

İnsan spermiyle birlikte depo edilen lökositler nötrofil hücre dışı tuzakların oluşumunu tetikler, sperm hareketliliğini azaltır

Zambrano F., Carrau T., Artner U.G., et al
Fertil Steril. 2016 Oct;106(5):1053–1060

İnfertilite sorunu dünya çapında artmakta olan bir sağlık sorunudur. İnfertilitenin tanı ve tedavisinde son yıllarda kaydedilen ilerlemelere rağmen olguların %10–%20'sinde tam bir etiyoloji saptanamamıştır. Çeşitli inflamatuvar hastalıklar; kadın üreme sistemi içerisindeki bakteriyel vajinöz, kandidiaz ve benzeri bulaşıcı vajinit formları da dahil olmak üzere cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBH) sonrası ortaya çıkabilir. Tüm CYBH'da lökositöz oluşur, spermiler genellikle polimorfonükleer nötrofillere (PMN) maruz kalırlar. Fagositozun yanı sıra, PMN, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesine, antimikrobiyal peptitlerin/proteinlerin serbest bırakılmasına ve nötrofilin oluşumuna neden olan oksidatif patlama aktivitesi gibi, patojenler ve spermilere karşı savaşmak ve de sonunda öldürmek için bir takım efektör mekanizmalarına sahiptir. Ekstraselüler nötrofil tuzakları (NET) bunlardan biridir.

NET, NETozis olarak rapor edilen PMN'in hücre ölüm sürecinden sonra serbest bırakılır ve esas olarak hücre dışı alana yerleşir. Spermatozoa tarafından tetiklenen NETozis'in arkasındaki moleküler mekanizmalar hakkında çok daha az şey bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, sadece canlı spermilerin insan PMN'i ile doğrudan etkileşimini araştırmak değil, aynı zamanda bu yeni hücre ölüm sürecinde yer alan efektör moleküller ve sinyal yolları hakkında kanıt sağlamak olarak belirtilmiştir. Buna ek olarak, NET'dan türetilen zararlı etkenlerle "yakalanan" spermilerdeki istenmeyen etkileri (motilitede düşüş gibi) değerlendirmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada kan örnekleri, 20 ila 35 yaş arasındaki sağlıklı kadın gönüllülerden (n=6) kullanılmıştır. Her donörün sefalik damarından otuz ml kan alınmıştır. PMN'in izolasyonu ekstraksiyon işleminden hemen sonra başlamıştır. Sperm örnekleri 20–26 yaş arasındaki erkeklerden (n=4) elde edilmiştir. Sperm örnekleri, 3 günlük cinsel perhiz masturbasyon yoluyla elde edilmiştir. Numuneler, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yapılan tavsiyelere göre değer-

lendirilmiş ve sadece NET ile ilgili deneyler için DSÖ tarafından belirlenen normal aralıklarda semen parametreleri olanlar kullanılmış. PMN, insan spermatozoa'sı ile 2 saat boyunca 1: 6 (25–104: 15–105) oranında inkübe edilmiş. Sonrasında bazı santrifüj, yıkama ve inkubasyon işlemleri daha yapılmış. Son aşamada ters flüoresan mikroskop kullanılarak numuneler hemen gözlemlenmiş. NET sayımı spektrofotometrik analiz ve otomatik monokrom okuyucu ile gerçekleştirilmiştir.

İnsan PMN'inin yaşamsal insan spermatozoasına maruz kalması, spermilere sıkı sıkıya bağlanan NET'nin oluşumunu tetiklemiş ve spermilerin yakalanmasına sebebiyet vermiş. Spermilerin kuyrukları veya başları tarafından yakalandığı gözlemlenmiş. PMN, spermatozoa'ya (1: 1 oranına 2 saat boyunca) maruz bırakılarak farklı PMN aktivasyon seviyeleri gözlemlenmiş, bazı PMN hâlâ bozulmamış hücrelerin morfolojisini sergilerken diğerleri kaba zar yüzeyiyle gösterildiği gibi aktive olmuşlardır. Toplam NET oluşumu üzerine nicel analizler, insan spermatozasının insan PMN'inde NETozis'i belirgin olarak indüklediğini göstermiştir (P<.05). Dahası spermatozoa bağlı NETozis'in, doza bağlı olduğu görülmüş, zira spermatozoa miktarı arttıkça artmış flüoresan yoğunlukları izlenmiş. Sperm motilitesi, spermileri artan PMN oranlarına maruz bırakarak (PMN/sperm, 1:18, 6:18, 9:18) 0, 1, 2 ve 3. saatlerinde ölçülmüştür. Enkübas-yondan sonraki ilk saatte PMN oranının en yüksek olduğu iki grupta sperm motilitesinde kontrol grubuna göre düşüş (PMN/sperm 6:18 [%21.67] ve 9:18 [%18.67]) (Kontrol grubu %40.53) izlenmiştir. İkinci ve 3. saatlerde PMN'e maruz kalan tüm sperm gruplarında (PMN/sperm 1:18, 6:18 ve 9:18) ilerleme gösteren motilitede belirgin ilerleyici hareket azalması (sırasıyla %26.87, %18.60 ve %14.23) (Kontrol grubu %35.23'ünü sağladı) saptanmıştır. Bununla birlikte nötrofil-spermatozoon reaksiyonunun düzenleyici faktörlerinin patojen mikroorganizmalar için tarif edilenlerden farklı olduğu düşünüldüğü belirtilmiştir. Bu etkileşim

bilgi eksikliği nedeniyle henüz açıklığa kavuşmamıştır.

NET'nin erkek gametin ilerleyici hareketliliğini olumsuz etkilemesi durumunda zamanı ve oranı belirleyen bir eşik nötrofil konsantrasyonu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, inflamasyon hücrelerinin sperm kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerini doğrular nitelikte ve bu da dölleme potansiyelini muhtemelen azaltabilir. Yeni kanıtlar NET'nin oluşturulmasının ROS ile ilişkili olduğunu ve bu ağların diğer tüm bileşenleri ile birlikte ROS'u serbest bıraktığını doğrulamakta. Bu bağlamda, semen plazmasında ROS'un başlıca kaynağı lökositler olduğu ve semendeki ana lökosit popülasyonu-

nun nötrofiller olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, çalışma insan spermatozoasının NET'nin serbest bırakılmasını tetikleyen yeterli bir uyarı olduğunu göstermektedir. Bu yanıtın doza bağımlı olduğu ve maruz kalma süresi ile arttığı söylenebilir. Bununla birlikte motilite de değişikliklere uğrar ve bu etkileşimin başarılı dölleme ihtimaline zararlı olabileceğini ihtimali artmaktadır.

Çeviri

Dr. Emir Akıncıoğlu, Prof. Dr. Barış Altay
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD