

Technologie medyczne w diagnostyce męskiej niepłodności

Medical technology in the diagnosis of male infertility

Anita Wdowiak¹, Andrij Bazylewicz²,
M.N. Dolzhenko³, N.N. Nosenko³, Oksana Hdyrya⁴

¹ Pracownia Technik Diagnostycznych, Wydział Pielęgniarstwa i
Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

² Lviv National Medical University n.a. Danylo Halytsky, Ukraina

³ Shupick National Medical Academy of Postgraduate Education,
Ukraina

⁴ Lviv National Medical University n.a. Danylo Halytsky, Ukraina

**European Journal
of Medical Technologies**
2015; 1(6): 7-17

Copyright © 2015 by ISASDMT
All rights reserved
www.medical-technologies.eu
Published online 30.06.2015

Streszczenie

Posiadanie potomstwa jest najważniejszym celem biologicznym człowieka, warunkującym przetrwanie ludzkiego gatunku. Niepłodność dotyczy około 15% par w wieku reprodukcyjnym, a niemal w połowie przypadków przyczyną jest męski czynnik niepłodności. Przyczyny niepłodności męskiej można klasycznie podzielić na czynniki: przedjądrowe, jądrowe oraz pozajądrowe. Do przyczyn przedjądrowych należą między innymi zaburzenia sekrecji hormonów płciowych, a przyczyny jądrowe to różnego rodzaju nieprawidłowości dotyczące tkanki jądra (wnętrostwo, żylaki powrózka nasiennego, uszkodzenia pozapalne). Przyczyny pozajądrowe niepłodności są uwarunkowane występowaniem nieprawidłowości dotyczących dróg wyprowadzających nasienie. Znajomość czynników warunkujących obniżenie męskiej płodności stanowi klucz do podjęcia odpowiedniego leczenia pary starającej się o uzyskanie potomstwa.

Rozwój nowych metod diagnostycznych w najbliższych latach najprawdopodobniej przyniesie szereg odkryć w kwestii poznania kolejnych przyczyn niepłodności męskiej, co być może stworzy alternatywne sposoby pomocy mężczyźnie z obniżoną płodnością.

Adres do korespondencji:

Anita Wdowiak
Pracownia Technik
Diagnostycznych, Wydział
Pielęgniarstwa i Nauk
o Zdrowiu, Uniwersytet
Medyczny w Lublinie,
ul. Staszica 4/6,
20-081 Lublin

Słowa kluczowe:

niepłodność
męska, przyczyny
niepłodności, jądra

Abstract

Having children is man's most important biological aim that determines the survival of the human species. Infertility affects about 15% of couples in reproductive age, and in almost half of the cases the cause is a male infertility factor. The causes of male infertility can be conventionally divided into the following factors: pre-testicular, testicular and extra-testicular. The pre-testicular reasons include abnormal secretion of sex hormones among others, and the causes are different types of irregularities in the tissue of the testicle (cryptorchidism, varicocele, post-inflammatory damage). The extra-testicular causes of infertility are contingent in the occurrence of irregularities in vasa deferentia. The knowledge of the factors determining the reduction of male fertility is the key to administering the appropriate treatment of the couple trying to get offspring.

In the regard of discovering more reasons of male infertility, the development of new diagnostic methods in the coming years is likely to bring a number of discoveries which may create alternative ways to help men with decreased fertility.

Key words:

male infertility, causes of infertility, testicles

Wstęp

Posiadanie potomstwa jest najważniejszym celem biologicznym człowieka, warunkującym przetrwanie ludzkiego gatunku. Jednak nie wszystkie pary są w stanie bezproblemowo począć dziecko, a duża część z nich będzie potrzebowała pomocy medycznej. Niepłodność dotyczy około 15% par w wieku reprodukcyjnym [1], a Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) definiuje ją jako niezdolność do poczęcia dziecka mimo dwunastu miesięcy regularnego współżycia bez korzystania ze środków antykoncepcyjnych. Prawdopodobieństwo uzyskania ciąży u par poddających się leczeniu wynosi 72% [2,20]. W Polsce niepłodność dotyka około 1,5 mln par. Co najmniej 40% z nich korzysta z pomocy podstawowej opieki zdrowotnej, a około 60% wymaga specjalistycznego postępowania lekarskiego i prowadzenia przez przygotowaną do tego kadrę w ośrodkach stosujących odpowiednio, specjalistyczne metody diagnostyki i leczenia [11]. U 40-60% par mających problem z poczęciem przyczyną jest niepłodność męska, a u około 5% badanych mężczyzn stwierdza się azospermie [22]. W ostatnim czasie pojawiło się szereg informacji na temat znacznego spadku płodności mężczyzn. Badania porównawcze dowodzą, że w ciągu pięćdziesięciolecia średnia liczba plemników w 1 ml nasienia spadła ze 113 mln w 1940 r. do 66 mln

w 1990 r., a średnia objętość nasienia zmniejszyła się z 3,40 ml do 2,75 ml [4]. Przyczyn występowania tego zjawiska upatruje się między innymi w jednostce chorobowej nazwanej zespołem dysgenезji jąder (TDS). Zespół ten obejmuje określenie zbioru zaburzeń często występujących jednocześnie, takich jak niska jakość nasienia, rak jąder oraz spodziewstwo. TDS jest coraz bardziej powszechnym zaburzeniem funkcji jąder, która wywoływana jest najprawdopodobniej przez czynniki środowiskowe. Liczne badania epidemiologiczne, jak również eksperymentalne, wskazują na to, że przyczyną TDS są zaburzenia występujące w trakcie rozwoju embrionalnego gonad w czasie życia płodowego. Oprócz czynników środowiskowych niekorzystnie wpływających na jakość nasienia w ostatnich latach obserwuje się także zmiany zachowań zdrowotnych i stylu życia mężczyzn, które prowadzą do obniżenia płodności. Od 1980 roku można zaobserwować zwiększenie liczby ojców w wieku od 30 do 49 lat, natomiast spadek w grupie wiekowej 25-29 lat, podczas kiedy okres największej płodności u mężczyzn przypada na 25 lat [23]. Wraz z wiekiem następują zmiany w spermatogenezie, sukcesywnie zmniejsza się objętość ejakulatu, ruchliwość oraz odsetek plemników o prawidłowej budowie. Stężenie plemników w ejakulacie nie ulega zmianie, natomiast zwiększa się częstość występowania nieprawidłowości genetycznych [23]. Spadek liczby plemników

w nasieniu współczesnych mężczyzn oraz późne podejmowanie decyzji o prokreacji powoduje zmniejszenie szans reprodukcji, co stanowi duży problem w kwestii zdrowia publicznego i jest prawdopodobnie jedną z przyczyn ujemnego przyrostu naturalnego w wielu krajach Europy [13].

