

Received: 2014.02.24
Accepted: 2015.08.06
Published: 2015.11.12

Nowe aspekty niepłodności partnerskiej: czynnik męski

Novel aspects of human infertility: the role of the male factor

Anna Havrylyuk¹, Valentina Chopyak¹, Andrij Nakonechnyyj¹, Maciej Kurpisz²

¹Katedra Klinicznej Immunologii i Alergologii, Lwowski Państwowy Uniwersytet Medyczny, Lwów, Ukraina
²Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, Instytut Genetyki Człowieka PAN, Poznań

Streszczenie

W pracy omówiono rolę czynnika męskiego w kształtowaniu się pierwszych faz ciąży, w tym czynniki genetyczne, immunogenetyczne (KIR/KAR, HLA) oraz immunologiczne (mikrochimerizm) ze szczególnym uwzględnieniem roli mężczyzny. Znaczną część przeglądu poświęcono czynnikom infekcyjnym, zwłaszcza zespołowi TORCH oraz chlamydiom, których patogenezę u mężczyzny jest nadal niewyjaśniona. Poruszono problem chorób somatycznych oraz stanu zdrowia mężczyzny i jego wpływu na pierwsze fazy rozwoju ciąży, w tym także rolę wnetrostwa w późniejszych trudnościach w osiągnięciu koncepcji. Zwrócono uwagę na rolę integralności plemnikowego DNA w zapłodnieniu, jak i polimorfizmy genetyczne (ze strony męskiej) zwłaszcza w aspekcie genów HLA-G i HLA-C oraz późniejszego rozwoju trofoblastu. Przedyskutowano też indywidualne podejście do metod wspomaganego rozrodu, które nie rozwiązują wszystkich problemów, zwłaszcza w stosunku do dalszych aspektów rozwojowych na etapie zarodka i płodu.

Słowa kluczowe:

niepłodność • czynnik męski • czynniki: genetyczny • immunologiczny i molekularny • wczesne etapy ciąży • polimorfizmy genowe

Summary

In the article new aspects of the 'male factor' and its role in early stages of pregnancy are described. Among others, genetic and immunogenetic (KIR/KAR, HLA) factors are underlined as well as immunological ones (e.g. microchimerism). A significant part of this review is dedicated to infectious agents and semen inflammation as well as to the TORCH syndrome and chlamydia, concentrating on the male part, in which there are a lot of unclarified consequences. The problem of somatic diseases and general homeostasis of the male and its influence on pregnancy with particular emphasis on previous cryptorchidism is also discussed. The role of sperm DNA integrity in the fertilization process as well as genetic polymorphisms on the male side is emphasised. Particularly, molecular aspects of HLA-G and HLA-C in developmental biology are raised. There is a discussion of the individual approach to assisted reproductive techniques, which cannot be treated as a panacea for infertility treatment, particularly considering early stages of embryonal and fetal development.

Key words:

infertility • male factor • genetic • immunological and molecular factors • early pregnancy • gene polymorphisms

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1179651>

Word count: 5266

Tables: –

Figures: –

References: 42

Adres autora: prof. dr hab. Maciej Kurpisz, Instytut Genetyki Człowieka PAN, Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań; e-mail: kurpimac@man.poznan.pl

Wykaz skrótów: **ART** – techniki wspomaganego rozrodu (assisted reproductive technologies), **AZF** – azoospermia factor, **CAVD** – wrodzony brak nasieniowodów (congenital absence of the vas deferens), **CF** – mukowiscydoza (cystic fibrosis), **CFTR** – błonowy regulator przewodnictwa (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), **HLA** – antygeny zgodności tkankowej (human leukocyte antigen), **ICSI** – rodzaj procedury zapłodnienia *in vitro*, polegający na wprowadzeniu plemnika do cytoplazmy komórki jajowej (intracytoplasmic sperm injection), **IGF-2** – insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor-2), **IVF** – zapłodnienie pozaustrojowe, zapłodnienie *in vitro* (*in vitro* fertilization), **mHAG** – słabe antygeny zgodności tkankowej (minor histocompatibility antigens; minor alloantigen) **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex), **MMP** – aktywność metaloproteinaz (metalloproteinases), **PCR** – reakcja łańcuchowa polimerazy (Polymerase Chain Reaction), **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species), **SDF** – fragmentacja DNA w plemnikach (sperm DNA fragmentation), **SRY** – gen znajdujący się na chromosomie Y (sex-determining region Y), **TESE** – plemniki pozyskane z gonady metodą ekstrakcji (testicular sperm extraction), **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor beta), **T-reg** – limfocyty T regulatorowe – supresorowe (regulatory T cells).

WPROWADZENIE

Szacuje się, że niepłodność dotyczy obecnie 10-15% par małżeńskich. Niepłodność – to niezdolność do zapłodnienia po 12 miesiącach regularnego współżycia bez stosowania metod antykoncepcyjnych. Wyróżnia się niepłodność pierwotną (w przypadku niemożności uzyskania koncepcji) i wtórną (jeżeli dochodzi do ciąży, a kończy się poronieniem). Termin naukowy „subfertylność” używa się jako synonimu niepłodności. W przypadku ‘czynnika męskiego’ niepłodności partnerskiej przyjmuje się, że jest odpowiedzialny za 40-60% wszystkich wykrywanych przypadków niepłodności [35].

W piśmiennictwie światowym jest stosunkowo mało informacji o przyczynach niepłodności pierwotnej, natomiast problem poronień jest opisywany często, obszernie i dokładnie. Do czynników kojarzonych z poronieniami, należą genetyczne, hormonalne, autoimmunizacyjne, anatomiczne, towarzyszące innym chorobom (np. schorzeniom kręgosłupa) i infekcyjne. Najczęściej występujące czynniki dodatkowe zależą od wieku matki i jej przynależności etnicznej, a ich ogólna przyczyna potwierdza się w 50-60% przypadków. Mniej więcej u połowy kobiet ciężarnych diagnozowane są spontaniczne poronienia idiopatyczne [18,37].

Teoria niepowodzeń rozrodu u kobiet jest powiązana także z jej partnerami, nie jest to żadną nowością. Już 30 lat wcześniej Astin i wsp. opublikowali pracę o „fatalnej” roli mężczyzny w rozwoju stanu przedrzucawkowego u kobiety [3]. Jednak badania w tym kierunku zawsze były prowadzone niekonsekwentnie, a wyniki w większości okazały się kontrowersyjne, dlatego też nadal rzadko są uwzględniane przez ginekologów-położników, z którymi najczęściej kontaktują się kobiety z niepłodnych małżeństw.

Głównym celem artykułu jest przedstawienie poglądów pojawiających się w nowoczesnym piśmiennictwie na temat roli czynnika męskiego w problemach rozrodczych kobiety.

ROLA MĘCZYZNY W PROBLEMACH Z OSIĄGNIĘCIEM KONCEPCJI

Przebieg zapłodnienia w jednakowym stopniu zależy od jakości komórki jajowej, jak i jakości plemnika. Czynnikiem decydującym w rozpoznaniu tzw. „czynnika męskiego” jest zwykle przesiewowe badanie nasienia (seminologiczne). Niezwykle ważnym jest potwierdzenie obecności plemników w ejakulacie. Jeżeli są wytwarzane przez gonady, następnym pytaniem jest weryfikacja ich głównych cech charakterystycznych (liczba, ruchliwość, morfologia, żywotność). W pracy podano zasadnicze przyczyny oddziałujące na jakość plemników.

Przyczyny infekcyjne: zespół TORCH (toksoplazmoza, różyczka, cytomegalia, herpes)

Ta grupa przyczyn należy do najbardziej rozpowszechnionych. Współczesna populacja ludzka jest cały czas zagrożona działaniem egzogennych i endogennych czynników o charakterze immunosupresyjnym, wskutek czego bardzo rzadko obserwuje się osoby w wieku rozrodczym z nienaruszonym układem odpornościowym. Najczęściej infekcje zespołu TORCH są właściwe immunologicznie niedoborowym pacjentom; infekcje najczęściej te niedobory odporności pogłębiają.

