

PROTILÁTKY PROTI SPERMIÍM

TEREZIE SEDLÁČKOVÁ^a, JARMILA ZÍDKOVÁ^a, ANDREA BRÁZDOVÁ^a, MAGDALENA MELČOVÁ^a, VOJTĚCH ŠKOP^a, JAN CIBULKA^b a ZDENA ULČOVÁ-GALLOVÁ^b

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, Praha 6, ^b Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň, 326 00 Lochotín
jarmila.zidkova@vscht.cz

Došlo 4.12.08, přijato 12.3.09.

Klíčová slova: neplodnost, protilátky proti spermiím, autoantigen, semenná plazma

Obsah

1. Úvod
2. Vznik a působení protilátek proti spermiím
 - 2.1. Původ protilátek proti spermiím u mužů
 - 2.2. Původ protilátek proti spermiím u žen
 - 2.3. Tekutiny obsahující protilátky proti spermiím
 - 2.4. Povaha protilátek proti spermiím
 - 2.5. Potenciální mechanismy působení protilátek proti spermiím
3. Závěr

1. Úvod

V současné době se asi jedna pětina párů ve vyspělých zemích včetně České republiky potýká s neplodností. Neplodnost je podle Světové zdravotnické organizace definována jako neschopnost páru počít dítě během jednoho roku nechráněného pohlavního styku.

Příčiny neplodnosti jsou nejrůznějšího charakteru. Snížená plodnost může být způsobena např. nesprávným životním stylem, konzumací návykových a omamných látek, hormonálními poruchami, genetickými odchylkami a souvisí též s psychickým stavem. Také nesprávná funkce imunitního systému může vést ke snížení plodnosti. Mezi nejrozšířenější poruchu imunitního systému patří tvorba protilátek proti lidským pohlavním buňkám, zejména pak proti spermiím. Jde o tzv. protilátky proti spermiím (antisperm antibodies – ASA)^{1,2}.

Již na počátku 20. století bylo zjištěno, že zvířecí spermie mohou být imunogenní. Experimentální zvířata skutečně po imunizaci spermiemi produkovala protilátky. Mnohé studie se poté zaměřily na určení orgánové a druhové specifity antigenů na spermiích¹. Byla také popsána

přítomnost protilátek, které aglutinovaly a imobilizovaly spermie v krevních sérech žen, které nemohly z nevysvětlitelných důvodů otěhotnět. Rovněž bylo zjištěno, že v krevních sérech některých neplodných mužů se vyskytovaly protilátky proti spermiím a jejich neplodnost korelovala s hladinou těchto protilátek³.

ASA lze nalézt jak u mužů, tak u žen. Jejich výskyt byl zaznamenán u 9–36 % neplodných párů^{4–7}, přičemž u neplodných mužů se vyskytují asi v 8–21 % a u neplodných žen asi v 6–23 % celkové populace^{4,6–8}. Zároveň se však vyskytují asi u 12,5 % plodných mužů a u 1,4 % plodných žen^{5,7}. Nelze tedy říci, že všechny ASA, které se vyskytují, způsobují neplodnost^{5–7,9}. Jsou známy jak monoklonální, tak polyklonální protilátky, které se vážou na spermie, ale neinhibují proces fertilizace ani *in vitro*, ani *in vivo*⁵.

V současné době lze pomoci neplodným párům s takovou poruchou metodou intracytoplasmatické injekce (ICSI – intracytoplasmatic sperm injection), kdy je jediná spermie zavedena mikroinjekcí do cytoplasmy oocyty. Z tohoto důvodu se poněkud vytratil zájem o další výzkum ASA. Přesto však zůstává několik důvodů, proč ASA dále studovat. Existuje totiž široká škála mechanismů, kterými ASA působí. Porozumění těmto mechanismům spolu s moderní diagnostikou by mohlo umožnit lepší vytipování pacientů, u kterých ASA skutečně způsobují neplodnost, od pacientů, u kterých je sice výskyt ASA potvrzen, ale není pro jejich neplodnost významný. Navíc se již od 30. let 20. století systematicky testují kontracepční vakcíny pro ženy. Prohloubení našich znalostí o ASA by mohlo přispět k nalezení takového antigenu, s jehož pomocí by mohla být vyvinuta taková vakcína, která by byla bezpečná a navodila by reverzibilní, ale spolehlivou neplodnost¹⁰.