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie obecnego stanu wiedzy na temat przyczyn niepłodności męskiej.

Przyczyny męskiej niepłodności

Płodność mężczyzny zależna jest od ciągłej produkcji nasienia przez nabłonek plemnikotwórczy. Jest to proces kontrolowany przez lokalne występowanie wysokiego stężenia testosteronu, które powstaje przez działanie LH wpływającego na komórki Leydiga i bezpośrednie pobudzanie komórek przez FSH. Następnie plemniki przechodzą proces dojrzewania i osiągają ruchliwość w najądrzu. Podczas ejakulacji nasienie łączy się z wydzielinami dodatkowych gruczołów płciowych, stanowiących 95% ejakulatu. Zaburzenia spermatogenezy na którymkolwiek etapie mogą prowadzić do niepłodności. Niezdolność do zapłodnienia może wynikać z obecności przeszkód mechanicznych w czasie wydostawania się na zewnątrz plemników o prawidłowej budowie oraz z zaburzeń w spermatogenezie i spermiogenezie. Przeszkody mechaniczne mogą być wynikiem zaburzeń rozwojowych, urazów fizycznych, mukowiscydozy, ale także pozostałością stanów zapalnych. Zaburzenia spermatogenezy mogą być spowodowane zmianami dziedzicznymi i rozwojowymi oraz pierwotnym lub wtórnym uszkodzeniem jąder [15].

Przyczyny niepłodności męskiej można klasycznie podzielić na czynniki:

- przedjądrowe;
- jądrowe;
- pozajądrowe.

Przyczyny przedjądrowe niepłodności męskiej

Do przyczyn przedjądrowych należą zaburzenia sekrecji hormonów płciowych. Czynność hormonalna

jądra kontrolowana jest przez gonadotropiny przysadkowe: LH (hormon luteinizujący), poprzez komórki Leydiga (stymuluje produkcję steroidów płciowych) oraz FSH (folikulostymulina wspólnie z testosteronem działa na kanaliki nasienne za pośrednictwem komórek Sertoliego w celu zabezpieczenia i podtrzymania spermatogenezy).

Sekrecję tych dwóch gonadotropin przez przysadkę kontroluje decapeptyd pochodzenia podwzgórzowego GnRH (*gonadotropin releasing hormone*). Peptyd ten wydzielany pulsacyjnie co 15-30 min, syntetyzowany w neuronach, zlokalizowany w podwzgórzku. Zostaje następnie wydzielany poprzez układ wrotny podwzgórzowo-przysadkowy i fiksowany na receptorach błonowych charakterystycznych dla komórek gonadotropinowych do przedniego płata przysadki. Wydzielniczą aktywność GnRH modulują hormony płciowe. Podstawową rolę w kontroli hormonalnej spermatogenezy odgrywa FSH, jednak przyjmuje się również niezależne od FSH działanie androgenów w tym względzie. FSH stymuluje podziały, pobudza różnicowanie się i hamuje apoptozę spermatogonii oraz stymuluje mejozę, natomiast testosteron kontroluje przebieg mejozy, transformację spermatyd, a szczególnie ich elongację w fazie dojrzewania i adhezję spermatyd do komórek Sertoliego [15]. U człowieka wyróżnia się kilka typów komórek Sertoliego, które nie są skorelowane z konkretnymi stadiami cyklu, co przypuszczalnie wiąże się z mozaikowym rozmieszczeniem stadiów cyklu w nabłonku. W pobliżu powierzchni komórek Sertoliego w okolicy obwódki zamykającej wykazano obecność pęcherzyków pinocytarnych, których liczba wzrasta w warunkach stymulacji gonadotropiną łożyskową, której działanie jest podobne do LH. Hormony kontrolują spermatogenezę, pośrednio utrzymując aktywność komórek somatycznych, a w szczególności komórek Sertoliego. Bezpośrednio spermatogeneza kontrolowana jest dzięki czynności lokalnego systemu regulacyjnego. Komórki gametogeniczne nie mają receptorów FSH i androgenów. Komórki Sertoliego, jako jedyne w nabłonku komórki odbiorcze tych hormonów, wytwarzają mechanizm przekazywania sygnałów wymaganych na poszczególnych etapach spermatogenezy. Funkcjonuje on na zasadzie interakcji komórkowej (*cross-talk*). Jest

to mechanizm kompleksowy, w którym uczestniczą połączenia międzykomórkowe. Udowodniono, że procesu spermatogenezy nie można hormonalnie przyspieszyć ani zwolnić, lecz jedynie zahamować. Pod wpływem hormonów można zwiększyć liczbę komórek plemnikotwórczych przeistaczających się w przebiegu spermatogenezy i kończących ten proces, między innymi dzięki zmniejszeniu liczby komórek ulegających apoptozie. Niedobory FSH i LH występują u mężczyzn z hipogonadyzmem hipogonadotropowym, a także leczonych przeciwdepresyjnie, natomiast poziom tym hormonów podwyższa się w przypadku niewydolności jądra pierwotnej (m.in. przyczyny genetyczne) lub wtórnej.

Jedną z uwarunkowanych genetycznie przyczyn niedoborów hormonalnych może być podwzgórzowy niedobór GnRH występujący w zespole Kallmana. Zespół Kallmana należy do najczęstszych zespołów genetycznych związanych z chromosomem X spotykanych w leczeniu niepłodności męskiej. Częstość występowania wynosi 1 na 8000 żywych urodzeń. Przyczyną choroby jest delecja w genie *KAL-X* umiejscowionym na krótkim ramieniu chromosomu X, mutacja genu leptyny, mutacja genu *PC-1* z równoczesną cukrzycą i niedoczynnością kory nadnerczy. Chorych cechuje hipogonadyzm hipogonadotropowy, którego bazą jest brak wydzielania GnRH w podwzgórzcu oraz anosomia, niezdolność odczuwania zapachów i niepłodność. Chory z zespołem Kallmana jest leczony jak pacjent z idiopatycznym hipogonadyzmem hipogonadotropowym [21]. Diagnostyka jest ważna w tym przypadku w celu wdrożenia odpowiedniej terapii. Aby pobudzić przysadkę do wydzielania gonadotropin, podaje się pulsacyjnie GnRH lub stosuje się stymulację [21,26].

