

Zawodne plemniki

MARTA OLSZEWSKA

MACIEJ KURPISZ

Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych

Instytut Genetyki Człowieka, Poznań

Polska Akademia Nauk

martaze@man.poznan.pl

kurpimac@man.poznan.pl

Najnowsze wyniki badań wskazują, że przyczyn niepłodności często należy szukać po stronie mężczyzny. Na szczęście przypadłość ta jest chorobą, którą dziś umiemy leczyć

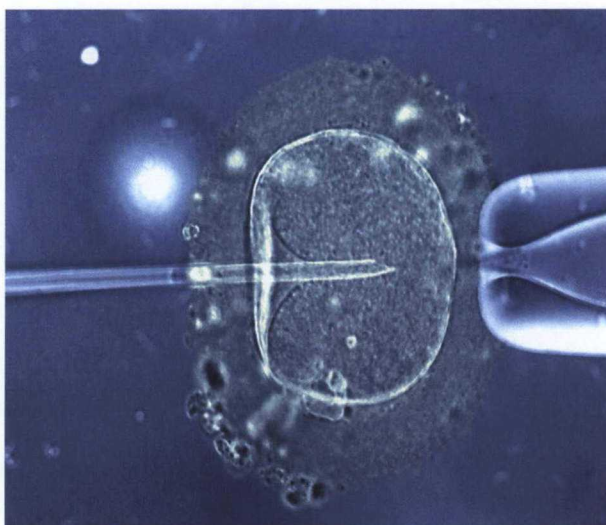
W tym roku w czerwcu po raz siódmy obchodzono Światowy Dzień Niepłodności. Organizowano akcje edukacyjne zwiększające stopień świadomości społecznej na temat niepłodności i promujące wcześniejsze zgłaszanie się osób dotkniętych tą przypadłością do lekarza. Dzień zainaugurowano w 2001 roku z inicjatywy Amerykańskiej Organizacji Niepłodności (*American Infertility Association - AIA*) przy współpracy z międzynarodową organizacją konsumencką *International Consumer Support for Infertility (ICSI)*. Na całym świecie niepłodne pary muszą mierzyć się nie tylko z barierami finansowymi, lecz także ze stresem, jaki wiąże się z upublicznieniem braku potomstwa. Dużym problemem są funkcjonujące stereotypy (np. w Bangladeszu niepłodność uważana jest za klątwę przynoszącą pecha) oraz przez ignorancję, uprzedzenia, fałszywy wstyd i brak akceptacji społecznej. Od roku 1978, kiedy na świat przyszła w Anglii Luisa Brown, już ponad milion dzieci urodziło się dzięki pozaustrojowemu zapłodnieniu *in vitro*. To świadectwo tych par, które w obliczu niepłodności nie poddały się, wskazując, że jest ona chorobą, którą można leczyć.

Najnowsze wyniki badań oraz informacje zbierane przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) podają niepłodność jako chorobę społeczną, która dotyczy 10-18% par. Szacuje się, że udział tzw. czynnika męskiego w niepłodności małżeńskiej to obecnie 40-60% wszystkich przypadków. Obok czynników genetycznych wśród przyczyn niepłodności bardzo ważną rolę odgrywają warunki i styl życia wynikające z postępu cywilizacyjnego, takie jak wiek rodziców, przebyte choroby, schorzenia lub wady narządów rozrodczych, nieprawidłowe funkcjonowanie układu hormonalnego, występowanie zaburzeń na tle psychicznym, przyjmowane leki oraz wpływ środowiska zewnętrznego - w tym stres i używki. Dane statystyczne

wskazują, że u coraz większej grupy mężczyzn parametry nasienia drastycznie się obniżają, czego odzwierciedleniem jest wzrastający wskaźnik niepłodności.