Drobnoustroje występujące w zespole TORCH oddziałują na płodność, powodując często niedrożność jajowodów lub przedwczesne zakończenie ciąży; często są związane z okołoporodowym zgonem płodu. *Chlamydia*, *Mycoplasma* i *Ureaplasma* spp. w jednakowym stopniu negatywnie oddziałują na płodność mężczyzn i kobiet [20].

Drobnoustroje typu *Chlamydia* spp. mogą się przyczynić do powstania niepłodności, powodując np. atrofie jąder, zapalenia najądrza i jąder czy niedrożność nasieniowodów. Często indukują powstanie przeciwciał przeciwpłemnikowych, zwłaszcza u mężczyzn [25]. Istnieją dowody, że utworzenie przeciwciał przeciwpłemnikowych i towarzysząca im niepłodność na tle immunologicznym, nasilają się u pacjentów ureaplasmapozytywnych. Infekcje działają niekorzystnie na liczbę wytworzonych plemników, parametry ich ruchliwości, konsystencję ejakulatu. Dlatego, że zwiększają wytwarzanie wolnych rodników tlenowych (ROS), które uszkadzają struktury komórkowe plemników, osłabiając ich zdolność do kapacytacji czy reakcji akrosomalnej i utrudniają zapłodnienie komórek jajowych. Infekcje zespołu TORCH, a także *Chlamydia*, przypuszczalnie nasilają także zjawisko leukocytospermii. Wiadomo, że infekcje typu *Chlamydia*, *Mycoplasma* czy *Ureaplasma* są także przyczyną nieudanych cykli zapłodnienia pozaustrojowego (IVF) [17].

Chlamydia trachomatis – to drobnoustroj, który kojarzy się z niepłodnością. Według danych Światowej Organizacji Ochrony Zdrowia, infekcje *Chlamydia trachomatis* dotyczą około 90 mln osób na całym świecie. Wyniki badań oddziaływania tego zakażenia na męski układ rozrodczy są sprzeczne. Badania *in vitro* udowodniły, że ekspozycja plemników na chlamydiowe ciała alimentarne doprowadzała do przedwczesnej śmierci plemników w wyniku apoptozy. Podobne wyniki uzyskano po badaniach, przeprowadzonych *in vivo*. Zakażenie zwiększało poziom fragmentacji DNA w plemnikach. Na podstawie tych obserwacji można z pewnością potwierdzić jego udział w patogenezie męskiej niepłodności. Do wykrycia DNA *Chlamydiae* dobrze nadaje się metoda PCR (polymerase chain reaction), wykonana w próbce moczu lub nasienia mężczyzny.

Zgodnie z ustalonym protokołem, u niepłodnych mężczyzn najczęściej wykonuje się badanie seminolo-

giczne ejakulatu, jednak na podstawie opublikowanych danych przekonano się, że najlepszym sposobem wykrycia *Chlamydia trachomatis* jest jednak badanie moczu [10]. Wyniki badań grupy mężczyzn z niepłodnością w 4-letnim okresie obserwacyjnym wskazują, że *Chlamydia* nie były wykrywane we krwi, a w wydzielinach, tj. moczu (20%) czy płazmie nasiennej (66%) [11]. Przeprowadzenie wczesnej diagnostyki i terapii infekcji *Chlamydia* może zapobiec wytworzeniu się wielu powikłań (w tym i niepłodności). Jednak wyniki badań wskazują także, że trwałość oddziaływania infekcji na parametry seminologiczne nie różni się statystycznie znamienne między małżeństwami płodnymi i niepłodnymi, zatem nie ma jednoznacznego dowodu, że obecność drobnoustroju niezmiennie powoduje rozwój niepłodności (chlamydie wykrywane były także w próbkach pozyskiwanych od płodnych mężczyzn) [17].

Do objawów klinicznego zespołu TORCH należy także postać genitalna opryszczki, jaką wywołuje wirus *Herpes simplex* (typu 1 i 2). Wiadomo, że to zakażenie oddziałuje patologicznie na rozwój płodu, chociaż danych wyjaśniających rolę wirusów herpes w niepowodzeniach rozrodu jest mało. Pobieźnie zbadano także wpływ zakażeń wirusem *Herpes simplex* (typu 1 i 2) w atopowym czy bezobjawowym przebiegu na płodność mężczyzny. W ejakulacie zainfekowanych mężczyzn obserwowano obniżenie liczby plemników oraz zwiększenie plemników z tzw. mikrogłówkami i kroplą cytoplazmatyczną na szyjce. Te obserwacje pozwalają przypuszczać, że wirusy *Herpes simplex* uszkadzają dojrzewanie plemników (spermatogenezę) i ich różnicowanie [1].

Innym elementem zespołu TORCH jest cytomegalowirus, należący do grupy wirusów herpes typu 5. Układ urogenitalny zainfekowanego cytomegalowirusem mężczyzny to główny jego rezerwuuar. Udowodniono, że cytomegalowirus jest obecny w cytoplazmie plemników u 5-10% mężczyzn. Przewlekłe zakażenie tym wirusem zmienia stężenie cytokin w płazmie nasiennej, niszcząc działanie wytwarzanej u partnera swoistej tolerancji na nasienie (w reaktywności wydzielniczej, mucosal immunity). W związku z tym uwidoczniła się potrzeba rozwoju nowych badań w kierunku relacji między kobietą i jej partnerem [9].

Aspekty genetyczne spermatogenezy i różnicowania plemników

Mimo że badania genetycznych przyczyn niepłodności męskiej przebiegają intensywnie na całym świecie nie ma stosownego postępu w rozpoznawaniu i leczeniu poszczególnych jej przyczyn. Rozwój układu rozrodczego i wtórnych cech płciowych zależy od obecności w organizmie danego typu gonady, jąder albo jajników oraz obecności czy braku genu *SRY* w regionie chromosomu Y (sex determining region of chromosome Y) determinującego płeć. Gen ten odpowiada także za rozwój gruczołu krokowego i zewnętrznych genitalii u mężczyzny [26]. Dużą część męskiego 'czynnika niepłodności' ma zidentyfikowane tło genetyczne. Najczęściej obserwuje się mikrodelekcje

w chromosomie Y (w regionie czynnika AZF; azoospermia factor) czy anomalie kariotypu (np. 47 XXY, zespół Klinefeltera) albo też mutacji obu alleli genu transbłonowego białka regulatorowego mukowiscydozy (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; CFTR). Od tych czynników najczęściej zależy genetyczna etiologia niepowodzeń rozrodu u mężczyzny. Do genetycznych metod diagnostycznych przynależą: rodzinna analiza rodowodu, kariotyp, ocena mutacji pojedynczych genów, badanie niestabilności genomowej (liczby kopii genów, struktury chromatyny, nowo wykrytych genów i ich mutacji) aberracji ważnych do ustalenia rozpoznania [12].

Do wymienionych defektów genetycznych powodujących brak plemników w ejakulacie mężczyzny (azoospermia) należą wcześniej wspomniane mikrodelecje w chromosomie Y, a następnie mukowiscydoza (cystic fibrosis; CF), przy której obserwuje się wrodzoną niedrożność nasieniowodów (congenital absence of the vas deferens; CAVD). Zespół przynależy do grupy schorzeń wywołanych mutacjami w genie *CFTR*. Wiadomo, że mukowiscydoza przeważnie ogranicza się do choroby o charakterze pulmonologicznym. Może być jednak powiązana z chorobami żołądkowo-jelitowymi, azoospermią obstrukcyjną i zespołem utraty soli. Wrodzona niedrożność nasieniowodów najczęściej jest rozpoznawana u mężczyzny z towarzyszącą azoospermią (brak plemników w ejakulacie). Żeby udowodnić to rozpoznanie, należy przeprowadzić diagnostykę z zakresu genetyki molekularnej do identyfikacji mutacji w genie *CFTR*. Ponad 95% mężczyzn z mukowiscydozą jest niepłodnych z powodu azoospermii i/lub niedrożności nasieniowodów, które mogą w ogóle nie występować (agenezja) lub też występują w postaci zatrofizowanej czy włóknistej. Trzon i ogon najądrza oraz pęcherzyki nasienne są zmienione patologicznie lub nieobecne [29].

