

# Analýza reprodukčních parametrů spermií a testikulární tkáně u pacientů s germinálním tumorem varlete - předběžné výsledky projektu

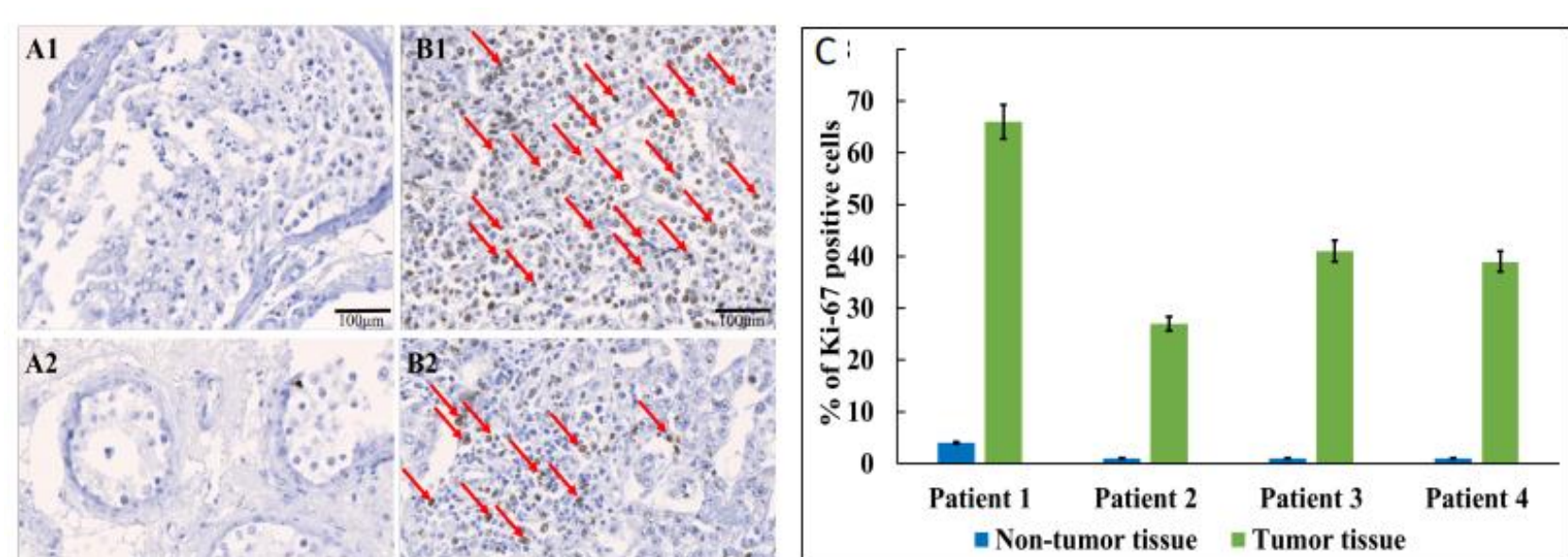
Tomáš Hradec<sup>1</sup>, Libor Zámečník<sup>1</sup>, Jan Novák<sup>1,3</sup>, Jakub Řezáč<sup>1</sup>, Kateřina Komrsková<sup>2</sup>, Zuzana Krátká<sup>3</sup>, Jiří Neužil<sup>4,5</sup>, Tomáš Büchler<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Urologická klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, <sup>2</sup>Laboratoř reprodukční biologie, Biotechnologické a biomedicínské centrum Akademie věd ČR a Univerzity Karlovy ve Vestci, <sup>3</sup>Embryologická laboratoř kliniky Gennet v Praze, <sup>4</sup>Laboratoř molekulární terapie, Biotechnologické a biomedicínské centrum Akademie věd ČR a Univerzity Karlovy ve Vestci, <sup>5</sup>School of Pharmacy and Medical Science, Griffith University, Southport, QLD, Australia, <sup>6</sup>Onkologická klinika Fakultní Thomayerovy nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

**Úvod:** Nádory z germinálních buněk varlete (TGCT) se výrazně častěji vyskytují v populaci se syndromem testikulární dysgenese a patospermií. V rámci výzkumného grantu zkoumáme změny v testikulární tkáni a ejakulátu u těchto pacientů. Cílem projektu je vyvinout nové diagnostické strategie pro evaluaci vzorků tkáně a spermatu. Získané data by pak bylo možné využít k výběru nejvhodnějšího vzorku pro asistovanou reprodukci.