2. Vznik a působení protilátek proti spermiím

2.1. Původ protilátek proti spermiím u mužů

Protože tolerance k autoantigenům vzniká časně a spermie je buňka, která se do puberty nevyvíjí, nerozpozná dospělý imunitní systém sobě vlastní antigeny, které jsou na spermiích, a vyvolá proti spermiím imunitní odpověď. Proto musí anatomické a fyziologické mechanismy spermie před vlastní imunitní odpovědí aktivně chránit⁶.

Takovou ochranou je pro spermie hematotestikulární bariéra. Ta je složena z kontinuální vrstvy Sertoliho buněk uvnitř semenotvorných kanálků. Sertoliho buňky jsou velmi těsně propojeny a vytváří tak prostředí v centrální části semenotvorných kanálků, kam se nedostanou velké proteiny a buňky imunitního systému. Tato těsná spojení se u savců do puberty netvoří. Touto vrstvou se oddělí spermie a jejich prekurzory od imunitního systému. Není to

však jediný mechanismus ochrany spermií. U muže je mnohem větší množství spermií uloženo v nadvarletí a chámovodu než v semenotvorných kanálcích. Tyto části mužského reprodukčního traktu ale nemají kompletní anatomickou bariéru, a proto nemohou zabránit případnému vstupu buněk imunitního systému či úniku specifických antigenů spermií do mikrocirkulace, což může navodit imunitní odpověď. Proto existují imunosupresivní faktory, které brání rozvoji imunitní reakce proti antigenům spermií. Přesné mechanismy imunosuprese však ještě nebyly zjištěny^{7,10}. Předpokládá se však, že výskyt určité subpopulace CD8 lymfocytů (supresorové buňky) a CD8 aktivátorů ve spermatu brání destrukci spermií imunitním systémem¹¹. Uvažuje se např. i to, že malý únik specifických spermio- vých antigenů může navodit pozdní autotoleranci¹².

K poškození hematotestikulární bariéry může dojít při testikulárním traumatu, kongenitální absenci chámovodu^{8,10} nebo při jejím porušení při vasektomii^{3,4,8,10,13}, dále při varikokéle (rozšíření žilní pleteně v oblasti varlat), příušnicích, které jsou komplikované zánětem varlete^{5,8} a při úrazu páteře⁸. ASA byly detegovány také u pacientů s cystickou fibrózou⁷. V některých případech však může dojít k tvorbě ASA z nezjištěných příčin.

2.2. Původ protilátek proti spermiím u žen

Už v průběhu 20. a 30. let minulého století bylo zjištěno, že po intramuskulární imunizaci spermiemi u žen, které byly v minulosti plodné, u nich došlo k produkci potenciálně spermatoxického faktoru, který je chránil před těhotenstvím a byl měřitelný v séru. Proto lze spermii považovat za buňku, která může být pro ženu potenciálně imunogenní¹⁰.

Vagina a děložní hrdlo jsou vybaveny velmi aktivním slizničním imunitním systémem¹⁰. Je také dobře známo, že pohlavní styk stimuluje velký příliv leukocytů, neutrofilů a makrofágů do oblasti cervixu a dělohy. Tato zánětlivá imunitní odpověď pomáhá eliminovat abnormální spermie nebo spermie, které neoplovnily, zdá se však také, že tato imunitní odpověď je důležitá v přípravě ženského reprodukčního traktu na implantaci embrya, čímž zlepšuje plodnost¹⁴. Faktory obsažené v semenné plasmě spermatu, zvláště transformující růstový faktor β (transforming growth factor- β , TGF- β) a prostaglandiny, brání ve vývoji paternálně specifické imunitní odpovědi. TGF- β inhibuje proliferaci B-buněk, ale zároveň indukuje jejich přechod k produkci IgA. Tento efekt tedy může podporovat tvorbu ASA v ženském systému. To, jak se TGF- β projeví, závisí na jeho množství a také na koncentraci ostatních cytokinů a signálních molekul v lokálním prostředí. Množství aktivního a celkového TGF- β je různé v různých ejakulátech. Proto jeho množství a přítomnost ostatních cytokinů nebo imunoregulačních molekul v ejakulátu může hrát roli v tom, zda žena začne produkovat ASA či nikoliv. Zatím ale nebylo ověřeno, zda produkce ASA u žen koreluje s množstvím TGF- β , prostaglandinů a ostatních imunoregulačních buněk v partnerově ejakulátu¹⁰.