Mozaicyzm to obecność w różnym stopniu w tym samym organizmie (który powstał z jednej, zapłodnionej komórki jajowej) dwóch lub więcej linii komórkowych o różnym genotypie. Na przykład mozaicyzm 45,X/46,XY rozpoznaje się u kobiet z dyzgenezą gonad i zespołem Turnera, a także u mężczyzn z mieszaną dyzgenezą gonad oraz w męskim obojactwie czy też w szczególnych przypadkach także u zdrowych mężczyzn. W tych zespołach u mężczyzn mogą występować objawy towarzyszące, takie jak azoospermia, czy różne postaci oligozoospermii. W celu ostatecznego rozpoznania należy przeprowadzić badania kariotypu, a przy prawidłowym kariotypie przeanalizować mikrodelecje w chromosomie Y. U mężczyzn z kariotypem 45,X/46,XY istnieje podwyższone ryzyko wystąpienia raka jąder [22].

Zidentyfikowano także indywidualne geny, zasocjowane z takimi rodzajami niepłodności, jak hipogonadyzm hipogonadotropowy (szczególny defekt genetyczny, przeważnie kojarzony z dysfunkcją podwzgórza, a nie przysadki mózgowej) i zespół Kallmanna (inaktywująca mutacja genu *KAL-1*, kodującego białko o właściwościach adhezywnych, uczestniczącego w synaptogenezie) [12].

PORONIENIA U KOBIET; ROLA MĘŻCZYNY

Zwykle uważa się, że poronienia u kobiety mają naturę wieloczynnikową. Najważniejszymi czynnikami występowania poronień wydają się: jakość nasienia, anomalie chromosomowe, wiek rodziców, a także przyczyny immunologiczne (auto-, allo- lub wynikające z odporności wrodzonej). Ponad 50% nawracających poronień nawykowych obserwowanych w I trymestrze ciąży jest związanych z wadami genetycznymi płodu [40]. Reszta jest przypisywana hipotetycznym wpływom mało zbadanych czynników, w tym wywołujących procesy patologiczne w samym ejakulacie.

Stan zapalny męskiego układu rozrodczego

Męska niepłodność sekrecyjno-toksyczna powstaje wskutek przewlekłego zapalenia gruczołu krokowego, pęcherzyków nasieniowych, dróg moczowych i innych struktur męskiego układu rozrodczego. W narządach tych rozwijają się ogniska rezerwowe, w których przez długi czas dochodzi do rozplemu patologicznych drobnoustrojów. Wywołuje to zjawisko patospermii, uwarunkowanej wpływem toksyn bakteryjnych i toksycznych wydzielin, zmianą pH ejakulatu w kierunku alkalicznym, dysonansem w funkcjonowaniu osi podwzgórzowo-przysadkowej, nieprawidłowościami w metabolizmie testosteronu, w funkcji gruczołu krokowego i w wytwarzaniu gonadotropin, głównych stymulatorów spermatogenezy u mężczyzn, a także autoimmunizacją, czy zmianami w funkcjonowaniu wielu enzymów i izoenzymów ejakulatu [16].

Proces i reakcja zapalna oddziałują na jakość plemników. Przeprowadzono klasyczną ocenę parametrów zapalnych ejakulatu, tj. liczby leukocytów, stężenia elastazy, markerów apoptozy (asymetryczne zmiany fosfolipidów w błonie komórkowej) w błonach komórkowych i błonowym potencjale mitochondrialnym, w funkcjonowaniu MMP (aktywność metaloproteinaz), w integralności plemnikowego DNA, poziomie wykrywanych wolnych rodników tlenowych. Zwiększona liczba leukocytów kojarzyła się z obniżeniem koncentracji plemników, ich ruchliwości i zmianami w morfologii. Nekroza plemników i denaturacja DNA przy leukocytospermii zwiększają się, a liczba plemników z prawidłowym stężeniem MMP obniża. U żadnego z badanych pacjentów z patologicznymi parametrami ejakulatu nie zaobserwowano prawidłowej liczby leukocytów (dopuszczalny to 1 mln/ml ejakulatu) [42].

Obecnie przeprowadza się wiele badań nad wpływem wolnych rodników tlenowych na skuteczność procesu zapłodnienia. Wyniki badań wskazują, że wolne rodniki tlenowe są wydzielane w dużych ilościach zwłaszcza u niepłodnych mężczyzn oraz u pacjentów z reakcjami zapalnymi w układzie rozrodczym. Wśród głównych przyczyn wzrostu wydzielania rodników wymienia się: siedzący tryb życia, palenie tytoniu, nadwaga, niedobory witaminowo-antyoksydantowe, układowe stany zapalne, cukrzycę i inne. Aktywacja wytwarzania wolnych rod-

ników i zaburzenia układów pro – i antyoksydacyjnego odgrywają najważniejszą rolę w patogenezie męskiej niepłodności przy towarzyszących reakcjach zapalnych (np. zapalenie gruczołu krokowego), żylakach powrozka, reakcjach autoimmunizacyjnych skierowanych przeciw plemnikom, ekspozycji na związki organicznego chloru i inne [5]. Nadmiar wolnych rodników tlenu (stres oksydacyjny) może negatywnie oddziaływać na plemniki i bezpośrednio uszkadzać ich materiał genetyczny oraz błony komórkowe. Dla przeciwwagi w organizmie, w tym w układzie rozrodczym, funkcjonuje potężny układ przeciwoksydacyjny zarówno nieenzymatyczny jak i enzymatyczny. W tym ostatnim działają; dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationu, katalaza i inne. Udowodniono, że poziom aktywności antyoksydacyjnej u płodnych mężczyzn jest wyższy niż u niepłodnych [30]. Generowanie wolnych rodników tlenowych jest zależne przede wszystkim od sytuacji mikrobiologicznej w organizmie. Przeprowadzone *in vitro* i *in vivo* badania pozwoliły ułożyć kolejność wydarzeń. Najpierw na czynnik infekcyjny reagują czynniki odporności wrodzonej, wskutek czego wzrasta liczba leukocytów i stężenie cytokin prozapalnych. W makrofagach aktywują się enzymy lizosomalne i rozwija się stres oksydacyjny, a w nasieniu pogorsza się jakość plemników. Zaproponowano schemat procesu patologicznego: czynnik infekcyjny – reakcja zapalna – wytwarzanie cytokin prozapalnych (IL-1 β , – 6, – 8, TNF- α) – obniżenie stężenia katalazy – wzrost oksydazy ksantynowej – obniżenie liczby plemników i ich ruchliwości. Obserwacje bilansu oksydacyjnego (np. stosunku między aktywnością oksydazy ksantynowej a antyoksydantami o charakterze katalazo-mimetycznym) mogą przynieść wymierne korzyści w poszukiwaniach przyczyn idiopatycznej, męskiej niepłodności. Stres oksydacyjny w plazmie nasiennej może także wywołać poronienia u partnerki. Badania związku między stresem oksydacyjnym, a jakością nasienia i możliwym jego wpływem na przebieg ciąży należy koniecznie kontynuować [24].

Ogólny stan zdrowia mężczyzny

Podstawą do określenia powodu niepłodności pierwotnej u mężczyzny jest dokładny wywiad, który powinien zawierać m.in. pytania o przebiegu ciąży u matki, infekcji w wieku dziecięcym, szczegółów rozwoju płciowego itd. Następnie mężczyzna powinien wykonać badania ultrasonograficzne jąder i przydatków, spermogram i posiew nasienia. Nadal zaleca się im wykonanie testu postkoitalnego, jednak trzeba wspomnieć, że wyniki testu mają niską wartość prognostyczną, a zwłaszcza wobec określenia przyczyny niepłodności [15].

