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland; <sup>2</sup>Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland

e-mail: monika.fraczek@igcz.poznan.pl

Oxidative stress is associated with many pathological conditions that lead to male infertility. Effective protection against peroxidative damage to spermatozoa induced by reactive oxygen and nitrogen species is strongly supported by low-molecular-weight non-enzymatic compounds with antioxidant properties, such as ascorbic acid (vitamin C), tocopherol (vitamin E), and retinoids (vitamin A). A deficiency of these compounds has been observed, among other conditions, in patients with varicocele, genital tract infections, idiopathic infertility, or men exposed to various environmental factors. The pleiotropic activity of antioxidant vitamins in the male gonad includes their involvement in regulating the efficiency of spermatogenesis by ensuring a specific microenvironment that protects germ cells from oxidative stress (vitamins C and E), regulation of meiotic processes and differentiation of germ cells (vitamin A), and regulation of gene and protein expression and signaling pathways at different stages of spermatogenesis (vitamins A, C, and E). In numerous prospective studies, antioxidant vitamin levels have been positively correlated with normal semen parameters, such as volume, sperm count, motility, and DNA fragmentation.

Human semen is a particularly rich source of vitamin C, and the prostate may be the main supplier of vitamin C in seminal plasma. Recent studies have indicated that vitamin C, in addition to its influence on the redox potential of cells, also plays a role in regulating epigenetic processes in the cell nucleus through its effect on the activity of enzymes involved in active DNA demethylation. It has been proven that human spermatozoa express vitamin C transporters – SVCT1 and SVCT2 proteins – which suggests that active transport systems may be involved in the uptake of vitamin C by these cells. Recent reports have also indicated that intracellular vitamin C concentration and the level of epigenetic modifications in prostate play an important role in the proper functioning of this gland and may serve as potential markers of male fertility and reproductive health. The beneficial effects of vitamin C on the viability and reduction of DNA damage in human sperm subjected to cryopreservation have also been demonstrated.

Due to the high susceptibility of sperm to oxidative damage, these cells are strongly dependent on the antioxidant properties of seminal plasma, and supplementation with exogenous low-molecular-weight antioxidants, including vitamins, is a common clinical practice that

is readily applied to reduce oxidative stress in semen and to improve the fertilizing potential of spermatozoa. Research over the past 20 years has revealed inconsistent results regarding its effectiveness in improving sperm parameters and DNA integrity. This discrepancy has led to an ongoing debate among clinicians and researchers. However, it should be noted that these studies did not base their conclusions on the molecular parameters of spermatozoa, nor did they examine the concentrations of the administered antioxidants in the semen. Therefore, further experimental and clinical studies are urgently needed to establish robust therapeutic protocols using antioxidant vitamins for male infertility.

Financial support: National Science Centre of Poland; Grant OPUS No. 2024/55/B/NZ7/03175.

Kamil Gill<sup>1</sup>, Mariusz Łukaszuk<sup>2</sup>, Małgorzata Piasecka<sup>1</sup>

## SHORT-TERM SEXUAL ABSTINENCE AND SELECTED SEMEN PARAMETERS

<sup>1</sup>Department of Histology and Developmental Biology, Faculty of Health Sciences, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland;

<sup>2</sup>Novique – Aesthetic and Anti-Aging Medicine Clinic, Gdańsk, Poland

e-mail: kamil.gill@pum.edu.pl

The infertility defined as no conceive despite regular unprotected intercourse over a 12-month period affects 15–20% of reproductive-age. Importantly, a male factor contributes to this issue in 30–50% of cases ([Black et al.: Uro 2025, 5, 2. doi: 10.3390/uro5010002](#)). A frequently diagnosed cause of male fertility disorders is idiopathic infertility (30% of cases), characterized by abnormalities in basic semen parameters of unknown etiology, which significantly complicates therapeutic management ([Minhas et al.: Eur Urol. 2025, 87\(5\), 601–616](#)). Recent reports indicate that the time of sexual abstinence is a significant and easily modifiable factor that may affect semen quality. Modifying the abstinence time appears to be safe, as it does not carry the risks associated with pharmacological treatments such as antioxidant therapy, which may increase the risk of reductive stress in the absence of oxidative stress ([Karavani et al.: Transl Androl Urol. 2023, 12\(10\), 1487–1496](#); [Poopaibool et al.: Clin Exp Reprod Med. 2023, 50\(4\), 262–269](#); [Du et al.: Andrology. 2024, 12\(6\), 1224–1235](#); [Raditya et al.: World J Mens Health. 2024, doi: 10.5534/wjmh.240035](#); [Yao et al.: 2025. doi: 10.3389/fendo.2025.1472333](#)). Therefore, the aim of this study was to verify the influence of a short-term sexual abstinence sexual on standard semen parameters as well as on sperm chromatin integrity and maturity.

The study was conducted on semen samples obtained from adult men (n = 95, median age: 33.00 years; range: 23.00–48.00 years) attending the Andrology Laboratory at the Department of Histology and Developmental Biology (Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland). Each participant provided two semen samples

on the same day: the first after 2–7 days of sexual abstinence, and the second after one hour of sexual abstinence. Participants were partners from infertile couples. Cryptospermia and azoospermia were established as a exclusion criteria.

A comparison (Wilcoxon signed-rank test) of standard semen parameters (WHO 2010 and 2021 guidelines) showed that one-hour abstinence significantly reduced ejaculate volume and total sperm count (median: 3.50 mL vs. 1.50 mL; and median:  $78.30 \times 10^6$  sperm vs.  $29.00 \times 10^6$  sperm cells, respectively). No significant differences were observed for the remaining standard semen parameters.

In the next stage, the effect of short abstinence on: 1) sperm DNA fragmentation (SDF) – sperm chromatin dispersion test (SCDt), 2) presence of retained nuclear histones – aniline blue (AB) test, and 3) chromatin condensation – toluidine blue (TB) test was evaluated. It has been revealed that short sexual abstinence significantly influenced the values of SDF index (median: 19.00% vs. 16.50%). Moreover, there was a significant decrease in the proportion of participants with an SDF index >20%, which is clinically relevant in the assessment of male fertility (44.18% vs. 24.46%). Consequently, the odds ratio (OR) for SDF index >20% was significantly lower (OR = 0.4568). No significant differences were found in AB and TB test results.

The obtained data indicate that, on one hand, a short time of sexual abstinence negatively affects ejaculate volume and total sperm count, which is understandable, on the other hand, it has a positive impact on sperm chromatin integrity. Therefore, in cases of a high percentage of sperm with fragmented DNA, a short period of sexual abstinence appears to be justified.

Aleksander Giwercman

### REPROUNION BIOBANK AND INFERTILITY COHORT: NEW INSIGHTS INTO MALE SUBFERTILITY AND IT'S CONSEQUENCES

Department of Translational Medicine, Lund University, Malmö, Sweden  
e-mail: aleksander.giwercman@med.lu.se

Infertility is the most common chronic disease of young adulthood affecting 15–20% of all couples in the reproductive age. Infertility seems not only to affect the couple's ability to get children but is also an early sign of subsequently increased risk of non-communicable diseases. Due to social and, probably, even biological factors, the infertility problem seems to be steadily growing. Despite the serious consequences of such development, this area of science is under-researched and our options for prevention, early diagnosis and causal treatment are very limited.

In order to create a strong infrastructure for infertility-related research ReproUnion, a cross-border collaboration between Sweden and Denmark within the

area of reproductive medicine in the Øresund Region ([www.reprounion.eu](http://www.reprounion.eu)), initiated in 2020 establishment of ReproUnion Biobank and Infertility Cohort (RUBIC; [www.rubic.nu](http://www.rubic.nu)) world's largest biobank of biological material from infertile couples referred to public hospitals in Southern Sweden and in the area of Copenhagen. This project, funded by European Union Interreg-program, the Capital Region of Denmark, Region of Scania as well as Ferring Pharmaceuticals, aims to collect blood, semen, urine, stool and hair samples from 5,000 infertile couples. This biobank becomes unique, not only in terms of its size but also due to access to information and biological material from both partners. The participants are not only filling in extensive questionnaires but the information obtained from participants can be extended by linking the cohort to the Swedish and Danish national registries containing information on not only the subjects participating in the study but also on their parents and children. Our ultimate goal is, by utilizing the RUBIC cohort, to improve the existing options for prevention, diagnosis and treatment of infertility. So far, more than 2,000 couples have been enrolled and this cohort size allows for initiating RUBIC-based research efforts.

In my presentation, I will give example of some preliminary results and future plans as well as describe the RUBIC management structure and options for utilizing our material and data by researchers outside ReproUnion.