2.3. Tekutiny obsahující protilátky proti spermiím

ASA lze u mužů detegovat v krevním séru^{1–3}, semené plasmě^{3,10} a také na povrchu spermie^{5,15}. U mužů, kteří ASA tvoří z nezjistitelných příčin, tj. neutrpěli trauma varlat, atd., není jejich původ zcela jasný, ale předpokládá se, že jsou produkovány lokálně a nejde tedy o krevní transudát¹⁰.

U žen je produkce ASA lokálního charakteru. Zpočátku je lze nalézt v hlenu děložního hrdla. Jestliže je žena dlouhodobě a opakovaně imunizována stykem s antigeny spermií, začnou se pak ASA tvořit i v dalších částech reprodukčního traktu. Lze je pak najít v děložní dutině, vejcovodech, břišní dutině folikulární tekutině a krevním séru¹⁰.

2.4. Povaha protilátek proti spermiím

ASA obsažené v tekutinách neplodných jedinců jsou často ze třídy IgG, dále se vyskytují i IgA a IgM. U IgA se předpokládá, že by mohlo jít o lokálně produkovanou protilátku¹⁶, protože je součástí slizniční imunity. IgA koluje také v krvi a jeho poměr k IgG (nejčastější typ protilátek) 1:5 je zachován jak v séru, tak v ostatních tekutinách, např. cervikálním hlenu¹⁷.

2.5. Potenciální mechanismy působení protilátek proti spermiím

Bylo zjištěno několik možných mechanismů, kterými mohou ASA působit na spermie – mohou spermii imobilizovat a znemožnit tak její transport, mohou ovlivnit kapacitaci a akrosomovou reakci, a tím i průnik spermie do vajíčka. ASA mohou také aktivovat komplement a působit proti embryu.

Spermie musí po ejakulaci překonat překážku v podobě cervikálního hlenu. Ten je v době ovulace hojný a řídký, proto je v této době průnik spermie nejjednodušší. Cervikální hlen zároveň působí jako filtr, který nepustí do vyšších pasáží ženského reprodukčního traktu abnormální spermie a oddělí je tak od zdravých nepoškozených spermií, které mohou dále postupovat. ASA mohou poškodit běžnou interakci spermie s cervikálním hlenem^{18–20} tím, že inhibují průnik spermií cervikálním hlenem, i když jsou spermie zcela nepoškozené²¹, a to především lokálně produkované ASA typu IgA^{22,23}. Pravděpodobně sekretorní komponenta IgA vázaného k povrchu spermie se váže také ke glykoproteinům cervikálního hlenu a způsobuje tak kývavý pohyb spermie v hlenu²⁴, rovněž Fc-oblasti IgA spermie mohou způsobit tento jev²⁵. ASA mohou zpomalit nebo inhibovat pohyb spermií v děložní dutině a vejcovodech²⁶.

Aby mohla spermie oplodnit vajíčko, musí po ejakulaci projít mnoha změnami, které se souhrnně nazývají kapacitace. Tento proces ještě není plně objasněn, sestává ale z fosforylace proteinů a redistribuce lipidů a vyústí v destabilizaci membrány^{27,28} a je důležitý pro usnadnění akrosomální reakce, která pak vede ke splynutí spermie

a oocyty. ASA mohou svou vazbou bránit ve změně fluidity membrány a tím znemožnit proces kapacitace²⁹. Názory na ovlivnění akrosomové reakce prostřednictvím ASA se však různí: např. procento spermií, u kterých proběhla akrosomová reakce je vyšší u těch, na které byly navázány ASA³⁰, naopak ASA nemají žádný efekt na akrosomovou reakci³¹. Tyto příklady ukazují, že ASA mají na kapacitaci a akrosomovou reakci různý vliv; některé mohou tyto děje nepříznivě pozměnit, jiné ne.

