

STRESZCZENIE

Niepłodność jest problemem dotyczącym ok. 15% - 20% par w wieku reprodukcyjnym, z czego czynnik męski może stanowić nawet połowę tych przypadków. Pomimo postępu medycyny, wciąż wysoki odsetek niepłodności męskiej jest o nieznanym etiologii, dlatego w ostatnich latach wzrosła liczba badań tego problemu na poziomie molekularnym, w tym na poziomie białek. Badania proteomowe niepłodności męskiej zostały zapoczątkowane już ponad 20 lat temu, a obecny postęp tej technologii sprawił, że wciąż odgrywają swoją niezastąpioną rolę w ustaleniu jej przyczyn. W niniejszej pracy doktorskiej przedstawiono zestaw trzech publikacji (jedna praca przeglądowa oraz dwie prace oryginalne), których celem było ustalenie molekularnych przyczyn niepłodności męskiej przy wykorzystaniu technik proteomiki. W badaniach uwzględniono dwa różne typy niepłodności męskiej: niepłodność na tle immunologicznym oraz asthenozoospermie.

Zawarte w pracy badania obejmowały: 1) identyfikację antygenów plemnika przy użyciu ASA-pozytywnych surowic krwi pochodzących od niepłodnych kobiet i mężczyzn, 2) identyfikację antygenów plemnika przy użyciu ASA-negatywnych surowic krwi pochodzących od zdrowych, płodnych osób kontrolnych, 3) identyfikację białek oraz ścieżek metabolicznych związanych z występowaniem izolowanej asthenozoospermii oraz 4) określenie stanu fizjologicznego mitochondriów plemnika w oparciu o analizę błonowego potencjału mitochondrialnego oraz oznaczenie poziomu generowanych przez niego RFT. Dodatkowo, wyniki uzyskane w badaniach obu typów niepłodności były walidowane przy zastosowaniu immunoblotowania typu Western, a w przypadku asthenozoospermii, również immunofluorescencji.

Identyfikacja immunoreaktywnych białek plemnika pozwoliła na ich klasyfikację w 3 grupach antygenów: 1) antygeny rozpoznawane specyficznie przez ASA-pozytywne surowice (32 antygeny), 2) antygeny rozpoznawane zarówno przez ASA-pozytywne, jak i ASA-negatywne surowice (35 antygenów) oraz 3) antygeny rozpoznawane wyłącznie przez ASA-negatywne surowice kontrolne (13 antygenów). Wśród antygenów specyficznie rozpoznawanych przez ASA-pozytywne surowice, aż 12 białek znanych jest ze swojej roli w procesie zapłodnienia. Ponadto, w badaniach zidentyfikowano 3 białka rozpoznane

specyficznie przez niepłodne kobiety. Dwa z nich (ARSA, TCP1-theta) to białka związane z interakcją plemnika z osłonką przejrzystą oocytu, natomiast trzecie białko (ARRDC5) jest plemnikowo swoiste, jednak jego rola w zapłodnieniu nie jest jeszcze znana.

W badaniach nad przyczynami izolowanej asthenozoospermii zidentyfikowano 25 białek o zmienionej ekspresji. Większość z tych białek posiadała obniżoną ekspresję i związana była ze szlakami metabolicznymi odpowiedzialnymi za produkcję energii. W badaniach wykazano również obniżony potencjał mitochondrialny w grupie mężczyzn z asthenozoospermią, co potwierdza hipotezę o osłabieniu funkcji mitochondriów w plemniku. Ponadto, badanie poziomu RFT pochodzenia mitochondrialnego świadczy o roli stresu oksydacyjnego w etiologii tej męskiej niepłodności. Wśród grupy białek o zmienionej ekspresji zidentyfikowano 3 białka, których wydzielanie zachodzi w najądrzach. Ekspresja dwóch z nich (LTF, DJ-1) jest ściśle skorelowana z poziomem stresu oksydacyjnego, co może świadczyć, iż izolowana asthenozoospermia wywołana została przez wzrost poziomu RFT w najądrzach, a nawet jądrach.

Podsumowując, przedstawione badania przyczyniają się do poznania etiologii dwóch typów niepłodności: niepłodności na tle immunologicznym oraz asthenozoospermii. Uzyskane wyniki wskazują, że niektóre reakcje przeciwciał z plemnikami mogą być naturalnym zjawiskiem, jednak dopiero w określonych warunkach mogą przeistoczyć się w reakcje swoiście skierowane przeciwko plemnikom. Ponadto, w pracach wykazano, że rozpoznawane przez ASA antygeny mogą mieć istotne znaczenie dla zapłodnienia oraz, że kobiety także mogą rozwijać odpowiedź immunologiczną, swoiście skierowaną przeciwko plemnikom. W przypadku badań nad izolowaną asthenozoospermią uzyskane dane wyraźnie wskazują, że patologia ta jest wynikiem panującego w układzie rozrodczym stresu oksydacyjnego oraz, że obecne w nim RFT uszkadzają przede wszystkim mitochondria plemników prowadząc zarazem do ich niewydolności funkcjonalnej oraz spadku produkowanej przez nie energii niezbędnej do prawidłowego ruchu plemników.