Zaburzenia w wydzielaniu gonadotropin mogą być związane z nadużywaniem steroidów anabolicznych, androgenów, nadczynności nadnerczy oraz obecnością guzów hormonalnie czynnych. Rzadko występują zespoły izolowanego niedoboru wybranej gonadotropiny, których przyczyna jest nieznana. U mężczyzn z hipogonadyzmem hipogonadotropowym idiopatycznym, w którego przypadku nie da się ustalić etiologii, za przyczynę podejrzewa się nieprawidłowości genetyczne. Wtórny hipogonadyzm hipogonadotropowy występuje rzadko u mężczyzn, a jego częstą przyczyną jest nadużywanie narkotyków. Prawidłowa

diagnostyka, czyli wykluczenie możliwości wystąpienia guza w układzie podwzgórzowo-przysadkowym oraz identyfikacja innych czynników wystąpienia choroby, skutkuje powrotem do prawidłowych funkcji całego układu. Jeżeli organizm w tym wypadku nie podejmuje funkcji prawidłowej spermatogenezy, w celu przywrócenia płodności potrzebne jest zastosowanie terapii gonadotropinowej lub leczenia za pomocą hCG.

Jedną z najczęstszych przyczyn chromosomalnych niepłodności mężczyzny jest zespół Klinefeltera (47, XXY), który występuje z częstością 0,2% w populacji mężczyzn. Rozwija się na skutek aberracji liczbowej chromosomów X, będąc przyczyną hipogonadyzmu hipergonadotropowego. W dzieciństwie i we wczesnym okresie dojrzewania płciowego czynność układu podwzgórze-przysadka-jądra jest zwykle prawidłowa. Od środkowego okresu dojrzewania rozwija się obraz kliniczny hipogonadyzmu hipergonadotropowego na skutek postępującej degeneracji struktury i upośledzenia czynności jąder. Objawy niedoboru androgenów mogą być różnie nasilone i wymagają w różnym stopniu leczenia androgenami. W obrazie klinicznym obserwuje się małe jądra (<5 ml). Są one wypełnione kanalikami nasiennymi pozbawionymi elementów germinatywnych. Mogą być w różnym stopniu objęte włóknieniem, hialinizacją. Występują różne formy zespołu Klinefeltera i różne postaci genetyczne. W diagnozowaniu najważniejsze jest badanie kariotypu i potwierdzenie obecności dodatkowego chromosomu X. Badanie nasienia w tym zespole wykazuje azoospermie. Natomiast w badaniu hormonalnym stwierdza się podwyższone FSH, co może wskazywać na uszkodzenie kanalików nasiennych. W badaniu histopatologicznym zauważa się zwłókniałe kanaliki nasienne, zawierające same komórki Sertoliego. Przy mozaikowym kariotypie (47, XXY/XY) możliwa jest częściowa spermatogeneza oraz po części zachowana płodność. Przy uzyskaniu ciąży występuje znaczny odsetek poronień [14].

Wśród pacjentów z ciężką oligospermia (<1 mln/ml) zaburzenia chromosomalne stwierdzane są w około 10%. W grupie z nieobturacyjną azoospermia nawet w 15%. Przy takich wynikach zaleca się ocenę kariotypu mężczyzny z oligospermia poniżej <5 mln, jeśli bierze się pod uwagę rozród wspomagany.

Rozszerzenie diagnostyki genetycznej o badania molekularne jest najczęściej zalecane u mężczyzn z oligozoospermią i azoospermią, których wyniki badania kariotypu są prawidłowe. W pierwszej kolejności jest to analiza molekularna regionu AZF chromosomu Y i badanie genu *CFTR*. U około 15% mężczyzn z prawidłowym kariotypem i azoospermią lub ciężką oligozoospermią wykrywa się mikrodelecje w AZF (*azoospermic factor*) w Yq11.2. Mikrodelecja Yq nie zdarza się w przypadkach, w których liczba plemników w 1 ml przekracza 5 milionów. Całkowita delecja AZFa lub AZFb prowadzi do zespołu samych komórek Sertoliego lub zaburzeń dojrzewania spermatocytów, podczas kiedy częściowe delecje związane są z łagodniejszymi skutkami i często z obecnością plemników. Najczęściej występująca jest mikrodelecja AZFc, w której występuje zaburzenie spermatogenezy. W ponad 70% przypadków stwierdza się obecność plemników w nasieniu. Mężczyźni z mikrodelecjami w locus AZF przekazują tę mikrodelecję synom. Są również doniesienia o wyższym ryzyku wystąpienia u córek zespołu Turnera (monosomii X). Kolejnym badaniem molekularnym zalecanym u nieplodnych mężczyzn jest analiza genu *CFTR*. Mutacje w genie *CFTR* w układzie homozygotycznym powodują mukowiscydozę. U większości mężczyzn z tą ciężką chorobą autosomalną recesywną zauważa się wrodzony obustronny brak nasieniowodów (CBAVD). Prowadzi to do nieplodności. Sporadycznie mutacje w genie *CFTR* manifestują się klinicznie jedynie jako CBAVD. Pośród mutacji występuje nie tylko delF508, która jest najczęstszą mutacją występującą w klasycznej mukowiscydozie, ale również mutacje typowe dla CBAVD, takie jak: R117H. U 19-24% mężczyzn z CBAVD zauważa się mutację w obu allelach genu *CFTR*, a następne 42-47% ma mutację w jednym allelu. Oznacza to, że ok. 60-70% mężczyzn z CBAVD ma mutację przynajmniej jednego allelu genu *CFTR*, co występuje ponad 15-krotnie częściej niż w populacji ogólnej. W razie stwierdzenia u mężczyzny mutacji w genie *CFTR* konieczna staje się analiza molekularna genu *CFTR* także u partnerki, a w przypadku stwierdzenia u niej takiej mutacji, para taka ma wysokie (25%) ryzyko wystąpienia mukowiscydozy u potomstwa. Wysoką częstość występowania mutacji w genie *CFTR* (14,4-17,5%) wykryto także

u zdrowych nieplodnych mężczyzn z azoospermią niespowodowaną CBAVD. U mężczyzn z CBAVD należy wykluczyć wady rozwojowe nerek (jednostronna agenezja) ze względu na podwyższone ryzyko wystąpienia w takich przypadkach agenezji nerek także u potomstwa [19,24].