Problem w genach

Czynniki genetyczne są jedną z najważniejszych i bardzo częstych przyczyn decydujących o niepowodzeniu rozrodu. Do najczęstszych czynników genetycznych związanych z męską niepłodnością należą aberracje chromosomowe (w tym zespół Klinefeltera, translokacje chromosomów), delecje w chromosomie Y (mikrodelecje, głównie w specyficznych regionach), rozmaite mutacje genowe (np. w genie mukowiscydozy czy receptorze dla androgenów) oraz polimorfizm genowy (czyli różnice w odmianach genu). Męski czynnik genetyczny (w tym aberracje chromosomowe) stanowi obecnie około 10-15% przyczyn obniżonej płodności. Częstość występowania aberracji chromosomowych jest wyższa u niepłodnych mężczyzn (5% wszystkich czynników chromosomowych). U mężczyzn z azoospermią (brakiem plemników w ejakulacji) wzrasta aż do 15%. Najczęstszymi nieprawidłowościami są aneuploidie (nieprawidłowe ilości chromosomów) oraz aberracje strukturalne, wywołane np. pękaniem nici DNA, łamaniem chromosomów. Aneuploidie u człowieka wynikają z błędów w segregacji chromosomów matczynych i ojcowskich oraz wadliwej gametogenezy. W normalnym eja-



Podczas zabiegów ICSI do oocytu wprowadzany jest pojedynczy plemnik wyglądający prawidłowo. Może się jednak zdarzyć, że plemnik ma nieprawidłowe DNA. Wtedy zapłodnienie pozaustrojowe się nie powiedzie



Seven Bates, www.svc.hu

Niepłodność można leczyć. Już ponad milion dzieci urodziło się dzięki metodzie *in vitro*

kulacie można oczekiwać 10–14% plemników z aberracjami chromosomowymi. W populacji niepłodnych pacjentów aberracje chromosomowe zdarzają się znacznie częściej, i to zarówno wśród chromosomów plemnikowych, jak i chromosomów leukocytów krwi obwodowej. Najwyższy jest odsetek aberracji dla chromosomów płci.

Translokacje chromosomowe wzajemne

Częstym czynnikiem genetycznym wpływającym na męską niepłodność są translokacje chromosomowe wzajemne (TCW). Występują one z częstotliwością 0,9 na 1000 przypadków. Polegają na wzajemnej wymianie części materiału genetycznego pomiędzy dwoma chromosomami bez jednoczesnej zmiany liczby chromosomów. Bardzo często u nosicieli TCW nie występują widoczne zmiany i tak naprawdę nie do końca wiadomo, które z translokacji negatywnie wpływają na spermatogenezę. Szacuje się, że u mężczyzn z obniżoną liczbą plemników (oligozoospermia) oraz brakiem plemników (azoospermia) prawdopodobieństwo wystąpienia TCW jest siedmiokrotnie wyższe niż w populacji ogólnej. Ciekawe jest to, że praktycznie obecności translokowanych chromosomów mogą nie towarzyszyć zmiany w morfologii plemnika. Może to stanowić poważny problem przy zapłodnieniu pozaustrojowym. Standardowe badanie nasienia, włącznie z oceną morfologii plemnika, nie pozwala na stwierdzenie translokacji. Podczas zabiegów ICSI (intra-cytoplasmic sperm injection) do oocyta wprowadzany jest pojedynczy plemnik, który wygląda i porusza się prawidłowo. Istnieje więc wysokie ryzyko aplikacji plemnika z nieprawidłowym DNA.