Jako komplement se označuje soustava zhruba 30 sérových a membránových proteinů, které kooperují jak mezi sebou, tak s dalšími imunitními mechanismy. Základními složkami komplementu jsou sérové proteiny označované C1–C9. Po různých podnětech dochází ke kaskádovitě aktivaci jednotlivých složek. Meziprodukty této kaskádovité reakce mají výrazné biologické funkce (opsonizace, chemotaxe). Terminální produkt komplementové kaskády perforuje membrány cizorodých mikroorganismů nebo buněk, působí jejich lysi, a tím je zabíjí³². Interakce komplement-aktivujících ASA s normálními spermii vede k významnému snížení pohyblivosti spermií a také k morfologickým změnám na spermii a následně lysi *in vitro*³³. Bylo dokázáno, že ASA vázající se na spermie získané z ejakulátů mužů s ASA jsou schopné aktivovat komplement³⁴.

Studie na různých zvířecích modelech ukázaly asociaci mezi ASA a post-implantační degenerací embrya³⁵, v jedné studii u králíka byla nalezena křížová reakce tekutin obsahujících ASA s králíčí morulou a blastocystou, která měla embryotoxický efekt v *in vitro* kultuře³⁶. Existují však i některé důkazy, které spojují imunitu proti spermii s postfertilizačními účinky u lidí, např. se spontánními potraty v prvním trimestru u žen s ASA¹⁰. Důvodů, proč by ASA měly reagovat s embryem, je několik. Za prvé je membrána spermie integrována jako mozaika do membrány zygoty při oplodnění, a tak jsou antigeny spermií obsaženy ve vyvíjejícím se embryu, i když pouze v jen velmi nízké hustotě³⁷. Expresí genů v embryu může vést k syntéze antigenů, se kterými mohou ASA křížově interagovat. Tudiž při vývoji embrya, zejména pak při rýhování blastocysty, mají ASA příležitost k vazbě na křížově reagující antigen a potenciálně tak mohou způsobit degeneraci embrya nebo případně znemožnit jeho implantaci³⁸.

3. Závěr

Problém neplodnosti se v posledních letech stává stále více aktuálním tématem. Žijeme v moderní rychlé době s velkým množstvím stresových situací, vzhledem k současnému životnímu stylu neustále přibývá neplodných párů. Snahou a cílem současného vědeckého úsilí je pokud možno co nejméně invazivním způsobem těmto lidem pomoci a zároveň popsat faktory, které neplodnost způsobují a mechanismus, jakým k tomu dochází. Těchto faktorů je celá řada, od nejrůznějších chorob a genetických vlivů až po životní prostředí, psychický stav a antikoncepci. Mnohé z faktorů spolu souvisí, jejich negativní účinek

se ovlivňuje a může vyústit právě v neschopnost početí.

Vznik protilátek proti spermii (ASA) jak u mužů, tak u žen může souviset s řadou vnějších i vnitřních faktorů a stává se proto častou příčinou neplodnosti. Existuje velmi mnoho mechanismů, jakými mohou ASA negativně působit. Důkladný popis a pochopení těchto mechanismů, které je předmětem vědeckého bádání, by v budoucnu mohlo vést ke spolehlivému sledování poruch a později k navržení účinné terapie neplodnosti.

Tato práce byla podpořena granty: výzkumný záměr MŠMT 0021620812 a výzkumný záměr MŠMT 60446137305.