Innymi zaburzeniami genetycznymi prowadzącymi do nieplodności męskiej są mutacje genowe powodujące brak syntezy białek wchodzących w skład aksonów, co może być powodem utraty ruchu przez plemniki. Najczęstsze nieprawidłowości to: brak ramion dyneiny, połączeń neksynowych i promienistych włókien szprychowych, które wchodzi w skład budowy aparatu ruchowego witki plemnika. Pierwotna dyskineza rzęsek (zespół nieruchomych rzęsek) jest rzadką, genetycznie uwarunkowaną chorobą dziedziczną w sposób autosomalny recesywny. Objawy chorobowe wywołane są przez nieprawidłową budowę rzęsek pokrywających nabłonki urzęsione organizmu człowieka. PCD należy, razem z innymi chorobami spowodowanymi dysfunkcją rzęsek, do grupy ciliopatii. Najważniejsze objawy spowodowane są upośledzeniem funkcji nabłonka oddechowego górnych i dolnych dróg oddechowych. Choroba ta jest również przyczyną nieplodności u mężczyzn, ponieważ defekt budowy dotyczy również witki plemników. Często obraz nasienia przedstawia prawidłową liczbę plemników, lecz nie mają one zdolności ruchowych. Choroba ta prowadzi do częstych infekcji górnych dróg oddechowych, które przebiegają z możliwymi powikłaniami w postaci rozstrzeni oskrzeli, zapalenia zatok i odwrócenia trzewi. Ten zespół objawów zwany jest triadą Kartagenera [16].

Nieprawidłowości chromosomalne stwierdza się u około 5,5-6% pacjentów z nieplodnością. Około 4-4,5% stanowią zaburzenia chromosomów płciowych, a pozostałe 1-1,5% stanowią zaburzenia autosomalne. W przypadkach nieplodności badania genetyczne są ważną częścią procesu diagnostycznego. Czynniki genetyczne występują aktualnie u ok. 30% nieplodnych par, jednak przyczyny genetyczne mogą być ukryte także za wieloma przypadkami nieplodności idiopatycznej. Celem badań genetycznych jest ustalenie przyczyny nieplodności oraz porada genetyczna. W przypadku zdiagnozowania przyczyn genetycznych istnieje duże ryzyko przekazywania

nieprawidłowego materiału genetycznego na potomstwo. Może to często oznaczać wysokie ryzyko urodzenia dziecka z zaburzeniami genetycznymi, wadami wrodzonymi lub niepełnosprawnością intelektualną. Para dotknięta tym problemem powinna być poinformowana, aby świadomie planować prokreację. Szczególnie istotne jest przeprowadzenie badań genetycznych w przypadku pary korzystającej z procedury IVF [3].

Dysfunkcje płciowe i ejakulacyjne to dosyć rzadkie przyczyny niepłodności. Rozpoznawane są podczas zbierania wywiadu. Często dopiero wyniki testu przeżywalności plemników po stosunku pozwalają na ich identyfikację. Dysfunkcje seksualne najczęściej zdeterminowane są czynnikami psychoseksualnymi, a przejawiają się niedostatecznym wzwodem lub nieodpowiednią dla koncepcji częstotliwością stosunków płciowych. Czasami mają podłoże organiczne z udziałem składowej naczyniowej (cukrzyca), neurologicznej (urazy rdzenia kręgowego) lub hormonalnej. Niektóre leki, takie jak: cymetydyna, β -blokery, tiazidy, guanetydyna, metyldopa, powodują lub nasilają zaburzenia wzrodu. Zaburzenia ejakulacji są rozpoznawane, kiedy stosunek płciowy przebiega bez zaburzeń, ale nie ma wytrysku nasienia (*anejaculation*) lub ejakulacja zachodzi poza pochwą. Przyczyny mogą mieć charakter zarówno czynnościowy, jak i anatomiczny (np. spodziectwo). Ejakulacja wsteczna jest swoistą odmianą zaburzeń, gdy wytrysk nasienia jest zwrócony wstecznie, w stronę pęcherza moczowego mężczyzny. Może być wynikiem przebytej operacji w obrębie szyi pęcherza moczowego, uszkodzenia unerwienia autonomicznego, urazów lub cukrzycy. W takich sytuacjach stwierdza się aspermię lub niewielką objętość ejakulatu. Natomiast analiza moczu po stosunku wykazuje obecność w nim plemników [25].

W wyniku niepełnosprawności bądź wcześniejszych zabiegów terapeutycznych u poprzednio zdrowego mężczyzny może pojawić się niepłodność wtórna. Występuje ona u mężczyzn z paraplegią lub tetraplegią, po urazach rdzenia kręgowego. Ci mężczyźni pomimo że są na ogół w okresie swej najwyższej aktywności seksualnej, w następstwie uszkodzeń rdzenia kręgowego są narażeni na problem niepłodności. Naturalna płodność zostaje zachowana u 10%

mężczyzn po urazie. U tych mężczyzn pojawiają się zaburzenia wytrysku. Efektywny wytrysk występuje tylko u 15% mężczyzn po urazie. U osób z uszkodzeniem poniżej Th6 lub pełnym uszkodzeniem neurologicznym stwierdza się brak wytrysku lub ejakulację wsteczną. Pogorszenie jakości nasienia może być spowodowane: nieregularnym opróżnianiem pęcherzyków nasiennych, przewlekłymi infekcjami dróg moczowych, zapaleniem najądrza, zaciekami moczu do nasieniowodów (nadciśnienie w drogach moczowych przy oddawaniu moczu) lub też przegrzaniem w obrębie moszny. W wyniku występowania tych wszystkich czynników towarzyszących niepełnosprawności dochodzi do upośledzenia ruchliwości i żywotności plemników. U tych mężczyzn obserwuje się również spadek testosteronu oraz obecność przeciwciał przeciwplemnikowych. W przypadku występowania niepłodności męskiej związanej z niepełnosprawnością spowodowaną urazami rdzenia kręgowego prowadzi się kompleksowe leczenie. Leczenie wykazuje dużą skuteczność, ponieważ aż 51% partnerek mężczyzn po urazie rdzenia kręgowego zachodzi w ciążę. Natomiast odsetek żywych urodzeń wynosi 40% [7].