Wady anatomiczne u mężczyzny

Na płodność mężczyzny mocno oddziałują zabiegi urologiczne, takie jak podwiązanie nasieniowodów i ewentualny zabieg rekonstrukcyjny w celu odwrócenia jego skutków, a także zabieg usunięcia żylaków powrozka [33] czy orchidopexja [41], które mogą negatywnie

wpłynąć na spermatogenezę. Nieprawidłowa spermatogeneza występuje także u mężczyzn z hipoplazją jąder. Hipoplazja jąder może być skutkiem zahamowania ich zstępowania do moszny, zaburzenia rozwoju gonad w okresie płodowym, wreszcie skutkiem pierwotnego, wtórnego i trzeciorzędowego hipogonadyzmu. Dostatecznie często hipoplazja jąder rozwija się także po chorobach zapalnych układu rozrodczego, np. wirusowego zapalenia ślinianki z powikłaniami na wzór ostrego zapalenia jąder, zapalenia jąder na tle immunologicznym, zapalenia jąder wskutek infekcji bakteryjnej [23], zwłaszcza w wieku okopokwitaniowym.

CHOROBY SOMATYCZNE

W literaturze przedmiotu opisano badania krwi obwodowej i nasienia oraz porównano uzyskane wyniki, liczbę leukocytów i plemników u mężczyzn. Okazało się, że niska liczba leukocytów we krwi obwodowej kojarzyła się ze zmniejszoną liczbą plemników w nasieniu o obniżonej ruchliwości. Wyjaśnienie tego wydaje się przesądzać o wpływie zaburzeń homeostazy w funkcjonowaniu wielu narządów i układów na układ rozrodczy zarówno u mężczyzn, jak i kobiety oraz ich potomstwa. Zmiany w obrazie krwi obwodowej kojarzą się z istotnym obniżeniem parametrów nasienia [13].

Stosując precyzyjne metody badawcze, udowodniono, że u mężczyzn z ciężkimi chorobami somatycznymi (u których partnerki występowały liczne poronienia) parametry poszczególnych funkcji plemników, takich jak powiększanie objętości komórki pod wpływem płynu hiposmotycznego (tzw. pęcznienie hiposmotyczne, *hypo-osmotic swelling*), status akrosomalny i dekondensacja plemnikowej chromatyny były obniżone. Po zapłodnieniu komórki jajowej dysfunkcjonalnymi plemnikami prawdopodobnie rozwijał się wadliwy zarodek, co kończyło się zwykle poronieniem. Znaczy to, że plemnik nawet o prawidłowych parametrach seminologicznych nie zawsze jest pełnowartościowy funkcjonalnie [36].

Mężczyźni z nowotworami, chorobami reumatycznymi, łuszczycą często są leczeni metotreksatem. Udowodniono, że lek ten obniża liczbę plemników i pogarsza ich jakość [14]. Na podstawie klinicznych obserwacji donosi się o cytotoksyczności niektórych stosowanych leków i ich negatywnego oddziaływania na stężenie hormonów płciowych i aktywność spermatogenezy u mężczyzn. Zbadano 30 mężczyzn, którzy w dzieciństwie byli leczeni cyklofosfamidem. U 6 z nich w wieku dorosłym rozpoznano azoospermie, u 9 – oligozoospermie, a u reszty, jakkolwiek z prawidłową liczbą plemników, charakterystyka nasienia (skład plazmy nasiennej), ruchliwość plemników i odsetek prawidłowych postaci były patologiczne. U pacjentek, których partnerzy leczyli się azatiopryną, spośród 57 ciąż, trzy zakończyły się wcześniejszym poronieniem, a u jednego dziecka wykryto defekt cewy nerwowej. Stosowanie sulfasalazyny powoduje np. oligozoospermie, osłabia ruchliwość plemników, zwiększa liczbę plemników o patologicznej

morfologii. Po odstawieniu leku parametry natychmiast się poprawiają [19].

Cukrzyca jest przyczyną ciężkiej patologii mikro – i makrowaskularnej, z towarzyszącym wzrostem peroksydacji lipidów, białek i DNA. Istnieją doniesienia o mutacjach w mitochondrialnym DNA, w poszczególnych tkankach, co świadczy o zależnych od stresu oksydacyjnego uszkodzeniach. Cukrzyca i towarzyszący jej stres oksydacyjny mogą zaburzać funkcje płciowe u mężczyzny, impotencję, obniżenie się potencjału zapłodnieniowego (obniżenie ruchliwości plemników, ich koncentracji, zmiany w morfologii i patologię składowych plazmy nasiennej). U mężczyzn chorych na cukrzycę obserwuje się obniżone stężenie testosteronu we krwi wskutek dysfunkcji komórek Leydiga [2].

Geny mężczyzny – powiązanie z poronieniami u partnerki

Podstawą genetycznie uwarunkowanych poronień są patologie chromosomowe, a także poszczególne geny o znacznym oddziaływaniu na rozwój zarodkowo-płodowy [12]. Najbardziej rozpowszechnioną aberracją chromosomową (które nosicielami są mężczyźni), odpowiedzialną za poronienia są translokacje, czyli strukturalne aberracje chromosomowe oraz aberracje liczbowe, zwłaszcza w odniesieniu do monosomii oraz niektórych trisomii. W translokacjach zwykle najbardziej są zaangażowane chromosomy akrocentryczne, przy czym mogą dotyczyć nieprawidłowego parowania się (w postaci kwadriwalentów) w formule chromosomów homologicznych, jak i niehomologicznych. Translokacje zdarzają się w ludzkiej populacji z częstotliwością około 0,1%, jednak u par z poronieniami występują z 10-krotnie zwiększoną częstotliwością (1,1%), a u niepłodnych mężczyzn translokacje identyfikuje się aż u 2-3% [21].

Nie w każdym przypadku, translokacje ujawniają się ciężkimi objawami klinicznymi. Zrównoważona genetycznie postać translokacji nie działa fenotypowo, natomiast niezbalansowana (niezrównoważona) oddziałuje na fenotyp i przeżycie płodu. Niezrównoważona translokacja objawiająca się nieprawidłową segregacją chromosomalną (w czasie gametogenezy) może się stać przyczyną poronień. W zrównoważonych rearanżacjach chromosomowych, mogą być również zaliczone do grupy czynników sprzyjających wywołaniu poronień, ale nie jedynym ich czynnikiem sprawczym. Także do aberracji chromosomalnych związanych z poronieniami należą patologia 45,X, zdarzająca się mozaikowo u niektórych mężczyzn oraz poliploidie [12].

Do innej grupy czynników genetycznych przynależą ojcowskie geny ryzyka. Należy przeanalizować rodowód ojcowski w celu ujawnienia występowania u przodków chorób naczyniowo-sercowych (nadciśnienia tętniczego), które mogą być dziedziczone przez płód. Męska (albo płodowa) genetyczna autosomalna trombofilia może także spowodować poronienie u kobiety lub urodzenie martwe-

go płodu albo zaburzenie wewnątrzmacicznego rozwoju płodu (intrauterine growth restriction), czy stan przedzrzuawkowy [12].

Odkrycie nowych czynników immunogenetycznych ryzyka poronień

Pasaż komórek w obu kierunkach (matka-płód i odwrotnie) właściwy dla fizjologicznej ciąży, po porodzie może się ujawnić przetrwaniem niewielkiej liczby komórek allogenicznych u matki i jej potomstwa. Migrujące komórki mogą zaindukować zarówno matczyną jak i płodową cytotoksyczność limfocytów T, skierowaną przeciwko odziedziczonym po ojcu, jak i matczynym alloantygenom. Do takich alloantygenów przynależą np. określone antygeny leukocytarne (human leukocyte antigen; HLA) i tzw. słabe antygeny zgodności tkankowej (mHAG; minor alloantigen). W celu zidentyfikowania cytotoksycznych limfocytów T przeciw odziedziczonym ojcowskim alloantygenom mHAG, kodowanym na chromosomie Y zbadano matki oraz ich męskie potomstwo. Udowodniono, że u ponad 40% zbadanych kobiet wystąpił mikrochimerizm męski, ale nie wszystkie wykryte komórki były uczulone na mHAG i prawdopodobnie było to spowodowane wywołaniem swoistej tolerancji allogenicznej. W pewnym odsetku kobiet aktywności cytotoxicznej limfocytów w ogóle nie zaobserwowano. Innymi badaniami objęto limfocyty T regulatorowo-supresorowe (T-reg), swoiste dla peptydu H-Y, który był prezentowany przez cząsteczki głównego kompleksu zgodności tkankowej HLA. Nie udowodniono znamiennej korelacji między istnieniem swoistych T-reg skierowanych przeciw antygenom H-Y a istnieniem we krwi obwodowej kobiet komórek typu męskiego. Natomiast komórki CD 8⁺ i/lub CD 4⁺ T-reg, swoiste wobec peptydu H-Y, oznaczono i wykryto u kobiet o skomplikowanym przebiegu ciąży. Biorąc pod uwagę wszystkie uzyskane dane można stwierdzić, że mikrochimerizm komórek linii męskiej powinien być rozpatrywany jako czynnik ryzyka poronień [39].