Zuzanna Graczyk<sup>1</sup>, Jagoda Kostyk<sup>1</sup>, Julia Pospieszna<sup>1,2</sup>, Zuzanna Myślicka<sup>1</sup>, Marzena Kamieniczna<sup>1</sup>, Monika Frączek<sup>1</sup>, Marta Olszewska<sup>1</sup>, Maciej Kurpisz<sup>1</sup>

### IMPROVED LEVELS OF EPIGENETIC MARKS AND CHROMATIN INTEGRITY IN HUMAN SPERMATOZOA AFTER FRACTIONATION

<sup>1</sup>Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland; <sup>2</sup>Poznan University of Medical Sciences, Department of Toxicology, Collegium Pharmaceuticum, Poznan, Poland  
e-mail: zuzanna.graczyk@igcz.poznan.pl  
e-mail: marta.olszewska@igcz.poznan.pl

Sperm fractionation is routinely utilized in the infertility treatment clinics for assisted reproductive technologies (ART,) such as *in vitro* fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Some of the well-known methods of sperm separations are: swim-up fractionation or density-gradient centrifugation (Yu et al.: PLOS ONE. 2015, 10(12), e0145585). Swim-up technique allows to separate motile fraction of spermatozoa from seminal plasma, while density-gradient centrifugation, (i.e., Percoll gradient), allows to separate morphologically normal and motile human spermatozoa, free of debris, dead cells and non-germ cells (WHO, 2021). Sperm cells obtained by these two methods result in similar cumulative life birth rate (Rao et al.: Reprod Biol Endocrinol. 2022, 20(1), 60). Evidence showed that the selection of spermatozoon before injection into the

oocyte has a significant impact on ICSI outcomes (Baldini et al.: *Cells*. 2021, 10(12), 3566). Choosing proper spermatozoa remains a pivotal step of procedure, influencing fertilization processes and early embryo development. The aim of this study was to evaluate the nuclear and epigenetic quality of spermatozoa following fractionation techniques, based on parameters such as: chromatin protamination, DNA fragmentation, levels of DNA 5-methylcytosine (5mC) and 5-hydroxymethylcytosine (5hmC), as well as spatial chromatin and chromosomal organization.

Semen samples from 5 normozoospermic males and a group of 5 RCT carriers (reciprocal chromosome translocation) were collected and processed for fractionation *via* swim up (to select viable and motile spermatozoa) and Percoll gradient (90/47%; (good motility and morphology). Sperm chromatin protamination was assessed by aniline blue (AB) staining, while DNA fragmentation by acridine orange (AO) or TUNEL assay. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) was applied to analyse the positioning of chromosomes 4, 7, 8, 9, 18, X and Y within sperm nucleus area. To check levels of global 5mC/5hmC of sperm DNA, immunofluorescence (IF) staining was carried out.

Preliminary results obtained in normozoospermic controls demonstrated that high-quality sperm selection significantly increased chromatin protamination (+24–26%) and 5mC and 5hmC levels (+7–12%), and reduced ssDNA fragmentation (–60–70%). Motile and morphologically normal spermatozoa showed distinct chromosome repositioning, with sex chromosomes shifted to the nuclear periphery, a key chromosomal region of the initial interaction with the ooplasm during fertilization process. Evaluated autosomes revealed various patterns of repositioning. These findings show potential significance for selecting high-quality spermatozoa in assisted reproductive technologies at chromatin and chromosomal level and underscore the importance of sperm fractionation for separation of sperm with optimal characteristics for ART. Ongoing analyses will extend these observations to clinical samples.

Funding: National Science Centre, Poland 2020/38/E/NZ2/00134 (MO)

Katarzyna Gronostaj

## SYSTEMIC TREATMENT OF TESTICULAR GERM CELL TUMORS

Department of Urology, Medical College, Jagiellonian University, Kraków, Poland  
e-mail: katarzynagronostaj@gmail.com

Testicular germ cell tumors are the most common solid tumors in young men. They are an example of the success of modern medicine in treating young patients with a 5-year survival rate of approximately 95%. Testicular

germ cell tumors are classically divided into two main subtypes: seminoma and nonseminoma. Nonseminomas include four types of cancer: embryonal cell carcinoma, choriocarcinoma, yolk sac tumor, and teratoma. They are usually more aggressive clinically, and the presence of any of the four histological subtypes defines the tumor as nonseminoma. For most testicular germ cell tumors, there is a well-established standard of care with high cure rates. This review seeks to provide an overview of the current standard of care for systemic therapy of testicular germ cell tumors

Rim Ibrahim<sup>1</sup>, Agnieszka Malcher<sup>1</sup>, Marta Olszewska<sup>1</sup>, Tomasz Stokowy<sup>2</sup>, Krzysztof Pastuszek<sup>3,4</sup>, Aashish Srivastava<sup>5</sup>, Andrea Berman<sup>6</sup>, Noor Ullah<sup>7</sup>, Jassem M Khan<sup>7</sup>, Christopher Pombar<sup>8</sup>, Rachel Hvasta-Gloria<sup>8</sup>, Alexander N Yatsenko<sup>8</sup>, Maciej Kurpisz<sup>1</sup>

## ASTHENOZOOSPERMIA AND CONSANGUINITY: A GENOMIC EXPLORATION OF NOVEL VARIANTS

<sup>1</sup>Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland; <sup>2</sup>IT Division, University of Bergen, Bergen, Norway; <sup>3</sup>Department of Algorithms and System Modelling, Gdansk University of Technology, Gdansk, Poland; <sup>4</sup>Medical University of Gdańsk, Gdansk, Poland; <sup>5</sup>Genome Core Facility, Clinical Laboratory, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway; <sup>6</sup>Department of Biological Sciences, Dietrich School of Arts and Sciences, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA; <sup>7</sup>Department of Biochemistry, Institute of Basic Medical Sciences, Khyber Medical University, Peshawar, Pakistan; <sup>8</sup>School of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA  
e-mail: rim.ibrahim@igcz.poznan.pl

Infertility affects around 15% of reproductive couples, and male infertility accounts for approximately half of these cases. Asthenozoospermia (AZS) is the most common causes of male infertility, and it is caused by sperm structural or functional deficiencies, the deleterious effects of seminal plasma, life style and environmental factors; it can also be idiopathic. Genetic diagnostic technologies are crucial to uncover novel genetic variants causative of AZS. Many studies employed consanguineous families to search for genes underlying diseases as they offer valuable genetic data with enhanced accuracy in genomic analysis. Here, we performed whole genome sequencing (WGS) on three Pakistani consanguineous families samples with both affected and unaffected individuals with male infertility: asthenozoospermic, severe oligoasthenozoospermic, necrozoospermic and fertile males, as well as parental carriers. Our filtering criteria targeted rare nonsynonymous, nonsense, or frameshift variants (gnomAD VAF < 0.01) under a recessive model. We assessed the variant pathogenicity using prediction tools and verified the testis-specific gene expression and the link to male fertility. In family I, we identified a deleterious homozygous variant in all the individuals with

AZS in *DNAH12* (c.7558C>T; p.Arg2520Ter), which plays a crucial role in the structure and function of cilia and flagella. We also identified a deleterious *AR* gene variant (c.188T>C; p.Leu63Pro), as well as a deleterious variant of *ZMYM1* (c.2741A>T; p.Asp914Val) in the patient with severe oligoasthenozoospermia, which we suggest are responsible for the phenotype. In family II, we identified a stop-gain variant in the AZS individuals in *CFAP70* (c.2335C>T; p.Q779\*), which plays a crucial role in the regulation of dynein arms and microtubule structure. In the patient with severe oligoasthenonecrozoospermia, we uncovered a missense variant in *GLIS2*, which may play a crucial role in the apoptotic process induced in germ cells, suggesting that this variant may be causative of the necrozoospermia in this individual. Finally, in family III, we identified missense variant in *ODC1* in both AZS brothers, which we suppose is causative of the disease. We also identified de novo variants in *DYNC1LI2* (c.584del; p.Pro195HisfsTer7) and *CFAP54* (c.8334+3del), both of which are essential for sperm flagella and sperm motility in one AZS individual. While the other AZS individual carried a germline missense variant in *G6PD* (c.563C>T; p.Ser188Phe), the first component of the pentose pathway, which is suggested to be important for sperm motility. To sum up, consanguineous families offer valuable insights into novel disease-causing gene variants. Our findings emphasize the role of dynein arm assembly in asthenozoospermia

Funding: This work was supported by the National Science Centre in Poland, Grant No.2020/37/B/NZ5/00549.

*Dariusz Kałka*

### **TESTOSTERONE, ERECTILE FUNCTION, LIBIDO, AND OBESITY: AN ANDROLOGIST'S PERSPECTIVE**

Faculty of Physiotherapy, Wrocław University of Health and Sport Sciences, Wrocław, Poland  
e-mail: [dariusz.kalka@gmail.com](mailto:dariusz.kalka@gmail.com)

Testosterone regulates many physiological processes at the systemic, tissue, cellular, and molecular levels. A decreased testosterone concentration leads to the development of hypogonadism. This condition is defined as low serum testosterone levels accompanied by clinical symptoms, including key sexual symptoms such as reduced frequency of morning erections, diminished sexual thoughts, and erectile dysfunction. The prevalence of hypogonadism in the general population ranges from 2.1% to 12.8%, but increases significantly in patients with obesity, reaching 15% to 78.8%. International guidelines recommend that all men with increased waist circumference or obesity should be evaluated for hypogonadism, and patients diagnosed with hypogonadism should be assessed for the presence of obesity. As sexual dysfunction, including decreased libido and

erectile dysfunction, is highly prevalent among men with obesity, according to current guidelines, in the absence of contraindications and when fertility is not desired, these patients should be considered for testosterone replacement therapy (TRT). In cases of functional hypogonadism, most commonly caused by obesity, the European Academy of Andrology recommends initiating treatment with transdermal testosterone preparations. Testosterone, which is involved in virtually every phase of sexual response, not only improves sexual function but also aims to improve insulin sensitivity in this patient population by altering body composition. It is important to note that prolonged exposure to hypogonadism may cause permanent damage to the erectile apparatus, including the corpora cavernosa and the bulbospongiosus and ischiocavernosus muscles. A strong rationale for the use of TRT is the cardiovascular safety data from the TRAVERSE study, which investigated 1.62% testosterone gel in middle-aged and older men with confirmed hypogonadism and high cardiovascular risk.