Przyczyny jądrowe niepłodności męskiej

Kryptorchizm (wnętrostwo) jest to brak jąder w worku mosznym zaraz po urodzeniu. Jest to najczęstsza wrodzona przyczyna upośledzenia funkcji rozrodczej mężczyzn. Im dłużej jądra pozostają poza moszną, tym wyższy jest stopień zaburzeń spermatogenezy. W przypadku wnętrstwa, kiedy jądra lub jądro nie znajdują się w worku mosznym, tylko są położone w jamie brzusznej lub w kanale pachwinowym, dochodzi do ograniczenia ich funkcji plemnikotwórczych. Przyczyna jest wyższa temperatura niż ta, która występuje w mosznie. Niepodjęcie leczenia grozi także ryzykiem rozwoju nowotworu jądra. Leczenie wnętrstwa powinno się przeprowadzać przed 2. rokiem życia [8]. Nieprawidłowości naczyniowe, do których można zaliczyć skręcenie jądra. Do skręcenia jądra może dojść u młodych chłopców, u których jądra nie są dobrze umocowane w worku mosznym. Przy odpowiednich ruchach może dojść do skręcenia o 90, 180, a nawet 360 stopni. Dochodzi wtedy do zaciśnięcia powrózka nasiennego, w którym są

położone naczynia krwionośne, a następnie do dużego niedokrwienia jądra. Taki stan utrzymujący się 10-12 godz. kończy się martwicą jądra i zaburzeniami płodności. Choroba może objawiać się silnym bólem jądra. U starszych chłopców może przebiegać bezobjawowo.

Żyłaki powrózka nasiennego są najczęstszym defektem anatomicznym spotykanym u nieplodnych mężczyzn. Kwestia żyłaków powrózka nasiennego jako przyczyny nieplodności jest kontrowersyjna, wszak stwierdza się ich występowanie z częstością 30% w populacji mężczyzn nieplodnych, ale i u 10% płodnych mężczyzn. Żyłaki są najczęściej umiejscowione po lewej stronie, w miejscu połączenia żyły nasiennej z żyłą nerkową lewą. Żyłaki powodują niewystarczający odpływ krwi z jąder, co może wpływać na gromadzenie się krwi i wzrost temperatury w mosznie [8].

W przypadku nieznaleszenia przyczyny obniżenia jakości i ilości nasienia ustala się rozpoznanie pierwotnej niewydolności kanalików nasiennych (*seminaliferous tubule failure* – STF), chociaż zasadniczo nie obserwuje się zmniejszenia objętości jąder. Większość mężczyzn w tym wypadku ma prawidłowe cechy męskie. W obrazie laboratoryjnym STF występuje: oligospermia bądź kryptospermia (prawdziwa azospermia – nieliczne plemniki w preparacie), zaburzenia ruchliwości plemników i nieprawidłowości w budowie główki i wiktka [15]. Do chorób, których powikłaniem jest dysfunkcja gonady męskiej w wyniku zapalenia jąder (po okresie ich dojrzewania), należą choroby infekcyjne, takie jak świnka, gruźlica oraz rzeżączka. Stan zapalny może doprowadzić do znacznych zaburzeń w procesie spermatogenezy [8].

Przyczyny autoimmunologiczne nieplodności męskiej oraz ocena zdolności plemnika do wniknięcia do komórki jajowej

Nieplodność z przyczyn immunologicznych może wynikać z autoimmunizacyjnego zapalenia jądra. Autoimmunizacja, poprzez przewlekłe procesy zapalne, może doprowadzać do uszkodzenia jąder. Towarzyszyć temu może tworzenie się przeciwciał przeciwplemnikowych. Przeciwciała w nasieniu i surowicy skierowane są przeciwko różnym

częściom plemników (główka, część pośrednia, wiktka). Mogą powodować: aglutynację plemników, obniżoną żywotność oraz ruchliwość, słabszą penetrację śluzu szyjkowego i hamowanie fuzji plemnika z komórką jajową. Ważna jest dokładna diagnostyka wykrywająca jedynie przeciwciała wpływające na funkcjonowanie lub łączenie się gamet. MAR TEST jest testem mającym zastosowanie w diagnostyce nieplodności o przyczynach immunologicznych. Jest badaniem wykrywającym w nasieniu przeciwciała przeciwplemnikowe, które mogą powodować aglutynację plemników. W teście mają zastosowanie kuleczki lateksowe. W przypadku kiedy ilość plemników zlepionych z kuleczkami lateksowymi wynosi więcej niż 10%, wynik testu jest pozytywny (<http://badanie-nasienia.pl/pl/tag/mar-test/29.04.2014>).

Tworzenie się przeciwciał w przypadku niedrożności dróg wyprowadzających nasienie występuje często przy przeszkodzie zlokalizowanej dystalnie od głowy najądrza. Nieplodność immunologiczna rzadko jest powikłaniem zapalenia jądra w przebiegu świnki oraz stanów zapalnych jąder i najądrza powiązanych z naciekiem tkanki jądrowej. W takiej sytuacji w celu leczenia nieplodnej pary zagęszcza się nasienie, oddziela się zdrowe, ruchliwe plemniki w celu wykorzystania ich do inseminacji czy też do zabiegów zapłodnienia pozaustrojowego. Przeciwciała znajdują się w tkance jądrowej oraz w kanalikach nasiennych, gdzie powodują złuszczenie się elementów germinatywnych. Identyfikowane są też w surowicy oraz w plazmie nasienia. Często pierwotnie mogą pojawiać się w wydzielinie gruczołu krokowego i pęcherzyków nasiennych, które wchodzi w skład nasienia i przez to umożliwiają kontakt z plemnikiem. Stanowi to patomechanizm zaburzający zdolność plemnika do zapłodnienia, polegający na niekorzystnym wpływie na parametry ruchu plemnika, co jest powodem utrudnionego dotarcia do komórki jajowej. W przypadku obecności przeciwciał występują również zaburzenia w rozpoznawaniu komórki jajowej w wiązaniu z osłonką przejrzystą. Za nieprawidłowe czynności plemników w dużym stopniu są odpowiedzialne immunoglobuliny wydzielnicze z grupy IgA, które są produkowane przez męski układ rozrodczy, a w mniejszym stopniu przeciwciała klasy IgG. Obecność przeciwciał przeciwplemnikowych ASA