Nawracające poronienia dzieli się na dwie kategorie – pierwotne i wtórne. Poronienia pierwotne przypadają na około 65% wszystkich przypadków nawracających poronień, a wtórne na około 35%. Wtórne poronienia w odróżnieniu od pierwotnych są często prowokowane samym porodem, ponieważ wzmagają transfer komórek płodowych do krwiobiegu matczynego. Matki potomstwa płci męskiej częściej immunizują się swoistym męskim peptydem H-Y. Peptyd H-Y to szczególny antygen płodowy krążący w krwiobiegu matczynym. Odpowiedź immunologiczna ciężarnej przeciw antygenowi pierwszego dziecka płci męskiej realizuje się zwykle wytwarzaniem przeciwciał przeciw antygenowi H-Y. Antygen ten jest prezentowany w kontekście antygenów HLA klasy I (HLA-A1, A2, A33, B7, B8, B52, B60) oraz klasy II (HLA-DQ5, DRB1*15*, 3*0301). Jeżeli prezentacja peptydu H-Y odbywa się w kontekście antygeny klasy II, donoszenie ciąży ma gorszą prognozę. W prezentacji antygenami HLA klasy I (a płód ma płeć męską), prawdopodobieństwo sukcesu ciąży osiąga aż 62%. Płodowe

komórki mikrochimeryczne, płodowe alloantygeny H-Y oraz limfocyty T „pamięci” mogą przetrwać w okresie postnatalnym. Zgodnie z regułami odporności swoistej obecność u matki przeciwciał skierowanych przeciw ojcowskiemu antygenowi HLA świadczy o złej perspektywie donoszenia ciąży, a obecność przeciwciał skierowanych przeciw antygenowi H-Y świadczy o możliwości donoszenia płodu płci żeńskiej. Wyniki przeprowadzonych badań immunogenetycznych i immunologicznych potwierdzają hipotezę, że aberrantna odpowiedź immunologiczna skierowana przeciwko antygenowi H-Y odgrywa raczej rolę negatywną i może się przyczynić do poronień wtórnych [31].

PARTNER MĘSKI POWODEM STANU PRZEDZRUCAWKOWEGO

W ostatnim dwudziestolecu ukształtował się pogląd, że partner męski może być czynnikiem ryzyka w zaindukowaniu stanu przedzrucawkowego u kobiety:

1. Wiek mężczyzny może się stać czynnikiem ryzyka, które zwiększa się dwukrotnie, jeżeli wiek obojga rodziców przekroczy 45 lat. Jedną z hipotez wskazuje, że przyczyną może być wzrost stopnia uszkodzenia plemnikowego DNA i patologiczne zmiany w strukturze gonady męskiej.
2. Obciążona historia rodziny ze strony męża w stosunku do wczesnego rozwoju chorób o charakterze cywilizacyjnym (m.in. nadciśnienia tętniczego, chorób naczyniowo-sercowych) podwyższa ryzyko powstania stanu przedzrucawkowego.
3. Nadwaga u mężczyzny jest niezależnym czynnikiem ryzyka dla ciąży, ponieważ może się przyczynić do skrócenia wieku ciążowego płodu w stosunku do jego dojrzałości [9].

Fragmentacja DNA w plemnikach

Genetyczna integralność męskiej komórki płciowej jest bardzo ważna dla ciąży fizjologicznej. Dane literatury przedmiotu udowadniają, że jednym z najważniejszych negatywnych wskaźników wartości zapłodnieniowej nasienia jest znaczny odsetek plemników z maszyną fragmentacją DNA. Fragmentację DNA w plemnikach oznacza się skrótem SDF (sperm DNA fragmentation) i jest jednym z najważniejszych parametrów plemnikowego DNA, dostępnych obecnie wykonywanym badaniem. Fragmentacja DNA może być wynikiem uszkodzenia DNA z niemożnością jego reparacji, która wiąże się ze specyficzną strukturą (jednoniciową) chromatyny plemnikowej, co szybko prowadzi do degradacji DNA i do apoptozy plemników. SDF może być indukowana przez stres oksydacyjny, tj. zjawisko w którym tworzenie się reaktywnych form tlenu (ROS; reactive oxygen species) przeważa zdolność ich neutralizacji przez enzymy o właściwościach antyoksydacyjnych [28]. Fragmentacja plemnikowego DNA oddziałuje negatywnie na rozwój ciąży, przy czym problem w jednakowym stopniu

dotyczy mężczyzny (uszkodzone plemnikowe DNA), jak i kobiet (niezdolność do reparacji plemnikowego DNA przez niezdolną do tego komórkę jajową). Zatem istnieje potrzeba dalszych badań nad czynnikami, które oddziałują na ten proces [28].

Polimorfizm antygenów *loci* HLA-C i HLA-G pary małżeńskiej – czynnik ryzyka stanu przedzrucawkowego

Stan przedzrucawkowy, to powikłanie ciąży, któremu towarzyszą nadciśnienie, obrzęki i białkomocz. Jest chorobą występującą u ludzi, a nie występuje wśród wyższych ssaków (także naczelnych). Do wyjaśnienia tego zjawiska wysunięto wiele hipotez, m.in., że kobieta w odróżnieniu od samic innych ssaków nie ma zdolności identyfikacji partnera biologicznie do niej dopasowanego. „Pomaga” w tym ewolucyjna utrata zdolności rozpoznawania feromonów (feromony zasocjowane są z głównym kompleksem zgodności tkankowej – major histocompatibility complex; MHC). Jeszcze w 1997 r. naukowcy porównywali dane otrzymane w modelach zwierzęcych z ludzkimi i wykazali, że selekcja partnerów przez kobietę na gruncie zmysłu węchu mogłaby potencjalnie pomóc w dopasowaniu partnera w zgodzie z optymalnym (komplementarnym) układem antygenowym HLA. W 2000 r. De Luca Brunori i wsp. opisali statystycznie istotne podwyższenie częstości homozygotycznych alleli HLA-DR w populacji powodujące zmniejszenie różnorodności antygenowej, a przez to wzrost liczby par małżeńskich ze stanem przedzrucawkowym (uwarunkowany tym zjawiskiem) w porównaniu z grupą kontrolną [8]. Jednak praktyczna realizacja możliwości oparcia się o rozpoznawanie optymalnego partnera przez kobietę wykorzystującą zmysł węchu jest niemożliwa [9], ponieważ została ewolucyjnie utracona na rzecz innych cech liczących się w doborze małżeńskim.

Cytotrofoblast wykazuje ekspresję nieklasycznych antygenów zgodności tkankowej (klasy I b) HLA-G i HLA-E i tym samym zabezpiecza tolerancję matczyne układu odpornościowego wobec płodu. Antygeny HLA-G na komórkach trofoblastu mają ograniczoną zdolność prezentowania antygeny przez co hamują jego rozpoznawanie jako „ciała” obcego; zapobiegają też cytotoksycznemu działaniu komórek NK, które biorą udział w adaptacji naczyniowej łożyska, odgrywając pozytywną rolę w końcowym sukcesie ciąży. Komórki NK wykazały równoległą ekspresję zarówno hamującą jak i aktywującą odpowiedź efektorową przez receptory immunoglobulinopodobne KIR/KAR, a ich modulacja przebiega angażując m.in. cząsteczki antygenów klasy I układu HLA (np. odziedziczone przez płód od ojca).