**Metodika:** U pacientů s nově diagnostikovaným TGCT provádíme vyšetření ejakulátu před operací, odběr nádorové a zdravé testikulární tkáně při radikální orchiektomii a vyšetření ejakulátu měsíc po operaci. Při evaluaci vzorků tkáně varlete jsou kromě standardní histopatologie a imunohistochemie využity nejmodernější analytické metody jako respirometrie a dvoufotonová mikroskopie. Při vyšetření ejakulátu pak kromě standardního spermogramu dle WHO také vyšetření funkčních parametrů spermií jako motilita, integrita akrozomu, fragmentace DNA a epigenetické změny spermií.

**Výsledky:** Do projektu jsme zatím zařadili 29 pacientů indikovaných k radikální orchiektomii. Analýza integrity akrozomu a motility spermií prokázala vyšší výskyt funkční poruchy spermií u pacientů s TGCT. Toto koreluje také s vyšší fragmentací DNA spermií. Zhoršené parametry spermií jsou také závislé na závažnosti TGCT hodnoceném pomocí proliferačního markeru Ki-67. Epigenetický profil spermií je také významně alterován. Respirometrie prokázala vyšší spotřebu kyslíku mitochondriálními komplexy C I a C II u nádorové tkáně ve srovnání s tkání zdravou.



## Hodnocení detekce Ki-67:

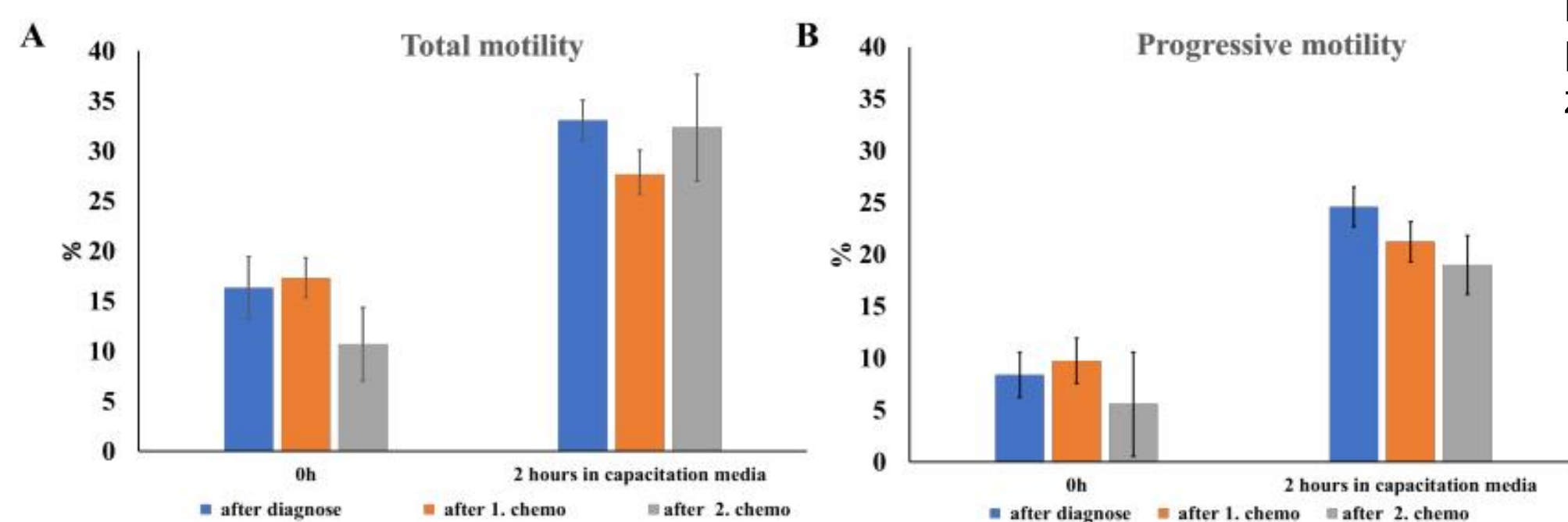
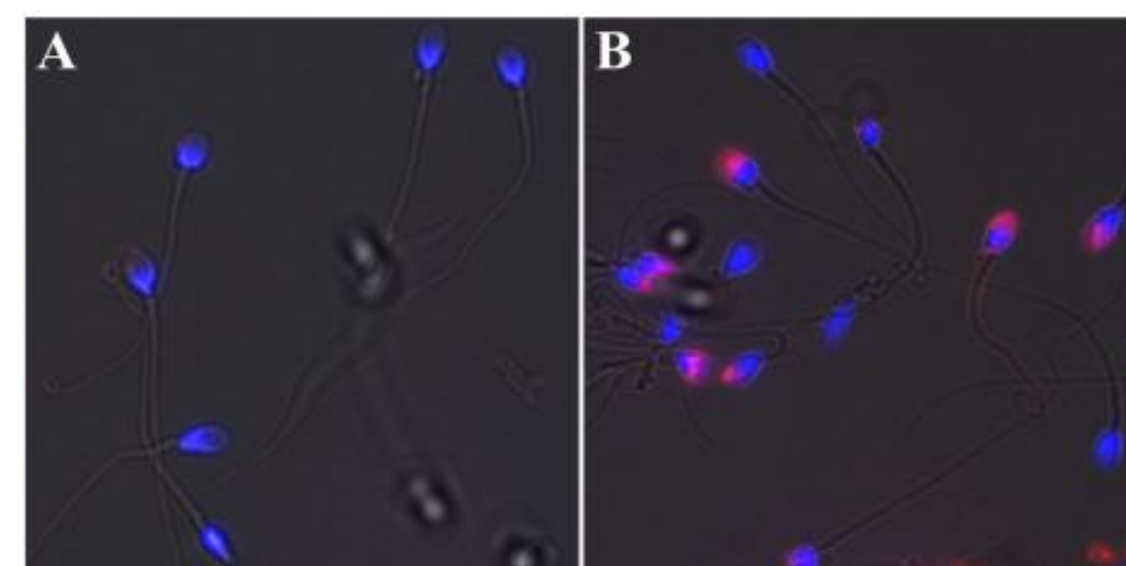
(A1-A4) zdravá tkáň; (B1-B4) nádorová tkáň; grafická prezentace dat; (n=4). (A1-A4) zdravá tkáň bez pozitivního signálu Ki-67. (B1-B4) nádorová tkáň s pozitivním signálem Ki-67