LITERATURA

1. Bronson R. A.: *J. Reprod. Immunol.* 45, 159 (1999).
2. Mazumdar S., Levine A. S.: *Fertil. Steril.* 70, 799 (1998).
3. Bohring C., Klepper L., Krause W.: *Andrologia* 36, 286 (2004).
4. Rümke P. H., Hellinga G.: *Am. J. Clin. Pathol.* 32, 357 (1959).
5. Bohring C., Krause W.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 50, 411 (2003).
6. Naz R. K.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 51, 390 (2004).
7. Ohl D. A., Naz R. K.: *Urology* 46, 591 (1995).
8. Shibahara H., Tsunoda T., Taneichi A., Hirano Y., Ohno A., Takamizawa S., Yamaguchi C., Tsunoda H., Sato I.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 47, 146 (2002).
9. Kamieniczna M., Domagała A., Kurpisz M.: *Med. Sci. Monit.* 9, 142 (2003).
10. Chamley L. W., Clarke G. N.: *Semin. Immunopathol.* 29, 169 (2007).
11. Witkin S. S.: *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* 17, 61 (1988).
12. Tung K. S. K., Unanue E. R., Dixon F. J.: *J. Immunol.* 106, 1463 (1971).
13. Hellema H. W. J., Rümke P.: *Clin. Exp. Immunol.* 31, 18 (1978).
14. Robertson S. A.: *Cell Tissue Res.* 322, 43 (2005).
15. McLachlan R. I.: *J. Reprod. Immunol.* 57, 35 (2002).
16. Kutteh W. H., Kilian M., Ermel L. D., Byrd E. W., Mestecky J.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 31, 77 (1994).
17. Davajan V., Nakamura R. M., Saga M.: *Biol. Reprod.* 6, 443 (1972).
18. Bronson R. A., Cooper G. W., Rosenfeld D. L.: *Fertil. Steril.* 41, 609 (1984).
19. Check J. H., Bollendorf A., Katsoff D., Kozak J.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 32, 38 (1994).
20. Clarke G. N.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 6, 195 (1984).
21. Morgan H., Stedronska J., Hendry W. F., Chamberlein G. F., Dewhurst C. J.: *Lancet* 1, 1228 (1977).
22. Menge A. C., Medley N. E., Mangione C. M., Dietrich J. W.: *Fertil. Steril.* 38, 439 (1982).
23. Menge A. C., Beitner O.: *Fertil. Steril.* 51, 486 (1989).
24. Kremer J., Jager S.: *Int. J. Androl.* 3, 143 (1980).

25. Bronson R. A., Cooper G. W., Rosenfeld D. L., Gilbert J. V., Plaut A. G.: *Fertil. Steril.* 47, 985 (1987).
26. Shibahara H., Shigeta M., Toji H., Koyama K.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 34, 120 (1995).
27. Flesch F. M., Gadella B. M.: *Biochim. Biophys. Acta.* 1469, 197 (2000).
28. de Lamirande E., Leclerc P., Gagnon C.: *Mol. Hum. Reprod.* 3, 175 (1997).
29. Benoff S., Cooper G. W., Hurley I., Mandel F. S., Rosenfeld D. L.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 30, 113 (1993).
30. Romano R., Santucci R., Marrone V., Francavilla F.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 29, 56 (1993).
31. Francavilla F., Romano R., Santucci R.: *Am. J. Reprod. Immunol.* 25, 77 (1991).
32. Hořejší V., Bartůňková J.: *Základy imunologie*. Triton, Praha 2005.
33. D'Cruz O. J., Haas G. G., Wang B. L., DeBault L. E.: *J. Immunol.* 146, 611 (1991).
34. D'Cruz O. J., Wang B. L., Haas G. G.: *Biol. Reprod.* 46, 721 (1992).
35. Menge A. C.: *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 10, 171 (1970).
36. Menge A. C., Rosenberg A., Burkons D. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 145, 371 (1974).
37. O'Rand M. G.: *J. Exp. Zool.* 202, 267 (1977).
38. Menge A. C., Naz R. K.: *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* 18, 17 (1988).

T. Sedláčková^a, J. Zídková^a, A. Brázdová^a, M. Melčová^a, V. Škop^a, J. Cibulka^b, and Z. Ulčová-Gallová^b (^a*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague,* ^b*Department of Gynecology and Obstetrics, Charles University and Faculty Hospital, Pilsen*): **Antisperm Antibodies**

Infertility affects about 20 % of the population in advanced countries including the Czech Republic. The reasons are hormonal, genetic, mental or immunological abnormalities. The most common immunological disorder is the production of antibodies against oocytes and sperm cells. The sperm cell has a potentially immunogenic structure for both women and men. Anti-sperm antibodies can be used for monitoring infertility. Several antigens on sperm cells have been characterized.

**Proděkan chemické sekce Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze
upozorňuje na přijímací řízení v**

**bakalářských oborech studijního programu
Chemie, Biochemie, Klinická a toxikologická analýza
ve školním roce 2010/2011.**

Ke studiu budou přijati uchazeči s ukončeným úplným středním nebo úplným středním odborným vzděláním, kteří splní požadavky testu všeobecných studijních předpokladů. Přihlášky a podrobné informace lze získat na adrese: PřF UK, studijní oddělení, Albertov 6, 128 43 Praha 2, tel: 221 951 155, 221 951 156. Přihlášky ke studiu se přijímají do 28. února 2010.

**Další informace naleznete na webových stránkách PřF UK
www.natur.cuni.cz.**