Cząsteczki HLA-C są jedynymi polimorficznymi cząsteczkami MHC (klasy I a) ulegającymi ekspresji na komórkach trofoblastu. Są to również najważniejsze ligandy receptorów KIR, które należą do rodziny aktywujących (KIR2DS) lub hamujących (KIR2DL) odpowiedź wrodzoną. Geny kodujące receptory KIR u człowieka są polimorficzne

i występują w dwóch haplotypach: A i B. W haplocie B występuje więcej receptorów aktywujących. Podczas ciąży matczynej fenotyp KIR może występować w postaci AA, AB albo BB. Również cząsteczki HLA-C występują w dwóch głównych grupach, HLA-C1 oraz HLA-C2. Te ostatnie silniej aktywują receptory hamujące odpowiedź efektorową.

Zaobserwowano, że stany przedrzucawkowe występują częściej u kobiet o charakterystyce AA cząsteczek KIR, szczególnie wówczas, gdy aktywność komórek uNK (uterine NK) jest silniej hamowana. Właśnie aktywacja, a nie hamowanie aktywności komórek uNK jest niezbędną do prawidłowego przebiegu ciąży, ponieważ promują wydzielanie cytokin/czynników wzrostu niezbędnych do rozwoju łożyska. Zaobserwowano, że matka mająca genotyp AA „nosząca” płód z antygenami HLA-C z haplotypem HLA-C2 ma realną szansę rozwoju stanu przedrzucawkowego [9].

Monogamia jako profilaktyka stanu przedrzucawkowego

Dawniej uważano, że regularne współżycie seksualne w małżeństwie obniża ryzyko **stanu przedrzucawkowego**. Wyjaśnienie tego ugruntowało się na zasadzie trwałości ekspozycji układu odpornościowego kobiety w stosunku do plemników męża, tj. przyszłego ojca. W 2004 r. opublikowano wyniki badań kobiet, które przed małżeństwem utrzymywały kontakty z różnymi partnerami. U żadnej z badanych kobiet nie zaobserwowano objawów **stanu przedrzucawkowego**. Natomiast ujawniono inne powikłania ciąży, jak np. patologia tętnic macicznych czy też nadciśnienie związane z ciążą. W ciągu trwałego współżycia pary małżeńskiej rozwija się tzw. tolerancja macierzyńska związana z odpornością wydzielniczą w stosunku do antygenów ojcowskich. Deponowanie plemników w żeńskim układzie rozrodczym uruchamia kaskadę procesów komórkowych i cząsteczkowych, które formują klasyczną reakcję zapalną. W reakcji bierze także udział wytwarzany w pęcherzykach nasiennych transformujący czynnik wzrostu- β (transforming growth factor- β ; TGF- β). W plazmie nasiennej TGF- β istnieje w dwóch postaciach; rozpuszczalnej (o 5-krotnie większej koncentracji niż we krwi) i związanej z błonami plemników. Czynniki TGF ukierunkowują odpowiedź immunologiczną, włączając w ten proces pomocnicze limfocyty T typu 2 i 3, swoje wobec antygenów plemnikowych. Istotne jest to, że TGF- β wyłącza z procesu aktywacji pomocnicze limfocyty T typu 1, nie powodując w ten sposób rozplemu limfocytów T o cechach cytotoksycznych i zabezpieczając plemniki przed uszkodzeniem [9].

Czynnikiem ryzyka, oprócz częstej zmiany partnera, może być także krótki okres między porodami. Następna ciąża będzie zwykle przebiegać bardziej harmonijnie, jeżeli pierwsza była z tym samym partnerem i przebiegała bez powikłań. Trzeba także brać pod uwagę czy partner męski sam nie urodził się z ciąży powikłanej preeklampsją. Jeśli kobieta z takim właśnie partnerem

zachodzi w ciążę z płodem płci męskiej, istnieje ryzyko przedwczesnego porodu. Wiadomo, że płody płci męskiej trudniej przeżywają stres. **Stan przedrzucawkowy** powiązany z czynnikiem męskim, zwykle przebiega z defektami kształtowania się łożyska [9].

Układ monogamiczny ma także niemałe znaczenie w profilaktyce zakażeń (które są również wymieniane jako czynniki ryzyka donoszenia ciąży). W grupie kobiet z poronieniami badano gen odpowiedzialny za wytwarzanie lektyny-2 wiążącej mannozę (mannose – binding lectin 2; MBL2). Wiążący mannozę lektynowy szlak indukcji układu dopełniacza aktywuje się, jeżeli MBL2 rozpoznaje i wiąże się z takimi grupami węglowodanowymi, jak mannozo – i N-acetylo-glukozaamina, oligocukry obecne w ścianie bakterii, wirusów, grzybów, czy pasożytów. Brak współdziałania tego układu w komplementarnych haplotypach MBL2 występując u kobiet z podwyższonym ryzykiem infekcji wirusowych (np. infekcjami wirusem herpes typu 5, czy cytomegalowirusem), objawia się zwykłymi poronieniami lub też powikłaniami preeklampsji. Jedną z możliwych przyczyn tego powikłania jest zakażenie cytomegalowirusem, co pogarsza jakość cytotrofoblastu i jego zakotwiczenie w endometrium, obniżając ekspresję na komórkach receptorów integryny $\alpha 1 \beta 1$ i modulujących układ odpornościowy antygenów HLA-G [4,9].

Do czynników rozwoju **stanu przedrzucawkowego** można też zaliczyć tzw. piętnowanie genomowe. Analiza haplotypów przeprowadzona w 2010 r. wykazała tzw. efekt ojciec-potomek, to jest tzw. maksymalne rozdzielanie alleliczne oddziałujące pozytywnie na rodzeństwo co (przez przeciwieństwo) zidentyfikowano także we wspólnych allelach występujących między rodzicem a potomstwem. Wykazano bowiem negatywny wpływ wspólnych alleli wyłącznie pochodzenia matczynego, a nie ojcowskiego. Jest istotnym, że czynnik wzrostu insulinopodobny-2 (insulin-like growth factor-2; IGF-2) jest ważnym czynnikiem zakotwiczenia trofoblastu i prawidłowej funkcji łożyska i pochodzi od ojca. Jeśli w tym genie ojcowskim, kodującym IGF-2, wystąpią nukleotydowe zmiany polimorficzne, może to wywołać ryzyko poronienia [9].

CZY METODY WSPOMAGANEGO ROZRODU ZAWSZE POMAGAJĄ?

Stosowanie metod wspomaganego rozrodu (assisted reproductive technologies; ART) jest obecnie bardzo rozpowszechnione. Istnieje także wiele różnych ulepszonych metod i podejść terapeutycznych wprowadzanych do praktyki klinicznej tak, aby zapobiec powikłaniom i zabezpieczyć prawidłowy przebieg ciąży. W celu zapewnienia koncepcji stosuje się: docytoplazmatyczne wprowadzenie plemnika do komórki jajowej (intracytoplasmic sperm injection; ICSI), donację plemników i komórek jajowych itd. Genetyczna diagnostyka preimplantacyjna zarodków jest przeprowadzana do ujawnienia możliwych wad genetycznych zarodka, mogących zakłócić jego rozwój (np. aberracje chromosomowe) jeszcze przed jego transferem do macicy [7,27,34,38]. Ponadto w niektórych

przypadkach korzystnie jest wcześniej rozpatrzyć, czy wskazane jest wykorzystanie ART dla konkretnej pary.

Przed zastosowaniem ART, należy uwzględnić niektóre ważne czynniki, które mogą oddziaływać na przebieg ciąży. Szczególnie starannie należy badać partnerów w wieku starszym, prowadzić odpowiednią profilaktykę (wcześniejsze mrożenie nasienia) u mężczyzn z nowotworami jąder i kobiet z nowotworami hormonozależnymi. Osobom w młodszym wieku należy, w fazie przygotowawczej do ART, zmienić tryb życia (używając więcej tłuszczu nienasyconych w diecie, ograniczyć ekspozycję na tytoń, alkohol i inne używki lub toksyny). Po wywiadach lekarskich i badaniach laboratoryjnych oraz klinicznych należy zdecydować się na rodzaj planowanego schematu stymulacji jajników i metody ART (inseminacja wewnątrzmaciczna, spontaniczne zapłodnienie *in vitro*, procedura ICSI itd.) [32].