## Hodnocení spermogramu: normospermie (WHO 2021) vs. pacienti s TGCT

Spermogram	Total sperm count in ejaculate	Ejaculate volume	Sperm concentration	Total motility	Progressive motility	Sperm morphology (normal)
Normospermic (WHO 2021)	39 - 928 mil	1.5 - 7.6 mL	15 - 259 mil/mL	40 - 81 %	32 - 75 %	4 - 48 %
TGCT patients	76.4 mil	3.1 mL	28.1 mil/mL	47.8 %	35.9 %	7.7 %

## Hodnocení integrity akrozomu:

(A) kontrolní skupina dárců s normospermií, většina spermií má intaktní akrozom. (B) spermie pacientů s TGCT s poškozenými akrozomy značenými červeně.



**Hodnocení pohyblivosti spermií:** Průměrná hodnota motility spermií analyzovaná pomocí CASA v čase odběru (0h) a po kapacitaci in vitro (2h). (A) celková motilita; (B) progresivní motilita. Vzorek pacientů s TGCT: Před orchiektomií (n=15); po první chemoterapii (n=12); po druhé chemoterapii (n=7).

## Hodnocení integrity akrozomu (%): dárci s normospermií vs. pacienti s TGCT

Control	Control			Patient	Patient			
	n	Intact %	SEM		Damaged %	n	Intact %	SEM
	9	61.1	0.35	38.9	9	5.9	0.13	94.1

**Závěr:** Na základě předběžných výsledků projektu se jako nejvhodnější pro IVF jeví ejakulát odebraný před zahájením léčby. Spermie v těchto odběrech vykazují nejlepší celkovou i progresivní motilitu. Posouzení poškození akrozomu a stanovení fragmentace DNA spermií může pomoci při výběru nejvhodnější metody asistované reprodukce. Alterovaná mitochondriální aktivita testikulární tkáně a spermií u pacientů s TGCT poukazuje na možnost využití mitochondriálních markerů jako diagnostického nástroje pro evaluaci parametrů fertility u pacientů s TGCT. Proliferační marker Ki-67 se jeví jako slibný marker pro hodnocení závažnosti TGCT.