(*antisperm antibody*) może poważnie ograniczać zdolności rozrodcze mężczyzny. Częstość występowania ASA w populacji niepłodnych mężczyzn według różnych danych szacuje się na ok. 10-20%. Przeciwciała przeciwplemnikowe mogą zaburzać wiele etapów niezbędnych do prawidłowego zapłodnienia. Wśród czynników zwiększających ryzyko pojawienia się ASA wymienia się m.in. infekcje przebiegające z zajęciem układu rozrodczego, obecność żyłaków powrózka nasiennego, urazy jądra, wazektomię, biopsję jąder, wnetrostwo czy niedrożność nasieniowodów. Obserwuje się, że mimo braku obciążającego wywiadu występują u pacjenta przeciwciała przeciwplemnikowe, co oznacza, że mechanizmy ich powstawania i działania nie są jeszcze w pełni poznane. W etiologii niepłodności o przyczynie autoimmunologicznej największe znaczenie kliniczne mają przeciwplemnikowe ASA (*antisperm antibody*). Jednym z głównych mechanizmów zapobiegających ASA jest bierne odizolowanie męskich komórek rozrodczych w obszarze męskich narządów. Bariera krew-jądro jest wielopoziomowa, mimo to nie jest ona całkowicie szczelna ani dla układu odpornościowego, ani dla męskich komórek rozrodczych. Drugim mechanizmem zabezpieczającym przed immunizacją na antygeny własnych plemników u mężczyzny jest aktywna regulacja odpowiedzi immunologicznej na antygeny. Jest to regulacja o charakterze immunosupresyjnym. Podstawową rolę odgrywają tu komórki Sertoliego, prostaglandyny i składniki plazmy nasiennej. Oprócz tego komórki gametogeniczne mają zdolność aktywacji limfocytów hamujących odpowiedź immunologiczną wobec plemników. Zwiększone ryzyko ASA występuje w przypadkach infekcji męskich narządów płciowych. Częstość występowania ASA u niepłodnych mężczyzn oscyluje w przedziale od 2-20%. W większości przypadków są to przeciwciała klasy IgG, a rzadziej IgM i IgA. Przeciwciała IgA z reguły występują w przypadku miejscowej produkcji ASA. Istnieje ewidentna zależność między produkcją ASA a zaburzeniami płodności. Przy tym obecność przeciwciał w komponentie lokalnym jest czynnikiem znacznie gorzej rokującym w odniesieniu do płodności, niż obecność ASA w surowicy. W grupie pacjentów z normospermia rokowanie dotyczące płodności jest dokładnie związane z mianem przeciwciał. W tej

grupie mamy do czynienia z przeciwciałami przeciwplemnikowymi, które sklejając plemniki, powodują ich aglutynację i agregację. Oprócz tego dowiedziano, że przeciwciała przeciwplemnikowe mają możliwość wiązania się z micelami śluzu szyjkowego, co w konsekwencji hamuje ruch postępowy plemników nieopłaszczonych przeciwciałami. ASA występujące u pacjentów z oligospermia są często skutkiem przebytego zapalenia jąder lub ich urazu. Natomiast u pacjentów z azospermia występowanie ASA związane jest z niedrożnością obszaru dróg moczowo-płciowych i uniemożliwiająca uwolnienie plemników. Jądra w tych przypadkach nie są uszkodzone.

Efekt ASA przyczynia się do zaburzeń w pełnieniu funkcji plemnika. Jest to przyczyną zakłócania poszczególnych etapów rozrodczych, takich jak:

- upośledzenie penetracji śluzu szyjkowego przez plemniki (plemniki mogą zostać unieruchomione przez micle śluzu szyjkowego);
- zahamowanie ruchu postępowego plemników na skutek aglutynacji;
- hamowanie dojrzewania i procesu kapacytacji;
- wywoływanie przedwczesnej reakcji akrosomalnej lub jej zablokowanie;
- zahamowanie łączenia się plemników z osłonką przejrzystą;
- zahamowanie zdolności przylegania plemników do oolemy;
- zahamowanie procesu dojrzewania plemników i uszkodzenie rozwijających się plemników w jądrze jako następstwo ASA u mężczyzny, tylko w przypadku autoimmunologicznego zapalenia jąder.

Przeciwciała antyplemnikowe klasy IgG i klasy IgA cechują się zdolnością do sieciowania plemników i następnie ich kotwiczenia do glikoproteiny miceli śluzu szyjkowego. Jeśli ASA występują jedynie u mężczyzny, podczas testu postkoitalnego w pewnym czasie po stosunku zauważalne są pojedyncze nieruchome plemniki lub zupełny ich brak. ASA powoduje przedwczesną reakcję akrosomalną, zanim plemnik złączy się z osłonką przejrzystą, przez co znacznie skraca się czas, podczas którego może nastąpić zapłodnienie [6]. Przed wykonaniem testów w kierunku ASA można zrobić testy paraimmunologiczne, które określają stopień penetracji

plemników do śluzu szyjkowego. Test kontaktowy Kurzoka-Millera, wykonuje się, mieszając kroplę nasienia z kroplą śluzu szyjkowego na szkiełku podstawowym. Brak penetracji na szkiełku podstawowym może wskazywać na obecność ASA u mężczyzny lub kobiety bądź u obojga partnerów [5].

Innym testem, który można zastosować do oceny obecności plemników w śluzie szyjkowym, jest test Simsa-Huhnera. Obecność plemników w śluzie bada się w okresie okołooowulacyjnym od 6 do 8 godzin po współżyciu. Brak obecności plemników może wskazywać na tzw. „wrogi śluz szyjkowy”. W obecnym czasie najczęściej stosowanymi testami o wysokiej wartości diagnostycznej są testy: test unieruchamiania plemników, test aglutynacyjny, test cytotoksyczny, test Elisa, test MAR, mieszana reakcja aglutynacyjna, testy radioimmunologiczne oraz test IBT.

Testy aglutynacyjne to testy polegające na aglutynacji przez przeciwciała żywych plemników. Test unieruchamiania plemników i test cytotoksyczny plemników są podobne do poprzedniego testu. W odróżnieniu od testu aglutynacyjnego do reakcji dopełniacza łączącego się z fragmentem Fc wykorzystuje się uprzednio związane przeciwciała. Te testy nie wykrywają przeciwciał klasy IgA. Reakcje unieruchamiania plemników cechują się niską czułością, a zwłaszcza w przypadku przeciwciał klasy IgG. Dlatego interpretacja wyników powinna być przeprowadzana z dużą ostrożnością. Istnieje możliwość, że testy dadzą mylne wyniki w ocenie klinicznej wskutek występowania w płynie niespecyficznym aglutynin w śluzie szyjkowym. Niespecyficzne unieruchomienie plemników może być wywołane obecnością elementów nieimmunoglobulinowych. Testy te nie odróżniają rodzaju przeciwciał znajdujących się na powierzchni plemników. Dzięki nim mogą być wykrywane tylko nieistotne klinicznie przeciwciała klasy IgM w nasieniu lub śluzie szyjkowym [5].