Jeśli u mężczyzny występują choroby zapalne układu rozrodczego, zakres badań diagnostycznych trzeba poszerzyć. W razie obecności w ejakulacie zaburzeń ropnych (lub w wydzielinie gruczołu krokowego) niezbędna jest szczegółowa analiza plemnikowego DNA. Wolne rodniki tlenowe, obecne w nadmiarze w ejakulacie, mogą uszkadzać DNA i zainicjować apoptozę plemników wskutek czego może się gwałtownie zmienić ich potencjał zapłodnieniowy i jakość. W przypadku zapłodnienia komórki jajowej metodą ICSI plemnikiem z uszkodzonym DNA często dochodzi do rozwoju wadliwego zarodka. Może też wystąpić poronienie, a dziecko jeśli nawet się urodzi, może mieć wady genetyczne [5].

Wiadomo, że opryszczka genitalna powoduje tworzenie się kapsydu nie tylko w jądrach zakażonych komórek, ale także w ich cytoplazmie. Wiriony zakażne tam się tworzą, ale DNA wirusa pozostaje w dojrzałych plemnikach. Zidentyfikowano je w materiale aborcyjnym u kobiet ze zwykłymi poronieniami. Oznacza to, że u kobiet zapłodnionych takimi plemnikami, poronienia mogą wynikać po inseminacji, jak i po zapłodnieniu pozaustrojowym [4].

Pojawienie się sfragmentowanego DNA może się okazać w plemnikach dopiero wtedy, kiedy ejakulat otrzymuje się w czasie masturbacji z zamiarem jego spreparowania techniką ART. Szczególnie więc ważną jest integralność DNA w gametach u par, u których w wywiadzie stwierdzono niską jakość zarodków lub tzw. prawidłowe zarodki, które źle implantowały się w endometrium. Zgodnie z danymi piśmiennictwa, ciąża ma prognozę pomyślną, o ile fragmentacja plemnikowego DNA wynosi poniżej 30%. Przy zastosowaniu kriokonserwowanych plemników dawcy należy uważać, aby integralność molekularna tych komórek była satysfakcjonująca włącznie z ich organellami, takimi jak błony komórkowe, mitochondria, czy chromatyna. Fizjologiczna komórka jajowa ma potencjał regeneracyjny mogący naprawić uszkodzone plemnikowe DNA, jednak zarodek może stracić jakość. Jakość samej komórki jajowej zależy najbardziej od: wie-

ku kobiety, stanu jej jajników i funkcjonowania całego układu endokrynologicznego [28].

Osobnym problemem jest wykorzystanie w ART plemników, otrzymanych z ekstrakcji gonady. Badano zależność między wiekiem pacjentów a wnetrostwem i azoospermią w wywiadzie, wiek, w którym wykonywano orchidopeksję w dzieciństwie i jakość plemników (o ile była znana) w wieku dorosłym. Badano plemniki pozyskane z gonady metodą ekstrakcji (testicular sperm extraction; TESE) u 42 pacjentów, którzy przygotowywali się do zapłodnienia pozaustrojowego *in vitro* z wnetrostwem w wywiadzie (40 osób z wnetrostwem obustronnym, 2 osoby z jednostronnym). Pacjentów rozdzielono na dwie grupy: tych, u których wykonywano zabieg orchidopeksji w wieku do 10 lat oraz starszych (10-15 lat). Ogólna liczba pacjentów z obu grup, u których pozyskane nasienie w wieku dorosłym wyniosła 59%. Nie wykazano jednak różnic między badanymi grupami w odsetku zapłodnienia, implantacji i porodów z żywymi płodami u ich partnerek. Otrzymane wyniki wskazują, że wiek orchidopeksji nie jest statystycznie znaczącym czynnikiem zagrożenia normalizacji funkcji płodności u mężczyzny. Jednak należy uwzględnić, że obustronne wnetrostwo jest związane z licznymi defektami w funkcji wydzielniczej jąder, należy też pamiętać, że normalizacja struktury i funkcji plemników nigdy nie będzie całkowita i w najlepszym przypadku liczba pełnosprawnych plemników będzie znacznie obniżona [41], co może kwalifikować od razu do rozrodo wspomaganego. Jest pocieszające, że współczesne metody pozyskiwania plemników pozwoliły na uzyskanie gamet od 60% osobników z uprzednią historią wnetrostwa w dzieciństwie.

Inni badacze udowadniają, że ryzyko stanu przedrzucawkowego jest trzykrotnie wyższe u kobiet zapłodnionych metodą ICSI i/lub plemnikami uzyskanymi metodą TESE od mężczyzn z azoospermią [9]. Poważnym problemem par, u których przeprowadzono zapłodnienie metodą ICSI jest wysoki odsetek strat zarodka/płodu (total fertilization failure). To oznacza, że komórka jajowa może stracić zdolność do prawidłowej integracji z plemnikiem. Według różnych danych, tzw. straty rozrodcze obserwowano po próbach zapłodnienia *in vitro* (metodą ICSI) aż u 5-20% par [6]. Utrata zdolności do zapłodnienia komórki jajowej zdarzała się również po zapłodnieniu metodą ICSI wadliwym plemnikiem, jak i z ogólnie złą charakterystyką jakości plemników dawcy. W takim przypadku komórka jajowa traci zdolność aktywizowania plemnika, jaką mogłaby mieć w przypadku prawidłowej gamety męskiej [11].