Maciej Kurpisz



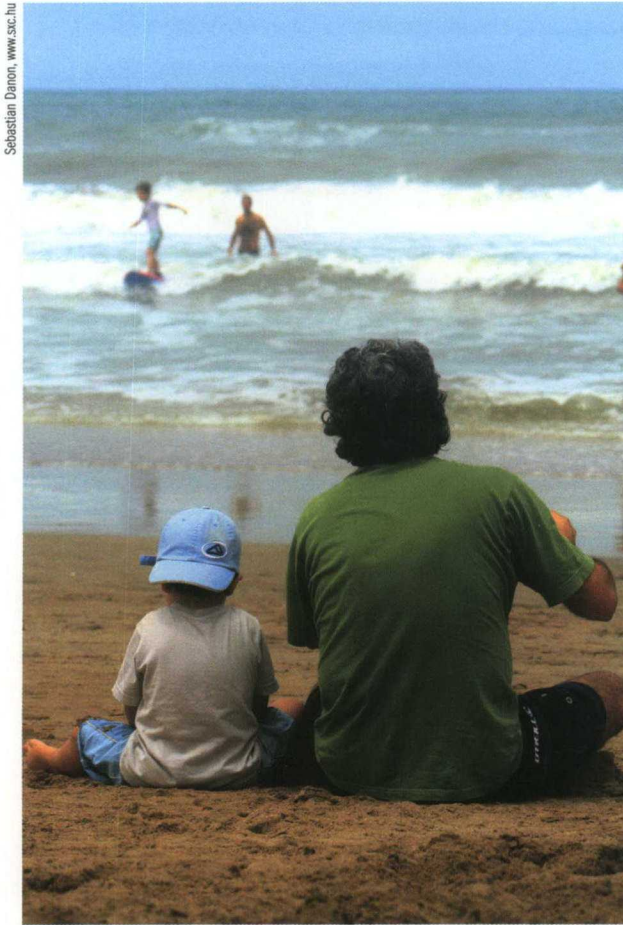
Do oceny nieprawidłowości w plemnikach, np. translokacji chromosomowych podczas spermatogenezy, stosuje się technikę FISH (fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*) z wykorzystaniem sond centromerowych. Kolorem zielonym wyznakowano centromer chromosomu X, czerwonym – chromosomu Y

Jeśli jest uszkodzony, zapłodnienie pozaustrojowe nie powiedzie się. Może dojść do obumierania zarodków na wczesnym etapie ich rozwoju lub zaburzeń w rozwoju zarodka i płodu. To prowadzi do poronień. Do oceny translokacji chromosomowych mających miejsce podczas spermatogenezy stosuje się zwłaszcza technikę FISH (fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*). Odsetek gamet zbalansowanych i niezbalansowanych określa się we wzorze segregacji mejozy (trójkolorowy FISH z sondami molekularnymi wyznakowanymi fluorochromami).

Własne miejsce

Badania z ostatnich 10 lat wskazują na znaczący postęp w poznawaniu wewnątrzjądrowej organizacji genomu zarówno w diploidalnej komórce somatycznej, jak i w haploidalnej gamecie. Coraz więcej uwagi poświęca się analizom mającym na celu potwierdzenie, że w jądrze komórkowym każdy chromosom zajmuje ściśle określone miejsce, tzw. terytorium chromosomowe (CT - *chromosome territory*). To terytorium wraz z przestrzeniami międzychromosomowymi (IC - *interchromosome compartment*) oraz elementami macierzy jądrowej tworzy wewnątrzjądrową

Genetyczne aspekty męskiej niepłodności



Sebastian Danon, www.sac.hu

U coraz większej grupy mężczyzn parametry nasienia drastycznie się obniżają. Odzwierciedla to wzrastający wskaźnik niepłodności

architekturę. Wzajemne umiejscowienie chromosomów prawdopodobnie stanowi jeden z ważnych czynników epigenetycznych regulujących ekspresję genów i prawidłowe funkcjonowanie genomu. Wydaje się, że w komórkach diploidalnych zarówno u roślin, jak i zwierząt wielkość i lokalizacja terytorium zależy od rozmiaru chromosomu, liczby genów, ich aktywności transkrypcyjnej, fazy cyklu komórkowego i rodzaju komórek. Męska komórka rozrodcza ma najbardziej interesujący sposób organizacji genomu.