Test HBA (test wiązania z hialuronianem) to test, który ocenia dojrzałość i czynność plemników. Zdrowe plemniki mają zdolność do łączenia się z hialuronianem. Hialuronian wchodzi w skład otoczki komórki jajowej. Podczas wykonywania testu hialuronian obecny jest na płytce, na którą nakłada się nasienie. Prawidłowe plemniki reagują z hialuronianem i są związane na płytce [12]. Zona-Free Hamster

Oocyte. Test jest badaniem, w którym zostaje usunięta osłonka przejrzysta z oocytu chomika. Daje to ludzkim plemnikom możliwość penetracji oraz de-kondensacji w ooplazmie. Plemniki, które są zdolne do kapacytacji i reakcji akrosomalnej, mogą penetrować oolemmę i wnikać do ooplazmy [17]. Obecnie diagnostyka przeciwciał przeciwplemnikowych jest utrudniona, ponieważ nie wiadomo, które antygeny są odpowiedzialne za wywoływanie reakcji odpornościowej i odpowiadają za zmniejszenie płodności lub za bezpłodność. Utrudnioną ocenę rokowniczą może powodować to, że większość testów diagnostycznych nie wykrywa miejsca wiązania przeciwciała. W leczeniu niepłodności związanej z obecnością przeciwciał przeciwplemnikowych stosuje się metody terapeutyczne, takie jak: przerwanie ekspozycji antygeny, leczenie kortykosteroidami, częste ejakulacje, inseminacje domaciczne czy ICSI.

Chemioterapeutyki stosowane w leczeniu nowotworów złośliwych mają niekorzystny wpływ na nasienie mężczyzny. Takie środki jak prokarbazyna lub cyklofosfamid w 85% przypadków wywołują nieodwracalną azoospermie. Przy stosowaniu nowszych metod leczenia i innych leków chemioterapeutycznych, jak np. adriamycyna lub bleomycyna, obserwuje się powrót do płodności. Niekorzystnie rokującym czynnikiem jest przebycie radioterapii. Aplikowanie dawki 200 radów na jądro może być przyczyną nieodwracalnej niepłodności [9].

Przyczyny pozajądrowe niepłodności męskiej

Brak nasieniowodów jest najczęstszą przyczyną wrodzoną powodującą niedrożność przewodów wyprawiających nasienie. Wrodzony brak nasieniowodów jest skutkiem zaburzenia różnicowania się przewodów Wolffa. W większości przypadków dochodzi także do niedorozwoju pęcherzyków nasiennych i ubytków w najądrzu. W badaniu klinicznym obserwuje się: azoospermie. W badaniu palpacyjnym niewyczuwalne są nasieniowody. Natomiast stwierdza się prawidłowość w budowie jądra, a poziom gonadotropin jest prawidłowy. Objętość ejakulatu jest niewielka i wynosi od 0,1 ml do 1,0 ml. W 50% przypadków wykrywa się obecność przeciwciał przeciwplemnikowych [15].

Chorobą genetyczną, wieloukładową, w której przypadku mutacje mogą doprowadzać do nieprawidłowości w układzie rozrodczym, jest mukowiscydoza. Jest to choroba dziedziczona autosomalnie recesywnie. Mukowiscydoza występuje z częstotliwością 1 na 2500 żywych urodzeń. Wywołana jest ona mutacją genu *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), zlokalizowanego na chromosomie 7. Chromosom 7 jest odpowiedzialny za produkcję białka tworzącego kanały chlorkowe zależne od cAMP. Choroba przejawia się nawracającymi zakażeniami dróg oddechowych, niewydolnością zewnątrzwydzielniczą trzustki, ale również nieprawidłowościami dróg wyprowadzających nasienie, co stwierdza się u 95% mężczyzn chorujących na mukowiscydozę. Cechami fenotypowymi jest brak jednego bądź obu nasieniowodów lub ich niedrożność.

Kolejną mutacją genetyczną należącą do przyczyn pozajądrowych jest wielotorbielowatość nerek typu dorosłych. Niepłodność w tej grupie chorych powoduje torbielowatość przewodów wyprowadzających nasienie, co może powodować ich niedrożność [8]. Jedną z przyczyn niepłodności jest wrodzona lub poinfekcyjna niedrożność nasieniowodów. Przebycie chorób przenoszonych drogą płciową może także mieć skutki w niedrożności najądrzy, natomiast stany zapalne prostaty lub pęcherzyków nasiennych mogą przyczyniać się do zaburzeń w drożności dróg wyprowadzających nasienie [8]. Za obniżenie męskiej płodności odpowiadają także choroby ogólnoustrojowe, takie jak cukrzyca, która jest odpowiedzialna za obniżanie parametrów nasienia i zaburzenia erekcji [18]. W Polsce na cukrzycę choruje około 400 tys. mężczyzn po 20. roku życia. Postuluje się, że nawet co drugi mężczyzna chorujący na cukrzycę może mieć problemy z płodnością. Czynniki niekorzystnie wpływającymi na erekcję u osób chorych na cukrzycę jest neuropatia włókien autonomicznych ciał jamistych, jak również zaburzenia naczyniowe w tym zaburzenia śródbłonna, który jest odpowiedzialny za produkcję czynników regulujących stany skurczowe błony mięśniowej naczyń. Długotrwała hiperglikemia prowadzi do natężenia zjawiska stresu oksydacyjnego, a w konsekwencji do zaburzeń w sekrecji i działaniu hormonów. Zaburzenia metaboliczne towarzyszące hiperglikemii mogą

przyczyniać się do zmian strukturalnych męskich narządów płciowych. Zalicza się do nich: stwardnienie ciał jamistych prącia (nawet u 11% mężczyzn z cukrzycą trwającą 5 lat) i zwapnienia nasieniowodów (pacjenci z wieloletnią cukrzycą). W nasieniu mężczyzn chorujących na cukrzycę obserwuje się większy odsetek plemników z uszkodzeniami w jądrowym i mitochondrialnym DNA w porównaniu z osobami bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej [10]. Do innych chorób ogólnoustrojowych, które mogą wpłynąć na zaburzenia płodności, zalicza się: anemię, stwardnienie rozsiane, choroby układu moczowego, wątroby, zaburzenia odżywiania i choroby nerek [8].