PODSUMOWANIE

W przedstawionej pracy wymieniono tylko niektóre twierdzenia i hipotezy wybrane z bieżącego piśmiennictwa światowego. Nawet te wyselekcjonowane informacje wskazują na wagę problemu, ponieważ wynikają z wielu lat doświadczeń lekarzy klinicyistów i naukowców w dziedzinie medycyny wspomaganego rozrodo. Metody ART ciągle są ulepszane, a ich stosowanie powinno być dobierane indywidualnie.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abdulmedzhidova A.G., Kurilo L.F., Shileiko L.V., Makarova N.P., Klimova R.R., Kushch A.A.: Asymptomatic genital HSV infection and male infertility. *Urologija*, 2007; 3: 56-59
- [2] Amaral S., Oliveira P.J., Ramalho-Santos J.: Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr. Diabetes Rev.*, 2008; 4: 46-54
- [3] Astin M., Scott J.R., Worley R.J.: Pre-eclampsia/eclampsia: a fatal father factor. *Lancet*, 1981; 2: 533
- [4] Bocharowa E.N., Bragina E.E., Gusak J.K.: Geneticheskoe inficirowanie spermatozoidow pri neudachah ispol'zowanija reproduktywnych tehnologij i spontannom prirywianii beremennosti. *Urologija*, 2007; 3: 59-62
- [5] Bozhedomov V.A., Gromenko D.S., Ushakova I.V., Toroptseva M.V., Galimov S.N., Alexandrova L.A., Teodorovich O.V., Sukhikh G.T.: Oxidative stress of spermatozoa in pathogenesis of male infertility. *Urologija*, 2009; 2: 51-56
- [6] Combelles C.M., Morozumi K., Yanagimachi R., Zhu L., Fox J.H., Racowsky C.: Diagnosing cellular defects in an unexplained case of total fertilization failure. *Hum. Reprod.*, 2010; 25: 1666-1671
- [7] De Geyter C., Boehler B., Reiter-Theil S.: Differences and similarities in the attitudes of paediatricians, gynaecologists and experienced parents to criteria delineating potential risks for the welfare of children to be conceived with assisted reproduction. *Swiss Med. Wkly.*, 2010; 140: 13064
- [8] De Luca Brunori I., Battini L., Simonelli M., Clemente F., Brunori E., Mariotti M.L., Genazzani A.R.: Increased *HLA-DR* homozygosity associated with pre-eclampsia. *Hum. Reprod.*, 2000; 15: 1807-1812
- [9] Dekker G., Robillard P.Y., Roberts C.: The etiology of preeclampsia: the role of the father. *J. Reprod. Immunol.*, 2011; 89: 126-132
- [10] Eley A.: How to detect *Chlamydia trachomatis* in males? *J. Androl.*, 2011; 32: 15-22
- [11] Eley A., Pacey A.A.: The value of testing semen for *Chlamydia trachomatis* in men of infertile couples. *Int. J. Androl.*, 2011; 34: 391-401
- [12] ESHRE Capri Workshop Group.: Genetic aspects of female reproduction. *Hum. Reprod. Update*, 2008; 14: 293-307
- [13] Fatima P., Debnath B.C., Hossain M.M., Rahman D., Banu J., Begum S.A., Rahman M.W.: Relationship of blood and semen lead level with semen parameter. *Mymensingh Med. J.*, 2010; 19: 405-414
- [14] French A.E., Koren G., Motherisk Team: Effect of methotrexate on male fertility. *Can. Fam. Physician.*, 2003; 49: 577-578
- [15] Freour T., Delvigne A., Barrière P.: Evaluation of the male of the infertile couple. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 2010; 39 (8 Suppl. 2): S45-S52
- [16] Gorpinczenko I.I., Gurzhenko J.N., Klimentko P.M., Spiridonenko W.W.: Prakticheskij opyt kompleksnogo lecheniya bol'nykh ekskretorno-toksicheskim besplodiem. *Nowosti Medicyny i Farmacii*, 2010; 18: 10-12
- [17] Günyeli I., Abike F., Dünder I., Aslan C., Tapısız O.L., Temizkan O., Payaslı A., Erdemoglu E.: Chlamydia, Mycoplasma and Ureaplasma infections in infertile couples and effects of these infections on fertility. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 2011; 283: 379-385
- [18] Hanna C.W., Bretherick K.L., Liu C.C., Stephenson M.D., Robinson W.P.: Genetic variation within the hypothalamus-pituitary-ovarian axis in women with recurrent miscarriage. *Hum. Reprod.*, 2010; 25: 2664-2671
- [19] Janssen N.M., Genta M.S.: The effects of immunosuppressive and anti-inflammatory medications on fertility, pregnancy, and lactation. *Arch. Intern. Med.*, 2000; 160: 610-619
- [20] Kalinina S.N., Tiktinskij O.L.: Lechenie hronicheskogo prostatita, obeslowlennogo hlamidijnoj i ureaplazmiennoj infekciej i oslozhnennogo myzhschim besplodiem. *Urologija*, 2010, 3: 52-57
- [21] Keymolen K., Staessen C., Verpoest W., Michiels A., Bonduelle M., Haentjens P., Vandereelst J., Liebaers I.: A proposal for reproductive counselling in carriers of Robertsonian translocations: 10 years of experience with preimplantation genetic diagnosis. *Hum. Reprod.*, 2009; 24: 2365-2371
- [22] Kilic S., Yukse B., Tasdemir N., Dogan M., Ozdemir E., Yesilyurt A., Keskin I.: Assisted reproductive treatment applications in men with normal phenotype but 45,X/46,XY mosaic karyotype: clinical and genetic perspectives. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.*, 2010; 49: 199-202
- [23] Kirpatovskij I.D., Pokruchin N.A.: Transplantation of hormone-producing cells into the testicular paravascular fat hole in secretory infertility and gonadal hypoplasia. *Urologija*, 2008, 4: 43-46
- [24] Kurpisz M., Fraczek M., Piasecka M., Jędrzejczak P.: Oxidative stress, innate immunity and sperm quality. *J. Reprod. Immunol.*, 2011; 90: 140
- [25] Leushuis E., van der Steeg J.W., Steures P., Repping S., Schöls W., van der Veen F., Mol B.W., Hompes P.G.: Immunoglobulin G anti-sperm antibodies and prediction of spontaneous pregnancy. *Fertil. Steril.*, 2009; 92: 1659-1665
- [26] Matzuk M.M., Lamb D.J.: The biology of infertility: research advances and clinical challenges. *Nat. Med.*, 2008; 14: 1197-1213
- [27] Merhi Z.O., Pal L.: Gender "tailored" conceptions: should the option of embryo gender selection be available to infertile couples undergoing assisted reproductive technology? *J. Med. Ethics*, 2008; 34: 590-593
- [28] Meseguer M., Santiso R., Garrido N., García-Herrero S., Remohí J., Fernandez J.L.: Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. *Fertil. Steril.*, 2011; 95: 124-128
- [29] Moskowitz S.M., Chmiel J.F., Sternen D.L., Cheng E., Cutting G.R.: *CFTR*-related disorders. W: GeneReviews™ [Internet]. Red.: Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J.H., Bird T.D., Dolan C.R., Fong C.T., Smith R.J.H., Stephens K.; Seattle (WA): University of Washington, Seattle 2001, 1993-2013
- [30] Neimark A.I., Aliev R.T., Nozdrachev N.A., Krainichenko S.V., Elchaninova S.A., Zolovkina A.G., Popovtseva A.V., Bespalova O.V., Lyashenko L.A.: Defects in spermatogenesis and their correction in patients with chronic abacterial prostatitis. *Urologija*, 2008; 44: 46-50
- [31] Nielsen H.S., Steffensen R., van Halteren A.G., Spiering E., Miklos D., Claas F., Goulmy E., Christiansen O.B.: Anti H-Y immunity in secondary recurrent miscarriage – immunogenetic and immunologic evidence. *J. Reprod. Immunol.*, 2011; 90: 142-143
- [32] Oger P., Nicolle B., Wainer B., de Crécy M.A.: Informations for the infertile couple. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 2010; 39 (8 Suppl. 2): S100-S112
- [33] Pisipati S., Pearcy R.: The role of urological surgery in male infertility. *Hum. Fertil.*, 2010; 13: 233-241
- [34] Reinblatt S.L., Buckett W.: In vitro maturation for patients with polycystic ovary syndrome. *Semin. Reprod. Med.*, 2008; 26: 121-126
- [35] Revonta M., Raitanen J., Sihvo S., Koponen P., Klemetti R., Männistö S., Luoto R.: Health and life style among infertile men and women. *Sex. Reprod. Healthc.*, 2010; 1: 91-98
- [36] Saxena P., Misro M.M., Chaki S.P., Chopra K., Roy S., Nandan D.: Is abnormal sperm function an indicator among couples with recurrent pregnancy loss? *Fertil. Steril.*, 2008; 90: 1854-1858

[37] Szakina I.A., Pilipienko M.A., Poltoraka E.A., Liubawina A.E.: Sindrom poteri ploda. *Nowosti*, 2010; 16: 20-21

[38] Tiboni G.M., Verna I., Giampietro F., Leonzio E., Impicciatore G.G.: Cytogenetic findings and reproductive outcome of infertile couples referred to an assisted reproduction program. *Gynecol. Endocrinol.*, 2011; 27: 669-674

[39] Van Halteren A.G.: Tolerance and sensitization to minor histocompatibility antigens in mother-offsprings pairs. *J. Reprod. Immunol.*, 2011; 90: 132

[40] Wettasinghe T.K., Jayasekara R.W., Dissanayake V.H.: Y chromosome microdeletions are not associated with spontaneous recurrent pregnancy loss in a Sinhalese population in Sri Lanka. *Hum. Reprod.*, 2010; 25: 3152-3156

[41] Wisner A., Raviv G., Weissenberg R., Elizur S.E., Levron J., Machtinger R., Madgar I.: Does age at orchidopexy impact on the results of testicular sperm extraction? *Reprod. Biomed. Online*, 2009; 19: 778-783

[42] Zorn B., Ihan A., Kopitar A.N., Kolbezen M., Sesek-Briski A., Meden-Vrtovec H.: Changes in sperm apoptotic markers as related to seminal leukocytes and elastase. *Reprod. Biomed. Online*, 2010; 21: 84-92

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.