*Marzena Kamieniczna*<sup>1</sup>, *Lukasz Wojnar*<sup>2</sup>,  
*Jozef Nakonechnyy*<sup>3</sup>, *Andrij Nakonechnyy*<sup>4</sup>,  
*Laura Grzeskowiak*<sup>5</sup>, *Michał Kups*<sup>6,7</sup>, *Kamil Gill*<sup>8</sup>,  
*Tomasz Woźniak*<sup>1</sup>, *Anna Havrylyuk*<sup>9</sup>, *Malgorzata Piasecka*<sup>8</sup>,  
*Valentina Chopyak*<sup>9</sup>, *Monika Fraczek*<sup>1</sup>,  
*Maciej Krzysztof Kurpisz*<sup>1</sup>

### **ANTISPERM ANTIBODIES, OXIDATIVE STRESS MARKERS AND CYTOKINES IN HYPERTHERMIA**

<sup>1</sup>Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznań, Poland; <sup>2</sup>Clinic of Urology and Oncological Urology, Poznań University of Medical Sciences, Poznań, Poland; <sup>3</sup>Department of Urology Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine; <sup>4</sup>Department of Pediatric Surgery, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine; <sup>5</sup>Certus Private Hospital, Poznań, Poland; <sup>6</sup>Department and Clinic of Urology and Oncological Urology, Regional Specialist Hospital in Szczecin, Szczecin, Poland; <sup>7</sup>The Fertility Partnership Vitrolive in Szczecin, Szczecin, Poland; <sup>8</sup>Department of Histology and Developmental Biology, Faculty of Health Sciences, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland; <sup>9</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Clinical Immunology and Allergology, Lviv, Ukraine  
e-mail: [monika.fraczek@igcz.poznan.pl](mailto:monika.fraczek@igcz.poznan.pl)  
e-mail: [maciej.kurpisz@igcz.poznan.pl](mailto:maciej.kurpisz@igcz.poznan.pl)  
e-mail: [marzena.kamieniczna@igcz.poznan.pl](mailto:marzena.kamieniczna@igcz.poznan.pl)

Elevated temperature in the testicular or scrotal region can lead to reduced male fertility. Whether dealing with exogenous or endogenous sources of hyperthermia, the role of oxidative stress and increased immune responses may be crucial in these cases. Cytokine testing and the presence of antisperm antibodies (AsA) are part of a research trend to find useful biomarkers for the diagnosis of hyperthermia-induced male infertility and some insight at interaction between oxidative stress and the immune response related to male infertility. The aim of the present

study was to determine the relationship between the presence of antisperm antibodies and markers of oxidative stress and the response from selected cytokines, chemokines and growth factors in men exposed to elevated testicular and/or scrotal temperatures (Politch et al.: *Hum Reprod.* 2007, 22(11), 2928–2935; Fraczek et al.: *Int J Mol Sci.* 2020, 21(17), 6427; Fraczek et al.: *Int J Environ Res Public Health.* 2022, 19(5), 2713; Fomichova et al.: *FEBS J.* 2025, 292(13), 3321–3349).

The studied male cohort (n = 311) was classified into the following subgroups: fertile individuals as control (n = 23), men with idiopathic infertility (n = 34), professional drivers (n = 51), men with varicocele (n = 95), cryptorchidism (n = 60), infections (n = 39) and immunological infertility (n = 9). The indirect mixed antiglobulin reaction (MAR) test and flow cytometry were used for the detection of AsA in seminal plasma. Direct MAR was used for the detection of AsA bound to the surface of live spermatozoa. The oxidative stress parameters such as total antioxidant capacity (TAC), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) activities or malondialdehyde level (MDA) were measured in seminal plasma using spectrophotometry. Concentrations of cytokines, chemokines and growth factors (G-CSF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 p70, IL-18, TRAIL, IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-8, IL-13, MIF, IL-1 $\alpha$ , IL-4, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ ) were measured in seminal plasma by multiplex fluorescent immunoassays based on paramagnetic beads (Luminex Corporation, Austin, TX, USA) using R&D Human Premixed Multi-Analyte Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

Low levels of antisperm antibodies were observed in the groups of men. Statistically significant differences in antisperm antibody levels were only present in comparisons with the group of men with immune infertility. Significantly lower values for TAC were observed in the professional driver group compared to the fertile controls. CAT activities differed only between the group of professional drivers and the group of men with immune infertility, where they were statistically lower. Similarly, tests of cytokine, chemokine and growth factor levels showed no statistical differences between the groups under study. Only the analysis of multiple correlations using heat maps showed significant differences between the studied groups. Among others, there were shown negative correlations of TAC with MFI in a group of infertile men (R = -0.616935), with varicocele (R = -0.36660) and with cryptorchidism (R = -0.492003). Positive correlations of TAC with IFN $\gamma$  were observed in men with infertility (R = -0.378907), varicocele (R = -0.342585), cryptorchidism (R = -0.411533) and with semen infections (R = -0.402467). In the group with cryptorchidism (R = -0.305615), infertility (R = -0.468089), infections (R = -0.330013) and immune infertility (R = -0.754505), catalase activity or levels were increased with increasing IL-1 $\beta$  levels. In the group with semen infections, a positive correlation was noted between catalase and TRAIL protein (R = -0.384091). To summarise the correlations

analysed, the oxidative homeostasis were maintained through anti-inflammatory mechanisms in the fertile group. Regulatory cytokines IL-10 and TGF- $\beta$ 1 showed the highest correlations in this respect. Most of the correlations studied revealed low values - indicating that physiological balance among oxidant/antioxidants associated with fertility status. Activation of the adaptive immune response was observed in the infertile and semen infection groups. TAC was strongly associated with the inflammatory response in the infertile group, as well as in the group with varicocele. Cytokine correlation analysis in the varicocele indicated impaired sperm function and oxidative stress. Similarly, increased oxidative stress was observed in the professional driver group, what was reflected in correlations with MDA (a marker of lipid peroxidation). The positive correlation of SOD with TNF- $\alpha$  may indicate a joint activation of oxidative and inflammatory pathways in immunological infertility group.

Hyperthermia did not significantly affect the incidence of AsA. The results of this study confirmed that there was a significant interaction between antioxidant mechanisms and the immune system in men with different infertility entities, as well as in specific clinical conditions. Both negative and positive correlations indicated the complex nature of this relationship, where oxidative stress may modulate the inflammatory response while immune inflammatory reactions affect the antioxidant balance. These findings suggest that the presence of AsA is associated with a deregulated immune environment, characterised by increased oxidative stress, level of pro-inflammatory cytokines (especially TNF- $\alpha$ , IL-17 and IFN- $\gamma$ ) and a relative deficiency of immunoregulatory factors such as IL-10 and TGF- $\beta$ 1.

Funding; The study was financed by National Science Centre, Poland, grant No 2015/19/B/NZ5/02241.

Marzena Kamieniczna<sup>1</sup>, Ewa Stachowska<sup>2</sup>,  
Dmytro Gots<sup>1,3</sup>, Amelia Danielewska<sup>4</sup>,  
Agnieszka Malcher<sup>1</sup>, Monika Fraczek<sup>1</sup>,  
Marta Olszewska<sup>1</sup>, Maciej Krzysztof Kurpisz<sup>1</sup>

#### **SUPPORT FOR SPERM MOTILITY TESTING**

<sup>1</sup>Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland; <sup>2</sup>Department of Metrology and Measurement Systems, Institute of Mechanical Technology, Faculty of Mechanical Engineering and Management, Poznan University of Technology, Poznan, Poland; <sup>3</sup>Poznan University of Adam Mickiewicz, Poland; <sup>4</sup>Poznan University of Life Sciences, Poland  
e-mail: marta.olszewska@igcz.poznan.pl  
e-mail: maciej.kurpisz@igcz.poznan.pl  
e-mail: marzena.kamieniczna@igcz.poznan.pl

Sperm motility results from a complex interactions commons genes, do well as significant number of epigenetic and environmental factors. The World Health Organisation (WHO) in 2021, compiling andrological diagnostic guidelines, recommended a distinction

between fast and slow progressive motility, indicating the presence (or absence) of spermatozoa with fast motility as a clinically relevant trait ([World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 6th ed., WHO Press: Geneva, Switzerland, 2021](#)). This also emphasized the biological relevance of total progressive motile sperm count (TMPC) as a better predictor of clinical pregnancy, or indicating estimated time to achieve pregnancy, than individual semen parameters. The WHO allows manual examination of motility using a classic light microscope. The authors of the manual made emphasize that the presented 5th percentile values should only be used as a guideline (reference value) when interpreting the results of a semen examination of an individual patient and recommend that so-called “reference values” should be abandoned while finally interpreting the test result. They pointed to the possibility of using computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for additional analyses, primarily related to movement kinematics (i.e. parameters that cannot be assessed by the human eye), but also to the assessment of sperm morphology, in order to increase the objectivity of the analysis performed. Some studies indicate that in future, sperm motility testing will be a compilation of sperm morphology studies with simultaneous sperm movement characterisation, that is a real-time imaging and link to artificial intelligence (AI). The aim of this study was to adapt the available microscopic methods to simultaneously determine mitochondrial activity and/or sperm motility and assess midpiece structure.

Analysis of sperm midpiece morphology with simultaneous assessment of motility type was performed using a holographic microscope. The JC-1 test, which belongs to the group of tests supporting the assessment of the causes of reduced sperm motility parameters, was also applied. Samples pool consisted of fertile donors and infertile patients. In the infertile group studied, no deletion of exon 17 of the SPEF2 gene was found. In addition, the PARK7 gene showed no mutation in any patient from the study group.