Wnioski

Znajomość czynników warunkujących obniżenie męskiej płodności stanowi klucz do podjęcia odpowiedniego leczenia pary starającej się o uzyskanie potomstwa.

Rozwój nowych metod diagnostycznych w najbliższych latach najprawdopodobniej przyniesie szereg odkryć w kwestii poznania kolejnych przyczyn niepłodności męskiej, co być może stworzy alternatywne sposoby pomocy mężczyźnie z obniżoną płodnością.

Piśmiennictwo

1. Boivin J., Bunting L., Collins J.A., Nygren K.G.: International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod* 2007; 22: 1506-1512.
2. Brandes M., Hamilton C.J.C.M., De Bruin J.P., Nelen W.L.D.M., Kremer J.A.M.: The relative contribution of IVF to the total ongoing pregnancy rate in a subfertile cohort. *Hum Reprod* 2010; 25: 118-126.
3. Butnariu L., Covic M., Onofriescu M., Grănescu M., Bujoran C. i wsp.: Chromosomal evaluation in couples with reproductive disorders—retrospective study of a selected group of 266 couples. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2010; 114(4): 1107-13.
4. Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.E.: Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 1992; 305(6854): 609-13.

5. Check J.H.: Diagnosis and treatment of cervical mucus abnormalities. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2006; 33(3): 140-2.
6. Cui D., Han G., Shang Y., Liu C., Xia L. i wsp.: Anti-sperm antibodies in infertile men and their effect on semen parameters: A systematic review and meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2015. Apr 15; 444: 29-36. doi: 10.1016/j.cca.2015.01.033.
7. DeForge D., Blackmer J., Garritty C., Yazdi F., Cronin V. i wsp.: Fertility following spinal cord injury: a systematic review. *Spinal Cord* 2005; 43(12): 693-703.
8. Giwercman A., Giwercman Y.L.: Epidemiology of male reproductive disorders. In: De Groot L.J., Beck-Peccoz P., Chrousos G., Dungan K., Grossman A. (ed.) i wsp.: *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. 2013 Aug 23.
9. Goldfarb S., Mulhall J., Nelson C., Kelvin J., Dickler M., Carter J.: Sexual and reproductive health in cancer survivors. *Semin Oncol* 2013; 40(6): 726-44.
10. Jangir R.N., Jain G.C.: Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Curr Diabetes Rev* 2014; 10(3): 147-57.
11. Kuczynski W., Kurzawa R., Oszukowski P., Pawelczyk L., Poreba R. i wsp.: Polish Gynecological Society and Polish Society for Reproductive Medicine. Polish Gynecological Society and Polish Society for Reproductive Medicine recommendations for the diagnosis and treatment of infertility. *Ginekol Pol* 2012; 83(2): 149-54.
12. Liu de Y., Baker H.W.: Assessment of human sperm function and clinical management of male infertility. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2007; 13(2): 99-109.
13. Macaluso M., Wright-Schnapp T.J., Chandra A., Johnson R., Satterwhite C.L.: A public health focus on infertility prevention, detection, and management. *Fertil Steril* 2010; 93(1): 16.e1-10.
14. Madureira C., Cunha M., Sousa M., Neto A.P., Pinho M.J. i wsp.: Treatment by testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection of 65 azoospermic patients with non-mosaic Klinefelter syndrome with birth of 17 healthy children. *Andrology* 2014; 2(4): 623-31.
15. McLachlan R.I.: Studies on the hormonal control of spermatogenesis using in vivo models of spermatogenic suppression and restoration. *Endokrynologia Polska* 1997, 48:suppl. 3, 67-74.
16. Montjean D., Courageot J., Altié A., Amar-Hoffet A., Rossin B. i wsp.: Normal live birth after vitrified/warmed oocytes intracytoplasmic sperm injection with immotile spermatozoa in a patient with Kartagener's syndrome. *Andrologia* 2014. Oct 1. doi: 10.1111/and.12331.
17. Montoya J.M., Bernal A., Borrero C.: Diagnostics in assisted human reproduction. *Reprod Biomed Online* 2002; 5(2): 198-210.
18. Navarro-Casado L., Juncos-Tobarra M.A., Cháfer-Rudilla M., de Onzoño L.Í., Blázquez-Cabrera J.A., Miralles-García J.M.: Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. *J Androl* 2010; 31(6): 584-92.
19. Pereza N., Črnjar K., Buretić-Tomljanović A., Volk M., Kapović M. i wsp.: Y chromosome azoospermia factor region microdeletions are not associated with idiopathic recurrent spontaneous abortion in a Slovenian population: association study and literature review. *Fertil Steril* 2013; 99(6): 1663-7.
20. Pinborg A., Hougaard C.O., Andersen A.N., Molbo D., Schmidt L.: Prospective longitudinal cohort study on cumulative 5-year delivery and adoption rates among 1338 couples initiating infertility treatment. *Hum Reprod* 2009; 24: 991-999.
21. Raivio T., Wikström A.M., Dunkel L.: Treatment of gonadotropin-deficient boys with recombinant human FSH: long-term observation and outcome. *Eur J Endocrinol* 2007; 156(1): 105-11.
22. Sanocka D., Miesel R., Jędrzejczak P., Kurpisz M.K.: Oxidative stress and male infertility. *J Androl* 1996; 17(4): 449-54.
23. Sartorius G.A., Nieschlag E.: Paternal age and reproduction. *Hum Reprod Update* 2010; 16: 65-79.
24. Soleimani S., Kalantar S.M., Sheikhha M.H., Zaimy M.A., Rasti A., Fazli H.: Association between Y-chromosome AZFc region micro-deletions with recurrent miscarriage. *Iran J Reprod Med* 2013; 11(5): 431-4.
25. Wan J., Rew K.T.: Common penile problems. *Prim Care* 2010; 37(3): 627-42, x. doi: 10.1016/j.pop.2010.04.010.
26. Wdowiak A., Bakalczuk S., Bakalczuk G., Mroczkowski A., Jakiel G.: Hypogonadyzm hypogonadotropowy u młodych mężczyzn – diagnoza i leczenie. (Young male patients with hypogonadotropic hypogonadism – diagnosis and treatment). *Endokrynol Pol* 2002; 53(3) (supl. 1): 38-39.