Plemniki jest końcowym produktem spermatogenezy. Charakteryzuje się swoistą strukturą chromatyny. Jest ona ściśle związana z odwracalnym stanem „uśpienia” genomu, który w tym stadium nie ulega ani transkrypcji, ani replikacji. Dzięki uformowaniu chromatyny w transkrypcyjnie nieaktywną, maksymalnie skondensowaną konformację, jądro komórkowe plemnika stanowi tylko 5% objętości jądra diploidalnej komórki somatycznej. Konformacja ta jest skutkiem zastąpienia ponad 80% histonów przez protaminy, niskocząsteczkowe zasady białka. W konsekwencji DNA nie jest superhelikalnie skręcony, ale formuje się w postaci przypominającej obwarzanek (toroid). Zarówno terytoria, jak i chromatyna

poszczególnych chromosomów są cztero-sześciokrotnie silniej skondensowane. Interesujące jest, że chromosomy w plemniku przybierają konfigurację „szpilki do włosów”. Centromery chromosomów plemnika, czyli przewężenia, do których wiążą się chromosomy w trakcie podziału, tworzą skupisko w centralnym regionie jądra komórkowego plemnika. Jest to tzw. chromocentrum. Telomery, umiejscowione na końcach chromosomów struktury zapewniające stabilność, umiejscawiają się przy błonie komórkowej plemnika, tworząc dimery i tetramery. Przypuszczalnie to właśnie telomery są pierwszym elementem ojcowskiego genomu mającym bezpośredni kontakt z cytoplazmą komórki jajowej. W związku z tym taka konformacja chromosomów jest niezbędna do prawidłowej dekondukcji chromatyny podczas zapłodnienia, a to jest warunkiem prawidłowego rozwoju zygoty. Pod tym względem jądro plemnika oferuje unikatowy model do analizy topologii poszczególnych chromosomów. Szczególnie u mężczyzn z niepowodzeniami rozrodu – w tym nosicielami TCW. Okazuje się, że u nosicieli TCW lokalizacja chromosomów może się różnić w odniesieniu do kontrolnej grupy płodnych mężczyzn. W trakcie naszych badań pokazaliśmy, że w grupie sześciu różnych nosicieli TCW obszar chromocentrum przesunięty był jednocześnie bliżej akrosomu (przedniej części główki plemnika) i peryferium jądra komórkowego. Te zmiany mogą świadczyć o związku pomiędzy zakłóceniami spermatogenezy u nosicieli TCW ze zmianami architektury wewnątrzjądrowej plemnika.

Zbawienna selekcja

Naturalna selekcja zapobiega przekazywaniu nieprawidłowości powodujących niepłodność, w tym również translokacji. Niestety i ona czasem zawodzi. Zwłaszcza przy stosowaniu technik wspomaganego rozrodu. W konsekwencji wzrasta ryzyko przekazania wady genetycznej następnemu pokoleniu. W obliczu ogromnej liczby czynników wpływających na obniżenie płodności u mężczyzn warto zwrócić uwagę także na topologię chromosomów. Być może zmiany w lokalizacji chromosomów okażą się jednym z ważniejszych epigenetycznych elementów, krytycznych dla funkcji plemnika oraz wczesnego rozwoju zarodka, obecnie nierozpoznawalnych i traktowanych jako kolejne niepowodzenia rozrodu. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

- Wiland E., Żegała M., Kurpisz M. (2008). Interindividual differences and alterations in the topology of chromosomes in human sperm nuclei of fertile donors and carriers of reciprocal translocations. *Chromosome Res.*, 16, 291-305.
- Ferlin A., Arredi B., Foresta C. (2006). Genetic causes of male infertility. *Reprod. Toxicol.*, 22, 133-141.
- Semczuk M., Kurpisz M. (2006). *Andrologia*. Wyd. PZWL. <http://www.icsi.waw.pl> <http://www.theafa.org>