Digital holographic microscopy (DHM) was used for the morphological evaluation of live, spermatozoa from fertile and infertile men. This method made possible to study the sperm population directly from the droplet of the native specimen and not only from the focal plane of the microscope, as in classical optical microscopy ([Coppola et al.: Zygote. 2014, 22\(4\), 446–454](#); [Di Caprio et al.: Biomed Opt Express. 2014, 5\(3\), 690–700](#)). New three-dimensional morphological parameters of spermatozoa including the parameter: head/midpiece height (*h<sub>mh</sub>*), were included in the morphological evaluation of semen samples. The calculated mean range of *h<sub>mh</sub>* values for fertile individuals was 0.57µm and for infertile ones was 0.61µm ( $p < 0.001$ ). The mean values of all 3D parameters studied including *h<sub>mh</sub>* for fertile men were more condensed than those for infertile men.

This trend was less pronounced for 2-D morphological parameters e.g. midpiece length (*ml*).

Assessment of mitochondrial function by the JC-1 assay is most commonly performed using flow cytometry. Manual examination using a fluorescence microscope brought additional information about the mitochondria status and the structure of the sperm midpiece. A new test scheme was proposed: simultaneous assessment of mitochondrial activity and sperm midpiece structure using JC-1 fluorochrome and fluorescence microscopy.

The DHM method allows for more accurate, quantitative and objective morphological measures of live, unlabelled sperm with simultaneous assessment of the motility of the sperm examined. The extension of the number of morphological parameters with new 3D parameters and the simultaneous assessment of sperm motility can be a valuable addition to semen testing. The main advantage of DHM is the possibility to study the entire population of spermatozoa in a defined sample volume, and not only the spermatozoa that have been recorded in the focus of the microscope. It has been shown that the mean values of the 3D *h<sub>mh</sub>* parameter of midpiece for fertile men are more condensed than those for infertile men.

Complex examination of the mitochondrial potential (using a fluorescence microscope and fluorochrome JC-1) allows an in vivo assessment of the morphological structure of sperm midpiece. This allows the detection of rare anatomical defects of the midpiece (elongated structure). A normal sperm midpiece correlated positively with sperm motility.

Funding: Project No. NdS-II/SP/0288/2024/01 subsidised from the state budget, granted by the Minister of Education and Science within the framework of the Programme ‘Science for Society II’.

Malgorzata Kotula-Balak<sup>1</sup>, Michal Duliban<sup>2</sup>,  
Marta Zarzycka<sup>3</sup>, Ummu Gulsum Boztepe<sup>1</sup>, Jan K. Wolski<sup>4</sup>

## THE MOLECULAR AND BIOCHEMICAL PROFILE OF LEYDIG CELL TUMOR – IN SEARCH OF NEW BIOMARKERS

<sup>1</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agriculture in Krakow, Poland; <sup>2</sup>Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University, Krakow, Poland; <sup>3</sup>Chair of Medical Biochemistry, Medical College, Jagiellonian University, Krakow, Poland 4nOvum Fertility Clinic, Warszawa  
e-mail: malgorzata.kotula-balak@urk.edu.pl

Leydig cell tumors are the most common sex cord-stromal tumor in men. These tumors are generally benign, with only 5% – 10% considered malignant. Their distribution is bimodal, with peaks in the prepubertal age group and between the ages of 30 and 60 ([Kapoor and Leslie Testicular Sex Cord–Stromal Tumors In: StatPearls \[Internet\]. Treasure Island \(FL\): StatPearls Publishing](#)

2025). Due to hormonally active Leydig cells (mainly secreting high amounts of estrogens), tumors can present with precocious puberty, breast tenderness, or gynecomastia (Suardi et al.: *BJU Int.* 2009, 103, 197–200). Till now, no risk factors for tumor occurrence have been reported. This study was undertaken to get deeper into the Leydig cell tumor molecular and biochemical status that may be promising for designing further approaches to early management and/or therapy. Remaining pieces of testicular biopsies with the use of microsurgical testicular sperm extraction (mTESE) obtained from patients 38–47 years old (n= 52) diagnosed with azoospermia and undergoing further detailed diagnostics were used e.g. for the analysis of tumor Leydig cell morphology, global gene expression, steroidogenic protein expression, measurement of sex hormone level and signaling, and ion levels. In addition, we used additional research models: designed by us mice with experimentally-induced Leydig cell tumors, commercially available tumor mouse Leydig cell line (MA-10), and obtained from the Small Animal University Polyclinic (University of Agriculture in Krakow) mixed-breed dog tumor Leydig cells to understand some aspects of this tumor in men. The main results of the Leydig cell tumor analysis are: 1) in tumor mass four types of Leydig cells rich in lipid droplets and adipocyte-like cells are present, 2) 219 transcripts show altered expression, 3) proteins that act in lipid metabolism including steroidogenic ones exhibit diversely changed expression and signaling, 4) increased production of estradiol and altered estrogen signaling involving the possible effect of xenoestrogens and 5) decreased distribution and level of organic compounds and increased level of copper (Cu<sup>2+</sup>) ions (Gorowska-Wojtowicz et al.: *Tissue Cell.* 2019, 61, 51–60; Duliban et al.: *Int J Mol Sci.* 2020, 21, 21(10), 3649; Kotula-Balak et al.: *Protoplasma.* 2020, 257(4), 1149–1163; Kotula-Balak et al.: *Andrologia.* 2021, 53(11), e14222; Wolski et al.: *Reprod Biol.* 2024, 24(2), 100890). Found here some unique features of Leydig cell tumor, e.g., markedly upregulated heat shock protein genes or increased Cu<sup>2+</sup> levels, might be new molecular/biochemical targets effectively translated into the diagnostic and therapeutic interventions.

Founding: National Science Center grants: SONATA BIS 5 (2015/18/E/NZ4/00519), OPUS 12 (2016/23/B/NZ4/01788) and OPUS 26 (2023/51/B/NZ4/00889).

*Małgorzata Kotwicka*

### **DO ASTROCYTE-DERIVED EXOSOMES REGULATE MIRNA LEVELS IN SPERM?**

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

Transgenerational epigenetic inheritance has been relatively well documented in animals, in which acquired

traits from environmental exposure are passed to subsequent generations through epigenetic modifications in reproductive cells. Research on animals indicates that environmental factors induce epigenetic changes in sperm, including alterations in miRNA levels, which may be associated with impaired delivery of miRNA to sperm during transfer through the epididymis.

Increasing evidence suggests that sperm miRNAs play a crucial role in embryo development and epigenetic inheritance. This implies that some inherited disease susceptibility may stem from parental experiences transmitted via epigenetic modifications in parental reproductive cells. Studies using mouse models of chronic stress suggest that stress-specific changes in sperm miRNA content lead to corresponding changes in offspring phenotypes. The mechanisms by which certain stress factors alter sperm miRNA content remain unclear. Experiments described by Champroux et al. (Champroux et al.: *Epigenetics.* 2025, 20(1), 2457176) suggest that chronic stress decreases miR-34c levels in mouse sperm. The authors propose that the source of this miRNA is exosomes derived from astrocytes (A-Exos) located in the prefrontal cortex and amygdala. Chronic stress suppressed miR-34c levels in A-Exos in these brain regions and the blood. The level of miR-34c A-Exos in these brain areas was significantly reduced not only in stressed males but also in their male offspring. The authors observed that restoring the normal level of miR-34c in the blood (via intravenous injection) simultaneously restored proper miR-34c levels in their sperm.

These observations certainly open new and intriguing avenues for research. Many new studies indicate that most cells can release exosomes, which may be an alternative communication method. Current knowledge about A-Exos emphasizes their role in communication between astrocytes and other central nervous system cells and in signaling with cells located in distant organs.

*Aleksandra Leśniewska, Marta Olszewska*

### **CARRIERS OF ADDITIONAL Y CHROMOSOME – CLINICAL FEATURES AND REPRODUCTIVE ASPECTS**

Institute of Human Genetic, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland  
e-mail: aleksandra.lesniewska.igcz@poznan.pl  
e-mail: marta.olszewska@igcz.poznan.pl

The aim of this study was to analyze the clinical, hormonal, and reproductive characteristics of men carrying the additional Y chromosome, with particular focus on differences between non-mosaic 47,XXY karyotype and mosaic variants. Based on data from 120 cases evaluated

acc. to reproductive issues and found in PubMed database (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>), significant differences were identified between the two groups regarding semen parameters, fertility outcomes, and hormonal profiles.

Men with a non-mosaic 47,XYY karyotype more frequently exhibited abnormal semen parameters (azoospermia: 24%, oligozoospermia: 64 %), when compared to those with mosaic karyotypes (azoospermia: 37%, oligozoospermia: 27%) and also higher rates of sperm aneuploidy (5,01%, vs. 1,66% in mosaic group). Fertility in both karyotype groups were significantly impaired, preserving success rate at middle level, including both: natural fertilization way (29% vs. 28%, 47,XYY vs. mosaic) as well as with assisted reproductive technology, ART (44% vs. 57%, 47,XYY vs. mosaic. Hormonal analysis revealed low testosterone (T) levels in many individuals, frequently accompanied by elevated luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH), indicating primary testicular failure (hypergonadotropic hypogonadism). In several cases, increased prolactin (P) levels were also observed, potentially contributing to disruption of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. While the majority of 47,XYY males exhibited a typical male phenotype, some presented subtle somatic differences, including tall stature, elongated facial features, and mild facial dysmorphism. Behavioural disorders, learning difficulties, and coexisting neuropsychiatric conditions were also reported in a subset of cases. In addition to these findings, clinical observations among both: 47,XYY and mosaic carriers, included bilateral varicocele, obesity, reduced libido, pituitary microadenoma, gynecomastia, and obstructive sleep apnea. Notably, rare coexisting conditions such as Leopard Syndrome ([Writzl et al.: Am J Med Genet A. 2007, 143A\(21\), 2612–261](#)) and the Morning Glory Syndrome ([Chew and Visvaraja: J AAPOS. 2009, 13\(4\), 406–407](#)) were reported in some mosaic karyotype cases.

These findings highlight the importance of comprehensive andrologic and endocrinologic assessment in men with additional Y chromosome karyotype, particularly in those presenting with infertility, as well as the need to differentiate between mosaic and non-mosaic forms.

Funding: National Science Centre, Poland 2020/38/E/NZ2/00134 (MO)

Agnieszka Malcher<sup>1</sup>, Hermann Bauer<sup>2</sup>, Andrea Berman<sup>3</sup>, Tomasz Stokowy<sup>4</sup>, Zuzanna Graczyk<sup>1</sup>, Patyk Alicja<sup>1</sup>, Mikołaj Smolibowski<sup>1</sup>, Rim Ibrahim<sup>1</sup>, Piotr Jedrzejczak<sup>5,6</sup>, Anna Berger<sup>5</sup>, Katarzyna Bednarek-Rajewska<sup>7</sup>, Alexander N Yatsenko<sup>8</sup>, Maciej Kurpisz<sup>1</sup>

## GENETICS – FROM DIAGNOSIS TO THERAPY

<sup>1</sup>Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland; <sup>2</sup>Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin,

Germany; <sup>3</sup>Department of Biological Sciences, Dietrich School of Arts and Sciences, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA; <sup>4</sup>IT Division, University of Bergen, Bergen, Norway; <sup>5</sup>Center of Obstetrics, Gynecology and Infertility Treatment Pastelova Clinic, Poznan, Poland; <sup>6</sup>Chair and Department of Cell Biology, Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland; <sup>7</sup>Department of Clinical Pathology, Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland; <sup>8</sup>Department of OB/GYN and Reproductive Sciences, School of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA  
e-mail: agnieszka.malcher@igcz.poznan.pl

Non-obstructive azoospermia (NOA) is the most severe type of male infertility, characterized by the absence of sperm in the ejaculate due to impaired spermatogenesis at various stages of germ cell development. Recent advances in next-generation sequencing (NGS) have led to the identification of an increasing number of novel candidate genes associated with non-obstructive azoospermia. Various genomic approaches, including whole-exome sequencing (WES) and whole-genome sequencing (WGS), have been applied to uncover the genetic basis of the NOA phenotype.

In our study, we employed WGS to identify potential causative variants in 39 patients diagnosed with NOA, including six individuals in whom WES had not previously revealed any pathogenic mutations. WGS was performed using the Illumina HiSeq X platform. Variant annotation was carried out using the Ensembl Variant Effect Predictor, incorporating data from gnomAD, ClinVar, phyloP conservation scores, and in silico pathogenicity prediction tools (e.g., MutationTaster). Structural modeling of selected proteins was also performed to assess the potential functional impact of the identified variants.

Our analysis revealed several potentially pathogenic single nucleotide variants (SNVs) in genes such as *TKTL1* (transketolase-like 1) and *ESX1* (ESX homeobox 1), which may be involved in the etiology of the NOA phenotype. These findings, together with recent advancements in genome-editing technologies such as CRISPR—which enables precise correction of genetic defects including deletions, insertions, and point mutations—open up promising avenues for functional studies and potential therapeutic applications.

NGS not only facilitates the identification of previously undiagnosed genetic causes of NOA but also, when integrated with CRISPR-based tools, significantly enhances our understanding of its genomic etiology. Given the current limitations in genetic diagnosis for NOA, there is a pressing need to develop a dedicated diagnostic algorithm capable of detecting causative variants in affected individuals. Such a tool would be of great value to andrologists and urologists, supporting more informed clinical decision-making in the treatment of male infertility.

Funding: This work was supported by the National Science Centre in Poland, Grant 2017/26/D/NZ5/00789 (AM) and 2020/37/B/NZ5/00549 (MK).

Marek Mędras

### **TRANSGENDERISM, DISORDERS OF SEX DEVELOPMENT, AND TESTOSTERONE LEVELS REMAIN UNRESOLVED ISSUES IN COMPETITIVE SPORTS**

Emeritus professor of Wrocław Medical University and Wrocław University of Health and Sport Sciences  
e-mail: m.medras@gmail.com

For nearly 100 years, the problem of determining gender has existed among female athletes in competitive sports. In line with scientific advancements, various gender “markers” have been used, but to no avail. The emergence of transgender women and women with disorders of sex development in sports has caused particular problems. The introduction of testosterone concentration as a criterion in the sex determination process also failed to resolve the problem. The proposed treatment (pharmacological or surgical) has not equalized the exercise capacity of these women compared to cisgender women. It appears that there are rational, scientific grounds for excluding transgender women and some with disorders of sex development from competitive sports.

Marta Olszewska

### **CYTOGENOMICS AND EPIGENOMICS OF MALE INFERTILITY**

Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznań, Poland  
e-mail: marta.olszewska@igcz.poznan.pl

It is estimated that infertility currently concerns about 15% of couples of reproductive age ([World Health Organization.WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 6th ed.;WHO Press: Geneva, Switzerland, 2021](#)). This problem affects approximately 7% of men and 12% of women worldwide. Male factors are responsible for 20–30% of all cases of infertility. There are many causes of male infertility, including: genetic factors, chromosomal aberrations, epigenetic mutations, hormonal disorders, infections, or abnormalities of the reproductive system. Genetic factors are responsible for ~10–15% of all cases of male infertility. It is estimated that nearly 2,000 genes are involved in the process of spermatogenesis, with about 950 causative variants in only about 250 genes precisely defining the observed infertile phenotype. An important aspect in male infertility are chromosomal aberrations, the frequency of which in infertile men reaches values several times higher compared to the general population (on average: 3.5%, up to 20% in azoospermia). However, still in about 25% of cases the etiology of infertility remains idiopathic. Studies in recent years show that in this group with unknown background the more and more data is emerging, indicating changes in the

epigenome both: in the course of spermatogenesis as well as in the sperm cell itself, in each of the aspects: DNA strands, post-translational modifications of histones, or the presence of non-coding RNA. In this presentation the review of common findings concerning the role of chromosomal and epigenomic aspects of male infertility will be summarized.

Funding: National Science Centre in Poland 2020/38/E/NZ2/00134

Laura Pardyak<sup>1</sup>, Ewa Liszewska<sup>2</sup>, Sylwia Judycka<sup>2</sup>, Sylwia Machcińska-Zielinska<sup>2</sup>, Halina Karol<sup>2</sup>, Mariola A. Dietrich<sup>2</sup>, Ewa Gojlo<sup>3</sup>, Zbigniew Arent<sup>1</sup>, Barbara Bilinska<sup>4</sup>, Klaudia Dubniewicz<sup>1</sup>, Giusy Rusco<sup>5</sup>, Nicolaia Iaffaldano<sup>5</sup>, Andrzej Ciereszko<sup>2</sup>, Mariola Slowinska<sup>2</sup>

### **UNRAVELLING THE MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS OF CRYODAMAGE IN TURKEY (*MELEAGRIS GALLOPAVO*) SEMEN: INSIGHTS FROM PROTEOMIC ANALYSIS**

<sup>1</sup>Department of Infectious Diseases and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agriculture in Krakow, Poland; <sup>2</sup>Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences in Olsztyn, Poland; <sup>3</sup>Department of Plant Physiology, Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland; <sup>4</sup>Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University in Krakow, Poland; <sup>5</sup>Department of Agricultural, Environmental and Food Sciences, University of Molise, Italy  
e-mail: laura.pardyak@urk.edu.pl

It is well established that among avian species, turkey (*Meleagris gallopavo*) spermatozoa are highly susceptible to the freezing/thawing process, and cryopreserved turkey semen is characterized by low fertilizing ability ([Long et al.: Poult Sci. 2006, 85, 232–236](#); [Iaffaldano et al.: Theriogenology. 2011, 76, 794–801](#)) However, the molecular mechanisms at the protein level responsible for the decline in cryopreserved semen quality remain largely unknown. Therefore, we employed two-dimensional difference in-gel electrophoresis (2D-DIGE) coupled with matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS) to investigate proteomic alterations induced by freezing/thawing processes, both in turkey spermatozoa and extracellular fluid (ECF)

A total of 146 differentially expressed proteins (DEPs) were identified between fresh and frozen/thawed spermatozoa, and 27 DEPs were found between fresh and cryopreserved ECF. Immunofluorescence staining revealed reduced signals of mitochondrial proteins, such as aconitate hydratase, alpha-enolase, glycerol-3-phosphate dehydrogenase, and triosephosphate isomerase in the sperm midpiece, as well as decreased acrosin signal in the acrosome region. These findings suggest that the freezing/thawing process may lead to disruptions in

mitochondrial energy metabolism, particularly in the tricarboxylic acid (TCA) cycle and oxidative phosphorylation. The maintenance of an adequate acetyl-CoA pool to sustain TCA cycle activity in cryopreserved sperm may be impaired due to disturbances in fatty acid  $\beta$ -oxidation and/or aerobic glycolysis, the latter being especially sensitive to cryopreservation. Changes observed in ECF primarily reflect the leakage of glycolytic enzymes from spermatozoa. Furthermore, cryopreservation affects the structure of midpiece, mainly disrupting the architecture of the axoneme and outer dense fibers. The initial step of fertilization may also be compromised due to alterations in proteins involved in sperm-egg binding.

Collectively, our results enhance the understanding of molecular and cellular mechanisms underlying cryo-damage in turkey semen. We found that the abundance of expression of certain proteoforms either increased or decreased after cryopreservation, suggesting their potential utility as biomarkers of cryoinjury. This knowledge provides a foundation for the optimization of semen preservation techniques aimed at minimizing sperm damage and significantly improving the fertilizing capacity of frozen-thawed semen.

**Funding:** This work was supported by funds appropriated to the Institute of Animal Reproduction and Food Research [10/FBW/2022] to A.C.

*Michał Rabijewski*

## **TESTOSTERONE AND PROSTATE – STATE OF THE ART**

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

Testosterone (T) is important for epithelial cell differentiation in the normal prostate, and its effects are mediated by the androgen receptor (AR). In prostate T is converted into 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone (DHT), which stimulates the proliferation of prostate cells, which could theoretically contribute to prostate hyperplasia and the development of prostate cancer as well as may lead to an increase in prostate-specific antigen (PSA) production. So, there have been concerns regarding testosterone replacement therapy (TRT) and prostate safety because of the important role of T in prostate cells while there is a lot of data indicating that supporting that TRT may not have an adverse effect on the prostate and may even have a positive effect. Since T have been approved for the treatment of men with hypogonadism, so it has been used for many years and we have extensive experience in its use and we also have knowledge about potential side effects, including on the prostate. The decision to start TRT, regardless of the indications for its use, must always be made after assessing the potential benefits and risks. The principles of T use and monitoring of adverse

symptoms are included in precise international recommendations, including The Endocrine Society (Bhasin et al.: *J Clin Endocrinol Metab.* 2018, 103(5), 1715–1744) and the European Association of Urology (Salonia et al.: *Eur Urol.* 2021, 80(3), 333–357). Our concern is particularly the impact on the risk of prostate cancer and cardiovascular disease. Because most men using TRT are middle-aged or older, the potential impact on prostate cancer risk, benign prostate hyperplasia and lower urinary tract symptoms is even more important.

The current recommendations regarding the safety of TRT were published several years ago and are not always based on high-quality clinical trials. But recently 3 large clinical trials have been published—The Testosterone trials – Ttrials (Cunningham et al.: *J Clin Endocrinol Metab.* 2019, 104(12), 6238–6246), the Testosterone for Diabetes Mellitus (T4DM) trial (Wittert et al.: *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021, 9(1), 32–45), and the Testosterone Replacement therapy for Assessment of long-term Vascular Events and efficacy ResponSE in hypogonadal men (TRAVERSE) trial (Bhasin et al.: *JAMA Netw Open.* 2023, 6(12): e2348692), which due to the largest group of subjects and long duration which, provide more complete knowledge on the effect of TRT of the prostate safety. Among men with hypogonadism, carefully screened to exclude those at high risk of prostate cancer, the incidences of high-grade or any prostate cancer, acute urinary retention, surgical procedure for benign prostatic hyperplasia, prostate biopsy, or new pharmacologic therapy for lower urinary tract symptoms were low and did not differ between TRT and placebo groups. T did not worsen lower urinary tract symptoms. TRT was associated with a greater increase in prostate-specific antigen than placebo in the first year of treatment. So based on the results of these studies we can conclude that TRT of men with hypogonadism, screened to exclude those at high risk of prostate cancer, is associated with low risk of adverse prostate events. Baseline evaluation of prostate cancer risk and a standardized monitoring plan can minimize the risk of unnecessary prostate biopsy while enabling the detection of high-grade prostate cancers in men receiving TRT. The conclusions from the presented studies were included in the current EAU recommendations regarding the treatment of patients with hypogonadism (Salonia et al.: *EAU Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health: 2025*).

*Weronika Ratajczak-Zacharko<sup>1</sup>, Maria Laszczyńska<sup>2</sup>, Olimpia Sipak<sup>3</sup>, Anna Lubkowska<sup>1</sup>*

## **GUT-MICROBIOTA-PROSTATE AXIS, WHAT'S NEW IN RESEARCH?**

<sup>1</sup>Department of Functional Diagnostics and Physical Medicine, Faculty of Health Sciences, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland; <sup>2</sup>Department of Nursing, Institute of Nursing and Emergency Medicine, State Academy of Applied Sciences, Koszalin, Poland;

<sup>3</sup>Department of Obstetrics and Pathology of Pregnancy, Faculty of Health Sciences, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland  
e-mail: weronika.ratajczak@pum.edu.pl

The term ‘gut microbiota’ refers to the collection of more than  $10^{14}$  bacteria, archaeons and eukaryotes that colonize the gastrointestinal tract and interact symbiotically with the host. The microbiota has been demonstrated to facilitate a number of physiological functions, including the strengthening of the intestinal epithelium, protection against pathogens and the modulation of the immune response. However, when the composition and function of the microbiota are adversely altered (i.e. dysbiosis), physiological mechanisms can be disrupted, as evidenced in chronic gastrointestinal diseases, metabolic diseases, cardiovascular and nervous system diseases, among others (Thursby and Juge: *Biochem J.* 2017, 474(11), 1823–1836). In recent years, there has been a notable increase in the number of studies focusing on the relationship between the state of the gut microbiota and its connection to the genitourinary system, including prostate diseases.

The exact mechanism of how the gut microbiota affects the prostate has not been fully elucidated to date, but there are several concepts for the development of the gut-prostate axis (gut-prostate axis). One is the effect on inflammation that is initiated in the gut. Inflammatory cells and factors, including pro-inflammatory cytokines (IL-17, IL-23, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), can migrate with the circulation from the intestinal environment to the prostate gland and there induce “local” inflammation and stimulate growth factors, which can consequently lead to the development of prostate diseases - benign prostatic hyperplasia (BPH). BPH, benign prostatic hyperplasia) and cancer (PCa, prostate cancer) (Ferrari et al.: *Foods.* 2024, 13, 3647). Recent studies have also linked changes in the gut microbiota to the degree of aggressiveness of prostate cancer, which is potentially done by the microbiota to sustain androgen production (Fujita et al.: *Cancers (Basel)*, 2023, 15(5), 1375).

Conversely, certain gut microbiota and their metabolites have been shown to offer protection against the initiation of pathophysiological processes in the prostate. This protection is thought to be achieved by modulating immune and hormonal pathways that affect therapeutic response, including androgen deprivation therapy (ADT). However, it is important to note that anti-cancer therapies, including androgen deprivation therapy (ADT), have the capacity to modify the composition of the gut microbiota, thereby potentially impacting treatment outcomes (Laaraj et al.: *Trends Mol Med.* 2025, 31(9), 778–800).

In recent years, an increasing number of studies have shifted their focus from the composition of the gut microbiota to its function, that is to say, its capacity to produce metabolites that are characteristic of specific bacterial strains. Gut-derived metabolites produced by the microbiota, such as butyrate and androgens, have been demonstrated to significantly affect the development of

PCa (Molina et al.: *Front. Immunol.* 2024, 15, 1372837). Moreover, the presence of dysbiosis, in conjunction with a high-fat diet (HFD), has been demonstrated to induce an increase in inflammation and promote tumour growth (Liu et al.: *Front. Oncol.* 2021, 11, 679712). Conversely, the supplementation of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) has demonstrated efficacy in modulating the interactions between the gut microbiota. It is hypothesised that the development of PC may contribute to improved outcomes, including the potential for lowering its stage (Amaro et al.: *Prostate.* 2022, 1491–1504).

Despite the significant development of research on the influence of gut bacteria in contributing to the development of the gut-prostate axis, the exact mechanisms of its action have yet to be established. Many studies emphasise that future studies should prioritise searching for microbiome-based biomarkers and related intervention strategies. The identification of these markers, has enabled the development of sophisticated tools that facilitate the prediction of the development, progression and response to treatment of both benign prostatic hyperplasia and prostate cancer.

Jolanta Słowikowska-Hilczner

## **HORMONE THERAPY IN PEOPLE WITH GENDER INCONGRUENCE**

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

The aim of gender-affirming care is to provide safe and effective methods by which transgender and gender-diverse (TGD) individuals can feel comfortable living in alignment with their gender identity. Gender-affirming care not only alters the physical characteristics of the body, but also improves mental health. It has been shown that gender-affirming hormone therapy (GAHT) reduces general psychopathological symptoms, depressive symptoms, and subjective gender dysphoria (Fisher et al.: *J Clin Endocrinol Metab.* 2016, 101(11), 4260–4069).

The goal of GAHT is to achieve blood levels of estradiol and testosterone within the reference (i.e., physiological) range appropriate for a person’s gender identity. Achieving supraphysiological levels is not recommended, as it may lead to adverse effects (Coleman et al.: *Int J Transgender Health.* 2022, S1, 1–259). Conversely, subphysiological levels may negatively affect well-being and the maintenance of gender-congruent physical traits. After approximately two years of properly conducted GAHT, full features of androgenization or estrogenization are typically achieved (Fisher et al.: *J Endo Invest.* 2022, 45, 657–667).

Although previous studies have confirmed the safety of GAHT (Safer and Tangpricha: *Ann Intern Med.* 2019, 171(1), 1–16), medical supervision during therapy

remains necessary, as GAHT may carry potential long-term risks of adverse effects. When conducted under the supervision of physicians (endocrinologists, andrologists, gynecologists), GAHT is considered safe and effective, but it requires regular monitoring. Currently, lifelong continuation of GAHT is recommended, although this differs from the situation in cisgender individuals, in whom menopause occurs or testosterone levels naturally decline with age (Rothman and Iwamoto: [in]: *A Case-Based Guide to Clinical Endocrinology*. Davies TF (ed), Springer, 2022, 513–523).

*Gerhard van der Horst*

### **SPERM COMPETITION IS THE RULE IN THE ANIMAL KINGDOM: WHAT ABOUT HUMAN SPERM?**

Comparative Spermatology Laboratory, Department of Medical Bioscience, University of the Western Cape, Bellville, Republic of South Africa  
e-mail: Gvdhorst7@gmail.com

Sperm competition is defined as a form of sexual selection that occurs when sperm in ejaculates from multiple males compete for the fertilization of an individual female's ova and this often takes place during the same ovulatory cycle. In most species ranging from insects to mammals, the female organisms are known to mate with multiple males. Accordingly, sperm competition is considered to be a powerful evolutionary force where the best offspring seem to be selected for via natural selection and also provides the basis for a large amount of genetic diversity. It can be assumed that among the competing males the one with the highest sperm quality such as sperm concentration, percentage sperm motility, percentage rapid sperm, percentage normal sperm, sperm functionality (ability to hyperactivate) to name a few will theoretically have the best chance to fertilize the oocytes. Many studies on a large number of species indeed support this hypothesis.

In contrast what happens in the absence of sperm competition? In this scenario one female selects one male for her entire reproductive life. It is rare and is a reflection of true monogamy. The most extreme situation of monogamy is the naked rodent mole living in colonies from 25 to 75 individuals and there is only one reproductive female (The queen) that suppresses reproduction in all the females and males in the colony except the male she selected (like in insects). What is the sperm quality in this situation? Our laboratory studied this in great depth and we found that all sperm parameters were of a very poor quality. Particularly, the average percentage sperm motility recorded was about 15% and normal sperm morphology was only about 5% and most sperm showed severe levels of fragmentation. Despite this 14 to 24 pups were born during each reproductive cycle of about

80 days. We have referred to this as a case of degenerative orthogenesis. Essentially, in this context it means that sperm formation and sperm quality declines to a level just sufficient to be able to fertilize the oocytes in the absence of sperm competition.

So what is the situation among humans? Humans may not be strictly classified as monogamous but genetic studies confirmed that humans certainly lived in pairs as long back as 25 000 years. In our current global situation (8.2 billion people globally) there are at least 3 billion adults between the ages of 15 to 65. Despite all the permutations of sexual orientations most of these humans live as (reproductive) pairs and in family groups. It is accordingly conceivable that in the distant past and currently humans are predominantly monogamous. If this is accepted, then it should also be expected that human sperm quality may be inferior when compared to species showing high levels of sperm competition. Our studies on many domestic and wildlife species indeed indicate sperm concentration ranging from 500 million/ml to 3.5 billion/ml, sperm motility typically above 80% and normal sperm morphology ranging from about 65 to 90%.

Humans show poor sperm traits more aligned to that found in monogamous species such as the naked rodent mole but also gorillas, some bird species and other taxa where there is a lack of sperm competition. This seems to be an evolutionary adaptation to adjust the quality of sperm for what is required for fertilization and energy conservation. Finally, what is the implication in the so called decline in human fertility as propagated in scientific papers and the common press? It seems to be exaggerated and will be shown during my presentation.

*Julia Wajda<sup>1,2</sup>, Alicja Kamińska<sup>2</sup>, Anna Hejmej<sup>2</sup>*

### **THE ROLE OF ANDROGEN SIGNALING IN THE REGULATION OF PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTORS (PPAR) EXPRESSION IN RODENT SERTOLI CELLS IN VITRO**

<sup>1</sup>Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Jagiellonian University, Kraków, Poland; <sup>2</sup>Department of Endocrinology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University, Gronostajowa 9, 30-387 Kraków, Poland  
e-mail: julia.wajda@uj.edu.pl

One of the key functions of Sertoli cells critical for male fertility is the maintenance of energy homeostasis within the seminiferous epithelium. Sertoli cells convert the majority of glucose into lactate, which serves as an energy substrate essential for the development of germ cells, while mature Sertoli cells preferentially utilize lipids as their primary energy source (Sousa et al.: *Int J Mol Sci*. 2022, 11, 23(6), 3046). It is known that testosterone plays an important role in the regulation of Sertoli cell metabolism, and its deficiency impairs glucose processing and leads to glycogen accumulation (Rato et al. *Int*

*J Biochem Cell Biol.* 2015, 66, 1–10). However, the molecular mechanisms involved in the androgen-dependent control of these processes remain unclear. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) play a significant role in the regulation of lipid and glucose metabolism in cells of various tissues (Hong et al.: *Molecules.* 2019, 24(14), 2545). PPARs belong to the nuclear receptor superfamily and function as transcription factors activated by free fatty acids and their derivatives, such as eicosanoids (Berger and Moller.: *Annu Rev Med.* 2002, 53, 409–435). In rodent Sertoli cells, the expression of all three PPAR isoforms has been demonstrated: *Ppara*/PPAR $\alpha$ , *Pparb*/PPAR $\beta$ , and *Pparg*/PPAR $\gamma$  (Thomas et al.: *Front Biosci.* 2011, 3, 1209–1220; Kimura et al.: *Physiol Rev* 2020, 100(1), 171–210), and their role in the regulation of lipid metabolism, glucose transport, and lactate production has been confirmed (Boussouar et al.: *Trends Endocrinol Metab.* 2004, 15, 345–350, Regueira et al.: *Mol Cell Endocrinol.* 2014, 382, 271–281, Gorga et al.: *Cell Tissue Res.* 2017, 369, 611–624). To date, the existence and significance of interactions between androgen signaling and PPARs in Sertoli cells have not been explained. The aim of the present study was to demonstrate the involvement of testosterone and the androgen receptor (AR) in the control of PPARs expression in Sertoli cells under *in vitro* conditions. The experiments were carried out using the murine Sertoli cell line TM4, in which AR expression was silenced with specific siRNA. RT-qPCR, western blot, and immunofluorescence were used for the analysis of mRNA and protein expression, respectively. The obtained results suggest the involvement of androgen signaling in the control of PPARs mRNA and/or protein expression in rodent Sertoli cells; however, the effect of testosterone on *Pparg* expression appears to be AR-independent. These findings indicate the need for further investigation of the relationship between androgen signaling and PPARs function in the regulation of Sertoli cell metabolism, which will expand our knowledge of the molecular mechanisms controlling spermatogenesis.

Funding: This study was funded by the National Science Centre, grant Preludium 21, project ID: 2022/45/N/NZ3/02882. (J.W.)

Artur Wdowiak

### WHAT'S NEW IN ART?

Department of Obstetrics and Gynecology Faculty of Health Sciences, Medical University of Lublin, Poland; Fertility Clinic OVUM, Lublin, Poland  
e-mail: wdowiakartur@gmail.com

Problems with conceiving affect nearly one in five couples of reproductive age. For a significant number of them, assisted reproductive technology (ART) is the only way to achieve pregnancy. ART encompasses a range of methods that bypass or alter one or more stages of

natural reproduction. The most commonly used assisted reproductive methods include in vitro fertilization (IVF) and intrauterine insemination (IUI). These methods have been known for decades but are constantly being refined thanks to the use of new technologies.

Significant progress is particularly visible in the case of IVF. Newly introduced ART methods include: piezo-intracytoplasmic sperm injection (piezo-ICSI), deep-learning algorithm in sperm selection, the implications of the presence cytoplasmic strings (Cyt-S), digitally controlled, remotely operated ICSI system, artificial oocyte and sperm activation (Itoi F et al.: *Zygote.* 2022, 30(1), 9–16; Mendizabal-Ruiz et al.: *Reprod Biomed Online.* 2022, 45(4), 703–711; Targosz et al.: *Biomed Eng Online.* 2023, 22(1), 92; Marconetto et al.: *Hum Reprod.* 2024, 39(11), 2453–2465; Leung et al.: *Hum Reprod Open.* 2025, 2025(3): hoaf024; Mendizabal-Ruiz et al.: *Reprod Biomed Online.* 2025, 50(5), 104943). These methods are based on advances in artificial intelligence and robotics.

Currently, new ART improvements are still in the experimental stage and require further testing on a larger number of cases. Research in this area indicates that reproductive medicine is currently moving toward implementing artificial intelligence and new technologies to increase reproductive success and also reduce the operating costs of ART laboratories.

Jan Karol Wolski<sup>1,2</sup>, Magdalena Zagrodzka<sup>2</sup>

### MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN ANDROLOGICAL DIAGNOSTICS

<sup>1</sup>Fertility Clinic nOvum, Warsaw, Poland; <sup>2</sup>QUADIA Diagnostic Centre, Piaseczno, Poland  
e-mail: jkwolski@op.pl

According to the guidelines of the European Association of Urology (EAU), the diagnosis of an infertile man should include imaging of the gonads and pelvis (Salonia et al.: *EAU Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health:* 2025). This test is obligatory because a significant correlation between fertility and gonadal cancers has been proven. A similar opinion is presented by the European Academy of Andrology, the American Urological Association and the American Society of Reproductive Medicine.

The gold diagnostic standard for the male reproductive system is ultrasound, because the ultrasound wave does not damage generative cells (Lotti et al.: *Eur Radiol.* 2025, 35(2):752–766). Scrotal ultrasound may assess features associated with testicular damage, suggestive of nonobstructive azoospermia (NOA) or abnormalities at the level of the epididymis and/or vas deferens, suggestive of obstructive azoospermia (OA). In addition, it may show features suggestive of inflammation and cancerous changes in the testicles or epididymis. In imaging pelvic structures and inguinal canals, ultrasound has

its technical limitations. In the past, radiological tests were performed (e.g. classic vasography X-ray), but due to proven damage to generative cells by penetrating radiation, what has been observed in cancer patients treated with radiotherapy (Słowikowska-Hilczar and Wolski: [in] *Oncofertility w praktyce klinicznej*. Jach R i Słabuszewska-Józwiak A (eds.), Wydawnictwo Echokompendium, 2023, 39–57), these methods are currently not applicable. In connection with the introduction of diagnostics based on a static electromagnetic field – magnetic resonance imaging (MRI) – into medicine – its effect on generative cells has been checked. MRI has been found to have no harmful effects on the male reproductive system (Zhang et al.: *Curr Issues Mol Biol.* 2025, 47(2), 116).

The consensus was stated that ultrasound is still the gold standard in imaging the male reproductive system, but there are clear indications for a wider inclusion of magnetic resonance imaging in andrology. MRI is used in cases of inconclusive ultrasound results, difficulties in initial differentiation of testicular tumors, differentiation of intra- and perigonadal lesions, diagnostics of inguinal canals and pelvis (Lotti et al.: *Eur Radiol.* 2025, 35(2):752–766). Based on the recommendations of ESUR-SPIWG, the QUADIA Diagnostic Centre performed a pioneering procedure of combining high-resolution multiplanar magnetic resonance imaging with functional assessment of vas deferens patency (classical vasography) in a patient with obstructive azoospermia before qualification for reconstructive surgery (Rzymkowski i wsp.: *Cent European J Urol.* 2024, 77(3), 566–569).

Jan Karol Wolski<sup>1</sup>, Grzegorz Kapuściński<sup>1</sup>,  
Katarzyna Koziol<sup>1</sup>, Dariusz Starczewski<sup>1</sup>, Bogdan Biarda<sup>1</sup>,  
Marcin Kołacz<sup>1</sup>, Karina Gawron<sup>1</sup>, Karolina Korczyńska<sup>1</sup>,  
Adriana Strzałkowska<sup>1</sup>, Bartosz Sierakowski<sup>1</sup>,  
Mateusz Wideński<sup>1</sup>, Jacek Judycki<sup>1</sup>, Joanna Ostrowska<sup>2</sup>,  
Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska<sup>3</sup>, Jan Lewandowski<sup>1</sup>,  
Piotr Lewandowski<sup>1</sup>

#### **CHANCE OF SPERM COLLECTION IN TESA AND M-TESE TESTICULAR BIOPSY IN MEN WITH AZOOSPERMIA AFTER ONCOLOGICAL TREATMENT**

<sup>1</sup>Fertility Clinic nOvum, Warsaw, Poland; <sup>2</sup>Center for Pathomorphological Diagnostics, Warsaw, Poland; <sup>3</sup>MEGDEN, Medical Center, Warsaw, Poland  
e-mail: jkwolski@op.pl

Cancer and surgical therapies, chemotherapy or radiotherapy significantly damage spermatogenesis, including azoospermia. Improved effectiveness of oncological treatment allows patients to be included in therapy involving assisted reproductive techniques like in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Consequently, the number of patients undergoing such

treatment with a history of cancer and azoospermia is increasing. Since many of them did not have fertility protected before cancer therapy, there is a chance in the surgical process of obtaining sperm from the gonads. The effectiveness of testicular biopsies: core needle percutaneous TESA (testicular sperm aspiration) and microdissection testicular sperm extraction (m-TESE) operating microscopy was analyzed.

Between 2018 and 2025, a total of 934 testicular biopsies were performed (TESA in 438 patients and m-TESE in 411 patients), including 54 biopsies (5.78%) conducted in a heterogeneous group of men after oncological treatment. In this group, TESA was performed in 16 out of 438 patients (3.37% of all TESA procedures), while m-TESE was performed in 38 out of 411 patients (8.28% of all m-TESE procedures). The age range of the men was 17–75 years. The following cancers were diagnosed: Hodgkin's lymphoma (n = 6), lymphoma (n = 5), Hodgkin lymphoma (n = 2), Non Hodgkin lymphoma (n = 2), anaplastic lymphoma (n = 2), acute myeloid leukemia (n = 1), chronic myeloid leukemia (n = 1), neuroblastoma (n = 1), mesenchymoma malignum (n = 2), rhabdomyosarcoma (RMS) (n = 1), osteosarcoma of the lower extremity (n = 2), seminoma (n = 11), non-seminoma (n = 4), chorioncarcinoma testis (n = 1), germ cell neoplasia in situ (GCNIS) (n = 4), extragonadal germline tumor (n = 2), hypothalamic astrocytoma (n = 2), ventricular astrocytoma (n = 2), ependymoma (n = 1), liposarcoma (n = 1), prostate cancer (n = 1). Qualification for testicular biopsy in cases of azoospermia was carried out according to the guidelines of the European Association of Urology (EAU). The TESA procedure protocol: outpatient procedure, short intravenous anesthesia (procedure time 15–30 minutes), percutaneous gonadal puncture with a Menghini biopsy needle. The m-TESE procedure protocol: one-day surgery, general anesthesia, laryngeal mask (60–90 minutes), surgical collection of promising tubular areas, Leica M8602×2 microscope, 25× magnification. Infection prevention: cephalosporin 1-dose (in case of TESA), 5 days (in case of m-TESE). The specimens were fixed in Bouin's solution for histopathological examination and secured in liquid nitrogen (-196°C) for future in vitro fertilization procedures.

Both biopsies TESA/m-TESE were well tolerated. Complications of Clavien-Dindo II° occurred in one patient after the TESA procedure – sheath hematoma, conservative management was applied. Spermatozoa were found in 19/54 (35,19%) patients. The effectiveness of the TESE method was 6/16 (37,5%). Spermatozoa were collected from patients diagnosed with the following cancers: seminoma (n = 1), nonseminoma (n = 1), chorioncarcinoma testis (n = 1), chronic myeloid leukemia (n = 1), ependymoma (n = 1), prostate cancer (n = 1). The effectiveness of the m-TESE method was 13/38 (34,21%). Spermatozoa were collected from patients diagnosed with the following cancers: seminoma (n = 3), GCNIS (n = 3), nonseminoma (n = 2), Hodgkin lymphoma (n = 1),

anaplastic lymphoma (n = 1), Non Hodgkin Lymphoma (n = 1), Hodgkin's lymphoma (n = 1), liposarcoma (n = 1).

Testicular biopsy procedures TESA/m-TESE are helpful in obtaining sperm in 1/3 of patients with azoospermia after oncological treatment. Finally, thanks to the IVF-ICSI protocol, patients have a chance to become fathers.

Marta Zarzycka<sup>1</sup>, Małgorzata Kotula-Balak<sup>2</sup>, Dorota Gil<sup>1</sup>

### **MOLECULAR MECHANISMS OF ANDROGENE-DEPENDENT REGULATION OF BLADDER CANCER**

<sup>1</sup>Chair of Medical Biochemistry, Medical College, Jagiellonian University, Krakow, Poland; <sup>2</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agriculture in Krakow, Poland  
marta.zarzycka@uj.edu.pl

Men are at a higher risk of developing bladder cancer than women. Although the urinary bladder is not regarded as a sex organ, it has the potential to respond to androgen signals. The mechanisms responsible for the gender differences remain unexplained (Dobruch et al.: *Eur Urol.* 2016, 69, 300–310). The aim of present study was to explain whether the progression of bladder cancer in men is dependent on androgen/ androgen receptor (AR) signaling.

Studies were carried out on human bladder cancer cell lines: HCV29, T24, HT1376 and HTB9. Bladder cancer cells were treated for 48 h with DHT (dihydrotestosterone) or not. Expression of cell signaling proteins, was analyzed using Western Blot and RT-PCR. Subcellular localization of protein was studied using the ProteoExtract Subcellular Proteome Extraction Kit or Subcellular Protein Fractionation Kit for Cultured Cells and Western blot analysis.

We showed that DHT treatment significantly increased AR expression in T24 and HCV29 bladder cell line. We also observed DHT-mediated activation of AKT/GSK-3 $\beta$  signaling pathway which plays a central role in cancer progression. Presented results also show that DHT via AR plays an essential role in bladder cancer

progression in male patients, increasing N-cadherin and decreasing of E-cadherin expression which are known as a one of the most important markers of epithelial-mesenchymal transition (EMT). During this process cancer cells undergo a transformation that makes them more mobile and capable of invading surrounding tissues and potentially spreading to distant locations in the body, a process known as metastasis. Our data revealed that N-cadherin expression correlated also with ICAM-1 in bladder cancer cells.

Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) is a highly glycosylated adhesion receptor belonging to the immunoglobulin superfamily (Lawson and Wolf: *Pharmacol Rep.* 2009, 61:22–32; Mruk et al.: *Semin Cell Dev Biol.* 2014, 29:43–54). The enhanced ICAM-1 expression is correlated with disease progression, lower survival rates, and weakened immune response in cancer cells (Usami et al.: *Int J Cancer.* 2013, 1(133), 568–578; Guo et al.: *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014, 14(111), 14710–14715). Thus, in our further study we aimed to elucidate the role of ICAM-1 in EMT. Firstly, we shown that DHT increased ICAM-1 expression in T24 and HCV29 bladder cancer cell lines, what indicate its role in cancer progression. Moreover, silencing of ICAM-1 (siRNA) decreased N-cadherin, SNAIL and TWIST expression, the main regulators of EMT. Moreover, we identified that ICAM-1 can regulate cellular migration and proliferation in bladder cancer cells *via* the N-cadherin/SRC/AKT/GSK-3 $\beta$  / $\beta$ -catenin signaling axis. Therefore, we propose ICAM-1 as a novel metastatic marker for EMT progression, which may also be used as a therapeutic target in bladder cancer. However, this is related to some kind of limitation due to the presence of N-cadherin.

To sum up, our data indicate that AR plays an essential role in bladder cancer progression in male patients. Moreover, ICAM-1, which expression and regulation depends on AR signaling pathway is proposed as a novel metastatic marker for EMT progression.

Founding: This work was supported by the National Science Centre (NCN, Poland, grant no. 2020/04/X/NZ5/00724) and by a grant from This work was supported by a grant from Science & Higher Education (MNiSW) through the Jagiellonian University Medical College N41/DBS/001391.